ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E42200

STUDY THE POTENTIAL OF QUERCETIN DELIVERY SYSTEM VIA VESICLE CARRIER MODEL TO PROTECT AGAINST AIZHEIMER'S DISEASE

MISS WATHITA PHACHONPAI

A THESIS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
KHON KAEN UNIVERSITY
2009

b00257027

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
E42200

STUDY THE POTENTIAL OF QUERCETIN DELIVERY SYSTEM VIA VESICLE CARRIER MODEL TO PROTECT AGAINST ALZHEIMER'S DISEASE

THE NATIONAL RESEARCH COUNCIL OF THAILAND
RESEARCH LIBRARY

MISS WATHITA PHACHONPAI

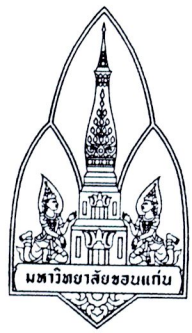
A THESIS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY
KHON KAEN UNIVERSITY
2009

STUDY THE POTENTIAL OF QUERCETIN DELIVERY SYSTEM VIA VESICLE CARRIER MODEL TO PROTECT AGAINST AL

MISS WATHITA PHACHONPAI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF DOCTOR OF PHILOSOPHY IN MEDICAL PHYSIOLOGY GRADUATE SCHOOL KHON KAEN UNIVERSITY

2009



THESIS APPROVAL
KHON KAEN UNIVERSITY
FOR
DOCTOR OF PHILOSOPHY
IN MEDICAL PHYSIOLOGY

Thesis Title: Study the Potential of Quercetin Delivery System via Vesicle Carrier Model to Protect Against Alzheimer's disease.

Author: Miss Wathita Phachonpai

Thesis Examination Committee: Asst. Prof. Dr. Supaporn Muchimapura Chairperson
Asst. Prof. Dr. Jintanaporn Wattanathorn Member
Assoc. Prof. Dr. Detpon Preechagoon Member
Dr. Chuleratana Banchonglikitkul Member

Thesis Advisors:

.....
(Asst. Prof. Dr. Jintanaporn Wattanathorn) Advisor

.....
(Assoc. Prof. Dr. Detpon Preechagoon) Co-Advisor

.....
(Assoc. Prof. Dr. Lampang Manmart)
Dean, Graduate School

.....
(Prof. Dr. Wiroon Luapattarakasem)
Dean, Faculty of Medicine

Copyright of Khon Kaen University

วาทิตา ผจญภัย. 2552. **ศักยภาพการป้องกัน Alzheimer's disease ของผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ Quercetin ที่นำส่งเข้าสู่สมองโดย Vesicle mediated delivery.** วิทยานิพนธ์ปริญญาปรัชญาดุษฎีบัณฑิต สาขาวิชาประสาทวิทยาศาสตร์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์: ผศ.ดร.จินตนาภรณ์ วัฒนธร,
รศ.ดร. เดชพล ปรีชากุล

บทคัดย่อ

E 42200

ปัจจุบันการพัฒนาวิธีการป้องกันโรคสมองเสื่อมกำลังทวีความสำคัญมากยิ่งขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากอุบัติการณ์ของโรคดังกล่าวที่สูงขึ้น ความจำกัดเรื่องประสิทธิผลของการรักษาในปัจจุบัน และผลกระทบจากภาวะดังกล่าวทั้งทางด้าน เศรษฐกิจและสังคม การพยายามพัฒนาวิธีการป้องกันและลดความรุนแรงของโรคสมองเสื่อมจากสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เพื่อไปป้องกันการเกิดพยาธิสภาพที่เกิดจากการมีอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นในภาวะดังกล่าวกำลังเป็นที่สนใจอย่างมาก อย่างไรก็ตามในปัจจุบันพบว่าความจำกัดในการที่สารจะผ่าน blood brain barrier จัดเป็นปัญหาที่สำคัญอย่างหนึ่งในการพัฒนาวิธีการพัฒนาผลิตภัณฑ์หรือวิธีการใหม่ๆในการปกป้องสมอง ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งศึกษาฤทธิ์ของสารเคอร์ซิตินซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบมากในผักผลไม้ ต่อระบบประสาทส่วนกลาง และต่อการป้องกันโรคสมองเสื่อม นอกจากนั้นยังมุ่งศึกษาศักยภาพของเคอร์ซิตินที่บรรจุในไลโปโซมและนำส่งโดยการหยดทางช่องจมูกต่อการทำงานของระบบประสาทส่วนกลางและการป้องกันโรคสมองเสื่อมด้วย

