

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ

KATEDRA FARMACEUTICKÉ BOTANIKY A EKOLOGIE



BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Antioxidanty přírodního původu ovlivňující paměť

Antioxidants of natural origin influencing memory

Vedoucí bakalářské práce: PharmDr. Jana Karlíčková, Ph.D.

Hradec Králové, 2013

Denisa Dlabajová

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že tato práce je mým původním autorským dílem. Veškerá literatura a další zdroje, z nichž jsem při zpracování čerpala, jsou uvedeny v seznamu použité literatury a v práci řádně citovány. Práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Hradci Králové, září 2013

jméno, příjmení

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych touto cestou poděkovala PharmDr. Janě Karlíčkové, Ph.D. za odborné vedení, poskytnutí cenných rad, obětavost a za všestrannou pomoc při vypracování této bakalářské práce.

OBSAH

| | |
|---|----|
| 1. ÚVOD | 6 |
| 2. CÍL PRÁCE | 8 |
| 3. TEORETICKÁ ČÁST | 9 |
| 3.1. Rostliny ovlivňující paměť – zařazení do systému | 9 |
| 3.2. Rostliny a jejich obsahové látky | 11 |
| 3.3. Přírodní antioxidanty | 12 |
| A) Extrakty z rostlin | 12 |
| - <i>Acorus gramineus</i> | 12 |
| - <i>Angelica gigas</i> | 13 |
| - <i>Bacopa monnieri</i> | 13 |
| - <i>Catha edulis</i> | 14 |
| - <i>Centella asiatica</i> | 15 |
| - <i>Coeloglossum viride</i> | 16 |
| - <i>Crocus sativus</i> | 17 |
| - <i>Curcuma longa</i> | 18 |
| - <i>Ginkgo biloba</i> | 19 |
| - <i>Glycyrrhiza glabra</i> | 21 |
| - <i>Hibiscus asper</i> | 21 |
| - <i>Ilex paraguariensis</i> | 22 |
| - <i>Lavandula angustifolia</i> | 24 |
| - <i>Lepidium meyenii</i> | 25 |
| - <i>Magnolia officinalis</i> | 26 |
| - <i>Murraya koenigii</i> | 26 |
| - <i>Opuntia ficus-indica</i> | 27 |
| - <i>Panax ginseng</i> | 28 |
| - <i>Prunella vulgaris</i> | 28 |
| - <i>Punica granatum</i> | 29 |

| | |
|---|----|
| - <i>Rhodiola rosea</i> | 30 |
| - <i>Scutellaria baicalensis</i> | 31 |
| - <i>Schisandra chinensis</i> | 32 |
| - <i>Vaccinium angustifolium</i> | 32 |
| - <i>Angelica gigas, Saururus chinensis, Schizandra chinensis</i> | 33 |
| - Ženšen, jinan, brahmi, šalvěj, fytoestrogeny | 34 |
| B) Kulinařské rostliny | 36 |
| - Zelený čaj..... | 36 |
| - Česnek..... | 37 |
| - Hroznová semena | 37 |
| - Sójové boby | 38 |
| C) Obsahové látky s antioxidační aktivitou | 40 |
| - Kurkumin, acetyl-l-karnitin | 40 |
| - Vitamín E, vitamín C | 41 |
| - Lentinan | 41 |
| - Resveratrol..... | 42 |
| 4. DISKUSE A ZÁVĚR | 44 |
| 5. ABSTRAKT | 46 |
| 6. ABSTRACT | 47 |
| 7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK | 48 |
| 8. POUŽITÁ LITERATURA | 50 |

1. ÚVOD

Lidé se dožívají stále vyššího věku, což s sebou přináší i některá negativa, mezi které patří stále častější výskyt neurodegenerativních onemocnění (Alzheimerova choroba (AD)), poruch kognitivních funkcí a demence. Klíčovým faktorem ve vývoji a postupu AD je tvorba 4-kD a β -amyloid peptidu. Bylo identifikováno několik buněčných změn, které souvisejí s usazeninami β -amyloidu a neurofibrilárními pletenci nacházenými při autopsii v mozku pacientů s AD i zvířecích modelů AD. Pro léčbu AD bylo vyvinuto několik terapeutických strategií včetně protizánětlivých, antioxidačních a anti-amyloidních přístupů. V poslední době je u zvířecích a buněčných modelů s AD i při klinických pokusech se subjekty s AD velmi často testována rostlinná léčba.^[1]

Využití antioxidantů přírodního původu k prevenci či podpůrné léčbě těchto chorob pro minimum nežádoucích účinků vede k jejich stále větší oblibě, a proto se jedná o dynamickou oblast výzkumu.

V řadě případů je komplex látek (rostlinný extrakt např. z *Camellia sinensis*, *Ginkgo biloba* apod.) účinnější než izolované látky. Rostlinný extrakt tvoří spektrum účinných i doprovodných obsahových látek. Místem působení těchto látek na organismus jsou proteiny (receptory, enzymy), biomembrány, hormony, DNA a RNA. Fytofarmaka (léčí na principu alopacie, zahrnují léčiva z rostlin (čajové směsi) a komplexní přípravky z drog získané extrakčními metodami (extrakty)) působí na více cílů a komplexně zasahují do procesů onemocnění různými mechanismy účinku.

Důležitou skupinou obsahových látek s antioxidačními účinky jsou rostlinné polyfenoly, protože představují nejpočetnější a nejrozšířenější skupinu přírodních látek v rostlinné říši. Dosud bylo identifikováno víc než 8 000 fenolových sloučenin, ze kterých je 4 000 flavonoidů. Několik stovek z těchto látek je součástí rostlinné stravy. Přirozenými a bohatými zdroji je ovoce, zelenina, čokoláda, víno, čaj nebo léčivé rostliny.^[2]

Vliv výživy na podporu zdraví je v poslední době předmětem kontroverzních diskusí. Mnoho rostlin používaných k přípravě pokrmů obsahuje antioxidační složky (např. polyfenoly nebo karotenoidy), o nichž se předpokládá, že pozitivně ovlivňují

„oxidační choroby“ jako kardiovaskulární onemocnění, rakovinu a neurodegeneraci. Většina těchto složek byla rozsáhle testována *in vitro*. K dispozici je však jen malý počet studií *in vivo*, které zkoumají dlouhodobý vliv výživových složek na nemoci související s oxidačním poškozením. Leccos nasvědčuje tomu, že rostliny používané při přípravě pokrmů mají na léčbu oxidačních chorob příznivý vliv.^[3] Samozřejmě je ale třeba mít na paměti, že nadměrné užívání léčiv s antioxidačním účinkem, popř. doplňků stravy může mít nepříznivé vedlejší účinky na organismus (prooxidační efekt některých látek).

2. CÍL PRÁCE

Cílem této bakalářské práce je rozšířit poznatky o zdrojích přírodních antioxidantů ovlivňujících paměť a vytvořit jejich přehled.

3. TEORETICKÁ ČÁST

3.1. Rostliny ovlivňující paměť – zařazení do systému

Tab č. 1

| | | |
|-----------------------|----------------|--------------------------------|
| GINKGOPHYTA | | |
| Ginkgoales | | |
| | Ginkgoaceae | <i>Ginkgo biloba</i> |
| MAGNOLIOPHYTA | | |
| Magnoliopsida | | |
| <i>Magnoliidae</i> | | |
| Magnoliales | | |
| | Magnoliaceae | <i>Magnolia officinalis</i> |
| Piperales | | |
| | Saururaceae | <i>Saururus chinensis</i> |
| Illiciales | | |
| | Schisandraceae | <i>Schisandra chinensis</i> |
| <i>Caryophyllidae</i> | | |
| Caryophyllales | | |
| | Cactaceae | <i>Opuntia ficus-indica</i> |
| <i>Dilleniidae</i> | | |
| Ericales | | |
| | Vacciniaceae | <i>Vaccinium angustifolium</i> |
| Capparales | | |
| | Brassicaceae | <i>Lepidium meyenii</i> |
| Malvales | | |
| | Malvaceae | <i>Hibiscus asper</i> |
| <i>Rosidae</i> | | |
| Myrtales | | |
| | Punicaceae | <i>Punica granatum</i> |
| Rutales | | |
| | Rutaceae | <i>Murraya koenigii</i> |
| Saxifragales | | |
| | Crassulaceae | <i>Rhodiola rosea</i> |
| Fabales | | |
| | Fabaceae | <i>Glycyrrhiza glabra</i> |
| Celastrales | | |
| | Aquifoliaceae | <i>Ilex paraguariensis</i> |
| | Celastraceae | <i>Catha edulis</i> |

| | | |
|---------------------|------------------|---|
| <i>Cornidae</i> | | |
| Araliales | | |
| | Araliaceae | <i>Panax ginseng</i> |
| | Apiaceae | <i>Angelica gigas</i> |
| | Hydrocotylaceae | <i>Centella asiatica</i> |
| <i>Lamiidae</i> | | |
| Lamiales | | |
| | Lamiaceae | <i>Scutellaria baicalensis</i> <i>Prunella vulgaris</i> <i>Salvia lavandulifolia</i> <i>Lavandula angustifolia</i> |
| Scrophulariales | | |
| | Scrophulariaceae | <i>Bacopa monnieri</i> |
| Liliopsida | | |
| <i>Liliidae</i> | | |
| Iridales | | |
| | Iridaceae | <i>Crocus sativus</i> |
| Orchidales | | |
| | Orchidaceae | <i>Coeloglossum viride</i> |
| <i>Commelinidae</i> | | |
| Zingiberales | | |
| | Zingiberaceae | <i>Curcuma longa</i> |
| <i>Aridae</i> | | |
| Arales | | |
| | Araceae | <i>Acorus gramineus</i> |

[5]

3.2. Rostliny a jejich obsahové látky

Tab č. 2

| Latinský název <i>druhu</i> | Obsahové látky |
|--------------------------------|---|
| <i>Acorus gramineus</i> | silice, třísloviny |
| <i>Angelica gigas</i> | silice, kumariny, flavonoidy |
| <i>Bacopa monnieri</i> | saponiny, kys. betulinová, fytosteroly |
| <i>Catha edulis</i> | alkaloidy |
| <i>Centella asiatica</i> | pentacyklické triterpeny |
| <i>Coeloglossum viride</i> | methylestery kys. jantarové |
| <i>Crocus sativus</i> | esterifikované polyeny, glykosidová barviva (crocetin, crocin, pikrocrocín) |
| <i>Curcuma longa</i> | silice, pryskyřice, kurkuminoidy, škroby |
| <i>Ginkgo biloba</i> | flavonoidní glykosidy, biflavonoidy, diterpeny, seskviterpeny (bilobalidy), hexacyklické diterpeny - ginkgolidy |
| <i>Glycyrrhiza glabra</i> | triterpenové saponiny oleananového typu glycyrrhizinu, flavonoidy, kumariny, sacharidy, cukerné alkoholy |
| <i>Hibiscus asper</i> | slizy, flavonoidy, anthokyany |
| <i>Ilex paraguariensis</i> | purinové deriváty (kofein, theobromin), silice, třísloviny, kys. chlorogenová |
| <i>Lavandula angustifolia</i> | silice, třísloviny, anthokyany |
| <i>Lepidium meyenii</i> | glukosinoláty |
| <i>Magnolia officinalis</i> | fenolové deriváty |
| <i>Murraya koenigii</i> | alkaloidy, flavonoidy, polyfenoly |
| <i>Opuntia ficus-indica</i> | alkaloidy, flavonoidy, silice, třísloviny |
| <i>Panax ginseng</i> | polysacharidy, vitamíny, steroly, silice, polyeny, saponiny, aminokyseliny a peptidy |
| <i>Prunella vulgaris</i> | třísloviny, hořčiny, silice, flavonoidy |
| <i>Punica granatum</i> | alkaloidy, třísloviny |
| <i>Rhodiola rosea</i> | třísloviny, fenolový glykosid rhodiolosid, flavonoidy, silice, organické kyseliny |
| <i>Salvia lavandulifolia</i> | silice, triterpeny, flavonoidy |
| <i>Saururus chinensis</i> | ligniny, flavonoidy |
| <i>Scutellaria baicalensis</i> | flavonoidy, iridoidy, diterpeny, triterpeny, diterpenové klerodanolidy |
| <i>Schisandra chinensis</i> | lignany, flavonoidy, fytosteroly |
| <i>Vaccinium angustifolium</i> | třísloviny, flavonoidy, glukokininy |

[4, 5, 6]

3.3. Přírodní antioxidanty

A) Extrakty z rostlin

Účinky z různě extrahovaných částí oddenku rostliny *Acori graminei* na učební a paměťové deficity u myší s injektovaným A β

Cílem tohoto výzkumu bylo prozkoumat účinky extrakčního roztoku, vodného roztoku a silic z oddenku rostliny *Acorus gramineus* (Araceae) na učební a paměťové deficity a usazeniny plaků A β u myší s injektovaným A β .

