REVIEW

VERATROVÉ ALKALOIDY: BIOLOGIE, CHEMIE, FARMAKOLOGIE A TOXIKOLOGIE

Veratrum alkaloids: biology, chemistry, pharmacology and toxicology

Zdeňka Navrátilová¹, Jiří Patočka²

¹Univerzita Karlova v Praze, Přírodovědecká fakulta, katedra botaniky

²Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zdravotně sociální fakulta, katedra radiologie a toxikologie

Summary

There are more than 200 *Veratrum* alkaloids that occur in plants of the genus *Veratrum* L. (*Melanthiaceae*), which includes a number of American, European and Asian hellebores (particularly the *Veratrum viride* Ait. and *Veratrum album* L.). The alkaloids are present in the rhizome and roots and in lower amounts also in seeds and other parts of the plant. The *Veratrum* alkaloids exert considerable cardiovascular and neuromuscular effects and also affect the respiratory system. They increase the cholinergic tone and decrease the adrenergic tone with relevant side effects, and in higher doses, they inhibit breathing and induce cardiac arrhythmia. *Veratrum* alkaloids have strong hypotensive effects, but only esterified alkaloids (of cerveratrine type) have been used in specific cases as agents reducing the blood pressure. Their high toxicity and adverse effects, particularly feeling sick and vomiting, made the treatment difficult and their use was thus discontinued even in spite of their attractive vasodilating effects. They were mostly stepwise replaced with medicines having lower undesirable effects. The plants of the genus *Veratrum* are currently being used as components of homeopathic products only.

Hellebores have long been known as very poisonous plants causing vomiting, chest pain, faints with weak pulse, cramps and death. They are also known as strong teratogenic substances; the sheep fed on them frequently delivered lambs with central eye. This congenital anomaly, in which the sheep has one eye only, is caused by one of veratrine alkaloids, 11-deoxojervine (cyclopamine), a unique natural product with fascinating history. Cyclopamine was the first discovered inhibitor of hedgehog signalling, which is currently considered as a key regulator in the embryonal period, where it controls processes such as the cell proliferation, differentiation and organ development. There is a possibility that understanding of the role of the hedgehog signalling pathway in the pathogenesis of the tumour development will result in a progress in new treatment procedures.

Key words: *Veratrum* alkaloids – biology – chemistry – pharmacology – toxicology – hedgehog signalling

Souhrn

Existuje více než 200 veratrových alkaloidů, jež se vyskytují v rostlinách rodu *Veratrum* L. (*Melanthiaceae*), který zahrnuje řadu druhů amerických, evropských i asijských kýchavic (zejména *Veratrum viride* Ait. a *Veratrum album* L.). Alkaloidy jsou obsaženy zejména v oddenku a kořenech, méně v semenech a dalších částech rostlin. Veratrové alkaloidy mají významné kardiiovaskulární

a neuromuskulární účinky a také ovlivňují respirační systém. Zvyšují cholinergní a snižují adrenergní tonus s příslušnými vedlejšími účinky a při vyšších dávkách tlumí dýchání a vyvolávají srdeční arytmiie. Veratrové alkaloidy mají silné hypotenzivní účinky, ale pouze esterifikované alkaloidy (cerveratrinový typ) byly ve specifických případech používány jako prostředky na snižování krevního tlaku. Jejich vysoká toxicita a nežádoucí účinky, zejména nevolnost a zvracení, činily léčení obtížným a jejich používání bylo proto ukončeno, a to i přes jejich atraktivní vazodilatační účinky. Postupně byly většinou nahrazeny léčivy s menšími nežádoucími účinky. Dnes jsou rostliny rodu *Veratrum* používány pouze jako součást homeopatických preparátů.

Kýchavice byly již dlouho známy jako velmi jedovaté rostliny způsobující zvracení, bolesti na hrudníku, mdloby se slabým pulzem, křeče a smrt. Jsou také známé jako silné teratogeny; ovčím, které je požíraly, se často rodila jehňata s centrálním okem (kyklopie). Tato vrozená anomálie, při které mají ovce pouze jedno oko, je způsobena jedním z veratrových alkaloidů, 11-deoxojervinem (cyklopaminem), unikátním přírodním produktem s fascinující historií. Cyklopamin byl prvním nalezeným inhibitorem signalizace hedgehog, která je dnes považována za klíčový regulátor v embryonálním období, kde řídí procesy, jako jsou buněčná proliferace, diferenciacie a tvorba orgánů. Je možné, že pochopení úlohy signální dráhy hedgehog v patogenezi nádorového bujení povede k vývoji nových léčebných postupů.

Klíčová slova: veratrové alkaloidy – biologie – chemie – farmakologie – toxikologie – hedgehog signalizace

ÚVOD

Alkaloidy představují skupinu sekundárních metabolitů, které mají silný fyziologický účinek na lidský organismus, řada alkaloidů se proto používá v terapii různých onemocnění (Cordell, 2002). Veratrové alkaloidy obsažené v rostlinách rodu *Veratrum* (kýchavice) a v dalších rostlinách z čeledi *Melanthiaceae* se používaly odedávna v lidovém léčitelství a později i v klasické medicíně. Později bylo od jejich užívání pro přílišnou toxicitu upuštěno, současné studie však odhalují nové účinky na organismus a předpokládá se jejich využití v současné medicíně (Barceloux, 2008).

Botanické aspekty rostlin rodu *Veratrum*

Kýchavice (*Veratrum* L.) jsou jednoděložné rostliny z čeledi *Melanthiaceae* (kýchavicovité), dříve byly řazeny do čeledi *Liliaceae* (liliovité). Jsou to statné vytrvalé byliny s tlustým oddenkem, listy jsou široké, celokrajné, v mládí podle žilek nápadně zřasené. Květy jsou pravidelné, se 6 okvětními lístky, uspořádány jsou v latách. Plodem jsou tobolky, semena jsou obvykle křídlatá. Rod *Veratrum* zahrnuje 17–45 druhů (v závislosti na taxonomickém pojetí) rostoucích v mírném a arktickém pásu Eurasie a v mírném pásu Severní Ameriky (Chrtěk, 2010).

