

UNIVERZITA KARLOVA
FARMACEUTICKÁ FAKULTA V HRADCI KRÁLOVÉ
KATEDRA FARMACEUTICKÉ BOTANIKY



RIGORÓZNÍ PRÁCE

Screening alkaloidů s cílem hledání potenciálních léčivých látek

Alkaloids screening with a focus on potential drug discovery

Mgr. Leona Adamičková

Konzultant rigorózní práce: prof. RNDr. L. Opletal, CSc.

Vedoucí katedry: doc. Ing. Lucie Cahlíková, Ph.D.

v Hradci Králové, květen 2021

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

květen 2021

Mgr. Leona Adamičková

Na tomto místě bych ráda poděkovala váženému panu prof. RNDr. Lubomíru Opletalovi, CSc. za odborné vedení, cenné rady a připomínky při řešení teoretické a praktické části této rigorózní práce. Dále děkuji kolektivu Katedry farmaceutické botaniky za příjemné prostředí a všestrannou pomoc při zpracování výsledků.

OBSAH

ÚVOD	9
1 Teoretická část.....	10
1.1 Demence.....	10
1.2 Alzheimerova choroba.....	12
1.2.1 Rizikové faktory Alzheimerovy choroby	13
1.2.2 Diagnostika Alzheimerovy choroby.....	14
1.2.3 Terapie Alzheimerovy choroby.....	14
1.2.4 Farmakologická terapie AD	14
1.2.4.1 Kognitivní terapie.....	15
1.2.4.1.1 Inhibitory acetylcholinesterasy.....	16
1.2.4.1.2 Inhibitory NMDA receptorů.....	17
1.2.4.1.3 Nootropika.....	18
1.2.4.2 Nekognitivní terapie	19
1.2.4.3 Léčiva přírodního původu	19
1.2.4.3.1 Huperzin A	19
1.2.4.3.2 Další přírodní látky inhibující cholinesterasy.....	20
1.3 Popis vybraných rostlinných taxonů	25
1.3.1 Rod <i>Fritillaria</i>	25
1.3.1.1 Využití.....	26
1.3.1.2 <i>Fritillaria ussuriensis</i> Maxim.....	26
1.3.1.2.1 Botanický popis	27
1.3.1.2.2 Rozšíření.....	27
1.3.1.2.3 Obsahové látky	27
1.3.1.2.4 Využití	27
1.3.1.3 <i>Fritillaria cirrhosa</i> D.Don.....	29
1.3.1.3.1 Botanický popis	29
1.3.1.3.2 Rozšíření.....	29
1.3.1.3.3 Využití	29
1.3.1.3.4 Obsahové látky	30
1.3.2 Rod <i>Magnolia</i>	31
1.3.2.1 <i>Magnolia officinalis</i>	31
1.3.2.1.1 Botanický popis	31
1.3.2.1.2 Rozšíření.....	32
1.3.2.1.3 Využití	32

1.3.2.1.4	Obsahové látky	32
1.3.2.2	<i>Magnolia biondii</i> Pamp.	33
1.3.2.2.1	Botanický popis	34
1.3.2.2.2	Rozšíření.....	34
1.3.2.2.3	Využití	34
1.3.2.2.4	Obsahové látky	34
1.3.3	<i>Nelumbo nucifera</i> L. Gaertn.	36
1.3.3.1	Botanický popis.....	37
1.3.3.2	Rozšíření.....	37
1.3.3.3	Využití.....	37
1.3.3.4	Obsahové látky	37
1.3.4	<i>Nuphar luteum</i> (L.) Smith	40
1.3.4.1	Botanický popis.....	40
1.3.4.2	Rozšíření.....	40
1.3.4.3	Využití.....	40
1.3.4.4	Obsahové látky	41
1.3.5	<i>Papaver rhoeas</i> L.	42
1.3.5.1	Botanický popis.....	42
1.3.5.2	Rozšíření.....	42
1.3.5.3	Použití.....	42
1.3.5.4	Obsahové látky	43
1.3.6	<i>Laurus nobilis</i> L.	44
1.3.6.1	Botanický popis.....	44
1.3.6.2	Rozšíření.....	44
1.3.6.3	Použití.....	44
1.3.6.4	Obsahové látky	45
1.3.7	<i>Ziziphus jujuba</i> var. <i>spinosa</i> (Bunge) Hu ex H.F.Chow.....	46
1.3.7.1	Botanický popis.....	46
1.3.7.2	Rozšíření.....	46
1.3.7.3	Využití.....	46
1.3.7.4	Obsahové látky	47
1.3.7.4.1	Obsahové látky listů a kůry	47
1.3.7.4.2	Obsahové látky semen (zaohe).....	47
1.3.7.4.3	Obsahové látky plodů (dazao):.....	47
1.3.7.5	Využití	47

2	Experimentální část	49
2.1	Materiál a vybavení	49
2.1.1	Rozpouštědla	49
2.1.2	Chemikálie.....	49
2.1.3	Materiál	50
2.1.3.1	Pomocný materiál.....	50
2.1.4	Detekční činidla.....	50
2.1.4.1	Dragendorffovo činidlo	50
2.1.4.2	Mayerovo činidlo.....	50
2.1.5	Rostlinný materiál	50
2.2	Všeobecné postupy	51
2.2.1	Destilace a odpařování	51
2.2.2	Filtrace.....	52
2.2.3	Příprava sumárních a alkaloidních extraktů rostlinných drog	52
2.2.4	Stanovení cholinesterasové inhibiční aktivity alkaloidů	52
2.2.4.1	Příprava erytrocytárních pouzder	52
2.2.4.2	Stanovení cholinesterasové inhibiční aktivity	53
3	Výsledky.....	54
	Diskuse.....	55
3.1	Rod <i>Fritillaria</i>	56
3.1.1	<i>Fritillaria ussuriensis</i>	58
3.2	Rod <i>Magnolia</i>	58
3.2.1	<i>Magnolia officinalis</i>	58
3.2.2	<i>Magnolia biondii</i>	58
3.3	<i>Nelumbo nucifera</i>	59
3.4	<i>Nuphar luteum</i>	59
3.5	<i>Papaver rhoeas</i>	59
3.6	<i>Laurus nobilis</i>	59
3.7	<i>Ziziphus jujuba</i> var. <i>spinosa</i>	59
	Citovaná literatura	60

Seznam tabulek a obrázků

- Obrázek č. 1: Acetylcholin
Obrázek č. 2: Galantamin
Obrázek č. 3: Huperzin A
Obrázek č. 4: Berberin
Obrázek č. 5: Leptomerin
Obrázek č. 6: Taspin
Obrázek č. 7: Serpentin
Obrázek č. 8: Konypododiol
Obrázek č. 9: Cibule *Fritillaria cirrhosa*
Obrázek č. 10: květy *Fritillaria ussuriensis*
Obrázek č. 11: Verticinon (peiminin)
Obrázek č. 12: Verticin (peimin)
Obrázek č. 13: Ussuriedin
Obrázek č. 14: Květ *Fritillaria cirrhosa*
Obrázek č. 15: Peimisin
Obrázek č. 16: Imperialin (sipeimin)
Obrázek č. 17: Květy *Magnolia officinalis*
Obrázek č. 18: Magnolol
Obrázek č. 19: Honokiol
Obrázek č. 20: Magnoflorin
Obrázek č. 21: Magnofficin
Obrázek č. 22: Lotusin
Obrázek č. 23: Květ *Magnolia biondii*
Obrázek č. 24: Lignan fargesin
Obrázek č. 25: Růžová forma květu *Nelumbo nucifera*
Obrázek č. 26: Bílá forma květu lotosu indického
Obrázek č. 27: Plody lotosu indického v květním lůžku
Obrázek č. 28: Aporfinové alkaloidy lotosu
Obrázek č. 29: (+)-1(R)-Koklaurin
Obrázek č. 30: Neferin
Obrázek č. 31: Habitus stulíku žlutého
Obrázek č. 32: Deoxynufaridin
Obrázek č. 33: Neothiobinufaridin
Obrázek č. 34: Květy máku vlčího
Obrázek č. 35: Rhoeadin

Obrázek č. 36: Listy a plody vavřínu vznešeného

Obrázek č. 37: Boldin

Obrázek č. 38: (S)-Nandigerin

Obrázek č. 39: Plody a listy jujuby trnité

Obrázek č. 40: Základní struktura alkaloidů jujuby

Tabulka č. 1: vzestup případů demence pro ČR dle Alzheimer Europe a Alzheimer's Disease International

Tabulka č. 2: Klasifikace demencí podle DSM IV (V)

Tabulka č. 3: Označení, původ a hmotnost jednotlivých rostlinných drog pro screening

Tabulka č. 4: Inhibiční aktivita jednotlivých vzorků vůči lidským cholinesterasám

Tabulka č. 5: Cholinesterasová inhibiční aktivita různých rostlinných částí dotčených taxonů.

Tabulka č. 6: Inhibiční aktivita alkaloidů rodu *Fritillaria* vůči cholinesterasám

ÚVOD

Navzdory všeobecnému pokroku a zlepšování životní úrovně existují choroby, které současná medicína stále není schopná léčit, pouze zmírňuje symptomy a zpomaluje progresi určitých onemocnění. Mezi tyto onemocnění patří i Alzheimerova choroba (AD), která postihuje především starší populaci a s rostoucím věkem se prevalence zvyšuje, zároveň jde o nejčastější příčinu demence. Etiopatogeneze tohoto onemocnění také není zcela osvětleno a nové patogenetické pochody a vztahy mezi těmito pochody jsou stále objevovány.

Farmakoterapeutický přístup založený na důkazech („evidence-based“) spočívá prozatím pouze v léčbě pomocí inhibitorů cholinesteras (IChE) a inhibitorů *N*-methyl-D-aspartátových (NMDA) receptorů. IChE ovlivňují narušenou acetylcholinergní neurotransmisi. Jsou indikovány hlavně u lehkých a středních stadií AD. Z této skupiny látek se v současnosti u nás a ve většině zemí světa používají donepezil, rivastigmin a galanthamin.

Jako pro mnohá onemocnění neustává snaha nalézt nová účinná léčiva přírodního původu, které by mohla pozitivně ovlivňovat různé pochody probíhající v rámci těchto onemocnění s nízkou toxicitou a tedy i nežádoucími účinky. Pro toto hledání je často typické, že se výzkum obrací k rostlinám užívaných tradičními medicínami, ať těch z oblasti Evropy, tak rostlin tradiční čínské nebo japonské medicíny.

V rámci dlouhodobého základního výzkumu na katedře farmaceutické botaniky na Farmaceutické fakultě v Hradci Králové jsou takové rostliny sledovány pro jejich biologickou aktivitu, konkrétně schopnost inhibovat lidské cholinesterasy, které stále hrají významnou roli při patogenezi a ranných projevech AD. Na základě tohoto screeningu jsou následně vybírány rostlinné drogy pro izolaci jednotlivých obsahových látek a stanovení jejich aktivity a další studium.

1 TEORETICKÁ ČÁST

1.1 Demence

Diagnostika a léčba onemocnění demencí, zejména Alzheimerovy choroby a dalších onemocnění s progredujícím kognitivním deficitem, je závažným medicínským a sociálním problémem u lidí vyššího staršího věku. Celosvětově dochází k prudkému nárůstu počtu osob starších 60 let, zejména ve vyspělých zemích. V České republice se v současné době odhaduje počet osob s demencí na cca 120–130 tisíc osob. Zatímco loni trpělo v České republice Alzheimerovou chorobou 167 tisíc obyvatel, v roce 2050, odhadují odborníci, to může být více než dvojnásobek. Prevalence tedy činí více než 1 % populace. Souvisí to zejména se značným nárůstem střední délky života, která je dnes v ČR 73 let u mužů a 79 let u žen. (2) (1)

Tabulka č. 1: Vzestup případů demence pro ČR dle Alzheimer Europe a Alzheimer's Disease International (1)

Rok	2000	2010	2020	2030	2040	2050
Počet nemocných s demencí v tis.	88	111	138	180	213	227

Onemocnění tvoří jednotlivé symptomy. Jedná se o progresivní, z velké většiny ireverzibilní syndrom, který je způsobený zejména neurodegenerativním poškozením mozku (reverzibilní demence tvoří cca 10 %). (1)

Demenci charakterizuje multifokální nebo globální poškození vyšších kortikálních funkcí, zahrnujících paměť, myšlení, orientaci, chápání, počítání, exekutivní funkce, schopnost učení, jazyk a úsudek. Sekundárně jsou postiženy i nekognitivní funkce, dochází zejména k poruchám chování, ke ztrátě soběstačnosti a v konečném důsledku těchto postižení ke smrti. (2)

Diagnóza demence je velmi častá, výskyt významně roste s věkem. Ve věku nad 65 let se objevuje u 4–7 % seniorů, po každých 5 letech se její výskyt zdvojnásobuje. U lidí nad 85 let je výskyt demence 30–50 %. (2)

Demence je dle desáté revize Mezinárodní statistické klasifikace nemocí a přidružených zdravotních problémů definována jako "syndrom způsobený chorobou mozku, obvykle chronické nebo progresivní povahy, kde dochází k porušení mnoha vyšších nervových kortikálních funkcí, k nimž patří paměť, myšlení, orientace, chápání, počítání, schopnost učení, jazyk a úsudek. Vědomí není zastřeno. Obvykle je přidruženo porušené chápání a příležitostně mu předchází i zhoršení emoční kontroly, sociálního chování nebo motivace. Tento syndrom se vyskytuje u Alzheimerovy choroby, cerebrovaskulárního onemocnění a u jiných stavů, které primárně postihují mozek." (2)

Příčinou demence může být okolo 60 onemocnění a stavů. Hrubě lze rozdělit demence na primární (atroficko-degenerativní) a sekundární, kde jsou vlastní příčinou systémové choroby, vaskulární postižení, infekce, intoxikace, úrazy a další léze postihující mozek. (2)

Existuje několik mezinárodně uznávaných klasifikací demencí. Pro názornost uvádím klasifikaci demencí podle "Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders" (DSM) DSM IV (DSM V) viz Tabulka č. 2.

Tabulka č. 2: **Klasifikace demencí podle DSM IV (V)**

Demence Alzheimerova typu s časným začátkem

s pozdním začátkem

s deliriem

s bludy

s depresivní náladou

nekomplikovaná

Vaskulární demence s deliriem

s bludy

s depresivní náladou

nekomplikovaná

Demence při onemocnění HIV

Demence v důsledku poranění hlavy

Demence při Parkinsonově nemoci

Demence při Huntingtonově nemoci

Demence při Pickově nemoci

Demence při Creutzfeld-Jacobově nemoci

Demence při jiných obecně medicínských poruchách

Perzistující demence v důsledku účinku chemicky působících látek (alkoholu, drog, léků, inhalovaných

látek, těžkých kovů, rozpouštědel, organofosfátů apod.)

Demence s mnohočetnou etiologií

Demence jinak neurčená

(2)

1.2 Alzheimerova choroba

Alzheimerova choroba (AD) je nejčastější příčinou demence v populaci. Jedná se o primární atroficko-degenerativní onemocnění mozku prozatím neznámé etiologie s charakteristickými neuropatologickými a neurochemickými rysy. (3)

Za klíčový patogenetický článek degenerativních procesů v mozku lidí postižených AD se považuje nadměrná tvorba a ukládání β -amyloidu v extracelulárním prostoru. β -amyloid je bílkovina s vlastnostmi amyloidu (abnormální vláknitý protein). Ten se deponuje v tzv. senilních placích, dále také v cévních stěnách a některých neuronálních klubkách. (2) V placích se poté rozvíjí neurodegenerativní kaskáda. Dochází k uvolnění velkého množství kyslíkových radikálů, ke zvýšenému vstupu kalcia do neuronů, k excitotoxicitě excitačních aminokyselin a ke vzniku sterilního zánětu s uvolněním cytokinů a aktivací cyklooxygenasy 2. (4)

Intracelulárně (intraneuronálně) je přítomen τ -protein, který je spojen s mozkovými mikrotubuly, a dochází tak k tvorbě tzv. tangles, což jsou neurofibrilární klubka.

Všechny uvedené patologické změny vedou k poruše funkce neuronu a následně až k apoptóze-programované buněčné smrti a atrofii neuronální tkáně. (4)

Hmotnost i velikost mozku se zmenšují během klinicky normálního stárnutí i během AD. U obou stavů dochází k rozšiřování mozkových komor. Rozdíl mezi stárnutím a Alzheimerovou chorobou je patrný hlavně u presenilních podob AD, kde bývá postižení větší. Mozek s premorbidně větším objemem má větší rezervu pro uchování kognitivních funkcí při postižení AD. (2)

Obvykle je počátek plíživý a pomalu se rozvíjí během let. Časnými příznaky jsou zejména poruchy paměti, zejména krátkodobé. S rozvojem choroby je postižena orientace, dále dochází k poruše abstraktního myšlení, pozornosti, plánování a organizaci. V pozdních stádiích přestávají nemocní komunikovat s okolím, poznávat své blízké, dochází k inkontinenci, mutismu a akinezi. Celková doba přežití je 5–19 let od vzniku prvních příznaků. (3)

Z příčin smrti je AD na čtvrtém až pátém místě. Z ekonomického hlediska je její léčba nesmírně nákladná. (4) V současné době probíhá na celém světě velmi rozsáhlý výzkum AD z mnoha různých aspektů.

