

Original Article

Comparison of Alphapinene and Donepezil Effects on Passive Avoidance Memory in Adult Male Rats

Kolsoum Nozari¹ , Maryam Rafieirad^{1*} 

¹Department of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran.

Abstract

Background and Objectives: Alphapinene as one of the most important Components of essential oils, which has antioxidant and anti-cholinesterase activities. Oxidative stress directly affects the function of the brain and causes memory impairment. In this research, the effect of alphapinene on passive avoidance memory and oxidative stress, was investigated in comparison with donepezil.

Methods: In this study, 50 male Wistar rats were divided into 5 groups: control, sham (received alphapinene solvent), groups received 2 and 4mg/kg alphapinene, and group that received donepezil. The drugs were administered intraperitoneally for two weeks. At the end of the treatment, passive avoidance memory in animals, was assessed using the shuttle box test, level of malondialdehyde, total thiol concentration in blood, and hippocampal tissue as oxidative stress indices. One-way ANOVA and Tukey's post hoc tests, were used to determine the difference between the groups.

Results: Memory significantly increased in the group receiving donepezil ($p < 0.01$), and in the groups that received alphapinene (doses, 2 and 4mg/kg), memory significantly increased compared to the control group ($p < 0.001$). A significant increase was observed in the dose of 4mg/kg alphapinene compared to the donepezil group ($p < 0.001$). The concentration of malondialdehyde in the hippocampus tissue significantly decreased in the group received the dose of 4mg/kg compared to the control group. Moreover, the total amount of hippocampal thiol showed a significant increase in the group receiving alphapinene (dose, 4mg/kg) compared to the control group ($p < 0.05$).

Conclusion: The results of this study showed that alphapinene at dose of 4mg/kg had the highest effect on memory improvement even compared to the donepezil group and also decreased the oxidative stress indices due to its antioxidant property.

Keywords: Memory; Donepezil; Rats; Alphapinene.

DOI: 10.29252/qums.13.4.1

*Corresponding Author:
Maryam Rafieirad;
Department of Biology, Izeh Branch, Islamic Azad University, Izeh, Iran.

Email:
rafieirad.m@izehiau.ac.ir

Received: 31 Dec, 2018
Accepted: 4 Mar, 2019

مقایسه اثر آلفاپینن و دونپزیل بر حافظه اجتنابی غیرفعال در موش صحرایی نر بالغ

کلثوم نودری^۱ ID، مریم رفیعی راد^{۱*} ID

چکیده

زمینه و هدف: آلفاپینن به عنوان مهم ترین اجزای اسانس ها، دارای فعالیت آنتی اکسیدانی و آنتی کولین استرازی است. استرس اکسیداتیو به طور مستقیم عملکرد مغز را تحت تأثیر قرار داده و باعث اختلال حافظه می شود. در این پژوهش به بررسی تأثیر آلفاپینن بر حافظه اجتنابی غیرفعال و استرس اکسیداتیو در مقایسه با دونپزیل پرداخته شد.

روش بررسی: در این مطالعه، ۵۰ سر موش صحرایی نر (نژاد ویستار) به پنج گروه: کنترل، شاهد (دریافت کننده حلال آلفاپینن)، گروه های دریافت کننده دوز ۲ و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم آلفاپینن و گروه دریافت کننده دونپزیل تقسیم شدند. داروها به مدت ۲ هفته به صورت درون صفاقی تجویز شدند. در پایان تیمار، حافظه اجتنابی غیرفعال حیوانات به کمک آزمون شاتل باکس، میزان مالون دی آلدئید، غلظت تیول تام خون و بافت هیپوکامپ (به عنوان شاخص های استرس اکسیداتیو) سنجیده شدند. از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه و تعقیبی توکی جهت تعیین تفاوت بین گروه ها استفاده شد.

یافته ها: حافظه در گروه دریافت کننده دونپزیل نسبت به گروه کنترل، به طور معنی داری افزایش یافت ($p < 0.001$)، و در گروه های دریافت کننده آلفاپینن (با دوز ۲ و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم)، افزایش معنی دار حافظه نسبت به گروه کنترل مشاهده گردید ($p < 0.001$). در دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم آلفاپینن نسبت به گروه دونپزیل نیز افزایش معنی داری دیده شد ($p < 0.001$). در سنجش غلظت مالون دی آلدئید در بافت هیپوکامپ در گروه دریافت کننده دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی داری مشاهده گردید. همچنین میزان تیول تام هیپوکامپ در گروه دریافت کننده آلفاپینن (دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی داری را نشان داد ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: نتایج این مطالعه نشان داد آلفاپینن با دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم، بیشترین تأثیر را در بهبود حافظه حتی نسبت به دونپزیل دارد، همچنین به علت خاصیت آنتی اکسیدانی می تواند شاخص های استرس اکسیداتیو را کاهش دهد.

کلیدواژه ها: آلفاپینن؛ حافظه؛ دونپزیل؛ موش صحرایی.

اگره زیست شناسی، واحد ایده،
دانشگاه آزاد اسلامی، ایده، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

مریم رفیعی راد؛ دانشکده علوم
پایه، واحد ایده، دانشگاه آزاد اسلامی،
ایده، ایران.

