

بررسی تاثیر عصاره الکلی برگ توت سفید بر اختلال حافظه فضایی ایجاد شده توسط

اسکوپولامین در موش‌های صحرایی

امیدرضا تمناجی^۱، مژگان محمدی فر^۲، محمد بهنام^۱، محسن تقی زاده^۳، سید علی رضای^۴

۱. دانشجوی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۲. دانشجوی، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۳. دانشیار، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران

۴. دانشجوی، مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران (مؤلف مسئول)، تلفن ثابت: ۰۳۱۵۵۶۲۱۱۵۷،

talaei@kaums.ac.ir

چکیده

زمینه و هدف: بسیاری از توانایی‌های یادگیری و حافظه در بیماری‌های مختلفی مانند آلزایمر و دمانس کاهش پیدا می‌کند. مطالعه حاضر اثر عصاره الکلی برگ توت سفید را بر اختلال یادگیری و حافظه فضایی در مدل حیوانی دمانس ناشی از اسکوپولامین مورد بررسی قرار داده است.

روش بررسی: در این مطالعه تجربی، چهل موش صحرایی نر نژاد ویستار در ۵ گروه قرار گرفتند (۸ موش در هر گروه): گروه کنترل، گروه کنترل اسکوپولامین و گروه‌های دریافت کننده اسکوپولامین بعلاوه عصاره الکلی برگ توت سفید در ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن در روز. یادگیری و حافظه با استفاده از ماز آبی موریس پس از ۲۸ روز ارزیابی گردید. تجزیه و تحلیل آماری نیز با آزمون‌های ANOVA repeated measures و Bonferroni انجام گردید.

یافته‌ها: در گروه کنترل اسکوپولامین، تزریق اسکوپولامین باعث اختلال یادگیری ($P < 0.001$) و حافظه فضایی ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه کنترل شد. تجویز عصاره الکلی برگ توت سفید در دوز ۱۰۰ ($P < 0.05$)، ۲۰۰ ($P < 0.001$) و ۴۰۰ میلی گرم ($P < 0.001$) اختلال در یادگیری را بهبود بخشید. همچنین این عصاره در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم مانع اختلال در حافظه فضایی موش‌های صحرایی گردید ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: این نتایج نشان داد که عصاره الکلی برگ توت سفید عملکرد یادگیری و حافظه فضایی را در موش‌های دریافت کننده اسکوپولامین افزایش می‌دهد.

کلمات کلیدی: توت سفید، اسکوپولامین، حافظه فضایی، یادگیری، ماز آبی موریس

وصول مقاله: ۹۴/۳/۱۹ اصلاحیه نهایی: ۹۴/۸/۳ پذیرش: ۹۴/۱۰/۱۴

مقدمه

یادگیری فرآیندی است جهت کسب اطلاعات از دنیای پیرامون خود و حافظه مکانیسمی جهت کد بندی، ذخیره-سازی و فراخوانی دوباره اطلاعات ذخیره شده می‌باشد (۱). فرآیند یادگیری و حافظه در بیماری‌هایی مانند آلزایمر (۲) و دمانس (۳)، دچار اختلال می‌شود. اختلال در سیستم کولینرژیک یکی از مکانیسم‌های موثر در اختلال حافظه بیماری آلزایمر و دمانس می‌باشد (۴). اسکوپولامین یک آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی است که با تغییر عملکرد سیستم کولینرژیک باعث ایجاد مدل دمانس در مدل حیوانی می‌شود (۵).

توت سفید (*Morus Alba*) گیاهی است از خانواده Morasea که در مناطق وسیعی از جهان از جمله ایران رشد می‌کند. برگ این گیاه حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئیدها مانند روتین و کوئرستین می‌باشد (۶-۸). عصاره برگ این گیاه دارای اثر مهارکنندگی قابل توجهی بر نیتریک اکساید و پروستاگلاندین E2 دارد (۶). همچنین برگ توت سفید رادیکال‌های آزاد را در بیماری دیابت مهار میکند که علت آن می‌تواند به دلیل وجود مقادیر زیادی از ترکیبات فلاونوئیدی در آن باشد (۹). این عصاره باعث بهبود دیابت به واسطه افزایش فعالیت گلوکوکیناز کبدی و سطح انسولین سرم می‌شود (۱۰). همچنین تجویز عصاره الکلی برگ توت سفید باعث کاهش کلسترول در موش صحرایی هایپرکلسترولمیک می‌شود (۱۱). در مطالعه دیگری اثر ضد-پلاکتی و ضد انعقادی عصاره برگ توت سفید نیز به اثبات رسیده است (۱۲). ثابت شده است عصاره برگ این گیاه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث مهار نیتریک اکساید و آپوپتوز سلولی می‌گردد (۱۳). طبق یافته‌های نویسندگان مقاله حاضر هیچ مطالعه‌ای که اثر عصاره این گیاه را بر حافظه بررسی کرده باشد وجود ندارد، اما در مطالعات متعددی اثر مثبت این گیاه بر سیستم عصبی نیز گزارش شده

