

UNIVERZITA PARDUBICE
FAKULTA CHEMICKO-TECHNOLOGICKÁ

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2022

Denisa Kuželová

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická

Alkaloidy a jejich potenciál v léčbě neurodegenerativních onemocnění

Bakalářská práce

Univerzita Pardubice
Fakulta chemicko-technologická
Akademický rok: 2021/2022

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Denisa Kuželová**
Osobní číslo: **C19255**
Studijní program: **B3912 Speciální chemicko-biologické obory**
Studijní obor: **Zdravotní laborant**
Téma práce: **Alkaloidy a jejich potenciál v léčbě neurodegenerativních onemocnění**
Téma práce anglicky: **Alkaloids As Potencial Therapeutic Agents For Neurodegenerative Diseases**
Zadávající katedra: **Katedra biologických a biochemických věd**

Zásady pro vypracování

Vypracujte literární rešerši obsahující:

1. Vlastnosti, rozdělení, strukturu a výskyt alkaloidů.
2. Charakteristiku a etiopatogenezi základních neurodegenerativních onemocnění.
3. Alkaloidy využitelné v léčbě neurodegenerativních onemocnění a mechanismus jejich působení.
4. Zhodnocení terapeutického potenciálu alkaloidů pro léčbu neurodegenerativních onemocnění.

Rozsah pracovní zprávy: **25 s.**
Rozsah grafických prací: **dle potřeby**
Forma zpracování bakalářské práce: **tištěná**

Seznam doporučené literatury:

Podle pokynů vedoucího bakalářské práce.

Vedoucí bakalářské práce: **RNDr. Karel Královec, Ph.D.**
Katedra biologických a biochemických věd

Datum zadání bakalářské práce: **18. prosince 2021**

Termín odevzdání bakalářské práce: **1. července 2022**

prof. Ing. Petr Kalenda, CSc. v.r.
děkan

L.S.

prof. Mgr. Roman Kandár, Ph.D. v.r.
vedoucí katedry

V Pardubicích dne 28. února 2022

Prohlašuji:

Práci s názvem „**Alkaloidy a jejich potenciál v léčbě neurodegenerativních onemocnění**“ jsem vypracovala samostatně. Veškeré literární prameny a informace, které jsem v práci využila, jsou uvedeny v seznamu použité literatury.

Byla jsem seznámena s tím, že se na moji práci vztahují práva a povinnosti vyplývající ze zákona č. 121/2000 Sb., autorský zákon, zejména se skutečností, že Univerzita Pardubice má právo na uzavření licenční smlouvy o užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona, a s tím, že pokud dojde k užití této práce mnou nebo bude poskytnuta licence o užití jinému subjektu, je Univerzita Pardubice oprávněna ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložila, a to podle okolností až do jejich skutečné výše.

Dále beru na vědomí, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a směrnicí Univerzity Pardubice č. 7/2019 Pravidla pro odevzdávání, zveřejňování a formální úpravu závěrečných prací, ve znění pozdějších dodatků, bude práce zveřejněna prostřednictvím Digitální knihovny Univerzity Pardubice.

V Pardubicích dne 15. 6. 2022

Denisa Kuželová

PODĚKOVÁNÍ

Touto cestou bych chtěla poděkovat vedoucímu mé bakalářské práce RNDr. Karlovi Královcovi, Ph.D. za cenné rady, odborné vedení a trpělivost, které mi poskytl při řešení a vypracování daného tématu. Poděkování patří také i mé rodině a přátelům, kteří mě po celou dobu studia plně podporovali.

ANOTACE

Tato bakalářská práce je zaměřena na alkaloidy, které mají potenciál v léčbě neurodegenerativních onemocnění. První část práce se zabývá základní charakteristikou, rozdělením a strukturou alkaloidů. Ve druhé části je uvedena etiopatogeneze a popis jednotlivých neurodegenerativních onemocnění, jako je Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc, Huntingtonova nemoc, spinocerebelární ataxie, amyotrofická laterální skleróza a Friedreichova ataxie. Třetí část práce pak popisuje základní mechanismy terapeutického působení alkaloidů. V předposlední části jsou uvedeny konkrétní alkaloidy, které mají potenciál v léčbě těchto onemocnění. Poslední část je věnována zhodnocení terapeutického potenciálu alkaloidů v léčbě neurodegenerativních onemocnění.

KLÍČOVÁ SLOVA

Alkaloidy, neurodegenerativní onemocnění, účinky alkaloidů, léčba, potenciál

TITLE

Alkaloids as potential therapeutic agents for neurodegenerative diseases

ANNOTATION

This bachelor thesis is focused on alkaloids that have potential in the treatment of neurodegenerative diseases. The first part deals with the basic characteristics, distribution and structure of alkaloids. The second part presents the etiopathogenesis and description of individual neurodegenerative diseases, such as Alzheimer's disease, Parkinson's disease, Huntington's disease, spinocerebellar ataxia, amyotrophic lateral sclerosis and Friedreich's ataxia. The third part describes the basic mechanisms of therapeutic action of alkaloids. The penultimate part lists specific alkaloids that could be useful in the treatment of these diseases. The last part is devoted to the evaluation of the therapeutic potential of alkaloids in the treatment of neurodegenerative diseases.

KEYWORDS

Alkaloids, neurodegenerative diseases, effects of alkaloids, treatment, potential

OBSAH

ÚVOD.....	13
1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA ALKALOIDŮ.....	14
1.1 Vlastnosti a struktura alkaloidů.....	14
1.2 Výskyt a význam alkaloidů.....	15
1.3 Rozdělení alkaloidů.....	15
1.3.1 Fenyalkylaminy	16
1.3.2 Kolchicinové alkaloidy	16
1.3.3 Isochinolinové alkaloidy.....	17
1.3.4 Indolové alkaloidy	18
1.3.5 Chinolinové alkaloidy.....	18
1.3.6 Tropanové alkaloidy	19
1.3.7 Terpenické a steroidní alkaloidy.....	19
2 ZÁKLADNÍ NEURODEGENERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ	21
2.1 Alzheimerova nemoc	22
2.2 Parkinsonova nemoc	24
2.3 Huntingtonova nemoc	26
2.4 Spinocerebelární ataxie	27
2.5 Amyotrofická laterální skleróza.....	29
2.6 Friedreichova ataxie	29
3 ZÁKLADNÍ MECHANISMY TERAPEUTICKÉHO PŮSOBENÍ ALKALOIDŮ	31
3.1 Inhibiční aktivita AChE/BuChE	31
3.2 Antioxidační aktivita.....	31
3.3 Antiinflamační aktivita.....	33
4 ALKALOIDY A JEJICH VYUŽITÍ V LÉČBĚ NEURODEGENERATIVNÍCH ONEMOCNĚNÍ.....	34
4.1 Alkaloidy v léčbě Alzheimerovy nemoci.....	34
4.1.1 Galanthamin.....	34
4.1.2 Huperzin A.....	35
4.1.3 Alkaloidy rostliny Uncaria rhynchophylla	37
4.1.4 Berberin	38
4.1.5 Tetrandrin.....	39
4.1.6 Sinomenin	39
4.1.7 Aloperin	40
4.2 Alkaloidy v léčbě Parkinsonovy nemoci.....	40

4.2.1	Piperin.....	41
4.3	Alkaloidy v léčbě ostatních neurodegenerativních onemocnění.....	42
4.3.1	Konofylin.....	42
4.3.2	Sekurinin.....	43
4.3.3	Tetrahydropalmatin.....	44
4.3.4	Oxymatrin.....	45
4.3.5	Harmin.....	45
4.3.6	Kofein.....	46
5	ZHODNOCENÍ TERAPEUTICKÉHO POTENCIÁLU ALKALOIDŮ PRO LÉČBU NEURODEGENERATIVNÍCH ONEMOCNĚNÍ.....	47
6	ZÁVĚR.....	48
7	POUŽITÁ LITERATURA.....	49

SEZNAM ILUSTRACÍ A TABULEK

Obrázek 1: Chemická struktura efedrinu.....	16
Obrázek 2: Chemická struktura papaverinu	17
Obrázek 3: Chemická struktura vinkaminu.....	18
Obrázek 4: Chemická struktura atropinu.....	19
Obrázek 5: Řez zdravého mozku a mozku s těžkou formou Alzheimerovy nemoci	23
Obrázek 6: Imunohistochemický průkaz Lewyho tělísek a neuritů v substantia nigra	25
Obrázek 7: Těžká atrofie mozečku a parietálního kortexu.....	28
Obrázek 8: Mechanismus alkaloidů v léčbě neurodegenerativních poruch (zvýšení ↑, inhibice ⊥).....	32
Obrázek 9: Mechanismus alkaloidů v léčbě zánětu (podpora ↑, inhibice ⊥)	33
Obrázek 10: Chemická struktura galanthaminu	35
Obrázek 11: Huperzin A.....	37
Obrázek 12: Chemická struktura berberinu.....	39
Obrázek 13: Chemická struktura piperinu.....	42
Obrázek 14: Chemická struktura konofylinu	43
Obrázek 15: Chemická struktura oxymatrinu.....	45
Obrázek 16: Chemická struktura kofeinu.....	46

SEZNAM ZKRATEK A ZNAČEK

DNA	deoxyribonukleová kyselina
RNA	ribonukleová kyselina
HIV	virus lidské imunodeficiency, Human Immunodeficiency Virus
CT	výpočetní tomografie
SPECT	jednofotonová emisní počítačová tomografie, Single Photon Emission Computed Tomography
AD	Alzheimerova choroba
IgA	imunoglobulin typu A
^{99m} Tc-HMPAO	hexamethylpropylenaminoxim
^{99m} Tc-EDC	ethyl cysteinat dimer
PN	Parkinsonova nemoc
L-DOPA	L-3,4-dihydroxyfenylalanin, levodopa
MAO	inhibitor monoaminoxidázy
COMT	inhibitor katechol-O-methyltransferázy
CNS	centrální nervový systém
HD	Huntingtonova choroba
HTT	Huntingtin
SCA	spinocerebelární ataxie
ALS	amyotrofická laterální skleróza
TDP-43	TAR DNA – binding protein 43
FRDA	Friedreichova ataxie
GAA	triplet guanin – adenin – adenin
α 7nAChR	alfa-7-nikotinový-acetylcholinový receptor

$\alpha 4\beta 2nAChR$	alfa-4-beta-2-nikotinový-acetylcholinový receptor
AChE	acetylcholinesteráza
BuChE	butyrylcholinesteráza
UR	Uncaria rhynchophylla
A β 25-35	amyloid beta 25-35
COMT	inhibitor katechol-o-methyltransferáza
6-OHDA	6-hydroxydopamin
mTOR	proteinová kináza mammalian Target Of Rapamycin
IL-1 β	interleukin-1 β
IL-6	interleukin-6
TNF- α	Tumor Necrosis Factor α ; tumor nekrotizující faktor-alfa
MMP	mitochondriální membránový potenciál
ATP	adenosintrifosfát
ROS	Reactive Oxygen Species, Reaktivní Formy Kyslíku
NF- κ B	nukleární (jaderný) faktor kappa B
ACh	acetylcholin
ACh-R	acetylcholinový receptor
NMDA-R	N-methyl-D-aspartátový receptor
SOD	superoxid dismutáza
GSH	glutathion
UPS	ubikvitin-proteazomový systém
RER	drsné endoplazmatické retikulum
TLRs	toll-like receptory
IKK	I κ B kináza

MAPK	mitogenem aktivovaná proteinkináza
JNK	c-Jun N-terminální kináza
ERK	kináza regulovaná extracelulárním signálem
AP-1	aktivační protein-1
PEG2	prostaglandin E2
PGH2	prostaglandin H2
COX-2	cyklooxygenáza-2
iNOS	indukovatelná syntáza oxidu dusnatého
NO	oxid dusnatý

ÚVOD

Tématem této bakalářské práce jsou alkaloidy a jejich potenciál v léčbě neurodegenerativních onemocnění. Nejprve je zde zpracovaná kapitola o alkaloidech, kde je uvedena jejich základní charakteristika a popis. Další část bakalářské práce je zaměřena na konkrétní neurodegenerativní onemocnění. Detailně je zde popsána Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc, Huntingtonova nemoc, spinocerebelární ataxie, amyotrofická laterální skleróza a Friedreichova ataxie. Následuje kapitola, která se věnuje mechanismům terapeutického působení alkaloidů u neurodegenerativních onemocnění. V poslední části práce jsou pak popsány konkrétní alkaloidy, které mají vysoký potenciál v terapii neurodegenerativních onemocnění.

Cílem této bakalářské práce je shrnout současné poznatky o neurodegenerativních onemocněních a zároveň podat přehled o alkaloidech využitelných v terapii těchto onemocnění a mechanismu jejich působení.

1 ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA ALKALOIDŮ

1.1 Vlastnosti a struktura alkaloidů

Alkaloidy jsou přírodní organické látky, které obsahují dusík v heterocyklickém kruhu a mají výrazné, specifické účinky. Pojmenování „alkaloidy“ pochází od alkalické (zásadité) povahy těchto látek a díky tomu mají schopnost tvořit soli s kyselinami. K alkaloidům můžeme řadit i takové látky, kterým některé z těchto vlastností chybí. Patří sem některé aminy s dusíkem v alifatickém řetězci, jejichž dusík tedy není vázán heterocyklicky. Jedná se například o efedrin, kapsaicin nebo kolchicin. Rostliny obsahující alkaloidy a jejich extrakty jsou využívány lidmi po celou řadu let, zejména pro svoje stimulační, terapeutické, tak i jedovaté vlastnosti. [1, 2]

Obvykle jsou alkaloidy odvozené z různých modifikací aminokyselin. Alkaloidy ve formě volných bází mají povahu lipofilní a ve vodě jsou málo rozpustné. Většinou se jedná o bezbarvé, pevné látky. Existují i výjimky, kde například nikotin, koniin nebo spartein jsou tekutiny a kde chelidonin nebo berberin jsou zbarvené. Soli alkaloidů jsou v nepolárních rozpouštědlech nerozpustné, a naopak ve vodě jsou rozpustné. Tato rozdílná rozpustnost jak u bází alkaloidů, tak u jejich solí umožňuje jejich dělení od ostatních obsahových látek extrakcí různě polárními rozpouštědly za různého pH. [1, 2]

Alkaloidy se mohou také nacházet ve formě N-oxidů. Předpokládá se, že N-oxidy mohou být jejich transportní formou a mohou se zapojovat i do dalších metabolických pochodů v buňce. [1]

Chemicky příbuzné alkaloidy mohou mít díky značné rozmanitosti jejich struktury odlišné účinky, jako například atropin-kokain, a naopak chemicky rozdílné alkaloidy mohou mít podobný účinek, například pilokarpin-muskarin. Alkaloidy mají celou řadu účinků a můžeme je využít jako analgetikum nebo narkotikum, sem můžeme řadit morfin, opium. Dále se mohou uplatnit jako antiparazitika, chemoterapeutika (arekové nebo chinové alkaloidy), jako antiarytmika (spartein, chinidin) nebo jako prostředky, které ovlivňují dýchání a krevní tlak (efedrin, veratrové alkaloidy). Většina alkaloidů má biologickou aktivitu a obvykle jsou aktivní složkou různých léčivých rostlin. [1, 3]

1.2 Výskyt a význam alkaloidů

Alkaloidy se vyskytují hlavně ve vyšších rostlinách, i když byly prokázány i v kaprad'orostech u plavuní a přesliček. U semenných rostlin převažují jako zdroje alkaloidů dvouděložné rostliny nad jednoděložnými. Odhaduje se, že zhruba 10-20 % všech rostlin obsahuje alkaloidy. U živočichů se vyskytují jen vzácně, jednak to mohou být strukturální modifikace látek, které jsou přijímané rostlinnou potravou nebo je organismus syntetizuje z jednoduchých prekursorů, jako například v exkretech žláz mloka. [1]

Význam alkaloidů pro rostlinu není do teď pořádně vysvětlen. Alkaloidy se nejvíce ukládají v pletivech, kde vykazují aktivní růst. Jsou většinou uloženy ve formě hydrofilních solí s organickými kyselinami. Místo jejich ukládání není ale vždy stejné s místem jejich tvorby. Jako příklad lze uvést nikotin, který se syntetizuje v kořenech a transportuje se do listů, kde se hromadí. [1]

Odhaduje se, že kolem 5 miliard lidí na světě používalo léčivé látky především na rostlinné bázi, z nichž většina patří mezi alkaloidy. Je dobré zmínit určité znepokojení z důvodu toho, že dochází k poškozování životního prostředí nebo k odlesňování, a to může vést k zániku stovek léčivých rostlin, ať už těch, které známe nebo těch, které ještě nebyly objeveny. [2]

