

## ***The Effect of Hydroalcoholic Extract of *Salvia leriifolia* Root and Fluvoxamine on the Spatial Memory in Male Rats under Immobilization Stress***

Soudeh Erish<sup>1\*</sup>, Mehdi Mohammadzadeh<sup>1</sup>, Minoos Ilkhanipour<sup>1</sup>, Farrin Babaei<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology,  
Faculty of Sciences, Urmia  
University, Urmia, Iran.

### **Abstract**

**Background and Objectives:** Oxidative stress causes damage in processes, such as learning and memory through affecting the nervous system. Also, using chemical drugs for treatment of stress-induced depression is often associated with attenuation of memory. In the present study, the effect of hydroalcoholic extract of Noroozak (*Salvia leriifolia*) root as an antioxidant along with antidepressant drug, fluvoxamine, were investigated on the spatial memory of male rats under immobilization stress.

**Methods:** In this experimental study, 25 adult male rats (mean weight, 170g), were randomly divided into five groups of 5 each. The animals were orally treated with different doses of drug and extract for 21 days. At the end of the treatment period, a radial 8-arm maze was used to investigate the behavioral indices. Also, malondialdehyde and catalase levels in the brain tissue homogenate and glucose and cortisol levels in blood, were measured. Data analysis was carried out using one-way analysis of variance and post-hoc Tukey's test.

**Results:** Spatial memory in the rats under immobilization stress (sham group) showed a significant decrease as compared to the control group. Administration of extract of Noroozak root improved the spatial memory in the groups receiving extract and extract-drug compared to sham and fluvoxamine groups. Also, the extract of Noroozak root improved the fluvoxamine-induced attenuation of memory, increased catalase, and decreased malondialdehyde, glucose, and cortisol in the groups under treatment with extract and extract-drug compared to sham group.

**Conclusion:** The findings showed that immobilization stress and fluvoxamine administration for the treatment of stress-induced depression resulted in attenuation of spatial memory; while, the extract of Noroozak root improved memory in all groups due to powerful antioxidant property.

**Keywords:** Restraint, Physical; Spatial memory; *Salvia leriifolia*; Fluvoxamine; Radial maze.

\*Corresponding Author:  
Soudeh Erish, Department  
of Biology, Faculty of  
Sciences, Urmia University,  
Urmia, Iran.

Email:  
soarish1366@gmail.com

Received: 6 Oct, 2016

Accepted: 26 Jul, 2016

## تأثیر عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه نوروزک و فلوکسامین بر حافظه فضایی موش‌های صحرائی نر تحت استرس بی‌حرکتی

سوده اریش<sup>۱\*</sup>، مهدی محمدزاده<sup>۱</sup>، مینو ایلخانی‌پور<sup>۱</sup>، فرین بابائی<sup>۱</sup>

### چکیده

**زمینه و هدف:** استرس اکسیداتیو با تأثیر بر سیستم عصبی، موجب اختلال در فرآیندهایی از جمله یادگیری و حافظه می‌شود. همچنین استفاده از داروهای شیمیایی برای درمان افسردگی ناشی از استرس اغلب با تضعیف حافظه همراه است. در مطالعه حاضر، اثرات عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه نوروزک (*Salvia lerifolia*) به‌عنوان آنتی‌اکسیدان، به همراه داروی ضدافسردگی فلوکسامین بر حافظه فضایی موش‌های صحرائی نر تحت استرس بی‌حرکتی بررسی گردید.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی، ۲۵ سر موش صحرائی نر بالغ (با میانگین وزنی ۱۷۰ گرم) به‌طور تصادفی به ۵ گروه پنج‌تایی تقسیم شدند. حیوانات با غلظت‌های مختلف دارو و عصاره به‌روش خوراکی به مدت ۲۱ روز تیمار شدند. در پایان دوره تیمار، جهت بررسی شاخص‌های رفتاری، از ماز شعاعی ۸ بازویی استفاده گردید. همچنین میزان مالون‌دی‌آلدئید و کاتالاز در هموژنای بافت مغز و مقادیر گلوکز و کورتیزول در خون اندازه‌گیری شد. تحلیل داده‌ها به کمک آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و پس‌آزمون توکی صورت گرفت.

**یافته‌ها:** حافظه فضایی در موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی (گروه شاهد)، کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد. تجویز عصاره ریشه نوروزک سبب بهبود حافظه فضایی در گروه دریافت‌کننده عصاره و گروه عصاره - دارو نسبت به گروه شاهد و فلوکسامین شد. همچنین عصاره ریشه نوروزک باعث بهبود حافظه کاهش‌یافته ناشی از فلوکسامین، افزایش کاتالاز، کاهش مالون‌دی‌آلدئید، گلوکز و کورتیزول در گروه‌های تحت تیمار عصاره و گروه عصاره - دارو نسبت به گروه شاهد گردید.

**نتیجه‌گیری:** نتایج نشان داد استرس بی‌حرکتی و تجویز فلوکسامین جهت درمان افسردگی ناشی از استرس، منجر به تضعیف حافظه فضایی شده است؛ درحالی‌که عصاره ریشه نوروزک به‌علت خاصیت آنتی‌اکسیدانی قوی باعث بهبود حافظه در تمام گروه‌ها شد.

**کلید واژه‌ها:** محدودیت حرکتی؛ حافظه فضایی؛ نوروزک؛ فلوکسامین؛ ماز شعاعی.

گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم،  
دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

\* نویسنده مسئول مکاتبات:

سوده اریش، گروه زیست‌شناسی،  
دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه،  
ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:  
soarish1366@gmail.com

تاریخ دریافت: ۹۵/۵/۴

تاریخ پذیرش: ۹۵/۷/۱۴

لطفاً به این مقاله به‌صورت زیر استناد نمایید:

Erish S, Mohammadzadeh M, Ilkhanipour M, Babaei F. The effect of hydroalcoholic extract of salvia lerifolia root and fluvoxamine on the spatial memory in male rats under immobilization stress.

