

اثر اسانس گیاه مشکک بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی

دکتر مهدی عباس نژاد*^۱، دکتر علی مصطفوی^۲، دکتر راضیه کوشکی^۳، پرتو حمزه نژاد^۴، دکتر سعید اسماعیلی ماهانی^۵

۱- استاد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران. ۲- استاد، گروه شیمی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران. ۳- دکتری فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران. ۴- کارشناس ارشد فیزیولوژی جانوری، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران. ۵- دانشیار، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران.

چکیده

زمینه و هدف: گیاه مشکک (*Ducrosia anethifolia* (Dc.) Boiss) از گیاهان دارویی معطر و مورد استفاده در طب سنتی ایران است که در اسانس آن ترکیبات موثر بر سیستم عصبی وجود دارد. این مطالعه به منظور تعیین اثر اسانس گیاه مشکک بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی انجام شد.

روش بررسی: این مطالعه تجربی روی ۳۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار در ۵ گروه ۷ تایی انجام شد. گروه‌ها شامل کنترل، شش (دریافت کننده نرمال سالین) و گروه‌های دریافت کننده اسانس گیاه مشکک به صورت روزانه با دوزهای ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن بود. اسانس گیاه طی چهار روز ۲۰ دقیقه قبل از آزمون یادگیری به صورت درون صفاقی تزریق گردید. حافظه و یادگیری فضایی با استفاده از ماز آبی موریس اندازه‌گیری شد.

یافته‌ها: در روزهای دوم، سوم و چهارم یادگیری، تاخیر رسیدن به سکو پنهان با دوز ۰/۵ ml/kg/bw اسانس گیاه مشکک در مقایسه با کنترل کاهش یافت ($P < 0/05$). همچنین زمان رسیدن به سکو با دوز ۰/۲۵ ml/kg/bw در تمام روزها به جز روز اول و با دوز ۰/۱۲۵ ml/kg/bw در روزهای دوم و سوم یادگیری، نسبت به کنترل کاهش آماری معنی‌دار نشان داد ($P < 0/05$). بررسی حافظه فضایی با آزمون پروب نشان‌دهنده افزایش درصد زمان و مسافت طی شده در ربع هدف در گروه دریافت کننده دوز ۰/۵ ml/kg/bw اسانس در مقایسه با گروه کنترل بود ($P < 0/05$).

نتیجه‌گیری: اسانس گیاه مشکک با دوزهای ۰/۵ و ۰/۲۵ ml/kg/bw طی چهار روز سبب بهبود یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی گردید.

کلید واژه‌ها: گیاه مشکک، یادگیری، حافظه فضایی، ماز آبی موریس، موش صحرایی

* نویسنده مسؤول: دکتر مهدی عباس نژاد، پست الکترونیکی: mabbas@uk.ac.ir

نشانی: کرمان، انتهای بلوار ۲۲ بهمن، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی، تلفن و نمابر ۰۳۴-۳۱۳۲۲۲۰۳۲

وصول مقاله: ۱۳۹۴/۵/۱۷، اصلاح نهایی: ۱۳۹۴/۱۱/۲۱، پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۱۲/۳

مقدمه

داروهای گیاهی معمولاً اسانس یا عصاره گیاهان موجود در طبیعت هستند که به عنوان منابع غنی مواد مؤثر در درمان بسیاری از بیماری‌ها مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱ و ۲). اسانس‌های گیاهی از بخش‌های مختلف گیاهان استخراج می‌گردند و به‌طور عمده شامل ترپنوئیدها، فیل پروپنوئیدها، بتروئیدها و مشتقات اسیدهای چرب هستند که حدود یک درصد متابولیت‌های ثانویه گیاهان را تشکیل می‌دهند. بسیاری از اسانس‌های گیاهی حاوی ترکیبات موثر بر سیستم عصبی بوده و می‌توانند در درمان بیماری‌های شناختی و تحلیل برنده اعصاب نقش حفاظتی داشته باشند (۳ و ۴).

مشکک با نام علمی *Ducrosia anethifolia* (Dc.) Boiss

گیاهی دارویی، معطر، دوساله و از خانواده چتریان است. این گیاه در مناطق کوهستانی و هموار در آفریقا و آسیا به ویژه ایران به صورت خودرو رشد می‌کند. در طب سنتی ایران این گیاه، به‌ویژه بخش‌های هوایی آن برای تسکین دردهای مختلف مانند سردرد، کمردرد، قولنج، درمان التهابات جدار داخلی بینی و سرماخوردگی مورد استفاده قرار می‌گیرد (۵). از گونه‌های این جنس خواص شل‌کننده عضلانی، ضدافسردگی و همچنین اثر ضد میکروبی علیه باکتری‌های گرم مثبت، مخمرها و برخی درماتوفیت‌ها گزارش شده است (۶). قسمت‌های هوایی گیاه مشکک حاوی اسانس بوده که به‌طور مؤثری از رشد قارچ‌های انگلی پوست انسان جلوگیری می‌کنند. برای مثال در آزمایشات داروشناسی و زیستی از

گونه *ismaelis* اثر ضد میکروبی و ضد قارچی و نیز اثر تسکین دهنده گزارش شده است (۷).

