

Экспериментальная и профилактическая медицина

УДК 612.44.018:616.893-053.8-092.9

***In vivo* электрофизиологическое исследование эффектов  
однократного и хронического системного применения  
экстракта гидропонического  
*Teucrium polium***

В. А. Чавушян<sup>1</sup>, К. В. Симонян<sup>1</sup>, А. М. Галстян<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Институт физиологии им. Л.А. Орбели НАН РА

<sup>2</sup>Институт проблем гидропоники им. Г.С. Давтяна НАН РА  
0028, Ереван, ул. Бр. Орбели, 22

**Ключевые слова:** гидропонический дубровник беловойлочный, флавоноиды, базальное ядро Мейнерта, синаптическая активность, ГАМК

Изучение мультифункциональных свойств биоактивных компонентов нейропротекторных лекарственных растений, оказывающих различные воздействия на холин-, ГАМК-, глутамин-, серотонин-, гистаминергические системы, остается актуальным [11]. Возросший в последнее время интерес к флавоноидам растительного происхождения обусловлен их модуляторной функцией на рецепторы ГАМК<sub>A</sub> в головном мозге. Возрождается интерес к синтетическим и растительным флавоноидам, как аллостерическим модуляторам функции ГАМК<sub>A</sub> рецепторов, оказывающих тормозное влияние в головном мозге [10]. Область интересов включает: 1) флумазенил-нечувствительную модуляцию ГАМК<sub>A</sub>-рецепторной функции флавоноидами; 2) способность некоторых флавоноидов действовать как модуляторы второго порядка для модуляции первого порядка бензодиазепинами; 3) идентификацию различных сайтов воздействия флавоноидов в ГАМК<sub>A</sub>-рецепторных комплексах. Возникает интерес к вопросу активации ГАМК<sub>A</sub> рецепторов в отсутствие ГАМК и сравнительно ригидная форма флавоноидов – потенциальная предпосылка для терапевтических агентов нового поколения [10]. Как и стероиды, флавоноиды имеют обширный спектр эффектов на ряд биологических мишеней. Проблемой остается раскрытие структурных

детерминантов эффектов флавоноидов на частные мишени и разработка агентов, специфических для этих мишеней.

В основе когнитивных нарушений нейродегенеративной и сосудистой природы лежит дефицит ацетилхолина. Подходы для повышения холинергической функции при нейродегенеративных заболеваниях (в частности, болезнь Альцгеймера) помимо стимулирования холинергических рецепторов включают пролонгирование способности ацетилхолина (АХ) выделяться в синаптическую щель посредством применения агентов, восстанавливающих уровень АХ путем ингибирования как ацетилхолинэстеразы, так и бутирилхолинэстеразы – энзимов, разлагающих АХ. Поскольку антихолинэстеразные синтетические препараты (в частности, tacrine, donepezil, physostigmine, galantamine и heptylphysostigmine) имеют ряд побочных нежелательных эффектов (гепатотоксичность, короткую длительность биологического действия, низкое биоаккумулятивное, опасные побочные холинергические эффекты на периферии и ограниченные терапевтические окна), текущие лечебные стратегии все более фокусируются на лекарственных растениях с антихолинэстеразной активностью [3]. Выявлены антиацетилхолинэстеразная и антиоксидантная активность [18, 19], а также высокая ингибиторная активность относительно ацетилхолинэстеразы и бутирилхолинэстеразы этанольного экстракта *Teucrium polium Lamiaceae* (дубровник беловойлочный) [3]. Ранее нами выявлены электрофизиологические критерии нейропротекторной эффективности гидропонического *Teucrium polium Lamiaceae* при нейродегенерации Альцгеймеровского типа, индуцированной двусторонним удалением яичников у крыс [2]. Результаты предусматривали необходимость изучения возможных механизмов нейротропного и нейропротекторного действия применяемой терапевтической дозы *Teucrium polium L.*

Целью данного изучения явилось электрофизиологическое исследование эффектов однократного и хронического системного (в/м) воздействия гидропонического *Teucrium polium L.* на вызванную спайковую активность нейронов базального ядра Мейнерта (бЯМ) крыс при стимуляции гиппокампа.