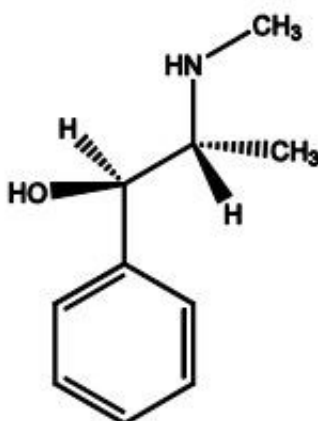
Samotná chemie alkaloidů sahá až do 19. století, kde došlo k první izolaci čistého, krystalického morfinu z opia. Bylo to velmi důležité pro úlevu od bolesti, ale v opačném případě to mohlo vést ke smrtelnému předávkování. [2]

1.3 Rozdělení alkaloidů

Je známo asi 10 000 přírodních alkaloidů. K jejich rozdělení se používá několik systémů a v některých literaturách se od sebe mohou lišit. Můžeme je dělit podle struktury na 3 základní skupiny, a to jsou protoalkaloidy (dusík není vázán heterocyklicky), vlastní alkaloidy (vážou se s heterocyklickým dusíkem) a pseudoalkaloidy (biosyntéza nevychází z aminokyselin, ale obsahují v molekule dusík). Dále bude základní přehled jednotlivých podskupin. [1, 4]

1.3.1 Fenylalkylaminy

Řadíme je mezi protoalkaloidy, tedy mezi neheterocyklické alkaloidy. Můžeme je rozdělit do tří skupin. První skupinou jsou deriváty benzylaminu a zde si můžeme uvést jako příklad kapsaicin. Kapsaicin (vanillylamid kyseliny isodecenové) se většinou nepočítá mezi alkaloidy, ale mezi fenoly a nachází se v paprikách rodu *Capsicum*. Působí jako agonista vaniloidního receptoru TRPV1, obsaženého v nervových zakončeních a zprostředkovává tedy vnímání tepla a bolesti. Může na kůži vyvolávat pocit tepla a překrvení nebo také pocit pálení při jeho aplikaci, protože dočasně vyřadí z funkce periferní receptory na různě dlouhou dobu. Druhou skupinou jsou deriváty β -fenylethylaminu, kam můžeme zařadit meskalin. Jeho prekurzorem je dopamin. Třetí a poslední skupinou jsou deriváty β -aminofenylpropanu, kam řadíme například efedrin. Působí jako alkaloid chvojníkovitých keřů rodu *Ephedra* a získává se z jejich větviček, které se kvůli vysokému obsahu tohoto alkaloidu sbírají hlavně na podzim. Efedrin se může používat jako antiastmatikum nebo sympatomimetikum. [1]



Obrázek 1: Chemická struktura efedrinu [1]

1.3.2 Kolchicinové alkaloidy

Patří mezi protoalkaloidy, tedy neheterocyklické alkaloidy. Tvoří se z jedné molekuly tyrosinu a z jedné molekuly fenylalaninu tedy kyseliny skořicové. Z fenylalaninu pochází kruh A a uhlíkové atomy 5, 6, 7. Z tyrosinu vzniká tropolonová část (kruh C). [1]

Kolchicin se izoluje hlavně ze semen rostliny *Colchicum autumnale* (ocún jesenní). Tento alkaloid se nachází v celé rostlině, ale už pouze v malém množství. Tato rostlina patří mezi vytrvalé byliny a roste převážně na vlhkých loukách. Její semena se sbírají zejména v letních měsících, a to z důvodu, že v tuto dobu zraje a obsah alkaloidů je nejvyšší. Inhibuje leukocyty, fagocytózu a je schopný potlačit zánět a bolest. Kolchicin slouží k profylaxi dny

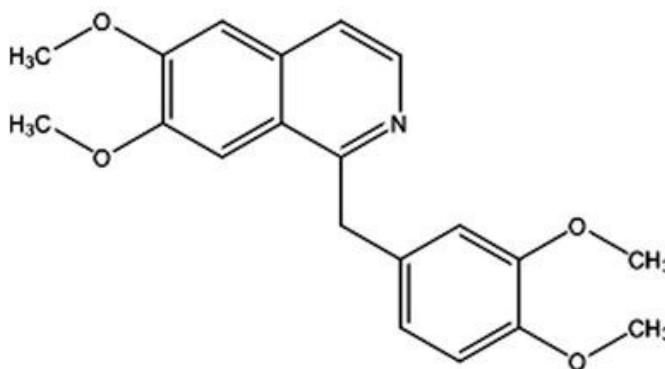
a následně k její léčbě. Na živočišné buňky působí opačně než na rostlinné, tedy toxicky, a to zabraňuje jeho použití jako cytostatika. [1]

1.3.3 Isochinolinové alkaloidy

Jedná se o největší skupinu alkaloidů. Jsou tvořeny základním jádrem isochinolinu nebo tetrahydroisochinolinu. Můžeme je rozdělit do podskupin, podle připojení funkční skupiny. Patří tam například benzyloisochinolinové, aporfinové, protoberberinové, protopinové, emetinové, benzo[c]fenantridinové, morfinové alkaloidy. Doposud objevené isochinolinové alkaloidy pochází hlavně z rostlin jako jsou např. *Alangiaceae*, *Annonaceae*, *Berberidaceae*, *Fabaceae*, *Papaveraceae*, *Ranunculaceae* a z dalších rostlin. [3, 5]

Tato skupina alkaloidů má různé biochemické vlastnosti, reaguje s polymorfními strukturami nukleových kyselin a inhibuje aktivitu některých enzymů, hlavně acetylcholinesterázy. Některé isochinolinové alkaloidy pomáhají při léčbě plicních onemocnění jako například na kašel, astma nebo plicní fibrózu. Termodynamické a spektroskopické studie nám ukazují, že berberin je schopný se vázat na dvojitou a trojitou helikální strukturu DNA a RNA. [5, 6]

Mák setý (*Papaver somniferum*) se považuje za jeden z nejstarších rostlinných zdrojů léčivých isochinolinů na světě. Můžeme z něj detekovat různé opiátové alkaloidy jako jsou morfin, kodein, noskapin a papaverin. Z opia bylo izolováno více jak 40 isochinolinových alkaloidů. Opium je zaschlá, mléčná šťáva z nezralých plodů máku setého. K jejímu získání se musí nařezávat tobolky (za 1-3 týdny po opadání plátků, kdy tobolky mění barvu z modrozelené na žlutozelenou). Šťáva, která vytéká je nejprve bílá a poté houstne a hnědne. Z 1 tobolky se získá až 0,02 g opia. Opium obsahuje kyselinu mekonovou. Používá se jednak jako analgetikum, ale hlavně jako antidiarrhoikum. [1, 5]



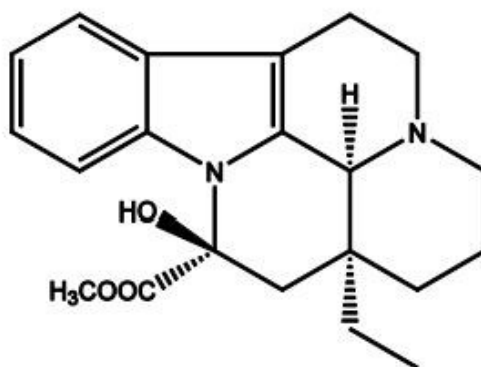
Obrázek 2: Chemická struktura papaverinu [7]

1.3.4 Indolové alkaloidy

Jedná se o alkaloidy odvozené od aminokyseliny tryptofanu. Zahrnují takovou skupinu sloučenin, která představuje kolem 1500 přírodních produktů. Většina indolových alkaloidů se používala jako léčiva. Můžeme je nalézt v rostlinách jako jsou *Loganiaceae*, *Apocynaceae*, *Rubiaceae* a *Nyssaceae*. [1, 8]

Patří sem například vinkamín, který slouží jako podpora krevního oběhu v mozku a používá se také k léčbě mrtvice v některých evropských zemích. Dalším alkaloidem z této skupiny je vinblastin. U této sloučeniny bylo jako první sledováno, že pomáhá léčit Hodgkinovu nemoc, tedy formu lymfoidní rakoviny. Může mít ale i negativní účinky, jako velké alergické reakce, krev v moči, zvracení, bolest břicha a hlavy, vředy. Tento alkaloid produkuje barvínek Madagaskarský. Mezi ostatní důležité alkaloidy z této skupiny řadíme bufotenin, psilocin, harmin, námelové alkaloidy. [1, 4, 8]

Indolové alkaloidy mají klinický význam pro různé obory. Zmiňovaný vinblastin, ale také i vinkristin se v současnosti používá proti rakovině, reserpin proti hypertenzi, ajmalin proti arytmiím, atevirdin proti HIV. [8]



Obrázek 3: Chemická struktura vinkaminu [1]

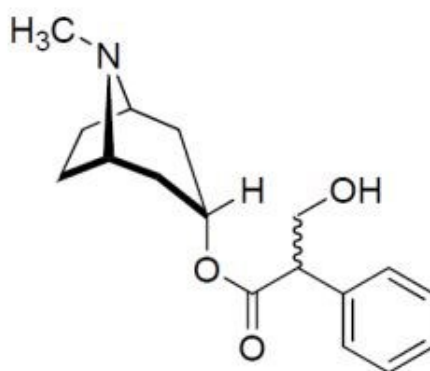
1.3.5 Chinolinové alkaloidy

Tyto alkaloidy se odvozují od indolových prekurzorů a jsou účinné proti kožní leishmanióze. Tryptofan a monoterpenická jednotka se zabudovává do molekuly chininu. Chinin je alkaloid, který se získává z usušené kůry větví nebo kmenů chinovníků, například chinovníku červeného *Cinchona pubescens* nebo chinovníku kalisájového *Cinchona calisaya*. Tyto stromy rostou hlavně v tropických oblastech jako v Jižní Americe, Mexiku, Indii nebo Bolívii. Nejvyšší množství těchto alkaloidů se nachází u takových stromů, které jsou staré 6 až 9 let. Jedná se o protoplazmatický jed. Působí jako analgetikum, tlumí

dráždivost srdce a je schopný likvidovat původce malárie. Díky své poměrně velké hořkosti se používá jako stomachikum nebo tonikum. [1, 9]

1.3.6 Tropanové alkaloidy

Vyskytují se především ve dvou rostlinných čeledích, Solanaceae a Erythroxylonaceae. Mezi tropanové alkaloidy řadíme atropin, který je obsažen v usušených listech rulíku zlomocného (*Atropa belladonna* L.). Patří mezi parasympatolytika a působí jako antiemetikum, spasmolytikum. Dále do této skupiny patří hyoscyamin, skopolamin a oba jsou obsaženy v durmanu obecném (*Datura stramonium*) a blínu černém (*Hyoscyamus niger* L.). Vyšší množství skopolaminu může působit sedativně. Dalším alkaloidem je kokain, který je obsažen v rostlině rudodřev koka (*Erythroxylum coca*). Nejvíce se tato rostlina pěstuje v Bolívii a Peru, právě tady se ještě dnes listy žvýkají. Buď se žvýkají samotné nebo se pro uvolnění alkaloidů smíchají s vápnem nebo popelem. Lidé tím zaženou pocit hladu, mají lepší náladu a zvýší se výkonost svalů. Kokain se izoluje hlavně z listů rostliny. Působí jako anestetikum a má také vazokonstrikční účinky. Patří mezi omamné látky, a právě proto je velmi často zneužíván. [1, 4]



Obrázek 4: Chemická struktura atropinu [10]

1.3.7 Terpenické a steroidní alkaloidy

Označujeme jako pseudoalkaloidy, protože biosynteticky se liší hlavně tím, že uhlíkový skelet vzniká z kyseliny mevalonové a nikoli z aminokyselin. Pouze atom dusíku je dodáván aminokyselinou. [1]

Je znám výskyt asi 150 terpenických alkaloidů. Můžeme je rozdělit na hemiterpenické, monoterpenické, seskviterpenické a diterpenické. Mezi hemiterpenické alkaloidy patří β -methylpyrrolin z rostliny *Piper nigrum* a mezi monoterpenické alkaloidy patří skytanthin z čeledi *Apocynaceae*. Seskviterpenickým alkaloidem je nupharamin, který se vyskytuje ve stulíku žlutém (*Nuphar luteum*). Poslední skupinou jsou diterpenické alkaloidy, které se vyskytují v rostlinách rodu *Delphinium* a *Aconitum*. [1, 4]

Steroidní alkaloidy mají cyklopentanoperhydrofenantrenovou strukturu. Tvoří je jeden nebo dva atomy dusíku. Můžeme je nalézt v čeledích jako jsou *Liliaceae*, *Solanaceae*, *Buxaceae* a *Apocynaceae*. Byly také nalezeny u živočichů. V kolumbijské žábě *Phyllobates aurotaenia* byl objevený velmi jedovatý pregnanový derivát batrachotoxin. Využívá se jako součást šípových jedů. [1]

2 ZÁKLADNÍ NEURODEGENERATIVNÍ ONEMOCNĚNÍ

Neurodegenerativní onemocnění lze charakterizovat jako stav, při kterém dochází k postupnému zániku specifických skupin neuronů a poté to vede k dysfunkci nervového systému. Základem patofyziologie těchto onemocnění je ukládání určitého proteinu do mozkové tkáně. Mezi tyto proteiny patří například tau protein nebo alfa-synuklein. Tau protein je rozpustný a stabilní fosfoprotein a má čtyři oblasti, a to vazbu na mikrotubuly, prolin doménu, N-konec a C-terminální projekční oblast. Má 6 izoform, které se tvoří sestřihem N-konců. Dysfunkce tohoto proteinu je spojená s nestabilitou mikrotubulů. Bylo prokázáno, že methylenová modř zabraňuje agregaci proteinu tau. Různé patogenetické vlivy, kam můžeme řadit apoptózu (programovaná buněčná smrt), patologické proteinové agregáty, produkci volných kyslíkových radikálů a genetické pozadí vedou ke vzniku neurodegenerativních onemocnění. [11, 12, 13, 14]

Mezi neurodegenerativní, heterogenní onemocnění patří například Alzheimerova nemoc, Huntingtonova nemoc, Parkinsonova nemoc, spinocerebelární ataxie, amyotrofická laterální skleróza. U těchto onemocnění dochází k progresivnímu zhoršování centrálního nervového systému nebo i periferního nervového systému. Jako klinické projevy řadíme poruchy paměti, myšlení, úsudku, kognitivních vlastností, řeči, zhoršenou schopnost učení. U problémů s pamětí se pokaždé testuje paměť epizodická, tedy jestli si pacient pamatuje události, které v minulosti prožil. Je to typické především u Alzheimerovy choroby, kde se s tímto často setkáváme. [11, 12]

Před třemi lety, tedy v roce 2019 bylo neurodegenerativní onemocnění prokázáno asi u 50 milionů lidí na celém světě, které většinou vedlo k demenci. Predikce je taková, že toto číslo může vzrůst až na 152 milionů do roku 2060. Prevalence těchto onemocnění, které vedou k demenci je 1,6 % a 1 % u mužů a žen ve věku 65-69 let a ve věku 85-89 stoupá na 11% až 12,6 %. Jeden z velmi rizikových faktorů neurodegenerativních onemocnění je tedy věk. Na neuroanatomické dráhy působí stárnutí člověka, poté dochází k tvorbě patogenních proteinů. [15]

K identifikaci příčin a k diagnostickému rozlišení se uplatňují zobrazovací metody. Nejčastěji se vyhledává intrakraniální hematom, ischemie, tumor, hydrocefalus. Mezi zobrazovací metody neurodegenerativních onemocnění řadíme magnetickou rezonanci (ta se používá více než CT, pokud se ale jedná o těžkou demenci, tak spíše provedeme CT), neuroreceptorovou scintigrafii, perfuzní SPECT mozku. SPECT mozku patří konkrétně mezi neinvazivní zobrazovací metody, které zjišťují oblasti s pozměněným prokrvením.