است. ترکیب sanggenon G جدا شده از این گیاه اثر قابل توجهی در بهبود افسردگی موش‌های صحرایی دارد (۱۴). همچنین UP3005 جدا شده از این گیاه اثر قابل-توجهی در مهار درد و التهاب در موش‌های صحرایی دارد (۱۵). در مطالعه دیگری نیز ثابت شد برگ توت سفید اختلالات عصبی ناشی از مانسونی شیستوزوم را در موش-های صحرایی بهبود می‌بخشد (۱۶).

مطالعات مختلفی جهت درمان اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین با استفاده از گیاهان دارویی انجام گرفته است. عصاره آبی میوه سنجد اختلال حافظه ایجاد شده توسط اسکوپولامین را در موش‌های صحرایی بهبود می‌بخشد (۱۷). در مطالعه دیگری نیز مشخص شد که عصاره دانه کدو، اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین را در آزمون ماز آبی موریس بهبود می‌بخشد که علت آن می‌تواند مهار فاکتورهای التهابی باشد (۱۸). ترکیبات فلاونوئیدی و پلی فنولی نیز موجب بهبود اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین می‌شوند. ترکیب فلاونوئیدی اسپینوسین باعث بهبود اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین در ماز آبی موریس می‌شود (۱۹). فلاونوئید آپیجین با تاثیر بر سیستم کولینرژیک باعث بهبود حافظه در مدل حیوانی دمانس می‌شود (۲۰). پلی فنول-های چای سبز نیز باعث بهبود روند حافظه فضای در ماز آبی موریس می‌شود (۲۱).

با توجه به تاثیر مثبت ترکیبات پلی فنولی و فلاونوئیدی گیاهان در بهبود اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین و همچنین وجود مقادیر زیادی از این ترکیبات در برگ توت سفید، این مطالعه با هدف بررسی تاثیر عصاره الکلی برگ توت سفید بر اختلال حافظه فضایی ناشی از اسکوپولامین در موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی بر روی ۴۰ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۸۰-۲۵۰ گرم در مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان انجام شد. موش‌ها به طور تصادفی به پنج گروه ۸ تایی شامل گروه کنترل، گروه کنترل اسکوپولامین و گروه‌های دریافت کننده عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن همراه با اسکوپولامین تقسیم شدند. عصاره مورد نظر روزانه به صورت خوراکی با استفاده از سرنگ گاوآژ در ساعت ۹ صبح تجویز گردید. مدت درمان با این عصاره نیز ۲۸ روز بود. در طول مطالعه حیوانات از نظر دسترسی به آب و غذا آزاد بودند. درجه حرارت محل نگهداری حیوانات ۲۰ تا ۲۲ درجه سانتی گراد، رطوبت ۶۰-۵۰٪ و سیکل روشنایی ۱۲ ساعته بود.

تزریق اسکوپولامین:

به منظور ایجاد اختلال در روند یادگیری و حافظه فضایی از محلول اسکوپولامین (Sigma-Aldrich, USA) با پایه آب مقطر به میزان ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش‌ها استفاده گردید. هر شب نیم ساعت قبل از انجام آزمایش ماز آبی موريس با استفاده از سرنگ انسولین محلول اسکوپولامین به داخل صفاق موش تزریق گردید (۲۲).

تهیه عصاره الکلی برگ توت سفید

با توجه به اینکه گزارش شده است که میزان ترکیبات فلاونوئیدی و خاصیت آنتی اکسیدانی عصاره الکلی و برگ توت سفید بیشتر از عصاره آبی و میوه این گیاه می باشد (۲۳)، در مطالعه حاضر از عصاره الکلی برگ توت سفید استفاده گردید. به منظور تهیه عصاره الکلی، ابتدا برگ‌های درخت توت سفید از شهر کاشان خریداری شده و پس از بررسی و تایید آن از نظر هرباریوم گیاهی و سلامت توسط متخصص گیاه‌شناسی مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شرکت باريج اسانس کاشان، برگ‌ها خشک و سپس،

آسیاب شد. پودر بدست آمده در داخل پرکولاتور قرار داده شد و به میزان کافی الکل اتیلیک ۹۶ درجه به آن اضافه گردید تا ۵ سانتی متر از سطح برگ توت را الکل بگیرد. پس از ۷۲ ساعت، سطح مایع حاصل از پرکولاتور با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید و به منظور تغلیظ، محلول حاصل در دمای ۴۰ درجه قرار گرفت. در نهایت مقدار ماده خشک عصاره تغلیظ شده جهت گاوآژ اندازه گیری شد.