ترکیبات عمده اسانس گیاه مشکک شامل آلفاتیک آلدئیدها، مونوترپن‌ها مانند لیمون، سیترونال، ترپینولن، میرسن، آلفاپینن، بیولگان، پی‌سایمین و همچنین کومارین‌هایی مانند پنگولین هستند (۸-۱۰). مطالعات نشان دهنده اثر محافظت کننده عصبی و آنتی اکسیدان برخی از این ترکیبات است. میرسن موجود در اسانس گیاه فوق با کاهش عوامل استرس اکسیداتیو منجر به تقویت سیستم دفاع آنتی اکسیدان می‌گردد (۱۱). در مطالعه‌ای خواص آنتی اکسیدان سیترونال موجود در اسانس گیاه فوق گزارش شده است (۱۲). همچنین اسانس‌های گیاهی حاوی مونوترپن‌هایی مانند لیمون و آلفاپینن دارای خاصیت پاک‌کنندگی رادیکال‌های آزاد هستند (۱۳ و ۱۴). با توجه به وجود عوامل آنتی اکسیدان و محافظ عصبی در اسانس گیاه مشکک و نقش این ترکیبات بر بهبود حافظه و توانایی‌های شناختی (۱۵ و ۱۶)؛ این مطالعه به منظور تعیین اثر اسانس گیاه مشکک بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی در مدل ماز آبی موریس انجام شد.

روش بررسی

این مطالعه تجربی روی ۳۵ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار با محدوده وزنی ۲۷۰-۲۲۰ گرم و دامنه سنی ۸-۱۰ هفته تهیه شده از مرکز نگهداری حیوانات دانشگاه شهید باهنر کرمان، در بخش زیست‌شناسی طی سال‌های ۹۴-۱۳۹۳ انجام شد.

موش‌ها تحت سیکل ۱۲ ساعت تاریکی - روشنایی در شرایط دمایی کنترل شده (21 ± 2) درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و به‌جز در حین آزمایش آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند. حیوانات به‌صورت تصادفی به پنج گروه هفت تایی به شرح زیر تقسیم شدند (۱۷).

گروه کنترل: حیوانات دست نخوردند.

گروه شم: در این گروه نرمال سالین با حجم ۰/۵ میلی‌لیتر به‌صورت درون صفاقی تزریق شد.

گروه تجربی اول: دریافت کننده اسانس گیاه مشکک داخل صفاقی روزانه با دوز ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن.

گروه تجربی دوم: دریافت کننده اسانس گیاه مشکک داخل صفاقی روزانه با دوز ۰/۲۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن.

گروه تجربی سوم: دریافت کننده اسانس گیاه مشکک داخل صفاقی روزانه با دوز ۰/۱۲۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم وزن بدن.

اسانس گیاه مشکک طی چهار روز، ۲۰ دقیقه قبل از آزمون یادگیری تزریق شد.

گیاه مشکک (شماره علمی ۱۳۷۱) در مرحله گل‌دهی در فصل بهار از منطقه مهدی‌آباد از توابع بردسیر در ارتفاع ۲۶۵۰ متری از سطح دریا جمع‌آوری شد.

عمل تقطیر بر روی نمونه‌های جمع‌آوری شده با آب و بخار در مخزن فولاد ضدزنگ انجام شد. در این روش قسمت‌های هوایی مشکک همراه با آب درون دیگ پخت قرار داده شد و عمل تقطیر طی چهار ساعت انجام و پارامترهایی از قبیل فشار، درجه حرارت و سرعت تقطیر کنترل شد. فرایند تقطیر تا جمع‌آوری عصاره ادامه پیدا کرد. اسانس جمع‌آوری شده بر روی عصاره پس از جدا شدن از عصاره توسط سولفات سدیم در یخچال تا موقع استفاده و آنالیز نگهداری گردید.

برای سنجش یادگیری و حافظه فضایی از ماز آبی موریس استفاده شد (۱۸). ماز آبی موریس حوضچه دایره‌ای شکل تیره رنگی به قطر ۱۳۶ سانتی‌متر و ارتفاع ۶۰ سانتی‌متر است که تا ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر توسط آب با دمای 20 ± 2 درجه سانتی‌گراد پر گردید. این حوضچه به چهار ربع مساوی تقسیم شده و در هر ربع دایره یک نقطه برای رهاکردن حیوان در آب در نظر گرفته شده است. یک سکو فلزی به قطر ۱۰ سانتی‌متر در مرکز ربع دایره جنوبی ۱/۵ سانتی‌متر در زیر سطح آب و به‌صورت غیرقابل رویت قرار گرفت. این دایره به عنوان ربع هدف در نظر گرفته شد.