V České republice rostou 2 druhy rodu *Veratrum*: *Veratrum album* L. (kýchavice bílá, obr. 1) a *Veratrum nigrum* L. (kýchavice černá).

Obr. 1 Kýchavice bílá

(O. W. Thomé: Flora von Deutschland, Österreich und Schweiz 1885–1905)

Veratrum album se vyskytuje v ČR ve 2 poddruzích – ssp. *album* a ssp. *lobelianum*, které se liší

zejména zbarvením okvětních lístků. Tyto poddruhy jsou někdy uváděny jsou samostatné druhy. Kýchavice bílá roste zejména v montánním a supramontánním stupni na prameništích, loukách, nivách a pastvinách. *Veratrum album* ssp. *album* roste pouze v jižní části České republiky (Novohradské hory, Šumava), rozšířenější je u nás ssp. *lobelianum*, která roste v horách dosti hojně. Kýchavice černá roste vzácně ve světlých lesích, na pasekách a loukách na jižní Moravě (Džbán, Podýjí, Bílé Karpaty), vysazena byla v Českém krasu. *Veratrum album* ssp. *album* a *Veratrum nigrum* patří v České republice mezi chráněné rostliny (Kubát, 2002).

Etnobotanika rostlin rodu *Veratrum*

České jméno rostliny pochází z toho, že prášek ze sušeného oddenku způsobuje silné kýchání. Latinské jméno *Veratrum* pochází ze slov *verus* = pravý a *ater* = tmavý, a to podle tmavě zbarvených oddenků (Bruneton, 1999). Některé prameny však uvádějí i jiný původ jména, ze slova *verare* = mluvit pravdu, podle prášku způsobujícího kýchání (kýchnutí potvrzuje, že člověk mluví pravdu) (Polívka, 1996).

Kýchavice byla již od starověku používána pod jménem *helleboros leukos* (bílá čemeřice) k léčebným účelům, zejména k léčbě parazitárních onemocnění, kožních problémů, neuralgií a jako abortivum. Dále se používala k hubení hmyzu a hlodavců. Prášek se také přidával do šňupacího tabáku (MacDonald Hocking, 1997). Rostlinu uvádí ve svém Herbáři i Petr Ondřej Mathioli (Mathioli, 1998).

Rostlina poskytuje drogu *Veratri albi radix* (*rhizoma*), dřívě *Hellebori albi radix*, kterou tvoří sušený oddenek výrazně hořké chuti (Tomko et al., 1999). Záměnou za kořen hořce (*Gentianae radix*) docházelo k otrávám. Popsána byla souvislost mezi požíváním kýchavice březími zvířaty a výskytem kyklopie (*cyclopia*) u mláďat. V první polovině 20. století byla kýchavice součástí řady evropských lékopisů (Müller, 1936; Jirásek et al., 1957), používala se např. k léčbě hypertenze, myastenien a neuralgií. Tinktura se používala ve veterinární medicíně (Tomko et al., 1999).

Chemie veratrových alkaloidů

Hlavními biologicky účinnými látkami kýchavic jsou alkaloidy. Z hlediska obsahových látek byla kromě našich druhů kýchavic studována i řada

dalších druhů rodu *Veratrum* – např. *V. californicum* Durand a *V. viride* Ait., které rostou v Severní Americe, a *V. dahuricum* O. Loes., *V. taliense* O. Loes. a *V. maackii* Regel pocházející z Číny. Podobné obsahové látky jsou přítomny i v dalších zástupcích čeledi *Melanthiaceae* – např. *Schoenocaulon officinale* A. Gray (sabadilla) a *Zigadenus* spp. (Bruneton, 1999).

Kýchavice obsahují více než 200 různých alkaloidů steroidního typu, které se označují jako veratrové alkaloidy (Grančai a Grančaiová, 1994a, b; Barceloux, 2008). Oddenek a kořeny obsahují 1–2 % alkaloidů, méně toxická je nadzemní část rostliny, která obsahuje cca 0,5 % alkaloidů (Tomko et al., 1999; Schep et al., 2006). Většina z nich má ve steroidním skeletu, na rozdíl od jiných steroidních látek, cyklus C pětičlenný a cyklus D šestičlenný (C-*nor*-D-*homo*-steroidy). Některé ale mají normální steroidní strukturu. Veratrové alkaloidy se podle IUPAC klasifikace steroidů člení do 7 skupin (Grančai a Grančaiová, 1994a, b).

Rozdělení veratrových alkaloidů

Podle struktury uhlíkového skeletu lze rozdělit veratrové alkaloidy do sedmi typů:

1. alkaloidy jerveraninového typu;
2. alkaloidy veratraninového typu;
3. alkaloidy s cevadinovým skeletem;
4. solanidinové alkaloidy;
5. alkaloidy odvozené od cholestanu – alkaloidy 22,26-epiaminocholestanového typu;
6. alkaloidy odvozené od cholestanu – alkaloidy s 20-(2-metyl-1-pyrrolin-5-yl) pregnanovým skeletem;
7. alkaloidy odvozené od tomatininového skeletu.

Z praktických důvodů se veratrové alkaloidy rozděluje pouze do 2 skupin: alkaloidy typu *Cerveratrum* a alkaloidy typu *Jerveratrum*. Většina druhů kýchavic obsahuje alkaloidy *cerveratrového* i *jerveratrového* typu, zatímco rostliny rodu *Zigadenus* a *Schoenocaulon* obsahují téměř výhradně *cerveratrové* alkaloidy (Kar, 2008).

