

**CHARAKTERYSTYKA ENDOGENNYCH  
INHIBITORÓW ENZYMÓW ROZKŁADAJĄCYCH  
ENKEFALINY**

**CHARACTERISTIC OF THE ENDOGENOUS  
ENKEPHALIN DEGRADING ENZYMES INHIBITORS**

**Małgorzata Sobocińska\*, Zbigniew Maćkiewicz**

*Pracownia Chemii Polipeptydów  
Wydział Chemii, Uniwersytet Gdański  
ul. Wita Stwosza 63 80-308 Gdańsk  
\*e-mail: mk.sobocinska@gmail.com*

---

Abstract

Wprowadzenie

1. Inhibitory enzymów rozkładających enkefaliny

2. Siarolfina

3. Opiorfina

4. Spinorfina

Podsumowanie

Piśmiennictwo cytowane

---

**mgr Małgorzata Sobocińska** – w latach 2007–2012 studiowała na Wydziale Chemii Uniwersytetu Gdańskiego – uzyskując w 2012 roku tytuł magistra. Prace magisterską pod tytułem „Chemiczna synteza pochodnych aminokwasowych zawierających w łańcuchu bocznym donor fluorescencji” pisała pod kierunkiem prof. dr hab. Adama Lesnera w Katedrze Chemii Bioorganicznej. Obecnie słuchaczka Stacjonarnych Studiów Doktoranckich Chemii i Biochemii na Wydziale Uniwersytetu Gdańskiego, gdzie wykonuje prace doktorską pod kierunkiem prof. dr hab. Zbigniewa Maćkiewicza.

**prof. dr hab. Zbigniew Maćkiewicz** – profesor Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego, kierownik Pracowni Chemii Polipeptydów w Katedrze Syntezy Organicznej Wydziału Chemii Uniwersytetu Gdańskiego specjalizujący się w syntezie w roztworze i na nośniku stałym polipeptydów mających zastosowanie w badaniach immunologicznych. Głównym kierunkiem pracy prof. Maćkiewicza jest synteza i badania immunogenności fragmentów antygenów wirusa zapalenia wątroby typu B (HBV) i C (HCV) oraz opracowywanie testów diagnostycznych do wykrywania WZW typu B i C. W ostatnich latach prof. Maćkiewicza zajmował się otrzymywaniem peptydów biologicznie czynnych i ich oddziaływaniem z kationami metali ciężkich (Cu, Zn) oraz syntezą fragmentów parahormonu (PTH) i wybranych fragmentów ludzkich białek szoku termicznego (Hsp). Od niedawna zespół prof. Maćkiewicza prowadzi badania nad inhibitorami enzymów rozkładających enkefalinę poszukując dogodnego analogu, który wykazywałby maksymalną aktywność biologiczną w danych warunkach środowiskowych.

## ABSTRACT

Management of acute and chronic pain has always been a key area of clinical research. Pain and stress stimulation may cause an increase in the level of endogenous opioids in the body. Endogenous enkephalins activate opioid receptors in the brain, leading to the analgesic effect. Enkephalinases inactivate endogenous opioids, abolishing their activity. Enkephalin degrading enzyme inhibitors (EIs) in turn inhibit these enzymes, preventing them from degrading endogenous enkephalins what leads to analgesia. The enkephalin degrading enzyme inhibitors seem to be promising analgesic agents [2]. Analgesic effect of EIs has been discovered recently and their therapeutic potential has not been effectively investigated yet. The main advantage of enkephalinase inhibitors is that they do not show adverse effects characteristic for opioids. EIs play an important role in modulating nociception, so they are potential agents for the treatment of acute and chronic pain. They often possess also additional antidiarrheal, antidepressant and anticancer properties [3]. The potential EIs targets appear to be aminopeptidase N (APN), dipeptidyl peptidase III (DPP III), angiotensin-converting enzyme (ACE) and neutral endopeptidase (NEP) [4].

EIs may be broadly classified as endogenous and those that are obtained synthetically [4]. The purpose of this work is to present a review of endogenous enkephalinase inhibitors: sialorphin, opiorphin, and spinorphin.

