

اثر عصاره آبی - الکی بذر گیاه بنگدانه بر یادگیری و حافظه کوتاه مدت در موش سوری

محمدرضا حجتی^۱، فاطمه تاجی^۲، محمود رفیعیان^۳

^۱ استادیار گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

^۲ دانشجوی دکتری زیست‌شناسی تکوینی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران

^۳ استاد گروه فارماکولوژی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد، شهرکرد، ایران

نشانی نویسنده مسؤول: شهرکرد، دانشگاه علوم پزشکی، مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشکده پزشکی، دکتر محمدرضا حجتی

Email: hojjatim@gmail.com

وصول: ۹۱/۱/۱۹، اصلاح: ۹۱/۲/۱۳، پذیرش: ۹۱/۳/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: بنگدانه اثرات گوناگون درمانی از جمله ضد تشنجی، خواب‌آوری و اختلال در ادراک دارد. با توجه به عدم بررسی اثر تزریق داخل صفاقی عصاره آبی الکی گیاه بنگدانه بر یادگیری و حافظه به روش ماز آبی موریس، این مطالعه روی موش‌های سوری بالغ نژاد Balb/c اجرا شد.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، ۲۳ سر موش در ۳ گروه تصادفی قرار گرفتند. گروه کنترل (۱۰ سر)، سالیین و دو گروه دیگر به ترتیب دوز ۱ (۷ سر) یا ۲ (۶ سر) mg/kg عصاره دریافت کردند. میزان یادگیری حیوانات برای ۵ روز متوالی ارزیابی شد. سپس دو آزمایش پروب برای ارزیابی حافظه کوتاه مدت در روزهای ۶ و ۱۰ انجام شد. داده‌ها به وسیله آزمون آماری ANOVA یک طرفه و سپس آزمون توکی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت. $P < 0.05$ به عنوان تفاوت معنادار در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: در روزهای سوم و چهارم دوره یادگیری، زمان پیدا کردن سکوی پنهان در گروه کنترل به ترتیب به 42.9 ± 4.2 و 31.75 ± 3.6 ثانیه رسید؛ در حالی که این مقدار برای گروه دریافت کننده دوز ۲ به ترتیب 60 ± 0 و 50.08 ± 6.3 ثانیه بود ($P < 0.05$). نتایج اولین و دومین آزمایش پروب نشان داد میانگین زمان شنا در چارک هدف در گروه کنترل، به ترتیب 20.52 ± 1.84 و 22.16 ± 2.32 ثانیه است؛ که به طور معناداری بیش از میانگین سایر چارک‌ها (13.18 ± 2.02 برای پروب اول و 12.63 ± 1.96 ثانیه برای پروب دوم) می‌باشد ($P < 0.05$).

نتیجه‌گیری: عصاره آبی - الکی بنگدانه میزان یادگیری را در مدل ماز آبی موریس کاهش داده و تشکیل حافظه کوتاه مدت را مختل می‌کند. (مجله دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، دوره ۱۹/شماره ۳/صص ۲۶۶-۲۵۸).

واژه‌های کلیدی: عصاره آبی - الکی، بنگدانه، یادگیری، حافظه، ماز آبی موریس، موش سوری.

مقدمه

سیستم عصبی محسوب می‌شوند؛ که بدون آنها زندگی فرد مختل می‌شود. فهم مکانیسم‌های دخیل در حافظه و

یادگیری و حافظه از جمله توانایی‌های بسیار مهم

یادگیری ذهن بسیاری از متخصصین علوم اعصاب را به خود مشغول داشته است. با وجود مطالعات زیادی که در این زمینه صورت گرفته است هنوز تمامی ابعاد آن به خوبی شناخته نشده است. سیستم‌های زیادی در ایجاد حافظه و یادگیری دخیل هستند. برای مثال، مطالعات زیادی نشان داده‌اند که داروهای تحریک‌کننده سیستم کولینرژیک اثرات مثبت روی حافظه داشته‌اند (۳-۱) در حالی که داروهای آنتی‌کولینرژیک، داروهای بیهوشی و... دارای اثرات منفی بر حافظه هستند (۴). به دلیل عوارض جانبی که این داروها بر بدن دارند؛ و وجود هزینه‌های درمانی بالای برخی از این داروها برای درمان بیماری‌های مربوط به سیستم اعصاب مرکزی و اختلالات یادگیری و حافظه، توجه بیشتری به استفاده از گیاهان دارویی معطوف شده است.

یکی از گیاهان دارویی که از نظر درمانی در طب سنتی بسیار مورد توجه می‌باشد گیاه بنگدانه است (۵). نام علمی این گیاه *Hyoscyamus niger* است که به خانواده Solanaceae تعلق دارد و به نام‌های دیگری از جمله Henbane یا Hog's-bean هم شناخته می‌شود (۶). گل‌های گیاه بنگدانه به رنگ زرد با رگه‌های ارغوانی است؛ و دارای بوی ناخوشایند و مزه تلخ است و از یک گیاه آن در حدود ۱۰۰۰۰ بذر تیره رنگ در هر کشت به دست می‌آید که مصارف زیادی در علوم پزشکی دارد (۷).