1.2.1 Rizikové faktory Alzheimerovy choroby

- Vyšší věk (Ve věku nad 65 let trpí AD přibližně 10 % populace, zatímco ve věkové skupině nad 85 let již postihuje téměř polovinu populace v klinicky různě závažné podobě)
- Genetické faktory – AD vykazuje familiární agregaci, což samo o sobě není důkazem genetické povahy onemocnění. Předpokládá se, že pro rozvoj AD je nutná podmínka kombinace vlivu genetických a vlivů zevního prostředí
- Ženské pohlaví (2)

Možné další rizikové faktory:

- Úrazy hlavy
- Nízká úroveň vzdělání – předpokladem je, že nízká úroveň vzdělání znamená nižší míru „mozkové rezervy“. Demence se při stejné zátěži u lidí s nízkou úrovní vzdělání může projevit dříve než u lidí s vysokou úrovní vzdělání. (2) Zajímavá je i závislost časnosti iniciální diagnózy na vzdělání pacienta. Pacienti se základním vzděláním byli diagnostikováni z větší části až ve stadiu střední a pokročilé demence (ve více než 2/3 případů), vysokoškolsky vzdělaní byli diagnostikováni nejčastěji v časném stadiu (téměř 2/3 případů) a ve stadiu pokročilém a pozdním jen ve zbylé třetině diagnostikovaných případů. (5)
- Nízká duševní aktivita
- Abúzus alkoholu
- Kouření
- Oxidační stres a ztráta antioxidační homeostázy
- Možné protektivní faktory:
 - Vyšší vzdělání
 - Psychická aktivita ve vyšším věku, kognitivní trénink
 - Antioxidanty
 - Přiměřená fyzická aktivita a tělesné cvičení
 - Příjem omega-3 mastných kyselin
 - Optimální TK a hladina cholesterolu
 - Mentální zdraví (6)

1.2.2 Diagnostika Alzheimerovy choroby

V diagnostice AD je nejdůležitější rozpoznat přítomný syndrom demence. Následuje určení AD jako nejpravděpodobnější příčiny syndromu demence, jelikož diagnostické metody mohou pouze vyloučit jiné příčiny demence. Současná diagnostická kritéria preferují především časnou diagnostiku a léčbu, nejlépe ještě ve stadiu mírné kognitivní poruchy (MCI), kdy pacient trpí poklesem kognitivních funkcí, ale je stále ještě zcela soběstačný. (7)

Používá se několik druhů standardních neuropsychologických testů a testovacích metod dle mezinárodních doporučení.

Rutinní vyšetřovací metodou by měla být výpočetní tomografie a magnetická rezonance (zmenšení spánkových laloků vyššího stupně než u klinicky normálního stárnutí, rozšíření zejména postranních mozkových komor, zmenšení hipokampu). Elektroencefalografie má doplňující význam pouze v rozlišení pacientů s AD a depresí (abnormální EEG záznam) vůči pacientům pseudodementním, stíženým jen depresí (normální EEG záznam nebo jen lehké abnormality) a při podezření na prionová onemocnění, případně epilepsii. EEG nepatří mezi rutinní vyšetření. (2) (5)

Vyšetření tripletu biomarkerů demencí (koncentrace β -amyloidu, τ , fosforylovaného τ proteinu) umožňuje s vysokou specifičtostí a senzitivitou potvrdit přímo diagnózu AD už ve fázi MCI. Bohužel není v ČR hrazeno z veřejného zdravotního pojištění a provádí se pouze ve specializovaných centrech v rámci grantových projektů. (5)

1.2.3 Terapie Alzheimerovy choroby

V současné době ještě není zcela jasná etiopatogeneze AD, takže stále není možné léčit tuto chorobu kauzálně. (1) Je ale možné výrazně zpomalit progresi AD. Čím dříve se započne s léčbou, tím lepší efekt lze očekávat. (2)

Terapie AD má být komplexní, tzn. zahrnovat farmakoterapii, psychosocioterapii, léčbu interkurentních onemocnění a rehabilitaci tělesných funkcí. Velmi důležitou součástí terapie je i práce s rodinou a dalšími pečovateli nemocného. (2)

1.2.4 Farmakologická terapie AD

Celková terapie AD lze rozdělit do dvou skupin.

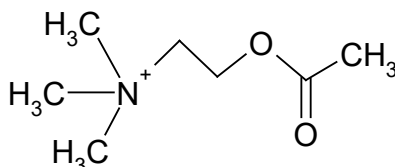
- Kognitivní farmakoterapie
 - Inhibitory acetylcholinesterasy – léčba lehkých a středních forem AD

- Inhibitory NMDA receptorů – léčba středně těžkých až těžkých forem AD
- Nekognitivní, symptomatická terapie
-

1.2.4.1 Kognitivní terapie

Primární poruchou u demencí je porucha kognitivních funkcí. Jejich příznivé ovlivnění tedy znamená protidemenní působení. U AD je jedním z nejvýznamnějších biochemických nálezů deficit cholinergní neurotransmise. (8) Nejvíce je postižen zejména presynaptický oddíl neuronu. Schopnost syntézy a uvolnění acetylcholinu je do určité míry zachována (2), ale zároveň je zvýšena koncentrace cholinesteras (acetylcholinesterasa a butyrylcholinesterasa) zvyšuje. Acetylcholinesterasa (AChE) je enzym, vázaný na buňky, který velmi rychle odbourává acetylcholin v CNS. Na periférii odbourává acetylcholin hlavně méně specifická sérová butyrylcholinesterasa (BuChE). V patologii AD má BuChE významnou roli, jelikož je zmnožená. Počet receptorů (vyjma některých typů nikotinových) neklesá. (9) Inhibicí AChE (a z hlediska účinnosti terapie i BuChE), se tak zvýší množství acetylcholinu v synaptické štěrbině, který je schopen vazby na receptor. (2) (10) (9)

Acetylcholin je nejdůležitějším neurotransmiterem zajišťujícím pozornost, operační paměť a schopnost učení v lidském mozku. Zvýšením jeho koncentrace tak dochází ke zlepšení kognitivních i nekognitivních funkcí v CNS. (8)



Obrázek č. 1: Acetylcholin

Substituce samotným acetylcholinem možná není, díky jeho krátkému biologickému poločasu. V praxi se zkoušela substituce prekurzory cholinu – lecitiny (deriváty glycerolu se substituovaným fosfatidylcholinem a mastnými kyselinami), ze kterých se postupně uvolňuje cholin pro syntézu acetylcholinu. (2) Nejčastěji se používá sojový lecitin. Pokud se ovšem má dosáhnout zvýšení syntézy acetylcholinu v mozku, je potřeba dávkování v řádu několika desítek gramů denně. Klinicky patrné účinky je možné pozorovat až po delší době užívání (1 až 6 měsíců) a analýzy většinou ukazují pouze nevýznamné zlepšení klinického stavu. (11)

1.2.4.1.1 Inhibitory acetylcholinesterasy

V ČR se k léčbě používají látky několika skupin tzv. nepřímých parasymptomimetik.

Inhibitory AChE (AChEI) jsou indikovány v léčbě lehké až středně těžké formy AD. Účinnost byla potvrzena mnoha randomizovanými, placebem kontrolovanými klinickými studiemi. Oddalují nástup nejzávažnějších stadií onemocnění, zlepšují kvalitu života, a významně prodlužují období pacientovy relativní soběstačnosti. (7)

Tyto látky nahradily dříve používané akridinové přípravky – zejména takrin – tetrahydroaminoakridin, který měl závažné vedlejší účinky (hepatotoxicita, salivace, pocení, křeče) a navíc špatnou biologickou dostupnost při podání *per os*. (12)

Karbamáty a organofosfáty reagují s AChE jako acetylcholin, tzn., že vytvoří s enzymem komplex. Rozdíl je v rychlosti hydrolyzy vazby. Deacetylace trvá jen milisekundy, dekarbamizace řádově hodiny, defosforylace je prakticky nemožná, ireverzibilní. (10) Organofosfáty – estery kyseliny fosforečné se už víceméně nepoužívají jako léčiva, ale jako insekticidy (metrifonát atd.), a bohužel stále také jako nervově paralytické látky (sarin, soman atd.).

Rivastigmin (Exelon®)

Karbamát rivastigmin = 5-(2-dimethylamiopropyl)fenylester ethylmethylkarbamové kyseliny je duální inhibitor AChE a BuChE. Při perorálním podání je nutná pomalá titrace dávky až do doporučených 2x denně 6mg. Nověji jsou na našem trhu k dispozici i náplasti, u nichž jsou minimalizovány nežádoucí gastrointestinální účinky (lepší se 1xdenně). (13)

Donepezil (Aricept®)

Piperidin donepezil je velmi selektivní inhibitor AChE s vysokým stupněm selektivity pro centrální formu enzymu. Má dlouhý biologický poločas, proto je možné jeho podávání jednou denně. Obvyklá dávka je 10mg večer. (13)

Galantamin (Reminyl®)

Alkaloid Galantamin je nejen kompetitivním a reverzibilním inhibitorem AChE, ale i alosterickým modulátorem nikotinových receptorů, čímž zároveň zvyšuje i produkci samotného acetylcholinu. (12) Dochází zároveň ke zvýšení množství funkčních nikotinových receptorů. (8)

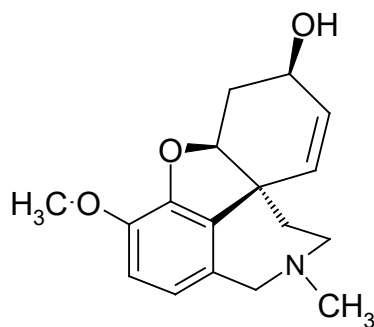
U galantaminu byly popsány i další pozitivní efekty na neuronální buňky – ochranný účinek před apoptózou indukovanou β -amyloidem a ochranný účinek proti poškození způsobenému anoxií. Zatím není zcela jasné, která ze složek jeho účinku se významněji podílí na pozitivním ovlivnění AD. (8)

Při perorálním podání se rychle vstřebává, jeho biologická dostupnost je 85–100 %. Z organismu se vylučuje z 97 % močí. Podává se obvykle v dávce 16mg/den spolu s jídlem buď rozložené do dvou denních dávek (tablety, roztok) anebo v jedné dávce (tobolky s postupným uvolňováním). Kvůli minimalizaci cholinergních nežádoucích účinků (nejčastěji nauzea, zvracení, průjem) je nutné zpočátku pomalu navyšovat dávku. (8)

Při podávání galantaminu a donepezilu je poměrně malé riziko nežádoucích účinků. U rivastigminu se z důvodu jeho duálního efektu vyskytuje o něco více gastrointestinálně vyjádřených nežádoucích účinků, které jsou ale obvykle přechodného rázu. Používá se i při léčbě Parkinsonovy choroby, má minimum interakcí. (9)

Kontraindikací je aktivní gastroduodenální vředová choroba a těžší převodní poruchy srdce. (9)

Jde o terciární alkaloid, který byl poprvé izolován ze sněženky *Galanthus woronowii*. Vyskytuje se i v jiných druzích druhu *Galanthus* (včetně sněženky podsněžníku (*Galanthus nivalis*), která je domácí u nás) a v dalších rodech čeledi Amaryllidaceae (rod *Amaryllis*, *Leucojum*, *Pancratium*, *Zephyranthes* etc.). (14)



Obrázek č. 2: Galantamin

1.2.4.1.2 Inhibitory NMDA receptorů

Memantin (Ebixa®)

Derivát amantadinu. Nekompetitivní parciální antagonist *N*-methyl-D-aspartátových receptorů pro excitační mediátor glutamát. Blokádou NMDA receptorů snižuje uvolňování glutamátu a navozuje rovnováhu porušené excitačně inhibiční aktivity v CNS, čímž odstraňuje dysfunkci neuronů. Tlumí také nadměrný vstup Ca^{2+} , jehož konečným důsledkem je zvýšená apoptóza nervových buněk. Používá se pro léčbu pokročilejších stádií AD, kdy je právě glutamatergní systém velmi výrazně postižen. (4) Při podání p.o. má memantin absolutní biologickou dostupnost téměř 100 %,

metabolizován je jen z malé části, vylučován je z 99 % ledvinami. Obvyklé dávkování je 1x denně 20mg vzhledem k dlouhému biologickému poločasu memantinu. Opět je nutno pomalu zvyšovat dávku. (13)

Memantin a inhibitory cholinesteras lze při léčbě výhodně kombinovat, ale tato léčba je poměrně finančně nákladná. (9) Jelikož ale u všech čtyř používaných léčivých látek vypršela patentová ochrana a mnoho farmaceutických firem se zabývá výrobou jejich generik, finanční zátěž zdravotních pojišťoven při léčbě jednoho pacienta relativně snížila.

Výzkum se zaměřuje i na další složky patogeneze AD, zejména na tvorbu β -amyloidu. Vakcinace β -amyloidem, velmi nadějná u pokusných zvířat, u člověka navozovala autoimunitní procesy a postvakcinační encefalitidy. V současné době se ověřuje podávání monoklonálních protilátek proti β -amyloidu, které by mohly zamezit tvorbě a ukládání a likvidovat i jeho depozita (bapineuzumab, solanezumab etc.). Pokračuje vývoj farmakologické inhibice patologické β - a γ -sekretasy (cerebrosterol, tarenflurbil), které se podílejí na tvorbě β -amyloidu a další. (4) (15) (6)

1.2.4.1.3 Nootropika

Jsou látky, které v širším slova smyslu zvyšují mozkový metabolismus. Zvyšují odolnost nervové tkáně k hypoxii, oxidativní metabolismus glukosy a neuronální proteosyntézu. Některé mají i scavenger efekt.

Výhodou je vysoká tolerance a minimum nežádoucích účinků. (2)

Piracetam (Geratam®)

Pyritinol (Encephabol®)

Extractum ginkgo bilobae (Tanakan®, Tebokan®)

Komplexní extrakt, který obsahuje glykosidy, terpenoidy, organické kyseliny. Vykazuje scavenger efekt, antiagregační a neuroprotektivní účinky.

Efekt nootropik u AN ale nebyl potvrzen, nejsou tedy k léčbě doporučována, přesto je jimi léčena minimálně 1/3 pacientů v ČR. (5) V některých případech je lze doporučit v kombinaci s inhibitory cholinesteras a memantinem. (9)

1.2.4.2 Nekognitivní terapie

Nekognitivní terapie se používá k léčbě přidružených symptomů AD. Zahrnuje zejména terapii poruch spánku (někdy se u AN vyskytuje nespavost, někdy hypersomnie), terapii agitovanosti a podobných poruch chování, terapii paranoidních a halucinatorních stavů, terapii deprese a terapii úzkosti. (2)

Podle vyjádření těchto symptomů se používají neuroleptika 2.generace (risperidon, quetiapin, olanzapin, ziprasidon), antidepressiva 3. (SSRI - citalopram, sertralin) a 4.generace (atypická antidepressiva-venlafaxin,milnacipran, mirtazapin, trazodon). (3) (9)

1.2.4.3 Léčiva přírodního původu

Jak bylo uvedeno výše, v našich podmínkách se prakticky používá alkaloid galantamin viz výše, v jiných zemích (Čína, USA) se s úspěchem používá Huperzin A.

1.2.4.3.1 Huperzin A

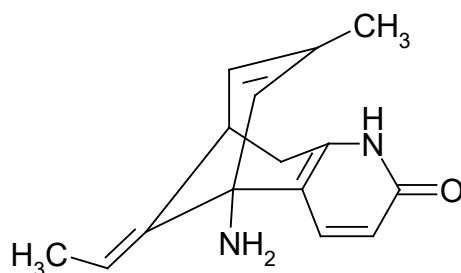
Je alkaloid lykodinového typu, izolovaný z plavuně vrance pilovitého *Huperzia serrata* (ř. Lycopodiales, č. Huperziaceae) (Quian Ceng Ta, Jin Bu Huan). Na našem území je detekovatelný ve vzácně se vyskytujícím vrancí jedlovém (*Huperzia selago*), ale pouze v malé koncentraci. (12) Izolace alkaloidu je velmi problematická vzhledem k pomalému růstu vrance a jeho obtížném pěstování. Proto se pracuje na totální syntéze příp. biosyntéze Huperzinu A. Intenzivní výzkum je zaměřen i na účinky syntetických a semisyntetických derivátů Huperzinu A. (12) (16) (17)

Huperzin A je vysoce selektivní, stabilní reverzibilní inhibitor AChE (18), vykazující silné neuroprotektivní vlastnosti. Zlepšuje proces učení, paměť a má anxiolytický účinek.

Nežádoucí účinky jsou mírnější než u galantaminu (nauzea, pocení, rozmazané vidění...).

Oproti běžně používaným léčivům (donepezil, rivastigmin) účinkuje delší dobu, má lepší biologickou dostupnost při podání per os. Hematoencefalickou bariérou prostupuje rychleji. Terapeutická dávka je velmi nízká (v řádu setin mg/den). (12)

V ČR není schválen jako lék, lze se s ním setkat jako s potravním doplňkem na zlepšení paměti.



Obrázek č. 3: Huperzin A

1.2.4.3.2 Další přírodní látky inhibující cholinesterasy

Většina používaných léčiv k léčbě AD je přírodního původu. To podnítilo rozsáhlý výzkum při hledání dalších látek z bakterií, hub, rostlin a živočichů.

Ačkoli je k dispozici několik set studií, ve kterých bylo nalezeno mnoho rostlinných extraktů inhibujících AChE ev. BuChE *in vitro*, jen malá část z nich byla prozatím zkoumána podrobněji. Velmi často se vychází ze zkušeností tradiční lidové medicíny (čínská, japonská, korejská, jihoamerická, jihoafrická etc.), kdy jsou zkoumány zejména taxony, které jsou dlouhá staletí používány pro zlepšení paměti, na nervové vyčerpání, nespavost, proti epilepsii, hysterii etc.

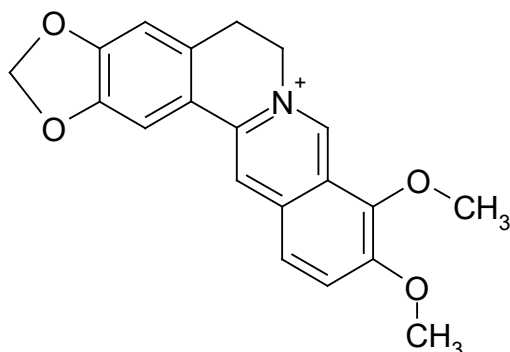
Jako látky inhibující AChE a BuChE bylo identifikováno několik desítek sloučenin sekundárního metabolismu. Jedná se zejména o alkaloidy, ale i steroly, terpeny, flavonoidy a glykosidy. (19) Studie probíhají nejen na samotných přírodních látkách, ale i na jejich derivátech. Většina sloučenin s potenciálním inhibičním účinkem proti AChE ev. BuChE byla izolována z druhů čeledí Buxaceae, Amaryllidaceae, Lycopodiaceae, Lamiaceae, Chenopodiaceae, Papaveraceae, Apocyanaceae a Labiatae. (19) Další účinné látky byly nalezeny v čeledích Rutaceae, Fabaceae, Brassicaceae, Menispermaceae. (12)

Alkaloidy s AChEI aktivitou

Alkaloidy, které mají AChEI aktivitu jsou různých skupin. Jedná se o triterpenoidní, steroidní, indolové, chinolinové, isochinolinové a piperidinové alkaloidy.