Sialorphin (Gln-His-Asn-Pro-Arg) is synthesized predominantly in the submandibular gland and prostate of adult rats in response to androgen steroids and is released locally and systemically in response to stress. Sialorphin protects endogenous enkephalins released after nociceptive stimuli by inhibiting NEP *in vivo*. Sialorphin prevents spinal and renal NEP from breaking down substance P and Met-enkephalin *in vitro*. Sialorphin suppressed pain sensation for both chemical-induced inflammation and acute physical pain [8, 9, 12].

Opiorphin (Gln-Arg-Phe-Ser-Arg) is an endogenous chemical compound first isolated from human saliva. Opiorphin is a natural analgesic. Opiorphin protects enkephalins from degradation by human neutral endopeptidase and aminopeptidase N. Opiorphin is closely related to the rat sialorphin peptide [12, 13, 19].

Spinorphin (Leu-Val-Val-Tyr-Pro-Trp-Thr) has been isolated from the bovine spinal cord as an endogenous inhibitor of enkephalin - degrading enzymes. Spinorphin is an antagonist of the P2X3 receptor and a weak partial agonist/antagonist of the FP1 receptor [24, 25, 26].

**Keywords:** endogenous enkephalin degrading enzymes inhibitors, opioid, peptides, pain, analgesic agents

**Słowa kluczowe:** endogenne inhibitory enzymów rozkładających enkefaliny, opiody, peptydy, ból, środki przeciwbólowe

---

---

## WPROWADZENIE

Ból (łac. *dolor*) jest pojęciem subiektywnym, nieprzyjemnym doznaniem zmysłowym i emocjonalnym powstającym pod wpływem bodźców rzeczywistych lub potencjalnie zagrażających uszkodzeniem ciała. Międzynarodowe Towarzystwo Badania Bólu definiuje ból jako „Nieprzyjemne doświadczenie zmysłowe i emocjonalne związane z rzeczywistym lub potencjalnym uszkodzeniem tkanek lub opisywane w kategoriach takiego uszkodzenia” [1].

Opioidy to grupa substancji działających na receptory opioidowe obecne w ludzkim organizmie. Opioidy można podzielić na: opioidy endogenne, opiaty oraz syntetyczne odpowiedniki opiatów (leworfanol, fentanyl, metadon, petydyna). Opioidy endogenne to peptydy produkowane przez mózg lub przysadkę (endorfiny, dynorfiny, enkefalin). Głównym zastosowaniem opioidów jest walka z silnym bólem [2]. Działanie opioidów objawia się zahamowaniem czucia bólu na poziomie rdzenia kręgowego, tłumieniem rozprzestrzeniania się impulsów, a także hamowaniem percepcji bólu w mózgowiu [3]. Opioidowe leki przeciwbólowe są stosowane w uśmierzaniu bardzo silnego bólu pooperacyjnego, łagodzeniu objawów choroby nowotworowej, a także w przypadku silnych bólów na zalecenie lekarza prowadzącego. Stanowią ostateczną alternatywę dla dostępnych bez recepty niesteroidowych leków przeciwzapalnych.

Artykuł ten dokonuje przeglądu literaturowego endogennych inhibitorów enzymów rozkładających enkefalinę, które mogłyby stanowić nową generację leków będących alternatywą dla obecnie dostępnych medykamentów.

### 1. INHIBITORY ENZYMÓW ROZKŁADAJĄCYCH ENKEFALINĘ

Ból i bodźce stresowe mogą powodować wzrost poziomu endogennych opioidów w organizmie. Endogenne enkefalinę aktywują receptory opioidowe w mózgu, co prowadzi do działania przeciwbólowego. Enkefalinazy, inaktywują endogenne opioidy powodując zahamowanie ich działania. Inhibitory enzymów rozkładających enkefalinę (EIs) blokują enkefalinazy, uniemożliwiając tym samym rozkład endogennych enkefalin.