بنگدانه محتوی ترکیبات شیمیایی متعددی از جمله ترکیبات آلکالوئیدی از قبیل هیوسامین، آتروپین و اسکوپولامین است که بر سیستم اعصاب مرکزی مؤثر هستند (۵,۸,۹). ترکیبات غیر آلکالوئیدی زیادی مثل فلاونوئیدها، لیگنان‌ها و ویتانولیدها نیز از این گیاه استخراج شده است (۷,۱۰).

اثرات گوناگون درمانی گیاه بنگدانه به وسیله محققان مورد مطالعه قرار گرفته است که از جمله آنها می‌توان به اثرات ضد آسم، ضد التهابی، آرام‌بخش، ترمیم‌کننده سیستم اعصاب، تسکین ناراحتی‌های مرتبط با

ضعف اعصاب، اثر مخدري، ضد تشنجی، خواب‌آوری، ضد دردی، ضد میکروبی، ضد سرطان و ضد اسپاسم آن اشاره کرد (۱۱-۱۶). از آنجا که یکی از سیستم‌هایی که نقش مؤثری بر حافظه و یادگیری دارد سیستم کولینرژیک می‌باشد و بررسی‌های مختلف نشان می‌دهد که عصاره گیاه بنگدانه حاوی آلکالوئیدهای آتروپین، اسکوپولامین و هیوسین می‌باشد و این ترکیبات دارای اثرات آنتی کولینرژیک هستند (۵,۸,۹)، این احتمال وجود دارد که عصاره بنگدانه بتواند از این طریق بر حافظه و یادگیری تأثیر بگذارد. لذا با توجه به این اثرات و نیز اثرات مختلف گیاه بنگدانه بر روی سیستم اعصاب مرکزی از جمله مختل کردن قوه ادراک، توهم‌زایی و ایجاد حالات گیجی و هذیان (۶,۱۷) و با توجه به عدم بررسی اثر عصاره آبی الکلی این گیاه بر روی یادگیری و حافظه با استفاده از ماز آبی موریس در موش‌های سوری بالغ نژاد Balb/c، ما بر آن شدیم تا این مطالعه را بررسی و اجرا نماییم.

مواد و روش‌ها

این مطالعه تجربی، روی تعداد ۲۳ سر موش سوری نژاد Balb/c از هر دو جنس نر و ماده، در محدوده وزنی ۳۰ تا ۴۰ گرم و در محدوده سنی ۸-۶ هفته‌ای انجام شد. حیوانات از انستیتو پاستور خریداری و طبق اصول اخلاقی تحقیق با حیوانات در حیوانخانه دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد نگهداری و به‌طور تصادفی در ۳ گروه قرار گرفتند. حیوانات گروه اول (گروه کنترل، ۱۰ سر)، نرمال سالیین دریافت کردند و به حیوانات دو گروه دیگر به ترتیب دوزهای ۱ میلی‌گرم (۷ سر) و ۲ میلی‌گرم (۶ سر) به ازای هر کیلوگرم وزن بدن عصاره آبی-الکلی بنگدانه تزریق شد. همه گروه‌ها، نرمال سالیین و یا عصاره بنگدانه را به صورت داخل صفاقی و در حجم ۰/۲ میلی-لیتر دریافت کردند. تمامی آزمایشات در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد انجام گرفت. حیوانات در تمامی اوقات به جز یک ساعت قبل از

آزمایش آزادانه به آب و غذا دسترسی داشتند.

تهیه گیاه و عصاره گیری: بذر خشک شده گیاه بنگدانه از یک عطاری محلی در شهرکرد خریداری و پس از تأیید توسط کارشناس مربوطه در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی واقع در دانشکده پزشکی شهرکرد مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا ۲۰۰ گرم از پودر گیاه آسیاب شد و در مخلوط ۲ لیتری آب و الکل اتانول ۹۶ درصد (هر یک به میزان یک لیتر) به مدت حداقل ۴۸ ساعت خیسانده شد. سپس مخلوط حاصل به مدت ۶ ساعت در دستگاه سوکسیله قرار گرفت و بعد از آن دو بار از کاغذ صافی عبور داده و صاف شد. مقدار ۲۰۰ میلی لیتر از مواد حاصل در دستگاه روتاری و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. تا الکل آن خارج شود. مایع باقی مانده در ظروف پتری ریخته و به مدت ۵ دقیقه در ماکروفر ۳۰ درجه قرار داده به طوری که در پایان تنها یک لایه نازک مایع در کف هر ظرف دیده شود. در مرحله بعد ظروف در انکوباتور با دمای ۴۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد تا خشک شود و بعد عصاره خشک شده را تراشیده و وزن کرده و سرانجام به وسیله نرمال سالین دوزهای ۱ و ۲ میلی گرم در کیلوگرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن موش تهیه گردید (۱۳,۱۸). در این تحقیق از ۲۰۰ گرم بذر اولیه گیاه بنگدانه حدود ۴ گرم عصاره به دست آمد.