ในการศึกษาฤทธิ์ต่อระบบประสาทส่วนกลางของเคอร์ซิตินหรือเคอร์ซิตินไลโปโซมนั้นหนูขาวพันธุ์ Wistar เพศผู้น้ำหนัก 180-200 กรัม จะได้รับการป้อนเคอร์ซิตินขนาด 100, 200 และ 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัว หรือหยดเคอร์ซิตินทางช่องจมูกด้านขวา 20 ไมโครกรัม จำนวน 20 ไมโครลิตรเป็นเวลา 4 สัปดาห์ หลังจากนั้นจะทำการประเมินฤทธิ์ต้านความกังวล ฤทธิ์ต้านความซึมเศร้า ฤทธิ์เพิ่มการเรียนรู้และความจำทั้งรูปแบบที่เกี่ยวข้องและไม่เกี่ยวข้องกับทิศทาง และฤทธิ์ต่อการเกิดพฤติกรรมซ้ำๆกันหลังได้รับสารทดสอบครั้งเดียว, 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์ ผลการศึกษาพบว่าการป้อนเคอร์ซิตินแม้ในขนาดที่สูงถึง 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวเพียงครั้งเดียวนั้นไม่มีผลเพิ่มการเรียนรู้ชนิดที่ไม่เกี่ยวข้องกับทิศทาง ในขณะที่จะพบฤทธิ์ดังกล่าว ในการหยดเคอร์ซิตินไลโปโซมทางช่องจมูกเพียง 20 ไมโครกรัม อย่างไรก็ตามเคอร์ซิตินและเคอร์ซิตินไลโปโซมจะมีฤทธิ์ต้านความกังวล ต้านความซึมเศร้า และเพิ่มการเรียนรู้ที่เกี่ยวข้องกับทิศทางได้ดีหลังได้รับเคอร์ซิตินทั้งสองรูปแบบเพียงครั้งเดียว อีกทั้งการให้เคอร์ซิตินหรือเคอร์ซิตินไลโปโซมซ้ำๆกันก็ยังพบผลดังกล่าวข้างต้น ยิ่งไปกว่านั้นการให้เคอร์ซิตินทั้งสองรูปแบบสามารถเพิ่มการเรียนรู้และความจำแบบที่เกี่ยวข้องกับทิศทางได้ด้วย อย่างไรก็ตามเคอร์ซิตินและเคอร์ซิตินไลโปโซมไม่มีผลต่อการเกิดพฤติกรรมรูปแบบซ้ำๆกันทั้งหลังการให้เพียงครั้งเดียวและการให้แบบซ้ำๆกัน นอกจากนั้นเคอร์ซิตินทั้งสองรูปแบบยังมีฤทธิ์เพิ่มความหนาแน่นของเซลล์ประสาทและเซลล์ประสาทโคลิเนอร์จิกในสมองส่วนซีรีบรัลคอร์เทกซ์และฮิปโปแคมปัสได้

เมื่อทำการศึกษาฤทธิ์ของเคอร์ซิตินและเคอร์ซิตินไลโปโซมในสัตว์ทดลองที่ใช้เป็นแบบจำลองโรคสมองเสื่อมซึ่งเหนี่ยวนำด้วยสาร AF64A ซึ่งเป็นสารพิษต่อระบบประสาทโคลิเนอร์จิก พบว่าหนูขาวเพศผู้พันธุ์

