

Neuroaktywne związki roślin leczniczych z rodziny Lamiaceae wykazujące potencjalnie korzystne działanie w leczeniu choroby alzheimera

MARCIN OŻAROWSKI^{1,2}, PRZEMYSŁAW Ł. MIKOŁAJCZAK^{1,3},
TERESA BOBKIEWICZ-KOZŁOWSKA³, RADOŚLAW KUJAWSKI¹,
PRZEMYSŁAW M. MROZIKIEWICZ⁴

¹Zakład Farmakologii i Biotechnologii
Oddział Roślin Zielarskich
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich
ul. Wojska Polskiego 71B
60-630 Poznań

²Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej i Biotechnologii Roślin
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
ul. Św. Marii Magdaleny 14
61-861 Poznań

³Katedra i Zakład Farmakologii
Uniwersytet Medyczny im. K. Marcinkowskiego
ul. Rokietnicka 5
60-806 Poznań

⁴Pracownia Farmakogenetyki Doświadczalnej
Katedra i Zakład Farmacji Klinicznej i Biofarmacji
ul. Św. Marii Magdaleny 14
61-861 Poznań

Streszczenie

Choroba Alzheimera (AD) jest związaną z wiekiem, nieodwracalną chorobą neurodegeneracyjną, w przebiegu której dochodzi do postępujących zaburzeń funkcji poznawczych. Charakteryzuje się głównie obecnością w mózgu blaszek starczych, splątków neurofibrylarnych oraz deficytem neurotransmisji cholinergicznej (acetylocholino). Zahamowanie aktywności acetylocholinoesterazy (AChE) jest uważane za obiecującą strategię w leczeniu chorób neurologicznych, nie tylko AD, lecz także w innych typach demencji (otępienie z ciałami Lewy'ego, otępienie w zespole Downa, otępienie

naczyniowe, demencja w przebiegu choroby Parkinsona), ataksji oraz miastenii. W leczeniu zaburzeń funkcji poznawczych oraz utraty pamięci związanej z AD stosuje się kilka leków: takrynę, donepezil, rywastygminę oraz galantaminę, lecz związki te wykazują wiele działań niepożądanych. Aktualne badania dowodzą, że w metabolizm acetylocholino w mózgu zaangażowane są zarówno AChE, jak i butyrylocholinoesteraza (BuChE), dlatego uważa się, że wpływ na aktywność obu tych enzymów może zwiększać efektywność terapii. Wykazano bowiem, że w mózgach pacjentów z chorobą Alzheimera paradoksalnie aktywność BuChE może się zwiększać, w przeciwieństwie do zmniejszonego działania AChE. Wzrastające zainteresowanie i zapotrzebowanie na nowe leki przeciwneurodegeneracyjne uzasadnia prowadzenie badań nad poszukiwaniem związków chemicznych pochodzących również z roślin leczniczych. Celem niniejszego artykułu jest dokonanie przeglądu badań nad wybranymi roślinami leczniczymi z rodziny Lamiaceae (*Rosmarinus officinalis*, *Salvia miltiorrhiza*, *Melissa officinalis*) w zakresie ich działania w różnych modelach dotyczących choroby Alzheimera *in vitro* i *in vivo*. Wiadomo, że ekstrakty z omawianych roślin leczniczych z rodziny Lamiaceae nie tylko hamują aktywność AChE i odkładanie złogów β -amyloidu, lecz również mogą mieć działanie anty-BuChE. Wykazano, iż te wyciągi działały antyoksydacyjnie, cytoprotekcyjnie, antyapoptotycznie i przeciwzapalnie. Najbardziej aktywne były kwas rozmarynowy, flawonoidy (np. apigenina) i terpenoidy (np. citral, citronelal, tanszynony).

Słowa kluczowe: choroba Alzheimera, inhibitory AChE i BuChE, ekstrakty roślinne, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia miltiorrhiza*, *Melissa officinalis*

WPROWADZENIE

Zgodnie z danymi WHO zaburzenia neurologiczne i psychiatryczne są istotnymi i dynamicznie narastającymi przyczynami ogólnej zachorowalności [1]. Istotnym problemem w opiece zdrowotnej na całym świecie stają się choroby neurodegeneracyjne. Największym ryzykiem występowania zaburzeń degeneracyjnych w ośrodkowym układzie nerwowym staje się proces starzenia przy udziale czynników środowiskowych i genetycznych. Dostępne metody leczenia chorób neurodegeneracyjnych (w tym choroby Alzheimera, choroby Huntingtona oraz stwardnienia zanikowego bocznego) mają ciągle niewielką skuteczność, dlatego potrzeba poszukiwania nowych strategii terapeutycznych jest sprawą aktualną [2].

Obecne tendencje w badaniach rozwojowych nad nowymi produktami leczniczymi oraz postępy w neurobiologii i neurofarmakologii sprawiają, że zwrócenie uwagi na potencjał bioaktywnych substancji roślinnych, które w modelach *in vitro* i *in vivo* wywierają plejotropowy wpływ na metabolizm komórkowy w chorobach ośrodkowego układu nerwowego (OUN) jest interesujące. Dlatego istnieje konieczność prowadzenia szeroko zakrojonych badań biochemicznych, genetycznych i farmakologicznych w celu znalezienia nowych leków pochodzących z surowców naturalnych [3-5], w tym głównie z ekstraktów roślinnych (jako substancji wiodących) do stosowania zarówno w prewencji, jak i w farmakoterapii chorób neurodegeneracyjnych [6-9]. Opublikowane wyniki badań wskazują, że największą

nadzieję pokłada się w roślinach z rodziny *Lamiaceae*, których ekstrakty w modelu *in vitro* działają antyoksydacyjnie [10-13]. Ponadto stwierdzono, że ekstrakty niektórych roślin z tej rodziny botanicznej wywierają wpływ na aktywność enzymów metabolizujących acetylocholinę w neuronach cholinergicznym ośrodkowego układu nerwowego: acetylocholinoesterazę (AChE, cholinoesteraza I) [14-19], a także mogą zmieniać aktywność butyrylocholinoestrazy (BuChE, cholinoesteraza II) [20, 21].

WYBRANE NEUROBIOLOGICZNE ASPEKTY CHOROBY ALZHEIMERA

Choroby neurodegeneracyjne to nieuleczalna grupa schorzeń OUN, które prowadzą do pełnego inwalidztwa, a w miarę postępu procesu neurodegeneracji – do utraty podstawowych funkcji organizmu tak na poziomie somatycznym, jak i psychicznym. Choroba Alzheimera dotyczy 5–7% populacji po 65. roku życia, co oznacza, że w Polsce może na nią cierpieć ponad 200 000 osób [22, 23], ponadto choroba ta pojawia się u 30% osób mających więcej niż 80 lat [24]. W Stanach Zjednoczonych choroba ta zajmuje 4. miejsce w tabeli przyczyn zgonów osób powyżej 65. roku życia [25]. W ostatnich latach prowadzone są intensywne badania nad patogenezą chorób neurodegeneracyjnych, w tym nad chorobą Alzheimera i nowymi rozwiązaniami terapeutycznymi łącznie z poszukiwaniem nowych leków z surowców roślinnych [7, 26-31].

