*Original Article*

# The effect of essential oil of *Salvia mirzayanii* on learning and memory in mice using the passive avoidance learning methods

**Khoshnoud MJ[1*], Moein MR[2], Rafati A[3], Memar-Kermani AH[4]**

1- Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I. R. Iran.
2- Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I. R. Iran.
3- Department of Physiology, Faculty of Medicine, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I. R. Iran.
4- Student Research Committee, Faculty of Pharmacy, International Branch, Shiraz University of Medical Sciences, Shiraz, I. R. Iran.

Received January 29, 2014; Accepted May 4, 2014

## Abstract:

**Background:** In traditional medicine, many herbal medicines like *lamiaceae* family are used as treatment for dementia**.** Lamiaceae family has many pharmacological effects including antioxidant, anti-cholinesterase, antimicrobial, anticancer, anti-inflammatory and enhancing cognition and memory. *Salvia mirzayanii* is one of the species of this family and has been used as an herbal medicine for many years. The purpose of this study was to examine the effect of essential oil of *S. mirzayanii* on learning and memory in mice using the two passive avoidance methods.

**Materials and Methods:** The aerial parts of the plant were dried in shade and essential oils were obtained using clevenger apparatus. The active components in the essential oils of the plant were also identified using the gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS). One-hundred and forty mice classified into different groups (n=10) were received certain doses of diazepam (0.5, 1 and 1.5 mg/kg) or the essential oil of *S. mirzayanii* (0.48, 0.96 and 1.92 mg/kg) by gavage tube. The step-down and step-through latencies were used to evaluate the learning and memory.

**Results:** *S. mirzayanii* essential oil significantly increased the step-down and step-through latency times in both methods ($P<0.01$).

**Conclusion:** Essential oil of *S. mirzayanii* can enhance learning and memory in mice and it has the potential of protection against Alzheimer and dementia.

**Keywords:** *Salvia mirzayanii*, Memory, Learning, Cholinesterase, Alzheimer

* **Corresponding Author.**
**Email:** khoshnoudm@sums.ac.ir
**Tel:** 098 917 318 0387
**Fax:** 098 711 242 4126

Conflict of Interests: ***No***

***Feyz, Journal of Kashan University of Medical Sciences October, 2014; Vol. 18, No 4, Pages 317-324***

***Please cite this article as:*** Khoshnoud MJ, Moein MR, Rafati A, Memar-Kermani AH. The effect of essential oil of *Salvia mirzayanii* on learning and memory in mice using the passive avoidance learning methods. ***Feyz*** 2014; 18(4): 317-24.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-11 ]

# بررسی اثرات اسانس گیاه مرو تلخ (*Salvia mirzayanii*) بر یادگیری و حافظه موش سوری در آزمون یادگیری اجتنابی غیر فعال

محمد جواد خشنود[1*]، محمود رضا معین[2]، علی رفعتی[3]، امیر حسام معمار کرمانی[4]

**خلاصه:**

**سابقه و هدف:** در طب سنتی گیاهان مختلفی از جمله گیاهان خانواده مریم‌گلی برای درمان فراموشی استفاده می‌شوند. گیاهان این خانواده دارای اثرات گوناگون فارماکولوژیکی از جمله آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌کولین استرازی، ضد میکروبی، ضد التهابی بوده و دارای خاصیت بهبود شناخت و حافظه می‌باشند. گیاه مرو تلخ یکی از گونه‌های مریم‌گلی است که از گذشته کاربردهای دارویی داشته است. هدف از این مطالعه بررسی اثرات غلظت‌های مختلف اسانس سرشاخه‌های گیاه مرو تلخ بر حافظه و یادگیری موش سوری در دو مدل فارماکولوژیکی می‌باشد.

**مواد و روش‌ها:** پس از تایید گونه گیاه سرشاخه‌ها در سایه خشک شده و به کمک دستگاه کلونجر اسانس‌گیری شدند. با استفاده از کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی، ترکیبات اسانس شناسایی گردید. صد و چهل راس موش سوری به‌صورت اتفاقی در گروه‌های ۱۰ تایی و قفس‌های جداگانه قرار داده شدند و دیازپام (۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم) یا اسانس (۰/۴۸، ۰/۹۶ و ۱/۹۲ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت تک دوز به حیوان خورانده شد و آزمون یادگیری و حافظه توسط دو مدل Step-down latency و Shuttle box avoidance انجام شد.

**نتایج:** اسانس مرو تلخ به‌طور معنی‌داری ($P<0/01$) باعث افزایش تاخیر زمانی در هر دو آزمون یادگیری و حافظه گردید.

**نتیجه‌گیری:** اسانس گیاه مرو تلخ توانست افزایش معنی‌داری در حافظه و یادگیری موش‌ها ایجاد کند و شاید بتواند در افزایش حافظه و جلوگیری از بروز آلزایمر در انسان موثر باشد.