آنالیز عصاره

مقدار فلاونوئیدهای تام بر اساس کوئرستین و مقدار پلی-فنسولی تام بر اساس گالیک اسید با استفاده از روش اسپکتروفتومتری انجام گردید (۶).

ماز آبی موريس

سنجش یادگیری و تثبیت حافظه فضایی توسط ماز موريس به طور گسترده در تحقیقات انجام می شود که یک تانک آب با قطر ۱۸۰ و عمق ۷۰ سانتی متر است و تقریباً نیمی از آن از آب پر می شود. ماز به طور فرضی به چهار ربع مساوی شمالی، جنوبی، شرق و غربی تقسیم شده و یک سکوی نجات با ارتفاع ۲۵ سانتی متر در وسط یکی از این چهار ربع قرار می گیرد؛ به طوری که حدود ۱/۵ سانتی متر زیر سطح آب واقع می شود و از بیرون قابل دیدن نیست. حرارت آب در حدود ۲۲-۲۰ درجه سانتی گراد تنظیم می گردد. ماز در اتافی قرار می گیرد که در آن علائم فضایی مختلفی وجود دارد که در طول آزمایشات ثابت بوده و برای حیوان در ماز قابل دیدن است. این مجموعه از طریق یک دوربین ردیاب که در ارتفاع ۱۸۰ سانتی متری و در بالای مرکز ماز آبی قرار گرفته است، مونیتور شده و از طریق اتصال به کامپیوتر، اطلاعات مربوط به آزمایش در حال انجام ذخیره می گردد. جهت انجام، ثبت و آنالیز بعدی داده‌های حاصل از آزمایش از نرم افزار اختصاصی "ردیاب-۱ ویرایش ۷" که توانایی پذیرش تنظیمات مختلف برای آزمایشات گوناگون در ماز آبی را دارد، استفاده شد.

مراحل انجام آزمایش

۱ - مرحله یادگیری یا آموزش

طی این مرحله، حیوان از یکی از سمت‌های چهارگانه (شمال، جنوب، مشرق و مغرب) ماز در حالی که صورت آن به طرف دیواره ماز است، در آب رها می‌شود (لازم به ذکر است که انتخاب ناحیه شروع آزمایش به‌طور تصادفی بوده و به‌وسیله برنامه نرم افزاری پیشنهاد می‌گردد). با توجه به اندازه ماز و نوع حیوان (موش صحرایی) حداکثر زمان آزمایش ۶۰ ثانیه در نظر گرفته شد. در صورتی که حیوان به‌طور اتفاقی سکوی پنهان مخفی در زیر آب را پیدا می‌کرد و روی آن قرار می‌گرفت، به حیوان اجازه داده می‌شد تا به مدت ۱۵ ثانیه روی سکو بماند و با جستجوی اطراف و دیدن علائم موجود در آزمایشگاه موقعیت خود را شناسایی کند. این موضوع به حیوان کمک می‌کند تا در جلسات بعدی آزمایش با استفاده از علائم بینایی در اتاق محل آزمایش، جایگاه سکو را پیدا نماید. لازم به ذکر است که هم علائم فضایی موجود در محل آزمایش و هم موقعیت سکو در یکی از چهار قسمت ماز در طول آزمایشات ثابت بود. در صورتی که در مدت تعیین شده موش نمی‌توانست سکو را پیدا کند، حیوان توسط آزمایش کننده به آرامی به سوی سکو هدایت می‌شد تا سکو را یافته و برای ۱۵ ثانیه روی آن قرار گیرد. پس از گذشت این زمان، حیوان از سکو برداشته شده و بعد از خشک شدن با یک حوله به قفس خود برگردانده می‌شد. پس از ۱۰ دقیقه آزمایش مجدداً تکرار می‌گردید؛ با این تفاوت که محل رها شدن موش در ماز نسبت به مرحله قبل متفاوت بود. هر موش روزانه ۴ جلسه آموزش با فاصله ۱۰ دقیقه‌ای را تجربه می‌کرد. در مجموع این مرحله از آزمایش به مدت ۴ روز طول کشید و طی آن ۱۶ جلسه آزمایش روی حیوانات انجام گرفت (۲۴).