Velmi nadějnou látkou je berberin, isochinolinový alkaloid izolovaný z kořene koptisu čínského (*Coptis chinensis*, Ranunculaceae). Vyskytuje se i v dalších taxonech jako např. *Hydrastis canadensis* (Ranunculaceae), *Berberis* sp. (Berberidaceae), *Phellodendron* sp. (cortex; Rutaceae), *Corydalis* sp. (Papaveraceae) etc. Zkoumá se nejen jako inhibitor AChE a BuChE, ale také jako antioxidant, jako látka snižující cholesterol, hladinu β -amyloidu etc., navíc bez významné toxicity. (20) (17) (21)

V koptisu byly nalezeny ještě další protoberberinové alkaloidy silně inhibující AChE (palmatin, jateorrhizin, koptisin, groenlandicin). Berberin a groenlandicin vykazovaly i BuChEI aktivitu a epiberberin také inhiboval β -sekretasu. (22)



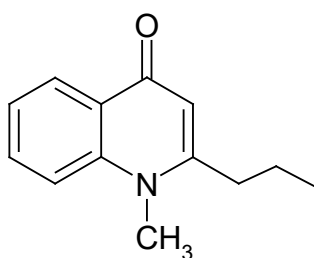
Obrázek č. 4: Berberin

Při screeningu rostlinných extraktů mikroanalýzou pomocí iontoforézy se potvrdila inhibiční účinnost na AChE extraktu z *Cortex phellodendri* a *Rhizoma coptidis* (ve srovnání s takrinem, Huperzinem A a donepezilem, které se již v terapii AN běžně používají). (23)

Sloučeniny inhibující AChE byly nalezeny také v *Camellia sinensis* (list). (24) (25)

V Brazílii byl v roce 2010 proveden screening extraktů 18 rostlin, které jsou běžně používané jako léčivé. Několik z nich vykazovalo AChEI účinek. Nejsilněji inhiboval AChE extrakt z *Jatropha gossypifolia* (Euphorbiaceae) a *Senna alata* (syn. *Cassia alata*; č. Fabaceae podčeleď Caesalpinioideae). (26)

Dalším účinným alkaloidem je leptomerin z brazilské rostliny *Esenbeckia leiocarpa* (Rutaceae). Leptomerin vykazoval silnou inhibiční aktivitu srovnatelnou s galantaminem. (27)



Obrázek č. 5: Leptomerin

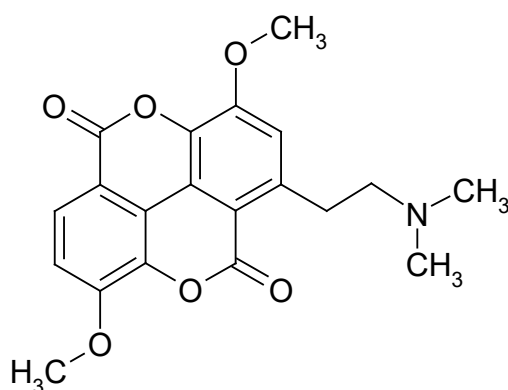
Piperidinový alkaloid juliflorin, izolovaný z listů *Prosopis juliflora* (Fabaceae) silně inhiboval AChE i BuChE. (17)

Jedna z posledních rešeršních studií sumarizovala 128 prací, které se v posledních letech zaměřily na hledání látek s AChEI aktivitou. (22)

V extraktech z *Beilschmiedia alloiophylla* a *B. kunstleri* (Lauraceae) byly nalezeny aporfínové alkaloidy s aktivitou srovnatelnou s Huperzinem A (2-hydroxy-9-methoxyaporfín, laurotetanin, liriodenin a oreobelin).

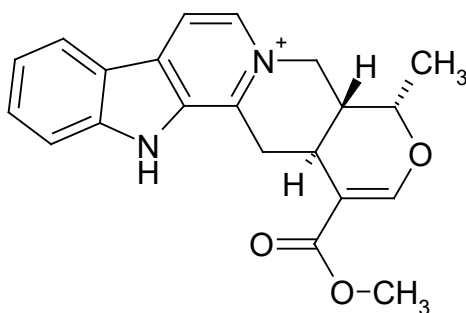
Isochinolinové alkaloidy v druzích rodu *Corydalis* (Papaveraceae) vykazují zajímavou AChEI (nejvíce pseudokoptisin a pseudoberberin).

Z alkaloidního extraktu *Magnolia × soulangeana* (Magnoliaceae) byl izolován taspin, selektivní inhibitor AChE, jehož AChEI aktivita byla vyšší než aktivita galantaminu a srovnatelná s takrinem.



Obrázek č. 6: Taspin

Velmi zajímavou čeledí je č. Apocyanaceae. Alkaloid serpentín izolovaný z kořene druhu *Catharanthus roseus*, známého zdroje vinkristinu a vinblastinu, vykazoval *in vitro* vysokou AChEI aktivitu. Strukturně nové AChEI, s významným účinkem i ve srovnání s galantaminem, byly izolovány z kořene *Tabernaemontana divaricata* (Apocyanaceae). Jednalo se o bisindolové alkaloidy 19,20-dihydrotabernamin a 19,20-dihydroervahanin A. Dalším zajímavou rostlinou z této čeledi je brazilský druh *Himatanthus lancifolius*, obsahující indolový alkaloid ulein, vykazující vysokou AChEI aktivitu. Steroidní alkaloid konessmin z běžné tibetské byliny *Holarrhena antidysenterica* také významně inhiboval AChE.



Obrázek č. 7: Serpentin

Velmi rozsáhlým výzkumem samozřejmě prochází i čeleď Amaryllidaceae. Z *Leucojum aestivum* (bledule letní), byly izolovány i silnější AChEI, než samotný galantamin (*N*-allylnorgalanthamin a *N*-(14-methylallyl)norgalanthamin).

Další nadějnou čeledí je č. Liliaceae. Při chemickém výzkumu druhu *Hosta plantaginea* byly jako látky s významnou AChEI aktivitou identifikovány benzylfenethylaminové alkaloidy ungeremin, norsanguinin a 8-demethoxy-10-*O*-methylhostasin. Z cibulí různých druhů r. *Fritillaria* byly izolovány steroidní alkaloidy s nižší AChEI aktivitu než galantamin, ale některé z nich vykazovaly oproti galantaminu vyšší BuChE aktivitu (hupeheninosid, ebeiedinon, yibeinosid A, chuanbeinon).

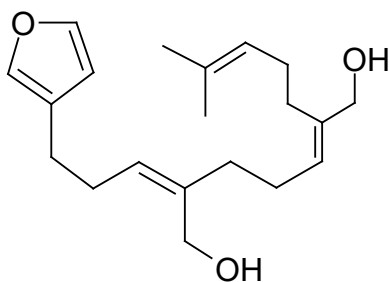
Steroidní alkaloidy z několika druhů č. Buxaceae (rod *Sarcococca*, *Buxus*), byly také identifikovány jako významné AChE a hlavně BuChE inhibitory. Jmenovitě nejsilněji působil na oba enzymy 2,3-dehydrosarsalignon izolovaný z *Sarcococca salina*. (22) (17)

Nealkaloidní sloučeniny s AChEI aktivitou

Navzdory tomu, že většina sekundárních metabolitů s největší inhibiční aktivitou AChE je ze skupiny alkaloidů, významné inhibitory AChE a BuChE lze nalézt i mezi sloučeninami jiných skupin.

Z terpenoidních sloučenin je možné uvést nilotikan, izolovaný z kůry *Accacia nilotica* subsp. *kraussiana* (Fabaceae), jehož AChEI aktivita byla srovnatelná s galantaminem.

Další z duálních inhibitorů cholinesteras – konypododiol byl získán z *Asparagus adscendens* (Asparagaceae). Tento druh je tradičně využíván v Aiurvédské medicíně.



Obrázek č. 8: Konypoddiol

V metanolicém extraktu z *Haloxylon recurvum* (Chenopodiaceae), který je pro léčbu různých nervových poruch využíván v Pákistánu, byly nalezeny zajímavé steroly, jejichž AChEI aktivita byla rovněž srovnatelná s galantaminem (haloxysterol B, haloxysterol C).

Jako nadějně látky byly identifikovány také flavonoly z *Sophora flavescens* (Fabaceae), které inhibovaly nejen AChE a BuChE, ale i β -sekretasu. Jmenovitě sofoflavescenol, ikaritin, kempferol etc.

Také v čeledi *Moraceae* byly nalezeny flavony významně inhibující AChE a BuChE. Konkrétně z druhů *Broussonetia papyrifera* a *Morus lhou*.

Strukturně nepříliš složité sloučeniny – deriváty kyseliny salicylové, vykazují silnou a střední AChEI aktivitu. Jsou produkovány druhem *Knema laurina* (Myristicaceae). (22)

Nezanedbatelná aktivita AChEI byla naměřena i u fenolické sloučeniny hopeahainolu A, izolovaném z *Hopea hainensis* (Dipterocarpaceae). (22) (28)

1.3 Popis vybraných rostlinných taxonů

1.3.1 Rod *Fritillaria*

Fritillaria spp. (Bei-mu)

Řád: Liliales, čeleď: Liliaceae

Charakteristickými metabolity řádu Liliales jsou steroidní saponiny a alkaloidy. (29)

Rod *Fritillaria* (řebčík, komonka) je rozsáhlý rod, čítající dle různých pramenů 130 až 170 druhů.

Jde o vytrvalé byliny, cibulovité rostliny. Cibule s 1 nebo více (2 nebo 3) masitými, moučnými šupinami, často pokryté průsvitnou tunikou viz Obrázek č. 9. Stonek je vzpřímený, nevětvený olistěný, přičemž přízemní listy jsou řapíkaté; výše na stonku přisedlé, organizované spirálovitě, protilehlé nebo v přeslenu; listová čepel podlouhlá až kopinatá. Květy jednotlivě či v květenství, které je hroznovité nebo okoličnaté, obvykle jsou přítomny listeny. Květy oboupohlavné, obvykle nící, zvonkovité až talířkovité. Okvětní listy (6) jsou volné, často mozaikované tmavými a světlými barvami, s nektarem. Plodem jsou tobolky, 3-pouzdré, 6-úhelníkové, okřídlené nebo bezkřídlé. Semena jsou v tobolce uspořádána ve dvou řadách. (30)



Obrázek č. 9: Cibule *Fritillaria Cirrhosa* (31)

1.3.1.1 Využití

Bulbus fritillariae (Bei-Mu), se v tradiční čínské medicíně (TCM) už dva tisíce let využívá jako antitusikum a expektorans. Matečnou rostlinou je *Fritillaria ussurensis* (Ping-bei-mu) a další druhy *Fritillaria* (*F. puquiensis*, *F. hupehensis*, *F. cirrhosa* (Chuan-bei-mu), *F. ebeiensis*, *F. thurnbergii*, *F. unibracteata*, *F. walujewii*, *F. przewalskii*, *F. delavayi*). (32) (33) V čínském lékopisu (2010) je oficiálních 6 druhů *Fritillaria* sp. (34)

V TCM se Bulbus fritillariae dále používá pro tlumivou aktivitu na CNS (uklidnění), jako myorelaxans a ke snížení TK. Také zevně např. při abscesech a furunklech. (35)

Charakteristickými metabolity *Fritillaria* sp. jsou zejména isosteroidní alkaloidy, v menší míře steroidní alkaloidy a látky nealkaloidní povahy. (33)

Antitusické a antiastmatické účinky byly potvrzeny studiemi *in vitro* i *in vivo*. Některé z dostupných studií udávají inhibiční aktivitu alkaloidů proti AChE a BuChE (36) (17), ale jiné studie tuto aktivitu neprokázaly. (32)

1.3.1.2 *Fritillaria ussuriensis* Maxim.

(Ping-bei-mu)



Obrázek č. 10: květy *Fritillaria ussuriensis* (37)

1.3.1.2.1 Botanický popis

Vytrvalá bylina s přímou 50-60(100) cm vysokou lodyhou. Listy (14-17), bazální obvykle v přeslenech po třech, ve střední části v přeslenu vstřícné občas také střídavé. Cibule 1,52 cm v průměru. Květenství trubkovitě-zvoncovité, tepaly svrchu nachové, zesponu hnědavě fialové, se žlutou mozaikou. Tyčinky delší než prašníky. Plodem je tobolka. Kvetu v květnu až červnu.

1.3.1.2.2 Rozšíření

Roste v lesích, houštinách a loukách, stinných a polostinných, vlhkých místech do nadmořské výšky 500 m.

Přirozeně se vyskytuje v některých kantonech Číny, Koreji a Rusku (Dálný Východ). V Číně se je pro medicínální využití i pěstována. (38)

1.3.1.2.3 Obsahové látky

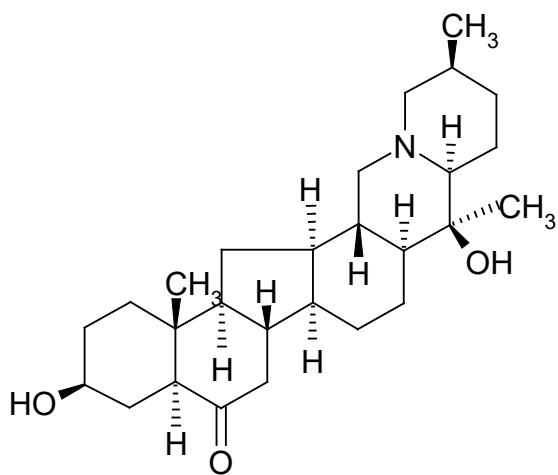
Obsahové látky s nevyšší biologickou aktivitou jsou isosteroidní a steroidní alkaloidy a to konkrétně C-nor-D-homosteroidní alkaloidy, které zmírňují kašel, zalenění a astma. (32) Jmenovitě verticinon (syn. peiminin), verticin (syn. peimin), pingbeimunon A, ussuriedin, ebeiedinon, peimisin, imperialin (syn. sipeimin), pingbeimin C. (32) (33)

1.3.1.2.4 Využití

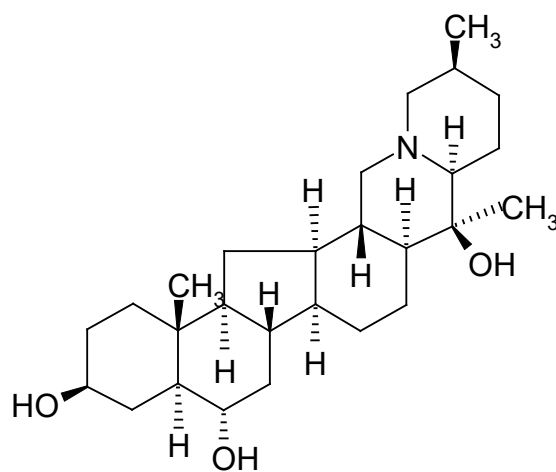
Tradičně se *Bulbus Fritillariae ussuriensis* používaly pro antitusické, antiastmatické a expektorační účinky, nicméně byly prokázány i protizánětlivé účinky (snížení hladiny PGE2 a malondialdehydu), patrně vlivem obsažených flavonoidů a saponinů. (39)

Verticinon je hlavní biologicky aktivní látkou *Fritillaria ussuriensis*, byl zkoumán pro ovlivnění řady plicních onemocnění, navíc může mít příznivý efekt na regulaci alergických a zánětlivých reakcí zprostředkovaných mastocyty (HMC-1 buňky). (40)

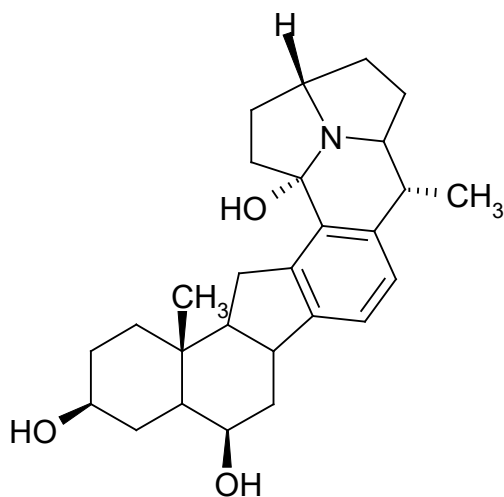
Navzdory tomu, že verticinon indukoval diferenciaci lidských leukemických buněk, přesný mechanismus účinku na nádorové buňky není zcela osvětlen. Hlavním mechanismem je patrně indukce apoptózy (pomocí kaspas) a zásah do buněčného cyklu. (41)



Obrázek č. 11: Verticinon (peiminin)



Obrázek č. 12: Verticin (peimin)



Obrázek č. 13: Ussuriedin

1.3.1.3 *Fritillaria cirrhosa* D.Don.

Chuan-Bei-Mu



Obrázek č. 14: Květ *Fritillaria cirrhosa* (42)

1.3.1.3.1 Botanický popis

Vytrvalá bylina s 15–60 cm vysokou lodyhou. Listy (7–11) jsou vstřícné, nebo také v přeslenech po 3–4, občas střídavé. Cibule 1,5–2 cm v průměru. Květenství převislé, trubkovitě-zvoncovité, tepaly žluté nebo žlutavě zelené, s purpurovou mozaikou nebo tečkami, obvykle podlouhle eliptické, o velikosti 3–5 × 1,2–1,8 cm. Plodem je okřídlená tobolka. Kvete v květnu až červnu.

1.3.1.3.2 Rozšíření

Roste na subalpínských až alpínských kamenitých vlhkých svazích a loukách v nadmořské výšce 3200 až 4600 m.

Přírodně se vyskytuje v některých kantonech Číny, Nepálu, Bhútánu, Indii a Sikkimu. (43)

1.3.1.3.3 Využití

Rostlina je pěstována jako okrasná - ornamentální, nicméně většinou jsou sklizeny cibule divoce rostoucích rostlin.