آزمایش یادگیری و حافظه فضایی: در ابتدا موش ها به مدت ۴ روز به محیط آزمایشگاه آورده و روی دست پژوهشگر قرار می گرفتند (روزی ۳ دقیقه) تا به محیط آزمایشگاه و پژوهشگر خو بگیرند. سپس به منظور تیمار اولیه، به موش ها در ساعتی معین و به مدت ۷ روز دوزهای تهیه شده از عصاره آبی الکلی بنگدانه و یا نرمال سالین به صورت داخل صفاقی تزریق می شد.

برای اندازه گیری یادگیری و حافظه کوتاه مدت از ماز آبی موریس (Morris water maze) استفاده شد (۱۹). ماز آبی، حوضچه ای به قطر ۱۱۲ سانتی متر و ارتفاع ۲۵ سانتی متر بود که در یکی از چارک های آن (چارک هدف)

سکو یا پایکی فلزی به قطر ۱۱/۵ و ارتفاع ۱۷/۵ سانتی - متر قرار داده شد (۲۰) و تا ارتفاع حدود یک سانتی متر بالاتر از سطح پایک (سکوی پنهان) با آب 1 ± 25 درجه سانتی گراد پر شد. محل ماز و سکوی فلزی تا پایان آزمایش ثابت بود و تنها در روز آزمایش پروب (Probe trial) سکو برداشته شد. جهت شناسایی بهتر محل سکوی پنهان توسط حیوان، از اتاقی نسبتاً تاریک استفاده شد که به دیوارهای آن علایم قابل رویتی با رنگ ها و شکل های مختلف نصب شده بود. برای بررسی اثر بنگدانه بر یادگیری، نیم ساعت پس از تزریق عصاره یا سالین، جلسات تمرینی انجام می شد که طی آن هر موش به مدت ۳۰ ثانیه روی سکو قرار می گرفت. سپس موش به طور تصادفی از یکی از محل های چهارگانه در اطراف حوضچه به داخل آب رها می شد و به حیوان ۶۰ ثانیه فرصت داده می شد تا سکوی پنهان را بیابد. اگر حیوان در کم تر از ۶۰ ثانیه موفق به پیدا کردن پایک می شد به حیوان اجازه داده می شد تا برای مدت ۳۰ ثانیه روی سکو بماند و در غیر این صورت توسط محقق به سوی سکو هدایت می شد. این کار برای هر موش ۲ بار پشت سر هم در هر روز و به مدت ۵ روز متوالی انجام می شد و تمامی آزمایش ها و زمان های مربوطه با استفاده از دوربین مدار بسته و کامپیوتر و با کمک نرم افزار Ethovision XT ثبت و محاسبه می گردید.

پس از اتمام دوره یادگیری، دو آزمایش پروب در روزهای ششم و دهم انجام گرفت. آزمایش پروب به منظور اجرای تست حافظه انجام می گیرد و در آن ابتدا هر موش به مدت ۳۰ ثانیه روی سکو قرار می گرفت و بعد از آن، سکو از درون حوضچه برداشته و حیوان از نقطه مقابل چارک هدف در ماز رها می شد. به هر موش ۶۰ ثانیه فرصت داده می شد که در آب شنا کند. مدت زمان شنا در هر یک از چارک های چهارگانه ثبت می گردید و سپس میانگین زمان های به دست آمده از گروه های مختلف با هم مقایسه می شد (۲۰). در صورتی که میانگین مدت

عصاره دارد که در آن زمان مورد نظر $60 \pm 0/0$ می باشد ($P < 0/05$). تفاوت معناداری در میانگین مدت زمان پیدا کردن سکوی پنهان بین گروه کنترل و گروه دریافت کننده دوز ۱ میلی گرم در کیلوگرم عصاره ($39/14 \pm 6/1$ ثانیه) مشاهده نشد ($P > 0/05$). همچنین بر اساس نتایج آزمایش یادگیری در روز چهارم، میانگین زمان یافتن سکوی پنهان در گروه کنترل به $31/65 \pm 3/6$ ثانیه رسید و این زمان برای گروه دریافت کننده دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم $50/08 \pm 6/3$ ثانیه به دست آمد که اختلاف معناداری را نشان می دهد ($P < 0/05$).

تفاوت معناداری بین گروه های مورد مطالعه از

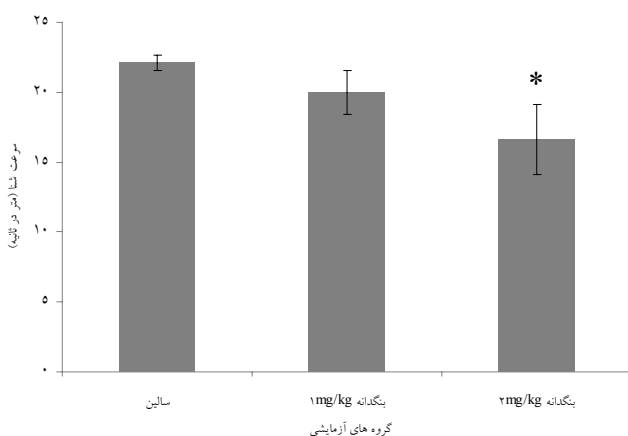
نظر میزان مسافت طی شده تا سکوی هدف مشاهده نشد ($P > 0/05$). میانگین سرعت شنا در گروه دریافت کننده دوز ۲ میلی گرم در کیلوگرم، به طور معنادار ($P < 0/05$) کم تر از گروه کنترل بود (نمودار ۲).