## Материал и методы

Химический состав использованного в экспериментах гидропонического *дубровника беловойлочного* отличается высоким содержанием

флавоноидных гликозидов–апигенина, лютеолина (не менее 1,5%) и фенилпропаноидных гликозидов–вербаскозида, полиумозида, теуполиозида (не менее 3%) – основных функциональных составляющих фитопрепаратов [8]. За терапевтическую дозу водной фракции этанольного экстракта гидропонического *дубровника белойлочного* нами приняты 5% от максимально переносимой дозы (400 мг/кг), что составляет 20 мг/кг [6]. Данную дозу в/м вводили крысам-самкам линии Альбино однократно (I группа) в остром электрофизиологическом эксперименте и хронически в течение 3 недель ежедневно (II группа).

В остром эксперименте животных обездвигивали 1% дитилином (25 мг/кг в/б) и переводили на искусственное дыхание. Модель изолированного головного мозга крысы получали перерезкой спинного мозга глазным скальпелем на уровне грудных (T<sub>2</sub>-T<sub>3</sub>) сегментов под местным новокаиновым наркозом. Стереотаксически ориентированный раздражающий биполярный цилиндрический электрод погружали в гиппокамп по координатам AP-3.5, L±2.0, DV+4.0 мм, а стеклянный микроэлектрод с диаметром кончика 1 мкм, заполненный 2M раствором NaCl, многократно погружали в ядро Мейнерта по координатам AP-1.08, L±3, DV+7.4 мм [21]. ВЧС (100 Гц в течение 1 сек) осуществляли посредством прямоугольных толчков тока длительностью 0,05 мс и амплитудой 0,16-0,18 мА. Импульсный поток после селекции посредством амплитудного дискриминатора подвергался программному анализу в режиме on-line с последующим выводом пре- и постстимульного спайкинга активности единичных нейронов, распределенных в реальном времени, и построенных на их основе гистограмм суммы спайков или гистограмм средних частот с данными многоуровневой статистической обработки дифференцированно для пре-, постстимульного времени, включая период ВЧС (разработчик В.С. Каменецкий). Целью анализа являлось определение статистической достоверности различий в длительности межспайковых интервалов до и после действия стимула. Для решения этой задачи строили гистограммы межспайковых интервалов, определяли основные параметры распределений: средние значения, моды, дисперсии, частоты. Традиционным методом проверки однородности двух независимых выборок являлся t-критерий Стьюдента. Для повышения надежности статистических оценок применяли также непараметрический метод проверки с использованием двухвыборочного критерия Вилкоксона [1], учитывающего асимптотическую нормальность данного критерия и позволяющего сравнивать расчетные

значения с табличными значениями стандартного нормального распределения (при уровнях значимости 0.05, 0.01 и 0.001).

### **Результаты и обсуждение**

В микроэлектрофизиологических *in vivo* экспериментах изучены эффекты однократного и хронического (3 недели) внутримышечного введения водной фракции этанольного экстракта *Teucrium polium L.* на нейронах бяМ крыс-самок (n= 12). В отдельных нейронах бяМ животных, получавших однократную инъекцию *Teucrium polium* (в/м 20 мг/кг; I группа, n=4), регистрацию фоновой и вызванной спайковой активности осуществляли в динамике (от 2 до 125 минут) после воздействия *Teucrium polium*. Анализ выявил эффекты торможения с 20-30-й минуты и восстановление исходной частоты спайковой активности с 60-70-й минуты воздействия *Teucrium polium* (рис. 1 А-Г). На рис. 1 (Д) эффект однократ-