Princip je založený v zobrazení rozložení daného radiofarmaka v mozku pomocí gama záření podaného radiofarmaka. Nejpoužívanější jsou ^{99m}Tc -HMPAO a ^{99m}Tc -EDC. Podle umístění patologických změn mozkové tkáně rozlišujeme frontotemporální, posteriorní a vaskulární typ hypoperfuze. U posteriorního typu dochází u AD k postižení posterotemporálního a parietálního místa. Pokud se nemoc dostane do terminálního stádia může být zasažena kůra frontálních laloků. Frontotemporální typ vzniká při snížení průtoku krve frontální nebo anterotemporální oblastí a je to typické u frontotemporální demence. Kromě tohoto onemocnění se tento typ se může vyskytovat i u jiných onemocnění mozku, a to například u pokročilém stádiu AD, u schizofrenie nebo také u vaskulární demence. Poslední je vaskulární typ, kde dochází k postižení subkortikální bílé hmoty a korové oblasti. [11]

2.1 Alzheimerova nemoc

V roce 1906 jako první toto onemocnění popsal německý neuropatolog a psychiatr Alois Alzheimer. Zabýval se studiem anatomie mozkové kůry. O pacientce jménem Augusta Deterová, která zemřela v 55 letech přednášel na lékařské fakultě. Po provedení pitvy Alzheimer našel v jejím mozku podivná vlákna a plaky. Tyto změny mozkové tkáně byly po něm později pojmenovány. Následoval ho další neuropatolog, a to Oskar Fischer, který se o tuto problematiku také zajímal. [14, 11]

Tato nemoc patří mezi závažné neurodegenerativní onemocnění. Je to jedna z nejčastějších forem demence a zároveň čtvrtá až pátá nejčastější příčina smrti v dané populaci. Začátek nemoci je pozvolný, dochází k výpadkům paměti a apatii. Jedním ze zásadních činitelů etiopatogeneze je atrofie mozku a další chorobné změny. Za tyto děje může pravděpodobně ukládání a tvorba beta-amyloidu. [14]

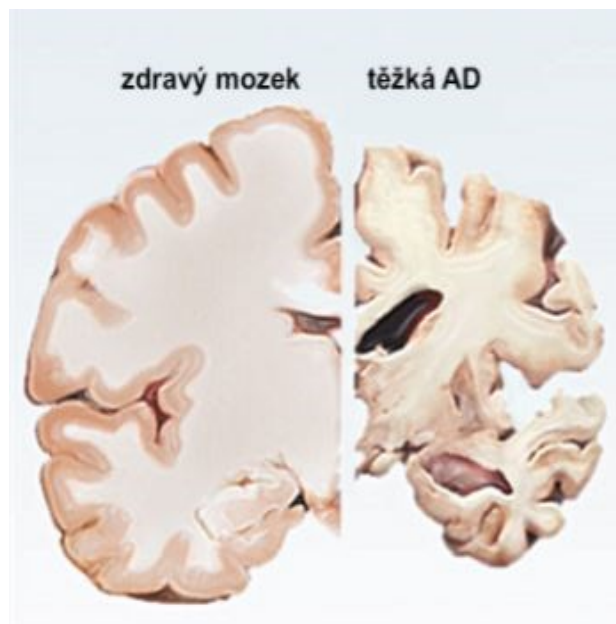
Na vznik Alzheimerovy choroby má vliv celá řada rizikových faktorů. Je to především věk, ale i přítomnost apolipoproteinu E4 a další jako například diabetes, kouření nebo i samotný výskyt AD v rodině, tedy je to ovlivněno geneticky. Obezita dříve patřila také mezi rizikové faktory, ale v současnosti se toto tvrzení vyvrací. [14, 16, 17]

Co se týká patogeneze AD, tak není ještě úplně vysvětlena. U zemřelých pacientů s AD byly v mozku nalezeny dva velmi důležité úkazy, jednak to jsou intraneuronální neurofibrilární klubíčka, která jsou tvořena nerozpustným tau-proteinem a pak jsou to extracelulární amyloidní plaky, které jsou tvořeny nerozpustným beta-amyloidem. Bylo prokázáno, že u pacientů s AD je tau protein fosforylován třikrát dokonce až čtyřikrát více než v mozku zdravých lidí. Beta-amyloid je amyloidový prekurzorový protein, který je

štěpen alfa-sekretázou na jednotlivé fragmenty asi o 40 aminokyselinách. Toto je pouze za předpokladu, že se jedná o fyziologické podmínky. [14]

AD můžeme rozdělit do 2 skupin, a to na presenilní formu, kdy se počáteční příznaky odhalí před 65. rokem a na senilní formu, počáteční příznaky jsou po 65. roce. Jak už bylo výše zmíněno, tak nejdříve dochází k poruchám epizodické paměti, která se postupně zhoršuje. Může dojít k poruchám řeči, afázii, ke zhoršení zraku a orientace v prostoru (pravá hemisféra). Dále se zhoršuje poznávání blízkých osob, mohou být agresivní, neklidní. Nemocní s AD nemohou normálně fungovat v denním životě, nemohou dělat aktivity na které byli zvyklí, například nakupování, oblékání, vaření. [14, 11]

Alzheimerovu chorobu můžeme členit podle stupně demence na 3 stádia. Jako první je lehké stádium. Zde dochází k poruchám kognitivních funkcí a pozornosti. Následuje střední stádium. Tady už nedokáží plně fungovat v denních aktivitách a dochází k prohloubení změn v chování. A za třetí je těžké stádium, kdy už nepoznávají své blízké a jsou dezorientováni. Pacienti s AD přežívají zhruba 7-10 let od zjištění prvních příznaků. V České republice žije s AD zhruba 300 000 lidí, z toho skoro polovina má těžké stádium. [14, 11]



Obrázek 5: Řez zdravého mozku a mozku s těžkou formou Alzheimerovy nemoci [14]

Různé studie zkoumaly vliv stresu v souvislosti se vznikem AD. U zdravých lidí a u nemocných s lehkou demencí AD se zjišťovalo, co se stane v jejich slinách. Byl proměřován kortizol a imunoglobulin typu A. Výsledek byl takový, že pokud došlo ke zvýšení hladiny kortizolu, tak se u nemocného člověka s AD zvýšila hladina IgA a obráceně. U zdravého

člověka došlo k tomu, jestliže se zvýšila hladina kortizolu, tak došlo k poklesu IgA a obráceně. [14]

Mezi další formy demence u Alzheimerovy choroby je frontotemporální demence a demence s Lewyho tělísky. AD má souvislost i s dalšími neurodegenerativními poruchami jako například s obstrukční spánkovou apnoí, epileptiformní amnézií a s různými zánětlivými stavy. [16]

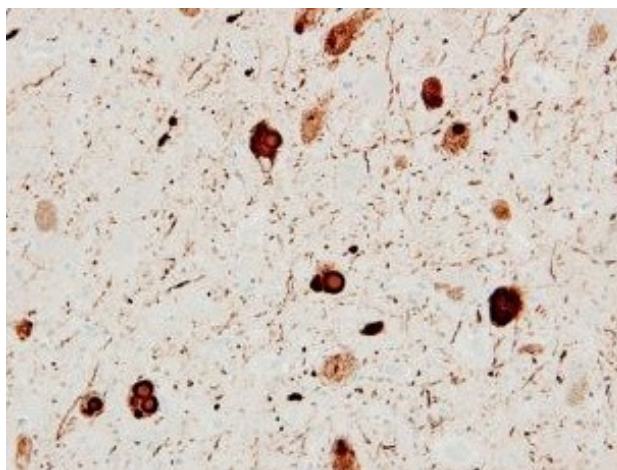
Při určování diagnózy AD je velmi důležitý klinický rozhovor s pacientem. Samozřejmě se provádějí krevní testy, aby se mohly vyloučit různé patologické stavy. Poté se využívají již zmíněné zobrazovací metody. [16]

Léčba AD je zaměřená především na zlepšení kognitivních funkcí pomocí dvou účinků, kterými jsou antagonismus N-methyl-D-aspartátového receptoru a cholinergní agonismus. Cílem léčby u AD je zvýšit hodnotu acetylcholinu podáváním takových sloučenin, které jsou schopné inhibovat acetylcholinesterázu. Mezi inhibitory cholinesterázy řadíme donepezil, galantamin a rivastigmin. [17]

2.2 Parkinsonova nemoc

Jako první tuto nemoc popsal James Parkinson v roce 1817. Později se o PN zajímal i Friedrich Heinrich Lewy, který objevil v neuronech eosinofilní globoidní tělíska. Tato tělíska našel Treťjakov i v substantia nigra a pojmenoval je po jejich objeviteli jako Lewyho tělíska. [11]

Parkinsonova nemoc patří mezi druhé nejčastější neurodegenerativní onemocnění, hned po AD. Můžeme ji definovat jako progresivní, chronické a také nevléčitelné onemocnění. PN spadá do skupiny synukleinopatií. Postihuje hlavně centrální nervový systém, kde dochází k úbytku neuronů. Tento děj probíhá v části mozku, kterou nazýváme substantia nigra neboli černá substance. Konkrétně se jedná o dopaminergní neurony, které jak už je z jejich pojmenování patrné produkují dopamin pouze za normálních podmínek. Dopamin má funkci přenašeče tedy neurotransmiteru, jehož hlavním úkolem je přenos signálů mezi neurony. Jestliže dojde k jeho nedostatku, tak nastane porucha pohyblivosti. Touto poruchou pohybu je charakteristická PN. [11, 18, 19, 20]



Obrázek 6: Imunohistochemický průkaz Lewyho tělísek a neuritů v substantia nigra [11]

Řadíme sem jak motorické, tak nemotorické projevy. Nejprve co vše můžeme zahrnout do motorických příznaků. Jeden z nejviditelnějších příznaků PN je bradykineze. Poznáme to velmi zpomaleným pohybem a řečí, která je tichá a také pomalá. V obličeji vidíme strnulost. Dále je typický klidový třes, který je především na horních končetinách a zejména na prstech. Můžeme pozorovat také poruchy chůze. Pacient má šouravé, malé krůčky a ruce jsou připažené. S tím se pojí další příznak a to rigidita, což je svalová ztuhlost. A do nemotorických příznaků patří čichová dysfunkce, kognitivní poruchy, komplikace se spánkem, únava (která je řazena mezi nejčastější nemotorické příznaky), poruchy senzorké a senzitivní, gastrointestinální a urinogenitální problémy. Také ale i úzkost, která se vyskytuje u pacientů s Parkinsonovou nemocí až 2x častěji než u zdravých lidí. Patří sem i deprese, apatie a kožní poruchy. Mezi kožní poruchy patří například seboroická dermatitida, dysfunkce pocení nebo melanom. Dysfunkce pocení nebo seboroická dermatitida se mohou vyskytovat před nástupem motorických příznaků PN. Melanom je maligní, pigmentovaný nádor, který se zase naopak může většinou objevit až po delší době od stanovení diagnózy PN. Podle některých studií bylo prokázáno, že u pacientů s Parkinsonovou nemocí je zvýšené riziko vzniku tohoto nádoru, ale riziko vzniku jiných nádorových onemocnění je nižší. Tato kožní onemocnění mohou vznikat v důsledku léčby PN, například léky. [18, 19, 21]

Nejrizikovějším faktorem je věk, jako tomu bylo u AD. Průměrný věk, kdy se objevují první příznaky Parkinsonovy nemoci je 60 let. Ojedinele se mohou vyskytovat případy do 40 let věku. Dále bylo prokázáno, že u kuřáků je pravděpodobnost výskytu PN menší. [11]

Máme několik fází onemocnění a to adaptační, pokročilou a pozdní fázi. U první fáze, tedy adaptační se objevují první příznaky, pacient zjistí svoji diagnózu. Za nějakou dobu,

většinou to bývá po 5 letech přichází pokročilé stádium, kde se hybnost zhoršuje. Poslední je pozdní stádium, které je typické rozsáhlou bradykinezi. Pacienti na základě těchto omezení mají velmi časté zlomeniny a další poranění. K těmto problémům se přidává i osteoporóza. Průměrná doba, které se pacienti dožívají od zjištění diagnózy je uváděno 14 let. Jako příčina úmrtí bývá hlavně pneumonie, cévní mozková příhoda, kardiovaskulární problémy nebo onkologické onemocnění. [18]

Mezi hlavní vyšetření PN patří zjištění dopaminergní odpovědi. Je to založeno na podání L-DOPY. Jako další metody vyšetření je magnetická rezonance, transkraniální ultrasonografie nebo SPECT. [11]

Existuje celá řada možností, které napomáhají zlepšit motorické symptomy u PN. Je velmi důležité na začátku nemoci zahájit léčbu. Léčbu PN můžeme rozdělit na farmakoterapii, genovou terapii a funkční neurochirurgii. Za nejúčinnější je považována farmakoterapie. Mezi farmaka, která se uplatňují při léčbě PN řadíme L-DOPA, inhibitory MAO a COMT, agonisté dopaminu a anticholinergika. L-DOPA je prekurzor dopaminu a zároveň má pozitivní vliv na motorické funkce. Jeho užívání má kromě kladných účinků také i negativní, kam patří například nevolnost, gastrointestinální problémy, halucinace nebo výjimečně extrasystoly. Většinou se aplikuje dohromady s benserazidem nebo také s karbidopou. Dopamin se syntetizuje z L-DOPY pomocí enzymu dekarboxyláza-L-aminokyseliny. Dlouhodobější užívání tohoto léku vede k tomu, že se časem ztrácí jeho účinnost a pacienti mohou požadovat vyšší dávku, což může směřovat k již zmíněným negativním účinkům. Inhibitory MAO mohou prodloužit působení L-DOPY. Tyto inhibitory se používají velmi málo, a to pouze na začátku PN. Řadíme sem selegilin nebo i rasagilin. Inhibitory COMT jsou schopné zpomalovat odbourávání L-DOPY a touto cestou zvyšují její množství, které doputuje do CNS. Co se týká genové terapie, tak patří především do experimentální léčby. Jsme schopni dodat gen do určité části mozku, který má zde průzkumnou funkci. U funkční neurochirurgie lze provést hlubokou mozkovou stimulaci nebo lézi. [18, 22, 23]

2.3 Huntingtonova nemoc

Tuto nemoc jako první podrobně popsal v roce 1872 George Huntington. Před ním si ale zvláštních příznaků všimli Gorman nebo Lund. [11]

Huntingtonova nemoc je neurodegenerativní onemocnění, které je autozomálně dominantně dědičné. HD je způsobená opakovanou expanzí tripletu CAG ve zmutovaném

genu HTT na chromozomu, který se vyskytuje na prvním exonu 4p16.3. Triplet CAG obsahuje cytosin-adenin-guanin. Výsledkem je vznik proteinu huntingtonu. Zdraví lidé mají za normálních podmínek méně než 35 opakování CAG, ale lidé s HD mají 40 a více CAG opakování. Pokud má člověk více jak 60 opakování, tak se většinou jedná o juvenilní typ HD. Tato forma se vyskytuje především u dětí před 20. rokem věku. Projevuje se poruchou chování, rychlým rozvojem demence nebo dystonií a bradykinezí. Pacient po objevení prvních příznaků přežívá kolem 10 let, což je kratší doba oproti standardní formě. Existuje ještě typ HD s pozdním začátkem, který je u pacientů ve věku 60-70 let. Tato forma je charakteristická hlavně mimovolními pohyby, pomalým průběhem, apatií nebo také depresemi. [11, 24, 25, 26, 27]

Huntingtonova nemoc se projevuje motorickou dysfunkcí, kam řadíme především choreu, dystonii a bradykinezi. Tato motorická dysfunkce má souvislost s věkem, který koreluje s délkou opakující se ho tripletu CAG genu HTT. Alela tohoto onemocnění je většinou dominantní a pacienti jsou často heterozygoti s jednou alelou divokého typu. Choreatickou dyskinezi můžeme definovat jako rychlé, mimovolní, nepravidelné pohyby. Chorea následně přechází v dystonii, což je svalové sevření, které působí kroucení těla. Dále jsou zde patrné i kognitivní poruchy, které můžeme pozorovat 15 let před tím, než se projeví motorické příznaky. Pacienti od zjištění prvních příznaků umírají většinou v rozmezí 15-20 let. U tohoto onemocnění vzniká makroskopická atrofie striata, kterou můžeme zobrazit pomocí magnetické rezonance nebo CT vyšetření. Co se týká terapie, tak se podává řada léků ke zlepšení příznaků a stavu pacienta obecně. Mezi tyto léky patří například antipsychotika, která jsou schopná potlačit dyskinezi, agresi. V případě, že chorea začne přecházet v dystonii, tak je naopak potřeba antipsychotika postupně vysazovat. Dále se používají benzodiazepiny, sertralin a jiná léčiva. [11, 24, 25, 26, 27]

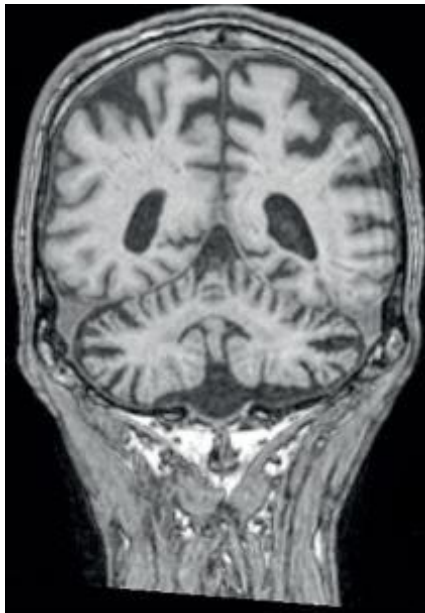
2.4 Spinocerebelární ataxie

Spinocerebelární ataxii můžeme charakterizovat jako heterogenní, autozomálně dominantně dědičnou nemoc, která patří mezi neurodegenerativní onemocnění. Toto onemocnění vychází především z degenerace mozečku, přičemž může být zasažena i další část jako mozkový kmen. Projevuje se to poruchou chůze, dysfagií, poruchou zraku, dysartrií nebo jinými motorickými problémy. [28, 29, 30]

SCA lze rozdělit podle Hardinga na tři typy, a to na ADCA I, II a III. Bylo popsáno více jak 40 geneticky lišících se podtypů SCA a v současné době je známo až 48 podtypů.