W przebiegu kaskady neurodegeneracyjnej w chorobie Alzheimera dochodzi do zmian neurochemicznych (zaburzenia w gospodarce neuroprzekaźników) oraz neuropatologicznych, które wzajemnie ze sobą korelują [32, 33]. W chorobie tej dochodzi do odkładania się w mózgu i w mózdzku dwóch patologicznie zmienionych białek: β -amyloidu zewnątrzkomórkowo pod postacią amyloidowych blaszek starczych (tzw. hipoteza amyloidowa [34, 35]) i białka τ -wewnątrzneuronalnego, tworzącego alzheimerowskie zwyrodnienie neurofibrylarne [36]. Ponadto dochodzi do zmian stężenia wielu innych białek intensywnie badanych jako potencjalne markery (apolipoproteina E, ubikwityna, α -2 makroglobulina, α -1 antychymotrypsyna) [36-38].

Do grupy chorób nazwanej amyloidozami mózgowymi wliczane jest więcej niż 20 chorób m.in. choroba: Alzheimera, Parkinsona, Huntingtona, otępienie z ciałami Lewy'ego, otępienie czołowo-skroniowe (dawniej choroba Picka), zanik wieloukładowy, Hallewardena – Spatzta, czy zespół Downa [39]. Obecnie przyjęto szerszą klasyfikację chorób będących proteinopatiami [40].

Cholinergiczne struktury okolic podstawno-czołowych mózgu (*hippocampus*, *neocortex*) są najwcześniej dotknięte chorobą Alzheimera [41]. Zaburzenia układu cholinergicznego (tzw. hipoteza cholinergiczna), który jest mocno związany z układem limbicznym oraz strukturami kory nowej, ujawniają się klinicznie w postaci deficytów uwagi oraz innych funkcji poznawczych. Niedoczynność układu cholinergicznego może być również przyczyną zaburzeń zachowania i zdolności wykonywania codziennych czynności życiowych. Dodatkowo w kaskadzie

neurodegeneracyjnej odkładający się neurotoksyczny β -amyloid, oprócz indukcji śmierci neuronów, zmniejsza wyrzut acetylocholinyl (zależny od jonów potasu) do szczeliny synaptycznej, a także hamuje jej synaptyczny wychwyt zwrotny w hipokampie oraz korze mózgowej [41-43]. Uważa się również, że w kaskadzie biochemicznych procesów neurodegeneracyjnych zaangażowane są mediatory procesu zapalnego ze strony komórek mikrogleju i astrocytów OUN, przez co choroba Alzheimera (i inne amyloidozy) wydaje się mieć przebieg chroniczno-zapalny z włączeniem stresu oksydacyjnego [44-48].

W OUN istnieją dwa rodzaje cholinesteraz: acetylocholinesteraza (AChE) i butyrylocholinesteraza (BuChE) [49], spośród których w zdrowym mózgu w metabolizowaniu acetylocholinyl dominuje AChE [50]. W przebiegu choroby Alzheimera aktywność AChE ulega zmniejszeniu o 33–45%, natomiast stężenie BuChE wzrasta o 40–90% [51]. Początkowo badania naukowe skupiły się na hamowaniu aktywności AChE, ale wykazano, że BuChE także odgrywa istotną rolę w metabolizmie acetylocholinyl (na zasadzie kompensowania przy spadku aktywności AChE), zarówno w mózgu człowieka zdrowego, jak i chorego na AD, a hamowanie obu enzymów może być bardziej efektywne w porównaniu z hamowaniem wyłącznie AChE. Stąd nowa koncepcja, aby w terapii AD (oraz innych zespołach otępiennych) stosować inhibitory o podwójnej funkcji lub selektywnie hamujące BuChE [23, 49, 50, 52, 53]. Jak dotąd w lecznictwie nie są dostępne inhibitory BuChE o farmakologicznym punkcie uchwytu w OUN [53]. Badania przeprowadzone na gryzoniach dowiodły, że stosowanie selektywnego inhibitora mózgowej BuChE w sposób statystycznie znaczący zwiększyło stężenie acetylocholinyl w mózgu, doprowadziło do zmniejszenia złogów beta-amyloidu i APP (białka prekursorowego amyloidu), jak i również poprawiło proces uczenia się i zapamiętywania u zwierząt [54].

Mimo intensywnych badań dostępne dziś metody leczenia są jedynie objawowe i nie ingerują w przyczynę postępującej neurodegeneracji mózgu. Obecnie w leczeniu pacjentów z rozpoznaną chorobą Alzheimera (we wczesnej i średnio zaawansowanej fazie) stosowane są w Polsce tylko 3 zarejestrowane leki objawowe, będące inhibitorami acetylocholinyl (AChEI): donepezyl (Aricept), rywastygmina (Exelon) i galantamina (Reminyl). Inhibitory AChE są jak dotąd najważniejszą grupą leków stosowanych w leczeniu zaburzeń czynności poznawczych u pacjentów ze zdiagnozowaną chorobą Alzheimera [55-58].

Spośród preparatów stosowanych w lecznictwie AChEI tylko rywastygmina hamuje dwa enzymy (AChE oraz BuChE), jednak jej stosowanie w długiej terapii wiąże się z licznymi działaniami niepożądanymi [59]. Ponadto inhibitory AChE mogą wchodzić w interakcje z innymi lekami oddziałującymi na OUN. Donepezyl, galantamina i rywastygmina wchodzi bowiem w interakcje z cholinomimetykami, ponadto galantamina i donepezyl tworzą interakcje z paroksetyną oraz z fluoksetyną jako inhibitorami CYP2D6 (izoenzym ten metabolizuje zarówno donepezyl, jak i galantaminę) [60], co utrudnia leczenie zaburzeń zachowania (depresja, lęk), które mają istotny wpływ na obraz kliniczny choroby Alzheimera. Inhibitory AChE mogą wchodzić także w interakcje z inhibitorami izoenzymu CYP3A4 [61].

Substancje pochodzenia roślinnego mogą być cenną alternatywą w prewencji i leczeniu zespołów otępiennych. Wobec tego istnieje konieczność przeprowadzenia badań nad wyciągami roślinnymi o szerszym spektrum działania farmakologicznego oraz korzystniejszym profilu bezpieczeństwa, które nie powodowałyby niekorzystnych interakcji lekowych jak dotychczas stosowane inhibitory AChE. Badania prowadzone w modelu *in vitro* oraz w zwierzęcym modelu chorób otępiennych pozwalają na coraz lepsze naukowe udokumentowanie oraz zrozumienie mechanizmu działania związków czynnych zawartych w wyciągach roślinnych na poziomie molekularnym, subkomórkowym oraz behawioralnym podczas kaskadowo postępujących chorób neurodegeneracyjnych.

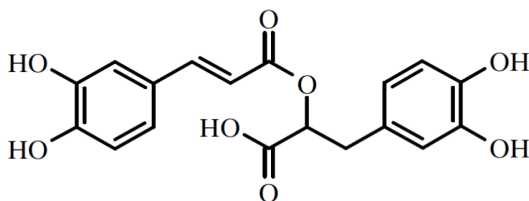
CHARAKTERYSTYKA WYBRANYCH ROŚLIN Z RODZINY LAMIACEAE WYKAZUJĄCYCH AKTYWNOŚĆ W BADANIACH MODELOWYCH NAD CHOROBIAMI OUN

Rośliny lecznicze z rodziny botanicznej Lamiaceae, liczącej blisko 5600 [62], a według innych autorów nawet 7173 gatunków [63], zawierają (oprócz *Salvia miltiorrhiza* Bunge) przede wszystkim dwie główne frakcje związków biologicznie czynnych: frakcję flawonoidową oraz olejku eterycznego, które wpływają na funkcjonowanie OUN. Wyniki licznych prac badawczych dowodzą, że biozwiązki surowców roślinnych z rodziny Lamiaceae mogą wykazywać szersze działanie farmakologiczne w terapii chorób neurodegeneracyjnych, bowiem oprócz aktywności antyoksydacyjnej, przeciwzapalnej i hamowania degradacji acetylocholino w synapsach, mogą również interferować z β -amyloidem, zmniejszając jego agregację w warunkach *in vitro*, co znajduje odzwierciedlenie w obecnych tendencjach w projektowaniu leków o działaniu plejotropowym w tej grupie chorób. Donepezil, galantamina, riwastygmina czy takryna takiego szerokiego działania farmakologicznego nie wykazują [64].