E 42200

Wistar ที่ได้รับการป้อนเคอร์ซิตินขนาด 300 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวหรือหยดเคอร์ซิตินไลโปโซมทางช่องจมูกด้านขวา 20 ไมโครกรัมเป็นเวลา 2 สัปดาห์ก่อนที่จะนำมาเหนี่ยวนำให้เกิดการตายของเซลล์ประสาทโคลิเนอร์จิกและเกิดความจำบกพร่องด้วยการฉีดสาร AF64A เข้าในโพรงสมองทั้งสองข้าง และให้เคอร์ซิตินทั้งสองรูปแบบต่อไปอีก 1 สัปดาห์ จะมีความหนาแน่นของเซลล์ประสาทและเซลล์ประสาทโคลิเนอร์จิกในสมองส่วนที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำคือซีรีบรัลคอร์เทกซ์และ ฮิปโปแคมปัสสูงกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับเคอร์ซิติน กลไกการออกฤทธิ์ส่วนหนึ่งน่าจะเกิดจากการที่เคอร์ซิตินหรือเมแทบอไลท์ของสารเคอร์ซิตินมีผลเพิ่มการทำงานของเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ superoxide dismutase, catalase และ glutathione peroxidase ทำให้ระดับ malondialdehyde (MDA) ลดลง ในสมองส่วนซีรีบรัลคอร์เทกซ์และฮิปโปแคมปัสซึ่งเป็นบริเวณที่คุณสมบัติยืดหยุ่นสูง และกลไกการเพิ่มระดับสารสื่อประสาทที่เกี่ยวข้องกับการเรียนรู้และความจำและมีบทบาทเป็นปัจจัยที่ควบคุมกระบวนการสร้างเซลล์ประสาทในสมองบริเวณดังกล่าว โดยเฉพาะสารอะเซทิลโคลีน

การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าสารเคอร์ซิตินเป็นสารที่มีศักยภาพที่จะนำมาใช้ในการป้องกันและรักษากลุ่มความผิดปกติทางระบบประสาทหลายชนิด เช่น ความกังวล ภาวะซึมเศร้า ยิ่งไปกว่านั้นยังสามารถใช้เพิ่มการเรียนรู้และความจำ ตลอดจนการปกป้องโรคสมองเสื่อมนอกจากนั้นการพัฒนาการนำส่งเคอร์ซิตินด้วยไลโปโซมและการให้ทางช่องจมูกยังเป็นรูปแบบหนึ่งที่มีศักยภาพสามารถลดขนาดของสารเคอร์ซิตินที่นำไปใช้ได้อย่างมากในการออกฤทธิ์ป้องกันภาวะดังกล่าว อย่างไรก็ตามยังจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมอีกมากก่อนนำไปประยุกต์ใช้

Wathita Phachonpai. 2009. **Study the Potential of Quercetin Delivery System via Vesicle Carrier Model to Protect Against Alzheimer's disease.**
Doctor of Philosophy Thesis in Medical Science of Physiology, Graduate School, Khon Kaen University.

Thesis Advisors: Assistant Professor Dr. Jintanaporn Wattanathorn,
Associate Professor Dr. Detpon Preechagoon

ABSTRACT

E 42200

At present, the development of protective strategy against Alzheimer's disease is increasing its importance due to the high prevalence of Alzheimer's disease, a limitation of therapeutic efficacy and its high impacts on economic and social aspects. The development of the preventive and therapeutic strategy to protect against the pathophysiology induced by free radicals in Alzheimer's disease from antioxidant has gained very much concentration. However, the penetrate limitation of substances through blood brain barrier appears to be an important burden to develop the novel neuroprotectants and novel neuroprotective strategies nowadays. Therefore, this study aimed to determine the effect of oral administration of quercetin, a flavonoid commonly found in vegetables and fruits, on the central nervous system and to determine its protective effect against Alzheimer's disease. In addition, this study also aimed to determine the effect of nasal administration of quercetin liposomes on the central nervous system and its protective effect against Alzheimer's disease.