Jednotlivé SCA se od sebe rozpoznávají podle číselného označení. ADCA I zahrnuje syndromy jako například optickou a svalovou atrofie. Patří sem podtypy SCA 1–4, 8, 10, 12–14, 15, 17–22, 25, 27, 28, 31, 32, 34–37, 38, 42–44, 46, 47. Typickým příznakem pro SCA 12, 15 a 27 je třes na horní končetině. Pro podskupinu SCA 36 je hlavním příznakem sensorineurální ztráta sluchu. ADCA II je typ ataxie, která je spojená s postupným zánikem sítnice a patří sem pouze SCA 7. Posledním typem je ADCA III, což je cerebelární ataxie jako taková. Řadíme sem podtypy SCA 5, 6, 11, 23, 26, 30, 37, 41 a 45. Mezi charakteristické příznaky SCA 23 řadíme ataxii končetin a chůze, dysfunkci svalů a dysartrii. Obvykle se tento podtyp začíná objevovat ve věku 43 let. U zemřelého člověka s SCA 23 se zkoumaly různé změny a ukázalo se, že u tohoto podtypu byla hmotnost mozku nižší než u mozku zdravého člověka. Mezi nejčastější spinocerebelární ataxie na celém světě patří SCA 1, 2, 3, 6 a 7 a nejrozšířenější je podskupina 3. Některé SCA jsou způsobeny expanzí nukleotidových opakování CAG, které jsou zodpovědné za kódování polyglutaminu. [28, 29, 30, 31]

Pacient s SCA podstupuje různá vyšetření. Můžeme si uvést například magnetickou rezonanci mozku, odebrání mozkomíšního moku, komplexní laboratorní vyšetření nebo zjišťování stavu očního pozadí. [11]



Obrázek 7: Těžká atrofie mozečku a parietálního kortexu [11]

2.5 Amyotrofická laterální skleróza

Amyotrofická laterální skleróza je onemocnění, které postihuje hlavně motorické neurony v mozku, mozkovém kmeni a míše. Jsou zasaženy jak horní, tak dolní neurony. Při zamyšlení nad názvem této nemoci jsme schopni odvodit její charakteristický znak, kterým je ztráta svalové hmoty. ALS se projevuje svalovou slabostí, ale i jejich úbytkem a zvýšeným napětím ve svalech. Týká se to jak kosterních svalů, tak ale i těch svalů, které potřebujeme k dýchání. Na základě těchto projevů můžeme charakterizovat jednotlivé příznaky ALS. Zejména jde o omezení funkcí určitých částí těla jako horních a dolních končetin, trupu nebo obličeje. Postupně člověk není schopen chůze. Dále dochází k poruchám řeči, ale také má pacient problémy s polykáním nebo s dušností. U pacientů s ALS se provádí spirometrické vyšetření ke sledování dýchacích funkcí. Lidé s tímto onemocněním ve většině případů umírají na respirační selhání, které nastává přibližně v rozmezí 2-4 let od prokázání diagnózy. [32, 33, 34]

Pro ALS jsou také typické patologické nálezy neuronální cytoplazmatické inkluze TDP-43. Může se ale vyskytovat i u frontotemporální lobární degenerace. TDP-43 můžeme definovat jako protein, který váže DNA/RNA a zároveň patří do heterogenních ribonukleoproteinů. Nalézáme ho převážně v jádře, ale může se vyskytovat i v mitochondriích nebo cytoplazmě. U amyotrofické laterální sklerózy ho nacházíme ve zkrácené formě v jejích agregátech, a hlavně v kortexu. Za nejčastější genetickou příčinu u ALS se považuje mutace G4C2 v genu C9orf72. V některých odborných článcích se můžeme dočíst o značné toxicitě TDP-43. [32, 35, 36]

U pacienta se vyšetřuje mozkomíšní mok, kde můžeme najít zvýšenou hladinu tau proteinu. Dále se provádí magnetická rezonance nebo vyšetření SPECT. [11]

2.6 Friedreichova ataxie

Friedreichovu ataxii řadíme mezi neurodegenerativní onemocnění, které je autozomálně recesivní a dědičné. FRDA patří mezi nejčastěji se vyskytující ataxie. Toto onemocnění je způsobeno hlavně omezenou expresí frataxinu, což je protein, který se nachází v mitochondriích. Většina lidí s touto nemocí je homozygotní pro expanzi opakování GAA v prvním intronu genu pro frataxin a u zbylých nemocných s FRDA to může být způsobeno heterozygotní mutací. Frataxin je nezbytný pro vznik železo-sírových klastrů, které jsou důležitými enzymy pro správnou funkci transportního řetězce a zároveň ovlivňují regulaci homeostázy hemu a železa. Pokud dojde ke snížení frataxinu u Friedreichovy ataxie, tak

může nastat mitochondriální dysfunkce a hromadění železa, které vede ke zvýšenému oxidačnímu stresu a následné buněčné smrti. [37, 38, 39]

FRDA se projevuje dysartrií, ataxií končetin a chůze, kdy se nemocní postupně stávají paraplegiky a jsou odkázáni na invalidní vozík. Dalšími příznaky jsou problémy se zrakem, sluchem a řečí, cukrovka nebo kardiomyopatie. U pacientů s FRDA jsou četné patologické nálezy v kardiomyocytech jako například snížená kontrakce, nekróza nebo hypertrofie a jejich počet je u tohoto onemocnění snížen oproti normálu. Nemocní s touto chorobou se v průměru dožívají 38 let. [37, 38, 39]

Jako již u všech neurodegenerativních onemocnění se zde provádí magnetická rezonance. U tohoto vyšetření se na začátku nemoci nemusí objevit žádná neobvyklost, ale až později se často vyskytuje míšň atrofie, která je patrná hlavně v místě C páteře. Dále se provádí genetické vyšetření nebo vyšetření očních pohybů. [11]

3 ZÁKLADNÍ MECHANISMY TERAPEUTICKÉHO PŮSOBNÍ ALKALOIDŮ

V této kapitole se zaměříme na jednotlivé mechanismy alkaloidů. Bude zde uveden jejich základní princip a fungování. Uvedeme si hlavně inhibiční aktivitu AChE/BuChE, antioxidační aktivitu a antiinflamační aktivitu.

3.1 Inhibiční aktivita AChE/BuChE

Máme dva typy enzymů, které hrají důležitou roli při působení alkaloidů. Jako první si uvedeme acetylcholinesterázový enzym, který můžeme najít hlavně v cholinergních synapsích. Druhým enzymem je butyrylcholinesteráza, který se vyskytuje v celém těle včetně gliových buněk. [40]

Inhibitory enzymu acetylcholinesterázy se využívají ke zvýšení hladiny acetylcholinu, což je neurotransmitter, který odpovídá za kognitivní funkce v mozku. Můžeme tedy říci, že sloučeniny, které jsou schopné inhibovat jak samotný enzym AChE nebo oba enzymy (AChE i BuChE), tak jsou velmi důležité při řízení progresu neurodegenerativních onemocnění, konkrétně AD. Výskyt acetylcholinesterázy má spojitost s plakem extracelulárního β -amyloidního proteinu a také s neurofibrilárními klubky zejména u AD. Tento β -amyloidní protein můžeme charakterizovat jako menší polypeptid, který vzniká zpracováním transmembránového β -amyloidního prekurzorového proteinu enzymem štěpícím amyloidní prekurzorový protein, a to v β -místě. Například tedy konkrétně u Alzheimerovy nemoci dochází k hromadění těchto amyloidních proteinových plaků, které vznikají při nesprávném poskládání amyloidního prekurzorového proteinu. Působením hyperfosforylovaného tau proteinu se hromadí také neurofibrilární klubka. Bylo objeveno, že zhruba 55 alkaloidů můžeme řadit mezi AChE inhibitory a 24 alkaloidů mezi BuChE inhibitory. [40, 41, 42]

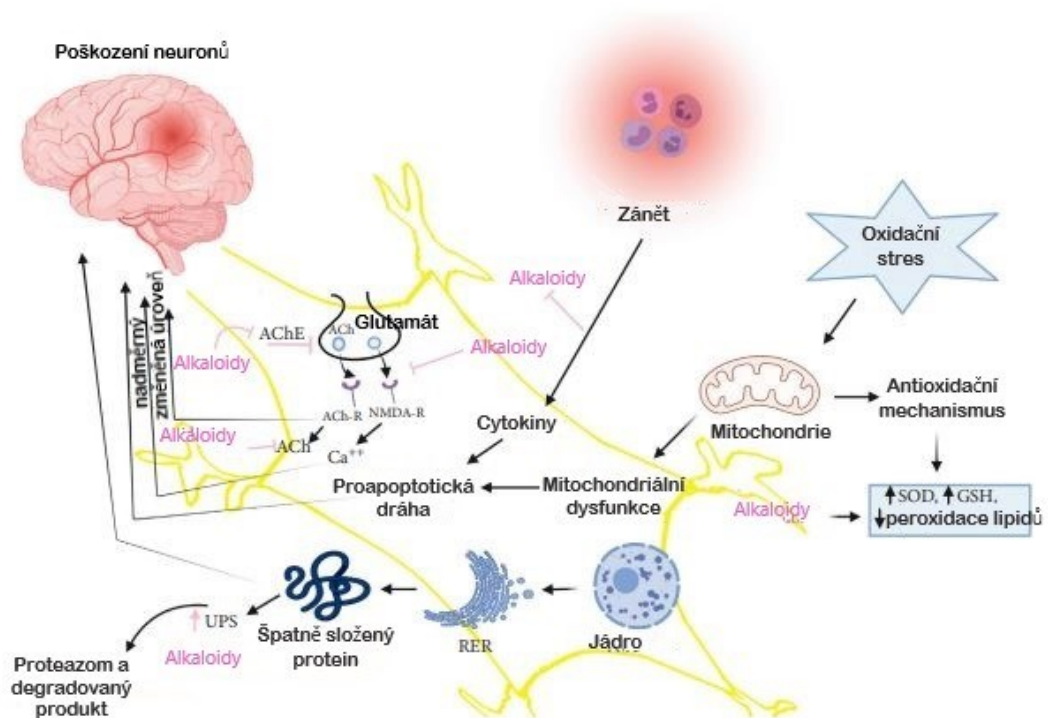
3.2 Antioxidační aktivita

K oxidačnímu stresu dochází snížením reakce antioxidačního systému, který souvisí se zvýšenou produkcí reaktivních forem kyslíku. Do těchto forem můžeme řadit volné radikály, kam patří například hydroxylový radikál anebo máme neradikálové látky, jejichž zástupcem je peroxid vodíku. Negativní účinky přítomnosti ROS v mozku jsou vázány na hodnoty jako například na ionty přechodných kovů, polynenasycených mastných kyselin nebo na vysokou rychlost metabolismu oxidačních neurotransmiterů. Při vyšších hodnotách koncentrací ROS

dochází k oxidačnímu stresu a následně může dojít k poškození biomolekul. K rozvoji tohoto oxidačního stresu dochází při nadměrné tvorbě ROS a zároveň při nedostatku neenzymatických a enzymatických antioxidantů. Naopak při nižších hodnotách ROS mohou mít i příznivé účinky. [42, 43]

Volný radikál můžeme charakterizovat jako molekulu nebo samotný atom, který obsahuje jeden nebo více nepárových elektronů ve valenční vrstvě. Můžeme tedy říci, že je schopen samostatné existence. Pokud má volný radikál lichý počet elektronů, tak se stává nestabilním a velmi reaktivním. Aby získal svoji stabilitu zpět, tak díky své vysoké reaktivitě je schopný odebírat elektrony z jiných sloučenin. Nastane tedy to, že daná molekula ztratí svůj elektron a stane se sama volným radikálem. Tímto celým dějem dojde nakonec k poškození živé buňky. Některé oblasti mozku, především jako substantia nigra, hippocampus nebo striatum jsou obzvláště náchylné k napadení těmito volnými radikály. [42]

Při trvalém a dlouhodobém působení oxidačního stresu může docházet k poškození nervových buněk. Aby nedocházelo k tomuto poškození, tak se pátralo po přirozeně se vyskytujících sloučeninách, které by působily jako antioxidantní činidla. Alkaloidy mají tuto schopnost snižovat oxidační stres u neurodegenerativních onemocnění. Základem antioxidantních mechanismů je schopnost vychytávat ROS nebo potlačit intracelulární hromadění těchto reaktivních forem kyslíku. [43]

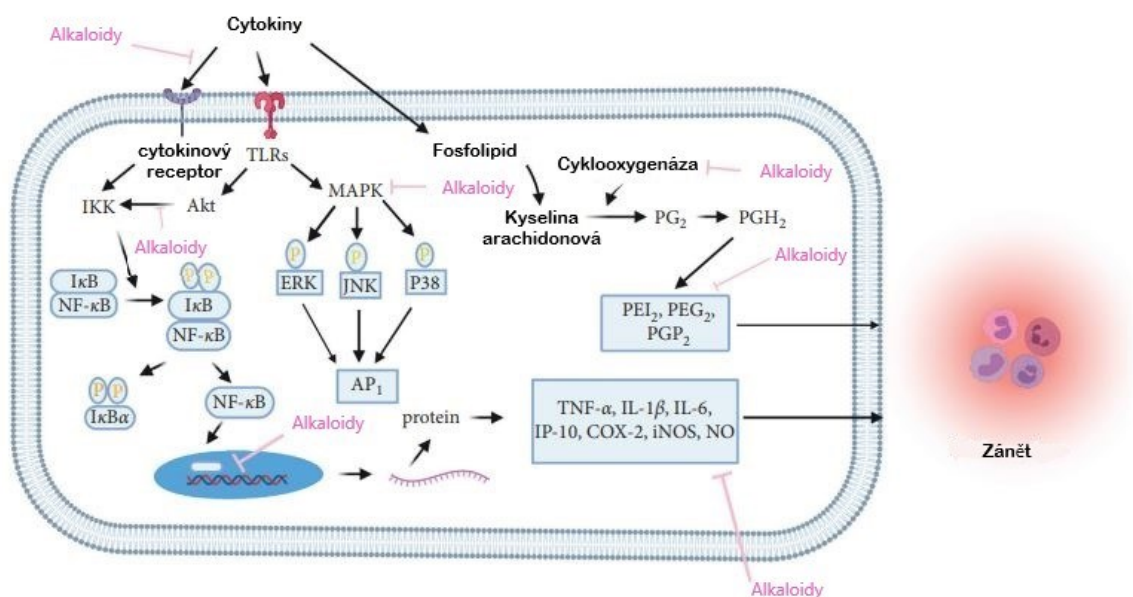


Obrázek 8: Mechanismus alkaloidů v léčbě neurodegenerativních poruch (zvýšení ↑, inhibice ⊥) [41]

3.3 Antiinflamační aktivita

Antiinflamační neboli protizánětlivé účinky alkaloidů jsou spojeny s modulační autofagií. Tyto protizánětlivé mechanismy zmírňují působení neurozánětlivých drah. Tato protizánětlivá aktivita spolu s přírodními látkami vykazují jistý synergický účinek. Rostlinné látky mají schopnost inhibovat neurozánět a díky tomu mohou vytvářet antiamyloidní účinky, které jsou prospěšné při léčbě neurodegenerativních onemocnění. Při dlouhodobém používání těchto protizánětlivých látek může docházet ke snížení, potlačení progresu nebo samotného nástupu neurodegenerativních onemocnění, zejména Alzheimerovy nemoci. Toto ovlivňuje NF- κ B, který považujeme za klíčový mediátor zánětu v mozku. [43, 44]

Zánět můžeme popsat jako okamžitý a nespecifický mechanismus reakce těla na určité infekční nebo neinfekční podněty. Mezi buňky vrozené, tedy nespecifické imunity řadíme bílé krvinky. Tyto imunitní buňky jsou schopné, jak uvolňovat, tak i produkovat prozánětlivé mediátory, především chemokiny, cytokiny, adhezivní molekuly nebo NO. Jak bylo již výše zmíněno, tak nukleární faktor kappa B hraje důležitou roli při zánětlivém procesu a zároveň je zodpovědný za transkripční indukci růstových faktorů, chemokinů nebo cytokinů. Při aktivaci tohoto faktoru dochází k fosforylaci a také k degradaci inhibičního proteinu díky proteazomální degradaci. Na základě tohoto děje se volný NF- κ B uvolňuje do jádra, a právě v této organelle se váže na vazebná místa κ B v oblasti promotoru, což vede k prozánětlivé transkripci cytokinů. Reguluje právě cytokiny, hlavně TNF- α nebo interleukiny, a to konkrétně IL-1, IL-8, IL-6, IL-18 nebo IL-12. Podrobnější mechanismus můžeme vidět níže na obrázku číslo 9. [41]



Obrázek 9: Mechanismus alkaloidů v léčbě zánětu (podpora ↑, inhibice ⊥) [41]