آدرس پست الکترونیکی:
rafieirad.m@izehiau.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۷/۱۰/۱۰

تاریخ پذیرش: ۹۷/۱۲/۱۳

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Nozari K, Rafieirad M. Comparison of Alphapinene and Donpezil effects on passive avoidance memory in adult male rats. Qom Univ Med Sci J 2019;13(4):1-10. [Full Text in Persian]

مقدمه

حافظه و یادگیری یکی از تکامل یافته ترین اعمال سیستم عصبی به شمار می روند. تخریب ناحیه هیپوکامپ که غنی از نورون های کولینرژیک است؛ عوارض بسیاری در حافظه درازمدت حیوانات ایجاد می کند که با تجویز داروهای تقویت کننده تولید استیل کولین، این عوارض کاهش یافته و بهبودی نسبی حاصل می گردد (۱). از سوی دیگر با افزایش جمعیت سالخورده، شیوع بیماری های مرتبط با سن مانند آلزایمر یا پارکینسون رو به افزایش است. به نظر می رسد استرس اکسیداتیو، سهم مهمی در ایجاد بیماری های عمومی و تخریب نورونی داشته باشد (۲). وجود مقادیر بالای اسیدهای چرب غیراشباع در غشای نورون ها، آن ها را مستعد واکنش های اکسیداسیون و تولید آلدئیدهای سمی همچون مالون دی آلدئید می کند (۳). تخریب سلول های عصبی وابسته به سن نیز به طور فزاینده ای با رادیکال های آزاد مرتبط است (۴، ۳). از طرفی، سوء تغذیه می تواند به واسطه اختلال در عملکرد گردش خون مویرگی مغز، در نقصان ظرفیت عصبی سهیم باشد. استرس اکسیداتیو و کمبود مواد مغذی، از فعالیت میتوکندری که یک ارگانیل کلیدی برای تولید انرژی است، ممانعت می کند. همچنین کاهش انرژی و تخریب نورونی سرانجام به اختلال در عملکرد شناختی مغز منتهی می شود (۵). سلول ها دارای مکانیسم های متعددی برای حفظ خود در برابر رادیکال های آزاد هستند. از سوی دیگر، گلووتاتیون (GSH) ویتامین C و تمامی آنتی اکسیدان های پاک کننده شامل: آنزیم های آنتی اکسیداتیو و ترکیبات فعال زیستی مانند فلاونوئیدها، دفاع اصلی سلولی محسوب می شوند (۳). در حال حاضر، از مهارکننده های استیل کولین استراز به عنوان یک درمان علامتی برای بهبود یا حداقل حفظ عملکرد کولینرژیک سیستم عصبی مرکزی استفاده می شود (۶). مطالعات پیشین، تأثیر مثبت سیستم کولینرژیک (افزایش استیل کولین در مغز) بر افزایش حافظه را نشان داده اند (۷). عصاره گونه های *Salvia lavandulaefolia* و *officinalis* در بهبود حافظه مؤثرند. فعالیت آنتی کولین استرازی این گونه ها احتمالاً می تواند به علت وجود منوترپن در این عصاره ها باشد (۸). آلفاپینن جزء دسته مونوترپن های دو حلقه ای (bicyclic) است که از نظر تجارتي بسیار مهم است.

همچنین آلفاپینن به عنوان ماده مؤثره اصلی در بسیاری از گیاهان، فعالیت آنزیم استیل کولین استراز را مهار می کند (۹)، که از آن جمله می توان به گیاهانی مانند گل راعی (۱۰)، مریم گلی (۱۱) و چویل (۱۲) اشاره کرد. مطالعات فارماکولوژیکی نشان داده اند عصاره این گیاهان دارای محدوده وسیعی از فعالیت ها شامل اثرات ضد میکروبی، ضد افسردگی (۱۳) و آنتی اکسیدانی (۱۴) هستند. از سوی دیگر، دونیزیل یک مهارکننده غیررقابتی برگشت پذیر آنزیم کولین استیل استراز با میل ترکیبی بالا برای سیستم کولینرژیک مرکزی است (۱۵)؛ بنابراین در مطالعه حاضر اثر تزریق درون صفاقی آلفاپینن بر استرس اکسیداتیو و حافظه در موش صحرایی در مقایسه با دونیزیل بررسی شد.

روش بررسی

در این مطالعه، ۵۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (در محدوده وزنی ۲۵۰-۲۰۰ گرم) از مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی از دانشگاه علوم پزشکی جندی شاپور اهواز تهیه گردید. حیوانات در شرایط استاندارد (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی و دمای ۲۱±۲ درجه سانتیگراد) و دسترسی آزاد به آب و غذای کافی، درون قفس های انفرادی نگهداری شدند و به صورت تصادفی به گروه های زیر تقسیم شدند:

۱- گروه سالم یا کنترل که تحت هیچ گونه تزریق دارویی قرار نگرفتند.

۲- گروه شاهد (شم)، توئین ۸۰٪ (حلال آلفاپینن) را به صورت داخل صفاقی دریافت کردند.

