

# فلاوونوئیدها به عنوان لیگاندهای گیرنده $GABA_A$

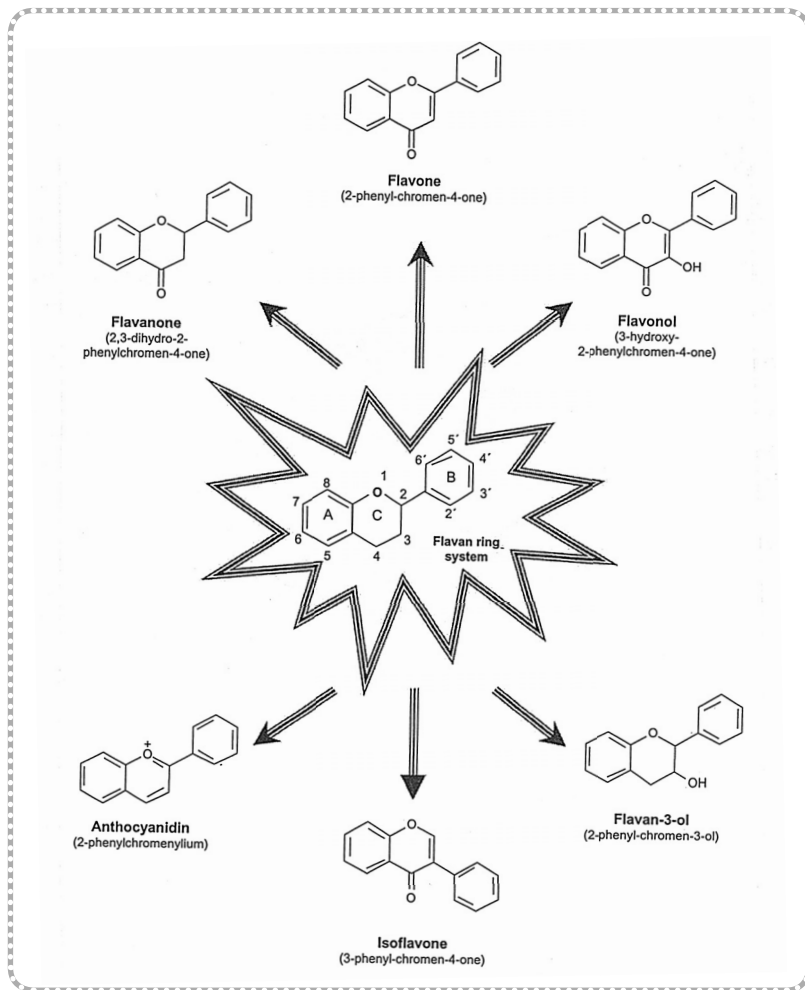
دکتر مرتضی ثمینی

استاد فارماکولوژی

در گیاهان، حیوانات و میکروبها با اهداف (targets) مختلف ترکیب می‌شوند. اخیراً نشان داده شده که فلاوونوئیدها در سیستم عصبی مرکزی روی زیرگروه A گیرنده  $GABA$  تاثیر می‌گذارند. بیش از ۹۰۰۰ فلاوونوئید در منابع گیاهی شناسایی شده‌اند. معلوم شده که فلاوونوئیدها سودمندی‌های درمانی مختلف مثل اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدتکثیری، ضدتوموری ضدالتهابی و ضدآلرژی، ضدویروسی و ضدپلاکتی دارند که این اثرات می‌تواند مربوط به ترکیب شدن آن‌ها با آنزیم‌های کلیدی، سایتوکین‌ها و اکسیدان‌ها باشد. توزیع گسترده فلاوونوئیدها و سمیت کم آن‌ها (در مقایسه با سایر ترکیبات موجود در گیاهان مثل آلکالوئیدها) به این معنی است که حیوانات و انسان

فلاوونوئیدها (Flavonoids) مولکول‌های پلی‌فنلی محلول در آب هستند که در همه گیاهان آونددار وجود دارند. ساختار شیمیایی نمونه‌هایی از فلاوونوئیدها در (شکل ۱) نشان داده شده است. به طوری که ملاحظه می‌شود فلاوونوئیدها برحسب ساختمان شیمیایی خود در ۶ زیر گروه اصلی قرار می‌گیرند. اغلب این‌ها ترکیبات حاوی عامل کتونی (ketone - containing compounds) بوده ولی بعضی دیگر ترکیبات non-ketone هستند.