4 ALKALOIDY A JEJICH VYUŽITÍ V LÉČBĚ NEURODEGENERATIVNÍCH ONEMOCNĚNÍ

4.1 Alkaloidy v léčbě Alzheimerovy nemoci

Na léčbu AD je schváleno zatím pouze několik léků, kterými jsou donepezil, galanthamin, rivastigmin a memantin. Tyto zmíněné léky ale nemohou úplně zastavit ani zvrátit poškození neuronů. Hlavním zdrojem při objevování dalších léků jsou přírodní produkty, především rostliny a jejich izolované sloučeniny, které se studují za účelem vyvinout účinnější léky pro pacienty s AD. [44]

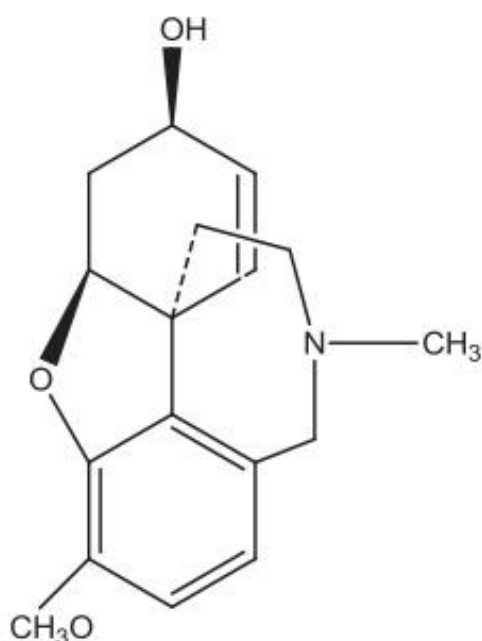
4.1.1 Galanthamin

Patří do čeledi *Amaryllidaceae*. Alkaloidy této čeledi můžeme řadit mezi nejvíce studovanou skupinu v souvislosti s Alzheimerovou nemocí. Chemicky se jedná o isochinolinové alkaloidy, které jsou produkovány právě rostlinami čeledi *Amaryllidaceae*. Jsou odvozeny od aromatických kyselin tyrosinu a fenylalaninu, které hrají velmi důležitou roli při výrobě hlavních meziproductů v biosyntéze 4-O-methylnorbelladinu. Tato sloučenina poté prochází různými typy intramolekulárních oxidativních vazeb, a to následně vede k tvorbě základních alkaloidů této čeledi. Mezi další zástupce této čeledi řadíme kromě galanthaminu i hemanthamin, lykorin, krinin, montanin a tazettin. Je známo až 600 přirozeně se vyskytujících alkaloidů této čeledi. Mají celou řadu biologických účinků jako například antibakteriální, protinádorové, antioxidační, protizánětlivé, antiparazitní nebo také inhibiční účinky na acetylcholinesterázu a butyrylcholinesterázu. [45, 46]

Hlavním alkaloidem této čeledi, který má potenciál při léčbě Alzheimerovy nemoci je galanthamin. Nejnovější studie ukazují, že právě tento alkaloid má velmi široké přínosy pro pacienty s AD. Obecně můžeme galanthamin charakterizovat jako dlouhodobě působící, reverzibilní a selektivní alkaloid, který je zároveň inhibitorem acetylcholinesterázy a modulátorem nikotinových receptorů. Galanthamin se váže do alosterických center nikotinových receptorů, to vede ke konformační změně a dochází k tomu, že se zvyšuje odpověď těchto receptorů na acetylcholin. Díky zvýšené koncentraci nikotinových receptorů také zlepšuje poruchy učení. Aktivace nikotinového acetylcholinového receptoru může vést k uvolňování dalších neurotransmiterů, což vypovídá o tom, že tento receptor je zapojen do psychologických a behaviorálních aspektů Alzheimerovy nemoci. Dále působí jako neuroprotektivum a zároveň je schopný snížit oxidační poškození. [45, 46]

Galanthamin byl původně izolovaný z květů a listů rostliny *Galanthus woronowii* (sněženky), která pochází z oblasti Kavkazu. V současné době se tento alkaloid získává hlavně z rostlin rodu *Narcissus* (narcis) a *Leucojum* (bledule), ale také i synteticky. K extrakci tohoto alkaloidu z čeledi *Amaryllidaceae* se používají metody jako Soxhletova extrakce nebo perkolace. Rostlina se většinou zpracovává různými organickými rozpouštědly a následně se čistí chromatografickou metodou. [45, 46, 47]

Galanthamin už v roce 2001 byl schválen pro léčbu jak mírných, tak i středně těžkých forem Alzheimerovy nemoci. Podle dalších studií je potenciál v alkaloidech této čeledi u lykorinu nebo homolykorinu jako neuroprotektivních sloučenin. [45]



Obrázek 10: Chemická struktura galanthaminu [48]

4.1.2 Huperzin A

Huperzin A je přírodní seskviterpenový alkaloid rodu *Lycopodium*. Získává se z rostliny *Huperzia serrata* (čínský mech) a izoluje se z jejích stonků. Tato rostlina působí jako reverzibilní inhibitor acetylcholinesterázy, která účinně prochází hematoencefalickou bariérou. Například v Číně se indikuje k léčbě otoků, krevních poruch, zánětů, bolesti, schizofrenii a také na ztrátu paměti. Většina vlastností této rostliny je podle studií způsobena molekulou Huperzinu A, která je také charakteristická pro své neuroprotektivní účinky.

Později byl také tento alkaloid izolován z novozélandského mechu s názvem *Lycopodium varium*. [49, 50, 51, 52, 53]

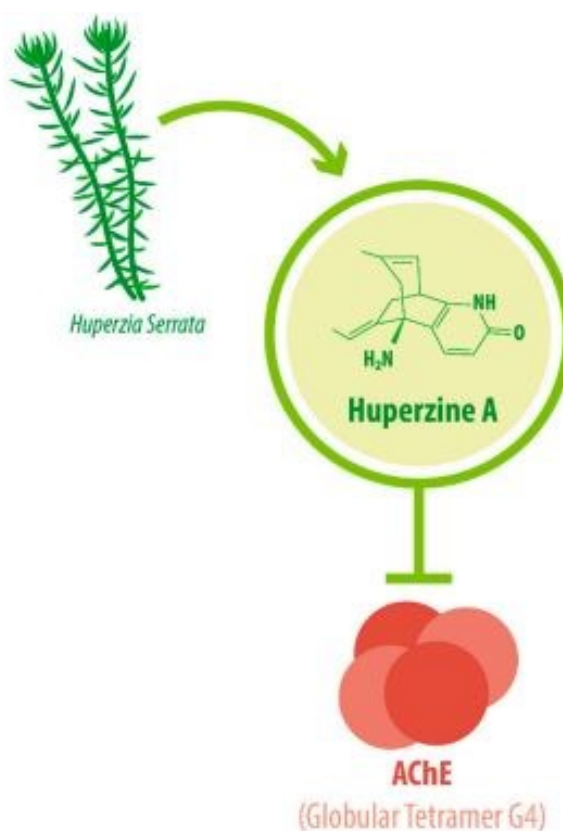
Bylo prokázáno, že používání alkaloidu Huperzinu A jako doplněk stravy je účinné pro zlepšování jak kognitivních funkcí, tak i pro každodenní aktivity u nemocných s Alzheimerovou chorobou. Pozitivní vliv na kognitivní vlastnosti je daný hlavně tím, že chrání před patologickými vlivy indikující neurodegeneraci jako je například beta-amyloidový protein, glutamát, ischemie, apoptóza nebo peroxid vodíku. Podle provedených studií na zvířatech bylo dále prokázáno, že tento alkaloid se může jevit jako ochrana proti intoxikaci organofosfáty anebo může případně snižovat buněčnou smrt, která je způsobená glutamátem. Dále snižuje hladinu hyperfosforylovaného tau proteinu v hippocampu a v kortexu. Působí také na mikroglialní buňky, kde dochází ke snížení exprese chemokinů a cytokinů. Jako výsledek je poté snížení oxidačního stresu, regulace exprese apoptotických proteinů nebo ochrana mitochondrií. Podle farmakologických studií může Huperzin A zlepšit poruchy paměti a učení u pacientů s Alzheimerovou nemocí nebo také u zvířecích modelů. Pacienti s AD mají dle výzkumu problémy s přepínáním úkolů. Aplikace Huperzinu A může tyto problémy alespoň trochu zlepšit. Neuroprotektivní účinky podávání tohoto alkaloidu jsou výsledkem cholinergní signalizace, která je zodpovědná za zvýšení exprese neurotrofního faktoru, přežití neuronů, antagonismu N-methyl-D-aspartátového receptoru nebo synaptické aktivity. [51, 52]

Jak bylo již zmíněno, tak Huperzin A je inhibitorem acetylcholinesterázy, která se v centrální nervové soustavě vyskytuje ve formě globulárního tetrameru G4. Existují dva typy těchto receptorů, nikotinové a muskarinové, které jsou důležité pro synaptický přenos. Muskarinové acetylcholinové receptory jsou spojené s G-proteinem a vyskytují se v parasympatickém nervovém systému. Nikotinové acetylcholinové receptory jsou významné při uvolňování neurotransmiterů nebo plasticitě v CNS. U nikotinových receptorů máme dva podtypy, neuronový a svalový. Následně po léčbě Huperzinem A se hromadí acetylcholin. Působí prostřednictvím nikotinových receptorů, a to $\alpha 7nAChR$ a $\alpha 4\beta 2nAChR$, které vyvolávají protizánětlivou odpověď. [52, 54]

Podle některých klinických studií se vyskytují nežádoucí účinky jako bolest hlavy, bradykardie, tachykardie nebo svalové křeče. Tyto negativní účinky byly zaznamenány jen ve vzácných případech, proto je tento alkaloid považován za vhodný lék. Za přijatelnou dávku se považuje 0,4 mg dvakrát denně u nemocných s AD. [52, 54]

Huperzin A vykazuje vyšší selektivitu a účinnost inhibice oproti normálně předepisovaným inhibitorům acetylcholinesterázy jako jsou galanthamin, takrin, donepezil a

rivastigmin. V Číně už je Huperzin A schválený jako lék na léčbu AD a dále ve Spojených státech jako doplněk stravy. [52]



Obrázek 11: Huperzin A [52]

4.1.3 Alkaloidy rostliny *Uncaria rhynchophylla*

Rostlina *Uncaria rhynchophylla* je bylina, která pochází především z Číny a je známá pod názvem "Gou-Teng". Přípravky, které obsahují UR se uplatňují hlavně k léčbě onemocnění CNS, kam řadíme neurodegenerativní poruchy, závratě, točení hlavy, ale také i k léčbě kardiovaskulárního systému. Například stonky UR, které jsou háčkovité se používají k léčbě závratí, horečky nebo žlučovým problémům. Naopak její listy se uplatňují jako analgetika, spasmolytika nebo také na různé nervové poruchy. *Uncaria rhynchophylla* obsahuje alkaloidy a díky nim má tyto léčebné účinky. Mezi tyto alkaloidy patří zejména rhynchofylin, korynoxin, isorhynchofylin, isokorynoxin a hirsutin. V listech a horní části stonku jsou hlavně isorhynchofylin a rhynchofylin, ale i korynoxin. V kořenech se nachází hirsutin. Jejich celkový obsah v UR je asi kolem 0,2 %, kdy nejvíce je alkaloidu

rhynchofylinu. Největší potenciál k léčbě AD vykazují korynoxin, isokorynoxin, isorhynchofylin a hirsutin. [55, 56, 57]

Korynoxin je schopný regulovat kinázy, včetně MAP2K2 a RPS6KB1, přispívající ke clearance β -amyloidního prekurzorového proteinu u Alzheimerovy nemoci. Na zvířecích modelech by léčba isorhynchofylinem mohla mít pozitivní vliv na kognitivní poruchy, které jsou většinou vyvolané D-galaktózou nebo A β 25-35. Další experimenty potvrdily to, že jak rhynchofylin, tak i isorhynchofylin snižují buněčnou smrt, hyperfosforylaci tau proteinu v buňkách PC12 a intracelulární přetížení vápníkem. [56]

Zkoumalo se celkem 10 alkaloidů, které by podle studií mohly mít v budoucnu velký potenciál v léčbě AD. Hlavní alkaloidy se získaly relativně nedávno ze studie, která vycházela z vysokoúčinné kapalinové chromatografie (HPLC). [56]

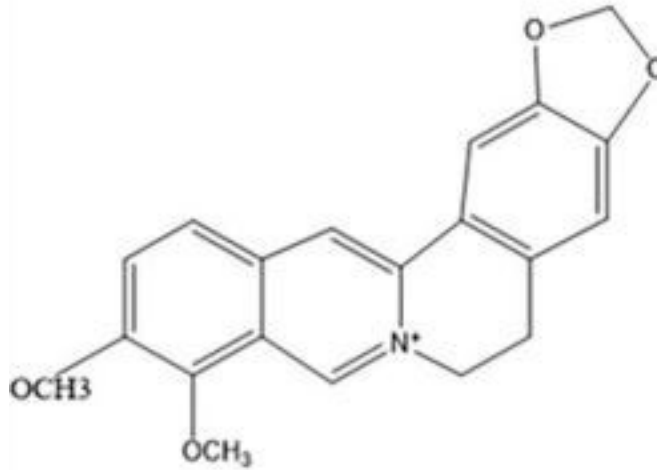
4.1.4 Berberin

Berberin je žlutý, hořký, rostlinný a protoberberinový alkaloid. Tento alkaloid se získává z kořene, oddenků nebo kmenové kůry stonku rostlin jako například *Berberis aquifolium* (réva oregonská), *Berberis aristata* (stromová kurkuma) nebo *Hydrastis canadensis* (Vodilka kanadská). Protoberberiny se vyskytují u čeledi jako *Berberidaceae*, *Fumariaceae* nebo *Papaveraceae*. Molekula berberinu je planární s p-delokalizovaným systémem. Vykazuje několik léčebných účinků proti srdečnímu selhání, neurodegenerativnímu onemocnění, ateroskleróze, revmatoidní artritidě, obezitě, rakovině a různým metabolickým poruchám. V minulosti se také používal pro svoji žlutou barvu jako barvivo. [58, 59]

Výzkum prokázal, že tento alkaloid zlepšuje funkční poruchu chování skrze posílení kortikální neurogeneze, vzniklé po mozkové ischemii. Berberin byl identifikován jako lék druhé generace proti Alzheimerově nemoci, kde působí jako inhibitor AChE, což vede ke snížení neurotransmiterů acetylcholinu. Proto může mít potenciál pro prevenci nebo léčbu u pacientů s AD. Terapeutický potenciál berberinového alkaloidu je kromě AD i u dalších neurodegenerativních onemocnění jako Huntingtonovy nemoci a Parkinsonovy nemoci. Také se ukazuje, že berberin může snížit působení oxidačního stresu v mozku a CNS. Je schopný léčit senilní demenci, a to tím způsobem, že reguluje a zároveň ovlivňuje antioxidantní stres, neurotransmitter a neurozánět. [58]

Neuroprotektivní účinek berberinu u AD byl zkoumán na krysích modelech. Ukázalo se, že berberin může zlepšit paměť u myši snížením hyperfosforylace tau proteinu. Co se týká toxicity, tak subakutní hladina berberinu může vést k různým problémům, jako například k

poškození funkce jater, krevní toxicitě, hemoragické zánětlivé reakci, omezené imunitní odpovědi, která může vést k apoptóze nebo k potížím s gastrointestinálním traktem. [60]



Obrázek 12: Chemická struktura berberinu [60]

4.1.5 Tetrandrin

Tetrandrin patří mezi bisbenzylisochinolinové alkaloidy a izoluje se z rostliny *Stephania tetrandra* z jejího kořene. Bylo prokázáno, že tento alkaloid je terapeuticky významný, a to hlavně kvůli protizánětlivým, antialergickým, antiarytmickým a antihypertenzním účinkům. Dále bylo potvrzeno, že tetrandrin v krysím modelu Alzheimerovy nemoci má pozitivní vliv na kognitivní poškození. Protizánětlivá léčba umožňuje snížit zátěž amyloidních plaků ve zvířecích modelech AD. Byl také pozorován výrazný pokles amyloidních plaků u myši, které byly léčené tímto alkaloidem po dobu 2 měsíců. Podle odborných článků je tetrandrin slibným kandidátem pro léčbu Alzheimerovy nemoci, ale doposud to bylo prokázáno pouze u zvířecích modelů. Tento alkaloid je také schopný inhibovat expresi tkáňového inhibitoru matricové metaloproteinázy-3, metaloproteinázy-1 a produkci prostaglandinu E2 inhibicí fosforylace I κ B α v buňkách ATDC5. [41, 61, 62]