Działanie inhibitorów enzymów rozkładających enkefalinę (EIs) polega na hamowaniu rozkładu naturalnych opioidów. Enkefalinę charakteryzują się brakiem działań niepożądanych charakterystycznych dla opioidów. Nie powodują uzależnienia, jednocześnie większość z nich posiada często dodatkowo właściwości przeciwbiegunkowe, przeciwdepresyjne i przeciwnowotworowe [4–6]. EIs wydają się być obiecującymi środkami leczniczymi o działaniu przeciwbólowym. Przeciwbólowe działanie EIs odnotowano już ponad dziesięć lat temu, jednak ich potencjał terapeutyczny nie został jeszcze skutecznie zbadany. EIs można podzielić na: peptydy endogenne (opiorfina, spinorfina, sialorfina) i syntetyczne (RB 101, RB 120) [4].

Potencjalne cele EIs to enzymy takie jak aminopeptydaza N (APN), neutralna endopeptydaza (NEP), peptydaza dipeptydylowa III (DPP III), inhibitory konwektazy angiotensyny (ACE) [4]. Charakterystykę aminopeptydazy N, neutralnej endopeptydazy, peptydazy dipeptydowej III, inhibitorów konwektazy angiotensyny przedstawia Tabela 1.

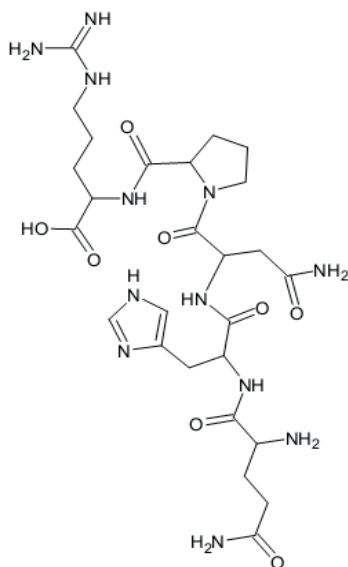
Tabela 1. Charakterystyka aminopeptydazy N, neutralnej endopeptydazy, peptydazy dipeptydowej III, inhibitorów konwektazy angiotensyny

Table 1. Characteristic of the aminopeptidase N, neutral endopeptidase, dipeptidyl peptidase III, angiotensin-converting enzyme

NAZWA	SKRÓT	FUNKCJE
Aminopeptydaza N	APN/CD13	Hydrolija m.in. małych mediatorów peptydowych. Modulacja ruchliwości komórek [7].
Neutralna endopeptydaza (neprylizyna)	NEP/CD10	Inaktywacja hormonów peptydowych (m.in. endogenne enkefaliny, bradykininę, substancje P). Zaangażowany w liczne procesy fizjologiczne i patologiczne zachodzące w organizmie [8].
Peptydaza dipeptydowa III	DPP III	Obrona przed stresem oksydacyjnym. Modulacja percepcji bólu. Rozkład enkefalin [9].
Inhibitory konwektazy agiotensyny	ACE	Hamowanie powstawanie angiotensyny II, enzymu konwertującego angiotensynę. Działanie hipotensyjne, antyproliferacyjne, nefroprotektoryjne, przeciwnakrzepowe [10].

## 2. SIALORFINA

Zastosowanie różnych modeli farmakologii molekularnej oraz modeli behawioralnych przez francuskich naukowców z Instytutu Pasteur we Francji przyczyniło się do zidentyfikowania inhibitora metalo-ektopeptydaz [5]. Inhibitor ten jest fizjologicznym czynnikiem regulującym aktywność związanej z błoną enkefalinazy u ssaków. Francuscy naukowcy dostarczyli molekularnych i funkcjonalnych dowodów na istnienie u szczurów hormonalnego łącznika komunikacji międzykomórkowej tzn. ostatecznego dojrzałego peptydu wygenerowanego z pre-prohormonu SMR1- SMR1-Pentapeptydu, obecnie określanego jako sialorfina o sekwencji Gln-His-Asn-Pro-Arg [5]. Wzór strukturalny sialorfiny prezentuje Rysunek 1.



Rysunek 1.  
Figure 1.

Wzór strukturalny sialorfiny (wykonała M. Sobocińska w programie ChemSketch)  
Structural formula sialorphin (created by M. Sobocińska in ChemSketch application)

Szereg przeprowadzonych badań i testów dowiodło wszechstronnego działania/zastosowania sialorfiny. Pierwsze eksperymenty opisują sialorfinę jako mediatora, mającego zastosowanie w leczeniu zaburzeń interpersonalnych, behawioralnych, w tym zaburzeń seksualnych. Dopiero kolejne lata badań pozwoliły na stwierdzenie, że sialorfina jest fizjologicznym modulatorem percepcji bólu, który nie powoduje uzależnień, jednocześnie posiada właściwości przeciwdepresyjne, przeciwnowotworowe [5, 11, 12].