اغلب فلاوونوئیدها در طبیعت با قندها متصل بوده و به صورت منوگلیکوزید یا دی‌گلیکوزید می‌باشند. پیوند گلیکوزیدی معمولاً در موقعیت ۳ یا ۷ قرار دارد. فلاوونوئیدها برای ایجاد فعالیت‌های بیولوژیکی خود



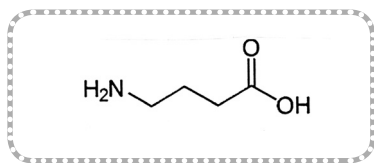
شکل ۱ - ساختار شیمیایی بعضی از نمونه‌های فلاونوئیدها

پیازها، توت‌ها، جینکوبیلوبا، سبزیجات مثل جعفری و حبوبات می‌باشند. در مرکبات بیوفلاونوئیدهایی مثل rutin، quercitrin، hesperidin وجود دارند. هسپریدین یک گلیکوزید فلاوانون هسپرتین است (شکل ۲). سیب دارای فلاونوئیدی به نام quercetin می‌باشند.

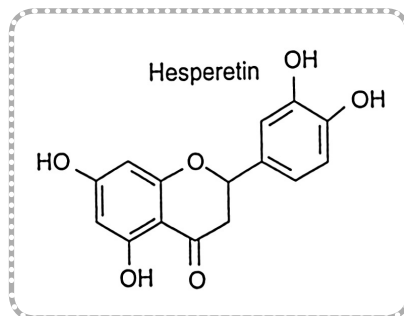
می‌توانند مقادیر قابل توجهی از آن‌ها را در غذای خود داشته باشند. فلاونوئیدها همراه کاروتن‌ها مسؤول رنگی بودن مرکبات، سبزیجات و گل‌ها هستند. مهم‌ترین منبع غذایی شامل همه مرکبات میوه‌جات، دانه سویا و نیز سیب، دانه انگور، دانه کوکا و شکلات، نوشابه‌ها مثل چایی و شراب قرمز

$GABA_A$  کانال‌های کلراید هتروپنتامریک هستند که با زیرواحدهای متفاوت خواص فارماکولوژیکی گوناگون نشان می‌دهند. گیرنده  $GABA_A$  دارای یک جایگاه اتصال برای  $GABA$  است که اثرات آگونیست‌ها و آنتاگونیست‌های رقابتی را واسطه‌گری می‌کند. در ضمن، دارای یک کانال کلراید و جایگاه‌های اتصال تنظیم‌کننده برای بنزودیازپین‌ها، باریتورات‌ها، پیکروتوکسین، استروئیدها و بیهوش‌کننده‌ها می‌باشد (شکل ۴).

گیرنده‌های  $GABA_A$  می‌توانند توسط بنزودیازپین‌ها باریتورات‌ها، استروئیدها، بیهوش‌کننده‌ها ضدتشنج‌ها به طور آلوستریک (allosterically) تنظیم شوند. این داروها به‌طور مستقیم با جایگاه اتصال  $GABA$  متصل نمی‌شوند بلکه اثر خودشان را از طریق اتصال به جایگاه‌های آلوستریک (allosteric site) در گیرنده‌های  $GABA_A$  اعمال می‌کنند که این جایگاه‌ها خواص سایر جایگاه‌های موجود روی این گیرنده را تحت تاثیر قرار داده و بنابراین، ورود یون کلراید  $GABA$ -induced را تنظیم می‌کنند. منظور از جایگاه آلوستریک، جایگاهی غیر از خود گیرنده است که اتصال به آن فعالیت و شکل گیرنده را تغییر و تنظیم می‌کند.