4.1.6 Sinomenin

Sinomenin je přírodní alkaloid, který se izoluje především z kořene nebo stonku rostliny *Sinomenium acutum*. Jeho molekulární struktura je podobná alkaloidu morfinu. Tento alkaloid vykazuje řadu terapeutických účinků při léčbě revmatoidní artritidy, ischemie

myokardu, chronické nefritidy nebo snižuje otoky nohou způsobené formaldehydem. Je také důležitý pro svoje protizánětlivé, protinádorové, analgetické a imunosupresivní vlastnosti. Sinomenin je schopný inhibovat tvorbu reaktivních forem kyslíku a oxidu dusnatého v lidských astrocytech, což může značit jisté pozitivní účinky u Alzheimerovy nemoci. Tento zmiňovaný alkaloid chrání také lidské neurony před nepřímou toxicitou, která je vyvolaná beta amyloidem. Sinomenin je tedy účinný jak pro léčbu neurodegenerativního onemocnění, tak i pro léčbu zánětu. [41, 63, 64]

4.1.7 Aloperin

Aloperin je druh piperidinového alkaloidu a izoluje se z listů rostliny *Sophora alopecuroides*. Tato rostlina se hojně využívá k léčbě, a to zejména v oblastech západní a střední Asie. [41, 65]

U tohoto alkaloidu byla prokázána protizánětlivá aktivita, díky jeho schopnosti inhibovat Toll-like receptor 4. Při léčbě aloperinem došlo také ke snížení oxidovaného lipoproteinu s nízkou hustotou nebo endoteliálního zánětu. Bylo také zjištěno, že aloperin zlepšuje oxidační stres ve studovaných buňkách, což je příznivé pro léčbu Alzheimerovy nemoci. Mitochondriální dysfunkce u AD je spojená jak se zvýšeným oxidačním stresem, tak ale i se sníženou hladinou MMP. Podle odborné studie bylo dokázáno, že aloperin je schopný zamezit této dysfunkci zvýšením již zmiňované hladiny a intracelulárního ATP. Tato mitochondriální dysfunkce je spojena s patogenezi dalších neurodegenerativních onemocnění, a to Huntingtonovy nemoci a Parkinsonovy nemoci. Na základě tohoto zjištění, lze říci, že aloperin má neuroprotektivní účinky u různých neurodegenerativních chorob. Aloperin může zejména působit u AD jako terapeutické činidlo. [41, 65]

4.2 Alkaloidy v léčbě Parkinsonovy nemoci

Současná léčba PD nevede k vyléčení, ale pouze ke zvládnání nebo zlepšení příznaků nemoci. Terapeutické možnosti motorických příznaků mohou zlepšit léky, kterými jsou agonisté a prekurzory dopaminu, inhibitory monoaminoxidázy nebo anticholinergika. Jako prekurzor dopaminu je jeden z nejdůležitějších farmakologických léků a tím je levodopa. Inhibitory monoaminoxidázy zvyšují synaptický dopamin hladiny neurotransmitterů a také prodlužují dobu účinku levodopy. Mezi tyto inhibitory řadíme léky jako rasagilin a selegin. Do anticholinergních léků patří benztropin nebo trihexyfenidyl, které pomáhají s třesem u nemocných s PD. Většinou se podávají jen v nízké dávce, protože vykazují řadu negativních

účinků jako sucho v ústech nebo problémy se zrakem. Neuroprotektivní účinky se prokázaly u dalšího léku, kterým je amantadin. [66]

Rostlinná léčiva patří mezi důležité terapeutické zdroje pro léčbu řady onemocnění. Například kumarin a jeho příbuzné sloučeniny se vyskytují v některých léčivých bylinách, které se používaly k léčbě rakoviny nebo plísňové infekce. Podle nedávných studií kumarinové sloučeniny lze použít jako inhibitor COMT k prodloužení účinků levodopy při léčbě Parkinsonovy nemoci. Dále alizarin je hydroxyantrachinonová sloučenina, která se získává z rostliny *Rubia cordifolia* a také může působit proti PD. Další je Garcinol, který patří mezi polyfenolické sloučeniny a izoluje se z rostliny *Garcinia indica*. V budoucnu by se mohl považovat za užitečnou fyto-sloučeninu v PD. Níže si uvedeme další přírodní látky v léčbě PD o něco podrobněji. [66]

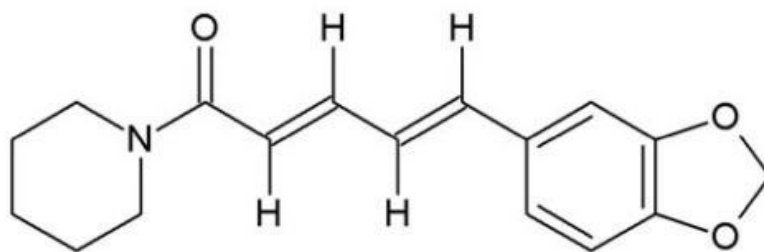
4.2.1 Piperin

Piperin je alkaloid, který se extrahuje z rostliny *Piper nigrum* (Peprůvník černý) čeledi *Piperaceae* a je schopný inhibovat monoaminoxidázu (MAO). V extraktech této rostliny se nacházejí další alkaloidy jako například piperettin, piperanin nebo pipericin. Rostlina pochází z jižní Indie a vyskytuje se nejvíce v tropických oblastech, v Brazílii nebo Indonésii. Piperin je lipofilní povahy a nerozpustný ve vodě. Tento alkaloid se vyskytuje kromě černého pepře i v bílém a zeleném. Piperin existuje ve čtyřech izomerních formách a jeho strukturu tvoří molekula dusíku. Tento alkaloid způsobuje štiplavou chuť a má celou řadu účinků, jako například protizánětlivé, antioxidační, protiprůjmové, imunomodulační, antihypertenzní nebo antimalarické. Podle terapeutických účinků a studií na buněčných modelech a myších působí piperin na zvýšení životaschopnosti buněk nebo byl schopný aktivovat autofagii stimulací aktivity proteinové fosfatázy. Ukazuje se, že by piperin mohl být účinným prostředkem na léčbu Parkinsonovy nemoci. [67, 68, 69, 70, 71]

Tento alkaloid vykazuje i neuroprotektivní účinky u různých modelů PD. Studovalo se, že při aplikaci piperinu v dávce 10 mg/kg po dobu 15 dní došlo ke zmírnění motorických deficitů. Obsah piperinu se v černém pepři pohybuje v rozmezí okolo 3-8 g/100 g. [68, 70]

Obecně jsou piperiny důležité v neuroprotekcii hlavně tím, že snižují oxidační stres, zánětlivé cytokiny nebo mitochondriální poškození. Některé studie prokázaly, že kombinovaná léčba piperinu s jinými fotochemikáliemi jako například kurkumin má pozitivní účinky. Může docházet ke zlepšení kognitivních funkcí snížením oxidačního stresu. Piperin umožňuje snižovat zánik neuronů v ischemické penumbrální zóně pomocí

protizánětlivého účinku. Perorální podávání tohoto alkaloidu zvýšilo schopnost kognitivního učení u zvířecího modelu konkrétně u myši s PD indukovaného 6-OHDA. Podle některých preklinických studií by piperin mohl procházet přes hematoencefalickou bariéru. Tyto výsledky je potřeba ještě ověřit z hlediska translačního účinku na lidi. Co se týká toxicity piperinu, tak ovlivňuje především reprodukční systém. Například u potkanů podle všeho může způsobit snížení intratestikulárního testosteronu nebo zvýšení sérových gonadotropinů. Tyto negativní reprodukční účinky se vyskytují pouze ve vyšších dávkách. Imunotoxicita při nižších dávkách piperinu nevykazovala zvýšenou toxicitu a může být považován při dávce 1,12 mg/kg jako bezpečný. Po překročení této hodnoty mohou vzniknout negativní účinky. [69, 71]



Obrázek 13: Chemická struktura piperinu [71]

4.3 Alkaloidy v léčbě ostatních neurodegenerativních onemocnění

Zde si uvedeme alkaloidy, které mají potenciál při léčbě dalších neurodegenerativních onemocnění. Jako například u Huntingtonovy nemoci, amyotrofické laterální sklerózy, Friedreichovy ataxie nebo spinocerebelární ataxie. Budou zde uvedeny i takové alkaloidy, které mohou působit na více těchto onemocnění.

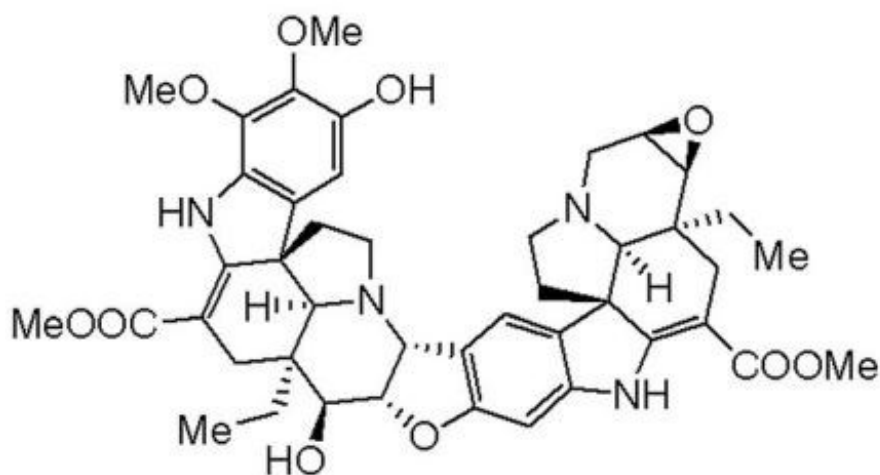
4.3.1 Konofylin

Konofylin patří mezi vinca alkaloidy a nejprve byl izolovaný z tropické rostliny *Tavernaemontana divaricate*, konkrétně z jejich listů v Malajsii. O něco později byl izolovaný z jiné rostliny s názvem *Ervatamia microphylla* opět z jejich listů, které byly sesbírané v Thajsku. [72]

Tento alkaloid je schopný indukovat autofagii. Autofagie znamená buněčnou smrt, která následně vede k nespecifické degradaci cytosolických složek. Samotná indukce autofagie by

právě proto mohla poskytnout vyhledávanou terapeutickou strategii pro neurodegenerativní onemocnění, a to hlavně Huntingtonovy nemoci nebo i Parkinsonovy nemoci. [72]

Autofagie začíná tvorbou malé částice, která má dvě membrány a jedná se o autofagozom. Vznik těchto částic je pomocí signálních kaskád včetně genových produktů, které souvisejí s autofagií. Následně dochází k fúzi autofagozomu s lysozomem, kde dochází k tomu, že vnější membrána autofagozomu se spojí s membránou lysozomu. Vnitřní membrána autofagozomu je poškozená lysozomálními hydrolázami. Proces autofagie může být i negativně ovlivněn serin/threonin proteinkinázou mTOR. Odborníci, kteří se podíleli na této studii se pokoušeli najít nové induktory na autofagii, které by měly nízkou molekulovou hmotnost. Nakonec zjistili, že alkaloid konofylin má tyto příslušné vlastnosti. U Huntingtonovy nemoci byl podle modelu konofylin schopný eliminovat mutantní agregáty huntingtinu. Také by mohl být účinný i u PD, protože dle buněčného modelu v krysím feochromocyтому PC12 se ukazuje, že konofylin potlačuje agregaci proteinů. Tyto výsledky poukazují na možné využití alkaloidu konofylinu v budoucnu jako terapeutickou možnost při léčbě HD a PD. [72]



Obrázek 14: Chemická struktura konofylinu [72]

4.3.2 Sekurinín

Sekurinín je přírodní alkaloid, který se získává rostlinou *Securinega suffruticosa*. Tato rostlina byla objevena v Mongolsku. Z této rostliny se kromě sekurinínu izolují i další alkaloidy, a to sekuritinín a allosekurinín. Alkaloid se extrahuje především z kořene rostliny, protože se v něm nachází nejvyšší množství a to 0,43 %. V listech je obsažena asi poloviční hodnota alkaloidu 0,27 % a ve stonku je ho nejméně 0,07 %. Zjistilo se, že tento alkaloid

působí jako antagonist kyseliny γ -aminomáselné a používá se na léčbu amyotrofické laterální sklerózy nebo i roztroušené sklerózy. Používá se jako analeptikum ke stimulaci CNS nebo také zvyšuje reflexní dráždivost míchy. [73, 74]

Tento alkaloid vykazuje celou řadu funkcí. Působí na regulaci exprese prozánětlivých genů. Pokud dojde k narušení hematoencefalické bariéry během různých neurologických poruch, tak mohou buňky periferní imunity vstoupit do mozku, kde uskutečňují odlišné buněčně zprostředkované účinky. Mezi buňky periferní imunity řadíme neutrofilů, monocytů nebo B a T buňky. Dále sekurinín může inhibovat jak periferní astrocyty, tak makrofágy a podílí se i na inhibici mikrogliální aktivity, což ukazuje na protizánětlivý účinek již zmíněného alkaloidu. Další studie uvádějí, že může snížit zánětlivé gliové reakce, které vznikly beta-amyloidním proteinem, pak zlepšit kognitivní problémy nebo také neurodegeneraci u krys, které byly léčené beta-amyloidním proteinem. Sekurinín vykazuje jisté neuroprotektivní účinky. [73]

4.3.3 Tetrahydropalmin

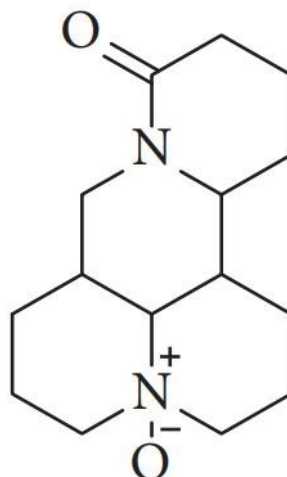
Tetrahydropalmin řadíme mezi isochinolinové alkaloidy a získává se z rostlin rodu *Corydalis* nebo *Stephania*. Tento alkaloid vykazuje především protizánětlivé, anxiolytické, kardioprotektivní a analgetické vlastnosti. Tetrahydropalmin má také pozitivní účinky na nervový systém a působí jako neuroprotektivní činidlo. [41, 75]

Při léčbě tímto alkaloidem došlo dle odborných studií ke zlepšení poruch paměti, které byly způsobené D-galaktózou ve spojení se snížením hladin malondialdehydu, oxidu dusnatého a také zvýšením hladin glutathionu, aktivity katalázy a superoxid dismutázy. Tetrahydropalmin vykazuje ochranný účinek proti oxidačnímu stresu, který je vyvolán ketaminem u myši. Navíc je také schopný snížit expresi IL-1 β , IL-6 a TNF- α nebo indukovat expresi proteinu neurotrofního faktoru, který je odvozený u myši z gliových buněk vyvolaných ketaminem. Tetrahydropalmin působí jako antagonist dopaminového receptoru, který může chránit před poruchami paměti způsobenými metamfetaminem. Byly provedeny výzkumy a studie, zda tetrahydropalmin může zlepšit cholinergní účinky prostřednictvím regulace hladiny acetylcholinu a hladiny acetylcholinesterázy. Ukázalo se, že by tento alkaloid mohl zlepšit dysfunkci cholinergního systému. [41, 75]

4.3.4 Oxymatrin

Oxymatrin je jedním z chinolizidinových alkaloidů, který se extrahuje z kořene rostliny *Sophora flavescens*. Má celou řadu účinků jako například antialergické, antivirové, antifibrotické, protizánětlivé, protirakovinné a kardiovaskulární vlastnosti. [41, 76, 77]

Tento alkaloid je nadějným zástupcem pro léčbu neurodegenerativních onemocnění, protože je schopný zeslabovat beta amyloid (1-42), který je zodpovědný za neurotoxicitu v nervových buňkách a za kognitivní poruchy u krys. Díky tomu má oxymatrin pozitivní účinky proti Alzheimerově chorobě, kde u myšičího modelu došlo ke zlepšení kognitivních funkcí a schopnosti se učit. Oxymatrin má také kladný vliv na Parkinsonovu nemoc. Oxymatrin díky katepsinu D výrazně zmírní PD, která je vyvolaná 1-methyl-4-fenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridinem, a to zajistí neuroprotektci na bázi dopaminu. Podle dalších studií na myšičích modelech bylo objeveno, že má tento alkaloid i neuroprotektivní účinky a také může zlepšit motorické funkce. V budoucnu může být oxymatrin potenciálním lékem pro léčbu dalšího neurodegenerativního onemocnění, a to Amyotrofické laterální sklerózy. [41, 76, 77]



Obrázek 15: Chemická struktura oxymatrinu [41]

4.3.5 Harmin

Harmin patří do skupiny β -karbolinových alkaloidů a vyskytuje se ve více rostlinách. Nejčastěji se tento alkaloid získává ze semen rostliny *Peganum harmala*. Harmin vykazuje neuroprotektivní, protinádorové, antibakteriální a antioxidační účinky. [41, 78]

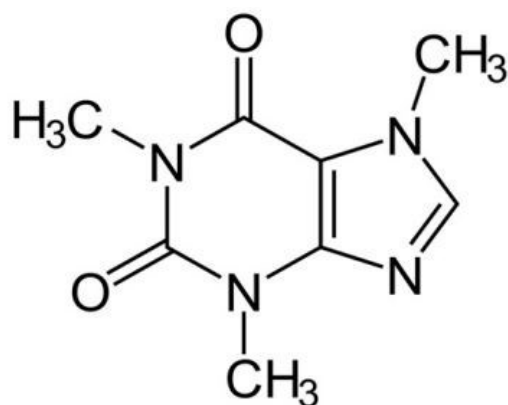
Při perorálním podání harminu došlo ke zlepšení poruchy paměti, a to zvýšením cholinergní funkce pomocí inhibice acetylcholinesterázy u myši, po vyvolání skopolaminem. Harmin by tedy v budoucnu mohl být účinný v léčbě neurodegenerativních onemocnění.