۳- گروه دریافت کننده آلفاپینن (با دوز ۲ میلی گر بر کیلو گرم)؛

۴- گروه دریافت کننده آلفاپینن (با دوز ۴ میلی گرم بر کیلو گرم)؛

۵- گروه دریافت کننده دونیزیل (با دوز یک میلی گرم بر کیلو گرم).

داروها به مدت ۲ هفته به صورت زیرجلدی (IP) تجویز شدند، سپس حافظه ۲۴ ساعته به کمک آزمون شاتل باکس اجرا گردید و شاخص های استرس اکسیداتیو مورد ارزیابی قرار گرفت.

در این مطالعه آزمایشگاهی، تمامی اصول اخلاقی در مورد نحوه کار با حیوانات آزمایشگاهی رعایت گردید.

این مطالعه با استفاده از دستگاه شاتل باکس (مدل ST-5500) انجام شد. این دستگاه شامل دو محفظه تاریک و روشن است که کف آن‌ها از مفتول‌های فلزی استیل با قطر ۲-۱ میلی‌متر و فواصل یک‌سانتی‌متر ساخته شده است و به وسیله یک دستگاه تولید جریان الکتریکی، شوک خفیفی به میزان ۷۵ ولت، ۰/۳ میلی‌آمپر به مدت ۳ ثانیه و فقط در محفظه تاریک و یک‌بار به کف پای حیوانات اعمال می‌گردد. در این مطالعه ابتدا حیوانات هر کدام به مدت ۱۰ دقیقه جهت آشنایی با دستگاه (آموزش)، درون شاتل باکس با درب گیوتینی باز قرار داده شدند تا آزادانه بین درون و بیرون محفظه گردش کنند، سپس حیوانات در قسمت روشن جعبه قرار گرفتند و زمان تأخیر رفتن حیوان به جعبه تاریک ثبت گردید (یادگیری). به محض ورود حیوان به محفظه تاریک، درب گیوتینی بسته شد و شوک الکتریکی به کف پای آن اعمال گردید. ۲۴ ساعت بعد (یک‌روز بعد)، مدت‌زمان تأخیر ورود حیوانات به محفظه تاریک (که قبلاً شوک داشت، ولی این بار فاقد شوک بود) به عنوان حافظه اجتنابی غیرفعال برحسب ثانیه اندازه‌گیری شد. این عمل برای همه موش‌ها در تمام گروه‌های مورد تحقیق انجام شد. مدت‌زمان موردنظر نیز ۵ دقیقه در نظر گرفته شد و پس از این مدت حیوان از دستگاه خارج گردید (۱۶). برای سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA)، از روش سنجش تیوباریتوریک اسید استفاده شد:

بدین ترتیب که به ازای هر ۱ گرم بافت، ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۱/۵٪ KCL اضافه شد و به وسیله دستگاه هموژنایزر (ساخت شرکت IKA) هموژن گردید. از محلول هموژن‌شده، ۰/۵ میلی‌لیتر برداشته شد و ۲/۵ میلی‌لیتر ۳٪ TCA اضافه گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در بن‌ماری ۳۷ درجه نگهداری شد، سپس ۱۰ دقیقه در دور ۳۰۰۰ سانتریفوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی بعد از سانتریفوژ برداشته و به هریک ۳ میلی‌لیتر محلول ۱٪ اسید فسفریک و ۱ میلی‌لیتر محلول ۰.۶۷٪ TBA اضافه گردید. در ادامه، ۴۵ دقیقه در آب جوش قرار گرفتند. لوله‌ها در ظرف یخ خنک شدند و به هریک ۴ میلی‌لیتر بوتانول افزوده شد. بعد از ورتکس کردن، در ۳۵۰۰ دور به طور لحظه‌ای سانتریفوژ شده و در نهایت، جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت گردید (۲۷).

در ادامه، پس از قرارداد اعداد حاصل از اسپکتروفتومتری و جذب در معادله خطی منحنی استاندارد، میزان غلظت MDA براساس نانومول برگرم بافت خشک مورد ارزیابی قرار گرفت (۱۷).

به منظور رسم منحنی استاندارد، ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول استاندارد با غلظت‌های ۱۰، ۸، ۶، ۴، ۲، ۱، ۰/۵ میکرومولار برداشته شد، سپس ۳ میلی‌لیتر محلول ۱٪ اسید فسفریک اضافه شد. مابقی مراحل، همچون مراحل سنجش MDA انجام گرفت.

برای ارزیابی گروه تیول، از معرف المن (DTNB) استفاده گردید. در یک لوله آزمایش، ۱ میلی‌لیتر از بافر تریس (PH=۸/۶) به ۵۰ میکرولیتر محلول هموژن بافت اضافه و جذب نوری آن در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (A1). در مرحله بعد، به لوله‌ها ۲۰ میکرولیتر معرف DTNB افزوده و ۱۵ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند، سپس جذب آن‌ها در همان طول‌موج اندازه‌گیری شد (A2) و میزان جذب شاهد (حاوی بافر تریس و DTNB) نیز در طول موج ۴۱۲ نانومتر اندازه‌گیری شد (B). مقادیر A1، A2، B به دست آمده در رابطه زیر قرار گرفت