شکل ۳ - ساختار شیمیایی  $GABA$



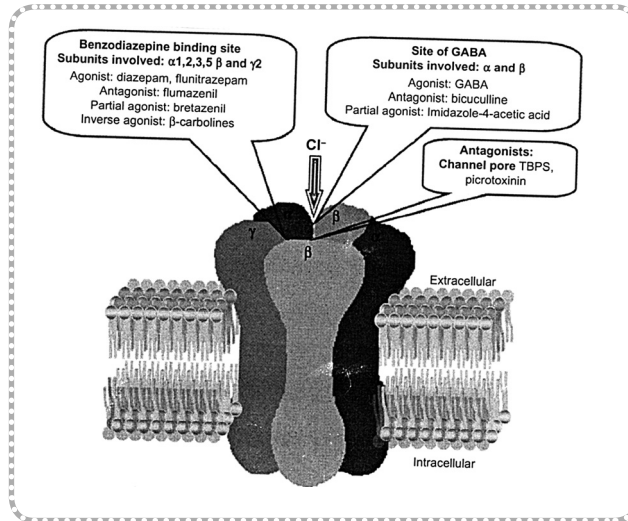
شکل ۲ - ساختار شیمیایی هسپرتین

شراب قرمز مقدار زیادی فلاوونوئید به‌ویژه کوئرستین و روتین دارد. فلاوونوئیدها در حین جذب از دستگاه گوارش و در کبد متحمل متابولیسم و کانسوجیشن می‌شوند. آن‌ها به گلوکورونید، سولفات و مشتقات  $O$  - متیله تبدیل شده و در نهایت، از طریق ادرار و صفرا دفع می‌شوند.

### ■ فلاوونوئیدها به‌عنوان لیگاند گیرنده‌های $GABA_A$

در شبکه پیچیده عصبی مغز مواد شیمیایی مختلف به‌عنوان ناقل تحریکی و مهارتی عمل کرده و در حالت طبیعی بین آن‌ها یک حالت تعادل برقرار می‌باشد. سیستم  $GABA$  - ارژیک یکی از سیستم‌های مهارتی مغز است که ناقل آن گاما آمینوبوتیریک اسید ( $GABA$ ) (شکل ۳) بوده و عمدتاً از طریق تحریک گیرنده‌های  $GABA_A$  عمل می‌کند. این سیستم یکی از سیستم‌هایی است که تحت تاثیر خیلی از داروها قرار می‌گیرد.

این گیرنده‌ها مثل گیرنده‌های نیکوتینی، گیرنده‌های گلاسیسین و گیرنده‌های  $5HT_3$  متعلق به خانواده بزرگ CYS-loop ligand ion channel هستند. گیرنده‌های



شکل ۴ - مدل شماییک گیرنده  $GABA_A$

نشان دهنده این است که فارماکولوژی زیرواحدهای گیرنده‌های بنزودیازپین بیشتر مربوط به ایزوفرم‌های  $\alpha$  و  $\gamma$  سازنده این جایگاه است در حالی که، زیرواحدهای  $\beta$  حساسیت گیرنده‌های  $GABA_A$  به لیگاندهای بنزودیازپینی را چندان تحت تاثیر قرار نمی‌دهند. بنزودیازپین‌های موجود مثل دیازپام روی گیرنده‌های  $GABA_A$  حاوی یک زیرواحد  $\gamma$  و یک زیرواحد  $\alpha$  (مثل  $\alpha_1$ ،  $\alpha_2$ ،  $\alpha_3$  یا  $\alpha_5$ ) فعال هستند. بنابراین بسته به نوع زیرواحد  $\alpha$ ، برای گیرنده‌های  $GABA_A$  می‌توان زیرواحدهای متنوع دیگر در نظر گرفت که گیرنده‌های حاوی زیرواحد  $\alpha_1$ ، حساسیت بیشتری به لیگاندهای بنزودیازپینی مثل کوازیپام یا زولپیدم دارد. گیرنده‌های حاوی زیرواحدهای  $\alpha_2$  و  $\alpha_3$  میل ترکیبی متوسطی به زولپیدم داشته، در حالی که گیرنده‌های حاوی  $\alpha_5$  میل ترکیبی خیلی کمی نسبت به این دارو دارند.