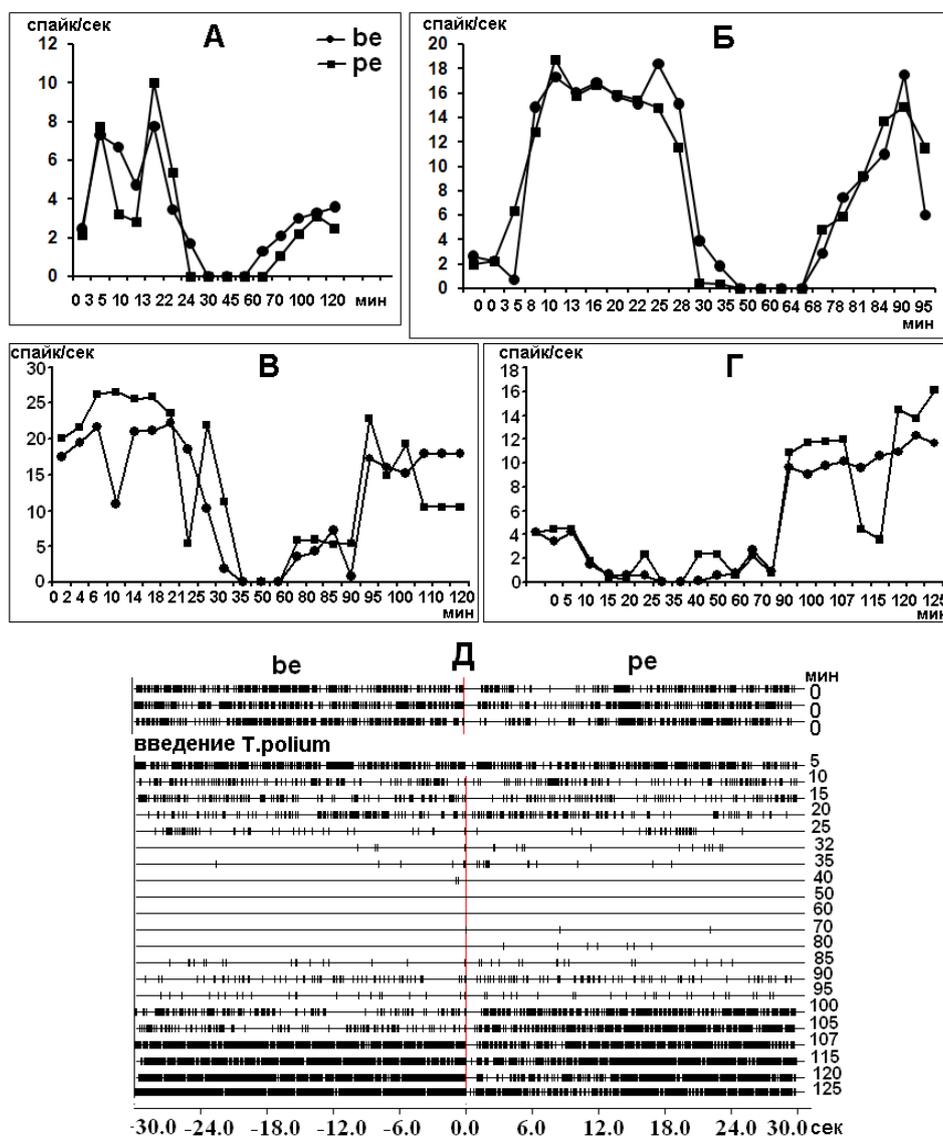


Рис. 1. А – Г – кривые изменения престаимульной (be – before event) и постстимульной (pe – post event) спайковой активности 4 единичных нейронов бЯМ в динамике от 0 (исходный уровень) до 95-125 мин после в/м введения *T. polium* (20 мг/кг). Абсцисса – время воздействия *Teucrium polium* (минуты), ордината – частота пре- и постстимульного спайкинга (спайк/сек). Д – развернутая в реальном времени (60 сек) картина спайковой активности нейрона (того же, что на А) в исходном состоянии (0 мин). В растере представлена развернутая во времени активность того же нейрона после введения *Teucrium polium*. Справа указано, на какой минуте после введения *Teucrium polium* регистрировалась активность; снизу – от -30 до 30 – время регистрации (в сек).

ного введения *Teucrium polium* демонстрируется детально (на примере единичного нейрона, представленного на рис. 1 Г). Кривые изменения частоты престаимпульной (ВЕ) и постстимульной (РЕ) спайковой активности нейрона бЯМ (рис. 1 Г) демонстрируют снижение частоты с 10-й до 95-й минуты после введения *Teucrium polium*. На рис. 1 (Д) эти же эффекты представлены в виде «растера» спайковой активности, развернутой в реальном времени до (от -30 до 0 сек) и после (от 0 до 30 сек) ВЧС гиппокампа: очевидно урежение пре- и постстимульной частоты спайкинга нейрона с 10-й до 95-й минуты введения *Teucrium polium* по сравнению с исходной частотой (отмечено 0 мин). С 100-й до 125-й минуты регистрируется спайковая активность, повышенная по сравнению с исходной частотой (демонстрировано на рис 1 Г, Д). Таким образом, в нейронах бЯМ выявлены тормозные эффекты при однократной инъекции ранее применяемой нами терапевтической дозы *Teucrium polium* [2]. Необходимо учесть, что конечный эффект холинергического входа на нейрональную активность в определенной степени обусловлен тем, что АХ рецепторы гиппокампа более плотно локализованы на ГАМК-ергических интернейронах по сравнению с глутаматергическими пирамидными нейронами [12], что, возможно, и обеспечивает данный эффект. Более того, известно, что потенциал нейропротекторной активности флавоноида апигенина обеспечивается антагонистическими эффектами как на ГАМК, так и на глутаматные каналы в культуре кортикальных нейронов [16].