برای ارزیابی اثر عصاره هیدروالکلی بنگدانه روی حافظه کوتاه مدت، دو آزمایش پروب در روزهای ۶ و ۱۰ انجام شد. نتایج اولین آزمایش پروب نشان داد که در گروه کنترل، میانگین زمان شنا در چارک هدف ($20/52 \pm 1/84$ ثانیه) به طور معناداری بیش از میانگین

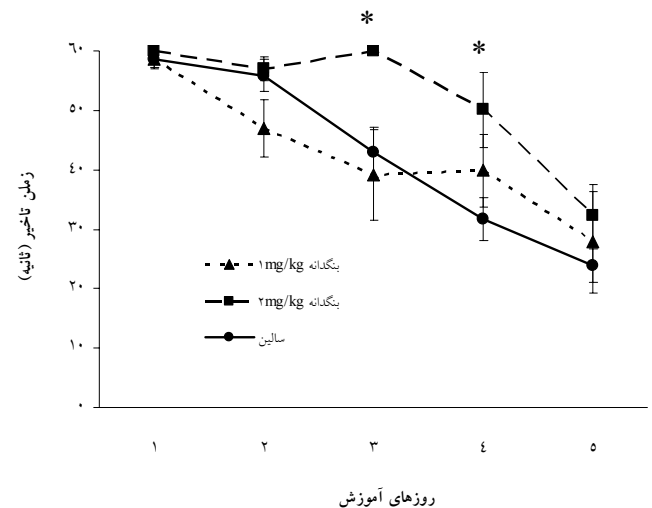
زمان شنا کردن در چارک هدف به طور معناداری بیش از مدت زمان شنا کردن در سایر چارک ها باشد به این معنی خواهد بود که موش محل اصلی پایک را به حافظه سپرده است و در غیر این صورت حافظه ای شکل نگرفته است. در پایان، داده ها ابتدا به وسیله آزمون آماری ANOVA یک طرفه و سپس به وسیله آزمون توکی و با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۱۱/۵ مورد تجزیه و تحلیل نهایی قرار گرفت. نتایج با $P < 0/05$ به عنوان معنادار در نظر گرفته شد.

یافته ها

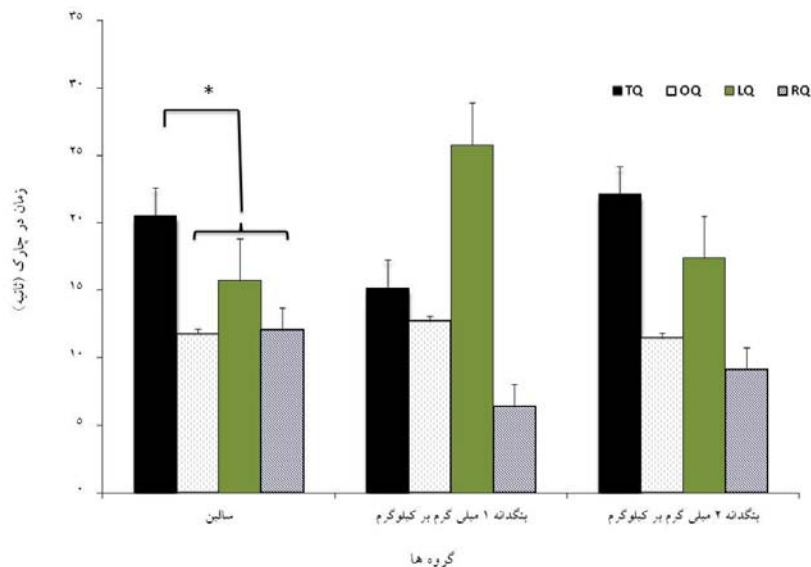
نتایج به دست آمده از مرحله یادگیری نشان داد که میزان یادگیری در حیوانات دریافت کننده دوز ۲ میلی گرم در کیلوگرم عصاره هیدروالکلی بنگدانه به طور معناداری کم تر از سایر گروه های مورد مطالعه بود ($P < 0/05$). همان طور که در نمودار شماره ۱ نیز مشخص می باشد، میانگین مدت زمان پیدا کردن سکوی پنهان برای گروه کنترل در روز سوم یادگیری $42/9 \pm 4/2$ ثانیه می باشد که از نظر آماری تفاوت معناداری با نتایج به دست آمده از گروه دریافت کننده دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم



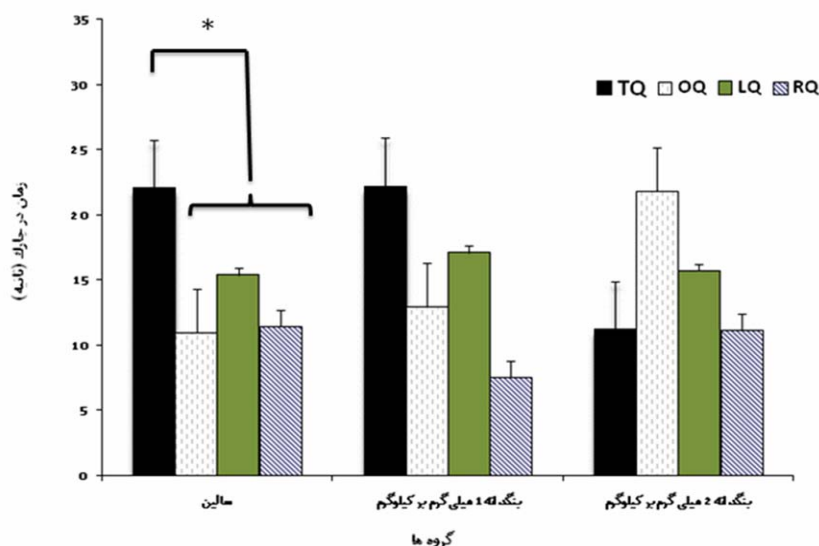
نمودار ۲: اثر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی بنگدانه (mg/kg) بر میانگین سرعت شنا کردن در ماز آبی موریس. * نشان دهنده $P < 0/05$ بین موش های دریافت کننده دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم بنگدانه و گروه دریافت کننده سالمین.



نمودار ۱: اثر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکلی بنگدانه (mg/kg) بر یادگیری فضایی در مدل ماز آبی موریس. محور افقی معرف روزهای اول تا پنجم دوره آموزش و یادگیری می باشد و محور عمودی نشان دهنده مدت زمان (ثانیه) طی شده توسط موش ها برای پیدا کردن سکوی پنهان است. * نشان دهنده $P < 0/05$ بین موش های گروه کنترل و گروه دریافت کننده دوز ۲ میلی گرم بر کیلوگرم بنگدانه.



نمودار ۳: اثر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکی بنگدانه (mg/kg) بر حافظه کوتاه مدت در آزمایش پروب اول (روز ششم) در مدل ماز آبی موریس. TQ: چارک هدف، OQ: چارک مقابل چارک هدف، LQ: چارک سمت چپ چارک هدف و RQ: چارک سمت راست چارک هدف. مقادیر بیانگر میانگین ± انحراف از معیار مدت زمان شنا در چارک های چهارگانه می باشد. * نشان دهنده $P < 0.05$ در گروه سالین بین چارک هدف و سایر چارک ها.



نمودار ۴: اثر دوزهای مختلف عصاره آبی-الکی بنگدانه (mg/kg) بر حافظه کوتاه مدت در آزمایش پروب دوم (روز دهم) در مدل ماز آبی موریس. TQ: چارک هدف، OQ: چارک مقابل چارک هدف، LQ: چارک سمت چپ چارک هدف و RQ: چارک سمت راست چارک هدف. مقادیر بیانگر میانگین ± انحراف از معیار مدت زمان شنا کردن در چارک های چهارگانه می باشد. * نشان دهنده $P < 0.05$ در گروه سالین بین چارک هدف و سایر چارک ها.

کنترل $22/16 \pm 2/32$ ثانیه به دست آمد که اختلاف معناداری با میانگین شنا در سایر چارک های گروه کنترل دارد که $12/63 \pm 1/96$ ثانیه می باشد ($P < 0.05$). به طور مشابه، اختلاف معناداری در گروه های دریافت کننده بنگدانه مشاهده نشد ($P > 0.05$). بنابراین، نتایج آزمایش پروب در روز ششم تأثیر منفی دوزهای ۱ و ۲ میلی گرم

سایر چارک ها ($13/18 \pm 2/0.2$ ثانیه) بوده است ($P < 0.05$). این در حالی است که اختلاف معناداری در گروه های دریافت کننده عصاره ۱ و ۲ میلی گرم در کیلوگرم بنگدانه مشاهده نشد ($P > 0.05$). مشابه این نتایج برای دومین آزمایش پروب در روز دهم به دست آمد، به این ترتیب که میانگین زمان شنا در چارک هدف در گروه

عصاره آبی الکلی بنگدانه بر حافظه کوتاه مدت را نشان داد؛ و تنها موش‌های گروه کنترل توانستند زمان بیشتری را در چارک هدف نسبت به سایر چارک‌ها طی کنند ($P < 0/05$) (نمودار ۳).

سرانجام نتایج آزمون ANOVA برای دومین آزمایش پروب (روز دهم) نشان داد که در هر دو گروه دریافت‌کننده عصاره بنگدانه هیچ تفاوت معناداری در زمان سپری شده در چارک هدف نسبت به سایر چارک‌ها وجود ندارد ($P > 0/05$) و تنها در گروه کنترل این تفاوت معنادار بود ($P < 0/05$) (نمودار ۴).

بحث

نتایج حاصل از مطالعه تجربی حاضر شواهدی را ارائه می‌کند که نشان می‌دهد تزریق داخل صفاقی عصاره آبی-الکلی بنگدانه، تهیه شده از بذر این گیاه، می‌تواند میزان یادگیری فضایی در ماز آبی موریس را در موش‌های سوری کاهش دهد. علاوه بر این، عصاره بنگدانه توانست حافظه کوتاه مدت را به طور معناداری کاهش دهد.