بنزودیازپین‌ها ضد تشنج، سداتیو - هیپنوتیک و ضد اضطراب هستند. این‌ها با ایجاد تغییرات آلوستریک باعث افزایش اثر  $GABA$  روی گیرنده‌های  $GABA_A$  شده و باعث افزایش میل ترکیبی  $GABA$  به گیرنده و افزایش فرکانس باز شدن کانال‌های کلراید توسط  $GABA$  می‌شوند. این داروها ایجاد سدیشن می‌کنند و موقع قطع درمان (treatment cessation) ایجاد علائم محرومیت (withdrawal symptoms) می‌کنند. علاوه بر این بنزودیازپین‌ها می‌توانند به عنوان سوء مصرف دارویی (drugs of abuse) مطرح باشند. احتمال تولید آگونیست‌های subtype-selective وجود دارد که اثرات سودمندی مثل ضد اضطرابی و ضد تشنجی را داشته ولی اثرات سداتیو و آتاکسیک یا خاصیت ایجاد وابستگی را نداشته باشد. موقعیت جایگاه اتصال بنزودیازپین در زیرواحد  $\alpha$  و  $\gamma$

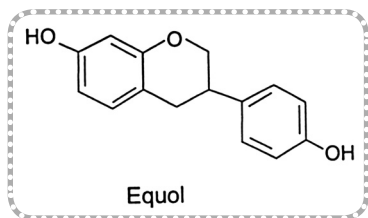
## ■ فلاوونوئیدها به عنوان لیگاندهای گیرنده

### $GABA_A$

اولین بار محققان Roche در حین جستجوی لیگاندهای آندوژن diazepam-like در ادرار گاو تعدادی مشتقات ایزوفلوون را جدا کردند که یکی از آن‌ها equol (شکل ۵) بود.

چندسال بعد equol از محتویات شکمبه گاو که منبع طبیعی مهم برای ترکیبات شبه - ديازپام می‌باشد، جدا شد. این ایزوفلاوان‌ها از منبع گیاهانی هستند که حیوان از آن‌ها تغذیه می‌کند. دومین فلاوونوئید فعال در سیستم عصبی مرکزی یک بیوفلاوونوئید به نام آمتوفلاون (شکل ۶) بود که به عنوان لیگاند با میل ترکیبی زیاد به جایگاه اتصال بنزودیازپین‌ها کشف شد.

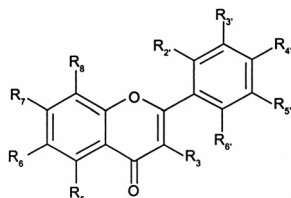
آمتوفلاون یکی از قوی‌ترین فلاوونوئیدها است که با میل ترکیبی برابر با ديازپام به گیرنده‌های مغزی متصل می‌شود. این فلاوونوئید لیگاند طبیعی موجود در گیاهان برای جایگاه اتصال بنزودیازپین‌ها است و لسی به گیرنده‌های حاوی  $\alpha_4$  و  $\alpha_6$  میلی ترکیبی ندارد. این بی‌فلاوونوئید قابل استخراج از جینکوبیلوبا می‌باشد. نشان داده شده که آمتوفلاون با