In order to determine the effect of either quercetin or quercetin liposomes on the central nervous system, male Wistar rats, weighting 180-200 g, were orally given quercetin at doses of 100, 200 and 300 mg/kg BW or they were administered quercetin liposomes via right nasal cavity at dose of 20 microgram approximate 20 microliters at a period of 4 weeks. Then, they were determined anxiolytic, anti-depressant effects, the cognitive enhancing effect both on spatial and non-spatial memory, and determined the effect of quercetin on stereotype behaviors after single administration, 1, 2, 3 and 4 weeks of treatment. The results showed that single administration of high dose quercetin or at dose of 300 mg/kg BW via oral route failed to enhance non-spatial memory while the single administration of quercetin

E42200

liposomes via nasal route could exhibit this effect. However, both quercetin and quercetin liposomes showed anxiolytic, anti-depressant effects and could enhance spatial memory after single administration. The repetitive administration of both quercetin and quercetin liposomes also showed the effects mentioned above. Moreover, they also enhanced non-spatial memory. However, they failed to show significant changes on stereotype behaviors both after single and repetitive administration. In addition, both quercetin and quercetin liposomes also increased the density of survival neurons and cholinergic neurons in both cerebral cortex and hippocampus.

The study about the effect of quercetin and quercetin liposomes in animal model of Alzheimer's disease induced by AF64A, a cholinotoxin, showed that male Wistar rats which received quercetin at dose of 300 mg/kg BW or received quercetin liposomes at dose of 20 micrograms 2 weeks before and 1 week after the AF64A administration via intracerebroventricular route bilaterally in order to induce the cholinergic degeneration and memory impairment had higher the density of survival neurons and cholinergic neurons in cerebral cortex and hippocampus than the rats which received no quercetin or quercetin liposmes. The possible action should occur partly via the effect of quercetin or quercetin metabolites to enhance the activities of scavenger enzymes including superoxide dismutase, catalase and glutathione peroxidase, and decrease in the level of malondialdehyde (MDA) in both cerebral cortex and hippocampus, the high plasticity areas, and via the increase neurotransmitters playing the crucial role n learning and memory and served as the important neurogenesis regulators especially acetylcholine.

This study reveals that quercetin is the potential protective and therapeutic candidate against various disorders of the nervous system such as anxiety, depression. Moreover, it can enhance learning and memory and protect against Alzheimer's disease. In addition, the development of quercetin delivery with liposomes and nasal administration appears to be effective strategy to reduce the protective dose against this condition of quercetin. However, further researches are very much required before the application.

Goodness Portion to the Present Thesis is Dedicated

for my Parents and Entire Teaching Staff

ACKNOWLEDGEMENTS

I would like to express my deepest gratitude and sincere appreciation to Assistant Professor Doctor Jintanaporn Wattanathorn, my advisor, for her valuable suggestion, supervision, understanding, encouragement, supporting and criticism throughout the evolution of my thesis. Working under her supervision was a confidence-building experience. She gave freely of time and provided the strategic and knowledgeable support which I required to complete this thesis.

In addition, I am undoubted and wished to express my greatest appreciation and sincere gratitude to my co-advisor, Associate Professor Doctor Detpon Preechagoon, and grateful to Assistant Professor Doctor Supaporn Muchimapura for their extremely suggestion, supervision in every helpfulness throughout the course of my study. I would like to emphasize that all of them devoted themselves to train a good future scientist. Moreover, the person who come from far away place and she is the examination committee Doctor Chuleratana Banchonglikitkul.

In particular, I would like to express my special grateful to my husband, Assistant Professor Doctor Terdthai Tong-un, my son, Chatawan Tong-un, and all members in Rusawang's family who fully support me in every aspect when I had particularly to come across the problems during my studied.

Moreover, special thanks were also extending to all members in Physiology, Pharmacology, Faculty of Medicine, Khon Kaen University for their co-operation and fully support.

Finally, I also would like to thank the National Nanotechnology Center (NANOTEC), NSTDA, National Science and Technology Development Agency, Thailand for the financial support of this thesis as well as Graduate School of Khon Kaen University for the scholarships, especially, the Oversea Research Scholarship to experience research project at University of North Dakota School of Medicine and Health Science, North Dakota, USA.