Nejvýznamnější veratrové alkaloidy

Alkaloidy *cerveratrového* typu se v rostlinách vyskytují nejčastěji ve formě esterů s různými organickými kyselinami a ve své molekule obsahují 7–9 atomů kyslíku. Patří mezi ně zejména protoveratrin A a B, veratridin, cevadin

(veratrin), germin a další. Alkaloidy jerveratrového typu se vyskytují v rostlině ve formě glykosidů nebo volných alkaminů a v molekule obsahují 1–4 atomy kyslíku. Patří mezi ně veratramin, jervin, 11-deoxojervin (= cyklopamin) a pseudojervin. Rubijervin patří mezi alkaloidy s normální steroidní strukturou (Bruneton, 1999).

Jako veratrin se zpravidla označuje směs alkaloidů izolovaná z kýchavice, hlavními složkami jsou veratridin a cevadin (Schep et al., 2006). Chemické struktury nejvýznamnějších veratrových alkaloidů cerveratrového typu jsou na obr. 2 a jerveratrového typu na obr. 3.

Obr. 2 Chemické strukturní vzorce významných veratrových alkaloidů cerveratrového typu

Obr. 3 Chemické strukturní vzorce významných veratrových alkaloidů jerveratrového typu

Farmakologie a toxikologie veratrových alkaloidů

Veratrové alkaloidy vykazují silný hypotenzivní účinek, zvyšují cholinergní a snižují adrenergní tonus, ve vyšších dávkách vyvolávají dechovou depresi a srdeční arytmie. Toxikologické vlastnosti veratrových alkaloidů jsou podmíněny jejich vazbou na napětově řízené Na⁺ kanály,

které z nich činí účinné neurotoxiny a kardiotoxiny. Rozdíly mezi toxicitou jednotlivých veratrových alkaloidů jsou značné. Např. rozdíl velikosti střední smrtné dávky (LD₅₀) pro myš při i. v. podání mezi nejtoxičtějším protoveratrinem a nejméně toxickým germinem je téměř 3000násobný (tabulka 1).

Tabulka 1 Toxicitní a fyzikální vlastnosti nejvýznamnějších veratrových alkaloidů

Alkaloid	LD ₅₀ , i. v. myš (mg/kg)	Informační zdroj	B. t. (°C)	Rozdělovací koeficient (log P)
Protoveratrin A	0,048	Goutier, 1950		
Protoveratrin B	0,065	Cheymol, Levassort, 1956		
Veratridin	0,42	Goutier, 1950	180	3,760
Cevadin	1	Goutier, 1950	213,5	
Veratramin	3,1	Koštář, Pádr, 1953	206	6,690
Jervin	9,3	Goutier, 1950	243	
Rubijervin	70	Goutier, 1950	242	6,180
Cevin	87	Goutier, 1950		
Germin	139	Goutier, 1950	220	1,840

Alkaloidy cerveratrového typu

Protoveratrin A a B – vyvolávají hypotermii (Cheymol, Levassort, 1956) a stimulují baroreceptory karotického sinu a prodlužují spánkovou apnoickou pauzu (Trbovic et al., 1997). Na modelu hypotenzních potkanů s poruchami dýchání bylo prokázáno, že obnovují kardiovaskulární funkce tím, že zvyšují periferní odpor krve a zvyšují srdeční výkon (Bertolini et al., 1990). Tento náález by mohl otevřít nový přístup v managementu první pomoci úrazů spojených s velkými ztrátami krve. Problémem však je, že protoveratrin jsou velmi jedovaté, nejedovatější z veratrových alkaloidů. Střední smrtná dávka protoveratrinu A (LD_{50}) pro králíka při i. v. podání je pouhých 0,0235 mg/kg, při s. c. podání 0,25 mg/kg, u potkana při s. c. podání 0,48 mg/kg (Cheymol, Levassort, 1956) a u myši při s. c. podání 0,29 mg/kg (Tanaka, 1955).

Veratridin – je neurotoxin, který se váže na napěťově řízené Na^+ kanály citlivé na tetrodotoxin (Zhu et al., 2009). Na srdeční sval má pozitivně inotropní účinek (Honerjäger, Reiter, 1975) a prodlužuje srdeční akční potenciál (Brill, Wasserstrom, 1986). Ovlivňuje také vyplavování katecholaminů (Ito et al., 1979) a zvýšením produkce superoxidu vyvolává apoptózu buněk (Jordán et al., 2000). Akutní toxicita veratridinu je vysoká, literatura udává LD_{50} pro myš i. v. 0,42 mg/kg (Goutier, 1950) a i. p. 1,35 mg/kg (Swiss, Bauer, 1951). Hodnota LD_{50} pro s. c. podání je 6,3 mg/kg (Tanaka, 1955). Veratridin je metabolizován v játrech cytochromem P450, identifikováno bylo celkem 7 metabolitů (Ye et al., 2009).

Germin – zvyšuje tenzi izolovaného freniko-diafragmatického preparátu (Foldes et al., 1969) a inhibuje neuromuskulární blok u experimentální otravy botulotoxinem (Cherington et al., 1972). Je relativně málo jedovatý, ale je kardiotoxický. Velikost LD_{50} pro myš při i. v. podání je 139 mg/kg (Goutier, 1950) a při s. c. podání >200 mg/kg (Tanaka, 1955).

Alkaloidy jerveratrového typu

Veratramin – antagonizuje účinek adrenalinu, isoproterenolu, prostaglandinu E2 a glukagonu v buněčné kultuře embryonálních myocytů. Tlumí digoxinem indukovanou fibrilaci myocytů, ale sám ani v kombinaci s adrenalinem nemění inotropní parametry jednotlivých myocytů. Tento účinek veratraminu není způsoben receptoro-

vým mechanismem, ale ovlivněním transportu iontů přes buněčnou membránu (Horackova, Vassort, 1973; Varbanov, Vollenberger, 1979). Veratramin také vykazuje hemolytickou aktivitu a slabý cytotoxický efekt (Badria et al., 1995). Akutní toxicita je vysoká, LD_{50} pro myš je při i. v. podání 3,1 mg/kg (Košťál, Pádr, 1953), při s. c. podání 4,5 mg/kg (Tanaka, 1955) a LD_{50} pro králíka při p. o. podání 33 mg/kg (Keeler, 1970).