Rosmarinus officinalis L.

Rozmaryn lekarski jest zimozielonym krzewem uprawianym do celów kulinarnych oraz leczniczych. W fitoterapii używa się liścia rozmarynu (*Rosmarini folium*), który tradycyjnie jest stosowany w chorobach przewodu pokarmowego [65-67]. Według innych poglądów i zgodnie z wynikami najnowszych badań związki czynne surowca oddziałują także na układ nerwowy [19, 21, 68-72]. Surowiec roślinny zawiera dwie główne grupy związków czynnych: 1,5–2,5% olejku eterycznego: 1,8-cyneol (44,42%), pinen (12,57%), borneol (8,52%), octan bornyłu, kamfen, limonen, myrcen oraz związki fenolowe: flawonoidy (diosmetyna, diosmina, genkwainina, luteolina, hispidulina, apigenina) [70] oraz garbniki [21, 73], a także nowo odkryte diterpeny (typ abietanu) [74]. Do związków polifenolowych występujących w ekstraktach *Rosmarinus officinalis* należą kwas rozmarynowy (ryc. 1), kwas ursolowy, karnozol [75]. W licznych badaniach wykazano, że ekstrakty, frakcja

olejku eterycznego oraz pojedyncze wyizolowane związki *Rosmarinus officinalis* posiadają aktywność antyoksydacyjną, przeciwzapalną, antymutagenną, antyproliferacyjną i antyneowaskularyzacyjną [70, 75-79], a także antyapoptotyczną w stosunku do astrocytów oraz hamującą neurotoksyczne działanie β -amyloidu *in vitro* [80], co może wskazywać na korzystny efekt farmakologiczny zarówno w chorobach neurodegeneracyjnych jak i podczas fizjologicznego starzenia się OUN.



Rycina 1. Struktura chemiczna kwasu rozmarynowego (ester kwasu kawowego z kwasem a-hydroksydihydrokawowym) – wyznacznika chemotaksonomicznego w rodzinie Lamiaceae

Jednym ze związków czynnych, na które zwraca się szczególną uwagę ze względu na wpływ przetworów omawianego surowca na OUN jest kwas rozmarynowy [21, 68, 69]. Związek ten po raz pierwszy został wyizolowany z *Rosmarinus officinalis*, ale jego obecność wykazano w licznych roślinach leczniczych należących do różnych rodzin botanicznych, w tym do rodziny Lamiaceae, m.in. w *Lavandula angustifolia*, *Melissa officinalis*, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia miltiorrhiza*, *Salvia officinalis*, *Mentha spicata*, *Thymus vulgaris* [76, 81, 85]. Kilka niżej wymienionych badań, które miały na celu wykazanie aktywności anty-AChE i anty-BuChE przetworów *Rosmarinus officinalis*, przeprowadzono metodami analitycznymi z wykorzystaniem enzymów dostępnych na rynku (*in vitro*), jednak nie ma badań w modelu chorób neurodegeneracyjnych *in vivo*, w którym zakłócenia biochemiczne w tkance nerwowej dotyczące obrotu metabolicznego acetylocholino mogą być uzależnione od czynników wewnątrz- i zewnątrzśrodowiskowych.

Badanie *in vitro* przeprowadzone przez Orhana i wsp. [21] nad aktywnością biologiczną różnych ekstraktów ziela rozmarynu, kwasu rozmarynowego oraz olejku eterycznego, po przeprowadzeniu analizy metodą Ellmana wykazało, że olejek w stężeniu 1 mg/ml hamował aktywność AChE o 63,7% ($p < 0,001$) oraz BuChE o 74% ($p < 0,001$), natomiast kwas rozmarynowy hamował aktywność enzymów odpowiednio o 47,3% oraz 85,8% ($p < 0,001$). Wykazano także, że żaden ekstrakt w tym stężeniu nie hamował aktywności AChE. Natomiast stwierdzono, że ekstrakt z użyciem eteru naftowego zastosowany w stężeniu 1mg/ml hamował aktywność BuChE o 54,2% ($p < 0,001$), z użyciem octanu etylu – 34,2%, a ekstrakt metanolowy – o 83,9% ($P < 0,001$). W innym badaniu [19] *in vitro* wykazano, że wartość IC_{50} (hamowania aktywności AChE) wyniosła dla olejku eterycznego 69,8 $\mu\text{g/ml}$, dla ekstraktu etanolowego 219 $\mu\text{g/ml}$, natomiast dla ekstraktu wodnego 769 $\mu\text{g/ml}$. Skryningowe badania [16] nad aktywnością wodnych i metanolowych ekstraktów

roślin leczniczych stosowanych w duńskiej medycynie tradycyjnej przeprowadzone metodą spektrofotometryczną oraz z zastosowaniem technik chromatografii cienkowarstwowej (TLC) wykazały, że wodny ekstrakt *Rosmarinus officinalis* hamował aktywność syntetycznej AChE (0,1 mg/ml) o 12%, a ekstrakt metanolowy o 17%.

Kierunek pierwszych badań wpływu kwasu rozmarynowego na behavior zwierząt doświadczalnych zapoczątkował zespół Borkowskiego i współpracowników [82] w Instytucie Farmakologii PAN, którzy wykazali, że kwas rozmarynowy podawany podskórnie myszom w dawce 30 mg/kg osłabiał ich aktywność lokomotoryczną. Stwierdzono również, że związek ten osłabiał pobudzenie ruchowe indukowane amfetaminą, przedłużał czas trwania narkozy heksobarbitalowej, ale bez działania przeciwlękowego. Wyniki nowszych badań neurobehavioralnych [69] pozwalają twierdzić, że kwas rozmarynowy w niskich dawkach działa podobnie jak leki przeciwlękowe (działanie anksjolitycznopodobne). Inne wyniki badań wykazały, że kwas rozmarynowy działa przeciwdepresyjne bez wpływu na gospodarkę monoaminergiczną [68]. Ponadto udowodniono [80], że kwas rozmarynowy wykazuje działanie właściwe lekom przeciwdepresyjnym, a mechanizm takiej aktywności może polegać na stymulowaniu neurogenezy w zakręcie zębatym formacji hipokampa. Zauważono także, że kwas rozmarynowy podawany dootrzewnowo myszom w dawkach 0,25; 1; 2 oraz 4 mg/kg, znacząco zapobiegał zaburzeniom pamięci indukowanym beta-amyloidem₂₅₋₃₅ [72].