Qom Univ Med Sci J 2018;11(11):22-32. [Full Text in Persian]

## مقدمه

حافظه، توانایی به یاد آوردن وقایع گذشته به صورت خودآگاه یا ناخودآگاه (۱) و مکانیسمی برای کدبندی، ذخیره‌سازی و فراخوانی اطلاعات ذخیره‌شده است (۲). حافظه نقش اساسی در عملکرد آدمی دارد و بدون آن، انجام ساده‌ترین کارها غیرممکن است. عوامل متعددی از جمله استرس به واسطه تغییر واکنش‌های شیمیایی مغز می‌تواند روی یادگیری و حافظه اثرات منفی بگذارد و به طور همزمان منجر به بروز اختلالات نورولوژیکی مانند افسردگی شود (۳،۴). اغلب داروهای ضدافسردگی با افزایش سطح نوروترانسمیترهای مغزی، ضمن درمان افسردگی می‌توانند باعث تضعیف حافظه شوند (۵). فلوکسامین به‌عنوان داروی مهارکننده اختصاصی بازجذب سروتونین (SSRIs)، باعث افزایش سروتونین در شکاف سیناپسی می‌شود، همچنین افزایش سروتونین موجب اختلال در سیستم کولینرژیک می‌گردد (۶). سیستم سروتونینیک نقش مهمی را در یادگیری و حافظه ایفا می‌کند. اطلاعاتی که درباره اثرات سروتونین بر حافظه و یادگیری وجود دارد، متناقض است. گزارش شده پاراکلرو فیل‌آل‌این که متوقف‌کننده سروتونین است، عملکرد تثبیت یا به‌خاطر‌آوری را تسهیل کرده و برای یادگیری احترازی فعال و غیرفعال، اثر تسهیلی، ممانعت‌کنندگی و یا بی‌اثر دارد (۷). از طرفی، بعضی آزمایش‌ها نشان می‌دهد اپروکلالات (یک متوقف‌کننده برداشت مجدد سروتونین)؛ به‌صورت وابسته به دوز، عملکرد یادگیری فضایی را تضعیف می‌کند (۸) به این ترتیب، بررسی بیشتر نقش SSRIs از جمله فلوکسامین بر روند تغییرات حافظه ضروری است. از دیرباز نقش گیاهان دارویی در کنترل بیماری‌ها بسیار موردتوجه قرار گرفته است. تأکید محققان علم داروشناسی و داروسازی بیشتر به استفاده از داروهای گیاهی و یافتن ترکیبات مؤثرتر جهت درمان بیماری‌ها می‌باشد (۹). از جمله گیاهانی که در این خصوص حایز اهمیت است، نوروزک (*Salvia leriifolia*) می‌باشد. نوروزک گیاهی از تیره نعناع بومی استان خراسان و سمنان بوده که خواص دارویی متعددی دارد. گزارش‌های مختلفی در ارتباط با خواص درمانی گیاه نوروزک وجود دارد.

عصاره‌های آبی و الکی ریشه گیاه دارای خاصیت محافظت‌کنندگی عصبی در برابر کم‌خونی‌های موضعی (Cerebral ischemia) در مغز موش است، همچنین عصاره ریشه و برگ نوروزک دارای خواص ضددردی، آرام‌بخشی، ضدالتهاب و ضد میکروبی می‌باشد (۱۳-۱۰). سیستم کولینرژیک نیز نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارد (۱۴)، عصاره چهارگونه مختلف از *Salvia* از جمله نوروزک به‌واسطه تأثیر بازدارنده بر آنزیم بوتیریل کولین استراز می‌تواند در معالجه بیماری آلزایمر مفید باشد (۱۵). آلزایمر، به‌عنوان شایع‌ترین علت فراموشی، نوعی بیماری نورودژنراتیو پیشرونده محسوب می‌شود که با از دست‌رفتن نورون‌ها در فضاها مختلف مغزی و نقصان حافظه همراه است. شواهد متعددی دال بر وجود خاصیت آنتی‌اکسیدانی در برگ و ریشه نوروزک موجود است (۱۶). همچنین در بررسی عصاره ریشه و برگ با استفاده از روش HPLC، مشخص شده است فعالیت آنتی‌اکسیدانی در این عصاره مربوط به ترکیبات شالکونی (Chalcones) می‌باشد. شالکون‌ها، (پیش‌ساز طبیعی فلاون‌ها و دی‌هیدروفلاون‌ها) از توان آنتی‌اکسیدانی بالایی برخوردارند. تحقیقات به آثار دارویی انواع شالکون‌ها از جمله خواص ضدالتهابی، ضدباکتریایی، ضدقارچی و ضدسرطانی اشاره دارند (۱۷، ۱۸). از ترکیبات متابولیتی ثانویه در این گیاه می‌توان به ترپنئوئیدها، ساپونین‌ها، فلاونوئیدها، تانن‌ها و آلکالوئیدها اشاره کرد (۱۹).

از متابولیت‌های ثانویه گیاهان، ترکیب‌های فنلی به‌خصوص پلی‌فنل‌ها به لحاظ اعمال فیزیولوژیکی و آثار بهداشتی - درمانی اهمیت ویژه‌ای دارند. مهم‌ترین پلی‌فنل‌ها به گروه فلاونوئیدها تعلق دارند که به لحاظ ساختار فنلی دارای توانایی آنتی‌اکسیدانی هستند (۲۰).

با توجه به اهمیت درمان اختلالات حافظه‌ای ناشی از مصرف دارو از جمله داروهای ضدافسردگی و با توجه به خواص درمانی نوروزک، در مطالعه حاضر برای اولین بار به بررسی اثرات عصاره ریشه نوروزک به همراه داروی فلوکسامین بر حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر پرداخته شد. امید است نتایج این مطالعه بتواند زمینه‌ساز تحقیقات بیشتر برای به‌کارگیری عصاره این گیاه دارویی در تقویت و بهبود حافظه باشد.

## روش بررسی

این مطالعه تجربی در خانه حیوانات گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه بر روی موش‌های صحرایی نر بالغ از نژاد ویستار انجام شد. در این بررسی آزمایشگاهی، از ۲۵ سر موش نر (با محدوده وزنی  $170 \pm 30$  گرم) استفاده شد. این مطالعه در شرایط رژیم استاندارد آزمایشگاهی (غذای پلت استاندارد و آب بدون محدودیت) و در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی، دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۳۰-۲۵٪) صورت گرفت. حیوانات بعد از گروه‌بندی به مدت یک‌هفته در شرایط یکسان نگهداری شدند. به‌منظور حصول سازش با محیط، تمامی آزمایش‌ها پس از گذشت حداقل ۲ هفته و استقرار حیوانات در قفس انجام گرفت.