۲ - مرحله بازخوانی یا پروب

بلافاصله پس از تکمیل مرحله اول، مرحله بعد انجام گرفت. در این مرحله (با توجه به اینکه حیوان محل سکوی پنهان را می‌داند) سکو از ماز برداشته شده و آزمایش انجام می‌شد. و این نکته مورد توجه قرار می‌گرفت که موش در حین آزمایش (که قاعدتاً قادر به یافتن سکو نیست) بیشترین وقت خود را در کدامیک از قسمت‌های چهارگانه ماز می‌گذراند. لازم به ذکر است که در این مرحله از آزمایش هر جلسه ۳۰ ثانیه طول کشید و به دلیل عدم وجود سکو پس از پایان زمان، موش از ماز برداشته می‌شد. این مرحله از آزمایش برای هر موش یک بار انجام گرفت و مدت زمان ماندن و نیز مسافت پیموده شده در ربع صحیح ماز (که در مرحله قبل واجد سکو بود) معیار میزان یادگیری و یادآوری قرار گرفت.

آنالیز آماری

داده‌های جمع‌آوری شده به صورت میانگین \pm انحراف معیار از میانگین نمایش داده شده و با استفاده از نرم افزار SPSS ویرایش ۱۷ و با آزمون two-way ANOVA و پس از آزمون Bonferroni مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. $P < 0/05$ معنی دار تلقی شد

یافته‌ها

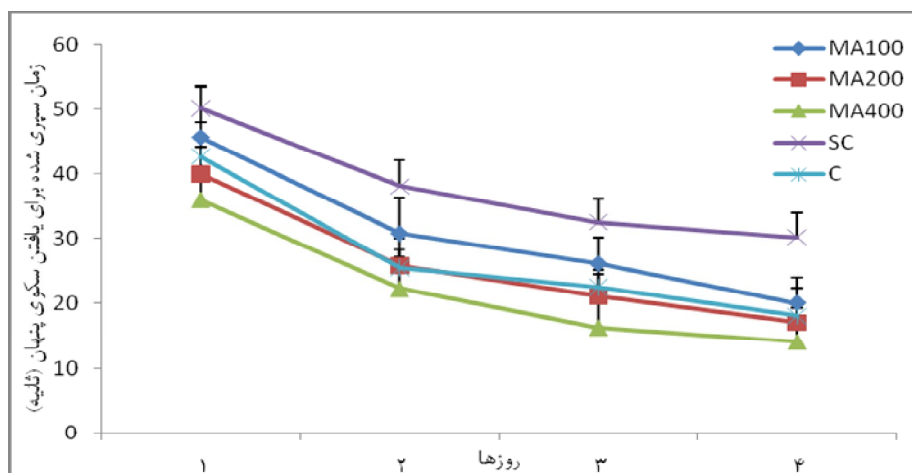
با استفاده از روش اسپکتروفتومتری، ترکیبات موجود در عصاره الکلی برگ توت سفید آنالیز شد. میزان تام ترکیبات پلی فنولی عصاره الکلی برگ توت سفید براساس مقایسه آن با محلول استاندارد گالیک اسید و بر طبق معادله خط به-دست آمده از منحنی استاندارد گالیک اسید، معادل ۱۵/۸ درصد به ازای هر گرم ماده خشک به دست آمد. همچنین میزان تام ترکیبات فلاونوئیدی به روش رنگ‌سنجی آلومینوم کلرید و بر اساس معادله خط منحنی استاندارد کوئرستین معادل ۱۱/۴ درصد به ازای هر گرم ماده خشک به دست آمد.

نمودار شماره ۱ نشان داده شده است، هم‌زمان با پیشرفت روزانه مراحل یادگیری، حیوانات همه گروه‌ها محل سکوی پنهان را آموخته و مدت زمان کمتری را صرف یافتن سکو می‌کردند. زمان یادگیری در موش‌های گروه کنترل اسکوپولامین در مقایسه با موش‌های گروه کنترل افزایش یافت ($P < 0.001$). در حالی که در گروه‌های دریافت کننده عصاره الکلی برگ توت سفید در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم زمان یادگیری به‌طور قابل توجهی کاهش یافت که این اختلاف به ترتیب $P < 0.001$ ، $P < 0.05$ و $P < 0.001$ بود (نمودار ۱).

در بررسی یادگیری و حافظه فضایی در گروه‌های مورد مطالعه با استفاده از ماز آبی موریس، اطلاعات جمع‌آوری شده از زمان سپری شده تا رسیدن به سکوی پنهان در مرحله یادگیری و مدت زمان طی شده در ربع هدف در مرحله تثبیت حافظه به صورت زیر می‌باشند:

۱- مرحله یادگیری

با آنالیز داده‌های جمع‌آوری شده مشخص شد که در مدت زمان سپری شده برای یافتن سکوی پنهان، در روزهای مختلف آزمایش بین همه گروه‌ها تفاوت معنی‌داری وجود دارد ($F_{4,155} = 13/974$; $P < 0.001$). همان‌گونه که در