***Melissa officinalis* L.**

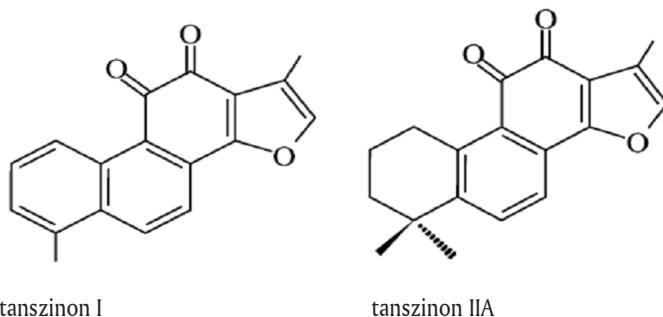
Surowiec stanowią wysuszone bądź świeże liście pozyskiwane z melisy lekarskiej, zawierające co najmniej 0,05% (obj/wag) olejku w stosunku do wysuszonego surowca zawierającego pochodne monoterpenowe: geranial, geraniol, neral, nerol, cytronelol, linalol, eugenol, cytronelal i β -kariofilen. W surowcu oznaczono również flawonoidy: glikozydy luteoliny, kwercetynę, izokwercetynę, apigeninę, kemferol oraz triterpeny: kwas ursolowy i kwas oleanolowy, a także polifenolokwasy: kwas kawowy i jego pochodne – kwas rozmarynowy i kwasy melitrykowe A i B [83-85]. Liść melisy zgodnie z wymaganiami „European Pharmacopoeia” [86] i ESCOP [83] powinien zawierać nie mniej niż 4,0% ogólnej zawartości pochodnych kwasu hydroksycynamonowego wyrażonych jako kwas rozmarynowy. *Melissa officinalis* jest często wykorzystywana w medycynie tradycyjnej ze względu na wykazywaną aktywność uspokajającą, przeciwbakteryjną i przeciwwirusową, spazmolityczną, przeciwzapalną oraz antyoksydacyjną [83]. Badania *in vitro* pozwoliły na stwierdzenie, że to apigenina (flawonoid neuroaktywny) wykazywała powinowactwo do receptorów GABA (aktywność modulująca) i dzięki temu warunkowała działanie przeciwlękowe oraz uspokajające ekstraktu [87]. Inne badanie *in vitro* przeprowadzone przez Wake i współpracowników [88] wykazało, że ekstrakt etanolowy z liści *Melissa officinalis* wykazywał powinowactwo do nikotynowych receptorów cholinergicznym. Kierunkowe badania farmakologiczne dowiodły, że wyciąg *Melissa officinalis* podawany zwierzętom powodował zależnie od daw-

ki istotny spadek aktywności ruchowej. Zaobserwowano także, że po podaniu pentobarbitalu istotnie wydłużył się czas snu [89]. Badanie kliniczne z podwójnie ślepą próbą przeprowadzone przez Akhondzadeh i wsp. [90, 91] w grupie 42 osób z chorobą Alzheimera stosujących przez 16 tygodni standaryzowany alkoholowy wyciąg z liści *Melissa officinalis* (500 µg citralu/ml; 60 kropli w ciągu dnia) po zastosowaniu skali ADAS (*Alzheimer's Disease Assessment Scale*) pozwalającej na diagnozę nasilenia zaburzeń poznawczych w chorobie Alzheimera, wykazało, że niepokój jako objaw towarzyszący chorobie miał istotny wpływ na wyniki terapii i wystąpił sześciokrotnie rzadziej w grupie badanej niż kontrolnej. Stwierdzono więc, że wyciąg z *Melissa officinalis* może być stosowany jako kuracja wspomagająca w leczeniu choroby Alzheimera.

Nie przeprowadzono do tej pory wielu badań nad mechanizmami działania związków czynnych wyciągów melisy w chorobach neurodegeneracyjnych. W badaniu *in vitro* wykazano [17], że odwar (*decoctum*, 5mg/ml) hamował aktywność syntetycznej AChE o 53,1%, ekstrakt etanolowy (0,5mg/ml) o 17,8%, a uzyskany olejek eteryczny o 65,3%. Stwierdzono przy tym działanie hamujące enzym zależne od stosowanego stężenia olejku eterycznego. We wcześniejszej pracy (badania *in vitro*) stwierdzono [92], że wartość IC_{50} AChE dla olejku eterycznego wyniosła 0,1 µg/ml zauważając, iż za tę aktywność odpowiadają citral i citronelal. Dotychczas nie przeprowadzono badań na modelu zwierzęcym z zastosowaniem przetworów melisy.

***Salvia miltiorrhiza* Bunge**

Salvia miltiorrhiza Bunge (szałwia czerwonokorzeniowa) jest byliną, która występuje naturalnie w krajach azjatyckich (głównie w Chinach i Japonii), a zupełnie nieznaną w fitoterapii europejskiej [93, 94]. Surowcem leczniczym są korzenie szalwii czerwonokorzeniowej [95], które można by stosować w celu poprawy funkcjonowania układu krążenia, w tym mikrokrążenia mózgowego (rCBF) [96], zahamowania powstawania wolnych rodników tlenowych w mikrogleju, podczas progresji chorób neurodegeneracyjnych (choroba Parkinsona, choroba Alzheimera) i w leczeniu uzależnień wywołanych amfetaminą poprzez wpływ na przekaźnictwo dopaminergiczne [97], a także w celu spowolnienia odkładania się β-amyloidu w mózgu [98]. Głównymi związkami biologicznie czynnymi surowca są: kwasy fenolowe, flawonoidy, di- i triterpeny, steroidy, kumaryny i garbniki, a w transformowanej kulturze *in vitro* oznaczono kwas rozmarynowy oraz kwas litospermowy B [99-101]. W ekstrakcie wodnym surowca zidentyfikowano kwas salwianolowy B, a także kwas rozmarynowy [102]. Związkami czynnymi, na które zwraca się szczególną uwagę w badaniach farmakologicznych, są związki terpenoidowe, tansziny: tansziny I, tansziny IIA (ryc. 2), kryptotansziny i 15, 16-dihydotansziny [103]. W dostępnym piśmiennictwie istnieje tylko kilka badań nad mechanizmem działania tanszynonów w modelu choroby neurodegeneracyjnej.

Rycina 2. Struktura chemiczna głównych związków terpenoidowych *Salvia miltiorrhiza* Bunge

Kim i wsp. [104] podawali oczyszczone związki otrzymane z ekstraktu etanowego korzeni *S. miltiorrhiza* a mianowicie: tanszynon I (0,5; 1; 2; 4 mg/kg, p.o.), tanszynon IIA (2,5; 5; 10; 20 mg/kg, p.o.), kryptotanszynon (2,5; 5; 10; 20 mg/kg p.o.), 15, 16–dihydrotanszynon (0,5; 1; 2; 4 mg/kg p.o.) oraz takrynę jako lek referencyjny (10 mg/kg, p.o.) myszom z amnezją indukowaną skopolaminą (1 mg/kg m.c., i.p.). Następnie kolorymetryczną metodą Ellmana dokonano pomiaru aktywności acetylocholinoesterazy w homogenatach mózgu myszy. Wyniki badania wykazały, że kryptotanszynon ($IC_{50}=82 \mu M$) i 15, 16-dihydrotanszynon ($IC_{50}=25 \mu M$) najefektywniej hamowały aktywność enzymu w porównaniu z tanszynonem I i tanszynonem IIA (hamowanie aktywności AChE <20% w stężeniu do 100 μM). Wyniki badania biochemicznego dodatkowo korelowały z wynikami pamięci w teście biernego unikania. Inne badanie, przeprowadzone przez Ren i wsp. [15], z zastosowaniem tanszynonów wyizolowanych z acetonowego ekstraktu z korzeni *S. miltiorrhiza*, wykazało podobnie efektywność tych związków w hamowaniu aktywności AChE (metodą Ellmana): 15, 16-dihydrotanszynonu ($IC_{50}=1,0 \mu M$) oraz kryptotanszynonu ($IC_{50}=7,0 \mu M$). Wyniki te istotnie różniły się od tych otrzymanych przez Kim i współpracowników [104]. Ren i wsp. [15] w swoim badaniu wykazali również, że tanszynony są transportowane do OUN przez barierę krew-mózg. Badanie *in vitro* przeprowadzone przez Yin i wsp. [102] wykazało, że wodny ekstrakt z korzeni *Salvia miltiorrhiza* w zależności od stężenia hamował aktywność AChE (61,5–64,3%). Głównymi związkami wyciągu wodnego w tych badaniach był kwas salwianolowy B oraz kwas rozmarynowy. Dodatkowo badania przeprowadzone przez Li i wsp. [105] na szczurach ze zmianami neuropatologicznymi indukowanymi domózgowym podaniem β -amyloidu w okolicę zakrętu zębatego formacji hipokampa (*gyrus dentatus*) wykazały, że tanszynon podawany w dawce 50 mg/kg w sposób statystycznie istotny obniżał aktywność AChE w hipokampie oraz zmniejszała ekspresję enzymu nNOS, podczas gdy iNOS zwiększała się w badanych regionach hipokampu (CA1, CA2, CA3) oraz w zakręcie zębatym. W ten sposób wskazano na złożony neuroprotektoryjny wpływ tanszynonu w stosowanym modelu choroby neurodegeneracyjnej [105]. W innym badaniu, przeprowadzonym przez Durairajan i wsp. [106], stwierdzono, że neuroprotektoryjnie działa także kwas sal-