در مطالعات قبلی مشخص شده است که بنگدانه می‌تواند در برخی موارد اثرات مثبت درمانی از خود بروز دهد. از اثرات مثبت این گیاه می‌توان به اثرات ضد آسم، ضد التهابی، آرام‌بخشی، ترمیم‌کننده سیستم اعصاب، ضد میکروبی، ضد سرطان و ضد اسپاسم آن اشاره کرد (۱۵-۱۶). مطالعات اخیر نشان می‌دهد عصاره آبی-الکلی بنگدانه دارای اثرات ضد پارکینسونی است (۱۶). از طرف دیگر اثرات منفی بنگدانه نیز مشاهده شده است که برخی موارد آن مختل شدن قوه ادراک، توهم‌زایی و ایجاد حالات گیجی و هذیان است (۱۷، ۶).

بنگدانه محتوی ترکیبات شیمیایی متعددی از جمله ترکیبات آلکالوئیدی (از قبیل هیوسیامین، آتروپین و اسکوپولامین) و ترکیبات غیر آلکالوئیدی (مثل فلاونوئیدها، لیگنان‌ها و ویتانولیدها) است (۱۰، ۷).

آلکالوئیدهایی مثل آتروپین، هیوسیامین و اسکوپولامین می‌توانند سبب بروز اثرات دائمی روی مغز شوند. مشخص شده است که این ترکیبات از طریق فلج کردن پایانه‌های عصبی پاراسمپاتیک، اثرات ضد موسکارینی از خود بروز می‌دهند و سبب علائم آنتی کولینرژیک مثل توهم، اختلال در تفکر، اختلال در حافظه، گیجی، هذیان و آتاکسی می‌شود (۲۱، ۱۱).

یکی از مکانیسم‌های احتمالی برای کاهش میزان یادگیری و حافظه کوتاه مدت که در این تحقیق به دست آمد ممکن است ناشی از اثرات آنتی کولینرژیک بنگدانه باشد. نقش مثبت سیستم کولینرژیک در یادگیری و حافظه قبلاً به اثبات رسیده است (۲۴-۲۲). برای مثال مشخص شده است که تجویز جنینی کولین به موش‌های آزمایشگاهی می‌تواند حافظه فضایی را در آن‌ها در دوران پس از تولد افزایش دهد (۲۵). از آن‌جا که ترکیبات آلکالوئیدی در گیاه بنگدانه یافت شده است، به نظر می‌رسد عصاره آبی-الکلی بنگدانه توانسته است از طریق ترکیبات آلکالوئیدی خود سبب غیر فعال کردن سیستم کولینرژیک و در نتیجه کاهش یادگیری و حافظه کوتاه مدت در این تحقیق شود. نتایج تحقیق ما برخلاف تحقیق دیگری است که در آن از یک فورمولاسیون شامل چند گیاه دارویی از جمله بنگدانه استفاده شد و نشان داده شد که این فورمولاسیون چند گیاهی باعث بهبود یادگیری و حافظه می‌شود (۲۶). در این تحقیق با استفاده از ۱۱ گیاه دارویی که در هند به گیاهان افزایش‌دهنده تمرکز و حافظه معروف هستند معجونی تهیه شد و اثر این معجون بر حافظه و یادگیری بررسی شد. از جمله گیاهانی که در این معجون استفاده شد سنبل الطیب و ریشه گیاه بوزیدان بود. از آن‌جا که در این مطالعه از ۱۱ گیاه مختلف، از جمله بنگدانه استفاده شده است، نمی‌توان نتیجه گرفت که اثر مشاهده شده مربوط به گیاه بنگدانه بوده است. این احتمال نیز وجود دارد که اثر مثبت این معجون بر حافظه ناشی از اثر سنبل الطیب یا سایر گیاهان تشکیل دهنده

معجون بوده باشد. از طرفی در این مطالعه روش ارزیابی و تست حافظه استفاده از آزمون پرهیز غیر فعال (Passive avoidance) بوده است که متفاوت از روش استفاده از ماز آبی موریس می‌باشد که در تحقیق حاضر از آن استفاده شد.

در تحقیق حاضر، با اندازه‌گیری سرعت شنای موش‌ها در ماز آبی موریس، مشخص شد که موش‌های دریافت‌کننده دوز ۲ میلی‌گرم در کیلوگرم عصاره آبی-الکلی بنگدانه دارای میانگین سرعت شنای کم‌تری نسبت به گروه کنترل هستند. این نتایج موافق با نتایج مطالعه محمودی و همکاران است که نشان دادند تزریق پیش از تولد عصاره الکلی بنگدانه منجر به کاهش فعالیت‌های حرکتی و تعادلی در موش‌های نژاد Balb/c می‌شود (۱۸). در این مطالعه محمودی و همکاران نشان دادند عصاره گیاه بنگدانه با مداخله در سیستم کولینرژیک و کاهش فعالیت آن در دوران جنینی، تغییرات هیستولوژیکی را در نواحی مختلفی از مغز از جمله نواحی حرکتی سیستم عصبی، مانند منخچه ایجاد می‌کند و از این طریق سبب اختلالات حرکتی و تعادلی می‌شود. لذا این مکانیسم را می‌توان برای کاهش سرعت شنای موش‌های دریافت‌کننده عصاره بنگدانه در نظر گرفت. همچنین مطالعات اخیر نشان می‌دهد عصاره متانولی بنگدانه دارای خواص بلوک-