У интактных крыс (n=5) в норме при ВЧС гиппокампа в единичных нейронах (n=196) бЯМ зарегистрирован следующий баланс типов вызванной импульсной активности: возбудительные ответы – 42,85%, тормозные ответы – 42,35%, ответы смешанного типа – 10,70% и ареактивные единицы – 4% (рис. 2Д). Во II группе (n= 3) в нейронах бЯМ (n= 56) в аналогичных условиях регистрации выявлено следующее распределение баланса типов вызванной импульсной активности (рис. 2Е): возбудительные ответы (на время ВЧС и постстимульный временной отрезок, рис. 2А) – 8,92%, тормозные ответы (на время ВЧС и постстимульный временной отрезок, рис. 2Б) – 60,71%, ответы смешанного типа (торможение на время ВЧС и возбуждение на постстимульный временной отрезок, рис. 2В) – 21,43% и ареактивные единицы (рис. 2Г) – 8,92%. При этом усредненные возбудительные ответы на время ВЧС выражены в 9,75 раза (45,83 : 4,70, рис.1 А), тормозные – в 2 раза (13,37 : 6,57, рис.1 Б) и в 1,4 раза (24,30 : 17,22) в ответах смешанного типа (ТД+ПТП, рис.1 В). Таковые в норме

выражены в 3,5; 2,16 и 9,24 раза соответственно. Иными словами, в условиях хронической инъекции *Teucrium polium* перераспределение баланса процентной доли типов ответов компенсирует изменения (по сравнению с нормой) выраженности ответов данной популяции нейронов бям.