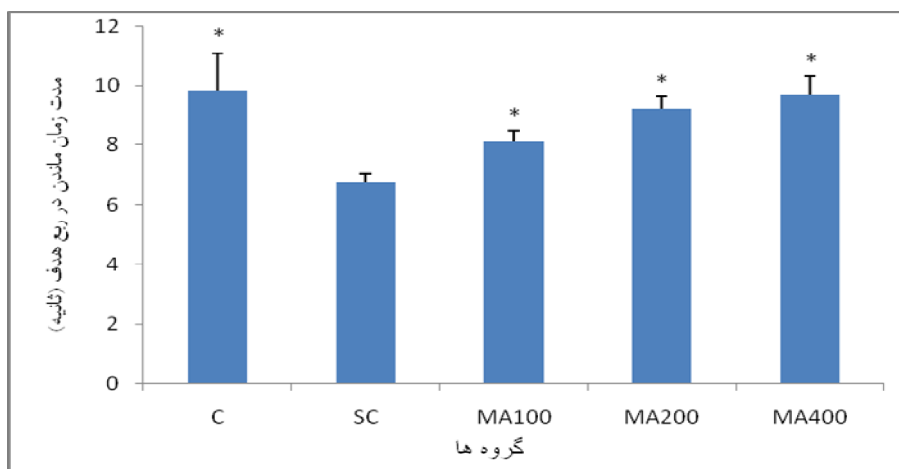
نمودار ۱: زمان سپری شده جهت یافتن سکوی پنهان توسط حیوانات در آزمون ماز آبی موریس (در روزهای مختلف آزمایش).

اختلاف بین گروه SC و گروه C معنی‌دار بود ($P < 0.0001$). اختلاف بین گروه‌های دریافت کننده عصاره در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ با گروه SC به ترتیب $P < 0.05$ ، $P < 0.0001$ و $P < 0.0001$ بود. C: Control, SC: Scopolamine Control, MA: *Morus Alba*.

مرحله بازخوانی (پروب)

نتایج حاصل از مقایسه بین گروه‌ها با آزمون آنالیز واریانس بیان‌گر این مطلب است که تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شرکت کننده در آزمایش وجود دارد ($P = 0.01$) ($F_{4,55} = 3/889$); با توجه به نتایج حاصل از آزمون تعقیبی Bonferroni می‌توان دریافت که موش‌های گروه کنترل اسکوپولامین در مقایسه با گروه کنترل زمان کمتری را در

ربع دارای سکو گذراندند ($P < 0.05$). همچنین، حیوانات گروه‌های دریافت کننده عصاره به مقدار ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم در مقایسه با گروه کنترل اسکوپولامین زمان بیشتری را در ربع دارای سکو سپری کرده‌اند ($P < 0.05$). این افزایش زمان در گروه دریافت کننده عصاره به مقدار ۱۰۰ میلی گرم قابل توجه نبود.



نمودار ۲: مدت زمانی که موش‌های گروه‌های آزمایش در مرحله بازخوانی اطلاعات آموخته شده برای یافتن سکوی پنهان صرف کردند. *: اختلاف بین گروه SC و سایر گروه‌ها برابر $P < 0.05$ بود. C: Control, SC: Scopolamine Control, MA: *Morus Alba*.

گرم اثر قابل توجهی در تثبیت بهتر حافظه فضایی نسبت به

گروه کنترل اسکوپولامین داشت. براساس تحقیقات ما

تاکنون مطالعه‌ای به منظور بررسی تاثیر عصاره برگ توت

سفید بر اختلال حافظه انجام نشده است. اما برخی مطالعات

تاثیر این گیاه بر اختلالات و بیماری‌های مرتبط با سیستم

عصبی را مورد بررسی قرار داده‌اند. نشان داده شده است که

ترکیب *sanggenon G* جدا شده از این گیاه اثر قابل -

توجهی در بهبود افسردگی موش‌های صحرایی دارد (۱۴).