از پروتکل پنج روزه برای سنجش یادگیری و حافظه فضایی استفاده شد. آزمایش یادگیری طی چهار روز انجام شد. هر روز شامل چهار کارآزمایی بود. در هر کارآزمایی حیوان از یکی از ربع دایره‌های چهارگانه که دستگاه به‌طور تصادفی انتخاب می‌کرد؛ به داخل آب رها شد و حداکثر ۶۰ ثانیه فرصت داشت تا با استفاده از سرنخ‌های فضایی اطراف، سکوی پنهان در زیر سطح آب را پیدا نموده و بر روی آن استراحت کند. حیوان پس از قرار گرفتن بر روی سکو ۳۰ ثانیه بر روی آن استراحت نمود. در هر روز حیوان از چهار ربع دایره مختلف به داخل آب رها شد. در این آزمایش مدت زمان سپری شده و مسافت پیموده شده تا یافتن سکوی پنهان در این سه بلوک، به‌عنوان معیاری از یادگیری فضایی محاسبه شد. در روز پنجم، آزمون پروب برای ارزیابی حافظه فضایی حیوانات انجام گردید. این آزمون شامل یک کارآزمایی منفرد است که در آن سکوی پنهان از داخل ماز برداشته شد و حیوان از ربع مخالف ربع دایره هدف به داخل آب رها شد و به‌مدت ۶۰ ثانیه آزادانه در آب شنا نمود. متغیرهای مورد بررسی در این آزمون مدت زمان حضور و مسافت پیموده شده در ربع دایره هدف و نیز درصد زمان سپری شده در ربع دایره‌های غیرهدف بود. تصاویر با دوربین نصب شده در بالای قسمت مرکزی حوضچه با سرعت ۲۵ تصویر در ثانیه توسط مانیتور دریافت و با استفاده از نرم‌افزار ردیابی maze router ثبت و آنالیز گردید.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS-15 تجزیه و تحلیل شد. برای مقایسه میانگین گروه‌های مورد آزمایش از آزمون واریانس یک طرفه (ANOVA) و متعاقب آن از آزمون Tukey در سطح

معنی داری کمتر از ۰/۰۵ استفاده گردید.

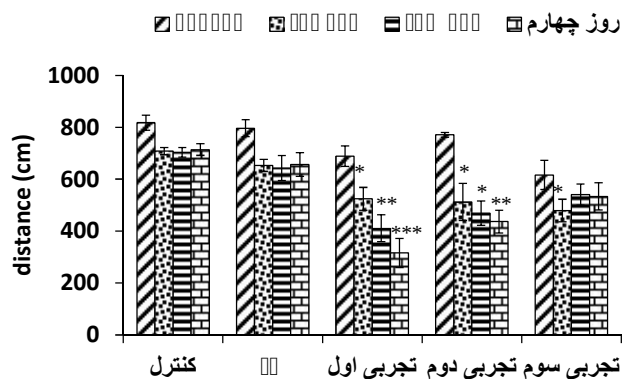
یافته‌ها

در روزهای دوم، سوم (P<۰/۰۵) و چهارم (P<۰/۰۱) یادگیری، تاخیر رسیدن به سکو پنهان با دوز ۰/۵ ml/kg اسانس گیاه مشکک (گروه تجربی اول) در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (P<۰/۰۵). زمان رسیدن به سکو در گروه دریافت کننده دوز ۰/۲۵ ml/kg اسانس گیاه مشکک (گروه تجربی دوم) در تمام روزها به جز روز اول (P<۰/۰۵) و گروه دریافت کننده دوز ۰/۱۲۵ ml/kg اسانس گیاه مشکک (گروه تجربی سوم) در روزهای دوم و سوم (P<۰/۰۵) یادگیری نسبت به گروه کنترل کاهش یافت (نمودار یک).

در گروه تجربی اول میانگین مسافت طی شده تا رسیدن به سکو در روزهای دوم (P<۰/۰۵)، سوم (P<۰/۰۱) و چهارم (P<۰/۰۰۱) یادگیری در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت. همچنین مسافت رسیدن به سکو در گروه تجربی دوم در روزهای سوم (P<۰/۰۵) و چهارم (P<۰/۰۱) یادگیری و گروه تجربی سوم در روز دوم کاهش معنی دار در مقایسه با گروه کنترل نشان داد (نمودار ۲).