Sialorfina wydzielana jest przez śliniankę podżuchwową szczura, prostatę u dorosłych szczurów oraz w odpowiedzi na stres środowiskowy u samca szczura. Pobudza zachowania seksualne samców szczurów, a także nasila erekcję u starzejących się szczurów [5, 11, 12].

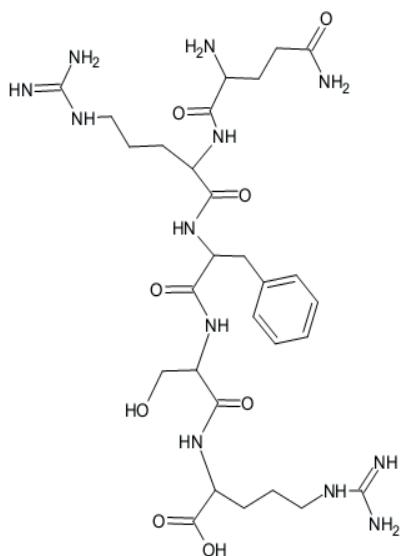
W testach na dwóch behawioralnych modelach szczura, dożylnie wprowadzanie sialorfiny wywołało silną odpowiedź antynocyceptywną. Szczury były poddane mechanicznej oraz chemicznej nadwrażliwości na ból. Sialorfina hamowała odczuwanie bólu wywołanego bodźcami mechanicznymi podczas testu ukucia szpilką, jak i bólu towarzyszącego stanowi zapalnemu wywołanego przez czynniki chemiczne w teście formalinowym. W testach sialorfina wykazywała najlepsze efekty przeciwbólowe w dawkach 100–200  $\mu\text{g}/\text{kg}$  [13]. W czasie przeprowadzonych testów analgezja czyli zniesienie bólu powstałego w skutek czynników fizycznych i chemicznych spowodowana przez sialorfinę wymagała aktywacji receptorów opioidowych. Sialorfina działała poprzez aktywację endogennej opioidozależnej ścieżki przekazywania sygnału bólu. Tak więc sialorfina jest podwójnym fizjologicznym antagonistą aktywności metalo-ektopeptydaz NEP i ANP, oraz zapobiega

degradacji substancji P Met-Enkefaliny *in vitro* przez rdzeniowy i nerkowy NEP [5, 12, 13]. Co więcej jest silnym inhibitorem percepcji bólu. Badania prowadzone na szczurach wykazały, że sialorfina chroni endogenne enkefaliny uwalniane w odpowiedzi na bodźce bólowe przez hamowanie ekto-enkefalinaz.

Efekt przeciwbólowy uzyskiwany przy podaniu sialorfiny jest silniejszy niż w przypadku syntetycznych podwójnych inhibitorów NEP/ANP takich jak kelatorfan [5].

### 3. OPIORFINA

Sialorfina była jednym z pierwszych zidentyfikowanych inhibitorów enzymów rozkładających enkefaliny u ssaków [5]. Odkrycie sialorfiny pociągnęło za sobą lawinę poszukiwań endogennych inhibitorów rozkładających enkefaliny w ludzkim organizmie. Francuscy naukowcy z instytutu Pasteura w Paryżu zainspirowani sialorfiną poszukiwali ludzkiego odpowiednika tej substancji przeciwbólowej w ludzkiej ślinie. W ślinie człowieka wykazano obecność szeregu różnych związków [14], które poddano dokładnej analizie metodami chromatograficznymi (HPLC), identyfikując tym sposobem działający analogicznie do sialorfiny pentapeptyd opiorfinę o sekwencji Gln-Arg-Phe-Ser-Arg. Wzór strukturalny opiorfiny prezentuje Rysunek 2.



Rysunek 2.  
Figure 2.