Samci myší NIH byli náhodně rozděleni do tří skupin, AD skupiny, solné skupiny a naivní skupiny. AD skupina byla dále rozdělena do skupiny AD plus solný roztok, AD plus extrakční roztok, AD plus vodný roztok bez silic a AD plus silice. Celkem bylo šest skupin po šesti zvířatech. A β_{1-42} (2 $\mu\text{g}/\mu\text{l}$, 2 μl /každá strana) byl pomalu injektován bilaterálně do oblasti CA1 hipokampu. Hodnocení chování myší ze tří skupin bylo prověřeno testem I v Morrisově vodním bludišti. Následně dostávaly všechny skupiny sondou *Acori graminei* rhizoma v denních dávkách 0,2 g/10 g váhy po dobu 3 týdnů. Po 3 týdnech byl proveden test II v Morrisově vodním bludišti. Usazeniny plaků A β v hipokampu myší s injektovaným A β byly zkoumány imunohistochemicky. Výsledky testu I v Morrisově vodním bludišti prokázaly, že myši z AD skupiny potřebovaly podstatně delší únikové latence než myši ze solné a naivní skupiny ($P < 0,05$). Myši ze skupiny AD plus *Acori graminei* rhizoma měly snížené latence v testu II v Morrisově vodním bludišti ve srovnání se skupinou AD plus solný roztok ($P < 0,05$). Úniková latence skupiny AD plus silice byla nejkratší, ale ve srovnání s jinou skupinou *Acori graminei* rhizoma se neprojevil žádný významný rozdíl ($P > 0,05$). Výsledky imunohistochemického obarvení ukázaly, že usazeniny plaků A β byly podstatně sníženy ve skupině AD plus *Acori graminei* rhizoma ($P < 0,01$), ale neprojevil se žádný významný rozdíl oproti skupině AD plus solný roztok ($P > 0,05$) ani oproti třem různým skupinám *Acori graminei* rhizoma ($P > 0,05$).

Různě extrahované části rostliny *Acori graminei* rhizoma, tedy oba roztoky i silice obsahují účinnou složku pro zlepšení učebních a paměťových deficitů u myši s injektovaným A β , ale vztah mezi zlepšujícím účinkem oddenku *Acori graminei* a sníženým usazováním plaků A β musí být dále zkoumány.^[7]

Ochrana proti zhoršení paměti indukované β -amyloid peptidem při dlouhodobém podávání extraktu z rostliny *Angelica gigas* a dekursinolu u myši

Vědci zkoumali účinky dlouhodobého orálního podávání ethanolového extraktu z rostliny *Angelica gigas* Nakai (Apiaceae) (EAG) a dekursinolu, kumarinu izolovaného z rostliny *A. gigas*, na zhoršení paměti u myši indukované β -amyloid peptidem 1–42 (A β_{1-42}). Myši měly volný přístup k pitné vodě (kontrolní skupina) nebo vodě obsahující různé koncentrace EAG. Po 4 týdnech byl podán A β_{1-42} (410 pmol) intracerebroventrikulární injekcí. Čtyřtýdenní předběžné ošetřování myši extraktem EAG (0,1%) významně zablokovalo zhoršení výkonu pasivního vyhýbání způsobené A β_{1-42} . V dalším pokusu byly 4 týdny myši krmeny potravou smíchanou s několika dávkami dekursinolu, a poté dostaly intracerebroventrikulární injekci A β_{1-42} (410 pmol). Čtyřtýdenní předběžné ošetřování myši dekursinolem (0,001%; 0,002% a 0,004%) významně zmírnilo zhoršení výkonu pasivního vyhýbání způsobené A β_{1-42} . Dekursinol (0,004%) rovněž významně zmírnil snížení alternačního chování (prostorové pracovní paměti) způsobené A β_{1-42} v testu s Y-bludištěm beze změny celkové motorické aktivity. Tyto výsledky nasvědčují tomu, že EAG a dekursinol by mohl mít preventivní účinky proti zhoršování paměti souvisejícímu s A β u Alzheimerovy choroby.^[8]

Zlepšení kognitivních funkcí a neuroprotektivní účinky rostliny *Bacopa monnieri* u modelu Alzheimerovy choroby

Etnofarmakologická relevance

Bacopa monnieri (L.) Wettst., rostlina náležející do čeledi Scrophulariaceae, se používá v tradičním léčebném systému ájurvédské medicíny k dlouhodobému zlepšení inteligence a paměti. Proto byl vyzkoušen potenciál této rostliny na ochranu proti Alzheimerově chorobě, ale není k dispozici mnoho podpůrné dokumentace.

Cíl výzkumu

Určení účinku alkoholového extraktu z rostliny *Bacopa monnieri* na kognitivní funkci a při neurodegeneraci u zvířecího modelu Alzheimerovy choroby indukované iontem ethylcholinaziridinia (AF64A).

Materiály a metody

Samci potkanů Wistar dostávali orálně alkoholový extrakt rostliny *Bacopa monnieri* v dávkách 20, 40 a 80 mg/kg váhy prostřednictvím krmné jehly po dobu 2 týdnů před bilaterálním intracerebroventrikulárním podáním AF64A a 1 týden po něm. U potkanů byla testována prostorová paměť za pomoci testu s Morrisovým vodním bludištěm a byla určována hustota neuronů a cholinergních neuronů za pomoci histologických technik 7 dní po podání AF64A.

Výsledky

Extrakt z rostliny *Bacopa monnieri* zlepšil dobu únikové latence v testu s Morrisovým vodním bludištěm. Navíc byla zmírněna i redukce neuronů a hustota cholinergních neuronů.

Závěr

Tato zjištění nasvědčují tomu, že *Bacopa monnieri* má potenciál pro zlepšení kognitivních funkcí a pro neuroprotektci při Alzheimerově chorobě.^[9]

Účinky jednodenních dávek extraktu z katy jedlé (*Catha edulis*, Celastraceae) na prostorové učení a paměť u myší CBA

Tato studie zkoumala účinky čerstvého extraktu z katy na učení a paměť u myši CBA. Celkem 20 samců myši CBA o hmotnosti 20–30 g a stáří 5–6 týdnů dostávalo po dobu 5 dnů intraperitoneálně jednu denní dávku extraktu z katy. Zvířata byla rozdělena do čtyř skupin po pěti. První tři skupiny dostaly vždy tři dávky extraktu z katy (40, 120 a 360 mg/kg tělesné hmotnosti). Poslední skupina sloužila jako kontrolní a dostávala intraperitoneálně 0,5 ml fyziologického roztoku. Poté byla zvířata podrobena testu s Morrisovým vodním bludištěm (MWM). Mírné a vysoké dávky (120 a 360 mg/kg tělesné hmotnosti) extraktu z katy značně zhoršily učení osvojováním u myši CBA ($P < 0,05$), zatímco nízká dávka (40 mg/kg tělesné hmotnosti) extraktu z katy na ně neměla významný účinek. Vysoká dávka extraktu z katy významně zlepšila přesnost u prostorové paměti vzhledem k umístění ostrůvku ($P < 0,05$), zatímco mírné a nízké dávky ji zhoršily. Tato studie ukázala, že extrakt z katy má selektivní účinek na prostorové učení a paměť, protože nízká dávka nemá žádný účinek na učení, ale zhoršuje paměť, zatímco vysoká dávka zhoršuje učení, ale zlepšuje paměť.^[10]

Účinky různých extraktů z *Centella asiatica* (Hydrocotylaceae) na poznávání a markery oxidačního stresu u potkanů

Centella asiatica, rostlina zmiňovaná v indické literatuře, je popisována jako rostlina, která má stimulační a tonické účinky na CNS, omlazující, sedativní, utišující a podporující inteligenci. V této studii byl zkoumán účinek methanolových a chloroformových extraktů z *C. asiatica* na kognitivní funkce u potkanů. Samci potkanů Wistar o hmotnosti 200–250 g byli použiti ke zkoumání účinků na učení a paměť za pomoci shuttle boxu, prostupu, sestupu a vyvýšeného křížového bludiště. Pouze vodný extrakt z celé rostliny (200 mg/kg po dobu 14 dní) vykázal zlepšení v učení a paměti v shuttle boxu i prostupu. Proto byly provedeny další experimenty s vodným extraktem za použití dávek 100, 200 a 300 mg/kg v různých paradigmatech učení a paměti. Všechny dávky vodného extraktu zvýšily počet vyhýbání v shuttle boxu a prodloužily prostupovou latenci v prostupovém přístroji, a to v závislosti na dávce, přičemž pouze dvě dávky 200 a 300 mg/kg vodného extraktu vykázaly významné

zvýšení sestupové latence v sestupovém přístroji a přenosové latence ve vyvýšeném křížovém bludišti. Mezi dávkami vodného extraktu testovanými na parametry oxidačního stresu vykazovaly pouze dávky 200 a 300 mg/kg významný pokles hladiny malondialdehydu (MDA) v mozku při současném významném zvýšení hladin glutathionu. U dávky 300 mg/kg došlo k významnému nárůstu hladin katalázy, ale nebyla pozorována žádná významná změna hladiny superoxid dismutázy (SOD). Tyto výsledky naznačují, že vodný extrakt z pupečníku asijského (*C. asiatica*) má účinky na zlepšení kognitivních vlastností a že se jich účastní antioxidační mechanismus.^[11]

Extrakt rostliny *Coeloglossum viride* var. *bracteatum* (Orchidaceae) zmírňuje zhoršení paměti indukované D-galaktózou a NaNO₂ u myší

Cílem je prozkoumat neuroprotektivní účinky CE, speciálního extraktu z rostliny *Coeloglossum viride* (L.) Hartm. var. *bracteatum* (Willd.), na deficity paměti u stárnoucích myší indukované po sobě následujícími injekcemi D-galaktózy a NaNO₂ po dobu 60 dní. Orální podávání CE (2,5; 5 mg/kg) začalo od 47. dne experimentu. K vyhodnocení učení a paměti myší byl použit test s vodním bludištěm. Obsahy MDA a GSH a aktivity SOD a GSH-px v mozkové tkáni byly určeny za pomoci různých biochemických metod. Byly zhodnoceny změny v morfologii hipokampu. Imunoreaktivní buňky Tau-2 a NT-3 v hipokampu byly počítány pomocí imunohistochemického barviva. Výsledky nasvědčují tomu, že kombinovaná injekce D-galaktózy a NaNO₂ vyvolává u myší zhoršení paměti. Kromě toho klesla aktivita SOD a GSH-px a hladina GSH, zatímco hladina MDA v mozku myší stoupla. Tau-2 pozitivní neurony vzrostly, zatímco NT-3 pozitivní neurony v hipokampu výrazně poklesly. Podávání CE po dobu 14 dní významně zlepšilo kognitivní deficity a výše uvedené biochemické markery a snížily histologické léze v mozku myší. Tyto výsledky naznačují, že CE stojí za testování pro další preklinický výzkum zaměřený na stárnutí a demenci.^[12]

Extrakt z šafránu setého (*Crocus sativus* L.) působí proti zhoršení paměti při různých testech zkoumajících chování u potkanů

Účinky šafránu setého *Crocus sativus* L. (Iridaceae), (CSE) na paměť byly zkoumány u potkanů za použití testu rozpoznávání předmětů a pasivního vyhýbání prostupem. V první studii působilo podání CSE (30 a 60 g/kg) po tréninku úspěšně proti vyhasínání rozpoznávací paměti u normálního potkana, což naznačuje, že CSE mění ukládání a/nebo vyhledávání informací. V následné studii působilo ošetření CSE (30 a 60 mg/kg) po tréninku významným způsobem proti skopolaminem (0,75 mg/kg) indukovaným deficitům výkonnosti v testu pasivního sestupného vyhýbání. Tyto výsledky podporují a rozšiřují předchozí poznatky týkající se vlivu CSE na učební a paměťové mechanismy.^[13]

Ochranné účinky extraktu z šafránu a jeho aktivní složky crocinu proti oxidačnímu stresu a deficitům prostorového učení a paměti indukovaným chronickým stresem u potkanů