wianolowy B, który hamował agregację i fibrylację β -amyloidu *in vitro*. W nowszej pracy [98] udowodniono, że kryptotanszynon poprzez wpływ na aktywność alfa-sekretazy zmniejszał odkładanie beta-amyloidu zarówno *in vitro*, jak i *in vivo*.

PODSUMOWANIE

Na podstawie zaprezentowanego przeglądu literatury można sądzić, że substancje pochodzenia roślinnego mogą być cenną alternatywą w prewencji i ewentualnym leczeniu zespołów otępiennych w stosunku do istniejącej farmakoterapii. Dotychczasowe badania farmakologiczne nad wybranymi roślinami z rodziny Lamiaceae pozwoliły na stwierdzenie, że większość ekstraktów otrzymanych z tych roślin hamowała aktywność acetylocholinesterazy *in vitro*. Wykazano także, że niektóre związki czynne z grupy polifenoli, w tym flawonoidy obecne w rodzinie Lamiaceae hamowały agregację β -amyloidu *in vitro*. Takie działanie stwierdzono dla kwasu rozmarynowego, kwercetyny i kemferolu. W innych badaniach wykazano również, że tanszynony czy kwas salwianolowy B z korzeni *Salvia miltiorrhiza* hamowały zmiany neuropatologiczne indukowane β -amyloidem u zwierząt.

Wydaje się więc, że celowe jest prowadzenie dalszych, poszerzonych badań nad wyciągami z omawianych roślin. Planowane przyszłe badania w zwierzęcym modelu chorób otępiennych pozwolą na lepsze poznanie mechanizmów działania związków czynnych zawartych w omawianych wyciągach roślinnych na poziomie subkomórkowym (np. hamowanie aktywności AChE i/lub BuChE) i molekularnym (np. wpływ na ekspresję genu kodującego AChE, BuChE), a także na stwierdzenie wpływu tych ekstraktów na procesy uczenia się i zapamiętywania u zwierząt.

Praca finansowana z projektu badawczego Ministerstwa Nauki i Szkolnictwa Wyższego N405 417836.

PIŚMIENNICTWO

1. Jamison DT, Breman JG, Measham AR, Alleyne G, Claeson M, Evans DB et al. Disease Control Priorities in Developing Countries. Second edition. The International Bank for Reconstruction and Development/The World Bank, Oxford University Press. New York 2006.
2. Standaert DG, Young AB. Treatment of central nervous system degenerative disorders. [in:] Brunton LLB, Lazo JS, Pakrer KL. Goodman & Gilman's. The pharmacological basis of therapeutics. McGraw-Hill. 11th ed., New York 2006.
3. Itokawa H, Morris-Natschke SL, Akiyama T, Lee KH. Plant-derived natural product research aimed at new drug discovery. *J Nat Med* 2008;62:263-80.
4. Spainhour CB. Natural products. *Drug Discovery Handbook*, John Wiley & Sons Inc., 2005:1-72.
5. Rahman A, Choudhary MI. Bioactive natural products as a potential source of new pharmacophores. A theory of memory. *Pure Appl Chem* 2001;73(3):555-60.
6. Ożarowski M, Mrozikiewicz PM. Rośliny o działaniu na ośrodkowy układ nerwowy – lepsze zrozumienie aktywności farmakologicznej. *Herba Pol* 2007;53(2):71-4.

7. Ożarowski M, Mrozikiewicz PM. Treatment of neurodegenerative diseases with herbal medicines–critical analysis. *Basic Clin Pharm Toxicol* 2005;97; suppl. 1:72-3.
8. Sener B, Orhan I. Discovery of drug candidates from some Turkish plants and conservation of biodiversity. *Pure Appl Chem* 2005;77(1):53-64.
9. Balunas MJ, Kinghorn AD. Drug discovery from medicinal plants. *Life Sci* 2005;78:431-41.
10. Marinova EM, Yanishlieva NV. Antioxidative activity of extracts from selected species of the family *Lamiaceae* in sunflower oil. *Food Chem* 1997;58(3):245-8.
11. Dorman DHJ, Bachmayer O, Kosar M, Hiltunen R. Antioxidant properties of aqueous extracts from selected *Lamiaceae* species grown in Turkey. *J Agric Food Chem* 2004;52 (4):762-70.
12. Erdemoglu N, Turan NN, Carici I, Sener B. Antioxidant activities of some *Lamiaceae* plant extract. *Phytother Res* 2006;20:9-13.
13. Matkowski A, Tasarz P, Szypluła E. Antioxidant activity of herb extracts from five medicinal plants from *Lamiaceae*, subfamily *Lamioideae*. *J Med Plants Res* 2008;2(11):321-30.
14. Ingkaninan K, Temkitthawon P, Chuenchom K, Yuyaem T, Thongnoi W. Screening for acetylcholinesterase inhibitory activity in plants used in Thai traditional rejuvenating and neurotonic remedies. *J Ethnopharmacol* 2003;89:261-4.
15. Ren Y, Houghton PJ, Hider RC, Howes MJ. Novel diterpenoid acetylcholinesterase inhibitors from *Salvia miltiorrhiza*. *Planta Med* 2004;70(3):201-4.
16. Adersen A, Gauguin B, Gudiksen L, Jager AK. Screening of plants used in Danish folk medicine to treat memory dysfunction for acetylcholinesterase inhibitory activity *J Ethnopharmacol* 2006;104:418-22.
17. Ferreira A, Proença C, Serralheiro MLM, Araújo MEM. The in vitro screening for acetylcholinesterase inhibition and antioxidant activity of medicinal plants from Portugal. *J Ethnopharmacol* 2006;108(1):31-7.
18. Oinonen PP, Jokela JK, Hatakka AI, Vuorela PM. Linarin, a selective acetylcholinesterase inhibitor from *Mentha arvensis*. *Fitoterapia* 2006;77:429-34.
19. Mata AT, Proenc C, Ferreira AR, Serralheiro MLM, Nogueira JMF, Araujo MEM. Antioxidant and antiacetylcholinesterase activities of five plants used as Portuguese food spices. *Food Chem* 2007;103:778-86.
20. Orhan I, Sener B, Choudhary MI, Khalid A. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase inhibitory activity of some Turkish medicinal plants. *J Ethnopharmacol* 2004;91:57-60.
21. Orhan I, Aslan S, Kartal M, Sener B, K. Baser HC. Inhibitory effect of Turkish *Rosmarinus officinalis* L. on acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase enzymes. *Food Chem* 2008;108:663-8.
22. Gabryelewicz T. Rozpowszechnienie zespołów otępiennych. *Neurol Neurochir Pol* 1999;1:11-17.
23. Gabryelewicz T, Barcikowska M, Jarczewska DŁ. Terapia choroby Alzheimer’a – teoria a praktyka. *Wiad Lek* 2005;58:9-10.
24. Beers M, Porter RS, Jones TV, Kaplan JL, Berkwitz M. *The Merck Manual of Diagnosis and Therapy*. Merck Research Laboratories, Division of Merck Co., INC, New York, 2006, pp. 2339.
25. Abrams WB, Beers MB, Berkow R. MSD. *Podręcznik geriatrii*. Wrocław 1999.
26. Jachak SM, Saklani A. Challenges and opportunities in drug discovery from plants. *Curr Sci* 2007;92(9):1251-7.
27. Izzo AA, Capasso F. Herbal medicines to treat Alzheimer’s disease. *Trends in Pharmacol Sci* 2008;28(2):47-48.
28. Ożarowski M, Mikołajczak P, Mrozikiewicz P. Molecular aspects of herbal medicinal products activity and interactions with synthetic drugs on the central nervous system level. *Acta Biochim Pol* 2007;suppl. 4:144-145.
29. Christensen DD. Changing the course of Alzheimer’s disease: anti-amyloid disease-modifying treatments on the horizon. *Prim Care Companion. J Clin Psychiatry* 2007;9:32-41.
30. Kubis AM, Janusz M. Choroba Alzheimer’a – nowe możliwości terapeutyczne oraz stosowane modele eksperymentalne. *Postępy Hig Med Dośw* 2008; 62: 372-92.
31. Omerovic M, Hampel H, Teipel SJ, Buerger K. Pharmacological treatment of Alzheimer’s dementia: State of the art and current dilemmas. *World J Biol Psychiatry* 2008; 9(1): 69-75.
32. Webber KM, Raina AK, Marlatt MW, Zhu X, Prat MI, Morelli L, Casadesus G, Perry G, Smith MA. The cell cycle in Alzheimer disease: a unique target for neuropharmacology. *Mech Ageing Develop* 2005;126(10):1019-25.
33. Morimoto RI. Stress, aging, and neurodegenerative disease. *N Eng J Med* 2006;355(21):2254-5