همچنین ترکیب UP3005 جدا شده از این گیاه به طور

قابل توجهی درد و التهاب را در آزمون‌های کاراگینان و

رایتینگ کاهش می‌دهد (۱۵). در مطالعه دیگری نیز ثابت

شده است که برگ توت سفید اختلالات عصبی ناشی از

Schistosoma mansoni را در موش‌های صحرایی

بهبود می‌بخشد (۱۶). نتایج حاصل از بررسی میزان پلی فتول -

ها و فلاونوئیدهای تام در عصاره الکلی برگ توت سفید

نشان داد که این عصاره دارای مقادیر قابل توجهی از این

ترکیبات می‌باشد که در مطالعات قبلی نیز به وجود مقادیر

زیاد این ترکیبات مانند کوئرستین، روتین، کامپفرول،

بحث

در مطالعه حاضر اثر عصاره الکلی برگ توت سفید بر روند

یادگیری و حافظه فضایی در اختلال حافظه ناشی از

اسکوپولامین با استفاده از ماز آبی موریس مورد بررسی قرار

گرفت. در مجموع داده‌های این مطالعه نشان دادند که

تزریق درون صفاقی اسکوپولامین باعث ایجاد اختلال در

یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی می‌شود که

این یافته مطابق نتایج مطالعات قبلی بود که با استفاده از

اسکوپولامین اختلال در یادگیری و حافظه حیوانات

آزمایشگاهی ایجاد کرده بودند (۱۷ و ۲۵). نتایج مطالعه

حاضر نشان داد که تجویز خوراکی عصاره الکلی برگ

توت سفید در هر سه دوز باعث بهبود روند یادگیری در

موش‌های صحرایی دریافت کننده اسکوپولامین می‌شود،

بدین معنی که حیوانات دریافت کننده عصاره نسبت به

حیوانات گروه کنترل اسکوپولامین زمان کمتری را به منظور

یافتن سکوی پنهان در ماز آبی موریس سپری کردند.

همچنین دریافت این عصاره در دوزهای ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی -

لوتولین و میرستین اشاره شده بود (۸-۶). در مطالعات گذشته اثر ترکیبات فلاونوئیدی مذکور بر اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین گزارش شده است. در مطالعه Richetti و همکاران مشخص گردید که تجویز کوئرستین و روتین در دوز ۵۰ میلی گرم اثر قابل توجهی در بهبود اختلال حافظه ناشی از اسکوپولامین دارد (۲۶). ترکیب فلاونوئیدی لوتولین نیز با بهبود عملکرد سیستم کولینرژیک، یادگیری و حافظه را در مدل حیوانی دمانس بهبود می بخشد (۲۷).

تزریق اسکوپولامین و القای مدل آزمایشگاهی دمانس در موش‌های صحرایی با افزایش سیتوکین‌های التهابی، آنزیم استیل کولین استراز، COX-1 و COX-2 مرتبط است (۲۸). گزارش شده است که عصاره الکلی برگ توت سفید تأثیر بسزایی در مهار آنزیم استیل کولین استراز دارد و علت بروز این اثر مهارکنندگی، به وجود مقادیر زیاد ترکیبات فلاونوئیدی در این گیاه نسبت داده شده است (۲۹). در مطالعات مختلف، اثر ترکیبات فلاونوئیدی بر مهار فاکتورهای ذکر شده، مورد بررسی قرار گرفته است. UP3005 یک ترکیب موجود در برگ توت سفید می باشد که به طور قابل توجهی باعث مهار آنزیم‌های COX-1 و COX-2 می شود (۱۵). ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین با مهار آنزیم استیل کولین استراز و رادیکال‌های آزاد اختلال حافظه ناشی از تزریق استرپتوزوتوسین را در موش‌های صحرایی بهبود می بخشد (۳۰). همچنین لوتولین با مهار آنزیم استیل کولین استراز باعث بهبود اختلال حافظه ناشی از دیابت در آزمون ماز آبی موریس می شود (۳۱). بعلاوه، اثر مثبت ترکیبات فلاونوئیدی بر مهار سیتوکین‌های التهابی و آنزیم‌های سیکلواکسیژناز نیز گزارش شده است. در

مطالعه Li و همکاران مشخص شد که فلاونوئید کوئرستین باعث مهار واسطه‌های التهابی مانند آنزیم سیکلواکسیژناز ۲ می گردد (۳۲). در مطالعه دیگری نیز نشان داده شد که ترکیبات فلاونوئیدی کامپفرول اثر قابل توجهی در مهار آنزیم‌های سیکلواکسیژناز دارد (۳۳). فلاونوئید روتین مسیر-های سیکلواکسیژناز را در سلول‌های کارسینوما ریوی انسان مهار می کند (۳۵ و ۳۴). گزارش شده است که ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین باعث کاهش قابل توجه تولید سیتوکین‌های التهابی مانند اینترلوکین ۱ و ۶ و TNF در سلول‌های انسانی می شود (۳۶). ترکیب فلاونوئیدی لوتولین ترشح اینترلوکین ۶ در سلول‌های اپی تلیال روده را کاهش می دهد (۳۷). همچنین اثر قابل توجه فلاونوئید کامپفرول در مهار سیتوکین‌های التهابی نیز گزارش شده است (۳۸). بنابراین با توجه به اثر مهارکنندگی عصاره الکلی برگ توت سفید بر آنزیم استیل کولین استراز و تأثیر مثبت ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره این گیاه در مهار سیتوکین‌های التهابی، آنزیم‌های سیکلواکسیژناز و آنزیم استیل کولین استراز علت اثر مثبت عصاره برگ توت سفید نیز میتواند مهار این مکانیسم‌ها توسط ترکیبات فلاونوئیدی موجود در عصاره باشد.