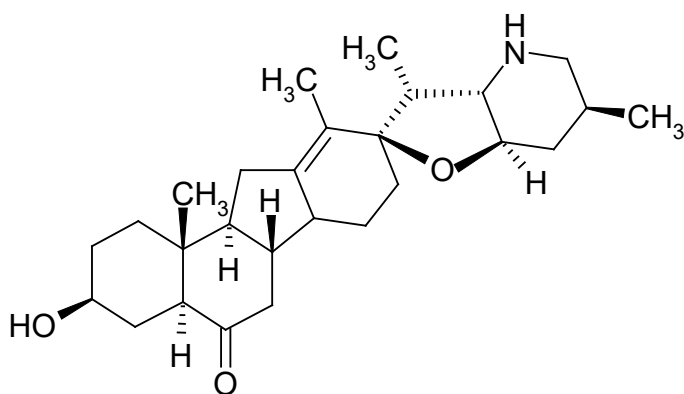
Cibule *Fritillariae cirrhosae* označované jako "Chuan-Bei-Mu" jsou v Číně důležitou potravinou (zdroj škrobu) a oblíbenou léčivou drogou (rostlinu obsahuje přes 200 komerčních produktů). Tradičně je *F. cirrhosa* používána k léčbě plicních onemocnění spojených se zánětem (včetně kašle, astma CHOPN) a nádory.

1.3.1.3.4 Obsahové látky

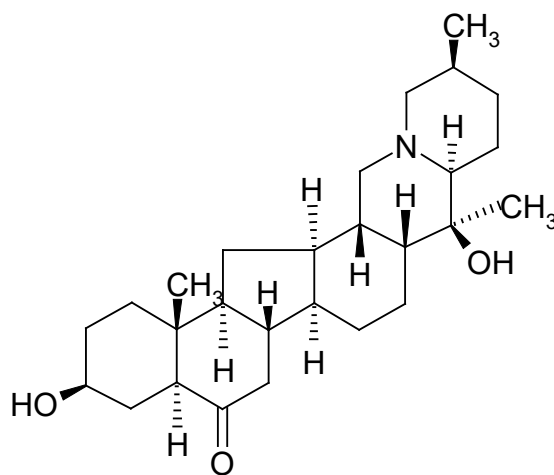
Jako ve všech ostatních druzích *Fritillaria* sp. jsou nejdůležitějšími obsahovými látkami isosteroidní alkaloidy imperialin, chuanbeinon, delavinon, verticinon, petilidin, peimisin, solanidin, dále terpenoidy a nukleosidy (uridin, adenosin, guanosin). (34) (44)

Byl sledován efekt imperialinu na strukturu, funkci plic včetně zánětlivé reakce u kryš s navozeným CHOPN. V rámci studie byl zjištěn příznivý efekt na zmírnění strukturálních změn a snížení funkce plic, snížení zánětu snížením exprese prozánětlivých cytokinů. (45) *In vivo* byly potvrzeny anitusické účinky alkaloidů izolovaných z *Fritillaria cirrhosa* (imperialin, chuanbeinon, verticinon, verticin) ve srovnání s kodeinem. Imperialin a chuanbeinon také vykazovaly protizánětlivý účinek. (34)

Také byly sledovány účinky vodného extraktu na buňky ne-malobuněčného karcinomu plic A549 a na modelu xenograftovaných myši. Bylo zjištěno, že má *F. cirrhosa* indukovat apoptózu nádorových buněk prostřednictvím STAT proteinů (z ang. "Signal Transducer and Activator of Transcription"), které mají roli přenašečů signálu a transkripčních faktorů, čímž ovlivňují např. diferenciaci, migraci, apoptózu nebo angiogenezi. a mohla by být slibným prostředkem s antitumorovým účinkem pro modulaci imunitní odpovědi při nádorových onemocnění a zlepšení léčby. (46)



Obrázek č. 15: Peimisin



Obrázek č. 16: Imperialin (sipeimin)

1.3.2 Rod *Magnolia*

Magnolia sp.

Řád Magnoliales, čeleď: Magnoliaceae

Rod *Magnolia* L. (šácholan) jsou opadavé nebo stálezelené stromy a keře původem převážně z jihovýchodní Asie, dále také ze Střední a jihovýchodu Severní Ameriky, často jsou pěstované jako okrasné dřeviny. Tento rod čítá přes 200 druhů. (47)

1.3.2.1 *Magnolia officinalis*

(Hou Po)



Obrázek č. 17: Květy *Magnolia officinalis*

(48)

1.3.2.1.1 Botanický popis

Magnolia officinalis (šácholan lékařský) je opadavý, rychle rostoucí strom, dosahující výšky 20–30 m. Kůra je hladká, světle rezavě šedá až tmavě šedá, aromatická. Listy jsou široce eliptické, velké 20–40 cm, na povrchu hladké, mladé plstnaté na rubu, rašící před květem. Květy jsou vonné, smetanově bílé, o průměru 20 cm. Plodenství šiškovité, 10–12 cm dlouhé. Semena velká červená, visící na dlouhých poutkách z měchýřků plodenství. (35) (49)

1.3.2.1.2 Rozšíření

Planě roste v horách střední a západní Číny, v teplém klimatu. V takovýchto oblastech (Čína, Japonsko) se pro medicínské využití i pěstuje.

1.3.2.1.3 Využití

M. officinalis je spolu s *M. obovata* (cortex, flos) součástí tradiční japonské (Kampo) a čínské medicíny. Její použití je mnohostranné: gastrointestinální potíže (nechutenství, zvracení, průjem), úzkostné stavy, bolest různého původu, rhinitidy, dušnost. (50) (51)

Byla sledována i aktivita na Alzheimerovu chorobu, konkrétně snížení amyloidogeneze, neuronální toxicity indukovanou β -amyloidem či regulací β -sekretasy. (52) (53)

Na našem trhu je extrakt z kůry *Magnolia officinalis* dostupný jako doplněk stravy doporučovaný k udržení psychické pohody.

1.3.2.1.4 Obsahové látky

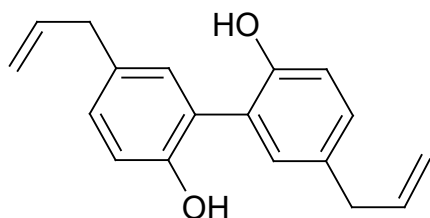
Silice, lignany magnolol a honokiol a více jak 20 alkaloidů. (54) (55)

1.3.2.1.4.1 Lignany

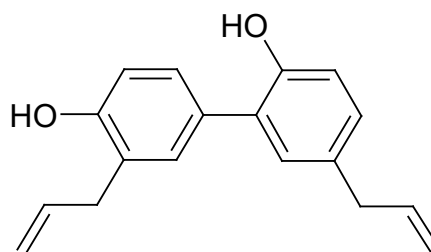
Neolignan magnolol (5,5'-diallyl-2,2'-dihydroxybifenyl) a honokiol (3,5'-diallyl-4,2'-dihydroxybifenyl; isomer magnololu) vykazují na preklinických modelech rozsáhlé spektrum farmakologických účinků. Byl zjištěn protizánětlivý, antimikrobiální, antioxidantní, protisrážlivý, neuroprotektivní, hepatoprotektivní, kardioprotektivní, analgetický a protinádorový efekt, který je navíc bez patrné toxicity. (56)

V současné době probíhají zejména studie zaměřené na protinádorové působení (založené na indukci apoptózy nádorových buněk). (51)

Obě sloučeniny dobře procházejí hematoencefalickou bariérou. (51)



Obrázek č. 18: Magnolol

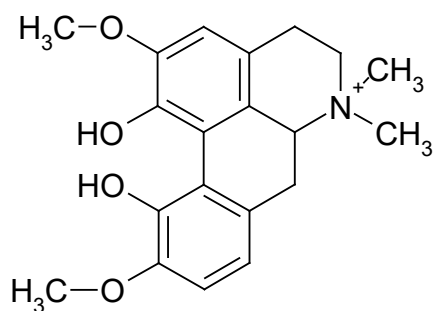


Obrázek č. 19: Honokiol

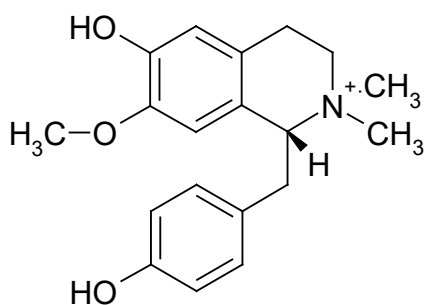
1.3.2.1.4.2 Alkaloidy

Alkaloidy jsou převážně isochinolinové, zejména aporfinového a benzyloisochinolinového typu. (55)
Z aporfinových např. magnoflorin, magnofficin, anonain, asimilobin, roemerin, nornuciferin, lirinidin, corytuberin. Z derivátů benzyloisochinolinu např. reticulin, magnokurarin, tembetarin, oblongin, lotusin. Zbývají jsou amidy *trans/cis-N-feruloylputrescin*. (54) (54)

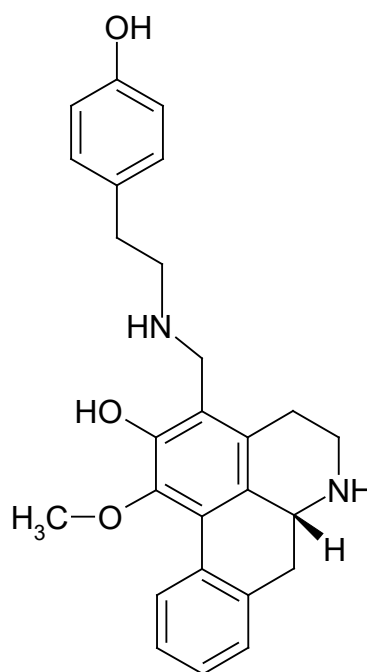
Studie *in vitro* samotného magnoflorinu ukazují, mj. jeho ochranný účinek na HDL cholesterol proti lipidové peroxidaci. (57)



Obrázek č. 20: Magnoflorin



Obrázek č. 22: Lotusin



Obrázek č. 21: Magnofficin

1.3.2.2 *Magnolia biondii* Pamp.

(Xin-yi – sušená poupata)

Synonyma: *M. fargesii*, *M. aulacosperma*, *M. conspicua* var. *fargesii*, *M. denudata* var. *fargesii*, *M. axilliflora*, *M. yulan*



Obrázek č. 23: Květ *Magnolia biondii* (58)

1.3.2.2.1 Botanický popis

Opadavý, až 17 m vysoký strom. Listy podlouhlé až eliptické, zašpičaté až špičaté, silně kožovité, 12–18x5–10 cm velké. Květy silně vonné, bílé, asi 10 cm velké. Kveté ještě před olistěním. Souplodí až 13 cm dlouhé, červenohnědé (59).

1.3.2.2.2 Rozšíření

Roste v smíšených lesích mírného pásu v několika oblastech Číny.

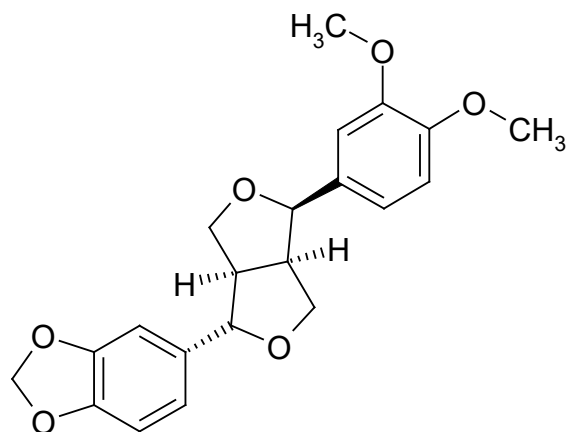
1.3.2.2.3 Využití

V čínském lékopisu (2005) je oficiální jako matečná rostlina drogy Flos magnoliae (spolu s *M. denudata* a *M. sprengeri*).

V TCM se používá Flos magnoliae (který ovšem může pocházet z celkem 20 druhů *Magnolia* sp.) zejména k léčbě alergické rhinitidy, sinusitidy (antialergická aktivita) a bolestí hlavy (60) anebo poupata květů (Xin-yi).

1.3.2.2.4 Obsahové látky

Až 90 % obsahových látek květů tvoří silice (monoterpeny a seskviterpeny), dále jsou přítomny fenoly (kys. kávová), lignany (3',4'-*O*-dimethylcedrusin, magnolin, epimagnolin A, (+)-fargesin, fargesol skafoptalon nebo benzofuranové a bisepoxy lignany) a neolignany (likarin B, biondinin B, biondinin E etc.), malé množství alkaloidů (benzylisochinolinové alkaloidy: (+)-retikulin-*N*-oxid, 4'-hydroxybenzyl-6-methoxy-7-hydroxyisochinolin, (+)-isokoklaurin, (–)-isokoklaurin, α -magnoflorin, β -magnoflorin aj.) (61) a flavonoidy (biondnoid) (60) (62).



Obrázek č. 24: Lignan fargesin

Obsahové látky se v současné době dále zkoumají pro svůj protizánětlivý, protialergický a antimikrobiální účinek (60).

1.3.3 *Nelumbo nucifera* L. Gaertn.

lotos indický (syn. ořešinec krásný)

Synonyma: *Nymphaea nelumbo*, *Nelumbo indica*, *Nelumbium nelumbo*

Lianzi (semena), Heye (listy), Lianzixin (klíčky), Oujje (oddenek)

Čeleď: Nelumbonaceae



Obrázek č. 25: Růžová forma květu *Nelumbo nucifera* (63)

Obrázek č. 26: Bílá forma květu lotosu indického (64)



Obrázek č. 27: Plody lotosu indického v květním lůžku (65)

1.3.3.1 Botanický popis

Vytrvalá vodní bylina s válcovitě ztloustlými dužnatými oddenky. Listy střídavé s okrouhlou až 50cm velkou čepelí, často vyčnívající z vody. Květy velké, až 20cm široké, bílé nebo růžové. Masité květní lůžko je ve tvaru obráceného kužele. Plodem jsou nepukavé oříšky uložené jednotlivě v jamkách receptakula. (50)

1.3.3.2 Rozšíření

Široce rozšířený od jižního Povolží, přes tropickou Asii až po severovýchodní Austrálii ve stojatých nebo pomalu tekoucích vodách.

1.3.3.3 Využití

V Asii je lotos významnou užitkovou jedlou rostlinou pěstovanou hlavně pro dužnatý oddenek a nezralá semena, zároveň je lotos posvátná rostlina buddhismu a hinduismu.

Listy, semena a oddenek se v TCM používají při průjmech, horečkách, potížích nervového původu, nespavosti, krvácení, gynekologických výtocích, impotenci, jako tonikum. (50) V Ajurvédské medicíně se poupaty lotosu léčí předčasná ejakulace, křeče v břišní oblasti a krvácení různého původu. (66)

Také obsahuje neuroprotektivní látky, které mohou ovlivňovat různá místa zásahu v rámci patogeneze AD (antioxidační účinek, inhibice cholinesteras či β -sekretasy 1). Byly připraveny různé extrakty (použitím různých rozpouštědel pro extrakci různých rostlinných částí), přičemž bylo zjištěno, že ve vodných extraktech jsou fenolické látky jako flavonoidy a fenolické kyseliny hlavními látkami zodpovědnými za antioxidační aktivitu (různými mechanismy), byla sledována poměrně nízká inhibiční aktivita vůči enzymům zapojených do etiopatogeneze AD, vůči cholinesterasám (IC_{50} v jednotkách mg/mL) i vůči β -sekretase 1 (45–75% inhibice při $c = 10$ mg/mL). (67)

V rámci studie zkoumající efekt různých extraktů klíčků of *N. nucifera* na toxicitu A β 1-40 na PC12 buňky (*in vitro* AD model) bylo zjištěno, že obsažené flavonoidy významně snižují toxicitu těchto proteinů patrně i antioxidační aktivitou. (68)

Kromě klíčků byla sledována aktivita extraktu plodů lotosu a jejich vliv na myších s motoricky-koordinací poruchou a s poruchou paměti. Bylo sledováno zlepšení paměti bez ovlivnění motorické koordinace, což by mohlo mít významný potenciál v ovlivňování poruch paměti jako AD. (69)

1.3.3.4 Obsahové látky

Celá rostlina obsahuje v různé míře alkaloidy, flavonoidy, triterpenoidy, polysacharidy, steroly, vitamíny, nasycené a nenasycené mastné kyseliny a další látky. (29) (50) (70)

Lotos je častým předmětem zkoumání. *In vitro* vykazují extrakty antioxidační a hepatoprotektivní aktivitu. Polysacharidy lotosu jsou nadějnými látkami pro léčbu diabetu I. typu v *in vivo* studiích (70). Extrakt ze semen měl *in vivo* signifikantně antiestrogenní účinek, a to snížením steroidogeneze z cholesterolu, což ukazuje na možné využití na snížení plodnosti. (71)

Alkaloidy lotosu jsou převážně isochinolinové, několika typů.