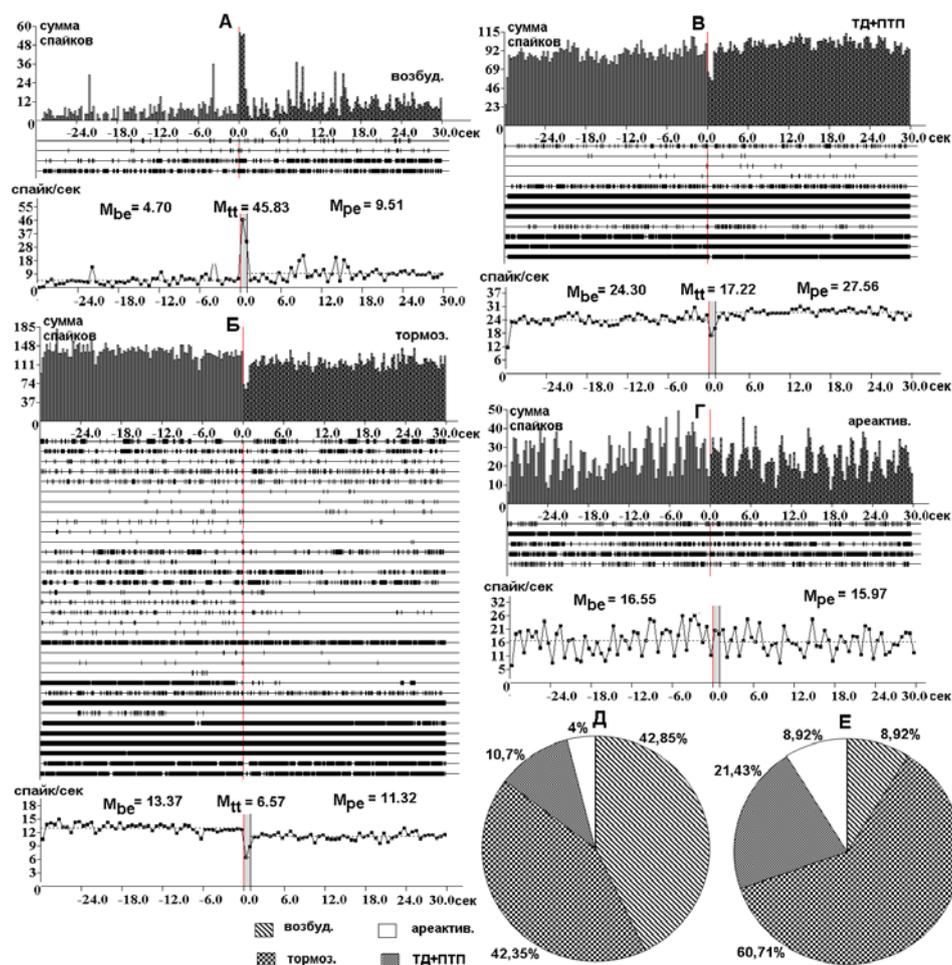


Рис. 2. А – Г – перистимульные временные гистограммы суммы спайков, построенные на основе представленной в растре развернутой во времени перистимульной активности отдельных нейронов бям для популяций нейронов с возбудительными (А), тормозными (Б) и ТД+ПТП (В) типами ответов и ареактивных (Г) единиц в группе животных с хроническим (3 недели ежедневно) введением *Teucrium polium*. Под растром представлена диаграмма усредненной частоты перистимульной спайковой активности для данной популяции с указанием средних цифровых значений в реальном времени 30

сек до ( $M_{be}$ ) и 30 сек после ( $M_{pe}$ ) и на время ВЧС (в течение 1 сек –  $M_{tt}$ ). Абсцисса – время в секундах, ордината – сумма спайков или частота спайков (спайк/сек). Сокращения: be (before event) – временной отрезок до стимуляции, pe (post event) – временной отрезок после стимуляции, tt (time tetanization) – время ВЧС. Д, Е – долевое соотношение возбуждательных, тормозных, ТД+ПТП ответов и ареактивных единиц нейронов бЯМ в норме (Д) и в условиях хронического введения *Teucrium polium* (Е)

Таким образом, в нейронах бЯМ выявлено доминирование тормозных ответов при хронической инъекции *Teucrium polium* в режиме 3 недели ежедневно и дозе (в/м 20 мг/кг), ранее применяемой нами в качестве терапевтической при нейродегенерации, индуцированной двусторонним удалением яичников [2].

Результаты служат предпосылкой обоснования ГАМК-опосредованного механизма нейропротекторного эффекта *Teucrium polium* при нейродегенерации. Уместно отметить, что антиноцицептивные эффекты *Teucrium polium* также осуществляются активацией опиоидергической и ГАМК-ергической ингибиторных систем [4]. Для объяснения возможных механизмов нейропротекторного эффекта *Teucrium polium* выдвигается необходимость экспериментов по выявлению сигнальных молекул, обуславливающих доминирование торможения. Согласно литературным источникам, таковыми могут быть растительные модуляторы ионотропных ГАМК рецепторов (в частности флавоноиды, терпеноиды и др.) [13].

Хотя лютеолин в мозге не обнаружен, есть доказательства проникновения флавоноидов через гематоэнцефалический барьер [24], а структурально схожий с лютеолином флавоноид кверцетин обнаружен в мозге [7, 20].

Показано повышение активности центральных мускариновых и никотиновых АХ рецепторов под воздействием лютеолина [22]. Оральное применение лютеолина (8 дней) обеспечивало устойчивую нейроваскулярную протекцию при  $A\beta_{25-35}$ -индуцированной амнезии у мышей, включая улучшение холинергической нейрональной системы (в частности ядро Мейнерта) [14]. У мышей с  $A\beta$ -индуцированной амнезией пероральное введение апигенина обеспечивало надежную защиту, связанную с нервно-сосудистой системой, включая улучшение обучения и памяти, поддержание целостности нервно-сосудистых единиц, модуляцию микрососудистой функции, снижение нервно-сосудистого окислительного повреждения, увеличение регионального церебрального кровотока, повышение холинергической системы,

включая ингибирование активности ацетилхолинэстеразы и повышение уровня АХ, а также модификацию уровней BDNF, TrkB и фосфорно-CREB [15].

С использованием техники patch-clamp изучена модуляция ионотропных ГАМК и глутаматной нейротрансмиссии апигенином – флавоноидом с седативной и антидепрессантной активностью. Апигенин реверсивно уменьшал ГАМК-индуцированные токи, опосредованные альфа(1) бета(2)гамма(2)-рецепторами. В культуре кортикальных клеток апигенин уменьшал амплитуду и частоту спонтанных постсинаптических ингибирующих токов, опосредованных ГАМК<sub>A</sub> рецепторами, а также редуцировал NMDA рецепторы. Данный флавоноид ингибировал также пик амплитуды и частоту спонтанных постсинаптических возбуждающих токов, тем самым указывая на антагонистическое влияние апигенина на ГАМК и NMDA каналы [16].