Wathita Phachonpai

TABLE OF CONTENTS

	Page
ABSTRACT (IN THAI)	i
ABSTRACT (IN ENGLISH)	iii
DEDICATION	v
ACKNOWGEMENT	vi
LIST OF TABLES	x
LIST OF FIGURES	xi
LIST OF ABBREVIATIONS	xvi
CHAPTER I NTRODUCTION	
1. Rational and Background	1
2. Objectives of the Study	3
3. Scope and Limitation of Study	4
4. Anticipated Outcomes	4
5. Hypothesis	4
CHAPTER II LITERATURE REVIEWS	
1. Alzheimer's Disease	7
2. Oxidative stress and Alzheimer's Disease	12
3. Cognition	16
4. Blood Brain Barrier	19
5. Nasal Drug Delivery	24
6. Quercetin	30
7. Liposomes	32
CHAPTER III RESEARCH METHODOLOGY	
1. Materials	39
2. Preparation of Liposomes	39
3. Animals Treatments	40
4. Experimental Protocol	41
5. Determination of Neuropharmacological Activity	50
6. Histological and Immunohistochemical Studies	52

TABLE OF CONTENTS (Cont.)

	Page
7. Lipid Peroxidation and Enzymes Assay	54
8. Preparation and Administration of AF64A	55
9. Statistical Analysis	55
CHAPTER IV RESULTS	
1. Neuropharmacological Profiles of Quercetin with Oral Conventional Delivery System and Nasal Administration of Quercetin Liposomes	57
2. Neuroprotective Effect of Quercetin Via Oral Administration and Nasal Administration of Quercetin Liposomes	74
3. Possible Mechanisms Underlying the Cognitive Enhancement and the Neuroprotective Effect of Quercetin with Oral Conventional Delivery System and Nasal Administration of Quercetin Liposomes Against Alzheimer's Disease	92
CHAPTER V DISCUSSION AND CONCLUSION	
1. Neuropharmacological activities of quercetin with oral conventional delivery system and quercetin liposomes via nasal administration in healthy condition	105
2. Cognitive enhancer and neuroprotectant effect of quercetin with oral conventional delivery system and quercetin liposomes via nasal administration in healthy condition	108
3. Neuroprotective effect of quercetin with oral conventional delivery system and quercetin liposomes via nasal administration against Alzheimer's disease	111
4. Conclusion	114

TABLE OF CONTENTS (Cont.)

		Page
REFERRENCES		117
APPENDICES		137
APPENDIX A	Preparation of Tissue Sections	139
APPENDIX B	Preparation of Tissue Homogenates	143
APPENDIX C	Cresyl Violet Staining for Nissl Substance	147
APPENDIX D	Preparation of Phosphate Buffer Saline Solution	151
APPENDIX E	Determination of Protein	155
APPENDIX F	Determination of Lipid Peroxide Contents	159
APPENDIX G	Immunohistochemistry of Choline Acetyl Transferase (ChAT) Enzyme	163
APPENDIX H	Determination of Acetylcholinesterase	167
APPENDIX I	Determinationof Superoxide Dismutase	171
APPENDIX J	Determination of Catalase	175
APPENDIX K	Determination of Glutathione Peroxidase	179
APPENDIX L	Preparation of Quercetin Liposomes	185
VITAE		189

LIST OF TABLES

		Page
Table 1	Formation of ROS by reduction of molecular oxygen in the electron transport chain	13
Table 2	Advantages and limitations of nasal delivery	27
Table 3	Variable factors affecting the permeability of drugs through the nasal mucosa	29
Table 4	Classificaion of liposomes by size	35

LIST OF FIGURES

		Page
Figure 1	Structural of neurofibrillary tangles (NFT)	9
Figure 2	Schematic diagram of the cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease	10
Figure 3	Schematic diagram of amyloid cascade hypothesis of Alzheimer's disease	11
Figure 4	Schematic diagram of oxidative stress hypothesis of Alzheimer's disease	12
Figure 5	Structural of AF64A and choline	17
Figure 6	Schematic diagram of cell type in blood-brain-barrier	20
Figure 7	Potential routes for drug delivery to the brain via blood-brain-barrie	23
Figure 8	Schematic diagram of cell types in the respiratory epithelium of nasal cavity.	24
Figure 9	Cell types in the olfactory epithelium of nasal cavity	26
Figure 10	Possible routes of transport between the nasal cavities and the brain	28
Figure 11	Structure of quercitin	30
Figure 12	Structure of general liposomes	33
Figure 13	Classification of liposomes	35
Figure 14	Effect of quercetin via oral administration on anxiolytic activity.	58
Figure 15	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on anxiolytic activity.	59
Figure 16	Effect of quercetin via oral administration on anti-depression activity.	60
Figure 17	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on anti-depression activity	61
Figure 18	Effect of quercetin via oral administration on spatial memory	63