شکل ۵ - ساختار شیمیایی اکوول

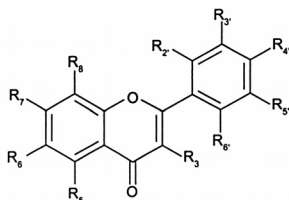
گیرنده‌های حاوی زیرواحدهای  $\alpha_4$  و  $\alpha_6$  همراه با  $\beta$  و  $\gamma_2$  به آگونیست‌های بنزودیازپینی موجود (traditional) متصل نمی‌شوند ولی میل ترکیبی زیادی به بعضی از لیگاندها مثل فلومازنیل یا بره‌تازنیل دارند. بره‌تازنیل به زیرواحدهای  $\alpha_1$ ،  $\alpha_2$ ،  $\alpha_3$ ،  $\alpha_4$ ،  $\alpha_5$  و  $\alpha_6$  گیرنده  $GABA_A$  متصل می‌شود و پارشیال آگونیست بوده و کمتر ایجاد تحمل و علایم محرومیت می‌کند. قدرت (potency) و میزان کارایی (efficacy) بنزودیازپین‌ها هر دو بستگی به ماهیت زیرواحد  $\alpha$  دارد. لیگاندهای بنزودیازپینی که تاکنون ساخته شده‌اند بین زیرواحدهای  $\alpha_2$  و  $\alpha_3$  یا بین  $\alpha_4$  و  $\alpha_6$  چندان تمیز قابل نمی‌شوند در صورتی که انتشار متفاوت آن‌ها در مغز نشان‌دهنده این است که آن‌ها مسیرهای رفتاری متفاوتی را تنظیم می‌کنند. نشان داده شده که گیرنده‌های  $\alpha_1\beta\gamma_2$ ، اثرات سداتیو فراموشی حوادث تازه و قسمتی از اثرات ضد تشنجی ديازپام را واسطه‌گری می‌کند. فعالیت ضد اضطرابی ديازپام عمدتاً از طریق گیرنده  $GABA_A$  ساخته شده از زیرواحدهای  $\alpha_2\beta\gamma_2$  و هم‌چنین گیرنده‌های  $GABA_A$   $\alpha_3$  واسطه‌گری می‌شود. به این ترتیب می‌توان نتیجه گرفت که اثرات سدیشن و ضد اضطرابی را می‌توان از هم جدا نمود که به ترتیب مربوط به گیرنده‌های  $GABA_A$   $\alpha_1$  و  $GABA_A$   $\alpha_2$  می‌باشند. گیرنده‌های  $\alpha_2\beta\gamma_2$  هم‌چنین در ایجاد شلی عضلانی توسط ديازپام دخیل هستند. به نظر می‌رسد که گیرنده‌های حاوی زیرواحد  $\alpha_3$  اثرات ضد صرع کوچک (antiabsence) کلونازپام را واسطه‌گری می‌کنند. گیرنده‌های  $\alpha_3\beta\gamma_2$  یادگیری و حافظه را تحت تاثیر قرار می‌دهند. اثر بنزودیازپین‌ها توسط فلومازنیل خنثی می‌شود.

جدول ۱ - مشتقات فلاوون و فلاوونول



Flavonoid	Substitution									
	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>	R <sub>7</sub>	R <sub>8</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3'</sub>	R <sub>4'</sub>	R <sub>5'</sub>	R <sub>6'</sub>
Flavone	H	H	H	H	H	H	H	H	H	H
Chrysin	OH	H	OH	H	H	H	H	H	H	H
Apigenin	OH	H	OH	H	H	H	H	OH	H	H
Kaempferol	OH	H	OH	H	OH	H	H	OH	H	H
Cirsiliol	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OH	OH	H	H
Quercetin	OH	H	OH	H	OH	H	OH	OH	H	H
Myricetin	OH	H	OH	H	OH	H	OH	OH	OH	H
Wogonin	OH	H	OH	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H	H	H
Oroxylin A	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	H	H	H	H
Dinatin-hispidulin	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H	OH	H	H
Skrofullein-cirsimaritin	OH	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H	OH	H	H
5,7-dimethoxyflavone	OCH <sub>3</sub>	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H	H	H	H
5,7-dimethoxy-6-methylflavone	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H	H	H	H
5-hydroxy-7-methoxy-6-methylflavone	OH	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	H	H	H	H
5-hydroxy-7-methoxy-6,8-dimethylflavone	OH	CH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>	H	H	H	H	H	H
6-Methylapigenin	OH	CH <sub>3</sub>	OH	H	H	H	H	OH	H	H
Luteolin	OH	H	OH	H	H	H	OH	OH	H	H
Baicalein	OH	OH	OH	H	H	H	H	H	H	H
Baicalin	OH	O-glucuronide	OH	H	H	H	H	H	H	H
K36	OH	OCH <sub>3</sub>	OH	OCH <sub>3</sub>	H	OH	H	H	H	H