**واژگان کلیدی:** مرو تلخ، حافظه، یادگیری، کولین استراز، آلزایمر

دو ماه‌نامه علمی- پژوهشی فیض، دوره هجدهم، شماره ۴، مهر و آبان ۱۳۹۳، صفحات ۳۲۴-۳۱۷

## مقدمه

آلزایمر عبارت است از یک بیماری پیش‌رونده همراه با تخریب سلول‌های مغزی که با درجات مختلفی از فراموشی، تا فراموشی کامل خود شخص بیمار، همراه بوده و طبیعتا با یک فراموشی ساده تفاوت دارد. مکانیسم ایجاد این بیماری دقیقا مشخص نشده، اما می‌دانیم که در این بیماری آنزیم استیل کولین ترانسفراز و نیز شاخص‌های فعالیت عصبی کولینرژیک به‌طرز چشم‌گیری کاهش می‌یابد. به‌طور کلی ۳ دیدگاه برای بهبود و درمان بیماری آلزایمر وجود دارد. دیدگاه اول جلوگیری از تشکیل پلاک‌های بتا-آمیلوئید است. دیدگاه دوم استفاده از مهار کننده‌های استیل کولین استراز و بوتریل کولین استراز می‌باشد. و دیدگاه آخر، جلوگیری از تخریب هرچه بیشتر سلول‌های نورونی می‌باشد [۱]. آلزایمر شایع‌ترین علت فراموشی محسوب می‌شود. فراموشی یک نشانگان بالینی است که با یک سلسله علایم و نشانه‌ها شامل اختلال حافظه، اختلال در تکلم، تغییرات روان شناختی و روان پزشکی و اختلال در فعالیت‌های روزمره زندگی تظاهر می‌کند. آنالیز محتوای نوروترانسمیترها در کورتکس مغز نشان می‌دهد که ۹۰-۶۰ درصد بیماران مبتلا به آلزایمر دچار نقص در محتوای استیل کولین می‌باشند که در اثر آتروفی شدن نورون‌های کولینرژیک ایجاد می‌شود [۲]. انسان‌ها همواره به طبیعت به‌عنوان منبع نامتنابهی از الهامات، جهت داشتن زندگی سالم‌تر توجه داشته‌اند. یکی از بخش‌های مهم موجود در طبیعت، گیاهان می‌باشند که به‌دلیل داشتن طیف وسیعی از خواص بیولوژیک همیشه به‌عنوان غذا و دارو مورد توجه بوده‌اند. در فرهنگ‌های گوناگون، طب جایگزین مانند استفاده از گیاهان دارویی برای درمان فراموشی دارای تنوع و گوناگونی زیادی است. سیستم طب سنتی در درمان فراموشی شامل مصرف گیاهان از خانواده‌های کاسنی و نعناعیان می‌باشد [۳]. گیاهان موجود در خانواده مریم‌گلی دارای اثرات گوناگون فارماکولوژیکی می‌باشند که از آن جمله می‌توان به خاصیت آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌کولین استرازی، ضد

[1] دانشیار، گروه فارماکولوژی- توکسیکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

[2] دانشیار، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

[3] دانشیار، گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شیراز

[4] دانشجوی داروسازی، کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشکده داروسازی، واحد بین الملل دانشگاه علوم پزشکی شیراز

* **نشانی نویسنده مسئول:**

شیراز، دانشگاه علوم پزشکی، دانشکده داروسازی، گروه فارماکولوژی-توکسیکولوژی

**تلفن:** ۰۹۱۷ ۳۱۸۰۳۸۷ **دورنویس:** ۰۷۱۱ ۲۴۲۴۱۲۶

**پست الکترونیک:** khoshnoudm@sums.ac.ir

**تاریخ دریافت:** ۹۲/۱۱/۹ **تاریخ پذیرش نهایی:** ۹۳/۲/۱۴



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-11 ]