کنندگی کانال‌های کلسیمی است (۱۶,۲۷). بنابراین مکانیسم فرضی دیگر این است که عصاره آبی-الکلی بنگدانه با بستن کانال‌های کلسیمی مانع از ورود کلسیم کافی به داخل سلول‌های عضلانی شده و در نتیجه قدرت انقباضی عضلات را کاهش و نهایتاً منجر به کاهش سرعت شنا در این حیوانات می‌شود.

به‌طور خلاصه نتایج این تحقیق نشان می‌دهد تزریق داخل صفاقی عصاره آبی-الکلی بنگدانه سبب کاهش میزان یادگیری موش‌های سوری در ماز آبی موریس شده، سرعت شنا کردن را در آنها کاهش می‌دهد و نیز مانع از تشکیل حافظه کوتاه‌مدت می‌شود. لذا، توصیه می‌گردد در مصرف این گیاه احتیاط لازم رعایت گردد.

تشکر و قدردانی

این پژوهش در قالب طرح تحقیقاتی به شماره ۷۴۹ و با حمایت مالی معاونت محترم پژوهشی دانشگاه علوم پزشکی شهرکرد و در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی این دانشگاه انجام شد که بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر و قدردانی خود را از آنان اعلام می‌دارند.

References

1. Zangeneh FZ, Motammedi F, Bakhtiarian A. Role of cholinergic system on the construction of memory and its interaction with dopaminergic system. *Acta Medica Iranica*. 2006;44(3):172-180.
2. Beeri R, Andres C, Lev-Lehman E, Timberg R, Huberman T, Shani M, Soreq H. Transgenic expression of human acetylcholinesterase induces progressive cognitive deterioration in mice. *Curr Biol*. 1995;5(9):1063-71.
3. Bacciottini L, Passani MB, Mannaioni PF, Blandina P. Interactions between histaminergic and cholinergic systems in learning and memory. *Behav Brain Res*. 2001;124(2):183-94.
4. Pitsikas N, Boultaidakis A. Pre-training administration of anesthetic ketamine differentially affects rats' spatial and non-spatial recognition memory. *Neuropharmacology*. 2009;57(1):1-7.
5. Haas LF. *Hyoscyamus niger* (henbane). *J Neurol Neurosurg Psychiatr*. 1995;59(2):114.
6. Lee MR. *Solanacea III: henbane, hags and Hawley Harvey Crippen*. *J R Coll Physicians Edinb*. 2006;36(4):366-73.
7. Sajeli Begum A. Bioactive non-alkaloidal secondary metabolites of *Hyoscyamus niger* Linn. Seeds: A review. *Research journal of seed science*. 2010; 3(4): 210-217.