I když je dobře známo, že chronický stres zhoršuje prostorové učení a paměť, zkoumalo jen málo studií možnosti, jak předcházet jeho škodlivým účinkům. Vědci zkoumali účinky rostliny *Crocus sativus* L. (Iridaceae), běžně známé jako šafrán, a její aktivní složku crocin na úbytek učebních a paměťových schopností a indukci oxidačního stresu v hipokampu v důsledku chronického stresu. Potkani dostávali injekce šafránového extraktu, crocinu nebo vehikula po dobu 21 dní a současně byli vystaveni chronickému stresu (6 h/denně). Poté u nich byl proveden trénink a testování prostorové paměti ve vodním bludišti. Pět po sobě následujících dní byly prováděny 4 pokusy za den a 2 dny nato pak následoval jeden zkušební pokus. Na konci testu chování bylo změřeno několik parametrů oxidačního stresu v hipokampu. Ošetření šafránovým extraktem nebo crocinem zablokovalo schopnost chronického stresu zhoršit prostorové učení a uchování v paměti. Ve srovnání s kontrolními zvířaty, která dostávala vehikulum, měla stresovaná zvířata, která dostávala šafránový extrakt nebo crocin, podstatně vyšší úroveň produktů lipidové peroxidace, významně vyšší aktivity

antioxidačních enzymů včetně glutathion peroxidázy, glutathion reductázy a superoxid dismutázy a podstatně nižší celkovou schopnost antioxidační reaktivity. Závěrem, crocin významně snížil plazmové úrovně kortikosteronu měřené po skončení stresu. Tato zjištění naznačují, že šafrán a jeho aktivní složka crocin jsou schopny předcházet zhoršení učení a paměti i poškození hipokampu oxidačním stresem indukovaným chronickým stresem. Proto by použití těchto látek mohlo být užitečné ve farmakologickém zmírňování kognitivních deficitů.^[14]

Účinky ethanolového extraktu z rostliny *Crocus sativus* L. (Iridaceae) a jeho složek na učení a dlouhodobé zefektivnění

Zvýšení počtu chyb a snížení počtu naučených myší bylo významně zlepšeno ethanolovým extraktem z šafránu *Crocus sativus* (CSE) v testu SD. Blokační účinek ethanolu na LTP byl významně zlepšen orálním, intravenózním a intracerebroventrikulárním podáváním CSE. Když byla podána jediná orální dávka crocinu 10 minut před ošetřením ethanolom, zvýšil se počet úspěšných myší při dávce 200 mg/kg. Crocin v dávce 50 mg/kg zlepšil blokační účinky ethanolu na LTP o 84 % ve srovnání s kontrolním vzorkem. Crocetin genciobiózo-glukózo-ester rovněž působil proti blokačním účinkům ethanolu na LTP v závislosti na dávce, a to přibližně s polovičním účinkem než crocin. Crocetin diglukózo-ester inhibiční účinek ethanolu na LTP neodstranil. Závěr zní, že pro vznik farmakologické aktivity crocinu v centrální nervové soustavě jsou zapotřebí dvě části genciobiózy.^[15]

***Curcuma longa*: tradiční bylina jako alternativní lék**

Curcuma longa Linn. je významnou léčivou rostlinou, která náleží do čeledi *Zingiberaceae*. Tato rostlina se v mnoha civilizacích odedávna používá jako koření a v tradičních medicínských systémech včetně ájurvedy k léčbě celé škály nemocí. Látka má fenolické složky (kurkuminoidy) a terpenoidy (monoterpenoidy a seskviterpenoidy). K hlavním chemickým složkám kurkumy patří esenciální oleje složené

z mono- a seskviterpenoidů, kurkuminoidů a bioaktivních polysacharidů a peptidů. Aktivními složkami kurkumy jsou kurkuminoidy a seskviterpenoidy včetně turmeronu, atlantonu a zingiberonu. K dalším složkám patří cukry, proteiny a pryskyřice. Bylo zjištěno, že hlavními složkami oleje jsou turmeron, *ar*-turmeren, α -turmeron a β -turmeron. Byly izolovány i další seskviterpeny jako germakron-13-al, 4-hydroxybisabola-2,10-dien-9-on, 4-methoxy-5-hydroxybisabola-2,10-dien-9-on, 2,5-dihydroxybisabola-3,10-dien a prokurkumadiol, které byly identifikovány pomocí nukleární magnetické rezonanční (NMR) (^1H a ^{13}C) spektroskopie.

K hlavním farmakologickým aktivitám zkoumaným u experimentálních modelů patří antioxidační, protideštičková, protirakovinná a chemopreventivní, protizánětlivá, antivirová, insekticidní a nematocidní, antidiabetická aktivita, aktivita proti stárnutí, aktivita snižující tuky, antialergická a imunostimulační, antibakteriální, antifungální, radioprotektivní aktivita a příznivý vliv na hojení ran. Klinické studie založené na důkazech, ukazují na pravděpodobné velké příznivé účinky pro člověka. Nejrůznější bioaktivity činí z kurkumy v pravém slova smyslu „skutečné koření života“.^[16]

Alzheimerova choroba, hlístice *Caenorhabditis elegans* a extrakt z listů *Ginkgo biloba* (*Ginkgoaceae*)

Alzheimerova choroba (AD) postihuje s rostoucí délkou života stále větší procento naší populace. Proto je vysokou prioritou lékařského výzkumu prostředek pro prevenci nebo snížení míry této choroby. Standardizovaný extrakt z listů *Ginkgo biloba* (EGb 761) je oblíbeným potravinovým doplňkem, který široká veřejnost používá ke zlepšení soustředění a starší osoby k oddálení nástupu úbytku kognitivních funkcí v souvislosti s věkem. EGb 761 se používá k léčbě určitých mozkových dysfunkcí a demencí spojovaných se stárnutím a AD. Zásadní důkazy naznačují, že EGb 761 má neuroprotektivní účinky. Avšak bohužel dosud nejsou dostatečně pochopeny mechanismy působení složek tohoto extraktu. Výzkum v laboratoři se zaměřuje na pochopení mechanismů působení složek rostlinného extraktu EGb 761 v ochraně proti Alzheimerově chorobě. Ve studii prokázali, že EGb 761 zpomaluje hromadění

β -amyloidu *in vitro* a zmírňuje reaktivní oxidační látky u modelového organismu – hlístice *Caenorhabditis elegans*. Dále EGb 761 zmírnil svou toxicitu u transgenické *C. elegans*. Rovněž bylo zjištěno, že pro hlístice je toxické pouze určité množství nahromaděného β -amyloidu. Tyto výsledky naznačují, že EGb 761 má jasný terapeutický potenciál pro prevenci a/nebo léčbu AD. Lepší pochopení mechanismů neuroprotektce u látky EGb 761 bude důležité pro navrhování terapeutických strategií, pro základní pochopení příčinných neurodegenerativních procesů a pro lepší pochopení účinnosti a komplexnosti tohoto rostlinného léku.^[17]

Účinky bilobalidu na úzkost, prostorové učení, paměť a hladiny hipokampálních glukokortikoidních receptorů na samce myši Kunming

Vzhledem k různým složkám extraktu z *Ginkgo biloba*, Ginkgoaceae (GBE) není přesně znám interní mechanismus způsobující snižování úzkosti a zlepšování učení a paměti. Tato studie zkoumala, zda bilobalid, důležitá složka GBE, může ovlivňovat úzkost, prostorové učení a paměť u samců myši a zda se změnou tohoto chování souvisí projev hipokampálních glukokortikoidních receptorů. Myši byly ošetřovány orálně buď olejem ze sezamového semínka, nebo jednou ze tří dávek bilobalidu (2,5; 5,0 a 10,0 mg/kg), a to denně až do testování. Série testů chování ukázala, že opakované ošetření bilobalidem snížilo míru úzkostlivého chování a zvýšilo pohybovou aktivitu v testech s otevřeným polem a vyvýšeným křížovým bludištěm. Ošetření bilobalidem rovněž zkrátilo dobu potřebnou k nalezení ostrůvku v testu s Morrisovým vodním bludištěm. Myši vystavené bilobalidu vykazovaly vyšší, na dávce závislou míru projevu glukokortikoidních receptorů v hipokampu. Tyto výsledky naznačují, že bilobalid snižuje míru úzkosti a zlepšuje prostorové učení a paměť, možná díky zvýšení projevu hipokampálních glukokortikoidních receptorů. Toto zjištění vrhá světlo na mechanismy, které jsou základem účinku extraktu z *Ginkgo biloba* na chování a rovněž ukazuje na významný potenciální lék proti úzkosti, depresi, hypomnézii a amnézii.^[18]

Glabridin jako významný aktivní izoflavan z látky *Glycyrrhiza glabra* (Fabaceae) působí proti učebním a paměťovým deficitům u potkanů s diabetem

U diabetes mellitus dochází ke zhoršení kognitivních funkcí. Glabridin jako významný aktivní flavonoid z látky *Glycyrrhiza glabra* zlepšuje u myši učení i paměť. V této studii byly zkoumány účinky chronické léčby glabridinem (5, 25 a 50 mg/kg, p.o.) na kognitivní funkci u kontrolní skupiny potkanů a potkanů s diabetem indukovaným streptozotocinem. Zvířata byla rozdělena do neléčené kontrolní skupiny, kontrolní skupiny léčené glabridinem (5, 25 a 50 mg/kg), neléčené skupiny s diabetem a skupiny s diabetem léčené glabridinem (5, 25 a 50 mg/kg). Léčba byla zahájena při nástupu hyperglykémie. O 30 dní později bylo zhodnoceno učení pasivního vyhýbání (PAL) a paměť. Diabetes způsobil v paradigmatu PAL a paměti kognitivní deficity. Orální podávání glabridinu (5, 25 a 50 mg/kg) zlepšilo učení i paměť u potkanů bez diabetu a dokázalo zvrátit deficity učení a paměti u potkanů s diabetem. Nízké dávky glabridinu (5 mg/kg) nijak nezměnily kognitivní funkci u nediabetické ani diabetické skupiny. Léčba glabridinem částečně zlepšila sníženou tělesnou hmotnost a hyperglykémii diabetických potkanů, ale rozdíly nebyly významné. Za tyto účinky může být odpovědná kombinace antioxidantních, neuroprotektivních a anticholinesterázových vlastností glabridinu. Tyto výsledky naznačují, že glabridin působí preventivně proti škodlivým účinkům diabetu na učení a paměť u potkanů. Pro klinické použití glabridinu v léčbě diabetických pacientů s demencí jsou zapotřebí další výzkumy.^[19]

Methanolový extrakt listů rostliny *Hibiscus asper* zlepšuje deficity prostorové paměti u modelu Parkinsonovy choroby u hlodavců s 6-hydroxydopaminovou lézí

Etnofarmakologická relevance

Rostlina *Hibiscus asper* Hook.f. (Malvaceae) je sice tradiční rostlina, která je v tropické oblasti Afriky rozsáhle používána jako silné sedativum, tonikum a povzbuzující, protizánětlivá a antidepresivní látka, existuje jen velmi málo vědeckých údajů ohledně jejich účinků.

Cíl výzkumu

Byla zkoumána antioxidační aktivita a účinky methanolového extraktu z listů *Hibiscus asper* na nervovou kapacitu samců potkanů Wistar s jednostrannou 6-hydroxydopaminovou (6-OHDA) lézí.

Materiály a metody

K měření antioxidačních aktivit extraktu z této rostliny byly použity dva modelové systémy: stanovení antiradikálové aktivity metodou DPPH (2,4-dinitrofenyl-1-pikryl hydrazyl radikálu) a β -karoten bleaching assay, běžná metoda pro stanovení antioxidační aktivity. Byly sledovány také neuroprotektivní účinky methanolového extraktu listů *Hibiscus asper* (50 a 100 mg/kg) u modelových samců potkanů Wistar s unilaterální 6-hydroxydopaminovou (6-OHDA) lézí.

Výsledky

Methanolový extrakt z listů *Hibiscus asper* vykázal silnou antioxidační aktivitu i aktivitu při odstraňování volných radikálů. Chronické podávání methanolového extraktu (50 a 100 mg/kg, i.p., denně po dobu 7 dnů) významně snižuje úzkostlivé chování a zabraňuje depresím při testech s vyvýšeným křížovým bludištěm a nuceným plaváním, což svědčí o anxiolytické a antidepresivní aktivitě. Zlepšil se i výkon prostorové paměti v Y-bludišti a radiálním bludišti, což svědčí o pozitivních účincích na tvorbu paměti.