Podle dalších studií je tento alkaloid schopný procházet i hematoencefalickou bariérou a potlačit růst glioblastomu in vivo a in vitro. [41, 78]

4.3.6 Kofein

Kofein je považován za jednu z nejrozšířenějších psychoaktivních látek, a to zejména pro své psychostimulační účinky. Je obsažen v řadě nápojů jako například v kávě, energetických nápojích nebo čaji. Obsah kofeinu v kávových zrnech je zhruba kolem hodnoty 10,0-12,0 mg kofeinu/g kávového zrna. [79, 80]

Tento alkaloid je metabolizován v játrech především izoenzymem CYP1A2 na tři dimethylxantiny včetně theobrominu, theofylinu a paraxantinu, přičemž každý z těchto zástupců má své vlastní účinky na organismus. Kofein je také schopný snižovat tvorbu reaktivních forem kyslíku. Bylo prokázáno dle studií na krysích modelech, že chronický přísun kofeinu zlepšuje mitochondriální funkci a zmírňuje působení oxidačního stresu. Při léčbě kofeinem došlo ke snížení produkce beta amyloidu, tau fosforylace a již zmíněné tvorby reaktivních forem kyslíku. Tyto zmíněné účinky jsou důležité především ke snižování rizika u Alzheimerovy nemoci. Kofein dále snižuje jak aktivaci mikrogliaálních buněk, tak uvolňování cytokinů a glutamátu a tím zabraňuje poškození v substantia nigra, což je podstatné pro terapii PD. Podle dosud známých účinků kofeinu bylo prozkoumáno, že ovlivňuje patofyziologii různých neurodegenerativních onemocnění, a to hlavně Parkinsonovy nemoci, Alzheimerovy a Huntingtonovy nemoci a Amyotrofické laterální sklerózy. [79, 80]



Obrázek 16: Chemická struktura kofeinu [81]

5 ZHODNOCENÍ TERAPEUTICKÉHO POTENCIÁLU ALKALOIDŮ PRO LÉČBU NEURODEGENERATIVNÍCH ONEMOCNĚNÍ

Neurodegenerativní onemocnění řadíme mezi chronické nemoci, které neumíme vyléčit, ale hledají se možné léky na jejich léčbu. V současné době existují takové možnosti léčby, díky kterým pacienti s neurodegenerativním onemocněním pocíťují pouze symptomatickou úlevu. Přírodní produkty jsou obzvláště důležitým zdrojem pro léčbu, zejména pak alkaloidy jsou studovány v souvislosti s potenciálně terapeutickými účinky. [40, 82]

Podle odborných článků, kde byly studovány vlastnosti některých alkaloidů a mechanismus jejich působení na jednotlivá neurodegenerativní onemocnění se zjistilo, že dokáží ochránit nervové buňky. Chrání například před oxidačním stresem, neurozánětem, apoptózou nebo excitotoxicitou. [40, 82]

V současné době se k léčbě neurodegenerativních onemocnění hojně využívá galanthamin, který má velmi pozitivní vliv na Alzheimerovu nemoc. Existuje však celá řada dalších alkaloidů, které mají vysoký potenciál v terapii těchto onemocnění. Mezi tyto alkaloidy patří například huperzin A, berberin, aloperin, tetrahydropalmitin nebo kofein. Většina je však stále ještě ve fázi testování. Neurodegenerativní onemocnění úzce souvisí s věkem, tedy čím je člověk starší, tak je vyšší riziko jejich vzniku. Vzhledem ke zvyšující se incidenci těchto neurodegenerativních onemocnění zároveň roste zájem o studium těchto alkaloidů.

6 ZÁVĚR

Tato bakalářská práce se zabývá základní charakteristikou, rozdělením a využitím alkaloidů v léčbě neurodegenerativních onemocnění. Je zaměřena především na popis jednotlivých neurodegenerativních onemocnění, jako je Alzheimerova nemoc, Parkinsonova nemoc, Huntingtonova nemoc, spinocerebelární ataxie, amyotrofická laterální skleróza a Friedreichova ataxie. V práci jsou popsány také základní mechanismy terapeutického působení alkaloidů. Je zde uveden výčet alkaloidů, které mají potenciál v léčbě neurodegenerativních onemocnění.

Současné studie ukazují, že řada alkaloidů může příznivě ovlivnit průběh těchto onemocnění. Některé alkaloidy jako galanthamin nebo huperzin A se již využívají v léčbě Alzheimerovy nemoci. Řada potencionálně terapeutických alkaloidů jako je například tetrandrin, harmin nebo aloperin jsou zatím ve fázi výzkumu, proto by v budoucnu mohly patřit ke slibným kandidátům na léčbu neurodegenerativních onemocnění.

7 POUŽITÁ LITERATURA

- [1] SPILKOVÁ, Jiřina, Jan MARTIN, Tomáš SIATKA, Lenka Tůmová a Marie Kašparová. Farmakognozie. 1. vydání, Univerzita Karlova v Praze, nakladatelství Karolinum, 2016, s. 346. ISBN 978-80-246-3294-0.
- [2] MORROW, Garry W. Bioorganic Synthesis: An Introduction. Oxford University Press, 2016, s. 456 . ISBN 978-0199860524.
- [3] XU, Rensheng, Yang YE a Weimin ZHAO. Introduction to Natural Products Chemistry. 1. vydání, Taylor & Francis Group, 2011, s. 381. ISBN 978-1-4398-6077-9.
- [4] KOSKINEN, Ari M. P. Asymmetric Synthesis of Natural Products. 2. vydání, John Wiley & Sons, Incorporated, 2012, s. 324. ISBN 9781118347324.
- [5] YUN, Dahye, So Young YOON, Soo Jung PARK a Yoon Jung PARK. The Anticancer Effect of Natural Plant Alkaloid Isoquinolines. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, **22**(4). doi: 10.3390/ijms22041653
- [6] DUDALA, Sai Sushma, T. C. VENKATESWARULU, Sushma Chandulee KANCHARLA, Vidya Prabhakar KODALI a D. Johan BABU. A review on importance of bioactive compounds of medicinal plants in treating idiopathic pulmonary fibrosis (special emphasis on isoquinoline alkaloids). *Future Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2021, **7**(1). doi: 10.1186/s43094-021-00304-5
- [7] LOPEZ, Patricia, Diana P. K. H. PEREBOOM-DE FAUW, Patrick P. J. MULDER, Martien SPANJER, Joyce DE STOPPELAAR, Hans G. J. MOL a Monique DE NIJS. Straightforward analytical method to determine opium alkaloids in poppy seeds and bakery products. *Food Chemistry*. 2018, **242**, 443-450. doi: 10.1016/j.foodchem.2017.08.045
- [8] MITRA, Saikat, Shajuthi Rahman PROVA, Sifat Ara SULTANA, Rajib DAS, Firzan NAINU, Talha Bin EMRAN, Abu Montakim TAREQ, Md. Sahab UDDIN, Ali M. ALQAHTANI, Kuldeep DHAMA a Jesus SIMAL-GANDARA. Therapeutic potential of indole alkaloids in respiratory diseases: A comprehensive review. *Phytomedicine*. 2021, **90**. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153649

- [9] TORRES SUAREZ, Elaine, Diana Susana GRANADOS-FALLA, Sara Maria ROBLEDO, Javier MURILLO, Yulieth UPEQUI, Gabriela DELGADO a Henk. D. F. H. SCHALLIG. Antileishmanial activity of synthetic analogs of the naturally occurring quinolone alkaloid N-methyl-8-methoxyflindersin. *PLOS ONE*. 2020, **15**(12). doi: 10.1371/journal.pone.0243392
- [10] ARCELLA, Davide, Andrea ALTIERI a Zsuzsanna HORVÁTH. Human acute exposure assessment to tropane alkaloids. *EFSA Journal*. 2018, **16**(2). doi: 10.2903/j.efsa.2018.5160
- [11] RUSINA, Robert, Radoslav MATĚJ, Aleš BARTOŠ, Ondřej BEZDÍČEK, Eva BOLCEKOVÁ, Marie BUNCOVÁ, Zsolt CSÉFALVAY, Vladimír GREGOR, Iva HOLMEROVÁ, Jakub HORT, Silvie JOHANIDESOVÁ, Gabor G. KOVACS, Otakar KELLER, Jiří KELLER, Jan LACZÓ, Tomáš NIKOLAI, Michaela PEŠKEOVÁ, Irena REKTOROVÁ, Zdeněk ROHAN, Jan ROTH, Evžen RŮŽIČKA, Kateřina STOREY, Karel ŠONKA, Šárka ŠPECIÁNOVÁ, Tereza UHROVÁ, Martin VYHNÁLEK, Emílie VYHNÁLKOVÁ, Oldřich VYŠATA a Alena ZUMROVÁ. Neurodegenerativní onemocnění. Nakladatelství Mladá fronta a. s., Praha, 2014, s. 362. ISBN 978-80-204-3300-8.
- [12] OU, Guan-yong, Wen-wen LIN a Wei-jiang ZHAO. Neuregulins in Neurodegenerative Diseases. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2021, **13**. doi: 10.3389/fnagi.2021.662474
- [13] GAO, Yong-Lei, Nan WANG, Fu-Rong SUN, Xi-Peng CAO, Wei ZHANG a Jin-Tai YU. Tau in neurodegenerative disease. *Annals of Translational Medicine*. 2018, **6**(10). doi: 10.21037/atm.2018.04.23
- [14] ZVĚŘOVÁ, Martina. Alzheimerova demence. Nakladatelství Grada Publishing a. s., Praha, 2017, s. 144. ISBN 978-80-271-0561-8.
- [15] ARMSTRONG, Richard. What causes neurodegenerative disease? *Folia Neuropathologica*. 2020, **58**(2), 93-112. doi: 10.5114/fn.2020.96707
- [16] LANE, C. A., J. HARDY a J. M. SCHOTT. Alzheimer's disease. *European Journal of Neurology*. 2018, **25**(1), 59-70. doi: 10.1111/ene.13439

- [17] FISH, Paul V., David STEADMAN, Elliott D. BAYLE a Paul WHITING. New approaches for the treatment of Alzheimer's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2019, **29**(2), 125-133. doi: 10.1016/j.bmcl.2018.11.034
- [18] KOZÁKOVÁ, Radka. Podpůrná a paliativní péče u pacientů s Parkinsonovou nemocí. Nakladatelství Grada Publishing a. s., Praha, 2020, s. 128. ISBN 978-80-271-2896-9.
- [19] KLANN, Emily M., Upuli DISSANAYAKE, Anjela GURRALA, Matthew FARRER, Aparna Wagle SHUKLA, Adolfo RAMIREZ-ZAMORA, Volker MAI a Vinata VEDAM-MAI. The Gut–Brain Axis and Its Relation to Parkinson's Disease: A Review. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2022, **13**. doi: 10.3389/fnagi.2021.782082
- [20] FIELDS, Carroll Rutherford, Nora BENGEOA-VERGNIORY a Richard WADE-MARTINS. Targeting Alpha – Synuclein as a Therapy for Parkinson's Disease. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2019, **12**. doi: 10.3389/fnmol.2019.00299
- [21] NIEMANN, Nicki, Andrew BILLNITZER a Joseph JANKOVIC. Parkinson's disease and skin. *Parkinsonism & Related Disorders*. 2021, **82**, 61-76. doi:10.1016/j.parkreldis.2020.11.017
- [22] LIN, Jing-ya, Cheng-long XIE, Su-fang ZHANG, Weien YUAN a Zhen-Guo LIU. Current Experimental Studies of Gene Therapy in Parkinson's Disease. *Frontiers in Aging Neuroscience*. 2017, **9**. doi: 10.3389/fnagi.2017.00126
- [23] NUTT, John G., Carolin CURTZE, Amie HILLER, Shannon ANDERSON, Paul S. LARSON, Amber D. VAN LAAR, R. Mark RICHARDSON, Marin E. THOMPSON, Alexander SEDKOV, Mika LEINONEN, Bernard RAVINA, Krystof S. BANKIEWICZ a Chadwick W. CHRISTINE. Aromatic L-Amino Acid Decarboxylase Gene Therapy Enhances Levodopa Response in Parkinson's Disease. *Movement Disorders*. 2020, **35**(5), 851-858. doi: 10.1002/mds.27993
- [24] SOUSA, Cristovao Marques a Sandrine HUMBERT. Huntingtin: Here, There, Everywhere! *Journal of Huntington's Disease*. 2013, **2**(4), 395-403. doi: 10.3233/JHD-130082
- [25] ARACIL-BOLANOS, Ignacio, Saul MARTINEZ-HORTA, Jose M. GONZALEZ-DE-ECHAVARRI, Frederic SAMPEDRO, Jesus PEREZ-PEREZ, Andrea HORTA-BARBA, Antonia CAMPOLONGO, Cristina IZQUIERDO, Beatriz GOMEZ-ANSON,

- Javier PAGONABARRAGA a Jaime KULISEVSKY. Structure and Dynamics of Large-Scale Cognitive Networks in Huntington's Disease. *Movement Disorders*. 2021, **37**(2), 343-353. doi: 10.1002/mds.28839
- [26] OLLA, Ivana, Maria SANTOS-GALINDO, Ainara ELORZA a Jose J. LUCAS. P2X7 Receptor Upregulation in Huntington's Disease Brains. *Frontiers in Molecular Neuroscience*. 2020, **13**. doi: 10.3389/fnmol.2020.567430
- [27] PODVIN, Sonia, Holly T. REARDON, Katrina YIN, Charles MOSIER a Vivian HOOK. Multiple clinical features of Huntington's disease correlate with mutant HTT gene CAG repeat lengths and neurodegeneration. *Journal of Neurology*. 2019, **266**(3), 551-564. doi: 10.1007/s00415-018-8940-6
- [28] SULLIVAN, Roisin, Wai Yan YAU, Emer O'CONNOR a Henry HOULDEN. Spinocerebellar ataxia: an update. *Journal of Neurology*. 2019, **266**(2), 533-544. doi: 10.1007/s00415-018-9076-4
- [29] AMINAH, Siti, Fathul HUDA, Uni GAMAYANI, Iin PUSPARINI, Mochammad Faisal Afif MOCHYADIN, Yunia SRIBUDIANI, Norlinah Mohamed IBRAHIM a Tri Hanggono ACHMAD. Clinical and genetic profile in index patients with spinocerebellar ataxia type 3 in Indonesia: case report. *Heliyon*. 2021, **7**(7). doi: 10.1016/j.heliyon.2021.e07519
- [30] SCOTT, Stephanie Suzanne de Oliveira, José Luiz PEDROSO, Orlando Graziani Povoas BARSOTTINI, Marcondes Cavalcante FRANÇA-JUNIOR a Pedro BRAGANETO. Natural history and epidemiology of the spinocerebellar ataxias: Insights from the first description to nowadays. *Journal of the Neurological Sciences*. 2020, **417**. doi: 10.1016/j.jns.2020.117082
- [31] WU, Fan, Xu WANG, Xiaohan LI, Huidi TENG, Tao TIAN a Jing BAI. Spinocerebellar ataxia type 23 (SCA23): a review. *Journal of Neurology*. 2021, **268**(12), 4630-4645. doi: 10.1007/s00415-020-10297-5
- [32] GOUTMAN, Stephen A., Orla HARDIMAN, Ammar AL-CHALABI, Adriano CHIÓ, Masha G. SAVELIEFF, Matthew C. KIERNAN a Eva L. FELDMAN. Emerging insights into the complex genetics and pathophysiology of amyotrophic lateral sclerosis. *The Lancet Neurology*. 2022. doi: 10.1016/S1474-4422(21)00414-2