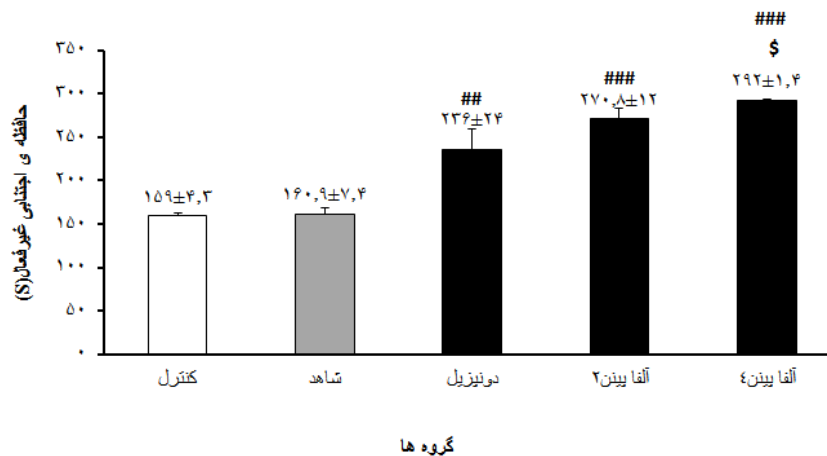
و میزان گروه‌های تیول محاسبه گردید (۱۸، ۱۹).

$$(A2 - A1 - B) \times 0.05 \times (1/0.7) = \text{میزان گروه‌های تیول (میلی‌مول)}$$

داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ انحراف معیار بیان شدند. نتایج به کمک نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷، آزمون واریانس یک‌طرفه (برای بررسی نتایج در گروه‌های مختلف) و آزمون تعقیبی توکی آنالیز شدند. سطح معنی‌داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

طبق نتایج، بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده حلال (شم)، تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. با توجه به نمودار شماره ۱، حافظه اجتنابی در گروه دریافت‌کننده دونیزیل نسبت به گروه کنترل، به طور معنی‌داری افزایش یافت ($p < 0.01$). همچنین حافظه اجتنابی در گروه‌های دریافت‌کننده آلفاپیتن (دوز ۴ و ۲ میلی‌گرم برکیلوگرم) نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری نشان داد (نمودار شماره ۲) ($p < 0.001$).



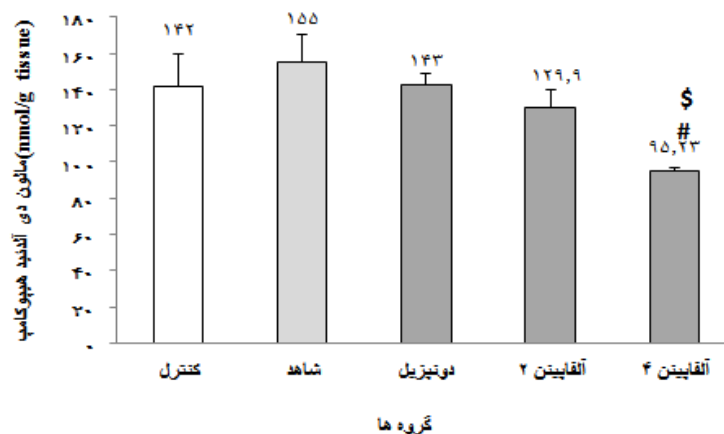
نمودار شماره ۱: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین حافظه اجتنابی غیرفعال بین گروه‌های کنترل، شاهد، گروه دریافت‌کننده دونیزیل و گروه‌های دریافت‌کننده آلفاپیتن (۲ و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم).

علامت #، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده دونیزیل، آلفاپیتن با گروه کنترل می‌باشد.

علامت \$، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده آلفاپیتن (۴ میلی گرم) با دونیزیل است.

میزان MDA خون در گروه دریافت‌کننده آلفاپیتن (دوز ۴ و ۲ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل کاهش یافت، ولی این کاهش معنی‌دار نبود (نمودار شماره ۳). همان‌گونه که در نمودار شماره ۴ نشان داده شده است میزان تیول تام خون در گروه‌های مختلف نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری نداشت. میزان تیول تام هیپوکامپ در گروه دریافت‌کننده آلفاپیتن (دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل، افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$). (نمودار شماره ۵)

حافظه اجتنابی در گروه دریافت‌کننده آلفاپیتن (دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه دونیزیل، افزایش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.001$). غلظت مالون‌دی‌آلدئید در بافت هیپوکامپ در گروه دریافت‌کننده آلفاپیتن (دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل، کاهش معنی‌داری نشان داد ($p < 0.05$) و نسبت به دونیزیل نیز کاهش معنی‌داری داشت ($p < 0.05$) (نمودار شماره ۲).