Wzór strukturalny opiorfiny (wykonała M. Sobocińska w programie ChemSketch)  
Structural formula opiorphin (created by M. Sobocińska in ChemSketch application)

Pierwsze badania nowo odkrytej substancji przeprowadzono na gryzoniach. Przeprowadzone testy dały bardzo pozytywne rezultaty. W badaniach podawana

dożylnie opiorfina wywoływała silne odpowiedzi antynocyceptywne w dawce 0,3 mg/kg w dwu behawioralnych modelach u szczura [6]. W teście wymuszonego pływania zaobserwowano, że opiorfina wykazuje działanie przeciwdepresyjne w dawce 3 mg/kg [6]. Po dożylnym podaniu opiorfiny nie zaobserwowano szeregu niekorzystnych reakcji fizjologicznych charakterystycznych dla opioidów takich jak rozwój tolerancji i uzależnienie [15]. Opiorfina podobnie jak sialorfina hamowała odczuwanie bólu, indukowanego przez urazy bólu ostrego, tonicznego, testu ukucia szpilką jak i bólu towarzyszącego stanowi zapalnemu wywołanego przez czynniki chemiczne w teście formalinowym. Opiorfina podawana dożylnie dała identyczne rezultaty jak morfina [15–17].

Opiorfina została uznana za funkcjonalny ludzki homolog pentapeptydu SMR1 sialorfiny. Okazało się, że prekursor PROL1, z którego wytwarzana jest opiorfina, kodowany jest przez tę samą rodzinę genów (Gen VCSA1) co prekursor sialorfiny [5, 6, 18, 19]. Opiorfina otrzymywana jest w wyniku cięcia enzymatycznego z *N*-końcowego regionu białka prekursorowego PROL1, kodowanego przez gen VCSB. PROL1 zasadowe białko łoż bogate w prolinę, zwane jest również jako PrL lub BPL, powstaje w gruczołach ślinowych człowieka [18, 19].

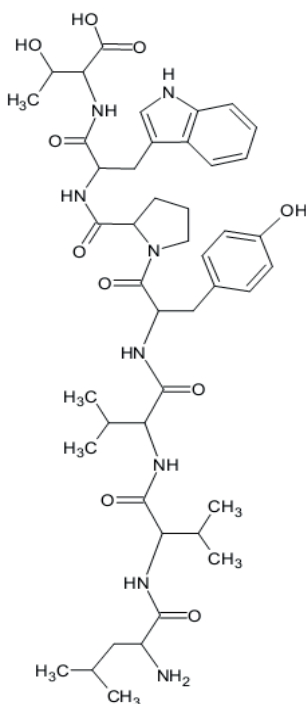
Testy potwierdziły mechanizm działania opiorfiny jako inhibitora hydrolaz. Jej działanie polega na hamowaniu hydrolizy enzymatycznej enkefalin [20]. Opiorfina działając na pewną grupę enzymów hamuje rozkład enkefalin – naturalnych opioidów wydzielanych w mózgu, odpowiedzialnych za łagodzenie doznań bólowych. Opiorfina stymuluje wydzielanie enkefalin w ośrodkowym układzie nerwowym [16, 17]. Jest inhibitorem ludzkiej neutralnej endopeptydazy (NEP) i aminopeptydazy N (ANP), może powodować skurcze okrężnicy, a także wpływać na erekcje u szczurów [6, 11, 21].

Średnia zawartość opiorfiny w ślinie oznacza się za pomocą testu ELISA i techniki LC-MS/MS. Zawartość opiorfiny w ślinie oznaczona testem ELISA wynosi  $61 \pm 23$  ng/ml dla kobiet i  $59 \pm 17$  ng/ml dla mężczyzn. Możliwe jest też oznaczenie tego peptydu techniką LC-MS jednak czułość tej metody jest sześciokrotnie niższa niż testu ELISA [22, 23]. Terapeutyczne zastosowanie opiorfiny u człowieka wymaga modyfikacji cząsteczki w celu obniżenia szybkości degradacji w jelicie oraz polepszenia penetracji przez barierę krew–mózg [6, 24]. Dotychczasowe badania potwierdziły, że opiorfina nie powoduje typowych dla opioidów efektów ubocznych może więc być obiecującą substancją wiodącą w leczeniu depresji u pacjentów, którzy nie mogą stosować obecnie dostępnych środków przeciwdepresyjnych. Zastosowanie opiorfiny w leczeniu może przynieść większe korzyści w porównaniu do obecnie stosowanych opioidowych silnych leków przeciwbólowych.