Závěr

Výsledky celkově naznačují, že methanolový extrakt z listů *Hibiscus asper* má antioxidační účinky a mohl by znamenat příležitost ke zvládnutí neurologických abnormalit při Parkinsonově chorobě.^[20]

Účinky akutního podávání sodno-alkoholového extraktu listů čaje maté (*Ilex paraquariensis*) u zvířecích modelů na učení a paměť

Cíl výzkumu

Ilex paraguariensis St. Hilaire (Aquifoliaceae) je rostlina, jejíž pěstování je rozšířené v Jižní Americe, a používá se k přípravě čajového nápoje, o kterém se tvrdí, že zlepšuje kognitivní funkci, což je reakce, která byla přičítána složkám obsaženým v listech, obzvláště kofeinu. Předchozí výzkum naznačil, že sodno-alkoholový extrakt z rostliny *Ilex paraguariensis* představuje antiparkinsonovský profil u hlodavců léčených reserpin- a 1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridinhydrochloridem (MPTP).

Materiály a metody

V tomto výzkumu byly hodnoceny účinky sodno-alkoholového extraktu z rostliny *Ilex paraguariensis* na krátkodobé i dlouhodobé učení a paměť u potkanů za pomoci úkolů sociálního rozpoznávání, Morrisova vodního bludiště a úkoly sestupného inhibičního vyhýbání.

Výsledky

Předběžný záznam HPLC extraktu z této rostliny potvrdila přítomnost kofeinu (hlavní složky), rutinu a kaemperolu, a odhalila absenci zjiřitelných koncentrací kyseliny kávové, kvercetin a kyseliny ursolové. Akutní předtréninkové intraperitoneální (i.p.) nebo orální podávání extraktu z rostliny *Ilex paraguariensis* zlepšilo specifickým způsobem krátkodobou sociální paměť a usnadnilo krátkodobou paměť sestupného inhibičního vyhýbání hodnocenou 1,5 hodiny po tréninku. Navíc byla po současném podávání „neúčinných“ dávek kofeinu a rostliny *Ilex paraguariensis* zjiřtjena synergická reakce v sociální paměti. Naopak předtréninkové podávání sodno-alkoholového extraktu z rostliny *Ilex paraguariensis* nezměnilo dlouhodobou paměť sestupného inhibičního vyhýbání hodnocenou 24 hodin po tréninku, zatímco nejvyšší testované dávky (250 mg/kg, i.p.) narušily výkon zvířat v náznakové verzi Morrisova vodního bludiště.

Závěr

Tyto výsledky zčásti odůvodňují tradiční používání čaje maté pro zlepšení kognitivních funkcí, protože nasvědčují tomu, že akutní podávání sodno-alkoholového

extraktu z rostliny *Ilex paraguariensis* diferenciálně mění krátkodobé i dlouhodobé učení a paměť u potkanů pravděpodobně díky svému antagonistickému působení na adenosinové receptory.^[21]

Vodný extrakt z levandule (*Lavandula angustifolia*) zlepšuje prostorovou výkonnost potkaního modelu Alzheimerovy choroby

Cíl

Alzheimerova choroba (AD) je jednou z nejvýznamnějších neurodegenerativních nemocí. Charakterizuje ji demence včetně deficitů učení a paměti. Cílem tohoto výzkumu bylo zhodnocení účinků vodného extraktu *Lavandula angustifolia* (Lamiaceae) na prostorovou výkonnost potkanů s AD.

Metody

Samci potkanů Wistar byli nejprve rozděleni na kontrolní skupinu a skupinu s AD. Model potkanů s AD byl před podáním extraktu z levandule vytvořen za pomoci intracerebroventrikulární injekce 10 μg $\text{A}\beta_{1-42}$ po dobu 20 dní. Poté potkani z obou skupin prodělali 2 fáze tréninku úkolového učení (s intervalem 20 dní) v Morrisově vodním bludišti a poté vždy následovala jedna pokusná zkouška. Po první fázi prostorového učení dostala kontrolní zvířata i zvířata s AD různé dávky (50, 100 a 200 mg/kg) extraktu z levandule.

Výsledky

V první fázi experimentu byla latence při vyhledávání skrytého ostrůvku u skupiny AD významně vyšší než u kontrolní skupiny. Avšak ve druhé fázi experimentu potkani z kontrolní skupiny i potkani s AD, kteří dostávali destilovanou vodu (vehikulum), vykazovali podobnou výkonnost, což nasvědčuje tomu, že prostorové učení u zvířat s AD může být zlepšeno samotným plaváním v bludišti. Kromě toho ve druhé fázi experimentu potkanům z kontrolní skupiny i potkanům s AD, kteří dostávali různé dávky extraktu z levandule (50, 100 a 200 mg/kg) trvalo nalezení

ostrůvku kratší dobu (s výjimkou potkanů s AD ošetřených extraktem 50 mg/kg) ve srovnání s jejich protějšky ošetřenými vehikulem. Navíc extrakt z levandule významně zlepšil výkonnost potkanů z kontrolní skupiny i potkanů s AD v pokusné zkoušce, a to pouze u dávky 200 mg/kg, ve srovnání s jejich protějšky ošetřenými vehikulem.

Závěr

Extrakt z levandule je schopen účinně zvrátit deficit prostoroového učení u potkanů s AD.^[22]

Vodné a sodno-alkoholové extrakty z „černé maky“ (*Lepidium meyenii*) zlepšují skopolaminem indukované zhoršení paměti u myši

Lepidium meyenii Walp. (Brassicaceae), známá jako maka, je peruánský endemit rostoucí výlučně ve výškách 4 000 až 4 500 metrů nad mořem v centrálních peruánských Andách, obzvláště na náhorní plošině Junin. Už dříve bylo prokázáno, že černá varieta maky je blahodárnější než jiné odrůdy této rostliny na učení a paměť u myši po ovariektomii při testu hledání ve vodě. Cílem této studie bylo otestovat dvě různé dávky vodného (0,50 a 2,00 g/kg hmotnosti) a sodno-alkoholového (0,25 a 1,00 g/kg hmotnosti) extraktu černé maky podávané po dobu 35 dní na zhoršení paměti indukované skopolaminem (1 mg/kg hmotnosti, i.p.) u myších samců. Paměť a učení byly hodnoceny za pomoci Morrisova vodního bludiště a poté testem sestupného vyhýbání. Byly určovány rovněž aktivity acetylcholinesterázy (AChE) a monoaminoxidázy (MAO) v mozku. Oba extrakty z černé maky významně zlepšily skopolaminem indukované zhoršení paměti, a to jak při měření v Morrisově vodním bludišti, tak i při testu sestupným vyhýbáním. Extrakty z černé maky potlačovaly aktivitu AChE, zatímco aktivita MAO nebyla nijak ovlivněna. Tyto výsledky naznačují, že černá maka zlepšuje skopolaminem indukované deficity paměti.^[23]

Inhibiční účinek ethanolového extraktu magnolie (*Magnolia officinalis*) a 4-O-methylhonokiolu na zhoršení paměti a neuronovou toxicitu indukovanou β -amyloidem

Složky rostliny *Magnolia officinalis* (Magnoliaceae) prokázaly antioxidační a neuroprotektivní aktivitu. V této studii byly zkoumány účinky extraktu z *M. officinalis* a její významné složky 4-O-methylhonokiolu na paměťovou dysfunkci a poškození nervových buněk způsobené β -amyloidem ($A\beta$). Předběžné orální ošetření ethanolovým extraktem z *M. officinalis* (2,5; 5 a 10 mg/kg) a 4-O-methylhonokiolu (1 mg/kg) v pitné vodě po dobu 5 týdnů potlačilo zhoršení paměti indukované intraventrikulárním podáváním $A\beta_{1-42}$ (0,5 μ g/myš, i.c.v.). Navíc 4-O-methylhonokiol předcházel apoptotickému úmrtí buněk indukovanému $A\beta_{1-42}$ i projevu β -sekretázy. 4-O-methylhonokiol rovněž potlačoval H_2O_2 a $A\beta_{1-42}$ indukovanou neurotoxicitu v uměle vypěstovaných neuronech a buňkách PC12 prevencí tvorby reaktivní formy kyslíku. 4-O-methylhonokiol rovněž přímo potlačoval aktivitu β -sekretázy a fibrilizaci $A\beta$ *in vitro*. Ethanolový extrakt z *M. officinalis* by mohl být užitečný pro prevenci rozvoje nebo progresu AD a 4-O-methylhonokiol by mohl představovat hlavní aktivní složku.^[24]

Ochranné účinky celkového alkaloidního extraktu z rostliny *Murraya koenigii* leaves (Rutaceae) na experimentálně indukovanou demenci

Demence je syndrom postupného nástupu a pokračujícího poklesu vyšších kognitivních funkcí. Jedná se o běžnou poruchu u starších osob a v současné době se její výskyt množí. V asijských zemích jsou do různých jídel přidávány čerstvé listy rostliny *Murraya koenigii* pro svou lahodnou chuť a vůni. Bylo prokázáno, že tyto listy jsou prospěšné i pro zdraví. V tomto výzkumu byl studován účinek celkového alkaloidního extraktu z listů *M. koenigii* (MKA) na kognitivní funkci a aktivitu mozkové cholinesterázy u myší. Byla rovněž hodnocena inhibiční aktivita *in vitro* β -sekretázy 1 (BACE1). Celkový alkaloidní extrakt byl podáván orálně ve třech dávkách (10, 20 a 30 mg/kg) po dobu 15 dnů různým skupinám mladých a starých myší. Jako exteroceptivní modely chování pro testování paměti sloužilo vyvýšené křížové bludiště

a přístroj pro pasivní vyhýbání. Jako interoceptivní modely chování sloužila amnézie indukovaná diazepamem, skopolaminem a stářím. MKA (20 a 30 mg/kg, p.o.) vykázal významné zlepšení v paměťovém skóre mladých i starých myší. Dále tytéž dávky MKA zvrátily amnézii indukovanou skopolaminem (0,4 mg/kg, i.p.) a diazepamem (1 mg/kg, i.p.). Zajímavé je, že celkovým alkaloidním extraktem z listů *M. koenigii* byla významně snížena i aktivita mozkové cholinesterázy. Hodnota IC₅₀ MKA oproti BACE1 byla 1,7 µg/ml. Závěrem lze říct, že tento výzkum naznačuje, že MKA je účinným lékem pro zvládnání Alzheimerovy choroby a demence.^[25]

***n*-butanolový extrakt z rostliny *Opuntia ficus-indica* var. *saboten* zlepšuje dlouhodobou paměť u testu pasivního vyhýbání u myší**

Opuntia ficus-indica var. *saboten* Makino (Cactaceae) se v tradiční medicíně používá k léčbě popálenin, edémů, dyspepsie a astmatu. Tato studie zkoumala příznivé účinky *n*-butanolového extraktu z *O. ficus-indica* var. *saboten* (BOF) na paměťový výkon u myší a snažila se odhalit mechanismy, které jsou základem tohoto působení. Paměťový výkon byl hodnocen pomocí testu pasivního vyhýbání a k měření změn v projevech proteinu a přežívání buněk byl použit western blotting a imunohistochemie. Po orálním podávání BOF po dobu 7 dní byla latenční doba v testu pasivního vyhýbání významně zvýšena ve srovnání s kontrolními jedinci ošetřenými vehikulem ($P < 0,05$). Western blottingem bylo zjištěno, že úroveň projevu mozkového neurotrofického faktoru (BDNF), fosforylovaného cAMP reakční elementy vážícího proteinu (pCREB), a fosforylované extracelulární signálně regulované kinázy (pERK) 1/2 byly v tkáni hipokampu významně zvýšeny po 7 dnech podávání BOF ($P < 0,05$). Doublecortin a imunobarvení 5-bromo-2-deoxyuridinu rovněž prokázaly, že BOF významně zlepšuje přežití nezralých neuronů, ale neovlivňuje rozmnožování nervových buněk v subgranulární oblasti zubatého závitů hipokampu. Tyto výsledky naznačují, že subchronické podávání BOF zlepšuje dlouhodobou paměť a že tento účinek je zčásti zprostředkováván signalizací ERK-CREB-BDNF a přežíváním nezralých neuronů.^[26]

Studie strukturální a zlepšené aktivity paměti u extraktů z kořene *Panax ginseng*

Cílem této práce je prozkoumat uhlovodíkový polymer s nízkou molekulární hmotností z kořene *Panax ginseng* (Araliaceae). Vodné extrakty z kořene *P. ginseng* byly umístěny na makroporézní pryskyřici, poté prohnány filtračním systémem Cellulose Super a následně umístěny na Carbon-Celite kolonu a eluovány vodou, 5% ethanolem, 30% ethanolem a 95% ethanolem. Pro určení, zda by 30% eluční roztok ethanolu z Carbon-Celite kolony mohl zlepšit paměť u potkanů se skopolaminem indukovaným paměťovým deficitem byl použit test s Morrisovým vodním bludištěm. Čištění 30% elučního roztoku ethanolu bylo prováděno na kolonách Sephadex G-15 a Bio-gel P2. Pro strukturální potvrzení byla použita GC–MS analýza methylovaných derivátů a ESI-MS měření. Výsledky ukázaly, že 30% ethanolový roztok by mohl zlepšit paměť u potkanů se skopolaminem indukovaným paměťovým deficitem při intraperitoneálním podávání. Z 30% elučního roztoku ethanolu byly izolovány oligosacharidy a peptidy. Oligosacharidy byly identifikovány jako maltóza, maltotrióza, maltotetraóza, maltopentaóza, maltohexaóza a maltoheptaóza.^[27]