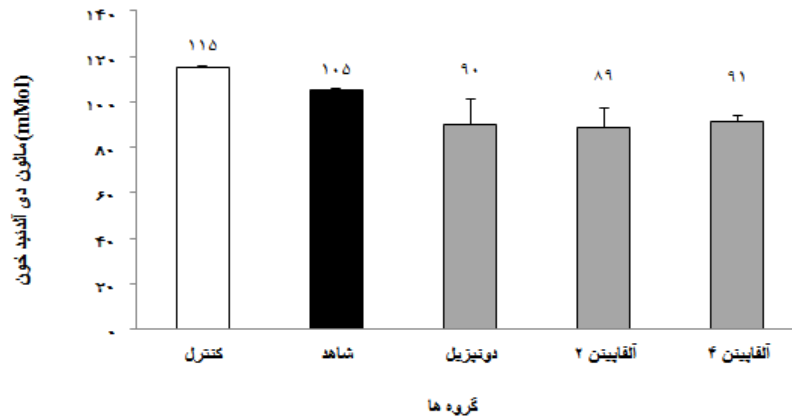


نمودار شماره ۲: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین مالون‌دی‌آلدئید هیپوکامپ بین گروه‌های کنترل، شاهد، گروه دریافت‌کننده دونیزیل و گروه‌های دریافت‌کننده آلفاپیتن (دوز ۲ و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم).

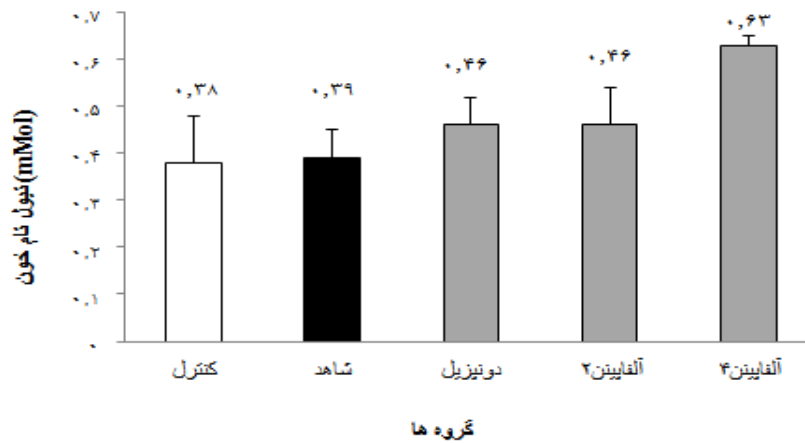
علامت #، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده دونیزیل، آلفاپیتن با گروه کنترل و علامت \$، نشان‌دهنده اختلاف معنی‌دار بین گروه‌های دریافت‌کننده آلفاپیتن (دوز ۴ میلی گرم) با دونیزیل می‌باشد.

($p < 0.001$ ###, $p < 0.01$ ##, $p < 0.05$ \$).

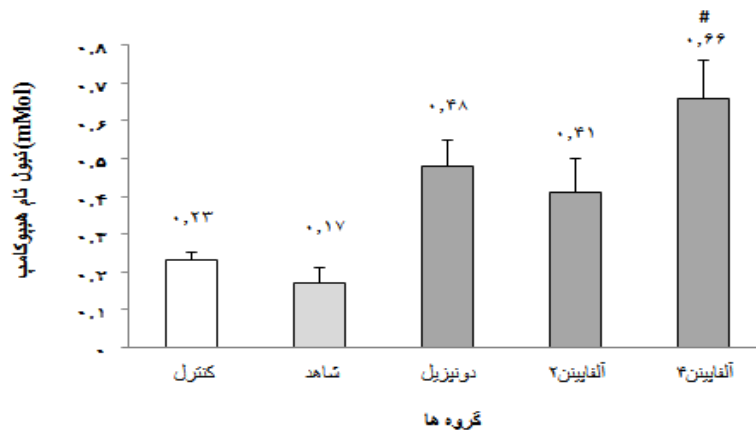
($p < 0.05$ #, $p < 0.05$ \$).



نمودار شماره ۳: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین گروه مالون دی آلدئید خون بین گروه های کنترل، شاهد، گروه دریافت کننده دونیزیل و گروه های دریافت کننده آلفاپیتن (دوز ۲ و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم).



نمودار شماره ۴: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین تیول تام خون بین گروه های کنترل، شاهد، گروه دریافت کننده دونیزیل و گروه های دریافت کننده آلفاپیتن (۲ و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم). علامت #، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه های دریافت کننده دونیزیل و آلفاپیتن با گروه کنترل می باشد.



نمودار شماره ۵: مقایسه میانگین $\pm$ انحراف معیار از میانگین تیول تام هیپوکامپ بین گروه های کنترل، شاهد، گروه دریافت کننده دونیزیل و گروه های دریافت کننده آلفاپیتن (۲ و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم).

علامت #، نشان دهنده اختلاف معنی دار بین گروه های دریافت کننده دونیزیل و آلفاپیتن با گروه کنترل می باشد. ($p < 0.05$)