#### 4. SPINORFINA

W ostatnich latach w bydłym rdzeniu kręgowym japońscy naukowcy Nishimura i Hazato z Instytutu Medycznego w Tokyo identyfikowali inhibitor enzymów rozkładających enkefalinę - spinorfinę [25]. Mechanizm działania tego inhibitora jak na razie nie został w pełni poznany. Japończycy dokonali szczegółowej analizy spinorfiny. Spinorfina została wyizolowana i oczyszczona metodami chromatograficznymi (HPLC), a analiza strukturalna wykazała, że jest to heptapeptyd o sekwencji leucyna-walina-walina-tyrozyna-prolina-tryptofan-treonina, należący do rodziny hemorfin, który odpowiada pozycji 32-38 ludzkiej hemoglobiny.  $\beta$ -Spinorfina została wykryta w ludzkim płynie mózgowo-rdzeniowym [25, 26]. Wzór strukturalny spinorfiny prezentuje Rysunek 3.



Rysunek 3.  
Figure 3.

Wzór strukturalny spinorfiny (wykonała M. Sobocińska w programie ChemSketch)  
Structural formula spinorphin (created by M. Sobocińska in ChemSketch application)

Mimo, że mechanizm działania spinorfiny nie został w pełni poznany podobnie jak inne hemorfiny spinorfina jest antagonistą receptora angiotensyny AT4 w mózgu, jak i antagonistą inhibitorów enzymu konwertującego angiotensynę enzymu przekształcającego angiotensynę. Jest również antagonistą receptora P2X3 oraz częściowym agonistą/antagonistą receptora FP1 [25–27]. Hamuje enzymy degradujące enkefalinę, działa jako regulator enkefalin poprzez hamowanie trzech

enzymów: aminopeptydazy N (APN), dipeptylopeptydaza III (DPP III), obojętnej endopeptydazy (NEP) [9, 25–28]. Jest fizjologicznym modulatorem bólu, ciśnienia krwi, hamuje skurcze mięśni gładkich, a także działa przeciwpalnie [29].

## PODSUMOWANIE

Leczenie bólu ostrego i przewlekłego jest kluczowym tematem badań klinicznych. Za standard w leczeniu bólu pooperacyjnego, a także w chorobach nowotworowych przyjęło się uważać podawanie morfiny. Jednak przy dłuższym jej stosowaniu wyzwała się tolerancja i konieczność zwiększenia dawek dla osiągnięcia pożądanego efektu, co w konsekwencji prowadzi do uzależnienia, działania euforycznego, depresji oddechowej. Dlatego tak bardzo ważnym celem badań naukowców na całym świecie stało się poszukiwanie nieuzależniających substancji pomocniczych w łagodzeniu bólu. Nowych leków i metod terapeutycznych leczenia bólu, a także substancji, które mogłyby stanowić nową generację leków alternatywnych dla obecnie stosowanych, silnie uzależniających leków opioidowych.

Powyższa praca przeglądowa ukazuje, że inhibitory enzymów rozkładających enkefalinę wydają się być obiecującymi środkami leczniczymi o działaniu przeciwbólowym. Stanowią alternatywę dla obecnie dostępnych środków przeciwbólowych. Ich szczegółowa analiza wykazała, że nie powodują efektów ubocznych charakterystycznych dla opioidów. Posiadają one często dodatkowo właściwości przeciwbiegunkowe, przeciwdepresyjne, przeciwpalne i przeciwnowotworowe. Mogą stać się obiecującym kandydatem do leczenia bólu u pacjentów, którzy nie mogą stosować obecnie dostępnych środków znieczulających.