Zlepšující účinek extraktu z květu rostliny *Prunella vulgaris* var. *lilacina* na léky vyvolané zhoršení paměti u myši

Prunella vulgaris var. *lilacina* (Lamiaceae) je široce rozšířená v Koreji, Japonsku, Číně i Evropě a její květy se v tradiční čínské medicíně používají k léčbě zánětů. V této studii jsme zkoumali účinky ethanolového extraktu květu *P. vulgaris* var. *lilacina* (EEPV) na léky vyvolané zhoršení učení a paměti za použití pasivního vyhýbání, Y-bludiště a Morrisova vodního bludiště u myši. EEPV (25 nebo 50 mg/kg, p.o.) významně zlepšilo skopolaminem způsobené kognitivní zhoršení u pasivního vyhýbání a úkolů s Y-bludištěm ($P < 0,05$). V úkolu s Morrisovým vodním bludištěm EEPV (25 mg/kg, p.o.) významně zkrátil únikové latence v tréninkových zkouškách. Dále doba plavání s cílovou zónou během pokusné zkoušky se významně prodloužila ve srovnání s myšmi ošetřenými skopolaminem ($P < 0,05$). Kromě toho se snížená latence indukovaná ošetřením dizocilpinem (MK-801, nekompetitivní antagonist NMDA receptorů) v úkolu

pasivního vyhýbání zlepšila díly EEPV (25 mg/kg, p.o.) ($P < 0,05$). Navíc byl zlepšující účinek EEPV na skopolaminem indukovanou dysfunkci paměti antagonizován sub-efektivní dávkou MK-801. Tyto výsledky naznačují, že EEPV by byl užitečný při léčbě kognitivního zhoršení indukovaného cholinergní dysfunkcí a že účinkuje prostřednictvím signalizace přes receptor NMDA.^[28]

Účinek extraktu z kůry rostliny *Punica granatum* na učení a paměť u potkanů

Cíl

Zhodnotit potenciální účinek extraktu z oplodí rostliny *Punica granatum* (Punicaceae) na zlepšení paměti u potkanů.

Metody

Byli použiti zdraví dospělí samci albinotických potkanů Wistar. Každá skupina 6 potkanů dostávala po dobu 15 dní buď destilovanou vodu, nebo 50 mg/kg extraktu, nebo 100 mg/kg extraktu a poté byli podrobeni testu pasivního vyhýbání nebo testu s T-bludištěm. V další fázi dostávali potkani po dobu 15 dní destilovanou vodu nebo 100 mg/kg extraktu a před testy dostali injekci diazepamů.

Výsledky

Celkový výkon testovaných skupin byl lepší ve srovnání s kontrolními skupinami. U testovaných skupin měli potkani, kteří dostávali 100 mg/kg, lepší výkony než ti, kteří dostávali 50 mg/kg. Účinek na parametry prostorového učení jako průměrný počet střídání a průměrné procento systematických chyb byl výraznější ve srovnání s parametry testování zapamatování jako například latencí. U skupiny ošetřené 100 mg/kg extraktu z rostliny *Punica gratum* se zlepšil výkon i při podání diazepamů.

Závěr

Existuje jasný trend zlepšení paměti při podání kůry z rostliny *Punica granatum*, přičemž účinky jsou výraznější u tendence prostorového učení a dlouhodobé paměti než na schopnost zapamatování.^[29]

Předléčba extraktem z rozchodnice růžové (*Rhodiola rosea*, *Crassulaceae*) snižuje kognitivní zhoršení indukované intracerebroventrikulárním streptozotocinem u potkanů: implikace antioxidačních a neuroprotektivních účinků

Cíl

Byly zkoumány účinky předléčby extraktem z rozchodnice růžové (*Rhodiola rosea*) na kognitivní dysfunkci, oxidační stres v hipokampu a poškození hipokampálních neuronů u potkaního modelu Alzheimerovy choroby (AD).

Metody

Samci potkanů Sprague-Dawley byly předběžně ošetřováni extraktem z *R. rosea* v dávkách 1,5; 3,0 a 6,0 g/kg po dobu 3 týdnů, po nichž následovala bilaterální intracerebroventrikulární injekce streptozocinu (1,5 mg/kg), a to 1. a 3. den. Změny chování byly zjišťovány po 2 týdnech od léze za pomoci testu s Morrisovým vodním bludištěm. Tři týdny po lézi byli potkani usmrceni za účelem změření hladin malondialdehydu (MDA), glutathion reductázy (GR) a redukovaného glutathionu (GSH) v hipokampu a provedení histopatologie hipokampálních neuronů.

Výsledky

Hladina MDA byla významně zvýšena, zatímco hladiny GR a GSH byly významně sníženy při nápadném zhoršení prostorového učení a paměti a vážném poškození hipokampálních neuronů u modelových potkanů indukovaných intracerebroventrikulární injekcí streptozotocinu. Tyto abnormality byly významně zlepšeny předběžným ošetřením extraktu z *R. rosea* (3,0 g/kg).

Závěr

Extrakt z *R. rosea* je schopen chránit potkany proti kognitivním deficitům, neuronálnímu poškození a oxidačnímu stresu indukovanému intracerebroventrikulární injekcí streptozotocinu a může být použit jako potenciální účinná látka při léčbě neurodegenerativních chorob jako AD.^[30]

Zlepšení paměti u ibotenovou kyselinou indukovaných modelových potkanů pomocí extraktů z rostliny *Scutellaria baicalensis*

Etnofarmakologická relevance

Extrakty z rostliny *Scutellaria baicalensis* Georgi (Lamiaceae) se používají jako tradiční korejský lék pro léčbu mozkové ischemie, bakteriálních infekcí a zánětlivých onemocnění.

Cíl výzkumu

Byl hodnocen zlepšující účinek na učení a paměť díky podávání extraktů z rostliny *Scutellaria baicalensis* a byly zkoumány příčinné mechanismy.

Materiály a metody

Chování paměti bylo zkoumáno testem pasivního vyhýbání a testem s Y-bludištěm. Rovněž byly zkoumány buňky vyjadřující neuronové markery související s paměťovými procesy pomocí analýzy imunofluorescenčního barviva u modelových potkanů s paměťovým deficitem (Ibo model) a u hipokampálních progenitorových buněk.

Výsledky

Autoři článku zjistili, že po podávání 30 mg/kg *Scutellaria baicalensis* byly v hipokampu zvýšeny neuronové buňky imunoreaktivní vůči acetylcholintransferáze (AChT), což je marker pro cholinergní neurony, zatímco buňky produkující kyselinu γ -aminomáselnou a glutamát zvýšeny nebyly. Dále extrakty z rostliny *Scutellaria baicalensis* zlepšily přežití hipokampální progenitorské buněčné linie a její diferenciaci

vůči imunoreaktivním buňkám AChT. U Ibo modelu byl při podávání extraktů z rostliny *Scutellaria baicalensis* rovněž zaznamenán zvýšený projev neurotransmiteru souvisejícího s pamětí, NMDA receptoru a snížení aktivovaných mikroglíí v hipokampu.

Závěr

Tyto výsledky znamenají, že *Scutellaria baicalensis* má u Ibo modelu významné neuroprotektivní účinky.^[31]

Prevence skopolaminem navozených paměťových deficitů schisandrinem B, antioxidačním lignanem z rostliny *Schisandra chinensis* (Schizandraceae) u myši

Preventivní účinek schisandrinu B (Sch B), antioxidační složky rostliny *Schisandra chinensis* (klanopraška čínská), byl zkoumán u skopolaminem indukované demence u myši. Skopolamin způsobil oxidační stres v mozku se sníženou hladinou antioxidačních enzymů a zvýšenou hladinou dusitanu. Současně došlo k významnému zhoršení učení a paměti, které bylo vyhodnoceno pomocí úkolu pasivního vyhýbání (PAL) a Morrisova vodního bludiště (MWM) s průvodním zvýšením aktivity acetylcholinesterázy (AChE) a snížením hladiny acetylcholinu. Předběžné ošetření látkou Sch B (10, 25, 50 mg/kg) účinně předcházelo skopolaminem indukovanému oxidačnímu stresu a zlepšilo provádění behaviorálních úkolů. Dále bylo při léčbě látkou Sch B významně potlačeno skopolaminem indukované zvýšení aktivity AChE a hladina acetylcholinu byla udržena na normální úrovni. Tyto výsledky nasvědčují tomu, že Sch B má ochrannou funkci proti mozkovým funkčním defektům jako demenci, a to nejen díky antioxidační prevenci, ale i díky tomu, že vyvíjí mocnou aktivitu podporující kognitivní funkci prostřednictvím úpravy hladiny acetylcholinu.^[32]

Účinek extraktu bohatého na polyfenoly z brusnice úzkolisté na kognitivní výkon myši, markery mozkových antioxidantů a aktivitu acetylcholinesterázy

Cílem této studie bylo prozkoumat účinek extraktu bohatého na polyfenoly (PrB) z rostliny *Vaccinium angustifolium* (brusnice úzkolistá, Vacciniaceae) podávaného intraperitoneálně (i.p.) v dávkách 30 (PrB30) a 60 (PrB60) mg/kg tělesné hmotnosti po dobu 7 dní na kognitivní výkon, oxidační stav mozku a aktivitu acetylcholinesterázy u dospělých, 3-4 měsíce starých samců myší Balb-c. Hodnocení učení a paměti hlodavců bylo prováděno postupovým testem 6. den po dvojitém tréninku a počátečním akvizičním pokusu 5. den. Stav antioxidantů byl určen pomocí antioxidační schopnosti redukovat železo (FRAP metoda), koncentrace kyseliny askorbové (FRASC metoda), malondialdehydu a snížených hladin glutathionu v celých mozkových homogenátech. Aktivita acetylcholinesterázy (AChE) byla určena pomocí Ellmanovy kolorimetrické metody. Výsledky ukázaly, že myši ošetřené PrB60 vykazovaly významné zlepšení učení i paměti (latentní doba prostupu 228 ± 38 s ve srovnání s 101 ± 32 s u kontrolní skupiny). Podávání extraktu z PrB přineslo rovněž redukcí produktů lipidové peroxidace (38 a 79 %) a vyšší hladiny kyseliny askorbové v mozku (21 a 64 %) jak u skupiny ošetřené PrB30, tak u skupiny ošetřené PrB60 a vyšší hladiny glutathionu (28 %) u skupiny ošetřené PrB60. Dále se u obou skupin ošetřených PrB významně snížila aktivita AChE rozpustné v přítomnosti soli a detergentů. Významné kognitivní zlepšení zjištěné u dospělých myší po krátkodobé i.p. suplementaci brusnicovým extraktem s koncentrovaným obsahem polyfenolů tedy blízce souvisí s vyššími mozkovými antioxidačními vlastnostmi a inhibicí aktivity AChE. Tato zjištění podtrhují rozhodující význam bioaktivních složek brusnice úzkolisté na mozkové funkce.^[33]

ESP-102, standardizovaný kombinovaný extrakt z rostlin *Angelica gigas*, *Saururus chinensis* a *Schizandra chinensis*, významně zlepšil skopolaminem indukované zhoršení paměti u myší

Hodnotili jsme účinky orálního ošetření extraktem ESP-102, standardizovaným kombinovaným extraktem z rostlin *Angelica gigas* (Apiaceae), *Saururus chinensis* (Saururaceae) a *Schizandra chinensis* (Schisandraceae), na učební a paměťový deficit.