Benzylisochinolinové alkaloidy (+)-1(*R*)-koklaurin, (-)-1(*S*)-norkoklaurin, lotusin, bisbenzylisochinolinové alkaloidy liensinin, isolienisinin, negferin a aporfinové alkaloidy asimilobin, *N*-methylassimilobin, nuciferin, nornuciferin, (-)-lirinidin (5-demethylnuciferin), lysikamin, roemerin etc. (66) (70) (72)

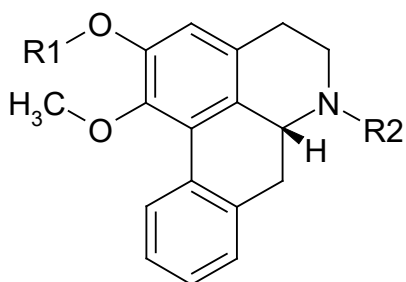
Hlavní složkou alkaloidního extraktu lotosu je neferin (bisbenzylisochinolinový alkaloid). Ve studiích je uváděn jako látka hepatoprotektivním, antioxidačním (70), antikancerózním efektem. (73)

Alkaloidní extrakt z listů (resp.pouze *N*-methylassimilobin) silně inhibuje AChE. (74) Nuciferin, *N*-methylassimilobin a (-)-lirinidin signifikantně inhibují melanogenezi (inhibice melanogeneze se využívá v kosmetických prostředcích pro odstranění a prevenci nežádoucích pigmentací). (66)

Alkaloidy (+)-1(*R*)-koklaurin, (-)-1(*S*)-norkoklaurin a nuciferin vykazovaly vysokou anti-HIV aktivitu *in vitro*. Liensinin, isolienisinin a neferin byly stejně anti-HIV aktivní, ale jejich terapeutický index byl výrazně nižší oproti třem předchozím. (72)

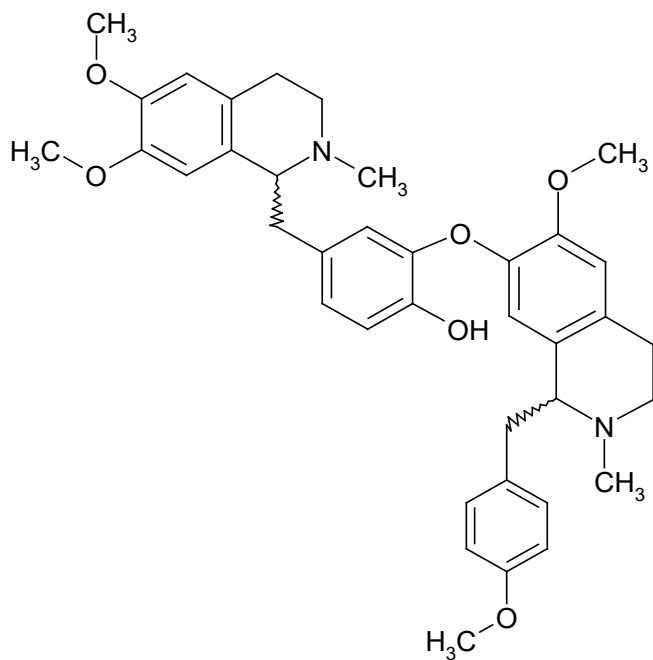
Benzylisochinolinové alkaloidy izolované z listů lotosu také silně inhibovaly diferenciaci adipocytů ((6*R*,6*aR*)-roemerin-*N*_β-oxid a liriodein) a další (*trans-N*-kumaroyltyramin a *cis-N*-feruloyltyramin) silně inhibovaly pankreatickou lipasu. Tyto synergické účinky jsou nadějnou cestou pro léčbu obezity. (75).

Suplementace nuciferinem *in vivo* signifikantně inhibovala rozvoj steatózy jater a snižovala hladinu krevních lipidů při dietě s vysokým obsahem tuku. Vzhledem k rostoucí incidenci poškození jater nesprávnou výživou (nealkoholické ztučnění jater) v industriální společnosti je tento výsledek velmi zajímavý. (76)

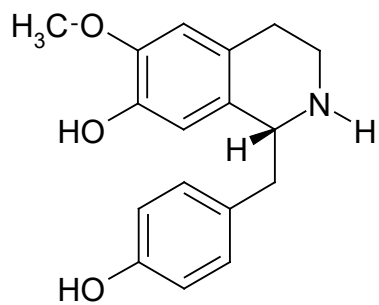


<i>N</i> -methylasimilobin	R ₁ =H	R ₂ =CH ₃
Nuciferin	R ₁ =CH ₃	R ₂ =CH ₃
<i>N</i> -Nornuciferin	R ₁ =CH ₃	R ₂ =H

Obrázek č. 28: Aporfinové alkaloidy lotosu



Obrázek č. 29: Neferin



Obrázek č. 30: (+)-1(*R*)-Koklaurin

1.3.4 *Nuphar luteum* (L.) Smith

Synonyma: *Nuphar lutea*, *Nymphaea lutea*

stulík žlutý

Čeleď: Nymphaeaceae



Obrázek č. 31: Habitus stulíku žlutého (77)

1.3.4.1 Botanický popis

Vytrvalá vodní bylina se silným velmi dlouhým oddenkem, na jehož spodní straně vyrůstají tenké kořínky. Z oddenku střídavě vyrůstají řapíky listů a květní stopky. Plovoucí listy mají kožovité čepele, široce vejčité, celokrajné, na bázi srdčité vykrojené, 10-40 cm v průměru. Stulík vytváří také ponořené listy, jsou světlejší, jemně křehké a zvlněné. Vyrůstají na jaře jako první, někdy se objevují už na podzim. Zlatožluté květy se zvláštní vůní (připomínající jablka) jsou oboupohlavné, o průměru 4-6cm. Kvetou v červnu až srpnu. Plodem je lahvicovitá, druhotně zdužnatělá tobolka.

1.3.4.2 Rozšíření

Rozšíření je téměř v celé Evropě, v Asii od Blízkého východu až po západní Sibiř a také v severní Africe a Americe. U nás se vyskytuje v nižších polohách ve stojatých nebo mírně tekoucích vodách. Tam kde se vyskytuje, značně přispívá k zazemňování tůní, rybníků a slepých ramen. (78) (79)

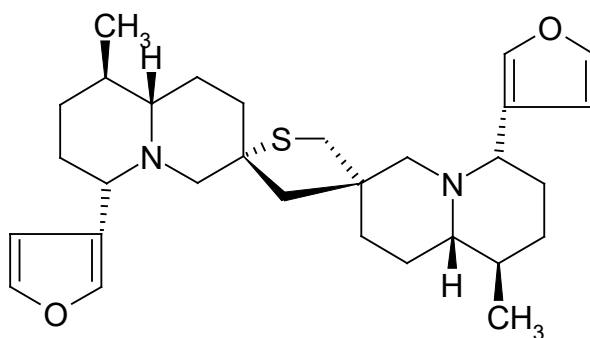
1.3.4.3 Využití

V lidovém léčitelství se dříve oddenek používal jako uklidňující prostředek a také jako anafrodisiakum. (80)

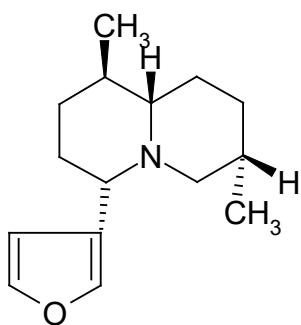
1.3.4.4 Obsahové látky

Chinolizidinové a piperidinové alkaloidy, thioalkaloidy (C30-alkaloidy, jejichž dvě deoxynufaridinové jednotky jsou spojeny vazbou přes síru a uhlík). Všechny alkaloidy stulíku jsou charakteristické přítomností jedné nebo více furanových jednotek. Např. nufarin, nymfein, nymfalin, nufaridin, nufamin, deoxynufaridin, nufarolutin, 3-epinufamin, thiobinufaridin, neothiobinufaridin. (81) (82) Alkaloidy jsou vypouštěné rostlinou do vody, působí inhibičně na růst jiných rostlin v okolí stulíku. (81)

Alkaloidy stulíku vykazují ve studiích protinádorovou aktivitu. (83)



Obrázek č. 33: Neothiobinufaridin



Obrázek č. 32: Deoxynufaridin

1.3.5 *Papaver rhoeas* L.

mák vlčí

Čeleď: Papaveraceae

Lidově slepý mák, pleskánek, ohníček, červánčí, panenka.



Obrázek č. 34: Květy máku vlčího (84)

1.3.5.1 Botanický popis

Vlčí mák je jednoletý ozimý plevel s větveným křovitým kořenem. Lodyha je přímá, zřídka větvená, bohatě olistěná, po celé délce odstále štětinatě srstnatá. Vysoká 20–110 cm. Listy jsou podlouhlé, dolní řapíkaté, horní přisedlé, dělené v ostře zubaté úkrojky. Květy o průměru až 10 cm, pravidelné, oboupohlavné. Dva zelené kališní lístky jsou prchavé. Čtyři velké, vzájemně se překrývající ohnivě červené korunní lístky mají často černou skvrnu ve spodní části. Kvete od srpna do října. Plodem je obvejčitá lysá makovice, 1–2 cm dlouhá. Semena šedohnědá až tmavohnědá se síťovaným povrchem o velikosti 1 mm, která si uchovávají velmi dlouhou dobu klíčivost.

1.3.5.2 Rozšíření

Rozšíření je v Evropě, Asii, severní Africe, Severní Americe a Austrálii. Původní je pravděpodobně ve východní části Středomoří, do ostatních lokalit se dostal s obilným osivem během jejich osídlování.

1.3.5.3 Použití

V lidovém léčitelství se sušené korunní lístky využívaly k tlumení kašle, zejména u dětí, k léčbě plicních chorob a jako mírné sedativum. Dnes jsou míchána spíše jako korigens do čajových směsí (lékopisný článek: *Papaveris rhoeadis flos* (29)), ale v lidové medicíně lze drogu najít v čajových

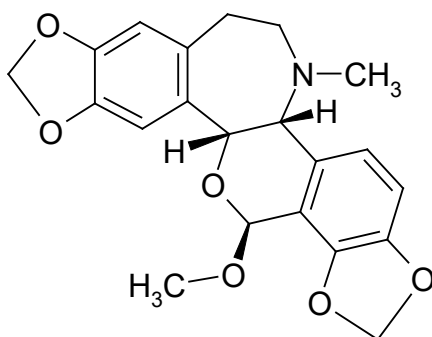
směsích a sirupech proti nachlazení, chrapotu a k usnadnění odkašlávání. Zevně se nálev doporučuje jako vlasové tonikum a k výplachům očí. (85)

Listy jsou mírně jedovaté, při obsahu většího množství v krmivu může dojít k otravě hospodářských zvířat.

Použití nezralých makoviček v odvaru jako sedativum je diskutabilní. (86)

1.3.5.4 Obsahové látky

Vlčí mák obsahuje velké množství různých alkaloidů. Hlavním alkaloidem je rhoeadin (je známo protikřečové působení rhoeadinu na pokusných zvířatech) a další baze ze skupiny rhoeadinu (protopin, sinaktin) (85), isorhoeagenin, rhoeagenin, berberin, koptisin, allokryptopin etc. (87)



Obrázek č. 35: Rhoeadin

Vlčí mák obsahuje antokyanová barviva s vynikajícími barvicími vlastnostmi (cyanin, mekocyanin), slizy, třísloviny, cukry. (85)

1.3.6 *Laurus nobilis* L.

vavřín vznešený (syn v. ušlechtilý, v. pravý)

Čeleď: Lauraceae



Obrázek č. 36: Listy a plody vavřínu vznešeného (88)

1.3.6.1 Botanický popis

Je stálezelený 2–5 m vysoký keř nebo strom. Listy podlouhlé až eliptické, 6–10 cm dlouhé a 2–3 cm široké, při okrajích zvlněné, kožovité. Květy drobné, bělavé až žluté. Plodem je bobule s jedním olejnatým semenem, červenomodré barvy.

1.3.6.2 Rozšíření

Vavřín roste zejména ve Středomoří a Malé Asii, pěstován je i v dalších subtropických oblastech jako užitková i okrasná rostlina.

1.3.6.3 Použití

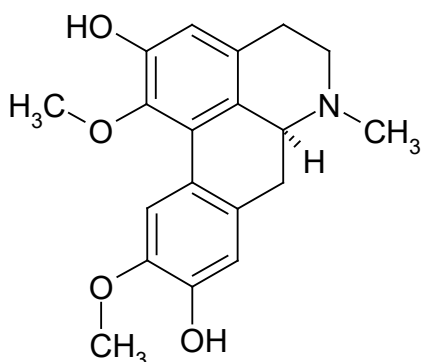
Jako droga se používají zejména listy (*Folium lauri*; bobkový list) nebo plody, ze kterých se lisuje olej, zeleně zbarvený chlorofylem (*Oleum lauri*). (89)

V jižní Itálii se lidově používá nálev z vavřínových listů jako digestivum, na bolesti břicha, menstruační bolesti a jako mírné sedativum. Nálev z plodů na koupele proti pocení nohou a olejový macerát plodů na hemoroidy a revmatické bolesti. (90) V jiné části jižní Evropy (Srbsko a Černá Hora) se práškové vavřínové plody ve formě nálevu používají jako diuretikum a karminativum. Olejový macerát se kromě revmatismu aplikuje i na výrony, podlitiny, furunkly a také jako repelent. (91)

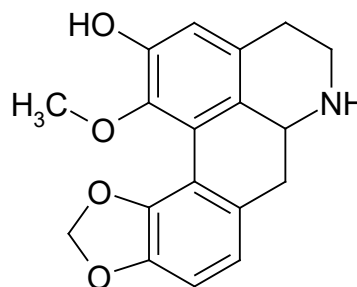
Po celém světě se používá sušený list jako koření. Ve starém Římě nosili věnec z listů vavřínu císařové a byli jím korunováni vítězové olympijských her.

1.3.6.4 Obsahové látky

Listy obsahují zejména silici (až 3 %) – hlavní složkou je cineol (50 %), dále eugenol, pinen, linalool a geraniol. Dalšími obsahovými látkami jsou isochinolinové alkaloidy: retikulín (benzylisochinolinový alkaloid), boldin, isodomeštin, neolitsin (aporfínové alkaloidy), aktinodafnín, nor-isodomeštin, launobin, nandigerin (noraporfínové alkaloidy). (92) (93) Významnými sekundárními metabolity jsou dále seskviterpenické laktony (laurenobiolid), flavonoidy, flavony a flavonoly, hořčiny, třísloviny. Plody kromě oleje obsahují až 10 % silice s cineolem, chybí eugenol. Ve zralých plodech jsou obsaženy antokyany. (89)



Obrázek č. 37: Boldin



Obrázek č. 38: (S)-Nandigerin

Několik studií *in vitro* potvrzuje antioxidační a antimikrobiální aktivitu extraktů z listů, kůry a plodů. (91) (94) (95) Laurosíd B, glykosid izolovaný z listů inhibuje *in vitro* proliferaci několika buněčných linií lidského melanomu (indukcí apoptózy). (96)

Byla sledována i potenciálně využitelná aktivita flavonoidů v listech vavřínu na AD s neuroprotektivní a antiamyloidogenní aktivitou. (97)

1.3.7 *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* (Bunge) Hu ex H.F.Chow

jujuba trnitá (Zao)

Synonyma: *Ziziphus sativa* var. *spinosa* (Bunge) C.K. Schneid., *Ziziphus spinosa* (Bunge) Hu ex F.H.Chen, *Ziziphus vulgaris* var. *spinosa* Bunge, *Rhamnus zizyphus* L. etc.

Čeleď: Rhamnaceae



Obrázek č. 39: Plody a listy jujuby trnité (98)

1.3.7.1 Botanický popis

Opadavý strom o výšce 3–8 m, s pokřiveným kmenem a uzlovitými větvemi. Listy střídavé, krátce řapíkaté, čepel eliptická, měkce pilovitá. Na mladých větvích vyrůstají párovité trny. Drobné nažloutlé květy jsou sestavené do vidlanů v úžlabích listů. Plodem je 2–5 cm dlouhá peckovice s červenohnědým až hnědým oplodím s dužninou nasládlé až sladce navinulé chuti. Semeno je vřetenovitě zašpičatělé, velmi tvrdé.

1.3.7.2 Rozšíření

Roste v Číně, Indii, Koreji a Mongolsku na suchých svazích.

1.3.7.3 Využití

Semena se podávají při nespavosti jako sedativum a celkové slabosti jako tonikum, při hypertenzi a nadměrném pocení. Plody se používají k léčbě hypertenze, fyzickém vyčerpání, únavě a astenii a jako tonikum. Zpomalují stárnutí a tlumí kašel. (50)

Plody jujuby jsou známé také jako čínské nebo červené datle a široce se využívají v čínské kuchyni.

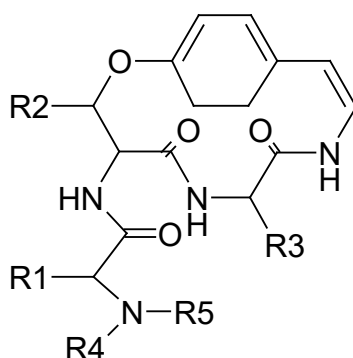
1.3.7.4 Obsahové látky

1.3.7.4.1 Obsahové látky listů a kůry

V kůře a listech bylo popsáno několik desítek alkaloidů (isochinolinové, indolové, indolizidinové, makrolidové), saponiny, pentacyklické triterpeny β -amyrinového a lupanového typu, flavonoidy etc. (29)

Z alkaloidů izolované z kůry jsou to jmenovitě např. mauritin-A, mukronin-D, amfíbin-H, nummularin A a B, sativanin A až K, frangulanin etc.

Z listů byly izolovány alkaloidy koklaurin, isoboldin, norisoboldin, asimilobin etc. (99)



Obrázek č. 40: Základní struktura alkaloidů jujuby

1.3.7.4.2 Obsahové látky semen (zaohé)

Ze sekundárních metabolitů semena obsahují zejména triterpenoidní saponiny jujubosid A a B, jujubosidy (I-IV), sapogenin jujubogenin, steroidní glykosid daucosterol, flavonoidy, alkaloidy sanjoinenin, franguloin, amfíbin D, sanjoinin B-D-F, G2. (50) (99) (100)

1.3.7.4.3 Obsahové látky plodů (dzaao):

Mezi obsahové látky plodů patří bílkoviny, sacharidy, tuky, alkaloid asimilobin, organické kyseliny (oleanolová, linoleová, palmitová, betainová, ursolová), triterpenoidní kyselina betulinová, flavonoidy (spinosin, swertisin, rutin), pektin, vitamíny (provitamin A, vitamin B₂, B₁, větší množství kyseliny askorbové atd.). (50) (99)

1.3.7.5 Využití

Některé saponiny obsažené v listech (zizifin, jujubosaponiny) inhibují vnímání sladké chuti u lidí i zvířat.

Jedna ze studií, která se zaměřila na screening AChEI z přírodních extraktů jujuby pomocí elektroforézy, v extraktu ze semen nebyla sledována aktivita vůči AChE. (23)

V několika studiích byl potvrzen anxiolytický efekt extraktu nebo jednotlivých obsahových látek semen. (99)

Další studie *in vitro* potvrdily účinek kyseliny betulinové proti nádorovým buňkám (indukcí apoptózy) také protivirový efekt proti HIV1. Extrakty z kůry a listů *in vitro* i *in vivo* vykazovaly také antibakteriální, antifungální, antialergický a anti-steroidogenní účinek. Methanolický extrakt (resp. oleamid) značně aktivoval cholinacetyltransferasu *in vitro*, což by se mohla být další cesta pro léčbu AD. (99)

2 EXPERIMENTÁLNÍ ČÁST

2.1 Materiál a vybavení

2.1.1 Rozpouštědla

Diethylether, p.a. (Penta)

Ethanol 95%, denaturovaný methanolem, p.a. (Penta)

Ethyl acetát, p.a. (Penta)

Voda čištěná (Millipore)

2.1.2 Chemikálie

Acetylthiocholin jodid (Sigma-Aldrich)

Butyrylthiocholin jodid (Sigma-Aldrich)

Dihydrogenfosforečnan sodný, p.a. (Lachema)

5,5'-Dithiobis-2-nitrobenzoová kyselina, $\geq 98\%$ (Sigma-Aldrich)

Dodekahydrát hydrogenfosforečnanu disodného, p.a. (Lachema)

Dusičnan bismutitý zásaditý, p.a. (RNDr. Jan Kulich, s.r.o.)