گیاه کامل نوروزک بعد از تهیه از دانشگاه فردوسی مشهد، توسط کارشناس هرباریم گروه زیست‌شناسی دانشکده علوم شناسایی و تأیید شد. ریشه‌های گیاه نوروزک بعد از تهیه و تمیز کردن، در دمای اتاق و دور از نور خورشید، خشک، سپس به کمک آسیاب برقی به شکل پودر درآمد. جهت تهیه عصاره هیدروالکلی (۳۰٪ آب و ۷۰٪ اتانول ۹۶ درجه)، بعد از محاسبه وزن برای تهیه غلظت مورد نیاز، پودر ریشه را در ظرف مناسبی ریخته و به‌ازای هر گرم پودر، ۵ میلی‌لیتر حلال هیدروالکلی به آن افزوده شد و ظرف روی شیکر بدون حرارت به مدت ۲۴ ساعت قرار گرفت. بعد از ۲۴ ساعت، محتویات ظرف با پارچه تمیز و قیف بوختر صاف گردید و حلال آن در دستگاه روتاری، در دمای ۵۰ درجه سانتیگراد، تحت خلاء جدا شد. در ادامه، محلول صاف‌شده را در چند پلیت ریخته و در آن ۵۰ درجه سانتیگراد خشک گردید. در این مطالعه از داروی فلوکسامین ۱۰۰ میلی‌گرم (ضدافسردگی، ضداضطراب و مهارکننده اختصاصی بازجذب سروتونین) خریداری شده از شرکت داروسازی سبحان استفاده شد.

برای ایجاد استرس از نوع محدودیت حرکتی، حیوانات در محدودکننده‌های پلاستیکی قرار گرفتند. این وضعیت به‌صورت روزی ۲ ساعت در زمان‌های تعیین شده به مدت ۲۱ روز انجام گرفت. این استرس موجب فعال شدن محور HPA می‌شود (۲۱).

حیوانات در این آزمایش، جهت بررسی اثرات عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه نوروزک و فلوکسامین بر حافظه فضایی، به‌طور تصادفی به پنج گروه پنج‌تایی به‌طور تصادفی به شرح زیر تقسیم شدند:

۱. گروه کنترل سالم (دریافت‌کننده فقط آب مقطر)؛
  ۲. گروه شاهد (دریافت‌کننده استرس بی‌حرکتی و آب مقطر)؛
  ۳. گروه دریافت‌کننده فلوکسامین (دوز ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور روزانه) + استرس بی‌حرکتی؛
  ۴. گروه دریافت‌کننده عصاره ریشه نوروزک (میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور روزانه) + استرس بی‌حرکتی؛
  ۵. گروه دریافت‌کننده عصاره (میزان ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور روزانه) و دارو (دوز ۱۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به‌طور روزانه) + استرس بی‌حرکتی.
- عصاره ریشه و دارو پس از حل شدن در آب مقطر (با حجم ۰/۵ سی‌سی با روش گاواژ)، ۳۰ دقیقه بعد از القای استرس (به‌مدت ۲۱ روز) به موش‌های تحت تیمار داده شد. در گروه دریافت‌کننده دارو و عصاره، گاواژ فلوکسامین، ۲۰ دقیقه بعد از گاواژ عصاره ریشه گیاه انجام گرفت.
- در ابتدا و پس از اتمام دوره تیمار، وزن موش‌ها به‌دقت و با استفاده از ترازوی دیجیتال (با دقت ۰/۰۰۱) توزین شد. به‌منظور سنجش یادگیری، از دستگاه رفتاری ماز شعاعی ۸ بازویی چوبی استفاده شد. این سیستم شامل ۸ بازوی یکسان شعاعی است که از یک صفحه مرکزی کوچک دایره‌ای شکل منشعب می‌شود. حیوانات ۲۱ روز تحت تیمار عصاره و دارو بودند و در روز نوزدهم، به‌منظور یادگیری و آشنایی با محیط ماز، هریک از حیوانات به تنهایی به مدت ۵ دقیقه در داخل بازوها رها شدند. در روز بیستم، غذا به‌عنوان پاداش در داخل یکی از بازوهای ماز گذاشته شد و وقتی حیوان غذا را پیدا می‌کرد اجازه داشت تا مقداری از غذا را خورده، سپس به قفس برگردد. بدین طریق حیوانات می‌فهمیدند که باید در ماز به دنبال غذا بگردند. همچنین روی دیوارهای آزمایشگاه، علائمی همچون پوستر، ساعت و عروسک قرار داده شد که این علائم، حیوان را برای یافتن غذا کمک می‌کرد. تمامی رفتار موش‌ها در داخل بازوهای ماز شعاعی، با دوربین مستقر در بالای ماز ضبط گردید.

با تیوباریوتیک اسید (TBA) وارد واکنش شده و کمپلکس رنگی تولید می‌کند. در روش اسپکتروفتومتری، معیار اندازه‌گیری براساس رنگ ایجادشده بر اثر واکنش TBA با MDA می‌باشد؛ بدین منظور ۳۰۰ میکرولیتر تری کلرو استیک اسید ۱۰٪ به ۱۵۰ میکرولیتر از نمونه اضافه و به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۰۰۰g سانتریفوژ شد، سپس ۳۰۰ میکرولیتر از محلول رویی به لوله آزمایش منتقل و با ۳۰۰ میکرولیتر از تیوباریوتیک اسید ۶۷٪ در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد برای ۲۵ دقیقه انکوبه گردید، سپس بعد از خنک شدن محلول در مدت زمان ۵ دقیقه، رنگ صورتی ناشی از واکنش TBA-MDA ظاهر و به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۵ نانومتر، درجه پراکسیداسیون لیپیدها ارزیابی شد. غلظت MDA به کمک ضریب جذبی کمپلکس TBA-MDA ( $\epsilon = 1/56 \times 10^5$ ) محاسبه و به صورت نانومول بر گرم، وزن مرطوب بافت بیان گردید (۲۳).

برای سنجش کاتالاز، بافت‌ها در بافر فسفات با  $\text{pH}=6/8$  و با غلظت ۱۰٪ (وزنی/حجمی) هموژنیزه شدند، سپس بافت هموژنه به مدت ۵ دقیقه در سانتریفوژ با دور ۵۰۰۰g سانتریفوژ شد. در ادامه، با برداشتن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی و افزودن ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات به آن، همچنین افزودن ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آب اکسیژنه، مقادیر جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در زمان‌های صفر و ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد (۲۴).