LIST OF FIGURES (Cont.)

		Page
Figure 19	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on spatial memory	64
Figure 20	Effect of quercetin via oral administration on non-spatial memory within 30 minutes after substances administration	66
Figure 21	Effect of quercetin via oral administration on non-spatial memory within 6 hours after substances administration	67
Figure 22	Effect of quercetin via oral administration on non-spatial memory within 24 hours after substances administration	68
Figure 23	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on non-spatial memory at 30 minutes after substances administration	69
Figure 24	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on non-spatial memory at 6 hours after substances administration	70
Figure 25	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on non-spatial memory at 24 hours after substances administration	71
Figure 26	Effect of quercetin via oral administration on spontaneous locomotor activities	72
Figure 27	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on spontaneous locomotor activities	73
Figure 28	Effect of quercetin via oral administration on the survival neurons density in various subregions of cerebral cortex in healthy condition	75
Figure 29	Effect of quercetin via oral administration on the survival neurons density in various subregions of hippocampus in healthy condition	76
Figure 30	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on the survival neurons density in various subregions of cerebral cortex in healthy condition	77

LIST OF FIGURES (Cont.)

		Page
Figure 31	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on the survival neurons density in various subregions of hippocampus in healthy condition	78
Figure 32	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on survival neurons density in CA1 of the hippocampus stained with cresyl violet at 40x magnification	79
Figure 33	Effect of quercetin via oral administration on the cholinergic neurons density in various subregions of hippocampus in healthy condition	80
Figure 34	Effect of quercetin via oral administration on ChAT-positive neurons density in CA2 of the hippocampus stained with monoclonal antibody against ChAT at 40x magnification	81
Figure 35	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on the cholinergic neurons density in various subregions of hippocampus in healthy condition	82
Figure 36	Effect of quercetin via oral administration on the survival neurons density in various subregions of cerebral cortex in cognitive deficit condition of Alzheimer's disease model	84
Figure 37	Effect of quercetin via oral administration on the survival neurons density in various subregions of hippocampus in cognitive deficit condition of Alzheimer's disease model	85
Figure 38	Effect of quercetin via oral administration on the cholinergic neurons density in various subregions of hippocampus in cognitive deficit condition of Alzheimer's disease model	86
Figure 39	Effect of quercetin via oral administration on the survival neurons density in CA3 of the hippocampus stained with cresyl violet at 40x magnification	87

LIST OF FIGURES (Cont.)

		Page
Figure 40	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on the survival neurons density in various subregions of cerebral cortex in cognitive deficit condition of Alzheimer's disease model	88
Figure 41	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on the survival neurons density in various subregions of hippocampus in cognitive deficit condition of Alzheimer's disease model	89
Figure 42	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on the cholinergic neurons density in various subregions of hippocampus in cognitive deficit condition of Alzheimer's disease model	90
Figure 43	Effect of quercetin via nasal administration on ChAT-positive neurons density in CA3 of the hippocampus stained with monoclonal antibody against ChAT at 40x magnification	91
Figure 44	Effect of quercetin via oral administration on the activity of acetylcholinesterase enzyme in both cerebral cortex and hippocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A Comparison of the effect of quercetin via oral administration	93
Figure 45	Effect of quercetin liposomes via nasal administration on the activity of acetylcholinesterase enzyme in both cerebral cortex and hippocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A	94
Figure 46	Effect of quercetin via oral administration on the level of malondialdehyde (MDA), a marker of lipid peroxidation product in both cerebral cortex and hipocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A	96
Figure 47	Effect of quercetin via oral administration on the activity of superoxide dismutase (SOD) enzyme in both cerebral cortex and hippocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A	97

LIST OF FIGURES (Cont.)