Eserin (Sigma-Aldrich)

Galanthamin hydrobromid (Changsha Organic Haerb Inc., China)

Huperzin A (TAZHONGHUI – Tai'an zhonghui Plant Biochemical Co.,Ltd., China)

Chlorid rtuťnatý p. a. (Fisher Scientific, Pardubice)

Jodid draselný, p.a. (Penta)

Kyselina chlorovodíková 35%, p.a. (Lachema)

Kyselina vinná, p.a. (RNDr. Jan Kulich, s.r.o.)

Uhličitan sodný bezvodý, p.a. (RNDr. Jan Kulich, s.r.o.)

Dimethylsulfoxid (Sigma-Aldrich)

2.1.3 Materiál

Jako zdroj acetylcholinesterasy byla použita pouzdra lidských erytrocytů. Zdrojem butyrylcholinesterasy byla lidská plazma. Měření bylo prováděno v mikrotitračních destičkách.

Přístroj použitý pro stanovení cholinesterasové inhibiční aktivity Reader Synergy™ HT Multi-Detection Microplate Reader (BioTek, USA)

Program GraphPaD Prism (verze 3.02 pro Windows; výrobce Graph PaD Software, San Diego, CA, USA)

Odstředivka Avanti J-301 s rotorem JA-30.50 (Beckman Coulter, Brea, California, USA)

Odstředivka Boeco U-32R (Boeco, Hamburg, Germany) s rotorem Hettich 1611 (Hettich, Tuttlingen, Germany)

pH metr PHM 220 (Radiometer, Copenhagen, Denmark)

2.1.3.1 Pomocný materiál

Křemelina Celite C 535 John's Manville (Sigma Aldrich, Praha)

Silikagel sušící perly (Ing. Švec – Penta, Praha)

Síran sodný bezvodý p. A. (Ing. Švec – Penta, Praha) (Na_2SO_4)

2.1.4 Detekční činidla

2.1.4.1 Dragendorffovo činidlo

Zásobní roztok Dragend. činidla byl připraven smícháním roztoku A (1,7 g bazického dusičnanu bismutitého + roztoku 20 g kyseliny vinné v 80 mL vody) a roztoku B (roztok 32 g KI na 80 mL vody) v objemovém poměru 1:1. Vlastní detekční činidlo bylo připraveno přidáním 50 mL roztoku 20% kyseliny vinné k 5 mL zásobního roztoku. Činidlo k postřiku i jeho zásobní roztok byly uchovávány při 4 °C.

2.1.4.2 Mayerovo činidlo

Mayerovo činidlo bylo připraveno rozpuštěním 5 g KI ve 30 mL vody a do vzniklého roztoku bylo přidáno 1,35 g chloridu rtuťnatého v prášku. Vzniklá sraženina byla míchána, dokud nebyl roztok čirý a bezbarvý nebo světle žluté barvy. Činidlo bylo uchováváno v chladničce při 4 °C.

2.1.5 Rostlinný materiál

Verifikace rostlinných vzorků byla provedena Prof. RNDr. Lubomírem Opletalem, CSc. Dokladné vzorky drog byly uloženy na Katedře farmaceutické botaniky Farmaceutické fakulty v Hradci Králové, UK.

Tabulka č. 3: Označení, původ a hmotnost jednotlivých rostlinných drog pro screening

Označení	Rostlina	Rostl. Část	Místo sběru/dodavatel	Datum sběru	Hmotnost*
AL-043	<i>Nuphar luteum</i>	list	Třebeš-slepé rameno	09-07-09	13g
AL-044	<i>Nuphar luteum</i>	oddenek, kořen	Třebeš-slepé rameno	09-07-09	8g
AL-068	<i>Papaver rhoeas</i>	kořeny	Ostroměť	10-06-16	12g
AL-090	<i>Ziziphus spinosa</i>	semeno	Pragon Praha	2008	15g
AL-100	<i>Nelumbo nucifera</i>	semeno	Pragon Praha	2008	6g
AL-233	<i>Fritillaria ussuriensis</i>	cibule	Pragon,Praha-Ping beimu	11-04-05	13g
AL-239	<i>Magnolia biondii</i>	květ	Pragon CZ,Praha-Xinyihua	11-04-05	15g
AL-242	<i>Magnolia officinalis</i> (Houpohua)	květ	Pragon CZ,Praha-	11-04-05	15g
AL-245	<i>Fritillaria cirrhosa</i>	cibule	Pragon-Chuuan beimu	11-04-05	15g
AL-247	<i>Magnolia officinalis</i>	kůra	Pragon CZ,Praha-Houpo	11-04-05	15g
AL-258	<i>Laurus nobilis</i>	plod granulovaný	Kottas, Wien	11-11-30	100 g

* hmotnost sušené drogy

2.2 Všeobecné postupy

2.2.1 Destilace a odpařování

Rozpouštědla byla před použitím přečištěna destilací podle teploty varu daného rozpouštědla. Nejprve byl zachycen první podíl destilátu (cca 5 %; tvořený většinou vodným azeotropem), poté bylo vydestilováno zbylých asi 90 % rozpouštědla. Rozpouštědla byla uchovávána v hnědých skleněných nádobách.

Odpařování bylo prováděno na vakuové odparce Büchi Rotavapor R 114 vybavené vodní lázní Büchi Waterbath B-480 při 40 °C za sníženého tlaku nebo na vodní lázni při teplotě 90° C za použití vzduchovacího motoru pro odfoukávání par rozpouštědel.

2.2.2 Filtrace

Pro hrubou filtraci ethanolových extraktů rost. drog byl používán složený vlizelin vložený do nálevky; pro finální filtraci spojených ethanolových extraktů nebo okyselených extraktů byl použit sloupec s vatou a křemelinou.

Po sušení alkaloidních roztoků síranem sodným bezvodým byly suspenze filtrovány přes filtrační papír.

2.2.3 Příprava sumárních a alkaloidních extraktů rostlinných drog

Příprava sumárního extraktu rostlinné drogy byla provedena varem na vodní lázni 30 min pod zpětným chladičem 95% ethanolem v poměru 9:1 k váze drogy. Po dekantaci a filtraci byla droga vrácena do Erlenmayerovy baňky a extrakce ještě jednou opakována. Získaný spojený extrakt byl spojen a přefiltrován. Tento roztok byl odpařen za sníženého tlaku na vakuové odparce, čímž byl odstraněn ethanol. K zahuštěnému extraktu byla přidána 5% HCl a voda, aby směs vykazovala pH 1-2. Tato směs byla opět zfiltrována a vzniklý roztok extrahován diethyletherem (2× třetinovým objemem vůči vodnému roztoku) pro odstranění nepolárních látek nealkaloidního typu. Etherové výtřepky byly kontrolovány pro přítomnost alkaloidů aplikací odpařením zahuštěného výtřepku na TLC desku a postříkem Dragendorffovým činidlem. Vodný roztok byl dále alkalizován 10% Na₂CO₃ na pH 9-10 a extrahován ethyl acetátem 3× třetinovým objemem vůči vodnému roztoku. Spojené ethyl acetátové roztoky byly sušeny přidavkem bezvodého Na₂SO₄, který byl po 1 h sušení odstraněn filtrací a získaný ethyl acetátový alkaloidní extrakt odpařen za sníženého tlaku.

2.2.4 Stanovení cholinesterasové inhibiční aktivity alkaloidů

Měření byla provedena při teplotě 37 °C v prostředí fosfátového pufru (pH 7,4) při $\lambda = 436$ nm v mikrotitračních destičkách.

2.2.4.1 Příprava erytrocytárních pouzder

Erytrocytární pouzdra (zdroj AChE) byla připravena z čerstvě odebrané krve dobrovolníka, ke které byl přidán citrát sodný (1 mL citrátu sodného na 10 mL krve) podle lehce upravené metody Stecka a Kanta. Plazma (zdroj BuChE) byla odstraněna z plné krve centrifugací při rychlosti 4000 ot./min za použití centrifugy Boeco U-32R s rotorem Hettich 1611. Erytrocyty byly přemístěny do 50mL zkumavek a 3× promyty 5mM fosfátovým puftrem (pH 7,4) obsahujícím 150mM NaCl (12 000 ot./min., Avanti J-301, rotor JA-30.50). Promyté erytrocyty byly smíchány s 5mM fosfátovým puftrem (pH 7,4) a míchány po dobu 10 minut, čímž došlo k jejich lýze. Následně byly centrifugovány rychlostí 20 000 ot./min a vzniklá pouzdra byla 3× promyta fosfátovým puftrem.

2.2.4.2 Stanovení cholinesterasové inhibiční aktivity

Pro stanovení hodnoty IC_{50} (koncentrace způsobující 50% inhibice enzymu) byla použita Ellmanova spektrofotometrická metoda s použitím 5,5'-dithiobis-2-nitrobenzoové kyseliny (DTNB). Jako substráty byly použity estery thiocholinu, které jsou cholinesterasami štěpeny na thiocholin a příslušnou kyselinu. Stanovuje se thiolová skupina thiocholinu, která se váže na DTNB za vzniku žlutého produktu, který je stanovován spektrofotometricky při $\lambda = 436$ nm. Sledován byl nárůst absorbance za 1 min. Hodnoty IC_{50} byly počítány z naměřených hodnot poklesu aktivity acetylcholinesterasy nebo butyrylcholinesterasy nelineární regresí v programu GraphPad Prism. Výsledky byly porovnány s hodnotami IC_{50} známých inhibitorů cholinesteras: galanthaminem (IC_{50} AChE = $1,71 \pm 0,065$ μ M, BuChE = $42,30 \pm 1,30$ μ M), huperzinem A (IC_{50} AChE = $0,033 \pm 0,001$ μ M, BuChE >1000 μ M), eserinem (IC_{50} AChE = $0,063 \pm 0,001$ μ M, BuChE = $0,130 \pm 0,004$ μ M). I (inhibice) byla počítána podle vzorce $\%I = 100 - (\Delta A_{BL} / \Delta A_{SA}) * 100$, kde ΔA_{BL} je nárůst absorbance slepého vzorku ("blank") za 1 min a ΔA_{SA} je nárůst absorbance měřeného vzorku ("sample").

3 VÝSLEDKY

V tabulce č. 4 jsou uvedeny hodnoty IC₅₀ extraktů rostlinných částí jednotlivých taxonů vůči lidským cholinesterasám.

Tabulka č. 4: Inhibiční aktivita jednotlivých vzorků vůči lidským cholinesterasám

Číslo	Rost.droga	AChE IC ₅₀	BuChE IC ₅₀
		µg/mL	µg/mL
AL-233	<i>Fritillaria ussuriensis</i> , cibule	243,0±20,94	11,63±3,7
AL-245	<i>Fritillaria cirrhosa</i> , cibule	>1000	37,23±11,9
AL-242	<i>Magnolia officinalis</i> , květ	>1000	315,28±20,97
AL-247	<i>Magnolia officinalis</i> , kůra	>1000	174,38±29,78
AL-239	<i>Magnolia biondii</i> , květ	38,48±6,08	45,22±1,51
AL-100	<i>Nelumbo nucifera</i> , semeno	>1000	687,5±85,8
AL-043	<i>Nuphar luteum</i> , list	>1000	52,33±8,33
AL-044	<i>Nuphar luteum</i> , oddenek+kořen	119,16±17,26	36,59±6,00
AL-068	<i>Papaver rhoeas</i> , kořeny	516,2±83,37	45,07±0,9
AL-258	<i>Laurus nobilis</i> , plod	>1000	408,6±43,19
AL-090	<i>Ziziphus jujuba</i> var. <i>spinosa</i> , semeno	165,03±17,18	50,23±8,68
Standardy			
	galanthamin	0,491±0,019	12,155±0,374
	huperzin A	0,008±0,001	>100
	eserin	0,017±0,001	0,036±0,001

Hodnoty IC₅₀ označené oranžově lze považovat za mírně aktivní; červené písmo zvýrazňuje hodnoty se střední inhibiční aktivitou.

Aktivita standardů uvedených v tabulce je obvykle udávána v molárních koncentracích, proto byly pro účely této práce pro srovnání s aktivitou extraktů přepočteny z naměřených hodnot: pro galanthamin (IC₅₀ AChE = 1,71±0,065 µM, BuChE = 42,30±1,30 µM), huperzin A (IC₅₀ AChE = 0,033±0,001 µM, BuChE >1000 µM), eserinem (IC₅₀ AChE = 0,063±0,001 µM, BuChE = 0,130±0,004 µM).

DISKUSE

Obecně lze shrnout, že extrakty sledovaných drog měly vyšší aktivitu vůči BuChE než AChE, nicméně ve srovnání se standardy. To však nevylučuje, že některé z nich jsou vhodným zdrojem ChEI nebo látek s jinou biologickou aktivitou. Na základě dat získané i během této práce byly na katedře Farmaceutické botaniky zpracovávány ve větším množství některé ze sledovaných rostlin nebo druhy příbuzné. V těchto případech již cílem byla izolace jednotlivých alkaloidů (či jiných látek) a stanovení jejich biologické aktivity:

1. *Papaver rhoeas* byl zpracováván pro izolaci a stanovení aktivity jednotlivých alkaloidů. (101) (102)
2. *Magnolia × soulangeana* – v rámci pracovní skupiny ADINACO byl pro izolaci a stanovení aktivity alkaloidů rovněž zpracováván jiný druh šácholanu, nicméně to bylo dáno snadnější dostupností druhu *Magnolia × soulangeana*, v tomto případě byly použity jako zdroj alkaloidů také květy. (103)
3. *Nuphar luteum* – ve větším měřítku je/byl rovněž zpracováván stulík žlutý, nicméně výsledky dosud nebyly žádným způsobem publikovány.

Také byly v rámci screeningu sledovány u některých rostlin anticholinesterasové aktivity extraktů jiných rostlinných částí, vzorků sbíraných na jiných lokalitách, různé roky nebo získané od různých dodavatelů viz Tabulka č. 4.

Tabulka č. 5: Cholinesterasová inhibiční aktivita různých rostlinných částí dotčených taxonů.

Číslo	Taxon	Rostl. Část	AChE IC ₅₀ µg/mL	BuChE IC ₅₀ µg/mL
AL-233	<i>Fritillaria ussuriensis</i>	cibule	243,0±20,94	11,63 ± 3,7
AL-088	<i>Fritillaria ussuriensis</i>	hlíza	277,6±31,2	51,79 ± 5,20
AL-097	<i>Magnolia officinalis</i>	kůra	325,0±31,15	98,41 ± 9,43
AL-247	<i>Magnolia officinalis</i>	kůra	>1000	174,38 ± 29,78
AL-242	<i>Magnolia officinalis</i>	květ	>1000	315,28 ± 20,97
AL-035	<i>Magnolia officinalis</i>	list	378,32±35,48	61,81 ± 6,02
AL-108	<i>Magnolia officinalis</i>	list	>500	123,81 ± 12,05
AL-248	<i>Nelumbo nucifera</i>	list	59,16±5,98	24,13 ± 2,52
AL-100	<i>Nelumbo nucifera</i>	semeno	>1000	687,5 ± 85,8
AL-246	<i>Nelumbo nucifera</i>	semeno	>500	233,72 ± 24,22
AL-249	<i>Nelumbo nucifera</i>	stamen	>500	190,52 ± 18,45
AL-240	<i>Nelumbo nucifera</i>	střed ořechu	45,85±4,12	11,58 ± 1,03

Číslo	Taxon	Rostl. Část	AChE IC ₅₀ µg/mL	BuChE IC ₅₀ µg/mL
AL-043	<i>Nuphar luteum</i>	list	>1000	52,33 ± 8,33
AL-527	<i>Nuphar luteum</i>	list	>1000	40,86 ± 3,43
AL-543	<i>Nuphar luteum</i>	list s řapíkem	66,31±11,43	336,26 ± 63,99
AL-528	<i>Nuphar luteum</i>	oddenek	476,15±61,37	38,48 ± 3,47
AL-044	<i>Nuphar luteum</i>	oddenek s kořeny	119,16±17,26	36,59 ± 6,00
AL-542	<i>Nuphar luteum</i>	oddenek s kořeny	49,29±7,26	39,25 ± 6,37
AL-068	<i>Papaver rhoeas</i>	kořeny	>500	45,07 ± 0,9
AL-004	<i>Papaver rhoeas</i>	květ	193,81±19,85	4,24 ± 0,33
AL-046	<i>Papaver rhoeas</i>	kvetoucí nať	82,11±7,95	26,95 ± 3,11
AL-587	<i>Papaver rhoeas</i>	nať	>500	19,68 ± 3,26
AL-586	<i>Papaver rhoeas</i>	nať čerstvá	n.d.	3,94 ± 0,35
AL-030	<i>Papaver rhoeas</i>	nať+zelené tobolky	>1000	7,28 ± 1,00
AL-006	<i>Papaver rhoeas</i>	tobolky	132,71±12,58	3,75 ± 0,29
AL-585	<i>Papaver rhoeas</i>	tobolky čerstvé	n.d.	2,68 ± 0,17
AL-007	<i>Laurus nobilis</i>	list	>500	175,85 ± 16,25
AL-039	<i>Laurus nobilis</i>	list	420,72±42,18	> 500
AL-258	<i>Laurus nobilis</i>	plod	>1000	408,6 ± 43,19

n.d. – nebylo detekováno;

Tabulka č.5 shrnuje výsledky pracovní skupiny ADINACO na katedře farm.botaniky FaF UK; zeleně označené řádky značí rostlinné drogy a jejich aktivitu, stanovenou v rámci této rigorózní práce.

Hodnoty IC₅₀ označené oranžově lze považovat za mírně aktivní; červené písmo zvýrazňuje hodnoty se střední inhibiční aktivitou.