Апигенин, генистеин и EGCG (epigallocatechin gallate) также действуют на флумазенил-несенситивные альфа(1)бета(2) ГАМК<sub>A</sub> рецепторы как ГАМК антагонисты, указывая на то, что они не действуют как отрицательные модуляторы через флумазенил-сенситивные бензодиазепиновые участки ГАМК<sub>A</sub> рецепторов. В добавок к эффектам ГАМК<sub>A</sub> антагонистов для апигенина и EGCG найдено новое модуляторное действие второго порядка на первичное повышение ГАМК ответа диазепамом. Флавоноиды апигенин (1мкМ), генистеин и EGCG посредством ГАМК повышают модуляторное воздействие диазепам активацией человеческих альфа(1)бета(1)гамма(2) ГАМК<sub>A</sub> рецепторов до 22% и 52% соответственно [5].

В электрофизиологических экспериментах доказана модуляция ионных токов, обуславливаемая ГАМК<sub>A</sub> и ГАМК<sub>C</sub> рецепторами. Альфа(1) бета(1)гамма(2) ГАМК<sub>A</sub> и rho(1) ГАМК<sub>C</sub> рецепторы сильно различались чувствительностью к бензодиазепинам, но одинаковым образом модулировались флавоноидами (кверцетин, апигенин, морин, хризин и флаван). Седативные и анксиолитические флавоноиды, как хризин или апигенин, являются антагонистами альфа(1)бета(1)гамма(2) ГАМК<sub>A</sub> рецепторов. Воздействия апигенина и кверцетина на альфа(1)бета(1)гамма(2) ГАМК<sub>A</sub> рецепторы были нечувствительны к бензодиазепиновому антагонисту флумазенилу. Результаты показывают, что механизмы, лежащие в основе модуляции ионотропных ГАМК рецепторов некоторых флавоноидов, отличаются от описанной для модуляции классических бензодиазепинов [9].

Известно, что различные синтетические производные натуральных флавоноидов проявляют нейроактивные свойства. Изучен

антиконвульсивный эффект флавоноида рутин – диетического компонента растительных напитков. Результаты показали, что рутин имеет противосудорожное воздействие на мозг, возможно, через положительную аллостерическую модуляцию бензодиазепинового участка ГАМК<sub>A</sub>-рецепторного комплекса [17].

Методом иммуоблоттинга показано, что эффект лютеолина на долговременную потенциацию и память может осуществляться активацией CREB (сAMP response element-binding protein) [23]. Следовательно, флавоноид лютеолин – потенциальный лечебный агент для протектирования синаптической функции и повышения памяти при нейродегенеративных расстройствах.

Таким образом, результаты данного изучения согласуются с литературными данными, свидетельствующими о ГАМК-опосредованных механизмах потенциальной нейропротекторной активности физиологически активных компонентов лекарственных растений.

Поступила 26.12.11

### **Հիդրոպոնիկ *Teucrium polium* -ի էքստրակտի միանվագ և խրոնիկական համակարգային կիրառման ազդեցության *in vivo* էլեկտրաֆիզիոլոգիական ուսումնասիրություն**

**Վ. Ա. Չավուշյան, Կ. Վ. Միմոնյան, Հ. Մ. Գալստյան**

*In vivo* էլեկտրաֆիզիոլոգիական փորձերում Մեյներտի հիմնային կորիզի նեյրոնների վրա ուսումնասիրվել են մարիամախոտի էթանոլային էքստրակտի ջրային բաղադրամասի միանվագ և խրոնիկական ներմկանային ներարկման էֆեկտները: Նորմալում ինտակտ առնետների (n=5) Մեյներտի հիմնային կորիզի առանձին նեյրոններում (n=196)՝ ի պատասխան հիպոկամպի բարձր հաճախականությամբ գրգռման, գրանցվել է հրահրված իմպուլսային ակտիվության հետևյալ բաղանսը՝ դրդիչ պատասխաններ՝ 42,85%, արգելակիչ՝ 42,35, խառը տիպի պատասխաններ (տետանիկ դեպրեսիա և հետտետանիկ պոտենցիացիա)՝ 10,70 և առեակտիվ միավորներ 4%: 3 շաբաթ (ն/մ 20 մգ/կգ) մարիամախոտ ստացած կենդանիների խմբում (n=3), Մեյներտի հիմնային կորիզի նեյրոններում (n=56) համանման գրանցման պայմաններում բացահայտվել է հրահրված իմպուլսային ակտիվության տեսակների հավասարակշռության հետևյալ բաշխումը՝ դրդիչ՝ 8,92%, արգելակիչ՝ 60,71, խառը տիպի պատասխաններ՝