جدول ۲ - مشتقات فلاونون سنتتیک



Flavonoid derivative	K <sub>i</sub> <sup>a</sup> (μM)	GABA ratio <sup>b</sup>	Pharmacological profile		
			Predicted <sup>b</sup>	In vivo	In vitro
6-bromo	0.070	1.6-2.0	Full agonist	Full agonist	Positive modulator
6-methyl	0.125	ND	NHD	ND	Positive modulator (at sites independent of flumazenil-sensitive benzodiazepine binding site)
6-chloro	0.164	ND	ND	Antagonist	Neutralizing modulator
6-nitro	0.275	ND	ND	ND	ND
6-hydroxy	0.580	ND	ND	Partial agonist	Positive modulator
6-methoxy	0.860	ND	ND	ND	ND
6-fluoro	4.5	ND	ND	Antagonist	Neutralizing modulator
Flavone	1	ND	ND	Partial agonist	ND
6-bromo-3'-nirto	0.001	1.38	Partial agonist	Partial agonist	ND
6-methyl-3'-nirto	0.0056	0.72	Inverse agonist	ND	ND
6-chloro-3'-nirto	0.008	1.16	Antagonist	Antagonist	ND
6,3'-dinitro	0.026	1.30	Partial agonist	Partial agonist	Low efficacy modulator
6-fluoro-3'-nirto	0.180	ND	ND	ND	ND
3'-nirto	0.285	ND	ND	ND	ND
6,3'-dibromo	0.019	1.29	Partial agonist	Partial agonist	ND
6-methyl-3'-bromo	0.013	1.03	Antagonist	Antagonist	ND
6-chloro-3'-bromo	0.023	1.10	Antagonist	ND	ND
6-nitro-3'-bromo	0.025	1.10	Partial agonist	Partial agonist	ND
6-fluoro-3'-bromo	0.236	ND	ND	ND	ND
3'-bromo	0.413	ND	ND	ND	ND
6-hydroxy-3'-bromo	1	ND	ND	ND	ND
6-Methoxy-3'-bromo	1	ND	ND	ND	ND

ادامه جدول ۲ در صفحه بعد

جدول ۲ - (ادامه)

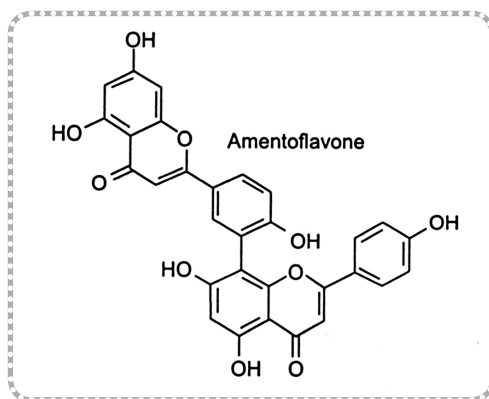
Flavonoid derivative	K <sub>i</sub> <sup>a</sup> ( $\mu$ M)	GABA ratio <sup>b</sup>	Pharmacological profile		
			Predicted <sup>b</sup>	In vivo	In vitro
6-bromo-3'-chloro	0.017	1.23	Partial agonist	ND	ND
6,3'-dichloro	0.023	1.10	Antagonist	ND	ND
6-fluoro-3'-chloro	0.199	ND	ND	ND	ND
3'-chloro	0.614	ND	ND	ND	ND
6,3'-dimethyl	29	1.63	Full agonist	ND	ND
6-bromo-3'-methyl	0.154	ND	ND	ND	ND
6,3'-dimethyl	0.208	ND	ND	ND	ND
3'-methyl	10	ND	ND	ND	ND
3'-methoxy	2.4	ND	ND	ND	ND
3'-fluoro	3.55	ND	ND	ND	ND
6-bromo-3'-fluoro	0.042	0.97	Antagonist-inverse agonist	ND	ND
6-bromo-3'-methoxy	0.609	ND	ND	ND	ND
6-chloro-3'-fluoro	0.117	ND	ND	ND	ND
6-chloro-3'-methoxy	0.848	ND	ND	ND	ND
6,3'-difluoro	0.920	ND	ND	ND	ND
6-fluoro-3'-methoxy	2.5	ND	ND	ND	ND
3-bromo	>75	ND	ND	ND	ND
6,3-dibromo	>75	ND	ND	ND	ND
3-bromo-3'-nitro	>20	ND	ND	ND	ND
2'-hydroxy	0.31	ND	ND	Antagonist	Neurtalizing modulator
6,2'-dihydroxy	0.04	ND	ND	Partial inverse agonist	Negative moulator
2'-methoxy-6-methyl	>100	ND	ND	Partial agonist	Positive modulator ( $\alpha$ 1 and $\alpha$ 2 $\beta$ 1 $\gamma$ 2L subtypes) Allosteric activator ( $\alpha$ 2 $\beta$ 2/3 and $\alpha$ 2 $\beta$ 2/3 $\gamma$ 2L containing subtypes)
3-hydroxy-2'-mehtodxy-6-methyl	>300	ND	ND	Partial agonist	Positive allosteric modulator ( $\alpha$ 2 $\beta$ 2/3 $\gamma$ 2L subtypes) Direct activation ( $\alpha$ 4 $\beta$ 2/3 $\gamma$ subtypes)