Z tabulky č. 4 je patrné, že různé rostlinné části mohou vykazovat rozdílnou inhibiční aktivitu, a to i významně patrně kvalitativními a kvantitativními rozdíly v obsahových látkách; někdy se značně liší i aktivita stejných morfologických částí při jiném původu rostlinné drogy.

3.1 Rod *Fritillaria*

Z některých druhů rodu *Fritillaria* byly izolovány alkaloidy a zároveň byla stanovena jejich inhibiční aktivita vůči cholinesterasám. Mezi tyto druhy patří např. *Fritillaria walujewii*, *F. imperialis*, *F. ebeiensis* var. *purpurea*, *F. monantha*, *F. pallidiflora*, *F. puqiensis* nebo *F. unibracteata*. Některé tyto izolované alkaloidy měly poměrně zajímavou aktivitu, v některých případech vůči oběma cholinesterasám viz Tabulka č. 6. (104) (36) (105)

To naznačuje, že extrakty některých dalších druhů řebčíku mohou být zdrojem aktivních inhibitorů cholinesteras s různou selektivitou vůči jednotlivým cholinesterasám. Nicméně sumární extrakty řebčíků v rámci této práce nevykazovaly významný inhibiční potenciál vůči AChE. Inhibiční aktivita vůči BuChE byla výraznější u druhu *F. ussuriensis* (oproti *F. cirrhosa*)

Tabulka č. 6: Inhibiční aktivita alkaloidů rodu *Fritillaria* vůči cholinesterasám

Alkaloid	AChE IC ₅₀ μM	BuChE IC ₅₀ μM	Typ inhibice	Citace
Walujewine A	7,60±0,51 ^a	958,3±72,9 ^b	smíšený; reverzibilní	(104)
Peimisin	93,99±20,7 ^a	153,09±26,1 ^b	n.d.	
Tortifolin	5,85±0,63 ^a	2,08±0,50 ^b	smíšený; reverzibilní	
Walujewine B	10,75±1,25 ^a	3,89±0,74 ^b	smíšený; reverzibilní	
Walujewine C	7,19±0,32 ^a	2,58±0,27 ^b	smíšený; reverzibilní	
Walujewine D	51,54±3,27 ^a	13,50±0,84 ^b	n.d.	
Ebeiedin	45,83±2,29 ^a	18,62±2,65 ^b	n.d.	
Sinpeinin A	8,37±1,41 ^a	3,05±0,33 ^b	smíšený; reverzibilní	
Hepehenizioisid	11,46±1,18 ^a	6,80±0,63 ^b	smíšený; reverzibilní	
Walujewine E	9,88±1,45 ^a	5,71±0,48 ^b	smíšený; reverzibilní	
Impericine	67,97±62,46 ^a	1,607 ^b	n.d.	(105)
Delavine	105,56±1,452 ^a	1,7066±0,11 ^b	n.d.	
Persicanidine A	352,26±4,036 ^a	4,2456±0,079 ^b	n.d.	
<i>N</i> -demethylpukvietinon	6,4±0,003 ^c	12,5±0,026 ^d	n.d.	(36)
hupeheninosid	16,9±0,018 ^c	2,1±0,005 ^d	n.d.	
ebeiedinon	5,7±0,004 ^c	5,2±0,002 ^d	n.d.	
yibeinosid A	6,5±0,013 ^c	7,3±0,005 ^d	n.d.	
chuanbeinon	7,7±0,001 ^c	0,7±0,001 ^d	n.d.	

n.d. – nebylo stanoveno; ^a – AChE z elektrického úhoře; ^b – BuChE z koňské plasmy; ^c – lidská erytrocytární AChE; ^d – BuChE z lidské plasmy

Při sledování farmakokinetických charakteristik některých látek bylo zjištěno, že tortifolin a sinpeinin A mohou snadno pronikat hematoencefalickou bariérou, což podporuje jejich použití jako potenciální inhibitory cholinesteras. (104)

Například jeden z nejvýznamnějších alkaloidů imperialin však inhiboval cholinesterasy nevýznamně, i když jeho aktivita vůči cholinesterasám sledována byla. (105)

3.1.1 *Fritillaria ussuriensis*

Navzdory tomu, že některé steroidní alkaloidy rodu *Fritillaria* vykazují významnou inhibiční aktivitu vůči cholinesterasám, látky izolované z tohoto druhu vykazovaly nevýznamnou aktivitu vůči AChE (zdroj AChE – *Electrophorus electricus*, elektrický úhoř), což koreluje se získanými výsledky této práce, naopak inhibiční aktivitu vůči BuChE nelze porovnat, protože u těchto látek sledována nebyla. (32)

Také je patrné, že nyní připravený extrakt má vyšší aktivitu oproti dříve připravenému extraktu v rámci screeningu na katedře Farmaceutické botaniky.

3.2 Rod *Magnolia*

V rámci této práce byla sledována vyšší aktivita vůči cholinesterasám u extraktu *M. biondii* (květ) oproti extraktům kůry a květů *M. officinalis*.

3.2.1 *Magnolia officinalis*

Aktivita vůči AChE různých extraktů *M. officinalis* byla již sledována v minulosti, přičemž methanolvý extrakt slabě inhiboval AChE (z el. úhoře) s IC_{50} 320 ± 9 $\mu\text{g/mL}$ a dichlormethanový s hodnotou IC_{50} 183 ± 6 $\mu\text{g/mL}$. Rostlinná část nebyla blíže specifikována, nicméně hodnoty aktivity byly nízké bez většího potenciálu jako zdroj AChEI. Navzdory této nízké aktivitě patrně metabolity šácholanu lékařského mohou zasahovat do patogeneze AD jinými způsoby a pozitivně ovlivňovat poruchy paměti. (106)

3.2.2 *Magnolia biondii*

V poslední době také byla sledována anti-AChE aktivita *in vitro* (zdroj AChE – elektrický úhoř) některých látek izolovaných z květních poupat tohoto šácholanu, přičemž nejaktivnější byly: 4,4'-dihydroxy-3-methoxy-paucin-4'-*O*- β -D-glukopyranosid, (+)-retikulín-*N*-oxid a (+)-isokoklaurin, které vykazovaly střední inhibiční aktivitu vůči AChE s hodnotami IC_{50} do 20 μM a to $12,5 \pm 2,4$, $10,4 \pm 2,5$ a $8,2 \pm 1,8$ μM respektive. (61) Tyto látky by mohly být zodpovědné za střední inhibiční aktivitu extraktu květů *Magnolia biondii*. Výhodou extraktu této drogy je, že má inhibiční potenciál vůči oběma cholinesterasám.

3.3 *Nelumbo nucifera*

Alkaloidní extrakt listů však měl v inhibici AChE větší potenciál ($IC_{50} = 6,1 \pm 0,5 \mu\text{g/mL}$), přičemž z izolovaných alkaloidů byl jako nejaktivnější *N*-methylnuciferin s $IC_{50} = 1,5 \pm 0,2 \mu\text{g/mL}$ a reverzibilním a nekompetitivním typem inhibice (nuciferin a nornuciferin bez výrazné aktivity), nicméně aktivita byla stanovena na AChE z elektrického úhoře. (74)

3.4 *Nuphar luteum*

V současné literatuře se nepodařilo nalézt publikovaná data, se kterými by mohly výsledky týkající se aktivity extraktu stulíku vůči cholinesterasám porovnat a zhodnotit, navzdory tomu, že rostlina má určitý potenciál v inhibici BuChE (IC_{50} většiny extraktů je nižší než $50 \mu\text{g/mL}$).

3.5 *Papaver rhoeas*

V současné literatuře se nepodařilo nalézt publikovaná data, se kterými by mohly výsledky týkající se aktivity extraktu máku vlničku vůči cholinesterasám porovnat a zhodnotit, navzdory tomu, že rostlina má určitý potenciál v inhibici BuChE (IC_{50} většiny extraktů je nižší než $50 \mu\text{g/mL}$).

3.6 *Laurus nobilis*

Inhibiční aktivita vůči AChE byla již u extraktu listů vavřínu sledována, nicméně tato aktivita byla nevýznamná. (107) Lze shrnout, že ani extrakt plodů tuto aktivitu výraznou nemá.

3.7 *Ziziphus jujuba var. spinosa*

Navzdory publikované neuroprotektivní aktivitě nebyla zjištěna významná aktivita alkaloidního extraktu semen jujuby, což v případě AChE souhlasí s dřívější studií (inhibice BuChE nebyla sledována). (23) Za příznivou aktivitu na paměť a učení jsou patrně zodpovědné látky jiného typu, jako například jujubosid A, saponin ze semen *Z. jujuba*, stimuluje expresi podjednotek GABA receptorů hipokampálních neuronů krysa a zmírňoval poruchy chování myši s demencí vyvolanou proteiny A β 1–42. Methanolový extrakt a oleamid z jujuby aktivoval cholinacetyltransferasu. Oleamid zmírňoval amnézii vyvolanou skopolaminem u myši, která sloužila jako *in vivo* model AD. Extrakt semen jujuby měl také příznivý efekt na poruchy paměti u myši, které byly navozeny alkoholem a mohl by v určitém rozsahu napomáhat ke zvýšení kapacity učení. Také byly pozorovány pozitivní účinky na paměť a učení u myši s bilaterální lézí na *nucleus basalis Meynerti*. (108)

CITOVANÁ LITERATURA

1. Návrh koncepce řešení problematiky Alzheimerovy choroby a obdobných onemocnění v ČR . *mzcr.cz*. [Online]
2. **KOUKOLÍK, F., JIRÁK, R.** *Alzheimerova nemoc a další demence, 229 stran.* Praha : Grada Publishing, 1998, 1998. ISBN 80-7169-615-3.
3. **JIRÁK, R., Laňková, J.** Demence Doporučený diagnostický a léčebný postup pro všeobecné praktické lékaře. *Společnost všeobecného lékařství ČLS JEP.* 2007, ISBN 80-86998-XX-X.
4. **JIRÁK, R.** Farmakoterapie Alzheimerovy nemoci. *Česká geriatrická revue 2003 (2): 10-12.*
5. **Vyhnálek, M., Bartoš, A., Dostál, V., Franková, V. et al.** Diagnostikujeme a léčíme demence správně a včas? Výsledky průzkumu ve světle nových doporučení. *Neurol.praxi 2011, (5): 352-358.*
6. **Holmerová, I.** Nové směry prevence a farmakoterapie Alzheimerovy choroby. *Medical Tribune 2012 (7).*
7. **Čechová, L., Bartoš, A., Doležil, D., Řípková, D.** Alzheimerova nemoc a mírná kognitivní porucha: diagnostika a léčba. *Neurol. praxi, 2011; 12(3): 175-180.*
8. **CIBIČKOVÁ, L., Palička, V.** Galantamin v terapii Alzheimerovy demence. *ČES GER REV 2005 ; 3(2): 29-34.*
9. **JIRÁK, R.** Farmakoterapie Alzheimerovy choroby. *Prakt. lékáren. 2009; 5(4): 176–178.*
10. **LÜLLMANN, H., MOHR, K., HEIN, L.** *Barevný atlas farmakologie.* Praha : Grada, 2007. str. 372. IBSN 978-80-247-1672-5.
11. **KATZUNG, Bertram G.** *Základní a klinická farmakologie.* Praha : Nakladatelství a vydavatelství H and H, 1995. str. 1072. ISBN 80-857-8735-0.
12. **Martin, J., Kršková, Z., Dušek, J.** Huperzin A a jiné přírodní látky v léčbě Alzheimerovy choroby. *Prakt. lékáren. 2011, 7(1): 39–41.*
13. AISLP. 2013.
14. **Krejčová, G., Ševelová, L.** Současné poznatky o galantaminu, reverzibilním inhibitoru acetylcholinesterázy. *Vojenské zdrav.listy 2003, 72(1):37-44.*
15. **JIRÁK, R.** Terapie Alzheimerovy choroby a příbuzných neurodegenerativních demencí. *Neurol.pro prax 2009, 10(6):384-389.*
16. **DRTINOVÁ, L., POHANKA, M.** Možnosti využití huperzinu v léčbě alzheimerovy nemoci. *Chem. Listy 2013, 107: 12-15.*
17. **KONRATH, E.L., et al.** Alkaloids as a source of potential anticholinesterase inhibitors for the treatment of Alzheimer's disease. *Journal of Pharmacy and Pharmacology 2013, 65(12): 1701-1725.*
18. **WANG, Rui, et al.** Progress in studies of huperzine A, a natural cholinesterase inhibitor from Chinese herbal medicine. *Acta Pharmacologica Sinica 2006, 27(1): 1-26.*

19. **AHMED, Faiyaz, RazaMurad GHALIB, P SASIKALA a KK MUEEN AHMED.** Cholinesterase inhibitors from botanicals. *Pharmacogn Rev* 2013 Jul;7(14):121-130 DOI: 10.4103/0973-7847.120511.
20. **Dall'Acqua, S.** Plant-derived acetylcholinesterase inhibitory alkaloids for the treatment of Alzheimer's disease. *www.dovepress.com*. [Online] 10. January 2013. [Citace: 9. 2 2014.] <http://dx.doi.org/10.2147/BTAT.S17297>.
21. **XIANG, J. et al.** Conformation-activity studies on the interaction of berberine with acetylcholinesterase: Physical chemistry approach. *Progress in Natural Science* 2009, 19(12): 1721–1725.
22. **MURRAY, P.,A., FARAONI, M.,B., CASTRO, M.,J., ALZA, N.,P., CAVALLARO, V.** Natural AChE Inhibitors from plants and their contribution to Alzheimer's disease therapy. *Current Neuropharmacology* 2013, 11(4): 388-413.
23. **TANG, ZM., WANG, ZY., KANG, JW.** Screening of acetylcholinesterase inhibitors in natural extracts by CE with electrophoretically mediated microanalysis technique. *Electrophoresis* 2007, 28(3): 360–365.
24. **Jazayeri Seyed, Amanlou Arash, Ghanadian Naghmeh, Pasalar Parvin, Amanlou Massoud.** A preliminary investigation of anticholinesterase activity of some Iranian medicinal plants commonly used in traditional medicine. *Daru*. 2014; 22(1): 17.
25. **OKELLO, Edward J., SAVELEV, Sergey U. a PERRY, Elaine K.** In vitro anti- β -secretase and dual anti-cholinesterase activities of *Camellia sinensis* L.(tea) relevant to treatment of dementia. *Phytotherapy Research* 2004, 18(8): 624-627.
26. **FEITOSA, CM. et al.** Acetylcholinesterase inhibition by some promising Brazilian medicinal plants. *Braz. J. Biol.* 2011, 71(3):783-789.
27. **CARDOSO-LOPES, E.M., et al.** Alkaloids from Stems of *Esenbeckia leiocarpa* Engl. (Rutaceae) as Potential Treatment for Alzheimer Disease. *Molecules* 2010, 15(12): 9205-9213.
28. **Jun Y. Liu, Yong H. Ye, Lei Wang, Da H. Shi, Ren X. Tan.** New Resveratrol Oligomers from the Stem Bark of *Hopea hainanensis*. *HELVETICA CHIMICA ACTA* 2005, 88(11):2910-2917.
29. **JAHODÁŘ, L.** *Farmakobotanika: semenné rostliny. Vyd. 3., upr. a dopl, 278 s.* Praha : Karolinum, 2011. ISBN 978-80-246-2015-2.
30. *Fritillaria L. worldfloraonline.org*. [Online]
31. White Root Bulbs *Fritillaria Cirrhosa* Himalayan Fritillary ID: 20987210162. *indiamart.com*. [Online]
32. **Zhong-Duo Yang, Dong-Zhu Duan.** A new alkaloid from *Fritillaria ussuriensis* Maxim. *Fitoterapia* 2012, 83(1): 137-141.
33. **Lin G, Li P, Li SL, Chan SW.** Chromatographic analysis of *Fritillaria* isosteroidal alkaloids, the active ingredients of Beimu, the antitussive traditional Chinese medicinal herb. *Journal of Chromatography A* 2001, 935(1-2):321-38.

34. **WANG, D., et al.** Antitussive, expectorant and anti-inflammatory alkaloids from *Bulbus Fritillariae Cirrhosae*. *Fitoterapia* 2011, 82(8): 1290–1294.
35. **VALÍČEK, P.** *Léčivé rostliny Číny a Vietnamu (a-i) 1.díl, 1.vyd.,338 s.* Benešov : Start, 2009. ISBN 978-808-6231-488..
36. **Lin, Bao-Qin, et al., et al.** Inhibitors of acetylcholine esterase in vitro - screening of steroidal alkaloids from *Fritillaria* species. *Planta Medica* (2006), 72(9): 814-818.
37. <http://www.srgc.net/forum/index.php?topic=4972.300>. [Online] [Citace: 13. 2 2014.]
38. http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=2&taxon_id=200027648. *eFloras*. [Online] [Citace: 2. February 2014.] <http://www.efloras.org/>.
39. **Huang, Li-jing, et al., et al.** Anti-inflammatory effects of *Fritillaria ussuriensis* Maxim. *Latin American Journal of Pharmacy* 2010, 29(8):1389-1395.
40. **Bina Lee, Eun-Young Kim, Jae-Hyun Kim, Ju-Hee Min, Da-Won Jeong, Jae-Yun Jun, Chang-Young Cho, Youngjoo Sohn & Hyuk-Sang Jung.** Antiallergic effects of peiminine through the regulation of inflammatory mediators in HMC-1 cells. *Immunopharmacology and Immunotoxicology*, 2015;37(4):351-358, DOI: 10.3109/08923973.2015.1059441.
41. **Yun, Young-Gab, et al., et al.** Verticinone induces cell cycle arrest and apoptosis in immortalized and malignant human oral keratinocytes. *Phytotherapy Research* 2008, 22(3): 416-423, DOI: 10.1002/ptr.2345.
42. <https://www.jadeinstitute.com/chuan-bei-mu-fritillaria-chirrhosa/>. [Online] 5. 5 2021. <https://www.jadeinstitute.com/chuan-bei-mu-fritillaria-chirrhosa/>.
43. http://www.efloras.org/florataxon.aspx?flora_id=3&taxon_id=200027629. *eFloras*. [Online] 9. 2 2014. [Citace:]
44. **DUAN, Baozhong, Lizhi WANG, Xinhua DAI, Linfang HUANG, Mengrui YANG a Shilin CHEN.** Identification and Quantitative Analysis of Nucleosides and Nucleobases in Aqueous Extracts of *Fritillaria Cirrhosa* D. Don. Using HPLC–DAD and HPLC-ESI-MS. *Analytical Letters* 2011, 44(15): 2491-2502.
45. **Wang, Dongdong, et al., et al.** The isosteroid alkaloid imperialine from bulbs of *Fritillaria cirrhosa* mitigates pulmonary functional and structural impairment and suppresses inflammatory response in a COPD-like rat model. *Mediators Inflamm* 2016: 4192483/1-4192483/17.
46. **Li, Rui, et al., et al.** Aqueous extract of *Fritillariae cirrhosae* induces cellular apoptosis through activation of STATs-mediated immunomodulation. *Journal of Ethnopharmacology* 2020, 261: 112338.
47. *Magnolia L.* . worldfloraonline.org. [Online]
48. <http://johngrimshawsgardendiary.blogspot.cz/2013/07/summer-in-ray-wood.html>. [Online] [Citace: 5. 2 2014.]
49. **HRDLIČKOVÁ, V., TRNKA, A.** *Rostlina jako symbol v čínské a japonské kultuře, str.148.* Praha : Grada, 2010. 978-802-4719-856.