بحث

نتایج این مطالعه نشان داد حافظه اجتنابی به شکل معنی داری در گروه دریافت کننده دونیزیل نسبت به گروه کنترل افزایش می یابد، همچنین تزریق داخل صفاقی آلفاپین (با دوز ۲ و ۴ میلی گرم بر کیلوگرم)، حافظه اجتنابی را به طور معنی داری نسبت به گروه کنترل افزایش می دهد که در میان گروه های دریافت کننده آلفاپین (دوز ۴ میلی گرم بر کیلوگرم)، بیشترین تأثیر در افزایش حافظه نسبت به گروه دونیزیل نشان داده شد. مهم ترین سیستم درگیر در روند حافظه و یادگیری، سیستم کولینرژیک است و براساس نتایج برخی مطالعات، استیل کولین به عنوان یک عامل اصلی در فراموشی ناشی از تخریب نورون های کولینرژیک و کاهش ترشح این نوروترانسمیتر عمل می کند (۲۰). در همین راستا، در برخی مطالعات فعالیت ضد استیل کولین استرازی اجزای عصاره های گیاهی گزارش شده است (۲۱). آلفاپین، یکی از اجزای فعال عصاره های گیاهی و جزء مونوترپن بوده که دارای ویژگی های آنتی اکسیدانی، تعدیل کننده های محرک ایمنی و ضد التهابی است (۲۲، ۲۳). آلفاپین موجود در اسانس گیاه مشگک که حدود ۱۲٪ اسانس گیاه را تشکیل می دهد، دارای اثر مهاری بر استیل کولین استراز است و احتمال دارد قسمتی از اثر بهبوددهندگی در حافظه توسط گیاه مشگک مربوط به خاصیت افزایش استیل کولین توسط آلفاپین موجود در اسانس این گیاه باشد (۲۴). Gil-Yong Lee و همکاران در سال ۲۰۱۷ با بررسی بهبود یادگیری و حافظه ناشی از اسکوپولامین با α -پینن در موش سوری، نشان دادند α -پینن سبب افزایش فعالیت و تنظیم بیان پروتئین های مربوط به سنتز استیل کولین و نیز دفاع آنتی اکسیدانی می شود. همچنین آلفاپین ممکن است به عنوان یکی از عوامل طبیعی مفید در درمان و یا پیشگیری از فراموشی، اختلال حافظه و اختلالات شناختی عمل کند (۲۵). دونیزیل نیز به عنوان یک مهارکننده آنزیم استیل کولین استراز در سیستم عصبی مرکزی، در درمان بیمارهای عصبی نظیر آلزایمر مؤثر است (۲۶). معاضدی و همکاران (سال ۱۳۹۷) در مطالعه ای نشان دادند تیمار موش های صحرایی با دونیزیل بعد از تخریب دسته قدامی میانی مغز، اختلال شناختی ناشی از تخریب را بهبود می بخشد، همچنین دونیزیل نورون ها را در برابر تحلیل نورونی القاشده توسط بتا آمیلوئید محافظت می کند (۲۷).

Xu و همکاران نیز گزارش کردند دونیزیل باعث بهبود یادآوری در تست ماز آبی در موش های صحرایی دچار ایسکمی مغزی می شود (۲۸). مطالعات پیشین نشان داده اند مهارکننده های استیل کولین استراز که مقدار استیل کولین را در فضای سیناپسی افزایش می دهند می توانند باعث بهبودی حافظه و یادگیری شوند (۲۰). در پژوهش حاضر نیز این یافته تأیید گردید. از سوی دیگر، نتایج این پژوهش کاهش معنی دار پراکسیداسیون لیپیدی در پی تزریق داخل صفاقی آلفاپین را نشان داد و گروه های تیول نیز تغییراتی در جهت افزایش نشان دادند، اما این افزایش معنی دار نبود. در بدن رادیکال های آزاد طی مکانیسم های مختلف درونی و عوامل بیرونی تولید می شوند و آنتی اکسیدان ها به عنوان پاک کننده های رادیکال های آزاد عمل کرده و سلول ها را از تماس با رادیکال ها و آسیب سلولی بیشتر محافظت می کنند (۲۹). احتمال می رود اسانس های گیاهی حاوی مونوترپن هایی مانند لیمونن و آلفاپین دارای خاصیت پاک کنندگی رادیکال های آزاد نیز باشند (۳۰). امروزه، گلوکاتایون به عنوان یک آنتی اکسیدان کلیدی فیزیولوژیک نه تنها به طور مستقیم گونه های اکسیژن واکنشی را کاهش می دهد؛ بلکه سبب افزایش قابلیت عملکردی دیگر آنتی اکسیدان های بسیار مهم بیرونی مانند ویتامین E و C می شود (۳۱). گروه های تیول با وزن مولکولی پایین مثل گلوکاتایون می توانند به طور قوی در برابر از دست رفتن فعالیت های بیوماکرومولکولی، عملکرد محافظتی نشان دهند (۳۲). همچنین کمبود گلوکاتایون منجر به آسیب میتوکندریایی در بافت هایی نظیر ریه، مسیر روده ای معده ای، چشم، عضلات اسکلتی، کبد، کلیه و مغز می گردد (۳۳). گودرزی و همکاران در سال ۱۳۹۶ نشان دادند آلفاپین با محافظت نورون های دوپامینرژیک سبب بهبود تعادل حرکتی، حافظه اجتنابی و کاهش سطح مالون دی آلدئید در مدل پارکینسونی می شود. مونوترپن ها نیز با تداخل در سیستم مونوآمینی و مهار مونوآمین اکسیداز، سبب افزایش دوپامین شده که احتمالاً آلفاپین نیز با تأثیر بر این تداخلات منجر به بهبود عوارض پارکینسون و اختلال حافظه در آن می گردد (۱۷). مرشدلو و همکاران (سال ۱۳۹۱) در بررسی اجزای اسانس، محتوای فنلی و فعالیت آنتی اکسیدانی عصاره گیاه گل راعی *Hypericum perforatum* (L) جمع آوری شده از شمال