Notes: <sup>a</sup>K<sub>i</sub> standard error of the mean values are means of 3-5 independent dererminations and estimate the inhibition of <sup>3</sup>H-flunitrazepam binding to rat cerebral cortical synaptosomal membranes. The standard error of the mean varies between 6% and 13% of the absolute values listed. <sup>b</sup>The pharmacological profile of ligands interacting in vitro with the benzodiazepine binding site can be predicted through the GABA ratios obtained in

binding assays. These values are the ratio of Ki values of a competitive benzodiazepine binding site ligand measured in the presence or absence of GABA: ratios>1 indicate compounds with agonistic profiles, ratios<1 point to compounds with inverse agonistic profiles and ratios of about 1 indicate antagonistic profiles.<sup>110-111</sup>

Abbreviations: GABA, gamma aminobutyric acid; ND, not determined.





شکل ۶ - ساختار مولکولی آمنتوفلاوون

بنزودیازپین‌ها (با استخلاف‌های الکترونگاتیو در مولکول آن‌ها) سنتز شده‌اند (جدول ۲). به‌طور خلاصه، فلاونوئیدهای طبیعی و سنتتیک به‌عنوان لیگاند جایگاه اتصال بنزودیازپین‌ها داروهای موثر روی گیرنده‌های GABA<sub>A</sub> اثرات سودمند روی سیستم عصبی مرکزی دارند. در ضمن، می‌توانند به‌عنوان ابزار برای مطالعه جایگاه‌های تنظیم‌کننده موجود در گیرنده‌های GABA<sub>A</sub> و تولید داروهای GABA subtype-selective مورد استفاده قرار گیرند.

غلظت‌های نانومولار انواع گیرنده‌های از نوع GPCR مثل گیرنده‌های سروتونین، دوپامین و اوپیوئیدی را تحت تاثیر قرار داده ولی اثری روی اتصال موسمول (آگونیست برای گیرنده‌های GABA<sub>A</sub>) ندارد. یکی از فلاونوئیدهای لیگاند اختصاصی برای جایگاه اتصال بنزودیازپین‌ها، chrysin (۵ و ۷ - دی‌هیدروکسی فلاوون) است که از *passiflora caerulea* جدا شده و تقریباً معادل دیازپام اثر ضداضطرابی دارد ولی اثرات سداتیو و شل‌کنندگی عضلانی را ندارد. احتمالاً این منوفلاونوئید طبیعی پارشیال آگونیست جایگاه اتصال بنزودیازپین در مغز است. نشان داده شده که chrysin اثر قابل توجه hyperalgesic دارد. در جدول (۱) فلاونوئیدها و فلاونون‌هایی نشان داده شده‌اند که با اتصال به محل بنزودیازپین‌ها اثرات فارماکولوژیک خود را ظاهر می‌کنند.

با توجه به ساختار مولکولی فلاونوئیدهای طبیعی فلاونوئیدهای سنتتیک متعددی به منظور افزایش دادن قدرت آن‌ها به‌عنوان لیگاند جایگاه اتصال

#### منابع

1. Pym LJ. Selective labelling of diazepam-insensitive GABA receptors in vivo using 3HR0 15-4513. *Br J Pharmacol* 2005; 146(6): 817-825.
2. Wasowski C. Flavonoids as GABA<sub>A</sub> receptor ligands. *J Exp Pharmacol* 2012(4): 9-24.
3. Xiao ZP. Flavonoids health benefits and their molecular mechanism. *Mini Rev Med Chem* 2011; 11: 169-177.
4. <http://www.polychemicals.info/phytochemicals/flavonoids.php>