نتایج با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۲۲ و روش آماری آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست تعقیبی توکی تحلیل شدند. اختلاف کمتر از ۰/۰۵، معنی‌دار در نظر گرفته شد. داده‌ها برحسب میانگین  $\pm$  انحراف معیار بیان شدند.

۲۴ ساعت بعد از آموزش، آزمون سنجش حافظه فضایی انجام شد و زمان یافتن غذا در مدت زمان ۵ دقیقه با کرنومتر اندازه‌گیری شد (۲۲). حیوانات یک‌روز پس از پایان آزمایش‌های رفتاری، کشته شدند و برای ارزیابی‌های بیوشیمیایی، نمونه‌های بافتی موردنیاز در ظروف برچسب‌دار جمع‌آوری شد.

موش‌های تحت تیمار به‌وسیله استنشاق دی اتیل اتر در دسیکاتور بیهوش شدند. سپس هر حیوان بر روی تشک تشریح فیکس شد. با انجام کالبدشکافی و نمایان شدن قلب حیوان با استفاده از سرنگ‌های ۵ میلی‌لیتری آغشته به ماده ضدانعقاد هپارین، عمل خونگیری از موش صورت گرفت. نمونه‌های خونی جهت اندازه‌گیری میزان گلوکز و کورتیزول پلاسما را در لوله‌های مخصوص آزمایشگاه ریخته و تا زمان انجام آزمایش در فریزر ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند، سپس بافت مورد نظر (بافت مغزی) جدا گردید و تا زمان انجام آنالیزهای بیوشیمیایی در یخچال فریزر ۸۰- درجه سانتیگراد قرار گرفت؛ برای این منظور، بافت‌ها در بافر فسفات ۰/۰۵ مولار در دمای صفر درجه سانتیگراد با  $\text{pH}=7/4$  و با غلظت ۱۰٪ (وزنی/حجمی) هموژنیزه شدند و در ادامه، محلول‌های حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۶۰۰۰g سانتریفوژ کرده و از مایع رویی جهت سنجش میزان تولید محصولات پراکسیداسیون لیپیدی استفاده گردید. سطوح پراکسیداسیون لیپید با استفاده از روش Cheesman و Esterbauer اندازه‌گیری شد. درجه پراکسیداسیون لیپیدها بر مبنای میزان تشکیل مالون‌دی‌آلدئید (MDA) مشخص می‌شود. مالون‌دی‌آلدئید (محصول نهایی پراکسیداسیون اسیدهای چرب)

## یافته‌ها

جدول شماره ۱: مدت زمان رسیدن به غذا در ماز شعاعی، کورتیزول، گلوکز، مالون‌دی‌آلدئید، کاتالاز در گروه‌های تحت بررسی

گروه‌ها	زمان رسیدن به غذا (ثانیه)	کورتیزول میکروگرم بردسی لیتر	گلوکز نانوگرم بردسی لیتر	مالون‌دی‌آلدئید نانومول بر گرم وزن مرطوب بافت	کاتالاز میکرومول بر گرم وزن مرطوب بافت
کنترل	۵۱/۸±۹/۱۵	۲/۳۳۶±۰/۵۰۰۴	۲۵۲±۱۵/۱	۹/۹۸±۱/۹۷	۲/۲۰±۰/۱۵
شاهد	۱۱۲/۶±۵۶/۴ <sup>d</sup>	۳/۸۶±۰/۴۹۵ <sup>c</sup>	۳۲۹/۸±۴۰/۳۱ <sup>d</sup>	۱۵/۸±۱/۴۲ <sup>d</sup>	۱±۰/۲ <sup>d</sup>
دارو	۲۴۹/۴±۶۹/۶ <sup>a,d</sup>	۲/۵۶±۰/۴۸۵ <sup>b</sup>	۳۰۸±۱۸/۹۷ <sup>c</sup>	۱۰/۴۶±۱/۸۱ <sup>a</sup>	۲/۲±۰/۵۲ <sup>c</sup>
عصاره	۴۱/۲±۳۴/۴ <sup>a</sup>	۱/۱۲۲±۰/۷۰ <sup>a,e</sup>	۲۲۴/۴±۵/۲۲ <sup>a</sup>	۴/۷۳۸±۰/۶۳ <sup>a,d</sup>	۲/۵±۰/۷۷ <sup>b</sup>
دارو-عصاره	۳۵±۶/۶ <sup>a</sup>	۱/۷۴±۰/۴۸۷ <sup>a</sup>	۱۹۳±۱۱/۰۶ <sup>a,e</sup>	۱۲/۳۲±۱/۲۰ <sup>b</sup>	۱/۰۱±۰/۴۵ <sup>a</sup>

( $p \leq 0/001$ ) با علامت a، ( $p \leq 0/01$ ) با علامت b، ( $p \leq 0/05$ ) با علامت c در مقایسه با گروه شاهد. ( $p \leq 0/001$ ) با علامت d و ( $p \leq 0/01$ ) با علامت e در مقایسه با گروه کنترل.

سالم، دارو - عصاره ( $p \leq 0/001$ ) و گروه دریافت‌کننده دارو - عصاره ( $p \leq 0/01$ )، افزایش معنی‌داری داشته است. همچنین کاهش معنی‌داری ( $p \leq 0/001$ ) در مقدار مالون‌دی‌آلدئید در گروه دریافت‌کننده عصاره نسبت به چهار گروه دیگر مشاهده گردید. در این بررسی‌ها، اختلاف معنی‌داری بین گروه‌های کنترل سالم، فلوکسامین و نوروزک فلوکسامین مشاهده نشد. مقدار کاتالاز بافت مغز در گروه شاهد، به‌طور معنی‌دار ( $p \leq 0/001$ ) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. تجویز فلوکسامین ( $p \leq 0/02$ ) و نوروزک ( $p \leq 0/006$ ) به تنهایی یا همراه با یکدیگر ( $p \leq 0/001$ ) منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کاتالاز در مقایسه با گروه شاهد گردید.

### بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد استرس به‌طور معنی‌دار موجب تضعیف یادگیری می‌شود. این نتیجه با مشاهده افزایش مدت زمان پیدا کردن غذا در دستگاه رفتاری توسط موش‌های تحت استرس بی‌حرکتی به اثبات رسید. در این راستا، تحقیقات نشان می‌دهند به‌دلیل تجمع زیاد گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئیدی در هیپوکامپ، این ساختار مغزی می‌تواند دستخوش تغییرات ناشی از افزایش گلوکوکورتیکوئیدها در طی استرس شود (۲۵). همچنین در این تحقیق افزایش معنی‌دار میزان هورمون کورتیزول در گروه شاهد و کاهش آن در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره مشاهده گردید. در مطالعات پیشین، اثرات هورمون‌های آدرنال تولیدشده به‌وسیله استرس بر ساختار هیپوکامپ گزارش شده است. قرارگرفتن طولانی‌مدت در معرض استرس و گلوکوکورتیکوئیدها موجب تغییرات زیادی در ساختار هیپوکامپ از جمله تغییرات نوروشیمیایی و تحریک‌پذیری، کاهش نورونز، تغییرات مورفولوژی نورونی و حتی مرگ سلولی می‌شود (۲۶). سایر شواهد حاکی از آن است که ایجاد استرس و قرار گرفتن در معرض گلوکوکورتیکوئیدها موجب آتروفی دندرتی و آسیب عصبی به همراه کاهش نورونز در هیپوکامپ می‌شود (۲۷، ۲۸)، همچنین می‌تواند در تغییرات شکل‌پذیری عصبی دخیل باشد (۲۹).

نتایج بررسی حافظه و یادگیری با استفاده از ماز شعاعی نشان داد مدت زمان پیدا کردن غذا در گروه‌های تحت تیمار با داروی فلوکسامین و گروه شاهد (دریافت‌کننده استرس بی‌حرکتی) در مقایسه با سه گروه دیگر افزایش معنی‌داری ( $p \leq 0/001$ ) داشته است. این شاخص در گروه فلوکسامین، افزایش معنی‌داری ( $p \leq 0/001$ ) نسبت به گروه‌های (شاهد، عصاره، دارو - عصاره و کنترل سالم) نشان داد. مدت زمان یافتن غذا در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره، دریافت‌کننده عصاره و دارو نسبت به گروه کنترل کاهش یافت، اما این کاهش معنی‌دار نبود.

ارزیابی میزان هورمون کورتیزول در موش‌های صحرایی تحت تیمار نشان داد مقدار هورمون کورتیزول در گروه شاهد در مقایسه با سایر گروه‌ها، افزایش معنی‌داری ( $p \leq 0/05$ ) داشته است. تیمار با فلوکسامین ( $p \leq 0/009$ ) و نوروزک ( $p \leq 0/001$ ) به تنهایی یا همراه با یکدیگر ( $p \leq 0/001$ ) نیز منجر به کاهش معنی‌دار کورتیزول در مقایسه با گروه شاهد شد. کاهش کورتیزول فقط در گروه دریافت‌کننده عصاره نوروزک در مقایسه با گروه کنترل معنی‌دار ( $p \leq 0/01$ ) بود. همچنین در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره با دارو - عصاره و گروه کنترل با گروه‌های فلوکسامین و دارو - عصاره، اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در گروه شاهد نسبت به گروه کنترل سالم نیز افزایش معنی‌دار کورتیزول ( $p \leq 0/002$ ) وجود داشت.

اندازه‌گیری میزان قند خون در حیوانات مورد مطالعه نشان داد مقدار این شاخص در گروه‌های تحت تیمار با داروی فلوکسامین نسبت به گروه کنترل سالم ( $p = 0/005$ ) و با گروه دریافت‌کننده عصاره و دریافت‌کننده دارو - عصاره ( $p \leq 0/001$ )، افزایش معنی‌داری داشته است. همچنین در گروه شاهد (دریافت‌کننده استرس بی‌حرکتی) در مقایسه با سه گروه دیگر (کنترل سالم، عصاره و دارو - عصاره)، افزایش معنی‌داری ( $p \leq 0/001$ ) نشان داد. این شاخص در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره و دریافت‌کننده عصاره - دارو نسبت به گروه کنترل سالم کاهش داشت، اما فقط با گروه دریافت‌کننده عصاره - دارو، کاهش معنی‌دار ( $p \leq 0/003$ ) بود.

سنجش میزان مالون‌دی‌آلدئید در مغز نشان داد میزان پراکسیداسیون لیپیدی در گروه شاهد نسبت به گروه‌های کنترل

تقویت‌کنندگی بر فرآیند به‌خاطر آوری حافظه است (۳۴). Kim و همکاران عنوان کردند گونه *Salvia Miltiorrhiza* از تیره نعناعیان، دارای اثرات ضد فراموشی در موش‌هایی است که فراموشی در آنها به وسیله اسکوپولامین القا شده است (۳۱).

احتمالاً ترکیبات گیاهان جنس *Salvia* از تیره نعناعیان با ویژگی‌های دارویی و حیاتی خاص، آنها را در طب سنتی برای بهبود بسیاری از بیماری‌ها مطرح ساخته است. تانیشون‌ها ترکیباتی مهم با فراوانی بالا در تیره نعناعیان می‌باشند. تانیشون‌ها گروهی از دی‌ترپن‌نویدها بوده که با خواص دارویی بی‌شمار، در درمان و بهبودی بسیاری از بیماری‌ها کاربرد دارند (۳۵). تانیشون موجود در گونه‌هایی از جنس *Salvia* می‌تواند حافظه تخریب‌شده ناشی از القای اسکوپولامین را در موش بهبود بخشد (۳۱). مشخص شده است در گونه نوروزک، دی‌ترپنی به نام دی‌ترین معطر جدید (II) وجود دارد (۳۶). همچنین فلاونوئیدهایی با فراوانی بالا در گیاهان مختلف از جمله تیره نعناعیان موجود است. مدارک و شواهد به دست آمده از مطالعات نشان می‌دهند فلاونوئیدها نیز دارای اثرات بهبوددهندگی حافظه، یادگیری و شناخت هستند (۳۷). بنابراین، بخشی از اثرات تقویت‌کنندگی، بهبوددهندگی و ضد فراموشی عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه نوروزک در این مطالعه می‌تواند ناشی از وجود چنین ترکیبات مؤثر و سودمند موجود در این گونه گیاهی با خواص دارویی بی‌شمار آن مانند اثر بهبوددهندگی بر حافظه و یادگیری باشد.