Účinek ESP-102 na zlepšení poznávání byl zkoumán u skopolaminem indukovaných (1 mg/kg tělesné hmotnosti, s.c.) amnesických myší za pomoci testů s pasivním vyhýbáním a Morrisovým vodním bludištěm. Akutní orální ošetření (jediné podání před ošetřením skopolaminem) myší extraktem ESP-102 (dávky v rozsahu od 10 do 100 mg/kg tělesné hmotnosti) významně snížilo skopolaminem indukované paměťové deficity u testu pasivního vyhýbání. K dalším pozoruhodným výsledkům patřila skutečnost, že delší denní orální ošetřování myší mnohem nižším množstvím ESP-102 (1 a 10 mg/kg tělesné hmotnosti) po dobu deseti dnů zvrátilo skopolaminem indukované paměťové deficity. V testu s Morrisovým vodním bludištěm zlepšilo jak akutní, tak i dlouhodobé orální ošetření extraktem ESP-102 (jednorázové podání 100 mg/kg tělesné hmotnosti nebo dlouhodobé denní podávání 1 a 10 mg/kg tělesné hmotnosti po dobu deseti dnů) významným způsobem skopolaminem indukované paměťové deficity, což bylo vidět podle rozvíjení dlouhodobé a/nebo krátkodobé prostorové paměti. Navíc jsme zkoumali účinky ESP-102 na neurotoxicitu indukovanou β -amyloid peptidem ($A\beta_{25-35}$) nebo glutamátem v primárně kultivovaných kortikálních neuronech potkanů. Předběžné ošetření kultur extraktem ESP-102 (0,001; 0,01 a 0,1 μ g/ml) významně chránil neurony před neurotoxicitou indukovanou buď glutamátem nebo $A\beta_{25-35}$. Tyto výsledky naznačují, že ESP-102 má pravděpodobně určité ochranné vlastnosti proti úhynu nervových buněk a proti kognitivnímu zhoršování pozorovanému při Alzheimerově chorobě, ischemickém poškození a jiných neurodegenerativních chorobách.^[34]

Rostlinné léky a kognitivní funkce

Rostlinné doplňky se v mnoha kulturách používají k podpoře kognitivních funkcí již odedávna. V poslední době byla účinnost těchto doplňků hodnocena v několika klinických pokusech. Navzdory oblibě rostlinných doplňků dosud existují jen omezené důkazy na podporu jejich použití ke zlepšení kognitivních funkcí. Tato kapitola shrnuje výsledky randomizovaných klinických pokusů týkajících se nejoblíbenějších doplňků používaných ve prospěch kognitivních funkcí, včetně ženšenu, jinanu, brahmi (*Bacopa*

monnieri, Scrophulariaceae), španělské šalvěže (*Salvia lavandulifolia*, Lamiaceae) a fytoestrogenů. Většina výzkumů zaměřených na účinky rostlinných přípravků na kognitivní funkci je časově omezená, a proto nejsou známy dlouhodobé účinky těchto přípravků. Výjimku tvoří jinan, u kterého byla prokázána účinnost v krátkodobých i dlouhodobých pokusech. Jiné rostlinné přípravky, například fytoestrogeny a brahmi, prokázaly svůj léčivý potenciál v krátkodobých pokusech a jednodávkových studiích. Celkově vykazují rostlinné doplňky slibný potenciál jako léky pro zlepšování kognitivních schopností, avšak je zapotřebí další zkoumání, mají-li být potenciální příznivé účinky těchto přípravků plně prověřeny.^[35]

B) Kulinářské rostliny

Účinky extraktu ze zeleného čaje na učení, paměť, chování a aktivitu acetylcholinesterázy u mladých a starých samců potkanů

Cíl

Vědci se rozhodli prozkoumat účinky podávání extraktu ze zeleného čaje v závislosti na věku u mladých a starých samců potkanů Wistar.

Metody

Mladým a starým potkanům byl orálně podáván 0,5% extrakt ze zeleného čaje po dobu osmi týdnů a byli hodnoceni podle pasivního vyhýbání, paradigmatu vyvýšeného křížového bludiště a změn v aktivitě acetylcholinesterázy.

Výsledky

Léčení mladých a starých potkanů tímto extraktem neukázalo žádný významný rozdíl ve výkonnosti v testu s rotarodem a běžeckým trenažérem/dobou vyrovnávacího reflexu. Extrakt ze zeleného čaje významně zlepšil učení a paměť u starších potkanů, se zvyšující se retenční latencí pro zaznamenání rozdílu v testu pasivního vyhýbání. V testu s vyvýšeným křížovým bludištěm přineslo ošetření zeleným čajem podstatně větší počet vstupů do uzavřeného ramena u mladých i starých potkanů. V mozku starých potkanů ošetřených zeleným čajem byl zjištěn pokles aktivity acetylcholinesterázy ve srovnání s mladými potkany léčenými zeleným čajem.

Závěr

Podávání extraktu ze zeleného čaje je účinné na zlepšení učení a paměti u starších potkanů, a proto by bylo možná užitečné při zvrácení deficitů souvisejících s věkem.^[36]

Příznivé účinky vyztáého řesnekového extraktu na zhoršené učení a paměť u myši se zrychleným stárnutím

Nejprve jsme zkoumali účinky vyztáého řesnekového extraktu (AGE) na dlouhověkost a učební výkony u myši se zrychleným stárnutím (SAM). Po dosažení dvou měsíčního věku dostávaly myši pevnou stravu s obsahem AGE. Ošetření AGE zvýšilo procento přežití SAMP8 (myši se zrychlenou poruchou učení a paměti). Navíc přípravek zlepšil deficit akvizitní paměti a zhoršení retenční paměti SAMP8 ve věku 10 měsíců. Zlepšení učení bylo potvrzeno i v testu prostorového poznávání. Dále jsme zkoumali účinek AGE na jiný kmen SAM, SAMP10 (myši s mozkovou atrofií). I když u SAMP10 ošetřených AGE nebylo zjištěno prodloužení života, zlepšil přípravek skóre klasifikace (grading score), které je indexem stárnutí. Překvapivý výsledek byl získán měřením velikosti mozku. Míra úbytku v řelním mozku řinila u SAMP10 2-9 %. Chronická konzumace AGE zabránila této atrofii a udržovala velikost mozku na úrovni kontrolního vzorku. Tyto výsledky naznačují, že AGE působí proti stárnutí SAM.^[37]

S věkem související oxidační poškození proteinů v centrální nervové soustavě potkanů: modulační role extraktu z hroznových semen

Bylo prokázáno, že oxidační stres hraje významnou roli při stárnutí a neurodegenerativních poruchách. Jedním z nejdůležitějších důsledků oxidačního stresu je modifikace proteinů. V této studii byla hodnocena role extraktu z hroznových semen na paměť, produkci reaktivního kyslíku, stav proteinkarbonylů a thiolu v oddělených oblastech centrální nervové soustavy mladých a starších potkanů. Samci albinotických potkanů Wistar byli rozděleni do čtyř skupin: Skupina I—mladí kontrolní potkani, skupina II—mladí potkani ošetřovaní extraktem z hroznových semen (100 mg/kg tělesné hmotnosti) po dobu 30 dnů, skupina III—staří kontrolní potkani a skupina IV—staří potkani ošetřovaní extraktem z hroznových semen (100 mg/kg tělesné hmotnosti) po dobu 30 dnů. U starých potkanů byla pozorována ztráta paměti. V míše, mozkové kůře, striatu a hipokampu starých potkanů (skupina III) byl pozorován s věkem související nárůst produkce reaktivního kyslíku a proteinová oxidace. Byl zjištěn

významný pokles hladin celkového thiolu, neproteinového thiolu, proteinových thiolů v míše i všech zkoumaných oblastech mozku u starých potkanů ve srovnání s mladými potkany. Při podávání extraktu z hroznových semen starým potkanům došlo ke zvýšení paměťového výkonu a snížení produkce reaktivních forem kyslíku, snížení hladin proteinkarboxylu a zlepšení hladin thiolu. Tato zjištění svědčí o tom, že extrakt z hroznových semen zlepšil stav antioxidantů a snížil výskyt volnými radikály indukované proteinové oxidace u starých potkanů, čímž chránil centrální nervovou soustavu před reaktivními formami kyslíku.^[38]

Účinky fosfolipidů ze sójových bobů na učební, paměťové a antioxidační schopnosti u potkanů se senilitou indukovanou D-galaktózou

Při výzkumu účinků fosfolipidů ze sójových bobů na učební, paměťové a antioxidační schopnosti u potkanů se senilitou indukovanou D-galaktózou bylo padesát samců potkanů SD (Sprague Dawley) náhodou rozděleno do pěti skupin po deseti konkrétně do kontrolní skupiny, modelové kontrolní skupiny, skupiny s nízkou dávkou fosfolipidů, skupiny se střední dávkou fosfolipidů a skupin s vysokou dávkou fosfolipidů. Potkanům byly jednou denně podávány fosfolipidy ze sójových bobů nebo destilovaná voda (0,01 ml/g denně). Modelová kontrolní skupina, skupina s nízkou dávkou, skupina se střední dávkou a skupina s vysokou dávkou dostaly injekce D-galaktózy (50 mg/kg denně), zatímco normální kontrolní skupiny injekci fyziologického solného roztoku. U potkanů byly 30. den zjišťovány učební a paměťové schopnosti a 45. den byli usmrceni. Byl zjišťován obsah malondialdehydu (MDA), schopnosti superoxiddismutázy (SOD) a katalázy (CAT) u stárnoucích potkanů. Ve srovnání s normální kontrolní skupinou značně klesají učební a paměťové schopnosti modelové kontrolní skupiny ($P < 0,05$), obsah MDA výrazně narůstá a schopnosti SOD a CAT klesají ($P < 0,05$) v několika tkáních. Učební a paměťové schopnosti skupin s fosfolipidy ze sójových bobů jsou výrazně zlepšené ($P < 0,05$), obsah MDA se zvyšuje a schopnosti SOD a CAT jsou rovněž výrazně zlepšené ($P < 0,05$). Fosfolipidy ze sójových bobů jsou schopny posilovat paměťovou schopnost, indukovat pozitivní účinek

na zpomalení stárnutí buněk a uvolňovat celkovou sešlost způsobovanou žlučovým kamenem.^[39]

C) Obsahové látky s antioxidační aktivitou

Přírodní látky a Alzheimerova choroba: Od preklinických studií po medicínu založenou na důkazech

V posledních 10 letech bylo upozorňováno na potenciální terapeutické účinky nutraceutik v prevenci nebo oddálení Alzheimerovy choroby. Mezi potravními antioxidanty byly podrobně zkoumány neuroprotektivní účinky kurkuminu, jinanu a karnitinů. Tento alternativní terapeutický přístup se opíral o několik preklinických studií, které naznačovaly neuroprotektivní účinky kurkuminu, jinanu a acetyl-l-karnitinu buď na základě odstraňování volných radikálů, inhibici prozánětlivých drah nebo zesílení reakce buněk na stres. Avšak i když se jedná o zajímavé premisy, nepodařilo se prozatím klinickými studiemi prokázat významné příznivé účinky kurkuminu, jinanu a acetyl-l-karnitinu na zlepšení kognitivních funkcí u pacientů s Alzheimerovou chorobou.^[40]

Výzvy související s terapií kurkuminem u Alzheimerovy choroby

Kurkumin, fytochemická účinná látka koření kurkuma, která dodává indickému kari žlutou barvu, je rovněž tradičním indickým lékem. Používá se již po tisíciletí k hojení ran a léčbě různých nemocí. Antioxidační, protizánětlivé, antiproliferační a jiné vlastnosti kurkuminu si vysloužily pozornost moderní farmakologie až v poslední době. Mechanismus působení kurkuminu je komplexní a mnohotvárný. Kurkumin částečně působí tak, že aktivuje různé cytoprotektivní proteiny, které jsou součástí reakce fáze II. V posledním desetiletí výzkumy kurkuminu významně vzrostly. Studie *in vitro* a *in vivo* prokázaly, že kurkumin je schopen cílit na dráhy účastníci se patofyziologie Alzheimerovy choroby (AD), například na kaskádu β -amyloidu, tau fosforylaci, zánět nervu nebo oxidační stres. Tyto výsledky nasvědčují tomu, že kurkumin by mohl představovat slibnou složku při vývoji léčby AD. Avšak klinické pokusy a jeho uplatnění při léčbě jsou omezovány jeho nerozpustností ve vodě a špatnou biodostupností. Aby

mohl být kurkumin účinný jako léčivo, musí být kombinován s jinými léky nebo musí být vyvinuty nové strategie podávání.^[41]

Antioxidanty působí jako prevence paměťových deficitů vyvolaných chronickým variabilním stresem u potkanů

Při depresi i jiných poruchách souvisejících se stresem se vyskytují učební a paměťové deficity. I když patogeneze zhoršení kognitivních funkcí po stresu ještě není plně objasněna, předpokládá se, že svou roli hrají faktory jako oxidační stres a neurotrofiny. Zde byly zkoumány účinky léčby vitamínem E (40 mg/kg) a vitamínem C (100 mg/kg) na účinky chronického variabilního stresu na výkonnost potkanů v Morrisově vodním bludišti. V hipokampu potkanů byl rovněž hodnocen obsah neurotrofického faktoru derivovaného z mozku (BDNF). Šedesát dnů staří potkani Wistar byli po dobu 40 dní podrobena působení různých stresorů (stresovaná skupina). Polovině stresované skupiny byly jednou denně během období stresu podávány vitamíny. Chronicky stresovaní potkani vykazovali výrazný pokles referenční paměti v úkolu s vodním bludištěm i sníženou efektivitu při hledání ostrůvku v testu pracovní paměti. U potkanů léčených vitamíny E a C byly výše uvedené účinky zčásti zamezeny, což naznačuje podíl oxidačního stresu na těchto účincích. Hladiny BDNF v hipokampu stresované skupiny ve srovnání s kontrolní skupinou se nezměnily. Výsledky podporují novou terapeutickou strategii spojenou s těmito vitamíny u kognitivních dysfunkcí pozorovaných u deprese a jiných nemocí souvisejících se stresem.^[42]

Antioxidační mechanismy účinků lentinanu na zlepšení učební a paměťové funkce u stárnoucích myší

Cílem bylo prozkoumat antioxidační mechanismy, které jsou základem účinků lentinanu (LNT) na zlepšení učební a paměťové funkce u stárnoucích myší indukovaných D-galaktózou (D-gal).