همچنین آلفاپیتن دارای خاصیت آنتی اکسیدانی است و می تواند از طریق کاهش رادیکال های آزاد، میزان استرس اکسیداتیو را کاهش داده و سبب محافظت بیشتر نورون های عصبی گردد.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل پایان نامه کلثوم نوذری دانش آموخته کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایذه می باشد و هزینه آن از محل اعتبار هزینه های شخصی ایشان پرداخت شده است. بدین وسیله از حوزه معاونت محترم پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ایذه که در اجرای این مطالعه ما را همراهی کردند، نهایت تشکر و قدردانی را داریم.

ایران، مونوترپن (آلفاپیتن) را به عنوان مهم ترین اجزای اسانس شناسایی کردند که در جهت فعالیت آنتی اکسیدانی و خنثی کردن رادیکال های آزاد لیپیدی، لیپید پراکسیداسیون و نیز جلوگیری از تجزیه هیدرو پروکسیدازها به رادیکال های آزاد عمل می کند (۳۴).

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد آلفاپیتن یک مهارکننده استیل کولین استرازی است که این اثر در مقایسه با دونیزیل، اثر بهبوددهنده بهتری در افزایش حافظه دارد و در میان گروه های دریافت کننده آلفاپیتن، دوز ۴ میلی گرم بر کیلو گرم دارای بیشترین تأثیر در افزایش حافظه نسبت به گروه دونیزیل می باشد.

References:

1. Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 2006;16(6):710-15. PubMed
2. Commenges D, Scotet V, Renaud S, Jacqmin-Gadda H, Barberger-Gateau P, Dartigues JF. Intake of flavonoids and risk of dementia. *Eur J Epidemiol* 2000;16(4):357-63. PubMed
3. Mandal PK, Tripathi M, Sugunan S. Brain oxidative stress: detection and mapping of anti-oxidant marker 'Glutathione' in different brain regions of healthy male/female, MCI and Alzheimer patients using non-invasive magnetic resonance spectroscopy. *Biochem Biophys Res Commun* 2012;417(1):43-8. PubMed
4. Eckert A, Keil U, Marques CA, Bonert A, Frey C, Schüssel K, et al. Mitochondrial dysfunction, apoptotic cell death, and Alzheimer's disease. *Biochem Pharmacol* 2003;66(8):1627-34. PubMed
5. Benzi G, Pastoris O, Villa RF, Giuffrida AM. Effect of aging on cerebral cortex energy metabolism in hypoglycemia and posthypoglycemic recovery. *Neurobiol Aging* 1984;5(3):205-12. PubMed
6. D'Amelio M, Rossini PM. Brain excitability and connectivity of neuronal assemblies in Alzheimer's disease: from animal models to human findings. *Prog Neurobiol* 2012;99(1):42-60. PubMed
7. Yosofi M, Hojjati M, Moshtaghi A, Rahimiyan R, Dawodiyani Dehkordi A, Rafieian M. The effect of hydro-alcoholic extract of *Melissa officinalis* on learning and spatial memory in Balb/c mice. *Shahrekord Uni Med Sci* 2011;13(4):51-59. [Full Text in Persian] Link
8. Karami M, Hossini E, Shahbi Majd N, Ebrahimzadeh MA, Alemy S. *Salvia limbata*: botanical, chemical, pharmacological and therapeutic effects. *J Clin Excell* 2015;3(2):1-14. [Full Text in Persian] Link
9. McPartland JM, L Pruitt PL. Side effects of pharmaceuticals not elicited by comparable herbal medicines: the case of tetrahydrocannabinol and marijuana. *Altern Ther Health Med* 1999;5(4):57-62. PubMed
10. Radusiene J, Judzentiene A, Bernotiene G. Essential oil composition and variability of *Hypericum perforatum* L. growing in Lithuania. *Biochem Syst Ecol* 2005;33(2):113-24. Link