34. Morgan C, Colombres M, Nunez MT, Nibaldo C, Inestrosa NC. Structure and function of amyloid in Alzheimer's disease. *Progress in Neurobiol.* 2004;74:323-49.
35. Kowalska A. Hipoteza kaskady β -amyloidu – sekwencja wydarzeń prowadzących do neurodegeneracji w chorobie Alzheimer. *Neurol Neurochir Pol* 2004; 38, 5: 405-11.
36. Suh YH, Checler F. Amyloid precursor protein, presenilins, and alpha-synuclein: molecular pathogenesis and pharmacological applications in Alzheimer's disease. *Pharmacol Rev* 2002;54(3):469-525.
37. Ożarówski M, Kupsz J, Torlińska T. Biologiczne czynniki ryzyka choroby Alzheimer. *Nowiny Lek* 2006;75:193-8.
38. Styczyńska M, Strosznajder JB, Religa D, Chodakowska-Żebrowska M, Pfeffer A, Gabryelewicz T, Czapski GA, Kobryoe M, Karciauskas G, Barcikowska M. Association between genetic and environmental factors and the risk of Alzheimer's disease. *Folia Neuropathol* 2008; 46 (4): 249-54.
39. Liberski PP. Biologia molekularna chorób neurozwyrodnieniowych człowieka (choroba Alzheimer i choroba Parkinsona i alfa-synukleinopatie oraz dziedziczne angiopatie amyloidowe). *Aktualności Neurologiczne* 2001;1(1):50-69.
40. Jellinger KA. Neuropathological aspects of Alzheimer disease, Parkinson disease and frontotemporal dementia. *Neurodegenerative Dis* 2008;5:118-21.
41. Kar S, Slowikowski SP, Westaway D, Mount HT. Interactions between beta-amyloid and central cholinergic neurons: implications for Alzheimer's disease. *J Psychiatry Neurosci* 2004;29(6):427-41.
42. Abe E, Casamenti F, Giovannelli L, Scali C, Pepeu G. Administration of amyloid beta-peptides into the medial septum of rats decreases acetylcholine release from hippocampus in vivo. *Brain Res* 1994;636(1):162-4.
43. Kar S, Issa AM, Seto D, Auld DS, Auld DS, Collier B, Quirion R. Amyloid beta-peptide inhibits high-affinity choline uptake and acetylcholine release in rat hippocampal slices. *J Neurochem* 1998;70(5):2179-87.
44. Selkoe DJ. Alzheimer's disease: genes, proteins, and therapy. *Physiol Rev* 2001;81(2):741-66.
45. Troy CM. Mechanisms of neuronal degeneration: a final common pathway? *Adv Neurol* 1997;72:103-13.
46. El Khoury J, Luster AD. Mechanisms of microglia accumulation in Alzheimer's disease: therapeutic implications. *Trends in Pharmacol Sci* 2008;29(12):626-32.
47. Pratico D. Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease: a reappraisal. *Trends in Pharmacol Sci* 2008;29(12):609-15.
48. Weggen S, Rogers M, Eriksen J. NSAIDs: small molecules for prevention of Alzheimer's disease or precursors for future drug development? *Trends in Pharmacol Sci* 2007;28(10):536-43.
49. Giacobini E. Cholinesterase inhibitors: new roles and therapeutic alternatives. *Pharmacol Res* 2004;50:433-40.
50. Arendt T, Brückner MK, Lange M, Bigl V. Changes in acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase in Alzheimer's disease resemble embryonic development--a study of molecular forms. *Neurochem Int* 1992;21(3):381-96.
51. Gauthier S, Emre M, Farlow MR, Bullock R, Grosberg GT, Potkin SG. Strategies for continued successful treatment of Alzheimer's disease: switching cholinesterase inhibitors. *Curr Med Res Opin* 2003;19(8): 707-14.
52. Das UN. Acetylcholinesterase and butyrylcholinesterase As possible markers of low-grade systemic inflammation. *Med Sci Monit* 2007;13(12):214-21.
53. Schneider LJ. Treatment of Alzheimer's disease with cholinesterase inhibitors. *Clin. Geriatr. Med* 2001;17:337-9.
54. Greig NH, Utsuki T, Ingram DK, Wang Y, Pepeu G, Scali C, Yu QS, Mamczarz J, Holloway HW, Giordano T, Chen D, Furukawa K, Sambamurti K, Brossi A, Lahiri DK. Selective butyrylcholinesterase inhibition elevates brain acetylcholine, augments learning and lowers Alzheimer beta-amyloid peptide in rodent. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2005;102(47):17213-8.
55. Trinh N.-H., Hoblyn J., Mohanty S., Yaffe K. Efficacy of cholinesterase inhibitors in the treatment of neuropsychiatric symptoms and functional impairment in Alzheimer disease: a meta-analysis. *JAMA* 2003; 289: 210-16.
56. Birks J, Flicker L. Donepezil for mild cognitive impairment. *Cochrane Database of Systematic Reviews* 2006, Issue 3. Art. No.: CD006104. DOI: 10.1002/14651858.CD006104.
57. Sobów T, Kłoszewska I. Cholinesterase inhibitors in mild cognitive impairment: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Neurol Neurochir Pol* 2007; 41, 1: 13-21.