21,43 և առեակտիվ միավորներ՝ 8,92%, այսինքն գերակշռել են արգելակիչ պատասխանները: Մեյներտի հիմնային կորիզի առանձին նեյրոններում միանվագ մարիամախոտ (ն/մ 20 մգ/կգ) ստացած կենդանիների (n=4) ֆոնային և հրահրված սեպային ակտիվության գրանցումը իրականացվել է մարիամախոտի ազդեցության դինամիկայում (2-ից մինչև 125 րոպե): Վերլուծության արդյունքում բացահայտվել են արգելակման էֆեկտներ մարիամախոտի ազդեցության 20-30-րդ րոպեների և սեպային ակտիվության սկզբնական մակարդակի վերականգնում՝ 60-70-րդ րոպեների ընթացքում: Արդյունքները նախադրյալ են հանդիսանում նյարդադեգեներացիայի պայմաններում մարիամախոտի նյարդապաշտպան ազդեցության ԳԱԿԹ-միջնորդավորված մեխանիզմների հիմնավորման համար:

### ***In vivo* electrophysiological study of effects of acute and chronic systemic application of hydroponic *Teucrium polium* extract**

**V. A. Chavushyan, K. V. Simonyan, H. M. Galstyan**

In microelectrophysiological *in vivo* experiments the effects of chronic and a single intramuscular injection of aqueous fraction of ethanol's extract of *Teucrium polium* in neurons of basal nucleus of Meynert (bnM) were studied. In intact rats (n = 5) under high frequency stimulation of hippocamp in single neurons (n = 196) of bnM was registered the following balance of types of induced impulse activity in the norm: excitatory responses – 42.85%, inhibitory – 42.35%, the mixed responses (tetanic depression and posttetanic potentiation) - 10.70% and areactive units – 4%. In the group of animals (n = 3) treated with *Teucrium polium* daily for 3 weeks (i/m 20 mg/kg) in neurons of bnM (n = 56) under similar conditions of registration was revealed the following distribution of types of induced impulse activity: excitatory – 8,92%, inhibitory – 60,71%, the mixed responses – 21,43% and areactive units – 8,92%, thereby, domination of inhibitory responses. In single neurons of bnM of animals (n = 4) by acute injection (i/m 20 mg/kg) of *Teucrium polium* the registration of background and induced spike activity in dynamics of action of *Teucrium polium* (from 2 to 125 minutes) was

carried out. The analysis revealed the effects of inhibition started from 20-30 minutes and the recovery of the initial level of spike activity for 60-70 minutes under action of *Teucrium polium*. The results act as pre-condition for substantiation of GABA-mediated mechanism of neuroprotective effect of *Teucrium polium* in neurodegeneration.

## Литература

1. Орлов А.И. Прикладная статистика. М., 2004.
2. Чавушян В. А., Симонян К. В., Галстян А. М. Электрофизиологическое исследование нейропротекторной эффективности синэстрола и гидропонического дубровника на нейронах гиппокампа после билатеральной овариоэктомии. Мед. наука Армении НАН РА, 2011, т. LI, 3, с. 51-61.
3. Adewusi E.A., Moodley N., Steenkamp V. Medicinal plants with cholinesterase inhibitory activity: A Review. African Journal of Biotechnology, 6 December, 2010, vol. 9(49), p. 8257-8276,
4. Baluchnejadmojarad T., Roghani M., Roghani-Dehkordi F. Antinociceptive effect of T polium leaf extract in the diabetic rat formalin test. Journal of Ethnopharmacology, 2005, vol. 97(2), p. 207-210.
5. Campbell E.L., Chebib M., Johnston G.A. The dietary flavonoids apigenin and epigallocatechin gallate enhance the positive modulation by diazepam of the activation by GABA of recombinant GABA(A) receptors. Biochem. Pharmacol., 2004 Oct. 15, vol. 68(8), p.1631-8.
6. Chavushyan V.A., Simonyan K.V., Galstyan H.M. Toxicity studies of Teucrium polium Lamiaceae growing in nature and in culture. The second international symposium "BIOPHARMA-2010: from science to industry" Yerevan, Armenia, May 17-20, 2010, p.11.
7. de Boer V.C., Dihal A.A., van der Woude H., Arts I.C., Wolffram S., Alink G.M., Rietjens I.M., Keijer J., Hollman P.C. Tissue distribution of quercetin in rats and pigs. J. Nutr., 2005, vol.135, p.1718-1725.
8. Galstyan H.M., Revazova L. V., Topchyan H. V. Digital indices and microscopic analyses of wild growing and overgrowing of *Teucrium polium* L. in hidroponic conditions. The new Armenian medical journal, 2010, vol. 4, 3, p.104.
9. Goutman J.D., Waxenberg M.D., Doñate-Oliver F., Pomata P.E., Calvo D.J. Flavonoid modulation of ionic currents mediated by GABA(A) and GABA(C) receptors. Eur. J. Pharmacol., 2003 Feb 14, vol.461(2-3), p. 79-87.
10. Hanrahan J.R., Chebib M., Johnston G.A. Flavonoid modulation of GABA(A) receptors. British Journal of Pharmacology, 2011, vol.163(2), p.234-245.
11. Hsich M.T., Peng W.H., Wu C.R. et al. Review on Experimental Research of Herbal Medicines with Anti-Amnesic Activity. Planta Med., 2010, vol. 76(3), p. 203-217.
12. Ji D., Lape R., Dani J. A. Timing and location of nicotinic activity enhances or depresses hippocampal synaptic plasticity. Neuron, 2001, vol. 31, p. 131-141
13. Johnston G.A.R., Hanrahan J.R., Chebib M., Duke R.K., Mewett K.N. Modulation of Ionotropic GABA Receptors by Natural Products of Plant Origin. Advances in Pharmacology, 2006, vol. 54, p.285-316.
14. Liu R., Gao M., Qiang G.-F., Zhang T.-T, Lan X., Ying J., Du G.-H. The anti-amnesic effects of luteolin against amyloid  $\beta$ 25-35peptide-induced toxicity in mice involve the