50. **VALÍČEK, P.** *Léčivé rostliny Číny a Vietnamu (j-z) 2.díl, 1.vyd., 351 s.* Benešov : Start, 2009-2010. ISBN 978-80-86231-52-52..
51. **KOKUDO, Norihiro.** Targeting apoptosis pathways in cancer with magnolol and honokiol, bioactive constituents of the bark of *Magnolia officinalis*. *Drug Discoveries & Therapeutics* 2011, 5(5): 202-210.
52. **Lee, J.W., et al., et al.** Inhibitory effect of ethanol extract of *Magnolia officinalis* and 4-O-methylhonokiol on memory impairment and neuronal toxicity induced by β -amyloid. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2010, 95: 31-40.
53. **Lee, Y.J., et al., et al.** Inhibitory effect of ethanol extract of *Magnolia officinalis* on memory impairment and amyloidogenesis in a transgenic mouse model of Alzheimer's disease via regulating β -secretase activity. *Phytother. Res.* 2012, 26: 1884–1892.
54. **GUO, Z. F., Wang, X. B., Luo, J. G., Luo, J., Wang, J. S., & Kong, L. Y.** A novel aporphine alkaloid from *Magnolia officinalis*. *Fitoterapia* 2011, 82(4): 637-641.
55. **YAN, Renyi, Weihao WANG, Jian GUO, Hongliang LIU, Jianyong ZHANG a Bin YANG.** Studies on the Alkaloids of the Bark of *Magnolia officinalis*: Isolation and On-line Analysis by HPLC-ESI-MSn. *Molecules* 2013, 18(7): 7739-7750.
56. **SHEN, JUI-LUNG, MAN, KEE-MING a et, PO-HSUN HUANG et al.** Honokiol and Magnolol as Multifunctional Antioxidative Molecules for Dermatologic Disorders. *Molecules* 2010,15(9): 6452-6465.
57. **HUNG T.M, et al.** Magnoflorine from *Coptidis Rhizoma* Protects High Density Lipoprotein during Oxidant Stress. *Biol. Pharm. Bull.*2007, 30(6): 1157—1160.
58. http://www.magnolia-society.org/checklist_images/biondii-de%20Spoelberch.jpg. [Online] [Citace: 9. 2 2014.]
59. **Horáček, P.** <http://databaze.dendrologie.cz/index.php?menu=5&id=5752>. *Dendrologie online*. [Online] 1. 11 2006. [Citace: 15. 2 2014.]
60. **Shen, Y., et al., et al.** Chemistry and bioactivity of Flos *Magnoliae*, a Chinese herb for rhinitis and sinusitis. *Current Medicinal Chemistry* 2008, 15(16): 1616-1627.
61. **Cao, Yangang, et al., et al.** Alkaloids and lignans with acetylcholinesterase inhibitory activity from the flower buds of *Magnolia biondii* Pamp. *New J. Chem.* 2020, 44: 10309-10316.
62. **Schühly, W., Skarbina,J., Kunert, O., Nandi,Ol., Bauer, R.** Chemical characterization of *Magnolia biondii* (Flos *Magnoliae*, Xin Yi). *Natural Product Communications* 2009, 4(2): 231-234.
63. http://www.ortobotanico.unipd.it/en/nature/freshwater_plants.html. [Online] [Citace: 12. 2 2014.]
64. <http://www.rostliny-semena.cz/nabidka-semena-tropicke-a-subtropicke-rostliny-osiva/okrasne-rostliny-semena/semena-osivo-rostliny-lotos/semena-osivo-lotos-indicky/>. [Online] [Citace: 13. 2 2014.]
65. http://gardeningsoul.blogspot.cz/2010_10_01_archive.html. [Online] [Citace: 12. 2 2014.]

66. **NAKAMURA, S. et al.** Alkaloid constituents from flower buds and leaves of sacred lotus (*Nelumbo nucifera*, Nymphaeaceae) with melanogenesis inhibitory activity in B16 melanoma cells. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2013, 21(3): 779–787.
67. **Temviriyankul, Piya, et al., et al.** The effect of sacred lotus (*Nelumbo nucifera*) and its mixtures on phenolic profiles, antioxidant activities, and inhibitions of the key enzymes relevant to Alzheimer's disease. *Molecules* 2020, 25(16): 3713.
68. **Kumaran, Alaganandam, Ho, Cheng Chang and Hwang, Lucy Sun.** Protective effect of *Nelumbo nucifera* extracts on beta amyloid protein induced apoptosis in PC12 cells, in vitro model of Alzheimer's disease. *Journal of Food and Drug Analysis* 2018, 26(1): 172-181.
69. **Khan, Rafeeq Alam, Rajput, Muhammad Ali and Assad, Tahira.** Effect of *Nelumbo nucifera* fruit on scopolamine induced memory deficits and motor coordination. *Metabolic Brain Disease* 2019, 34(1): 87-92.
70. **XIE, Yong, Yi ZHANG, Long-Tao ZHANG, Shao-Xiao ZENG, Ze-Bin GUO a Bao-Dong ZHENG.** Protective Effects of Alkaloid Compounds from *Nelumbinis Plumula* on tert-Butyl Hydroperoxide-Induced Oxidative Stress. *Molecules* 2013, 18(9): 10285-10300.
71. **MUTREJA, A.et al.** Effect of *Nelumbo nucifera* seeds on the reproductive organs of female rats. *Iranian Journal of Reproductive Medicine* 2008, 6(1): 7-11.
72. **KASHIWADA, Y.et al.** Anti-HIV benzylisoquinoline alkaloids and flavonoids from the leaves of *Nelumbo nucifera*, and structure–activity correlations with related alkaloids. *Bioorganic & Medicinal Chemistry* 2005, 13(2):443-8.
73. **ZHANG, Xiyu, Zhaojian LIU, Bing XU, Zhaoliang SUN, Yaoqin GONG a Changshun SHAO.** Neferine, an alkaloid ingredient in lotus seed embryo, inhibits proliferation of human osteosarcoma cells by promoting p38 MAPK-mediated p21 stabilization. *European Journal of Pharmacology* 2012, 677(1-3): 47-54.
74. **Zhong-duo Yang, Xu Zhang, Juan Du, Zhao-jian Ma, Feng Guo, Shuo Li & Xiao-jun Yao.** An aporphine alkaloid from *Nelumbo nucifera* as an acetylcholinesterase inhibitor and the primary investigation for structure–activity correlations. *Natural Product Research* 2012, 26(5): 387-392.
75. **AHN, J.H., et al.** Chemical constituents from *Nelumbo nucifera* leaves and their anti-obesity effects. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters* 2013, 23: 3604–3608.
76. **GUO, F. et al.** Nuciferine Prevents Hepatic Steatosis and Injury Induced by a High-Fat Diet in Hamsters. *PloS one* 2013, 8(5): e63770. [Online] <http://www.plosone.org/>.
77. http://botanika.borec.cz/stulik_zluty.php. [Online] [Citace: 19. 2 2014.]
78. **Hron, F.** *Rostliny luk, pastvin, vod a bažin : Kapesní atlas*, 423s. Praha : SPN, 1979.
79. **Tříška, J.** *Evropská flóra, str.14*. Praha : Artia, 1979.
80. **Korbelář, J., Endris, Z.** *Naše rostliny v lékařství, 3.vyd, s.500, str.394*. Praha : Avicenum, 1970.

81. **ELAKOWICH, S., YANG, J.** Structures and allelopathic effects of Nuphar alkaloids: Nupharolutine and 6,6'-dihydroxythiobinupharidine. *Journal of Chemical Ecology* 1996,22(12): 2209-2219.
82. **WROBEL, J.,T., et al.** The Structure of Nupharolutine, an Alkaloid of Nuphar luteurn. *Canadian Journal of Chemistry* 1972, 50: 1831-1837.
83. **EFFERTH, T.** Natural products pave their way in cancer therapy. *Cancer Biology & Therapy* 2009, 8(19):1869-70.
84. Čaj-čaje. [Online] 21. 2 2014. <http://www.caj-caje.cz/bylinne-caj-z-maku-vlciho-caj-na-spani.html>.
85. **Jirásek, V., Starý, F.** *Atlas léčivých rostlin, 2.vyd., s.368.* Praha : SPN, 1989.
86. **Janča, J., Zentrich, J.** *Herbář léčivých rostlin 3.díl, str.88-91.* Praha : Eminent, 1995. ISBN 80-85876-14-0.
87. **Slavík, J.et al.** Alkaloids from *Papaver rhoeas* var. *chelidonioides* O. KUNTZE, P. confine JORD., and P. dubium L. *Collect. Czech. Chem. Commun.*1989, 54: 1118-1125. 1989.
88. <http://www.grasslands.co.uk/shrubs/laurus.html>. [Online] [Citace: 13. 2 2014.]
89. **Hlava B., Starý F., Pospíšil F.** *Rostliny v kosmetice.* Praha : Artia, 1987.
90. **PASSALACQUA, N.G., P.M. GUARRERA a G. DE FINE.** Contribution to the knowledge of the folk plant medicine in Calabria region (Southern Italy). *Fitoterapia* 2007, 78(1): 52-68.
91. **Simic M, T. Kundakovic, N. Kovacevic.** Preliminary assay on the antioxidative activity of *Laurus nobilis* extracts. *Fitoterapia* 2003, 74(6): 613-616.
92. **PECH, B., BRUNETON, J.** Alkaloids of *Laurus nobilis*. *J. Nat. Prod.*1982, 45 (5): 560-563.
93. **KAURINOVIC, B., POPOVIC, M., VLAISAVLJEVIC, S.** In Vitro and in Vivo Effects of *Laurus nobilis* L. Leaf Extracts. *Molecules* 2010, 15(5): 3378-3390.
94. **Fukuyama, N., et al.** Antimicrobial sesquiterpenoids from *Laurus nobilis* L. *Natural Product Research* 2011, 25(14): 1295-1303.
95. **Muñiz-Márquez, D.B. et al.** Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from *Laurus nobilis* L. and their antioxidant activity. *Ultrasonics Sonochemistry* 2013, 20(5): 1149-1154.
96. **PANZA, E.et al.** Lauroside B, a Megastigmane Glycoside from *Laurus Nobilis* (Bay Laurel) Leaves, Induces Apoptosis in Human Melanoma Cell Lines by Inhibiting NF-κB Activation. *J. Nat. Prod.*2011, 74 (2): 228–233.
97. **Pacifico S, Gallicchio M, Lorenz P, Duckstein SM, Potenza N, Galasso S, Marciano S, Fiorentino A, Stintzing FC, Monaco P.** Neuroprotective potential of *Laurus nobilis* antioxidant polyphenol-enriched leaf extracts. *Chem Res Toxicol.* 2014, 27(4): 611-626.
98. http://www.globalherbalsupplies.com/herb_information/zizyphus.htm. [Online] [Citace: 28. 2 2014.]

99. **MAHAJAN, R.T., CHOPDA, M.Z.** Phyto-Pharmacology of Ziziphus jujuba Mill – A Plant Review. *Phcog Rev.*2009, 3(6): 320-329.
100. **WANG, Y. et al.** New triterpene glycosides from Ziziphi Spinosae Semen. *Fitoterapia* 2013, 90: 185–191.
101. **BULVOVÁ, Leontina.** *Alkaloidy Papaver rhoeas L. (Papaveraceae) a jejich biologická aktivita vztážená k Alzheimerově chorobě I.* Hradec Králové : Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta., 2017.
102. **ČAKURDOVÁ, Marta.** *Alkaloidy Papaver rhoeas L. (Papaveraceae) a jejich biologická aktivita vztážená k Alzheimerově chorobě II.* Hradec Králové : Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta., 2017.
103. **BAKOVÁ, Izabela.** *Izolace alkaloidů druhu Magnolia soulangeana Soul.-Bod. a studium jejich biologické aktivity.* Hradec Králové : Diplomová práce. Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta, 2017.
104. **Yu-Ming, Liu, et al., et al.** Isosteroidal alkaloids as potent dual-binding site inhibitors of both acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase from the bulbs of Fritillaria walujewii. *European journal of medicinal chemistry*2017, 137: 280-291.
105. **Atta-ur-Rahman, et al., et al.** New steroidal alkaloids from Fritillaria imperialis and their cholinesterase inhibiting activities. *Chemical & Pharmaceutical Bulletin* 2002, 50(8): 1013-1016.
106. **Kaufmann D, Kaur Dogra A, Tahrani A, Herrmann F, Wink M.** Extracts from Traditional Chinese Medicinal Plants Inhibit Acetylcholinesterase, a Known Alzheimer's Disease. *Target. Molecules.* 2016, 21(9):1161. doi: 10.3390/molecules21091161.
107. **Ferreira A, Proenca C, Serralheiro M L M, Araujo M E M.** The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *Journal of ethnopharmacology* (2006), 108(1): 31-37.
108. **Chen J, Liu X, Li Z, Qi A, Yao P, Zhou Z, Dong TTX, Tsim KWK.** A Review of Dietary Ziziphus jujuba Fruit (Jujube): Developing Health Food Supplements for Brain Protection. *Evid Based Complement Alternat Med.* 2017, 2017(24):1-10.
109. **FENG, Ye a WANG, Xiaochuan.** Antioxidant therapies for Alzheimer's disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2012.

Abstrakt

Univerzita Karlova, Farmaceutická fakulta v Hradci Králové

Katedra farmaceutické botaniky

Autor: **Mgr. Leona Adamičková**

Školitel: **Prof. RNDr. Lubomír Opletal, CSc.**

Název rigorózní práce: **Screening alkaloidů s cílem hledání potenciálních léčivých látek**

Klíčová slova: inhibice cholinesteras, Alzheimerova choroba, rostlinný extrakt

V rámci hledání nových aktivních látek pro ovlivnění Alzheimerovy choroby byl proveden screening inhibiční aktivity různých rostlin. Pro tuto práci byly vybrány rostliny používané v tradiční medicíně a byly z nich připraveny alkaloidní extrakty, u nichž byl stanoven jejich inhibiční potenciál vůči lidským cholinesterasám. Pro extrakci byly vybrány cibule *Fritillaria ussurensis*, cibule *F. cirrhosis*, kůra a květy *Magnolia officinalis*, květy *M. biondii*, semena *Nelumbo nucifera*, listy a kořeny s oddenky *Nuphar luteum*, kořeny *Papaver rhoeas*, plody *Laurus nobilis* a semena *Ziziphus jujuba* var. *spinosa*.

Inhibiční aktivita vůči cholinesterasám byla stanovena *in vitro* modifikovanou Ellmanovou metodou. Bylo zjištěno, že nejúčinnějším inhibitorem BuChE je extrakt z cibulí *Fritillaria ussurensis* s hodnotou IC_{50} $11,63 \pm 3,7$ $\mu\text{g/mL}$. Extrakt z *M. biondii* inhiboval obě cholinesterasy s hodnotami IC_{50} nižšími než 50 $\mu\text{g/mL}$. Mezi extrakty s významnou inhibiční aktivitou vůči BuChE patří extrakty cibulí *F. cirrhosa*, kořene s oddenkem *Nuphar luteum* a kořeny *Papaver rhoeas* s hodnotami IC_{50} také nižšími než 50 $\mu\text{g/mL}$. Ostatní připravené extrakty měly nízkou inhibiční aktivitu ($IC_{50} \geq 50$ $\mu\text{g/mL}$). Žádný z extraktů nedosahoval aktivity použitých standardů.

Abstract

Charles University, Faculty of Pharmacy in Hradec Králové

Department of Pharmaceutical Botany

Candidate: **Mgr. Leona Adamičková**

Supervisor: **Prof. RNDr. Lubomír Opletal, CSc.**

Title of Rigorous Thesis: **Alkaloids screening with a focus on potential drug discovery**

Key words: cholinesterase inhibition, Alzheimer disease, plant extract

Within new anti-Alzheimer agent searching a screening of inhibition activity of various plants was performed. For this study plants used in traditional medicine were chosen and alkaloidal extracts were prepared and their potential to human cholinesterases inhibition was determined. For extraction bulbs of *Fritillaria ussurensis*, bulbs of *F. cirrhosis*, cortex and flowers of *Magnolia officinalis*, flowers of *M. biondii*, *Nelumbo nucifera* seeds, leaves and roots with rhizomes of *Nuphar luteum*, *Papaver rheum* roots, *Laurus nobilis* fruits and seeds of *Ziziphus jujuba* var. *spinosa* were used.

The cholinesterase inhibitory activity was determined *in vitro* by modified Ellman's method. Extract of *Fritillaria ussurensis* bulbs was found to be the most potent inhibitor of BuChE with IC₅₀ value of 11,63 ± 3,7 µg/mL. Extract of *M. biondii* inhibited both cholinesterases with IC₅₀ values lower than 50 µg/mL. Among extracts with inhibition activity to BuChE pertain extracts of *F. cirrhosa* bulbs, *Nuphar luteum* root with rhizome and *Papaver rhoeas* roots with IC₅₀ values lower than 50 µg/mL. Other prepared extracts were considered to be inactive (IC₅₀ ≥ 50 µg/mL). Any of extracts did not gained activity of the standards used.