58. Sobów T, Kłoszewska I. Predictors of long-term treatment effect of rivastigmine in Alzheimer's disease: a role for β -amyloid plasma levels? *Neurol Neurochir Pol* 2009; 43, 6: 507-16.
59. Birks J (edit.). Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease (Review). *The Cochrane Library* 2008;2:1-80.
60. Baxter K (edit.). *Stockley's Drug Interactions Pocket Companion*. Pharmaceutical Press, London 2007.
61. Bachmann KA, Lewis JD, Fuller MA, Bonfiglio MF. *Drug Interactions Handbook*. A complete guide to cytochrome P450 enzyme substrates, inducers, and inhibitors. The new standard for drug and herbal interactions. 2nd Edition. LexiComp, Ohio 2004.
62. Heinrich M, Barnes J, Gibbons S, Williamson EM. *Fundamentals of pharmacognosy and phytotherapy*. Churchill Livingstone–Elsevier, Edinburgh 2004.
63. Dinc M, Pinar NM, Dogn S, Yildirimli S. Micromorphological studies of *Lallemantia L.* (Lamiaceae) species growing in Turkey. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica* 2009;51(1):45-54.
64. García-Palomero E, Muñoz P, Usan P, Garcia P, Delgado E, De Austria C, Valenzuela R, Rubio L, Medina M, Martínez A. Potent β -amyloid modulators. *Neurodegenerative Dis* 2008;5:153-6.
65. Ożarowski A. (red.). *Ziołolecznictwo. Poradnik dla lekarzy*. Warszawa, 1980, 231-2.
66. Komisja E monografia: *Rosmarini folium* (Liść rozmarynu). Bundesanzeiger Nr 50 z 13.03.1990 w *Rośliny Lecznicze w Fitoterapii*. Compendium roślin leczniczych uszeregowanych według zakresów stosowania na podstawie monografii opracowanych przez Komisję E Federalnego Urzędu Zdrowia RFN. Poznań 2000, 468.
67. European Medicines Agency. Committee on herbal medicinal products (HMPC) Community herbal monograph on *Rosmarinus officinalis L., folium*. London, 16 July 2009 Doc. Ref.: EMEA/HMPC/13633/2009
68. Takeda H, Tsuji M, Inazu M, Egashira T, Matsumiya T. Rosmarinic acid and caffeic acid produce antidepressive-like effect in the forced swimming test in mice. *Eur J Pharmacol* 2002;449:261-7.
69. Pereira P, Tysca D, Oliveira P, Brum LFilote da Silva, Picada JN, Ardenghi P. Neurobehavioral and genotoxic aspects of rosmarinic acid. *Pharmacol Res* 2005;52:199-203.
70. DerMarderosian A, Butler JA, Subramanian A, Reilly CH, Wickersham RM et al. The review of natural products. The most complete source of natural product information. *Rosemary (Rosmarinus officinalis L.)*. 5th edit., Wolters Kluwer Heath, Missouri 2008, pp. 1111-14.
71. Gonzalez-Trujano ME, E.I. Pena EI, Martinez AL, Moreno J, Guevara-Fefer P, Deciga-Campos M, Lopez-Munoz FJ. Evaluation of the antinociceptive effect of *Rosmarinus officinalis L.* using three different experimental models in rodents. *J Ethnopharmacol* 2007; 111:476-82.
72. Alkama T, Nitta A, Mizoguchi H, Itoh A, Nabeshima T. A natural scavenger of peroxynitrites, rosmarinic acid, protects against impairment of memory induced by Abeta₂₅₋₃₅. *Behav Brain Res* 2007;180:139-45.
73. Strzelecka H, Kowalski J (red.). *Encyklopedia zielarstwa i ziołolecznictwa*. Warszawa 2000.
74. Mahmoud AA, Al-Shihry SS, Son BW. Diterpenoid quinones from Rosemary (*Rosmarinus officinalis L.*). *Phytochem* 2005;66:1685-90.
75. Peng CH, Su JD, Chyau CC, Sung TY, Ho SS, Peng C, Peng RY. Supercritical fluid extracts of rosemary leaves exhibit potent anti-inflammation and anti-tumor effects. *Biosci Biotechnol Biochem* 2007;71(9):2223-32.
76. Petersen M, Simmond MSJ. Rosmarinic acid. *Phytochem* 2003;62:121-5.
77. Cheung S, Tai J. Anti-proliferative and antioxidant properties of rosemary *Rosmarinus officinalis*. *Oncol Rep* 2007;17(6):1525-31.
78. Wang W, Wu N, Zu YG, Fu YJ. Antioxidative activity of *Rosmarinus officinalis L.* essential oil compared to its main components. *Food Chem* 2008;108:1019-22.
79. Kim JH, Joo LeeBJ, Kim JH, Yu YS, Kim MY, Kim KW. Rosmarinic acid suppresses retinal neovascularization via cell cycle arrest with increase of p21WAF1 expression. *Eur J Pharmacol* 2009;615:150-4.
80. Ito N, Yabe T, Gamo Y, Nagai T, Oikawa T, Yamada H, Hanawa T. Rosmarinic acid from perillae herba produces an antidepressant-like effect in mice through cell proliferation in the hippocampus. *Biol Pharm Bull* 2008;31(7):1376-80.
81. Wang H, Provan GJ, Helliwell K. Determination of rosmarinic acid and caffeic acid in aromatic herbs by HPLC. *Food Chem* 2004;87:307-11.
82. Borkowski B, Skuza G, Rogoż Z. Porównawcze badania działania kwasów rozmarynowego i chlorogenowego na ośrodkowy układ nerwowy. *Herba Pol* 1999;XLV(3):192-7.
83. ESCOP monographs on the medicinal use of plant drugs. The Scientific Foundation for Herbal Medicinal Products. Second edition Completely revised and expanded. The European Scientific Cooperative on Phytotherapy. New York, Stuttgart 2003.