نتیجه گیری

در مجموع می توان گفت عصاره برگ توت سفید اختلال حافظه ایجاد شده توسط اسکوپولامین در موش‌های صحرایی را بهبود می بخشد. عصاره این گیاه می تواند در درمان اختلالات شناختی دمانس و آلزایمر موثر باشد که این امر نیازمند انجام مطالعات بیشتری می باشد.

تقدیر و تشکر

همکاری و حمایت‌های مالی، کمال تشکر و قدردانی را به -
عمل می‌آورند.

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه
علوم پزشکی کاشان با کد ۹۳۱۷۱ می‌باشد. بدین وسیله
نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی این دانشگاه به دلیل

Reference

1. Milner B SL, Kandel ER. Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* 1998; 20: 445-68.
2. Arshavsky YI. Alzheimer disease and cellular mechanisms of memory storage. *Journal of Neuropathology & Experimental Neurology* 2014;73:192-205.
3. Dr?es R-M, van der Roest HG, van Mierlo L, Meiland FJ. Memory problems in dementia: adaptation and coping strategies and psychosocial treatments. 2011; 11:1769-81
4. Schliebs R, Arendt T. The cholinergic system in aging and neuronal degeneration. *Behavioural Brain Research* 2011; 221: 555-63.
5. Ebert U, Kirch W. Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *European Journal of Clinical Investigation* 1998; 28:944-9.
6. Khan MA, Rahman AA, Islam S, Khandokhar P, Parvin S ,Islam MB, et al. A comparative study on the antioxidant activity of methanolic extracts from different parts of *Morus alba* L.(Moraceae). *BMC Research Notes* 2013;6:24.
7. Kim DS, Kang YM, Jin WY, Sung YY, Choi G, Kim HK. Antioxidant activities and polyphenol content of *Morus alba* leaf extracts collected from varying regions. *Biomedical Reports*. 2014; 2:675-80
8. Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, Yamazaki Y, Shiwaku K, Yamane Y. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food Chemistry* 2006;97:25-31.
9. Andallu B, Kumar AV, Varadacharyulu NC. Oxidative stress in streptozocin-diabetic rats: Amelioration by mulberry (*Morus Indica* L.) leaves. *Chinese Journal of Integrative Medicine* 2012;18:1-6.
10. Nazari M, Hajizadeh MR, Mahmoodi M, Mirzaei MR, Hassanshahi G. The regulatory impacts of *Morus Alba* leaf extract on some enzymes involved in glucose metabolism pathways in diabetic rat liver. *Clinical Laboratory* 2012;59:497-504.
11. El-Beshbishy HA, Singab ANB, Sinkkonen J, Pihlaja K. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba* L.(Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. *Life Sciences* 2006;78:2724-33.
12. Kim D-S, Ji HD, Rhee MH ,Sung Y-Y, Yang W-K, Kim SH, et al. Antiplatelet activity of morus alba leaves extract, mediated via inhibiting granule secretion and blocking the phosphorylation of extracellular-signal-regulated kinase and akt. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2014; 2014; 639548.
13. Deepa M, Sureshkumar T, Satheeshkumar PK, Priya S. Antioxidant rich *Morus alba* leaf extract induces apoptosis in human colon and breast cancer cells by the downregulation of nitric oxide produced by inducible nitric oxide synthase. *Nutrition and Cancer* 2013;65:305-10.