8. Nicol RA. Introduction to the pharmacology of the central nervous system (CNS). In: Katzung BG (editor). Basic and clinical pharmacology. 9th ed. New York, McGraw-Hill, pp.489-507.
9. Urkin J, Shalev H, Sofer S, Witztum A. Henbane (*Hyoscyamus reticulatus*) poisoning in children in the Negev. Harefuah. 1991;120(12):714-6. [Hebrew language]
10. Ma CY, Liu WK, Che CT. Lignanamides and nonalkaloidal components of *Hyoscyamus niger* seeds. J Nat Prod. 2002;65(2):206-9.
11. Li J, Shi J, YU XW, Sun JK, Men QM, Kang TG. Chemical and Pharmacological Researches on *Hyoscyamus niger*. Chin Herb Med (CHM). 2011;3(2): 117-126 .
12. Reza HM, Mohammad H, Golnaz E, Gholamreza S. Effect of methanolic extract of *Hyoscyamus niger* L. on the seizure induced by picrotoxin in mice. Pak J Pharm Sci. 2009;22(3):308-12.
13. Kiasalari Z, Khalili M, Khoshnevisan F. Evaluation of the effect of hydro-alcoholic extract of henbane seed on acute and chronic pain in male rats. Koomesh (JSUMS). 1386;4(8):239-245. [Persian language]
14. Chlabian F, Majd A, Mehrabian S, Falahian F. A study of growth inhibitory effect of alkaloids of two species of genus *hyoscyamus* on some kinds of microbes of skin. J Sci. (Islamic Azad Univ.) 2002;12(43):3371-3378.
15. Gilani AH, Khan AU, Raoof M, Ghayur MN, Siddiqui BS, Vohra W, Begum S. Gastrointestinal, selective airways and urinary bladder relaxant effects of *Hyoscyamus niger* are mediated through dual blockade of muscarinic receptors and Ca^{2+} channels. Fundam Clin Pharmacol. 2008;22(1):87-99.
16. Sengupta T, Vinayagam J, Nagashayana N, Gowda B, Jaisankar P, Mohanakumar KP. Antiparkinsonian effects of aqueous methanolic extract of *Hyoscyamus niger* seeds result from its monoamine oxidase inhibitory and hydroxyl radical scavenging potency. Neurochem Res. 2011;36(1):177-86.
17. Vidović D, Brečić P, Haid A, Jukić V. Intoxication with henbane. Lijec Vjesn. 2005 ;127(1-2):22-3. [Croatian language].
18. Mahmoodi, M, Parivar K, HaeriRohani A, Roustaeian A. Effect of prenatal administration (IP) of *hyoscyamus niger* alcohol extract on motor activity and balance control of Balb/C mice. Urmia Med. J. 2005;15(4):245-250.
19. Morris RGM. Developments of a water-maze procedure for studying spatial learning in the rat. J Neurosci Methods. 1984;11:47-60.
20. Davoodian D, Hojjati MR, Yousefi M, Moshtaghi A, Rahimian R, Rafieian M. The effect of hydro-alcoholic extract of dried *Ficus carica* on spatial learning and memory in mice. J Shahrekord Univ. Med. Sci. (JSKUMS). 2011;12(4); Suppl 1: 1-7.
21. Longo VG. Behavioral and electroencephalographic effects of atropine and related compounds. Pharmacol Rev. 1966; 18(2):965-996.
22. Fibiger HC. Cholinergic mechanisms in learning, memory and dementia: a review of recent evidence. Trends Neurosci. 1991;14(6):220-3.
23. Dashniani MG, Beseliia GV, Maglakelidze GA, Burdzhnandze MA, Chkhikvishvili NTs. Effects of the selective lesions of cholinergic septohippocampal neurons on different forms of memory and learning process. Georgian Med News. 2009;(166):81-5.
24. Wilson WL, Munn C, Ross RC, Harding JW, Wright JW. The role of the AT4 and cholinergic systems in the Nucleus Basalis Magnocellularis (NBM): effects on spatial memory. Brain Res. 2009;1272:25-31.
25. Cermak JM, Blusztajn JK, Meck WH, Williams CL, Fitzgerald CM, Rosene DL, Loy R. Prenatal availability of choline alters the development of acetylcholinesterase in the rat hippocampus. Dev Neurosci. 1999;21(2):94-104.
26. Shah JS, Goyal RK. Investigation of neuropsychopharmacological effects of a polyherbal formulation on the learning and memory process in rats. J Young Pharmacists. 2011;3:119-24.
27. Khan AU, Gilani AH. Cardiovascular inhibitory effects of *Hyoscyamus niger*. Methods Find Exp Clin Pharmacol. 2008;30(4):295-300.

The effect of hydro-alcoholic extract of *Hyoscyamus niger* seeds on learning and short-term memory in Balb/c Mice

Hojjati MR., Ph.D

Assistant Professor, Department of Physiology, Medicinal Plants Research Center, Medical School, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

Taji F., MSc

PhD Student of Developmental Biology, Kharazmi University, Tehran, Iran.

Rafieian M., Ph.D

Professor, Department of Pharmacology, Medicinal Plants Research Center, Medical School, Shahrekord University of Medical Sciences, Shahrekord, Iran.

Received:08/04/2012, Revised:02/05/2012, Accepted:07/05/2012

Corresponding author:

Dr. Mohammad Reza Hojjati,
Department of Physiology,
Medicinal Plants Research Center,
Medical School, Shahrekord
University of Medical Sciences,
Shahrekord, Iran.
E-mail: hojjatim@gmail.com

Abstract

Background: *Hyoscyamus niger* has many different therapeutic effects, such as anti-convulsive and sedative effects. In this study, we tried to evaluate the eventual effect of hydro-alcoholic extract of *Hyoscyamus niger* on spatial learning and memory in mice using Morris water maze task.

Materials and methods: In this study, 23 mice were randomly divided into one control group and two experimental groups. The control group received normal saline and the experimental groups received hydro-alcoholic extracts of *Hyoscyamus niger* (1 or 2 mg/kg, i.p.). At first, saline or extracts were injected daily (7 days) and then spatial learning was evaluated for 5 consecutive days. For evaluating short-term memory, two probe-trial experiments were performed. Finally, data were analyzed using one-way ANOVA, followed by Tukey's test.

Results: Results obtained from day 3 and day 4 of the learning period showed a significant reduction in learning the water maze task in the experimental group (2 mg/kg) compared with the control group ($p < 0.05$). In addition, probe-trial experiments demonstrated that *Hyoscyamus niger* (1 and 2 mg/kg) prevented formation of short-term memory, while control animals succeeded to make short-term memory.

Conclusion: Hydro-alcoholic extract of *Hyoscyamus niger* decreases the learning of the water maze task and also disturbs short-term memory. (*Quarterly Journal of Sabzevar University of Medical Sciences, Volume 19, Number 3, pp.258-266*).

Keywords: *Hyoscyamus Niger, Learning, Memory, Water Maze, Hydro-alcoholic Extract, Mice*