## PIŚMIENNICTWO CYTOWANE

- [1] J. Dobrogowski, J. Wordliczek, *Leczenie bólu*, PZWL, Warszawa 2007.
- [2] Światowa Organizacja Zdrowia, Instytut Psychiatrii Neurologii, Warszawa, 1997.
- [3] H. Lüllmann, K. Mohr, L. Heun, D. Bieger, *Color atlas of pharmacology*, Thieme, 2005, s. 208.
- [4] V. Thanawala, J.V. Kadam, R. Ghosh, *Curr. Drug Targets*, 2008, **9**, 887.
- [5] C. Rougeot, J.F. Hualme, M.N. Ungeheuer, A. Wisner, E. Dufour, Patent, FP 1577320 T3.
- [6] P. Popik, E. Kamysz, J. Kreczko, M. Wróbel, *Behav. Brain Res.*, 2010, **213**, 88.
- [7] J. Wulfaenger, S. Niedling, D. Riemann, B. Seliger, *Mol. Membr. Biol.*, 2008, **25** 72.
- [8] A. Kubiak-Wlekły, Z.I. Niemir, *Pol. Merk. Lek.*, 2009, **157**, 51.
- [9] K. Nishimura, T. Hazato, *Biochem. Bioph. Res. Commun.*, 1993, **194**, 713.
- [10] G. Konieczny, A. Posadzy-Mańczyńska, A. Tykarski, *Via Medica*, 2006, **3**, 140.
- [11] M. Messaoudi, D. Desor, A. Nejdi, C. Rougeot, *Horm. Behav.*, 2004, **46**, 684.
- [12] K.P. Davies, M. Tar, C. Rougeot, A. Melman, *BJU Int*, 2007, **99**, 431.
- [13] C. Rougeot, M. Messaoudi, V Hermitte, A.G. Rigault, T. Blisnick, C. Dugave, D. Desor, F. Rougeon, *PNAS* 2003, **100**, 8549.
- [14] M. Marini, L.G. Roda, *Arch Oral Biol.*, 2000, **45**, 775.
- [15] C. Rougeot, F. Robert, L. Menz, J.F. Bisson, M. Messaoudi, *J Physiol. Pharmacol.*, 2010, **61**, 483.

- [16] A. Wisner, E. Dufour, M. Messaoudi, A. Nejd, A. Marcel, M.N. Ungeheuer, C. Rougeot, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2006, **103**, 17979.
- [17] V. Thanawala, V.J. Kadam, R. Ghosh, *Curr. Drug Targets*, 2008, **9**, 887.
- [18] C. Rougeot, I. Rosinski-Chupin, F. Rougeon, *Biomed. Rev.*, 1998, **9**, 17.
- [19] D.P. Dickinson, M. Thiesse, *Curr. Eye Res.*, 1996, **15**, 377.
- [20] C. Rougeot, M. Messaoudi, V. Hermitte, A.G. Rigault, T. Blisnick, C. Dugave, D. Desor, F. Rougeon, *PNAS* 2003, **100**, 8549.
- [21] H. Javelot, M. Messaoudi, S. Garnier, C. Rougeot, *J. Physiol. Pharmacol.*, 2010, **61**, 355.
- [22] C. Rougeot, E. Dufour, S. Villard-Saussine, M.N. Ungeheuer, P. Jouannet, Patent, WO 2010/060995 A1.
- [23] L. Brkljačić, M. Sabalić, I. Salarić, I. Jerić, I. Alajbeg, I. Nemet, J. Chromatogr. B, *Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2011, **879**, 3920.
- [24] C. Rougeot, F. Robert, L. Menz, J.F. Bisson, M. Messaoudi, *J. Physiol. Pharmacol.*, 2010, **61**, 483.
- [25] K. Nishimura, T. Hazato, *Musai*, 1993, **42**, 1497.
- [26] T.S. Liang, J.L. Gao, O. Fatemi, M. Lavigne, T.L. Leto, P.M. Murphy, *J. Immunol.*, 2001, **167**, 6609.
- [27] K. Jung, H. Moon, G. Lee, H. Lim, C. Park, Y. Kim, *J. Med. Chem.*, 2007, **50**, 4543.
- [28] G.A. Bezerra, E. Dobrovetsky, R. Viertlmayr, A. Dong, A. Binter, M. Abramić, P. Macheroux, S. Dhe-Paganon, K. Gruber, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2012, **109**, 6525.
- [29] M. Honda, H. Okutsu, T. Matsuura, *Jpn. J. Pharmacol.*, 2001, **87**, 261.

Praca wpłynęła do Redakcji 2 lutego 2014