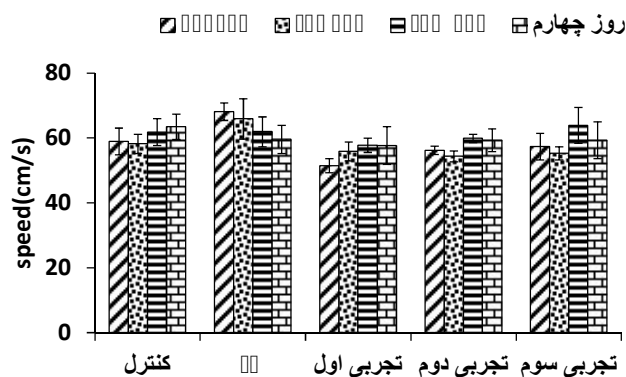
سرعت رسیدن به سکو پنهان برای ارزیابی اثرات اسانس گیاه مشکک بر فعالیت حرکتی در طی روزهای یادگیری ارزیابی شد و اختلاف آماری معنی دار بین پنج گروه‌ها مورد مطالعه مشاهده نگردید (نمودار ۳).

ارزیابی نتایج حافظه فضایی با آزمون پروب در روز پنجم نشان دهنده افزایش میانگین زمان گذرانده شده و مسافت طی شده در ربع هدف طی ۶۰ ثانیه آزمون پروب در گروه تجربی اول در مقایسه با گروه کنترل بود (نمودارهای ۴ و ۵). همچنین در گروه تجربی اول درصد زمان گذرانده شده در ربع دایره‌های غیرهدف در روز پنجم در مقایسه با گروه کنترل کاهش یافت (P<۰/۰۵) (نمودار ۶).



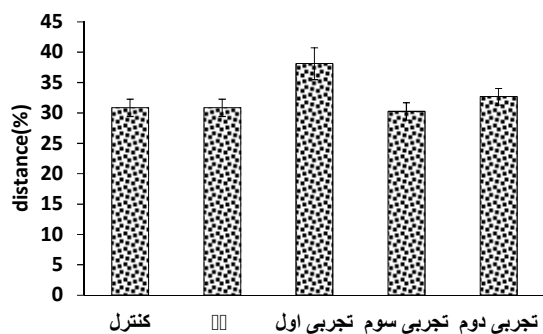
نمودار ۲: اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه مشکک بر میانگین مسافت طی شده توسط موش‌های صحرایی (n=۷) تا رسیدن به سکو طی ۴ روز یادگیری

گروه تجربی اول، دوم و سوم به ترتیب دریافت کننده اسانس گیاه مشکک داخل صفاقی با دوزهای ۰/۵ ml/kg، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ * P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱، *** P<۰/۰۰۱ در مقایسه با گروه کنترل



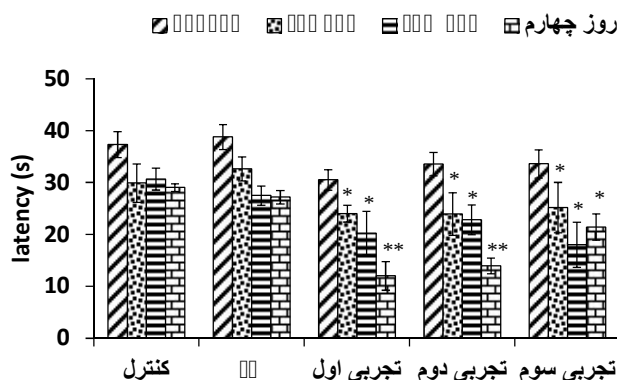
نمودار ۳: اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه مشکک بر میانگین سرعت رسیدن توسط موش‌های صحرایی (n=۷) به سکو طی ۴ روز یادگیری

گروه تجربی اول، دوم و سوم به ترتیب دریافت کننده اسانس گیاه مشکک داخل صفاقی با دوزهای ۰/۵ ml/kg، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵



نمودار ۴: اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه مشکک بر درصد مسافت طی شده توسط موش‌های صحرایی (n=۷) در ربع هدف در روز پنجم (آزمون پروب)

گروه تجربی اول، دوم و سوم به ترتیب دریافت کننده اسانس گیاه مشکک داخل صفاقی با دوزهای ۰/۵ ml/kg، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵



نمودار ۵: اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه مشکک بر میانگین زمان رسیدن توسط موش‌های صحرایی (n=۷) به سکو طی ۴ روز یادگیری

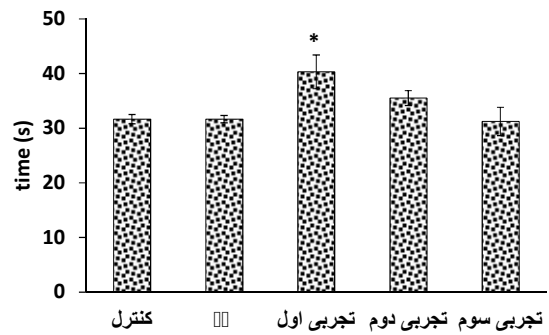
گروه تجربی اول، دوم و سوم به ترتیب دریافت کننده اسانس گیاه مشکک داخل صفاقی با دوزهای ۰/۵ ml/kg، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ * P<۰/۰۵، ** P<۰/۰۱ در مقایسه با گروه کنترل