- [33] MORGAN, Sarah a Richard W. ORRELL. Pathogenesis of amyotrophic lateral sclerosis. *British Medical Bulletin*. 2016, **119**(1), 87-97. doi: 10.1093/bmb/ldw026
- [34] LECHTZIN, Noah, Merit E. CUDKOWICZ, Mamede DE CARVALHO, Angela GENGE, Orla HARDIMAN, Hiroshi MITSUMOTO, Jesus S. MORA, Jeremy SHEFNER, Leonard H. VAN DEN BERG a Jinsy A. ANDREWS. Respiratory measures in amyotrophic lateral sclerosis. *Amyotrophic Lateral Sclerosis and Frontotemporal Degeneration*. 2018, **19**(5-6), 321-330. doi: 10.1080/21678421.2018.1452945
- [35] LEE, Samuel M., Seneshaw ASRESS, Chadwick M. HALES, Marla GEARING, Juan C. VIZCARRA, Christina N. FOURNIER, David A. GUTMAN, Lih-Shen CHIN, Lian LI a Jonathan D. GLASS. TDP-43 cytoplasmic inclusion formation is disrupted in C9orf72-associated amyotrophic lateral sclerosis/frontotemporal lobar degeneration. *Brain Communications*. 2019, **1**(1). doi: 10.1093/braincomms/fcz014
- [36] SUK, Terry R. a Maxime W. C. ROUSSEAU. The role of TDP-43 mislocalization in amyotrophic lateral sclerosis. *Molecular Neurodegeneration*. 2020, **15**(1). doi: 10.1186/s13024-020-00397-1
- [37] COOK, A. a P. GIUNTI. Friedreich's ataxia: clinical features, pathogenesis and management. *British Medical Bulletin*. 2017, **124**(1), 19-30. doi: 10.1093/bmb/ldx034
- [38] ZHANG, Siyuan, Marek NAPIERALA a Jill S. NAPIERALA. Therapeutic Prospects for Friedreich's Ataxia. *Trends in Pharmacological Sciences*. 2019, **40**(4), 229-233. doi: 10.1016/j.tips.2019.02.001
- [39] LEES, Jarmon G., Marek NAPIERALA, Alice PÉBAY, Mirella DOTTORI a Shiang Y. LIM. Cellular pathophysiology of Friedreich's ataxia cardiomyopathy. *International Journal of Cardiology*. 2022, **346**, 71-78. doi: 10.1016/j.ijcard.2021.11.033
- [40] KONG, Yew Rong, Kai Ching TAY, Yi Xiang SU, Choon Kwang WONG, Wen Nee TAN a Kooi Yeong KHAW. Potential of Naturally Derived Alkaloids as Multi-Targeted Therapeutic Agents for Neurodegenerative Diseases. *Molecules*. 2021, **26**(3). doi: 10.3390/molecules26030728
- [41] ARYAL, Babita, Bimal Kumar RAUT, Salyan BHATTARAI, Sobika BHANDARI, Parbati TANDAN, Kabita GYAWALI, Kabita SHARMA, Deepa RANABHAT,

- Ranjita THAPA, Dipa ARYAL, Atul OJHA, Hari Prasad DEVKOTA a Niranjana PARAJULI. Potential Therapeutic Applications of Plant-Derived Alkaloids against Inflammatory and Neurodegenerative Diseases. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*. 2022, **2022**, 1-18. doi: 10.1155/2022/7299778
- [42] PHANIENDRA, Alugoku, Dinesh Babu JESTADI a Latha PERIYASAMY. Free Radicals: Properties, Sources, Targets, and Their Implication in Various Diseases. *Indian Journal of Clinical Biochemistry*. 2015, **30**(1), 11-26. doi:10.1007/s12291-014-0446-0
- [43] LIMANAQI, Fiona, Francesca BIAGIONI, Federica MASTROIACOVO, Maico POLZELLA, Gloria LAZZERI a Francesco FORNAI. Merging the Multi-Target Effects of Phytochemicals in Neurodegeneration: From Oxidative Stress to Protein Aggregation and Inflammation. *Antioxidants*. 2020, **9**(10). doi: 10.3390/antiox9101022
- [44] CHEN, Xin, Joshua DREW, Wren BERNEY a Wei LEI. Neuroprotective Natural Products for Alzheimer's Disease. *Cells*. 2021, **10**(6). doi: 10.3390/cells10061309
- [45] CAHLÍKOVÁ, Lucie, Rudolf VRABEC, Filip PIDANÝ, Rozálie PEŘINOVÁ, Negar MAAFI, Abdullah AL MAMUN, Aneta RITOMSKÁ, Viriyanata WIJAYA a Gerald BLUNDEN. Recent Progress on Biological Activity of Amaryllidaceae and Further Isoquinoline Alkaloids in Connection with Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2021, **26**(17). doi: 10.3390/molecules26175240
- [46] KAUR, Harmeet, Swati CHAHAL, Priyanka JHA, Manoj M. LEKHAK, Mahipal S. SHEKHAWAT, Devashan NAIDOO, Ariel D. ARENCIBIA, Sergio J. OCHATT a Vijay KUMAR. Harnessing plant biotechnology-based strategies for in vitro galanthamine (GAL) biosynthesis: a potent drug against Alzheimer's disease. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*. 2022, **149**(1-2), 81-103. doi: 10.1007/s11240-022-02229-0
- [47] DYMEK, Aleksandra a Tomasz MROCZEK. Methods of isolation and bioactivity of alkaloids obtained from selected species belonging to the Amaryllidaceae and Lycopodiaceae families. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*. 2021, **34**(2), 81-86. doi: 10.2478/cipms-2021-0016
- [48] TARAKEMEH, Ameneh, Majid AZIZI, Vahid ROWSHAN, Hassan SALEHI, Rosella SPINA, François DUPIRE, Hossein AROUIE a Dominique LAURAIN-MATTAR.

Screening of Amaryllidaceae alkaloids in bulbs and tissue cultures of *Narcissus papyraceus* and four varieties of *N. tazetta*. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2019, **172**, 230-237. doi: 10.1016/j.jpba.2019.04.043

- [49] KHANAL, Pukar, Farshid ZARGARI, Bahareh Farasati FAR, Dharmendra KUMAR, Mogana R., Yasir K. MAHDI, Najwan K. JUBAIR, Shailendra K. SARAF, Parveen BANSAL, Ranjit SINGH, Malarvili SELVARAJA a Yadu Nandan DEY. Integration of System Biology Tools to Investigate Huperzine A as an Anti-Alzheimer Agent. *Frontiers in Pharmacology*. 2021, **12**. doi: 10.3389/fphar.2021.785964
- [50] SHAN, Wei-Guang, Feng-Yun REN, You-Min YING, Cui-Ping TONG a Zha-Jun ZHAN. A New Lycopodine Alkaloid from *Huperzia Serrata*. *Journal of Chemical Research*. 2012, (1), 15-16. doi: 10.3184/174751912X13249872110014
- [51] GUL, Amara, Jehan BAKHT a Farah MEHMOOD. Huperzine-A response to cognitive impairment and task switching deficits in patients with Alzheimer's disease. *Journal of the Chinese Medical Association*. 2019, **82**(1), 40-43. doi: 10.1016/j.jcma.2018.07.004
- [52] FRIEDLI, María Jesús a Nibaldo C. INESTROSA. Huperzine A and Its Neuroprotective Molecular Signaling in Alzheimer's Disease. *Molecules*. 2021, **26**(21). doi: 10.3390/molecules26216531
- [53] SOHEL, Shariar Md. Abu a Till OPATZ. Synthetic approaches towards huperzine A and B. *Arkivoc*. 2014, (1), 92-108. doi: 10.3998/ark.5550190.p008.313
- [54] DAMAR, Ugur, Roman GERSNER, Joshua T. JOHNSTONE, Steven SCHACHTER a Alexander ROTENBERG. Huperzine A: A promising anticonvulsant, disease modifying, and memory enhancing treatment option in Alzheimer's disease. *Medical Hypotheses*. 2017, **99**, 57-62. doi: 10.1016/j.mehy.2016.12.006
- [55] ZENG, Peng, Hong-Fei SU, Chao-Yuan YE, Shuo-Wen QIU a Qing TIAN. Therapeutic Mechanism and Key Alkaloids of *Uncaria rhynchophylla* in Alzheimer's Disease From the Perspective of Pathophysiological Processes. *Frontiers in Pharmacology*. 2021, **12**. doi: 10.3389/fphar.2021.806984
- [56] ZENG, Peng, Xiao-Ming WANG, Chao-Yuan YE, Hong-Fei SU a Qing TIAN. The Main Alkaloids in *Uncaria rhynchophylla* and Their Anti-Alzheimer's Disease

Mechanism Determined by a Network Pharmacology Approach. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021, **22**(7). doi: 10.3390/ijms22073612

- [57] NDAGIJIMANA, Andre, Xiaoming WANG, Guixiang PAN, Fan ZHANG, Hong FENG a Olajide OLALEYE. A review on indole alkaloids isolated from *Uncaria rhynchophylla* and their pharmacological studies. *Fitoterapia*. 2013, **86**, 35-47. doi: 10.1016/j.fitote.2013.01.018
- [58] CAI, Zhiyou, Chuanling WANG a Wenming YANG. Role of berberine in Alzheimer's disease. *Neuropsychiatric Disease and Treatment*. 2016, **12**, 2509-2520. doi: 10.2147/NDT.S114846
- [59] GARGALLO, R., A. AVIÑÓ, R. ERITJA, P. JAROSOVA, S. MAZZINI, L. SCAGLIONI a P. TABORSKY. Study of alkaloid berberine and its interaction with the human telomeric i-motif DNA structure. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2021, **248**. doi: 10.1016/j.saa.2020.119185
- [60] AKBAR, Moazzama, Anam SHABBIR, Kanwal REHMAN, Muhammad Sajid Hamid AKASH a Muhammad Ajmal SHAH. Neuroprotective potential of berberine in modulating Alzheimer's disease via multiple signaling pathways. *Journal of Food Biochemistry*. 2021, **45**(10). doi: 10.1111/jfbc.13936
- [61] REN, Defang, Yu FU, Li WANG, Jianqin LIU, Xia ZHONG, Jiyuan YUAN, Chaoli JIANG, Honglian WANG a Zhi LI. Tetrandrine ameliorated Alzheimer's disease through suppressing microglial inflammatory activation and neurotoxicity in the 5XFAD mouse. *Phytomedicine*. 2021, **90**. doi: 10.1016/j.phymed.2021.153627
- [62] ZHAO, Qian, Xi JIA, Yuanyuan ZHANG, Yiping DONG, Yutiantian LEI, Xinyue TAN, Ramone A. WILLIAMSON, Aiyang WANG, Dan ZHANG a Jinlu MA. Tetrandrine induces apoptosis in human neuroblastoma through regulating the Hippo/YAP signaling pathway. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2019, **513**(4), 846-851. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.04.075
- [63] SINGH, Deepali, Apurva AGRAWAL, Chitra Mohinder Singh SINGAL, Hriday Shanker PANDEY, Pankaj SETH a Shiv Kumar SHARMA. Sinomenine inhibits amyloid beta-induced astrocyte activation and protects neurons against indirect toxicity. *Molecular Brain*. 2020, **13**(1). doi: 10.1186/s13041-020-00569-6

- [64] ZHOU, Xiao-Qing a Ke-Wu ZENG. Advances in anti-inflammatory and immunoregulatory mechanisms of sinomenine. *Traditional medicine research*. 2021, **6**(1). doi: 10.12032/TMR20200814194
- [65] ZHAO, Jing, Ge ZHANG, Min LI, Qinghua LUO, Yu LENG a Xu LIU. Neuroprotective effects of aloperine in an Alzheimer's disease cellular model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2018, **108**, 137-143. doi: 10.1016/j.biopha.2018.09.008
- [66] KHAN, Sidrah Tariq, Sagheer AHMED, Saima GUL, Ajmal KHAN a Ahmed AL-HARRASI. Search for safer and potent natural inhibitors of Parkinson's disease. *Neurochemistry International*. 2021, **149**. doi: 10.1016/j.neuint.2021.105135
- [67] AL-BAGHDADI, Osamah B., Natalie I. PRATER, Cornelis J. VAN DER SCHYF a Werner J. GELDENHUYS. Inhibition of monoamine oxidase by derivatives of piperine, an alkaloid from the pepper plant *Piper nigrum*, for possible use in Parkinson's disease. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2012, **22**(23), 7183-7188. doi: 10.1016/j.bmcl.2012.09.056
- [68] LIU, Jia, Min CHEN, Xue WANG, Yi WANG, Chunli DUAN, Ge GAO, Lingling LU, Xia WU, Xiaomin WANG a Hui YANG. Piperine induces autophagy by enhancing protein phosphatase 2A activity in a rotenone-induced Parkinson's disease model. *Oncotarget*. 2016, **7**(38), 60823-60843. doi: 10.18632/oncotarget.11661
- [69] TRIPATHI, Amit Kumar, Anup Kumar RAY a Sunil Kumar MISHRA. Molecular and pharmacological aspects of piperine as a potential molecule for disease prevention and management: evidence from clinical trials. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*. 2022, **11**(1). doi: 10.1186/s43088-022-00196-1
- [70] AZIZ, Dara Muhammed, Jawameer Rasool HAMA a Sarwar M. ALAM. Synthesising a novel derivatives of piperine from black pepper (*Piper nigrum* L.). *Journal of Food Measurement and Characterization*. 2015, **9**(3), 324-331. doi: 10.1007/s11694-015-9239-2
- [71] HAQ, Iahisham-Ul, Muhammad IMRAN, Muhammad NADEEM, Tabussam TUFAIL, Tanweer A. GONDAL a Mohammad S. MUBARAK. Piperine: A review of its biological effects. *Phytotherapy Research*. 2021, **35**(2), 680-700. doi: 10.1002/ptr.6855

- [72] UMEZAWA, Kazuo, Itaru KOJIMA, Siro SIMIZU, Yinzhi LIN, Hitomi FUKATSU, Naoki KOIDE, Yukiomi NAKADE a Masashi YONEDA. Therapeutic activity of plant-derived alkaloid conophylline on metabolic syndrome and neurodegenerative disease models. *Human Cell*. 2018, **31**(2), 95-101. doi: 10.1007/s13577-017-0196-4
- [73] LEONOUDAKIS, Dmitri, Anand RANE, Suzanne ANGELI, Gordon J. LITHGOW, Julie K. ANDERSEN a Shankar J. CHINTA. Anti-Inflammatory and Neuroprotective Role of Natural Product Securinine in Activated Glial Cells: Implications for Parkinson's Disease. *Mediators of Inflammation*. 2017, 1-11. doi: 10.1155/2017/8302636
- [74] KURBANOV, U. Kh., B. TASHKHODJAEV, M. G. LEVKOVICH, V. P. BRUSKOV, N. I. MUKARRAMOV a N. D. ABDULLAEV. Main Alkaloids of *Securinega suffruticosa*. Nitrogen Atom Inversion in Securinine. *Journal of Structural Chemistry*. 2019, **60**(9), 1489-1495. doi: 10.1134/S0022476619090142
- [75] QU, Zhuo, Jingze ZHANG, Honggai YANG, Liqin HUO, Jing GAO, Hong CHEN a Wenyan GAO. Protective effect of tetrahydropalmatine against d-galactose induced memory impairment in rat. *Physiology & Behavior*. 2016, **154**, 114-125. doi: 10.1016/j.physbeh.2015.11.016
- [76] ZHANG, Jian, Dongxiao LI, Guofeng YANG, Xiangjian ZHANG, Lin CHEN, Yingzhen ZHANG, Xiaoming QI, Yi LI a Yansu GUO. Oxymatrine Extends Survival by Attenuating Neuroinflammation in a Mouse Model of Amyotrophic Lateral Sclerosis. *Neuroscience*. 2021, **465**, 11-22. doi:10.1016/j.neuroscience.2021.04.019
- [77] CHEN, Yun, Ziyu QI, Baojun QIAO, Zhanyun LV, Yanlei HAO a Hongfang LI. Oxymatrine can attenuate pathological deficits of Alzheimer's disease mice through regulation of neuroinflammation. *Journal of Neuroimmunology*. 2019, **334**. doi: 10.1016/j.jneuroim.2019.576978
- [78] ZHU, Yu-Ge, Yun-Xia LV, Chen-Yi GUO, Zhi-Min XIAO, Qun-Guang JIANG, Huang KUANG, Wen-Hua ZHANG a Ping HU. Harmine inhibits the proliferation and migration of glioblastoma cells via the FAK/AKT pathway. *Life Sciences*. 2021, **270**. doi: 10.1016/j.lfs.2021.119112

- [79] KOLAHDOUZAN, Mahshad a Mazen J. HAMADEH. The neuroprotective effects of caffeine in neurodegenerative diseases. *CNS Neuroscience & Therapeutics*. 2017, **23**(4), 272-290. doi: 10.1111/cns.12684
- [80] REN, Xiangpeng a Jiang-Fan CHEN. Caffeine and Parkinson's Disease: Multiple Benefits and Emerging Mechanisms. *Frontiers in Neuroscience*. 2020, **14**. doi: 10.3389/fnins.2020.602697
- [81] REZAEI, Homa, Elaheh RAHIMPOUR, Fleming MARTINEZ a Abolghasem JOUYBAN. Solubility of caffeine in carbitol + ethanol mixture at different temperatures. *Journal of Molecular Liquids*. 2020, **301**. doi: 10.1016/j.molliq.2020.112465
- [82] PÉREZ-HERNÁNDEZ, Jesús, Víctor Javier ZALDÍVAR-MACHORRO, David VILLANUEVA-PORRAS, Elisa VEGA-ÁVILA a Anahí CHAVARRÍA. A Potential Alternative against Neurodegenerative Diseases: Phytodrugs. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. 2016, **2016**, 1-19. doi: 10.1155/2016/8378613