Jervin – je embryotoxický a teratogenní a vyvolává kraniofaciální deformace plodu (Sim et al., 1983). Jeho akutní toxicita (LD_{50}) pro myš je při podání i. v. 9,3 mg/kg (Goutier, 1950), s. c. 29 mg/kg (Tanaka, 1955) a p. o. 260 mg/kg (Omnell et al., 1990).

11-Deoxojervin (cyklopamin) – je podobně jako jervin teratogenní (Masamune et al., 1965) a způsobuje vážné poškození plodu, tzv. kyklopii (Gaffield et al., 1999).

Rubijervin – byl izolován z *V. californicum* (Keeler, 1974) a je látkou zodpovědnou za teratogenitu této rostliny (Keeler, Binns, 1968). Podobně jako jervin a cyklopamin také rubijervin způsobuje malformace (Freeman, 1975).

Mechanismus účinku veratrových alkaloidů

Veratrové alkaloidy vyvolávají zvýšení tonu parasympatického nervového systému, tzv. Bezold-Jarischův reflex (Aviado, Guevara Aviado, 2001), který je charakterizován bradykardií, vazodilatací a poklesem krevního tlaku (Schep et al., 2006). Vedle toho tyto alkaloidy stimulují baroreceptory v karotickém sinu a v levé srdeční komoře a tím se dále zesiluje jejich hypotenzivní účinek (Schep et al., 2006; Wang et al., 2008). Stimulací a následnou paralýzou senzorických nervových zakončení vyvolávají parestzie a znecitlivění (Frohne, Pfänder, 2005). Alkaloidy také vyvolávají silné zvracení (Bruneton, 1999). Molekulární mechanismus působení veratrových alkaloidů na nervový systém souvisí s ovlivněním aktivity některých napěťově řízených Na^+ kanálů a následným zvýšením permeability cytoplazmatické membrány pro Na^+ . Tyto kanály jsou zodpovědné za vznik a šíření akčních potenciálů (Schep et al., 2006). Otrava veratrovými alkaloidy se podobá otravě digoxinem (Bechtel et al., 2010).

Otravy kýchavíci

Většina druhů kýchavic (*Veratrum* spp.) je spojena s otravami zvířat i lidí (Connolly, 1957). Za

toxicitu jsou zodpovědné především veratrové alkaloidy. Zvyšují permeabilitu Na^+ kanálů tím, že se váží na jejich receptorové místo 2, způsobují influx sodíkových kationtů, depolarizaci membrány a vyvolávají apoptózu nervových buněk (Schep et al., 2006). Vysoce toxické jsou zejména cerveratrové alkaloidy, jejich toxicita roste se zvyšujícím se stupněm esterifikace. Jerveratrové alkaloidy ve formě glykosidů vykazují nižší toxicitu. Letální dávka pro člověka je cca 20 mg alkaloidů, což odpovídá 1–2 g sušeného oddenku (Hrdina et al., 2004; Frohne, Pfänder, 2005).

Otravy zvířat

K otravám zvířat nedochází příliš často, protože dobytek se na pastvě kýchavici obvykle vyhýbá. Otrava byla popsána u koně, skotu, ovce, kozy, psa a kočky, projevuje se neklidem, sliněním, zvracením, průjemem, svalovou slabostí, nejistou chůzí, ochrnutím, někdy křečemi (Jirásek et al. 1957).

V Severní Americe byl popsán teratogenní účinek *V. californicum* a *V. viride* u ovcí (Van Kampen et al., 1969). Pokud zvířata během 2. a 3. týdne březosti požívají kýchavici, dochází k poruchám embryonálního vývoje zárodku a u narozených mláďat se objevují různé malformace – kyklopie a cebocefalie, deformity končetin a tracheální stenóza (Binns et al., 1965; Keeler, Binns, 1968; Bryden et al., 1971). Za teratogenní účinek zodpovídá jervin, cyklopamin a cykloposin, při studiích na dalších druzích savců (koza, prase, skot) byly získány obdobné výsledky (Binns et al., 1972; Mulvihill, 1972). Alkaloidy interferují s vývojem neurální trubice a ovlivňují diferenciaci chrupavky z mezenchymu (Hrdina et al., 2004; Schep et al., 2006).

Otravy lidí

K otravám lidí dochází příležitostně záměnou oddenků kýchavice bílé za kořeny hořce žlutého (*Gentiana lutea* L.) při výrobě domácího vína (vegetativní části rostlin jsou si vzrůstem podobné a rostliny rostou na stejných biotopech), a to zejména v alpských oblastech (Frohne, Pfänder, 2005).

Po pozření se objeví pocity pálení v ústech a v krku, zánět sliznice dutiny ústní, znečitlivění sliznic a sucho v ústech (Quatrehomme et al., 1993). Otravu často provázejí silné průjemy a zvracení, dále kýchání, krvácení z nosu, slzení

a překrvení spojivek. Protoveratrin rozšiřují cévy, což vede ke snížení krevního tlaku. Smrt může nastat selháním dechu a srdeční činnosti. Dále se objevují parestezie končetin, postupně celého těla, bolesti břicha, pokles tělesné teploty a pocit chladu. Při těžké otravě dochází k výraznému poklesu tlaku, bradykardii, arytmiím a zástavě dýchání (Festa et al., 1996; Zagler et al., 2005). Smrt může nastat již po třech hodinách. Není známo specifické antidotum, terapie spočívá zejména v monitorování a podpoře srdeční činnosti (Jirásek et al., 1957; Frohne, Pfänder, 2005).