- protection of neurovascular unit. *Neuroscience*, 15 September, 2009, [vol.162](#), 4, p. 1232-1243.
15. *Liu R., Zhang T., Yang H., Lan X., Ying J., Du G.* The flavonoid apigenin protects brain neurovascular coupling against amyloid $\beta$ -induced toxicity in mice. *J. Alzheimer's Dis.*, 2011, vol. 24(1), p. 85-100.
  16. *Losi G., Puia G., Garzon G., de Vuono M.C., Baraldi M.* Apigenin modulates GABAergic and glutamatergic transmission in cultured cortical neurons. *Eur. J. Pharmacol.*, 2004 Oct. 11, vol. 502(1-2), p.41-46.
  17. *Nassiri-Asl M., Shariati-Rad S., Zamansoltani F.* Anticonvulsive effects of intracerebroventricular administration of rutin in rats. *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.*, 2008 May 15, vol. 32(4), p. 989-993.
  18. *Orhan I., Aslan M.* Appraisal of scopolamine-induced anti-amnesic effect in mice and in vitro antiacetylcholinesterase and antioxidant activities of some traditionally used Lamiaceae plants. *J. Ethnopharmacol.*, 2009, vol. 122, p. 327-332.
  19. *Orhan I., Kartal M., Naz Q., Ejaz A., Yilmaz G., Kan Y., Konuklugil B., Sener B., Choudhary M.I.* Antioxidant and anticholinesterase evaluation of selected Turkish *Salvia* species. *Food Chem.*, 2007, vol. 103, p. 1247-1254.
  20. *Paulke A., Schubert-Zsilavecz M., Wurglics M.* Determination of St. John's wort flavonoid-metabolites in rat brain through high performance liquid chromatography coupled with fluorescence detection. *J Chromatogr. B Analyt. Technol. Biomed. Life Sci.*, 2006, vol. 832, p.109-13.
  21. *Paxinos G., Watson C.* *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates*. 2005 Acad. Press, New York, 5th ed.
  22. *Tsai F.S., Peng W.H., Wang W.H., Wu C.R., Hsieh C.C., Lin Y.T., Feng I.C., Hsieh M.T.* Effects of luteolin on learning acquisition in rats: involvement of the central cholinergic system. *Life Sci.* 2007 Apr 10, vol. 80(18), p.1692-8.
  23. *Xu B., Li X.X., He G.R., Hu J.J., Mu X., Tian S., Du G.H.* Luteolin promotes long-term potentiation and improves cognitive functions in chronic cerebral hypoperfused rats. *Eur. J. Pharmacol.*, 2010 Feb 10; vol. 627(1-3), p. 99-105.
  24. *Youdim K.A., Kaiser M.Z., Begley D.J., Rice-Evans C.A., Abbott N.J.* Flavonoid permeability across an in situ model of the blood-brain barrier. *Free Radic. Biol. Med.*, 2004, vol. 36, p.592-604.