کولینرژیک است و برخی مطالعات نشان داده‌اند یک عامل اصلی در فراموشی تخریب نورون‌های کولینرژیک و کاهش ترشح نوروترانسمیتر استیل‌کولین است (۱۹ و ۲۰). در واقع اولین خط درمانی در بیماری‌های شناختی مانند آلزایمر استفاده از ترکیبات مهارکننده آنزیم استیل‌کولین استراز برای حفظ سطح استیل‌کولین در سیناپس‌ها است (۲۱). اسانس و عصاره‌های گیاهی افزایش شدت فعالیت کولینرژیک می‌تواند در بیماری‌های شناختی براساس شدت بیماری مورد استفاده درمانی قرار گیرند (۲۲ و ۲۳).

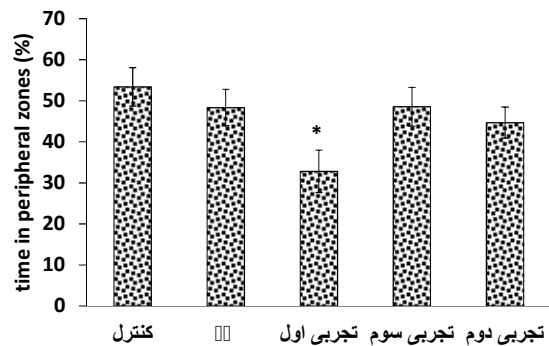
در همین راستا فعالیت ضد استیل‌کولین استراز ترپنوئیدها در برخی مطالعات گزارش شده است (۱۹ و ۲۶-۲۴). آلفاپینن موجود در اسانس گیاه مشکک حدود ۱۲ درصد اسانس گیاه را تشکیل می‌دهد و دارای اثر مهار بر استیل‌کولین استراز است که به‌عنوان مهارکننده غیراختصاصی برگشت‌پذیر این آنزیم عمل می‌کند (۲۴ و ۲۷). احتمال دارد قسمتی از اثر بهبوددهنده حافظه گیاه مشکک مربوط به خاصیت تقویت‌کنندگی کولینرژیک آلفاپینن موجود در اسانس گیاه مشکک باشد.

ترکیبات آنتی‌اکسیدان فرایند حافظه و یادگیری را بهبود می‌دهد (۲۸). در مطالعه حاضر ممکن است ترکیبات آنتی‌اکسیدان گیاه مشکک در بخشی از روند بهبود حافظه و یادگیری ایجاد شده دخیل باشد. در واقع رادیکال‌های آزاد و دیگر تولیدات متابولسم اکسیداتیو می‌توانند سمیت عصبی ایجاد کنند. پراکسیداسیون چربی غشاء با افزایش سطح رادیکال‌های آزاد و یا کاهش در فعالیت دفاعی آنتی‌اکسیدان، ایجاد می‌گردد و ترکیبات آنتی‌اکسیدان عملکرد مثبتی در کاهش سطح پراکسیداسیون چربی و کاهش انواع رادیکال‌های آزاد دارند (۲۹). تجویز مونوترپن‌های Linalool و Limonene موجود در اسانس گیاه مشکک در شرایط تخریب عصبی منجر به کاهش استرس اکسیداتیو شده و با مهار تولید مالون‌دی‌الدهید اثر محافظ عصبی ایجاد می‌کند (۲۹). همچنین سیترونال دیگر مونوترپن موجود در اسانس گیاه مشکک منجر به کاهش پراکسیداسیون لیپیدها و کاهش مالون‌دی‌الدهید در هیپوکمپ موش‌های سوری دیابتی شده است (۳۰).

استفاده از ترکیبات ضدالتهاب در درمان بیماری آلزایمر و دیگر بیماری‌های مرتبط با توانایی‌های شناختی سودمند است. در واقع بسیاری از بیماری‌های تحلیل‌برنده اعصاب مانند آلزایمر با التهاب همراه است و و رهایش عوامل التهابی اختلال یادگیری و حافظه ایجاد شده را تشدید می‌کنند (۳۱). برخی ترکیبات اسانس گیاه مشکک مانند Linalool، p-cymene، pulegone و Limonene دارای خواص ضدالتهابی بوده و منجر به کاهش رهایش میانجی‌های التهابی می‌گردند (۳۲ و ۳۳). Linalool موجود در اسانس این گیاه پاسخ تند القاء شده به‌وسیله اینترلوکین بتا و TNF- α را کاهش می‌دهد (۳۳). مصرف خوراکی Limonene دیگر مونوترپن موجود



نمودار ۵: اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه مشکک بر میانگین زمان گذرانده شده توسط موش‌های صحرایی (n=7) در ربع هدف در روز پنجم (آزمون پروب) گروه تجربی اول، دوم و سوم به ترتیب دریافت‌کننده اسانس گیاه مشکک داخل صفاقی با دوزهای ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ ml/kg در مقایسه با گروه کنترل * P < ۰/۰۵