از طرف دیگر، در پژوهش‌ها ارتباط و اثرات استرس اکسیداتیو با اختلالات شناختی گزارش شده است (۳۸). زمینه‌سازی افزایش استرس اکسیداتیو بافت مغزی در سنین بالا در ابتلا به بیماری آلزایمر در بررسی‌ها نیز تأیید شده است (۳۹). به همین دلیل، درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها به عنوان یک روش درمانی در چند بیماری نورودژنراتیو مطرح شده و با توجه به اینکه خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه نوروزک به اثبات رسیده است، این اثرات درمانی را از این گیاه می‌توان انتظار داشت (۱۶). ویژگی آنتی‌اکسیدانی عصاره هیدروالکلی نوروزک نیز می‌تواند در بهبود عملکرد یادگیری و حافظه نقش داشته باشد. بررسی خاصیت آنتی‌اکسیدانی ریشه گیاه نشان داده است عصاره ریشه نیز واجد ترکیب بوتین می‌باشد (۱۶).

این‌گونه تغییرات در هیپوکامپ به عنوان ساز و کار زیربنایی اختلالات شناختی ناشی از استرس معرفی شده و اغلب به تغییرات در کورتیکوسترون نسبت داده می‌شود. در مطالعه حاضر، افزایش معنی‌دار مقادیر کورتیزول و گلوکز در گروه شاهد تحت استرس بی‌حرکتی نسبت به سایر گروه‌ها مشاهده گردید، همچنین مقدار گلوکز در گروه دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی ریشه نوروزک کاهش یافت که این با اثر کاهش‌دهنده قند خون عصاره برگ و دانه نوروزک در مطالعه‌ای دیگر (۳۰)، همخوانی داشت.

در مطالعه حاضر، عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه نوروزک سبب تقویت حافظه در موش‌های بیمار گردید. همچنین نوروزک سبب ارتقای پاسخ به پارامترهای آزمون حافظه فضایی و یادگیری، نسبت به موش‌های شاهد شد. کاهش در زمان رسیدن به بازوی هدف در موش‌های دریافت‌کننده عصاره هیدروالکلی ریشه نوروزک، مبین اثرات مثبت و تقویت‌کنندگی این گیاه بر فرآیند یادگیری و حافظه بود. این غلظت عصاره توانست تضعیف حافظه ناشی از مصرف داروی فلوکسامین را در موش‌های تحت تیمار بهبود بخشد. در تمام دنیا، به منابع گیاهی برای درمان بیماران توجه خاصی می‌شود. گیاهان تیره نعناع که از زمان‌های گذشته در طب سنتی کاربرد داشته‌اند، در زمان حاضر نیز به صورت گسترده استفاده می‌شوند.

گزارش‌ها مشابه نشان می‌دهند گونه‌های مختلف جنس *Salvia* از تیره نعناعیان، همچون *Salvia officinalis*، *Salvia lavandulae* و *Salvia miltiorrhiz* دارای اثرات سودمندی بر حافظه و اختلالات شناختی هستند (۳۱). گونه *Salvia lavandulae* دارای اثرات مثبت بر سیستم کولینرژیک است (۳۲). سیستم کولینرژیک نقش مهمی در یادگیری و حافظه دارد؛ به طوری که با افزایش استیل کولین در مغز، بهبود در روند یادگیری و حافظه به وجود می‌آید (۱۴). گزارش شده است ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدی موجود در گیاهان، اثر قابل‌توجهی در بهبود عملکرد و فعالیت سیستم کولینرژیک دارند (۳۳)، و باعث مهار آنزیم استیل کولین استراز می‌شوند؛ بنابراین، احتمال می‌رود ریشه نوروزک با داشتن چنین ترکیباتی (۱۹) بتواند با تأثیر بر سیستم کولینرژیک سبب بهبود در یادگیری و حافظه شود. مشخص شده است روغن و عصاره اتانولی گیاه *Salvia officinalis* دارای اثرات

افزایش سطح آدنوزین در مغز، اثرات خود را در مهار پراکسیداسیون لیپید و آسیب‌های ایسکمی اعمال می‌کند و لذا می‌توان مطالعات آینده را در این زمینه متمرکز کرد.

در این مطالعه، اثر داروی فلوکسامین بر روی MDA و کاتالاز مورد بررسی قرار گرفت که سبب کاهش پراکسیداسیون لیپیدی و افزایش کاتالاز در گروه فلوکسامین نسبت به گروه شاهد شد، این یافته با نتایج قبلی مطالعات که اثرات داروهای مختلف ضدافسردگی روی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را بررسی کرده و نشان دادند در دوز پایین باعث افزایش آنزیم‌ها می‌شود، همخوانی داشت (۴۹). به علاوه، در این تحقیق برای اولین بار اثر داروی فلوکسامین بر روی هورمون کورتیزول و قند خون مورد بررسی قرار گرفت که باعث کاهش میزان کورتیزول شد، اما روی گلوکز خون نسبت به گروه شاهد تأثیر معنی‌داری مشاهده نشد.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه نوروزک، پراکسیداسیون لیپیدی متعاقب استرس را به صورت معنی‌داری کاهش می‌دهد. همچنین این گیاه، یکی از گونه‌های گیاهی مؤثر بر عملکرد حافظه و به خاطر آوری می‌باشد. از طرفی، داروی فلوکسامین باعث تضعیف حافظه می‌شود. بنابراین، با توجه به خواص مهم و سودمند گیاه نوروزک، می‌توان از این گیاه به عنوان یک دارو در تقویت حافظه و بهبود اختلالات شناختی استفاده کرد که به مطالعات بیشتری در این زمینه نیاز است.

### تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه ارومیه جهت حمایت از اجرای طرح (به شماره ۵۲-۲ع)، نهایت تشکر و قدردانی را اعلام می‌دارند.

بوتئین ترکیبی است شالکونی با فعالیت آنتی‌اکسیدانی فوق‌العاده شگفت‌انگیز (۱۸)، که نقش مهمی در درمان سرطان‌های ریه و کبد (۴۰)، همچنین القای پدیده آپوپتوزیس در سلول‌های سرطانی HL-60 در خون انسان می‌تواند بازی کند (۴۱).