Švýcarští autoři (Rauber-Lüthy et al., 2010) publikovali retrospektivní studii 11 dětí ve věku 8–12 let, které požíly nahodile malé množství *V. album*. Na letním táboře se při hromadném sběru čerstvých rostlin pro přípravu čaje do směsi dostala i kýchavice a po vypití čaje došlo k hromadné intoxikaci. Dvě děti byly bez příznaků (18 %), u devíti dětí se objevil gastrointestinální syndrom (82 %), šest dětí (55 %) mělo neurologické symptomy a u tří dětí (27 %) se objevila bradykardie. Příznaky otravy vymizely u všech dětí do 10 hodin po vypití čaje. Identifikace veratridinu a cevadinu v krvi pomocí HPLC s hmotovým spektrometrem však byla negativní (mez citlivosti 0,01 ng/ml).

Podobnou intoxikaci 49letého muže, který vypil 2 sklenky alkoholického nápoje připraveného omylem místo z hořce žlutého (*Gentiana lutea*) z kýchavice, popsali Grobosch et al. (2008). Krátce po vypití nápoje (2 × 20 ml) se u něj objevila nauzea, zvracení a parestezie v oblasti úst. Byl převezen do nemocnice, kde byla diagnostikována bradykardie (35 tepů/min.) a hypotenze (50/30 mmHg). Intoxikovanému bylo podáno aktivní uhlí, antiemetika (metoklopramid, ondansetron), atropin a i. v. elektrolyty. Podezření na otravu kýchavici bylo potvrzeno nálezem protoveratrinů A a B ve vzorcích nápoje i ve vzorcích krve. Nápoj obsahoval 25 % ethanolu, 20,4 mg/l protoveratrinu A a 1,16 mg/l protoveratrinu B. V nápoji nebyl nalezen veratridin, cevadin ani jervin. Čtyřicet hodin po intoxikaci byl pacient bez příznaků a byl propuštěn z nemocnice do domácího ošetřování.

Ve starší literatuře je popsáno větší množství případů otravy lidí různými druhy kýchavic (Nelson, 1954; Albano, Fragasso, 1956; Seeliger, 1956; Berezhnitskii, Parashchak, 1969; Crum-

mett et al., 1985; Garnier et al., 1985; Marinov et al., 1987; Komchatov, Nasirov, 1988; Jaffe et al., 1990). Intoxikace sice nejsou časté, ale rozhodně ne vzácné. V 70. letech minulého století byly v Evropě, zejména ve skandinávských zemích, zaznamenány akutní intoxikace způsobené aplikací šňupacího tabáku s přidavkem kýchavice, který pocházel např. z tehdejší Spolkové republiky Německo (Hruby et al., 1981; Sanchez, 1982; Sieben et al., 1982; Carlier et al., 1983; Fogh et al., 1983).

Veratrové alkaloidy v současné medicíně

Ve 20. století byla kýchavice používána k léčbě hypertenze (přípravek Veriloid a další) a eklampsie (přípravek Veratrone), ale od jejího užívání se pro přílišnou toxicitu, vysoký výskyt nežádoucích účinků (zejména zvracení) již při terapeutické dávce a nízký terapeutický index upustilo (Hollman, 2003). V současné době se používá pouze v homeopatii.

V posledních letech probíhá řada studií, které zkoumají možnost využití cyklopaminu a jemu podobných látek k terapii nádorových onemocnění, a to ovlivněním signální dráhy hedgehog (Watson et al., 2010).

Sonic hedgehog (Shh) je skupina hedgehog genů (Hh), které ovlivňují u obratlovců diferenciaci buněk a polarizaci zárodku – v různých částech zárodku je různá koncentrace Shh signálních proteinů. V dospělosti Shh ovlivňuje proliferaci buněk a abnormální aktivaci tohoto systému může dojít k rakovinnému bujení a dalším onemocněním, např. psoriáze (Kuenzli et al., 2004; Hovhannisyan, 2009).

Transmembránový protein Patched (Ptch) potlačuje v nepřítomnosti Hh proteinu signální funkci druhého transmembránového proteinu Smoothened (Smo). Navázání Hh na Ptch vede k aktivaci Smo, který aktivuje transkripci Hh cílových genů. Výskyt některých typů nádorů je spojen s mutací Smo genu a s mutací způsobující ztrátu funkce Ptch genu (Hovhannisyan, 2009). Abnormální aktivace Hh signální dráhy byla zjištěna u různých typů nádorů, např. bazocelulárního karcinomu, meduloblastomu, rhabdomyosarkomu, karcinomu slinivky břišní, prostaty, prsu a kolorektálního karcinomu (Heretsch et al., 2010). Cyklopamin a další látky interagují se Smo a fungují jako inhibitory hedgehog signální dráhy (HPI – hedgehog pathway inhibitors) a tím potlačují růst nádorů (Xu et al., 2009).

Závažné problémy při léčbě nádorových onemocnění způsobuje tzv. MDR (multi-drug resistance). Molekulární pumpy (P-glykoprotein MDR-1 a MRP protein) jsou schopné transportovat cytostatikum ven z buněk, tyto buňky pak jsou rezistentní k řadě cytostatik a dochází k selhání chemoterapeutické léčby. Veratrové alkaloidy veralosinin a veranigrin mohou modifikovat transportní funkci MDR a tím zvyšují účinnost cytostatik, např. doxorubicinu (Ivanova et al., 2011) a paclitaxelu (Schafae et al., 2006). Cyklopamin zvyšuje uptake cytostatika do buněk a tím zesiluje jeho účinek (Lavie et al. 2001). Zaznamenáno bylo také zvýšení účinnosti radio-terapie po aplikaci cyklopaminu (Schafae et al., 2006).

K obtížně léčitelným typům nádorů patří zejména karcinom slinivky břišní; pět let po stanovení diagnózy se dožívají pouze 4 % pacientů. Karcinom slinivky břišní představuje v rozvinutých zemích čtvrtou nejčastější příčinu úmrtí na nádorová onemocnění (Kim, Gallick, 2008). V patogenezi karcinomu slinivky břišní se často uplatňuje i mutace Smo genu a ztráta funkce Ptch genu. Při experimentech na geneticky upravených myších byla po aplikaci cyklopaminu prodloužena doba přežití a i *in vitro* bylo zjištěno působení proti rakovinným buňkám. Inhibice hedgehog signální dráhy se tedy jeví jako možná strategie při léčbě tohoto onemocnění (Schafae et al., 2006; Heretsch et al., 2010).