نمودار ۶: اثر غلظت‌های مختلف اسانس گیاه مشکک بر درصد زمان گذرانده شده توسط موش‌های صحرایی (n=7) در ربع دایره‌های غیرهدف در روز پنجم (آزمون پروب) گروه تجربی اول، دوم و سوم به ترتیب دریافت‌کننده اسانس گیاه مشکک داخل صفاقی با دوزهای ۰/۵، ۰/۲۵ و ۰/۱۲۵ ml/kg در مقایسه با گروه کنترل * P < ۰/۰۵

بحث

با توجه به نتایج این مطالعه تزریق داخل صفاقی اسانس گیاه مشکک با دوز ۰/۵ ml/kg باعث کاهش میانگین مسافت طی شده و زمان سپری شده تا رسیدن به سکوی پنهان در میانگین چهار روز یادگیری می‌گردد که نشان‌دهنده بهبود یادگیری فضایی است. نتایج تغییرات حافظه با آزمون پروب در روز پنجم نشان داد تزریق درون صفاقی اسانس گیاه مشکک با دوز ۰/۵ ml/kg زمان رسیدن به سکوی پنهان و درصد مسافت طی شده در ربع هدف را افزایش می‌دهد که حاکی از افزایش حافظه فضایی است.

در مطالعه‌ای تزریق درون صفاقی اسانس گیاه مشکک بدون تغییر در فعالیت حرکتی خودبه‌خودی رفتارهای اضطرابی موش‌های صحرایی را در تست ماز به‌علاوه مرتفع کاهش می‌دهد (۵). همچنین استفاده از اسانس گیاه فوق در دوزهای کم درد القا شده با صفحه داغ را در موش‌های صحرایی کاهش داده است (۱۷). مهم‌ترین سیستم عصبی درگیر در روند حافظه و یادگیری سیستم

مطالعات بیشتر است.

نتیجه گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که اسانس گیاه مشکک با دوزهای ۰/۵ و ۰/۲۵ میلی لیتر بر کیلوگرم طی چهار روز سبب بهبود یادگیری و حافظه فضایی موش های صحرایی شده است.

تشکر و قدردانی

این مطالعه با حمایت مالی معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه شهیدباهر کرمان انجام گردید. بدین وسیله از جناب آقای دکتر منصور میرتاج الدینی که در شناسایی گونه گیاه مورد مطالعه ما را یاری نمودند؛ سپاسگزاری می نمایم.

References

1. Carlini EA. Plants and the central nervous system. *Pharmacol Biochem Behav.* 2003 Jun; 75(3): 501-12.
2. Lehrner J, Eckersberger C, Walla P, Pötsch G, Deecke L. Ambient odor of orange in a dental office reduces anxiety and improves mood in female patients. *Physiol Behav.* 2000 Oct; 71(1-2): 83-6.
3. Moss M, Cook J, Wesnes K, Duckett P. Aromas of rosemary and lavender essential oils differentially affect cognition and mood in healthy adults. *Int J Neurosci.* 2003 Jan; 113(1): 15-38.
4. Perry NS, Houghton PJ, Jenner P, Keith A, Perry EK. Salvia lavandulaefolia essential oil inhibits cholinesterase in vivo. *Phytomedicine.* 2002 Jan; 9(1): 48-51.
5. Hajhashemi V, Rabbani M, Ghanadi A, Davari E. Evaluation of antianxiety and sedative effects of essential oil of *Ducrosia anethifolia* in mice. *Clinics (Sao Paulo).* 2010 Oct; 65(10): 1037-1042. doi: 10.1590/S1807-59322010001000020
6. Janssen AM, Scheffer JJ, Baerheim Svendsen A, Aynehchi Y. The essential oil of *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. Chemical composition and antimicrobial activity. *Pharm Weekbl Sci.* 1984 Aug; 6(4): 157-60.
7. Stavri M, Mathew K, Bucar F, Gibbons S, Pangelin, an antimycobacterial coumarin from *Ducrosia anethifolia*. *Planta Med.* 2003 Oct; 69(10): 956-9.
8. Al-Meshal IA, Khalifa TI, Hassan MMA. Physico-chemical characteristics and spectroscopy of *Ducrosia ismaelis* oil. *Spectrosc Lett.* 1985; 18: 495-6.
9. Mostafavi A, Afzali D, Mirtadzadini SM. Chemical composition of the essential oil of *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. from Kerman Province in Iran. *J Essent Oil Res.* 2007; 20(6): 509-12. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2008.9700073>
10. Sefidkon F, Javidtash IJ. Essential oil composition of *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss. from Iran. *J Essent Oil Res.* 2002; 14(4): 278-79.
11. Ciftci O, Ozdemir I, Tanyildizi S, Yildiz S, Oguzturk H. Antioxidative effects of curcumin, β -myrcene and 1,8-cineole against 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-induced oxidative stress in rats liver. *Toxicol Ind Health.* 2011 Jun; 27(5): 447-53. doi: 10.1177/0748233710388452
12. Victoria FN, Anversa R, Penteado F, Castro M, Lenardão EJ, Savegnago L. Antioxidant and antidepressant-like activities of semi-synthetic α -phenylseleno citronellal. *Eur J Pharmacol.* 2014 Nov; 742: 131-8. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.09.005
13. Singh P, Shukla R, Prakash B, Kumar A, Singh S, Mishra PK, Dubey NK. Chemical profile, antifungal, antiaflatoxicogenic and