رادیکال‌های آزاد موجب آسیب اکسیداتیو اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها، لیپیدها، پراکسیداسیون چربی‌های غیراشباع در غشاهای سلولی، افزایش نفوذپذیری عروق ریز (که منجر به ایجاد ادم می‌گردد)، اختلال در عملکرد میتوکندری و در نهایت، سبب آسیب بافتی شده و لذا بالقوه سمی هستند (۴۲). امروزه، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و از بین‌برنده رادیکال‌های آزاد، به منظور به حداقل رساندن ضایعات نوروئی متعاقب استرس، آسیب‌های ایسکمی و سایر اختلالات مغزی بسیار مورد توجه قرار گرفته است.

عصاره آبی و الکی ریشه گیاه نوروزک عمدتاً حاوی ساپونین و تانن است (۴۳). گزارش‌هایی مبنی بر فعالیت ضدایسکمی و ضدهیپوکسی بعضی از این ترکیبات وجود دارد (۴۴، ۴۵).

در مطالعه حاضر عصاره هیدروالکلی ریشه گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia*)، از افزایش میزان MDA مغز متعاقب استرس، جلوگیری کرد، همچنین باعث افزایش کاتالاز در بافت مغزی شد. بنابراین، به نظر می‌رسد اثرات عصاره ریشه گیاه نوروزک در مهار پراکسیداسیون لیپید به علت وجود ترکیبات آنتی‌اکسیدانت و مهارکننده رادیکال‌های آزاد در آن می‌باشد.

Wang و همکاران نشان دادند گیاه *Salvia miltiorrhiza*، غلظت ATP و احتمالاً آدنوزین را در مغز افزایش می‌دهد (۴۶). گزارش‌های متعددی مبنی بر اثرات نورومدولاتوری، ضدهیپوکسی، ضدایسکمی (۴۷) و مهار پراکسیداسیون لیپید (۴۸) در مورد آدنوزین یا آنالوگ‌های آن وجود دارد. این احتمال نیز وجود دارد که عصاره گیاه نوروزک *Salvia leriifolia* از طریق



## References:

1. De Kloet ER, Joels M, Holsboer F. Stress and the brain: From adaptation to disease. *Nat Rev Neurosci* 2005;6(6):463-75.
2. Barrett KE, Barman SM, Boitano S, Brooks H. *Ganong's Review of medical physiology*. Norwalk: McGraw-Hill Education; 1999.
3. Tabatabaei M, Shakeri M, Ebadi H. Evaluation of extract of Ginkgo Biloba [EGB] and its effect on memory of healthy volunteer students in Mashad University. *Med J Mashad Univ Med Sci* 2005;47(86):2-367.
4. Izquierdo I, McGaugh JL. Behavioural pharmacology and its contribution to the molecular basis of memory consolidation. *Behav Pharmacol* 2000;11(7-8):517-34.
5. Miller J, Michael W, Monnet M, Davy M. Managing antidepressant overdoses. *Emerg Med Serv* 2004;33(10):113-9.
6. Yamauchi M, Miyara T, Matsushima T, Imanishi T. Desensitization of 5-HT<sub>2</sub> a receptor function by chronic administration of selective serotonin reuptake inhibitors. *Brain Res* 2006;1067(1):164-9.
7. Naghadi N, Jalalvand E, Haeri Rohani A, Majlesi N. The effect of fluoxetine injection in the hippocampus CA1 on spatial learning and memory in adult male rats. *Physiol Pharmacol* 2000;4(2):219-28. [Full Text in Persian]
8. Riekkinen P Jr, Jäkälä P, Sirviö J, Riekkinen P. The effects of increased serotonergic and decreased cholinergic activities on spatial navigation performance in rats, *Pharmacol. Pharmacol Biochem Behav* 1991;39(1):25-9.
9. Samsamshariat SH, Moattar F. *Treatment with plant*. Tehran: Roozbahan Pub; 2004. [Full Text in Persian]
10. Hosseinzadeh H, Sadeghnia H, Imenshahidi M, Fazly Bazzaz BS. Review of the pharmacological and toxicological effects of *Salvia leriifolia*. *Iranian J Basic Med Sci* 2009;12(1):1-2.
11. Hosseinzadeh H, Lary P. The effect of *Salvia leriifolia* Benth root extracts on morphine dependence in mice. *Phytother Res* 2000;14(5):384-87.
12. Hosseinzadeh H, Yavary M. Antiinflammatory effect of *Salvia leriifolia* Benth leaf extract in mice and rat. *Pharm Pharmacol Lett* 1999;9(2):60-1.
13. Baghi N. *Evaluation effects of antibacterial of salvia leriifolia*. Mashhad: Mashhad Medical Sciences University Pub; 1996. [Text in Persian]
14. Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 2006;16(6):710–15.
15. Savelev SU, Okello EJ, Perry EK. Butyryl and acetyl-cholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. *Phytother Res* 2004;18(4):315-24.
16. Hadad Khodaparast MH, Haghdooost A, Elhami-Rad AH, Movahhed G, Karazhiyan H. Antioxidant activity and thermal properties of *Salvia leriifolia* (Norozak) root extract. *International conference on Innovations in Food and Bioprocess Technologies*. Thailand: Pathumthani; 2006. p. 378.
17. Dziedzic SZ, Hudson B. Polyhydroxychalcones and flavanones as antioxidants for edible oils. *Food Chem* 1983;12(3):205-12.
18. Anto RJ, Sukumaran K, Kutta G, Rao MNA, Subbaraju V, Kuttan R. Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds. *Cancer Lett* 1995;97(1):33-7.
19. Habibi Z, Roustaeian A. *Chemical review salvia leriifolia*. Tehran: Tehran University Pub; 1998. [Text in Persian]
20. Kähkönen MP, Hopia AI, Vuorela HJ, Rauha JP, Pihlaja K, Kujala TS. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds *J Agric Food Chem* 1999;47(10):3954-62.