Další perspektivy veratrových alkaloidů

Cyklopamin je poměrně špatně rozpustný a nestabilní v kyselém prostředí, proto se pracuje na vývoji derivátů s vhodnějšími vlastnostmi. Byl získán semisyntetický analog IPI-926 a další výzkum probíhá (Tremblay et al., 2009). Předpokládá se další využití veratrových alkaloidů či jejich derivátů jako cytostatik a také v kombinaci s jinými cytostatiky k zesílení jejich účinku (Hovhannisyan, 2009; Xu et al., 2009).

ZÁVĚR

Kýchavice (*Veratrum* spp.) jsou prudce jedovaté rostliny, které obsahují řadu steroidních alkaloidů, souhrnně označovaných jako veratrové alkaloidy. Nejdůležitějšími jsou protoveratrin A a B, které jsou významně toxické. Dalším důležitým alkaloidem je jervin, který je prokázaným teratogenem u ovcí. Je toxický i pro člověka,

u něhož způsobuje selhání oběhu, průjmy a křeče. Silným teratogenem je také cyklopamin. Pokud působí na vyvíjející se plod, je zodpovědný za malformace typu kyklopie (zrůdnost, při níž obě oči splývají v jedno). Dlouho známá skupina veratrových alkaloidů ukazuje na některé dosud neznámé mechanismy jejich biologického účinku, které mohou vést k novým typům cytostatik.

LITERATURA

- Albano T, Fragasso V (1956). Accidental poisoning with *Veratrum album* with special reference to electrocardiographical data. [Article in Italian] *Minerva Med.* 47/16: 529–533.
- Aviado DM, Guevara Aviado D (2001). The Bezold-Jarisch reflex. A historical perspective of cardiopulmonary reflexes. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 940: 48–58.
- Badria FA, Mcchesney JD, Halim AF, Zaghloul AM, el Sayed KA (1995). Time course and inhibition of stavarside K, veratramin and cervine-induced hemolysis by other pregnane glycosides and *Veratrum* alkaloids. *Pharmazie.* 50/6: 421–423.
- Barceloux DG (2008). Medical Toxicology of Natural Substances: Foods, Fungi, Medicinal Herbs, Plants, and Venomous Animals. 136. *Veratrum* Alkaloids. John Wiley & Sons, Inc. 1140 p.
- Bechtel LK, Lawrence DT, Haverstick D, Powers JS, Wyatt SA, Croley T, Holstege CP (2010). Ingestion of false hellebore plants can cross-react with a digoxin clinical chemistry assay. *Clin. Toxicol. (Phila.)* 48/5: 435–442.
- Berezhnitskii MN, Parashchak AP (1969). 2 cases of poisoning with *Veratrum album* tincture. [Article in Russian] *Sov. Med.* 32/2: 141.
- Bertolini A, Ferrari W, Guarini S, Tadliavini S (1990). Circulatory and respiratory consequences of massive hemorrhage are reversed by protoveratrin. *Experientia.* 46/7: 704–708.
- Binns W, Shupe JL, Keeler RF, James LF (1965). Chronologic evaluation of teratogenicity in sheep fed *Veratrum californicum*. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 147/8: 839–842.
- Binns W, Keeler RF, Balls LD (1972). Congenital deformities in lambs, calves, and goats resulting from maternal ingestion of *Veratrum californicum*: hare lip, cleft palate, ataxia, and hypoplasia of metacarpal and metatarsal bones. *Clin. Toxicol.* 5/2: 245–261.
- Brill DM, Wasserstrom JA (1986). Intracellular sodium and the positive inotropic effect of veratridine and cardiac glycoside in sheep Purkinje fibers. *Circ. Res.* 58/1: 109–119.
- Bruneton J (1999). Pharmacognosy. Phytochemistry. Medicinal Plants. 2nd ed. Intercept Ltd, Londres, Paris, New York, pp. 1061–1062.
- Bryden MM, Evans HE, Keeler RF (1971). Cyclopia in sheep caused by plant teratogens. *J. Anat.* 110/3: 507.
- Carlier P, Efthymiou ML, Garnier R, Hoffelt J, Fournier E (1983). Poisoning with *Veratrum*-containing sneezing powders. *Hum. Toxicol.* 2/2: 321–325.
- Connelly JP (1957). Toxic hazards; accidental ingestion of a *Veratrum* alkaloid. *N. Engl. J. Med.* 257/12: 577–578.
- Cordell GA (2002). The Alkaloids. Academic Press, 368 p.
- Crummett D, Bronstein D, Weaver Z (1985). Accidental *Veratrum viride* poisoning in three “ramp” foragers. *N. C. Med. J.* 46/9: 469–471.
- Festa M, Andreotto B, Ballaris MA, Panio A, Piervittori R (1996). A case of *Veratrum* poisoning. [Article in Italian] *Minerva Anesthesiol.* 62/5: 195–196.
- Fogh A, Kulling P, Wickstrom E (1983). *Veratrum* alkaloids in sneezing-powder a potential danger. *J. Toxicol. Clin. Toxicol.* 20/2: 175–179.
- Foldes FF, Brodmann EB, Kranzler HN, Underwood PS, Hemsworth BA (1969). Effects of germin diacetate on the rat phrenic nerve-diaphragm preparation. *Anesthesiology.* 31: 522–531.
- Freeman RB (1975). Analysis of neuraxial anomalies of chick embryos induced by alkaloids of *Veratrum californicum*. *Dis. Abstr. Int. B.* 36: 3720.
- Frohne D, Pfänder HJ (2005). Poisonous Plants. A Handbook for Doctors, Pharmacists, Toxicologists, Biologists and Veterinarians. 2nd ed. Timber Press Oregon, USA, pp. 265–268.
- Gaffield W, Incardona JP, Kapur RP, Roelink H (1999). A looking glass perspective: thalidomide and cyclopamine. *Cell Mol. Biol. (Noisy-le-grand).* 45/5: 579–588.
- Garnier R, Carlier P, Hoffelt J, Savidan A (1985). Acute dietary poisoning by white hellebore (*Veratrum album* L.). Clinical and analytical data. A propos of 5 cases. [Article in French] *Ann. Med. Interne (Paris).* 136/2: 125–128.
- Goutier R (1950). Sensitization to potassium ions and decurization by some *Veratrum* alkaloids. *Brit. J. Pharmacol.* 5/1: 33–36.
- Grančai D, Grančaiová Z (1994a). Veratrové alkaloidy I. *Ceska Slov. Farm.* 43/4: 147–154.
- Grančai D, Grančaiová Z (1994b). Veratrové alkaloidy II. *Ceska Slov. Farm.* 43/5: 200–208.
- Grobosch T, Binscheck T, Martens F, Lampe D (2008). Accidental intoxication with *Veratrum album*. *J. Anal. Toxicol.* 32/9: 768–773.
- Heretsch P, Tzagkaroulaki L, Giannis A (2010). Cyclopamine and Hedgehog Signaling: Chemistry, Biology, Medical Perspectives. *Angew. Chem. Int. Ed.* 49/20: 3418–3427.
- Hollman A (2003). The *Veratrum* alkaloids, eclampsia of pregnancy, and hypertension. *DCVM.* 8/4: 229–233.
- Honerjäger P, Reiter M (1975). The relation between the effect of veratridine on action potential and contraction in mammalian ventricular myocardium. *Naunyn Schmiedeberg Arch. Pharmacol.* 289/1: 1–28.
- Horackova M, Vassort G (1973). Ionic mechanism of inotropic effect of veratrine on frog heart. *Pflügers Arch.* 341/4: 281–284.
- Hovhannisyán A, Matz M, Gebhardt R (2009). From Teratogens to Potential Therapeutics: Natural Inhibitors of the Hedgehog Signaling Network Come of Age. *Planta Med.* 75/13: 1371–1380.