در اسانس قادر به مهار پاسخ التهابی القاء شده به وسیله LPS است. همچنین تولید نیتریک اکسید، گاما اینترفرون و IL4 با این ترکیب مهار می گردد (۳۴). لذا فعالیت ضدالتهابی اسانس گیاه مشکک نیز می تواند عاملی اثرگذار در افزایش حافظه و یادگیری مشاهده شده باشد. اثرات سودمند اسانس گیاه مشکک بر فرایند حافظه و یادگیری می تواند به دلیل ترکیبات با ویژگی های آنتی اکسیدانی، ضدالتهابی و همچنین بهبوددهنده عملکرد کولینرژیک موجود در اسانس گیاه مشکک باشد. با این وجود ترکیبات اصلی در گیر در روند بهبود حافظه و یادگیری در اسانس گیاه و نیز مکانیسم عمل این ترکیبات مشخص نیست و شناخت این ترکیبات نیازمند

- antioxidant activity of *Citrus maxima* Burm. and *Citrus sinensis* (L.) Osbeck essential oils and their cyclic monoterpene, DL-limonene. *Food Chem Toxicol.* 2010 Jun; 48(6): 1734-40. doi: 10.1016/j.fct.2010.04.001
14. Misharina TA, Samusenko AL. [Antioxidant properties of essential oils from lemon, grapefruit, coriander, clove, and their mixtures]. *Prikl Biokhim Mikrobiol.* 2008 Jul-Aug; 44(4): 482-6. [Article in Russian]
 15. Raghavendra V, Kulkarni SK. Possible antioxidant mechanism in melatonin reversal of aging and chronic ethanol-induced amnesia in plus-maze and passive avoidance memory tasks. *Free Radic Biol Med.* 2001 Mar; 30(6): 595-602.
 16. Parle M, Dhingra D. Ascorbic Acid: a promising memory-enhancer in mice. *J Pharmacol Sci.* 2003 Oct; 93(2): 129-35.
 17. Abbasnejad M, Sofiabadi M, Mostafavi A, Kooshki R, Yahyapour M. [The effect of *Ducrosia anethifolia* (DC.) Boiss essential oil on hot plate model of pain in adult male rats]. *J Sabzevar Uni Med Sci.* 2014; 21(5): 761-8. [Article in Persian]
 18. Morris RGM, Garrud P, Rawlins JNP, O'Keefe J. Place navigation impaired in rats with hippocampal lesions. *Nature.* 1982 Jun; 297: 681-3. doi:10.1038/297681a0
 19. Farlow MR. Do cholinesterase inhibitors slow progression of Alzheimer's disease? *Int J Clin Pract Suppl.* 2002 Jun; (127):37-44.
 20. Alpern HP, Marriott JG. Short-term memory: facilitation and disruption with cholinergic agents. *Physiol Behav.* 1973 Oct; 11(4): 571-5.
 21. McGleenon BM, Dynan KB, Passmore AP. Acetylcholinesterase inhibitors in Alzheimer's disease. *Br J Clin Pharmacol.* 1999 Oct; 48(4): 471-80. doi: 10.1046/j.1365-2125.1999.00026.x
 22. Perry NS, Houghton PJ, Theobald A, Jenner P, Perry EK. In-vitro inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by salvia lavandulaefolia essential oil and constituent terpenes. *J Pharm Pharmacol.* 2000 Jul; 52(7): 895-902.
 23. Perry N, Court G, Bidet N, Cour TJ, Perry E. European herbs with cholinergic activities: potential in dementia therapy. *Int J Geriatr Psychiatry.* 1996 Dec; 11(12): 1063-9. doi: 10.1002/(SICI)1099-1166(199612)11:12<1063::AID-GPS532>3.0.CO;2-1
 24. Miyazawa M, Watanabe H, Kameoka H. Inhibition of acetylcholinesterase activity by monoterpenoids with a p-menthane skeleton. *J Agric Food Chem.* 1997; 45(3): 677-9. doi: 10.1021/jf960398b
 25. Miyazawa M, Watanabe H, Umemoto K, Kameoka H. Inhibition of acetylcholinesterase activity by essential oils of