21. Diamond DM, Bennett MC, Fleshner M, Rose GM. Inverted-U relationship between the level of peripheral corticosterone and the magnitude of hippocampal primed burst potentiation. *Hippocampus* 1992;2(4):421-30.
22. Ichitani Y, Okaichi H, Yoshikawa T, Iyata Y. Learning behavior in chronic vitamin E-deficient and -supplemented rats: Radial arm maze learning and passive avoidance response. *Behav Brain Res* 1992;51(2):157-64.
23. Hosseinzadeh H, Sadeghnia RH. Safranal, a constituent of *Crocus sativus* (saffron), attenuated cerebral ischemia induced oxidative damage in rat hippocampus. *J Pharm Pharm Sci* 2005;8(3):394-9.
24. Aebi H. Catalase invitro. *Methods Enzymol* 1984;105:121-6.
25. You JM, Yun SJ, Nam KN, Kang C, Won R, Lee EH. Mechanism of glucocorticoid-induced oxidative stress in rat hippocampal slice cultures. *Can J Physiol Pharmacol* 2009;87(6):440-7.
26. Conrad CD. A critical review of chronic stress effects on spatial learning and memory. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2010;34(5):742-55.
27. Drapeau E, Mayo W, Aurousseau C, Le Moal M, Piazza PV, Abrous DN. Spatial memory performances of aged rats in the water maze predict levels of hippocampal neurogenesis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100(24):14385-90.
28. Pham K, Nacher J, Hof PR, McEwen BS. Repeated restraint stress suppresses neurogenesis and induced biphasic PSA-NCAM expression in the adult rat dentate gyrus. *Eur J Neurosci* 2003;17(4):879-86.
29. Sapolsky RM. Stress and plasticity in the limbic system. *Neurochem Res* 2003;28(11):1735-42.
30. Shokohizade H. The decreasing effects of blood sugar of *Salvia leriifolia* leaf and seed on mice. Mashhad: Mashhad Ferdwosi Univ Pub; 1997. [Text in Persian]
31. Kim DH, Jeon SJ, Jung JW, Lee S, Yoon BH, Shin BY, et al. Tanshinone congeners improve memory impairments induced by scopolamine on passive avoidance tasks in mice. *Eur J Pharmacol* 2007;28:140-47.
32. Perry NSL, Houghton PJ, Theobald AE, Jenner P, Perry EK. In-vitro inhibition of erythrocyte acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* essential oil and constituent terpenes. *J Pharm Pharmacol* 2000;52(7):895-902.
33. Gomathi R, Manian S. Analgesic and acetylcholinesterase inhibition potential of polyphenols from *Scolopia crenata* (Flacourtiaceae): An endemic medicinal plant of India. *Ind Crops Prod* 2015;73:134-43.
34. Eidi M, Eidi A, Bahar M. Effects of *Salvia officinalis* L. (sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. *Nutrition* 2006;22(3):321-6.
35. Dong HK, Sunho K, Su JJ, Kun HS, Seungjoo L, Byung HY, et al. Tanshinone I enhances learning and memory, and ameliorates memory impairment in mice via the extracellular signal-regulated kinase signalling pathway. *Br J Pharmacol* 2009;158(4):1131-42.
36. Habibi Z, Eftekhari F, Samiee K, Rustaiyan A. Structure and antibacterial activity of a new labdane diterpenoid from *Salvia leriifolia*. *J Nat Prod* 2000;63(2):221-70.
37. Rendeiro C, Spencer JPE, Vauzour D, Butler LT, Ellis JA, Williams CM. The impact of flavonoids on spatial memory in rodents: from behaviour to underlying hippocampal mechanisms. *Genes Nutr* 2009;4(4):251-70.
38. Fukui K, Onodera K, Shinkai T, Suzuki S, Urano S. Impairment of learning and memory in rats caused by oxidative stress and aging, and changes in antioxidative defense systems. *Ann N Y Acad Sci* 2001;928:168-75.
39. Hadinia A, Aryanpour R, Mehdizadeh M, Mahmodi R, Mossavizadeh A, Delaviz H, et al. The effect of *Silybum marianum* on GFAP and spatial memory in a mouse model of Alzheimer's disease. *Armaghane Danesh* 2009;14(4):65-75.
40. Yang EB, Zhang K, Cheng LY, Mack P. Butein, a specific protein tyrosine kinase inhibitor. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;245(2):435-8.

41. Kim NY, Pea HO, Oh GS, Kang TH, Kim YC, Rhew HY, et al. Butein, a plant polyphenol, induces apoptosis concomitant with increased Caspase-activity, decreased Bcl-2 expression and increased bax expression in HL-60 cells. *Pharm Toxicol* 2001;88(5):261-66.
42. Traystman RJ, Kirsch RC, Koehler RC. Oxygen radical mechanisms of brain injury following ischemia and reperfusion. *J Appl Physiol* (1985) 1991;71(4):1185-95.
43. Hosseinzadeh H, Khooei AR, Jafari MR, Ghassamipour J. Evaluation of anti-hypoxic and anti-ischemic effect of alcoholic and aqueous extracts of *Salvia lerrifolia* Benth root in mice and rats. *Iran J Med Plants* 2002;1:1-10. [Full Text in Persian]
44. Dou DQ, Zhang YW, Zhang L, Chen YJ, Yao XS. The inhibitory effects of ginsenosides on protein tyrosine kinase activated by hypoxia/reoxygenation in cultured human umbilical vein endothelial cells. *Planta Med* 2001;67(1):19-23.
45. Wen TC, Yoshimura H, Matsuda S, Lim JH, Sakanaka M. Ginseng root prevents learning disability and neuronal loss in gerbils with minute fore brain ischemia. *Acta Neuropathol* 1996;91(1):15-22.
46. Wang SX, Xie SH. Effect of ATP quantity of myocardium and brain in mice by extract from *Rubia yunnanensis*, *Rubia corliifolia* and *Salvia miltiorrhiza*. *Chin Trad Herbal Drug* 1986;17:451-53.
47. Nieber K, Eschke D, Brand A. Brain hypoxia: effects of ATP and adenosine. *Prog Brain Res* 1999;120:287-97.
48. Yavuz O, Turkozkan N, Bilgihan A, Dogulu F, Aykol S. The effect of 2-chloroadenosine on lipid peroxide level during experimental cerebral ischemia-reperfusion in gerbils. *Free Radic Biol Med* 1997;22(1-2):337-41.
49. Abdel-Salam OME, Morsy SMY, Sleem AA. The effect of different antidepressant drugs of oxidative stress after lipopolysaccharide administration in mice. *EXCLI J* 2011;10:290-302.