Stárnoucí myši byly indukovány s.c. injekcí D-gal po dobu 7 týdnů. Ke zkoušení učební a paměťové funkce myši byl použit sestupný test. Za pomoci různých biochemických metod byl v mozkových tkáních zjištěn nejen obsah malonaldehydu (MDA), ale i aktivita superoxid dismutázy (SOD) a glutathion peroxidázy (GSH-Px).

Učební a paměťová dysfunkce se sníženou aktivitou SOD a GSH-Px a zvýšeným obsahem MDA, která byla zjištěna u stárnoucích myši indukovaných D-gal ve srovnání s kontrolní skupinou. LNT v dávce 30 a 60 mg/kg denně zřetelně zvýšil aktivitu SOD a GSH-Px v mozku myši ošetřených D-gal a vykázal silnou negativní korelaci s počtem chyb a výraznou pozitivní korelaci s latencí. LNT v dávce 30 a 60 mg/kg denně také snížil obsah MDA v mozku myši ošetřených D-gal a vykázal silnou pozitivní korelaci s počtem chyb a výraznou negativní korelaci s latencí.

LNT může zlepšit učební a paměťovou funkci u myši indukovaných D-gal, což může být způsobeno jeho antioxidační aktivitou.^[43]

Resveratrol a neurodegenerativní choroby

Velké množství důkazů nasvědčuje tomu, že polyfenolická složka resveratrol, která je přítomna především ve slupce a semenech hroznů a obohacená v červeném víně, může být příznivá pro nervové zdraví. Bylo zjištěno, že výskyt Alzheimerovy choroby je nižší u lidí, kteří denně pijí mírné množství vína, a ukázalo se, že resveratrol snižuje poškození mozku u některých preklinických modelů mrtvice. Výzkumy účinků lyofilizovaného červeného vína a samotného resveratrolu u jiných neurodegenerativních nemocí se zatím nacházejí v raném stádiu. Jeden aspekt, který je společný mnoha neurodegenerativním chorobám, je složka oxidačního stresu. Na základě současných dat se objevují náznaky toho, že resveratrol působí tím, že navozuje endogenní antioxidační systém, s největší pravděpodobností systém hemoxygenázy 1. K jiným možným cestám patří aktivace receptorů aktivovaných peroxizóm-proliferátorem, potlačení ložiskových metaloproteináz nebo navození sirtuinů. K lepšímu pochopení a určení potenciálu přírodních polyfenolických složek jsou zapotřebí další studie. Za pomoci dalšího pronikání do mechanismů resveratrolu by časem mohli pacienti i lékaři získat více informací o preventivních a terapeutických

možnostech resveratrolu vzhledem k četným neurodegenerativním poruchám a neurologickému oslabení souvisejícímu s věkem.^[44]

Resveratrol zlepšuje behaviorální deficity indukované hypoxií/ischemií a poraněním mozku u novorozených potkanů

Poranění mozku novorozených jedinců indukované hypoxií-ischemií (HI) způsobuje behaviorální deficity postihující především neurologické reflexy, senzomotorické funkce a učební/paměťové slabiny, které se mohou rozvíjet v průběhu vývoje. Nedávno byly naznačeny pozitivní biologické účinky resveratrolu, přírodní složky s antioxidačními/protizánětlivými vlastnostmi, která se nachází hlavně v červeném víně. Cílem této studie bylo prozkoumat pozdější výsledky časného podávání resveratrolu u experimentálního modelu hypoxické-ischemické encefalopatie prostřednictvím behaviorální analýzy a pozdějšího neuropatologického vyšetření. Sedmidenní (P7) potkani byli rozděleni do 3 skupin: Skupina 1 podstoupila HI a byla léčena resveratrolem. Skupina 2 (s HI) byla podrobena HI a dostávala stejné množství solného roztoku. Skupina 3 (slepě operovaná) tvořila kontrolní skupinu. Ve dnech P8-P66 byla prováděna sada behaviorálních testů, během kterých byly zkoumány rané reflexy (reflex napřimování, držení těla, geotaxe), senzomotorické schopnosti (zavěšení na laně, chůze po trámu, rotarod test) a učební/paměťové funkce (pasivní vyhýbání, Morrisovo vodní bludiště). U testů s napřimovacím reflexem, rotarod testem a vodním bludištěm byly zjištěny významné rozdíly mezi skupinami, přičemž skupina s resveratrolem dosáhla téměř stejných výkonů jako kontrolní zvířata. Ostatními behaviorálními testy bylo zjištěno, že kontrolní skupina a skupina s resveratrolem byly lepší ve srovnání se skupinou HI, i když nevýznamně. Neuropatologický výzkum prokázal po léčbě resveratrolem značnou redukci infarktu a zachování myelinace, což ve většině případů korelovalo s lepší výkonností skupiny s resveratrolem. Tyto výsledky naznačují, že dlouhodobý neuroprotektivní účinek resveratrolu na poškození šedé a bílé hmoty indukované HI u novorozenců může být spojen se zachováním behaviorálních funkcí.^[45]

4. DISKUSE A ZÁVĚR

Cílem této bakalářské práce bylo zpracovat výběr přírodních antioxidantů ovlivňujících paměť. Při psaní rešerše jsem si uvědomila, jak je rostlinná říše rozmanitá, nejenom z hlediska zástupců, ale i množství obsahových látek s rozdílnou účinností. Do práce jsem zahrнула extrakty rostlin z celého světa (*Bacopa monnieri*, *Ilex paraguariensis* aj.), kulinářské rostliny (česnek, hrozny aj.) a obsahové látky s významnou antioxidační aktivitou (kurkumin, lentinan aj.).

Nejvíce rostlin s antioxidační aktivitou se vyskytuje v čeledi Lamiaceae (viz Tab. č. 1 na str. 10) a nejvíce obsahových látek s antioxidačním účinkem patří mezi silice, třísloviny, alkaloidy, kumariny, saponiny, triterpeny a další (viz Tab. č. 2 na str. 11).

Mnohé rostliny se využívají v medicíně již dlouho, ostatní jsou zcela nové a nachází se teprve ve fázi testování. Rostlinné extrakty mají multifunkční vlastnosti (pro-cholinergní, antioxidační, anti-amyloidní, protizánětlivé, atd.) a jejich použití k léčbě pacientů s AD se jeví jako slibné. Je však obtížné stanovit potřebnou dávku léčivého přípravku a zároveň obstát v klinických zkouškách. Potenciál zlepšení kognitivních schopností, zmírnění nebo zredukování symptomů AD nebo působení na mechanismy této choroby je velký, vyžaduje však další výzkumy.

Antioxidanty hrají pozitivní roli v předcházení těchto chorob i při jejich léčbě, a proto jsou neustále studovány a testovány (např. flavonoidy naší katedrou ve spolupráci s Katedrou farmakologie a toxikologie). Jejich zdrojem jsou především plody (jablka, borůvky, šípky, citrusy, zrnka kávy, kakaové boby atd.) využívané po staletí a listy (*Ginkgo biloba*, *Centella asiatica*, *Evolvulus alsinoides* atd.), jejichž obsahové látky byly objeveny až mnohem později. Jak je z příkladů vidět, jsou součástí naší každodenní stravy. Záleží ale na množství, které do organismu během dne dodáme, také na imunitním systému daného jedince (je-li oslaben, je potřeba antioxidantů větší množství).

Při zpracování článků v rámci mé práce jsem zaregistrovala, že většina pokusů se provádí na zvířatech, především na myších různými testy: Morissovo vodní bludiště,

sestupné vyhýbání atd. Jako nejčastější aplikace extraktů myším se používá: perorální, intraperitoneální aj.

Na světě trpí Alzheimerovou chorobou podle odhadů 36 milionů lidí. V České republice je touto chorobou postiženo zhruba 130 tisíc lidí. Výzkum prokázal důležitou úlohu volných radikálů v patogenezi těchto chorob. I přes velký pokrok v medicíně v posledních letech lék na neurodegenerativní onemocnění a demenci stále neexistuje. V počátečních stádiích nemoci se uplatňují tzv. kognitiva (piracetam, pyritinol, meklofenoxat), léky zlepšující kognitivní funkce (myšlení paměť, či orientaci). K léčbě AD se používají inhibitory acetylcholinesterázy, některé z těchto léčivých látek byly získány z rostlin, např. galanthamin izolovaný z druhů *Galanthus woronowii* a *Leucojum aestivum* nebo huperzin A z *Huperzia serrata*. K léčbě vaskulární demence je využíván vinpocetin pocházející z rostliny *Catharanthus roseus*.

5. ABSTRAKT

Dlabajová D., Antioxidanty přírodního původu ovlivňující paměť,

Bakalářská práce 2012/2013, Univerzita Karlova v Praze, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové, s. 54.

Velké množství látek získaných z rostlin vyskytujících se po celém světě vykazuje antioxidační aktivitu, která zabraňuje vzniku volných radikálů. Ty mají za následek vznik neurodegenerativních onemocnění, poruchy kognitivních funkcí a demence. Antioxidanty mohou mít významnou roli v předcházení a léčbě těchto chorob. Výběr rostlin s tímto účinkem je uvedený v mé bakalářské práci (např. *Acorus gramineus*, *Bacopa monnieri*, *Curcuma longa*, *Lepidium meyenii*, *Scutellaria baicalensis* aj.).

6. ABSTRACT

Dlabajová D., Antioxidants of natural origin influencing memory,

Bachelor thesis 2012/2013, Charles University in Prague, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové, pp. 54.

Large amount of substances isolated from plants which are located all around the world, has antioxidant activity, which prevents the formation of free radicals. These result in development of neurodegenerative disorders, cognitive impairment and dementia. Antioxidants could have an important role in the prevention and treatment of these diseases. Selection of plants with this effect is mentioned in my bachelor thesis (for example *Acorus gramineus*, *Bacopa monnieri*, *Curcuma longa*, *Lepidium meyenii*, *Scutellaria baicalensis* etc.).

7. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

| | |
|-------------------------------|---|
| AChE | Acetylcholinesteráza |
| AChT | Acetylcholintransferáza |
| AD | Alzheimerova demence |
| A β ₁₋₄₂ | β amyloid peptid 1-42 |
| Balb-c | Albinotický kmen laboratorní myši |
| cAMP | Cyklický adenosinmonofosfát |
| CAT | Kataláza |
| CBA | Laboratorní myš se střídavě tmavě a světle zbarvenými proužky |
| ESI-MS | ionizace elektrospřejem- hmotnostní spektrometrie |
| GABA | γ -aminomáselná kyselina |
| GC-MS | Plynová chromatografie- hmotnostní spektrometrie |
| GR | Glutathion reduktáza |
| GSH-px | Glutathion peroxidáza |
| H ₂ O ₂ | Peroxid vodíku |
| IC ₅₀ | Hodnota inhibiční koncentrace |
| i.c.v. | Intracerebroventrikulární podání |
| i.p. | Intraperitoneální podání |
| LTP | Dlouhodobá potenciace |
| MAO | Monoaminoxidáza |

| | |
|-------------------|---|
| MDA | Malondialdehyd |
| MWM | Morrisovo vodní bludiště |
| NaNO ₂ | Dusitan sodný |
| NIH | Laboratorní myš bez srsti se světlou až tmavě šedou pigmentací kůže |
| PAL | Pasivní vyhýbání |
| p.o. | Perorální podání |
| P < 0,05 | Statistický průkazný rozdíl |
| s.c. | Subkutanní aplikace |
| SOD | Superoxid dismutáza |

8. POUŽITÁ LITERATURA

- [1] ANEKONDA T. S., REDDY P. H.: *Can herbs provide a new generation of drugs for treating Alzheimer's disease?*, Brain Research Reviews 2005;50(2):361–376.
- [2] KOŠŤÁLOVÁ D., FIALOVÁ S., RAČKOVÁ L.: *Fytoterapia v súčasnej medicíne*.Vyd.1.Martin: Osveta, 2012.INSB 978-80-8063-384-4.S.11-356.
- [3] HINNEBURG I.: *Culinary Plants: Antioxidant Activity in Health Promotion* in Botanical Medicine in Clinical Practice (eds R.R. Watson and V.R. Preedy) 2008.INSB-13: 978-1-84593-413-2.S.663-669.
- [4] TOMKO J. a kol: *Farmakognózia*.Vyd.2.Martin: Osveta, 1999.ISBN 80-8063-014-3.S.19-369.
- [5] JAHODÁŘ L.: *Farmakobotanika, semenné rostliny*.Vyd.1.Praha.2006.ISBN 80-246-1225-9.S.15-222.
- [6] KRESÁNEK J., KREJČA J.: *Atlas liečivých a lesných plodov*.Vyd.3.Martin: Osveta, 1988.INSB 70-010-82.S.59-301.
- [7] MA Y., LEE G., SUN L., TAN L., TIAN S.: *Effects of the different extracted parts from Acori graminei rhizoma on learning and memory deficits in A β -injected mice*, Chinese Journal of Neuroanatomy 2011;27(5):521-526.
- [8] YAN J. J., KIM D. H., MOON Y. S., JUNG J. S., AHN E. M., BAEK N. I., SONG D. K.: *Protection against β -amyloid peptide-induced memory impairment with long-term administration of extract of Angelica gigas or decursinol in mice*, Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry 2004;28(1):25-30.
- [9] UABUNDIT N., WATTANATHORN J., MUCIMAPURA S., INGANINAN K.: *Cognitive enhancement and neuroprotective effects of Bacopa monnieri in Alzheimer's disease model*, Journal of Ethnopharmacology 2010;127(1):26-31.
- [10] KIMANI S. T., NYONGESA A. W.: *Effects of single daily khat (Catha edulis) extract on spatial learning and memory in CBA mice*, Behavioural Brain Research 2008;195(1):192-197.
- [11] VEERENDRA KUMAR M. H., GUPTA Y. K.: *Effect of different extracts of Centella asiatica on cognition and markers of oxidative stress in rats*, Journal of Ethnopharmacology 2002;79(2):253-260.

- [12] ZHANG D., LIU G., SHI J., ZHANG J.: *Coeloglossum viride var. bracteatum* extract attenuates D-galactose and NaNO₂ induced memory impairment in mice, *Journal of Ethnopharmacology* 2006;104(1-2):250-256.
- [13] PITSIKAS N., SAKELLARIDIS N.: *Crocus sativus L. extracts antagonize memory impairments in different behavioural tasks in the rat*, *Behavioural Brain Research* 2006;173(1):112-115.
- [14] GHADRDOOST B., VAFAEI A. A., RASHIDY-POUR A., HAJISOLTANI R., BANDEGI A. R., MOTAMEDI F., HAGHIGHI S., SAMENI H. R., PAHLVAN S.: *Protective effects of saffron extract and its active constituent crocin against oxidative stress and spatial learning and memory deficits induced by chronic stress in rats*, *European Journal of Pharmacology* 2011;667(1-3):222-229.
- [15] SAITO H., SUGIURA M., ABE K., TANAKA H., MORIMOTO S., TAURA F., SHOYAMA Y.: *Effects of ethanol extract of Crocus sativus L. and its components on learning behavior and long-term potentiation*, *Studies in Natural Products Chemistry* 2001;25:955-969.
- [16] LUTHRA P. M., SINGH R., KUMAR R., SINGH J., SINGH S., ARORA R.: *Curcuma longa: a Traditional Herb as an Alternative Medicine* in *Botanical Medicine in Clinical Practice* (eds R.R. Watson and V.R. Preedy) 2008.INSB-13: 978-1-84593-413-2.S.671.
- [17] LUO Y.: *Alzheimer's disease, the nematode Caenorhabditis elegans, and ginkgo biloba leaf extract*, *Life Sciences* 2006;78(18):2066-2072.
- [18] MA L., WANG S., TAI F., YUAN G., WU R., LIU X., WEI B., YANG X.: *Effects of bilobalide on anxiety, spatial learning, memory and levels of hippocampal glucocorticoid receptors in male Kunming mice*, *Phytomedicine* 2012;20(1):89-96.
- [19] HASANEIN P.: *Glabridin as a major active isoflavan from Glycyrrhiza glabra (licorice) reverses learning and memory deficits in diabetic rats*, *Acta physiologica Hungarica* 2011;98(2):221-230.
- [20] FOYET H. S., HRITCU L., CIOBICA A., STEFAN M., KAMTCHOUING P., COJOCARU D.: *Methanolic extract of Hibiscus asper leaves improves spatial memory deficits in the 6-hydroxydopamine-lesion rodent model of Parkinson's disease*, *Journal of Ethnopharmacology* 2011;133(2):773-779.
- [21] PREDIGER R. D., FERNANDES M. S., RIAL D., WOPEREIS S., PEREIRA V. S., BOSSE T. S., DA SILVA C. B., CARRADORE R. S., MACHADO M. S., CECHINEL-FILHO V., COSTA-CAMPOS L.: *Effects of acute administration of the hydroalcoholic extract of mate tea leaves (Ilex paraguariensis) in animal models of learning and memory*, *Journal of Ethnopharmacology*

2008;120(3):465-473.

- [22] KASHANI M. S., TAVIRANI M. R., TALAEI S. A., SALAMI M.: *Aqueous extract of lavender (Lavandula angustifolia) improves the spatial performance of a rat model of Alzheimer's disease*, Neuroscience bulletin 2011;27(2):99-106.
- [23] RUBIO J., DANG H., GONG M., LIU X., CHEN S. L., GONZALES G. F.: *Aqueous and hydroalcoholic extracts of Black Maca (Lepidium meyenii) improve scopolamine-induced memory impairment in mice*, Food and chemical toxicology 2007;45(10):1882-1890.
- [24] LEE J. W., LEE Y. K., LEE B. J., NAM S. Y., LEE S. I., KIM Y. H., KIM K. H., OH K. W., HONG J.T.: *Inhibitory effect of ethanol extract of Magnolia officinalis and 4-O-methylhonokiol on memory impairment and neuronal toxicity induced by beta-amyloid*, Pharmacology, biochemistry, and behavior 2010;95(1):31-40.
- [25] MANI V., RAMASAMY K., AHMAD A., PARLE M., SHAH S. A., MAJEED A. B.: *Protective effects of total alkaloidal extract from Murraya koenigii leaves on experimentally induced dementia*, Food and chemical toxicology 2012;50(3-4):1036-1044.
- [26] KIM J. M., KIM D. H., PARK S. J., PARK D. H., JUNG S. Y., KIM H. J., LEE Y. S., JIN C., RYU J. H.: *The n-butanolic extract of Opuntia ficus-indica var. saboten enhances long-term memory in the passive avoidance task in mice*, Progress in neuro-psychopharmacology & biological psychiatry 2010;34(6):1011-1017.
- [27] WANG Y., JIANG R., LI G., CHEN Y., LUO H., GAO Y., GAO Q.: *Structural and enhanced memory activity studies of extracts from Panax ginseng root*, Food Chemistry 2010;119(3):969-973.
- [28] PARK S. J., KIM D. H., LEE I. K., JUNG W. Y., PARK D. H., KIM J. M., LEE K. R., LEE K. T., SHIN C. Y., CHEONG J. H., KO K. H., RYU J. H.: *The ameliorating effect of the extract of the flower of Prunella vulgaris var. lilacina on drug-induced memory impairments in mice*, Food and chemical toxicology 2010;48(6):1671-1676.
- [29] ADIGA S., TRIVEDI P., RAVICHANDRA V., DEB D., MEHTA F.: *Effect of Punica granatum peel extract on learning and memory in rats*, Asian Pacific Journal of Tropical Medicine 2010;3(9):687-690.
- [30] QU Z. Q., ZHOU Y., ZENG Y. S., LI Y., CHUNG P.: *Pretreatment with Rhodiola rosea extract reduces cognitive impairment induced by intracerebroventricular streptozotocin in rats: implication of anti-oxidative and neuroprotective effects*, Biomedical and environmental sciences 2009;22(4):318-326.

- [31] HEO H., SHIN Y., CHO W., CHOI Y., KIM H., KWON Y. K.: *Memory improvement in ibotenic acid induced model rats by extracts of Scutellaria baicalensis*, Journal of ethnopharmacology 2009;122(1):20-27.
- [32] GIRIDHARAN V. V., THANDEVARAYAN R. A., SATO S., KO K. M., KONISHI T.: *Prevention of scopolamine-induced memory deficits by schisandrin B, an antioxidant lignan from Schisandra chinensis in mice*, Free radical research 2011;45(8):950-958.
- [33] PAPANDREOU M. A., DIMAKOPOULOU A., LINARDAKI Z. I., CORDOPATIS P., KLIMIS-ZACAS D., MARGARITY M., LAMARI F. N.: *Effect of a polyphenol-rich wild blueberry extract on cognitive performance of mice, brain antioxidant markers and acetylcholinesterase activity*, Behavioural brain research 2009;198(2):352-358.
- [34] KANG S. Y., LEE K. Y., KOO K. A., YOON J. S., LIM S. W., KIM Y. C., SUNG S. H.: *ESP-102, a standardized combined extract of Angelica gigas, Saururus chinensis and Schizandra chinensis, significantly improved scopolamine-induced memory impairment in mice*, Life sciences 2005;76(15):1691-1705.
- [35] MAKI P. M., DROGOS L., GELLER S. E.: *Botanicals and Cognitive Function* in Botanical Medicine in Clinical Practice (eds R.R. Watson and V.R. Preedy) 2008.INSB-13: 978-1-84593-413-2.S.657-661.
- [36] KAUR T., PATHAK C. M., PANDHI P., KHANDUJA K. L.: *Effects of green tea extract on learning, memory, behavior and acetylcholinesterase activity in young and old male rats*, Brain and cognition 2008;67(1):25-30.
- [37] NISHIYAMA N., MORIGUCHI T., SAITO H.: *Beneficial effects of aged garlic extract on learning and memory impairment in the senescence-accelerated mouse*, Experimental gerontology 1997;32(1-2):149-160.
- [38] BALU M., SANGEETHA P., MURALI G., PANNEERSELVAM C.: *Age-related oxidative protein damages in central nervous system of rats: modulatory role of grape seed extract*, International journal of developmental neuroscience 2005;23(6):501-507.
- [39] BI J., SHAO L., XU L., GONG J., ZHANG J., LU X., MA Y.: *Effects of soybean phospholipids on learning, memory and antioxidation abilities of D-galactose induced senile rats*, Zhongguo Liangyou Xuebao 2011;26(2):9-13.
- [40] MANCUSO C., SICILIANO R., BARONE E., PREZIOSI P.: *Natural substances and Alzheimer's disease: from preclinical studies to evidence based medicine*, Biochimica et biophysica acta 2012;1822(5):616-624.

- [41] BELKACEMI A., DOGGUI S., DAO L., RAMASSAMY C.: *Challenges associated with curcumin therapy in Alzheimer disease*, Expert reviews in molecular medicine 2011;13:e34.
- [42] TAGLIARI B., SCHERER E. B., MACHADO F. R., FERREIRA A. G., DALMAZ C., WYSE A. T.: *Antioxidants prevent memory deficits provoked by chronic variable stress in rats*, Neurochemical research 2011;36(12):2373-2380.
- [43] LU A. M., YU T. G., LI W. J., XIN X. M.: *Antioxidant mechanisms of the improving effects of lentinan on learning and memory function in aging mice*, Zhongguo Laonianxue Zazhi 2011;31(4):613-615.
- [44] LEVINE C. F., LI R. C., SHAH Z. A., DÓRE S.: *Resveratrol and Neurodegenerative Diseases in Botanical Medicine in Clinical Practice* (eds R.R. Watson and V.R. Preedy) 2008.INSB-13: 978-1-84593-413-2.S.641-649.
- [45] KARALIS F., SOUBASI V., GEORGIU T., NAKAS C. T., SIMEONIDOU C., GUIBA-TZIAMPURI O., SPANDOU E.: *Resveratrol ameliorates hypoxia/ischemia-induced behavioral deficits and brain injury in the neonatal rat brain*, Brain research 2011;1425:98-110.