84. DerMarderosian A, Butler JA, Subramanian A, Reilly CH, Wickersham RM et al. The review of natural products. The most complete source of natural product information. Lemon Balm (*Melissa officinalis* L.). 5th edit., Wolters Kluwer Health, Missouri 2008, pp. 777-9.
85. Fecka I, Mazur A, Cisowski W. Kwas rozmarynowy, ważny składnik terapeutyczny niektórych surowców roślinnych. Postępy Fitoterapii 2002;1-2:20-25.
86. European Pharmacopoeia, 6th edit. Council of Europe, Strasbourg, 2007.
87. Johnston GAR, Hanrahan JR, Chebib M, Duke RK, Mewett KN. Modulation of Ionotropic GABA Receptors by Natural Products of Plant Origin. Adv Pharmacol 2006;54:1-32.
88. Wake G, Court J, Pickering A, Lewis R, Wilkins R, Perry E. CNS acetylcholine receptor activity in European medicinal plants traditionally used to improve failing memory. J Ethnopharmacol. 2000;69:05-114.
89. Soulimani R, Fleurentin J, Mortier F, Misslin R, Derrieu G, Pelt J. Neurotropic action of the hydroalcoholic extract of *Melissa officinalis* in the mouse. Planta Med 1991;57(2):105-9.
90. Akhondzadeh S, Noroozian M, Mohammadi M, Ohadinia S, Jamshidi AH, Khani M. *Melissa officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomised, placebo controlled trial. J Neurol Neurosurg Psychiatry 2003;74:863-6.
91. Akhondzadeh S, Maleki J. Herbal Medicines In The Treatment of Psychiatric and Neurological Disorders. Iran J Psychiatry 2006;1: 1-11.
92. Perry NS, Court G, Bidet N, Court J, Perry E. European herbs with cholinergic activities: potential in dementia therapy. Int J Geriatric Psychiatry 1996;11:1063-9.
93. Buchwald W. *Salvia miltiorrhiza* Bunge jako roślina lecznicza i źródło substancji farmakologicznie czynnych. Herba Pol 1999;XLV (2):120-8.
94. Buchwald W. Micropropagation and phytochemical evaluation of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Herba Pol 1999;XLV(4):334-7.
95. Pharmacopoeia Commission of People's Republic of China, "Pharmacopoeia of the People's Republic of China," 2000 ed., Chemical Industry Press, Beijing 2000, pp. 57-8.
96. Tang MK, Ren DC, Zhang JT, Du GH. Effect of salvianolic acids from Radix *Salviae miltiorrhizae* on regional cerebral blood flow and platelet aggregation in rats. Phytomed 2002;9(5):405-9.
97. Koo BS, Kwon TS, Kim CH. *Salviae miltiorrhizae* radix inhibits superoxide generation by activated rat microglia and mimics the action of amphetamine on in vitro rat striatal dopamine release. Neurochem Res 2004;29(10):1837-45.
98. Mei Z, Zhang F, Tao L, Zheng W, Cao Y, Wang Z, Tang S, Le K, Chen S, Pi R, Liu P. Cryptotanshinone, a compound from *Salvia miltiorrhiza* modulates amyloid precursor protein metabolism and attenuates beta-amyloid deposition through upregulating alfa-secretase *in vivo* and *in vitro*. Neurosci Lett 2009;452:90-95.
99. Górska-Paukszta M, Krajewska-Patan A, Mścisz A, Dreger M, Łowicka A, Buchwald W, Mrozikiewicz PM. Qualitative and quantitative investigations of polyphenolic compound in callus tissue of *Salvia miltiorrhiza* Bunge. Herba Pol 2005;51 suppl. 1:249-51.
100. Hu P, Luo G, Zhao Z, Jiang Z. Quality assessment of radix *Salviae miltiorrhizae*. Chem. Pharm. Bull 2005;53(5):481-6.
101. Chen H, Chen F, Zhang L, Song J. Production of rosmarinic acid and lithospermic acid B in Ti transformed *Salvia miltiorrhiza* cell suspension cultures. Process Biochem 1999;34:777-784.
102. Yin GW, Li YM, Shan HJ, Wei W, Zhu DY, Du WH. Interactions of acetylcholinesterase with salvianolic acid B and rosmarinic acid from *Salvia miltiorrhiza* water extract investigated by NMR relaxation rate. Chinese Chem Lett 2008;19:747-51.
103. Pan X, Niu G, Liu H. Microwave-assisted extraction of tanshinones from *Salvia miltiorrhiza* Bunge with analysis by high-performance liquid chromatography J Chromatography A. 2001;922:371-5.
104. Kim DH, Jeon SJ, Jung JW, Lee S, Yoon BH, Shin BY, Son KH, Cheong JH, Kin YS, Kang SS, Ko KH, Ryu JH. Tanshinone congeners improve memory impairments induced by scopolamine on passive avoidance tasks in mice. Eur J Pharmacol 2007;574(2-3):140-7.
105. Li LX, Dai JP, Ru LQ, Yin GFu, Zhao B. Effects of tanshinone on neuropathological changes induced by amyloid beta-peptide1-40 injection in rat hippocampus. Acta Pharmacol Sin 2004; 25(7):861-8.
106. Durairajan SSK, Yuan Q, Xie L, Chan WS, Kum WF, Koo I, Liu Ch, Song Y, Huang JD, Klein WL, Li M. Salvianolic acid B inhibits Ab fibril formation and disaggregates preformed fibrils and protects against Ab-induced cytotoxicity. Neurochem International 2008;52:741-50.

NEUROACTIVE COMPOUNDS FROM MEDICINAL PLANTS OF THE LAMIACEAE FAMILY
SHOWING POTENTIALLY BENEFICIAL ACTIVITY IN TREATMENT OF ALZHEIMER'S DISEASE
ABSTRACT

MARCIN OŻAROWSKI^{1,2}, PRZEMYSŁAW Ł. MIKOŁAJCZAK^{1,3}, TERESA BOBKIEWICZ-KOZŁOWSKA³, RADOSŁAW KUJAWSKI¹, PRZEMYSŁAW M. MROZIKIEWICZ^{1,4}

¹ Department of Pharmacology and Biotechnology
The Branch of Medicinal Plants of the Institute of Natural Fibres and Medicinal Plants
Libelta 27
61-707 Poznań, Poland

² Chair and Department of Pharmaceutical Botany and Plant Biotechnology
Karol Marcinkowski University of Medical Sciences
Św. Marii Magdaleny 14
61-861 Poznań, Poland

³ Chair and Department of Pharmacology
Karol Marcinkowski University of Medical Sciences
Rokietnicka 5a
60-806 Poznań, Poland

⁴ Laboratory of Experimental Pharmacogenetics
Chair and Department of Clinical Pharmacy and Biopharmacy
Św. Marii Magdaleny 14
61-961 Poznań, Poland

Summary

Alzheimer's disease (AD) is an age-related, irreversible neurodegenerative disorder with progressive cognitive dysfunction, mainly characterized by presence of senile plaques, neurofibrillary tangles and deficit in cholinergic neurotransmission (acetylcholine) in the brain. Inhibition of acetylcholinesterase (AChE) activity is considered to be a promising strategy for the treatment of neurological disorders, not only for AD, but also for other types of dementia (dementia with Lewy Bodies, Down Syndrome, vascular dementia, dementia due to Parkinson's disease), ataxia and myasthenia gravis. There are few medicinal products: tacrine, donepezil, rivastigmine and galantamine for treatment of cognitive dysfunction and memory loss associated with AD but these chemical compounds have been reported to have their many adverse effects. New studies show that both enzymes AChE and butyrylcholinesterase (BuChE) are involved in the metabolism of acetylcholine in the brain and dual inhibition of these enzyme activities may increase the treatment efficacy. Moreover, it was paradoxically shown that in the brain of AD patients BuChE activity can be increased in contrast to the progressively decreased AChE activity. There is an increasing interest and demand in the anti-neurodegenerative medicinal products. Medicinal plant

drug discovery continues to provide an important source of new natural biologically active compounds for treatment of Alzheimer's disease. Our review article aims to provide a literature survey of selected plants from Lamiaceae family (*Rosmarinus officinalis*, *Salvia miltiorrhiza*, *Melissa officinalis*) that have been tested in different *in vitro* and *in vivo* models for Alzheimer's disease. Several studies showed that extracts from plants of the Lamiaceae family are active not only in inhibition of AChE or β -amyloid deposits inhibition *in vitro* but also may have anti-BuChE activity. Moreover Lamiaceae plant extracts expressed the antioxidant, cytoprotective, anti-apoptotic and antiinflammatory activities. The most important bio-active compounds in these plants are rosmarinic acid (as chemotaxonomic marker), flavonoids (e.g. apigenin), terpenoids (e.g. citral, citronellal, tanshinones).

Key words: Alzheimer's disease, AChE i BuChE inhibitors, plant extracts, *Rosmarinus officinalis*, *Salvia miltiorrhiza*, *Melissa officinalis*