14. Lim DW, Jung J-W, Park J-H, Baek N-I, Kim YT, Kim I-H, et al. Antidepressant-like effects of sanggenon G, isolated from the root bark of *Morus alba*, in rats: involvement of the serotonergic system. *Biological & Pharmaceutical Bulletin* 2015; 38:1772-8.
15. Yimam M, Lee Y-C, Kim T-W, Moore B, Jiao P, Hong M, et al. Analgesic and anti-inflammatory effect of UP3005, a botanical composition containing two standardized extracts of *Uncaria gambir* and *Morus alba*. *Pharmacognosy Research* 2015;7:S39.
16. Bauomy A. The potential role of *Morus alba* leaves extract on the brain of mice infected with *Schistosoma mansoni*. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*. 2014;13:1513-9.
17. Tamtaji O, Taghizadeh M, Takhtfiroozeh S, Talaei S. The effect of *Elaeagnus angustifolia* water extract on scopolamine-induced memory impairment in rats. *ZUMS Journal* 2014;22:101-11.
18. Jawaid T, Shakya AK, Siddiqui HH, Kamal M. Evaluation of *Cucurbita maxima* extract against scopolamine-induced amnesia in rats: Implication of tumour necrosis factor alpha. *Zeitschrift für Naturforschung C*. 2014;69:407-17.
19. Jung IH, Lee HE, Park SJ, Ahn YJ, Kwon G, Woo H, et al. Ameliorating effect of spinosin, a C-glycoside flavonoid, on scopolamine-induced memory impairment in mice. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 2014;120:88-94.
20. Popović M, Caballero-Bleda M, Benavente-García O, Castillo J. The flavonoid apigenin delays forgetting of passive avoidance conditioning in rats. *Journal of Psychopharmacology* 2014;28:498-501.
21. Li J, Xin Q, Lin L-w. Effects of Green tea polyphenols on scopolamine and D-galactose-induced learning and memory impairment in mice. *Journal of Jining Medical University* 2014;5:62-71.
22. Bhattamisra SK, Singh PN, Singh SK. Effect of standardized extract of *Marsilea minuta* on learning and memory performance in rat amnesic models. *Pharm Biol* 2012;50:766-72.
23. Wang W, Zu Y, Fu Y, Efferth T. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of extracts from *Morus alba* L. leaves, stems and fruits. *The American Journal of Chinese Medicine* 2012;40:349-56.
24. Alaei H, Moloudi R, Sarkaki AR, Azizi-Malekabadi H, Hanninen O. Daily running promotes spatial learning and memory in rats. *Journal of Sports Science & Medicine* 2007;6:429.
25. Bhattamisra SK SP, Singh SK. Effect of standardized extract of *Marsilea minuta* on learning and memory performance in rat amnesic models. *Pharm Biol* 2012;50:766-72.
26. Richetti S, Blank M, Capiotti K, Piato A, Bogo M, Vianna M, et al. Quercetin and rutin prevent scopolamine-induced memory impairment in zebrafish. *Behavioural Brain Research* 2011;217:10-5.
27. Yoo DY, Choi JH, Kim W, Nam SM, Jung HY, Kim JH, et al. Effects of luteolin on spatial memory, cell proliferation, and neuroblast differentiation in the hippocampal dentate gyrus in a scopolamine-induced amnesia model. *Neurological Research* 2013;35:813-20.
28. Ahmad A, Ramasamy K, Jaafar SM, Majeed ABA, Mani V. Total isoflavones from soybean and tempeh reversed scopolamine-induced amnesia, improved cholinergic activities and reduced neuroinflammation in brain. *Food and Chemical Toxicology* 2014;65:120-8.
29. Priya S. Identification of acetylcholine esterase inhibitors from *Morus alba* L. leaves. *Scholars Research Library* 2012;2:440-4.

30. Bhutada P, Mundhada Y, Bansod K, Bhutada C, Tawari S, Dixit P, et al. Ameliorative effect of quercetin on memory dysfunction in streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurobiology of Learning and Memory* 2010;94:293-302.
31. Liu Y TX, Gou L, Sun L, Ling X, Yin X. Luteolin attenuates diabetes-associated cognitive decline in rats. *Brain Res Bull* 2013;9:23-9.
32. Li H, Ryu JH. Quercetin derivatives from siegesbeckia glabrescens inhibit the expression of COX-2 through the suppression of NF-kB activation in microglia. *Biomolecules & Therapeutics* 2011;19:27-32.
33. Garc?a-Mediavilla V, Crespo I, Collado PS, Esteller A, S?nchez-Campos S, Tu??n MJ, et al. The anti-inflammatory flavones quercetin and kaempferol cause inhibition of inducible nitric oxide synthase, cyclooxygenase-2 and reactive C-protein, and down-regulation of the nuclear factor kappaB pathway in Chang liver cells. *European Journal of Pharmacology* 2007;557:221-9.
34. Eo S-H, Kim S-J. Rutin induces cyclooxygenase-2 (COX-2) and matrix metalloproteinase (MMP)-9 expression via the ERK and PI3K/Akt pathways in A549 human lung cancer cells. *Journal of Convergence Information Technology* 2013;8:414.
35. Sato M, Miyazaki T, Kambe F, Maeda K, Seo H. Quercetin, a bioflavonoid, inhibits the induction of interleukin 8 and monocyte chemoattractant protein-1 expression by tumor necrosis factor-alpha in cultured human synovial cells. *The Journal of Rheumatology* 1997;24:1680-4.
36. Kandere-Grzybowska K, Kempuraj D, Cao J, Cetrulo CL, Theoharides TC. Regulation of IL-1-induced selective IL-6 release from human mast cells and inhibition by quercetin. *British Journal of Pharmacology* 2006;148:208-15.
37. Jang S, Kelley KW, Johnson RW. Luteolin reduces IL-6 production in microglia by inhibiting JNK phosphorylation and activation of AP-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 2009; 105:7534-9.
38. Kowalski J, Samojedny A, Paul M, Pietsz G, Wilczok T. Effect of apigenin, kaempferol and resveratrol on the expression of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha genes in J774. 2 macrophages. *Pharmacological Reports* 2005; 57:390-4.