33. Hrdina V, Hrdina R, Jahodář L, Martinec Z, Měrka V (2004). Přírodní toxiny a jedy. Galen a Karolinum Praha, pp. 63–65.
34. Hruby K, Lenz K, Krausler J (1981). *Veratrum album* poisoning. [Article in German] Wien. Klin. Wochenschr. 93/16: 517–519.
35. Cherington M, Soyer A, Greenberg H (1972). Effect of guanidine and germin on the neuromuscular block of botulism. Curr. Ther. Res. 14/2: 91–94.
36. Cheymol J, Levassort C (1956). Protoveratrine-induced hypothermia & its opposite behavior with different types of fever. [Article in French] Ann. Pharm. Fr. 14/12: 783–794.
37. Chrtěk J, jr. (2010). *Veratrum* L. In: Štěpánková J et al. (eds.): Květena ČR 8. Academia Praha, pp. 392–397.
38. Ito S, Nakazato Y, Ohga A (1979). The effect of veratridine on the release of catecholamines from the perfused adrenal gland. Br. J. Pharmacol. 65/2: 319–330.
39. Ivanova A, Serly J, Christov V, Stamboliyska B, Molnar J (2011). Alkaloids derived from genus *Veratrum* and *Peganum* of Mongolian origin as multidrug resistance inhibitors of cancer cells. Fitoterapia. 82/4: 570–575.
40. Jaffe AM, Gephardt D, Courtemanche L (1990). Poisoning due to ingestion of *Veratrum viride* (false hellebore). J. Emerg. Med. 8/2: 161–167.
41. Jirásek V, Zadina R, Blažek Z (1957). Naše jedovaté rostliny. Nakladatelství ČSAV Praha, pp. 303–306.
42. Jordán J, Galindo MF, Calvo S, González-García C, Cena V (2000). Veratridine induces apoptotic death in bovine chromaffin cell through superoxide production. Br. J. Pharmacol. 130/7: 1496–1504.
43. Kar A (2008). Pharmacognosy and Pharmacobiotechnology. 2nd ed. Anshan Publishers, pp. 419–427.
44. Keeler RF (1970). Teratogenic compounds of *Veratrum californicum* (Durand) X. Cyclopia in rabbits produced by cyclopamine. Teratology. 3/2: 175–180.
45. Keeler RF (1974). Isolation of rubijervine from *Veratrum californicum*. Phytochemistry. 13/10: 2336–2337.
46. Keeler RF, Binns W (1968). Teratogenic compounds of *Veratrum californicum* (Durand) V. Comparison of cyclopian effects of steroidal alkaloids from the plant and structurally related compounds from other sources. Teratology. 1/1: 5–10.
47. Kim MP, Gallick GE (2008). Gemcitabine Resistance in Pancreatic Cancer: Picking the Key Players. Clin. Cancer Res. 14/2: 1284–1285.
48. Komchatov IN, Nasirov GS (1988). Poisoning by a tincture of false hellebore. [Article in Russian] Sud. Med. Ekspert. 31/1: 51–52.
49. Košťál J, Pádr Z (1953). Veratrové alkaloidy. Cesk. Farm. 2/12: 418–422.
50. Kubát K (ed.) (2002). Klíč ke květeně České republiky. Academia Praha, 928 p.
51. Kuenzli S, Sorg O, Saurat JH (2004). Cyclopamine, Hedgehog and Psoriasis. Dermatology. 209/2: 81–83.
52. Lavie Y, Harel-Orbital T, Garfield W, Liscowitch M (2001). Inhibitory effect of steroidal alkaloids on drug transport and multidrug resistance in human cancer cells. Anticancer Res. 21/2A: 1189–1194.
53. MacDonald Hocking G (1997). A Dictionary of Natural Products. Information Today Inc., USA, 841 p.
54. Marinov A, Koev P, Mirchev N (1987). Electrocardiographic studies of patients with acute hellebore (*Veratrum album*) poisoning. [Article in Bulgarian] Vutr. Boles. 26/6: 36–39.
55. Masamune T, Mori Y, Takasugi M et al. (1965). 11-Deoxyjervine, a new alkaloid from *Veratrum* species. Bull. Chem. Soc. Jpn. 38/8: 1374–1378.
56. Mathioli PO (1998). Herbář neboli bylinář. V úpravě J.A. Zentricha. Nakl. Fontána, 450 p.
57. Mulvihill JJ (1972). Congenital and genetic disease in domestic animals. Science. 176/31: 132–137.
58. Müller K (1936). Soudobý lékařský herbář květeny ČSR. Praktický lékař Praha, pp. 420–421.
59. Nelson DA (1954). Accidental poisoning by *Veratrum japonicum*: a clinical report. J. Am. Med. Assoc. 156/1: 33–34.
60. Omnell ML, Sim FR, Keeler RF, Harne LC, Brown KS (1990). Expression of *Veratrum* alkaloid teratogenicity in the mouse. Teratology. 42/2: 105–119.
61. Polívka F (1996). Užitkové a pamětihodné rostliny cizích zemí. Reprint z roku 1908, Volvox globator Praha, 308 p.
62. Quatrehomme G, Bertrand F, Chauvet C, Ollier A (1993). Intoxication from *Veratrum album*. Hum. Exp. Toxicol. 12/2: 111–115.
63. Rauber-Lüthy C, Halbsguth U, Kupferschmidt H, König N, Mégevand C, Zihlmann K, Ceschi A (2010). Low-dose exposure to *Veratrum album* in children causes mild effects – a case series. Clin. Toxicol. (Phila). 48/3: 234–237.
64. Sanchez G (1982). Severe circulatory insufficiency caused by sneezing powder containing *Veratrum* alkaloids. [Article in Danish] Ugeskr. Laeger. 144/42: 3098–3099.
65. Seeliger J (1956). Unusual case of poisoning with white hellebore. [Article in German] Arch. Toxikol. 16/1: 16–18.
66. Shafae Z, Schmidt H, Du W, Posner M, Weichselbaum R (2006). Cyclopamine increases the cytotoxic effects of paclitaxel and radiation but not cisplatin and gemcitabine in Hedgehog expressing pancreatic cancer cells. Cancer Chemother. Pharmacol. 58/6: 765–770.
67. Schep LJ, Schmieder MD, Fountain JS (2006). *Veratrum* Poisoning. Toxicol. Rev. 25/2: 73–78.
68. Sieben P, Rørdam AM, Thomsen ES (1982). Poisoning with sneezing powder. [Article in Danish] Ugeskr. Laeger. 144/24: 1780.
69. Sim FR, Matsumoto N, Goulding EH et al. (1983). Specific craniofacial defects induced by jervine in the cultured rat embryo. Teratog. Carcinog. Mutagen. 3/2: 111–121.
70. Swiss ED, Bauer RO (1951). Acute toxicity of *Veratrum* derivatives. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 76/4: 847–849.
71. Tanaka K (1955). Studies on *Veratrum* alkaloids. XX. Actions of *Veratrum* alkaloids upon the central nervous system of mice. J. Pharmacol. Exp. Ther. 113/1: 89–99.
72. Tomko J et al. (1999). Farmakognózia. 2. vydání. Osveta Martin, 358 p.