- Mentha species. J Agric Food Chem. 1998; 46(9): 3431-34. doi: 10.1021/jf9707041
26. Savelev SU, Okello EJ, Perry EK. Butyryl- and acetylcholinesterase inhibitory activities in essential oils of Salvia species and their constituents. Phytother Res. 2004 Apr; 18(4): 315-24.
27. Mostafavi A, Afzali D, Mirtadzadini S. Chemical composition of the essential oil of Ducrosia anethifolia (DC.) Boiss. from Kerman province in Iran. J Essent Oil Res. 2008; 20(6): 509-12. <http://dx.doi.org/10.1080/10412905.2008.9700073>
28. Dekkers JC, van Doornen LJ, Kemper HC. The role of antioxidant vitamins and enzymes in the prevention of exercise-induced muscle damage. Sports Med. 1996 Mar; 21(3): 213-38.
29. Oboh G, Olasehinde TA, Ademosun AO. Essential oil from lemon peels inhibit key enzymes linked to neurodegenerative conditions and pro-oxidant induced lipid peroxidation. J Oleo Sci. 2014; 63(4): 373-81.
30. Victoria FN, Anversa R, Penteadó F, Castro M, Lenardão EJ, Savegnago L. Antioxidant and antidepressant-like activities of semi-synthetic α -phenylseleno citronellal. Eur J Pharmacol. 2014 Nov; 742: 131-8. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.09.005
31. Kim K, Bu Y, Jeong S, Lim J, Kwon Y, Cha DS, et al. Memory-enhancing effect of a supercritical carbon dioxide fluid extract of the needles of Abies koreana on scopolamine-induced amnesia in mice. Biosci Biotechnol Biochem. 2006 Aug; 70(8): 1821-6.
32. de Sousa DP, Nóbrega FF, de Lima MR, de Almeida RN. Pharmacological activity of (R)-(+)-pulegone, a chemical constituent of essential oils. Z Naturforsch C. 2011 Jul-Aug; 66(7-8): 353-9.
33. Batista PA, Werner MF, Oliveira EC, Burgos L, Pereira P, Brum LF, et al. The antinociceptive effect of (-)-linalool in models of chronic inflammatory and neuropathic hypersensitivity in mice. J Pain. 2010 Nov; 11(11):1222-9. doi: 10.1016/j.jpain.2010.02.022
34. do Amaral JF, Silva MI, Neto MR, Neto PF, Moura BA, de Melo CT, et al. Antinociceptive effect of the monoterpene R-(+)-limonene in mice. Biol Pharm Bull. 2007 Jul; 30(7): 1217-20.

Original Paper

Effect of *Ducrosia anethifolia* (Dc.) Boiss essential oil on spatial learning and memory in rats

Abbasnejad M (Ph.D)*¹, Mostafavi A (Ph.D)², Kooshki R (Ph.D)³
Hamzenejad P (M.Sc)⁴, Esmaili-Mahani S (Ph.D)⁵

¹Professor, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. ²Professor, Department of Chemistry, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. ³Ph.D in Animal Physiology, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. ⁴M.Sc in Animal Physiology, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran. ⁵Associate Professor, Department of Biology, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Iran.

Abstract

Background and Objective: *Ducrosia anethifolia* (Dc.) is a medicinal odor plant contains CNS effective compounds which has been used in Iranian traditional medicine. This study was done to determine the effect of *Ducrosia anethifolia* (Dc.) Boiss essential oil on spatial learning and memory in adult male rats.

Methods: In this experimental study, 35 wistar adult male rats were randomly allocated into the five groups (n=7) including: control, sham (injected vehicle) and *Ducrosia anethifolia* (Dc.) Boiss essential oil groups 0.125, 0.25 and 0.5ml/kg/bw, intraperitoneally during four days. Morris water maze test was used to assess learning and memory.

Results: *Ducrosia anethifolia* (Dc.) Boiss essential oil (0.5 ml/kg/bw) was significantly increased escape latency in the second and third (P<0.05) as well as forth (P<0.05) days of acquisition test in compare to control group. In addition latency to find the hidden platform was significantly decreased with 0.25 essential oil in all days except first day (P<0.05) and in essential oil- treated rats at 0.125 ml/kg/bw in the second and third days (P<0.05) in compare to the control group. Time spent and distance travelled in target zone were significantly increased in *Ducrosia anethifolia* (Dc.) Boiss essential oil -treated rats (0.5ml/kg/bw) in compare to control group (P<0.05).

Conclusion: Intraperitoneal administration of the *Ducrosia anethifolia* (Dc.) Boiss essential oil at doses of 0.5 and 0.25 ml/kg/bw during four days can improves spatial learning and memory in adult male rats.

Keywords: *Ducrosia anethifolia* (Dc.) Boiss, Learning, Memory, Morris water maze, Rat

* Corresponding Author: Abbasnejad M (Ph.D), E-mail: mabbas@uk.ac.ir

Received 8 Aug 2015

Revised 10 Feb 2016

Accepted 22 Feb 2016