11. Gohari AR, Saeidnia S, Malmir M, Hadjiakhoondi A, Ajani Y. Flavones and rosmarinic acid from *Salvia limbata*. *Nat Prod Res* 2010;24(20):1902-6. PubMed
12. Sodeifian G, Ansari K, Bamoniri Ah, Mirjalilic BF. Study of chemichal composition of the essential oil of *ferulago angulate* (Schelchet) boiss. from iran using super critical fluid extraction and nano scale injection. *Digest J Nanomater Biostruct* 2011;6(1),161-8. Link
13. Rafieirad M, Eyedipour Z, Alami Rostami S. Effects of antidepressants Hydro-alcoholic extract of Chevilan (*Ferulago angulate*) in model of ischemia/ hypoperfusion in adult male rats. *Nova Biologica Reperta (NBR)* 2018;5(2):137-43. [Full Text in Persian] link
14. Basile A, Sorbo S, Spadaro V, Bruno M, Maggio A, Faraone N, et al. Antimicrobial and antioxidant activities of coumarins from the roots of *Ferulago campestris* (Apiaceae). *Molecules* 2009;14(3):939-52. PubMed
15. Birks JS, Harvey RJ. Donepezil for dementia due to Alzheimer's disease. *Cochrane Database Syst Rev* 2006;25(1):CD001190. PubMed
16. Ghasemzadeh Dehkordi M, Rafieirad M, Rouhi L. The effect of ellagic acid on memory and pain induced by brain Ischemia in adult male rats. *J Adv Med Biomed Res* 2014;22(92):33-42. [Full Text in Persian] Link
17. Goudarzi S, Rafieirad M. Evaluating the effect of α -pinene on motor activity, avoidance memory and lipid peroxidation in animal model of Parkinson disease in adult male rats. *Res J Pharmacogn* 2017;4(2):53-63. Link
18. Rafieirad M, Eyedipour Z. Effect of ellagic acid on thiol levels in different brain tissue in an animal model of Parkinson's disease. *J Herbal Drugs (JHD)* 2014;4(4):193-200. Link
19. Sharifi F, Rafieirad M, Sazegar H. Effects of *Ferulago angulata* extract against oxidative stress induced by 6-hydroxydopamine in rats. *J Med Plants* 2015;1(53):34-44. [Full Text in Persian] Link
20. Shahidi S, Tousan T, Kazemeini F. Study the effect of endocannabinoid, cholinergic system and both of them on the memory mice. *New Cellul Molecul Biotechnol J* 2017;7(27):25-32. Link
21. Farlow MR. Do cholinesterase inhibitors slow progression of Alzheimer's disease? *Int J Clin Pract Suppl* 2002;(127):37-44. PubMed
22. Porres-Martinez M, González-Burgos E, Carretero ME, Gómez-Serranillos MP. In vitro neuroprotective potential of the monoterpenes α -pinene and 1,8-cineole against H₂O₂-induced oxidative stress in PC12 cells. *Z Naturforsch C* 2016;71(7-8):191-9. PubMed
23. Kim D-S, Lee H-J, Jeon Y-D, Han Y-H, Kee J-Y, Kim H-J, et al. Alpha-pinene exhibits Anti-inflammatory activity through the suppression of MAPKs and the NF- κ B pathway in mouse peritoneal macrophages. *Am J Chin Med* 2015;43(4):731-42. PubMed
24. Abbasnejad M, Most afari A, Kooshki R, Hamzenejad P, Esmaeili Mahani S. Effect of *Ducrosia anethifolia* (Dc.) bioess essential oil on spatial learning and memory in rats. *J Gorgan Univ Med Sci* 2016;18(4):9-15. [Full Text in Persian] Link
25. Lee GY, Lee C, Park GH, Jang JH. Amelioration of scopolamine-induced learning and memory impairment by α -pinene in C57BL/6 Mice. *Evid Based Complement Alternat Med* 2017;2017:1-9. PubMed
26. Schmitt B, Bernhardt T, Moeller HJ, Heuser I, Frölich L. Combination therapy in Alzheimer's disease: a review of current evidence. *CNS Drugs* 2004;18(13):827-44. PubMed
27. Eskandary A, Moazedi AA, Najaphzadevarzi H, Akhond MR. Effect of donepezil hydrochloride on reference and working memory impairment after bilateral electrical lesion of nucleus basalis magnocellularis in rats model of Alzheimer disease. *J Gorgan Univ Med Sci* 2018;20(1):36-42. [FullText in Persian] Link

28. Xu AJ, Chen Z, Yanai K, Huang YW, Wei EQ. Effect of 3-[1-(phenylmethyl)-4-piperidiny]-1-(2,3,4,5-tetrahydro-1H-1-benzazepin-8-yl)-1-propanone fumarate, a novel acetylcholinesterase inhibitor, on spatial cognitive impairment induced by chronic cerebral hypoperfusion in rats. *Neurosci Lett* 2002;331(1):33-6. [Link](#)
29. Heyat F, Ghanbarzadeh M. Cellular and molecular mechanisms of the production of free radicals during exercise and their function on skeletal muscles. *J Fasa Univ Med Sci* 2017;7(1):1-11. [Full Text Persian] [Link](#)
30. Misharina TA, Samusenko AL. Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures. *Prikl Biokhim Mikrobiol* 2008;44(4):482-6. [PubMed](#)
31. Sen CK, Packer L. Thiol homeostasis and supplements in physical exercise. *Am J Clin Nutr* 2000;72(2 Suppl):653s-69s. [PubMed](#)
32. Eaton P, Jones ME, McGregor E, Dunn MJ, Leeds N, Byers HL, et al. Reversible cysteine-targeted oxidation of proteins during renal oxidative stress. *J Am Soc Nephrol* 2003;14(8Suppl 3):S290-6. [PubMed](#)
33. Bachhawat AK, Yadav S. The glutathione cycle: Glutathione metabolism beyond the gamma-glutamyl cycle. *IUBMB Life* 2018;70(7):585-92. [PubMed](#)
34. Morshedloo MR, Ebadi A, Fatahi Moghaddam MR, Yazdani D. Essential oil composition, total phenol compounds and antioxidant activity of hypericum perforatum L. Extract Collected from North of Iran. *J Med Plants* 2011;1(Supple 8):218-26. [Full Text in Persian] [Link](#)