73. Trbovic SM, Radulovacki M, Carley DW (1997). Protoveratrine A and B increase sleep apnea index in Sprague-Dawley rats. *J. Appl. Physiol.* 83/5: 1602–1606.
74. Tremblay MR, Lescarbeau A, Grogan MJ, Tan E, Lin G, Austad BC, Yu LC, Behnke ML et al. (2009). Discovery of a potent and orally active hedgehog pathway antagonist (IPI-926). *J. Med. Chem.* 52/14: 4400–4418.
75. Van Kampen KR, Binns W, James LF, Balls LD (1969). Early embryonic death in ewes given *Veratrum californicum*. *Am. J. Vet. Res.* 30/4: 517–519.
76. Varbanov V, Vollenberger A (1979). Antiaccelerative and antiarrhythmic effect of veratramin on myocardial cells in culture. [Article in Russian] *Kardiologia.* 19/7: 94–98.
77. Wang L, Li W, Liu Y (2008). Hypotensive effect and toxicology of total alkaloids and veratramine from roots and rhizomes of *Veratrum nigrum* L. in spontaneously hypertensive rats. *Pharmazie.* 63/8: 606–610.
78. Watson S, Serrate C, Vignot S (2010). Sonic Hedgehog signalling pathway: from embryology to molecular targeted therapies. [Article in French] *Bull. Cancer.* 97/12: 1477–1483.
79. Xu FG, Ma QY, Wang Z (2009). Blockade of hedgehog signaling pathway as a therapeutic strategy for pancreatic cancer. *Cancer Letters.* 283/2: 119–124.
80. Ye X, Wang Y, Yang M, Wang Q, Liang Q, Ma Z, Zhang B, Gao Y (2009). Investigating the *in vitro* metabolism of veratridine: characterization of metabolites and involved cytochrome P450 isoforms. *J. Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life. Sci.* 877/3: 141–148.
81. Zagler B, Zelger A, Salvatore C et al. (2005). Dietary poisoning with *Veratrum album* – a report of two cases. *Wien. Klin. Wochenschr.* 117/3: 106–108.
82. Zhu HL, Wassall RD, Takai M, Morinaga H, Nomura M, Cunnane TC, Teramoto N (2009). Actions on tetrodotoxin-sensitive voltage-gated Na currents, Na1.6, in murine vas deferens myocytes. *Br. J. Pharmacol.* 157/8: 1483–1493.

Zdeňka Navrátilová, Jiří Patočka
navratil@natur.cuni.cz