		Page
Figure 48	Effect of quercetin via oral administration on the activity of catalase (CAT) enzyme in both cerebral cortex and hippocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A	98
Figure 49	Effect of quercetin via oral administration on the activity of glutathione peroxidase (GPx) enzyme in both cerebral cortex and hippocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A	99
Figure 50	Effect of quercetin via nasal administration on the level of malondialdehyde (MDA) in both cerebral cortex and hipocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A	100
Figure 51	Effect of quercetin via nasal administration on the activity of superoxide dismutase (SOD) enzyme in both cerebral cortex and hippocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A	101
Figure 52	Effect of quercetin via nasal administration on the activity of catalase (CAT) enzyme in both cerebral cortex and hippocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A	102
Figure 53	Effect of quercetin via nasal administration on the activity of glutathione peroxidase (GPx) enzyme in both cerebral cortex and hippocampus of cognitive deficit rats induced by AF64A	103

LIST OF ABBREVIATIONS

Aβ	Amyloid beta protein
ACh	Acetylcholine
AChE	Acetylcholinesterase
ACSF	Artificial CSF
AD	Alzheimer's disease
AF64A	Ethylcholine mustard aziridinium
ApoE	Apolipoprotein E
APP	Amyloid precursor protein
ATP	Adenosine triphosphate
BDNF	Brain derived neurotrophic factor
BW	Body weight
ECTs	Electron transport chains
°C	Celsius degree
CA1	Cornu ammonis area 1
CA2	Cornu ammonis area 2
CA3	Cornu ammonis area 3
Ca^{2+}	Calcium ion
CAT	Catalase
ChAT	Choline acetyltransferase
cm	Centimeter
CNS	Central nervous system
CRF	Corticotrophin releasing factor
Cu^{2+}	Copper ion
e.g.	For example
DG	Dentate gyrus
DNA	Deoxyribonucleic acid
Fe^{2+}	Ferrous ion
Fe^{3+}	Ferric ion
g/kg BW	Gram per kilogram body weight
GLU	Glutamate

LIST OF ABBREVIATIONS (cont.)

gm	Gram
GPx	Glutathione peroxidase
GR	Glutathione reductase
H^+	Hydrogen ion
H_2O_2	Hydrogen peroxide
i.p.	Intraperitoneal
kg	Kilograms
LD_{50}	lethargy dose
HAChT	High affinity choline transport
Hg	Merury
H_2O	Water
H_2O_2	Hydrogen peroxide
HPA-axis	Hypothalamo-pituitary-adrenal axis
HRP	Horse radish peroxidase
i.c.v.	Intracerebroventricular
IL-1	Interleukin-1
K^+	Potassium ion
KCl	Potassium chloride
KPBS	Krebs phosphate buffer saline
LDL	Low density lipoprotein
M	Mole
MDA	Malondialdehyde
mg/kg BW	Milligram per kilogram body weight
min	Minute
ml	Milliliter
mRNA	messenger ribonucleic acid
Na^+	Sodium ion
NF-κB	Nuclear factor kappa B
NFT	Neurifibrillary tangle

LIST OF ABBREVIATIONS (cont.)

NMDA	N-methyl-D-aspatate
NO	Nitric oxide
No.	Number
O1	Object 1
O2	Object 2
$O_2^{\bullet -}$	Superoxide radical
OH^-	Hydroxyl radical
8-OHdG	8-hydroxy-2'-deoxyguanosine
p.o.	Per oral
PS1	Presenilin-1
PS2	Presenilin-2
PUFA	Polyunsatulated fatty acids
ROS	Reactive oxygen species
$	Dollar
SDS	Standard error of mean
SOD	Superoxide dismutase
T1	Trial 1
T2	Trail 2
TBA	Thiobarbituric acid
TNF	Tumor necrosis factors
Vit C	Vitamin C
Zn^{2+}	Zinc ion