میکروبی، ضد سرطان، ضد التهابی و بهبود قابلیت شناخت و حافظه اشاره کرد [۴]. گیاه مرو تلخ نیز یکی از گونه‌های مریم گلی است که از گذشته کاربردهای زیادی در تغذیه و درمان‌های دارویی داشته است. برای عصاره و اسانس تهیه شده از بخش‌های مختلف این جنس اثرات آنتی اکسیدانی [۵] و محافظ سیستم عصبی [۶] گزارش شده است. طی سال‌های اخیر مطالعات بسیاری جهت بررسی اثرات گیاهان مختلف بر حافظه و یادگیری صورت گرفته است. در یک مطالعه عصاره الکلی گیاه *Salvia officinalis* با دوز ۵۰ mg/kg به‌صورت درون صفاقی به موش تزریق شد و نتایج به‌دست آمده در این مطالعه نشان‌دهنده خواص بالقوه این گیاه در تقویت حافظه بود [۳]. گونه‌های مختلفی از خانواده مریم‌گلی نیز دارای اثر مهاری بر آنزیم استیل کولین استراز هستند و می‌توانند سطح استیل کولین را افزایش دهند [۷]. هم‌چنین، در بررسی‌های انجام گرفته در مغز بیماران فوت شده به‌علت آلزایمر، افزایش شدید رادیکال‌های آزاد در بخش پیشانی و گیجگاهی ملاحظه شده و شواهد جدید نشان‌دهنده نقش رادیکال‌های آزاد در بروز بیماری آلزایمر است [۸]. بنابراین، با توجه به خواص آنتی‌اکسیدانی و محافظ سیستم اعصاب گیاه مرو تلخ، این گونه می‌تواند در درمان بیماری آلزایمر نقش داشته باشد [۵]. داروهای مهارکننده کولین استراز (تاکرین، دونپزیل، ریواستیگمین، و گالانتامین) می‌توانند موجب تداخلات دارویی با تظاهرات متفاوت شوند و دارای عوارض متعددی از جمله تهوع، استفراغ، اسهال، کاهش وزن و سمیت کبدی می‌باشند [۲]. با توجه به مشکلات حاصل از تداخلات دارویی و عوارض جانبی داروهای مورد استفاده در درمان این بیماری و عدم وجود درمان موثر و کم‌عارضه برای بیماری مذکور، روی آوردن به یافتن داروهای جدید و موثر و با عوارض کمتر ناگزیر می‌نماید. هدف از انجام این مطالعه بررسی اثر اسانس گیاه مرو تلخ بر یادگیری و حافظه موش سوری می‌باشد.

## مواد و روش‌ها

### جمع‌آوری گیاه

سرشاخه‌های گیاه مرو تلخ قبل از گل‌دهی طی ماه‌های بهمن و اسفند از حوالی شهرستان لامرد استان فارس (ارتفاع ۵۰۰ متری از سطح دریا) جمع آوری شده و پس از شناسایی گیاه، نمونه‌ای از آن با شماره هرباریوم PM-503 در دانشکده داروسازی شیراز نگهداری شد. گیاه جمع‌آوری شده در سایه و دمای مناسب برای خشک شدن قرار گرفت. گیاه به شکل گسترده، در شرایط سایه و جریان هوا، بدون استفاده از حرارت خشک شد. بعد از خشک کردن گیاه، برگ‌های آن توسط آسیاب برقی به‌صورت پودر درآورده شد تا سطح تماس آن‌ها با حلال جهت استخراج هرچه بیشتر و سریع‌تر مواد موثره افزایش یابد. برای هربار اسانس‌گیری، بعد از آسیاب کردن گیاه، ۱۵۰ گرم از پودر آن را در بالن تقطیر ۲ لیتری وارد کرده و با اضافه نمودن یک لیتر آب مقطر، درون شوف بالن قرار داده و با دستگاه اسانس‌گیری کلونجر به‌روش تقطیر با آب، اسانس گیاه تهیه شد.

### کروماتوگرافی گازی- طیف سنجی جرمی (GC/ MS)

جهت جداسازی اسانس‌ها از دستگاه کروماتوگرافی گازی (GC) مجهز به ستون موئینه HP-5MS استفاده گردید. برنامه دمایی این دستگاه به این ترتیب بود که دمای آون ابتدا روی ۶۰ درجه سانتی‌گراد تنظیم شد، سپس با سرعت ۵ درجه بر دقیقه تا دمای ۲۵۰ درجه سانتی‌گراد افزوده شد و ۱۰ دقیقه در این دما قرار گرفت. گاز حامل مورد استفاده هلیم با سرعت 1mL/min بود. جهت شناسایی ترکیبات از طیف سنج جرمی با ولتاژ یونیزاسیون eV70 استفاده شد. محدوده وزنی m/z600-30 بود. تشخیص عمده ترکیبات اسانس‌ها بر اساس مقایسه RT و KI و طیف جرمی هر ترکیب با کتابخانه‌ی Willey (n17) و کتاب Adams ۲۰۰۴ صورت گرفت. شناسایی کیفی اجزا با محاسبه شاخص‌های بازداری آن‌ها با تزریق آلکان نرمال n- نرمال (C10-C21) تحت شرایط یکسان با تزریق اسانس صورت گرفت.

### حیوانات

هر بخش از آزمایش روی ۷۰ سر موش سوری (مجموعا ۱۴۰ سر) با وزن ۳۰ – ۲۵ گرم انجام گرفت. موش‌ها به‌جز در طول آزمایش، به غذای استاندارد و آب دسترسی داشتند. به‌منظور انجام مطالعه موش‌ها به‌صورت اتفاقی در قفس‌های جداگانه قرار داده شده و به‌مدت نیم ساعت به حال خود رها شدند تا به شرایط محیط آزمایش عادت کنند. برای هر دوز دارو از ۱۰ سر موش استفاده شد و هر حیوان تنها یک بار به‌کار گرفته شد. کلیه آزمایش‌ها در دانشکده داروسازی واحد بین الملل شیراز انجام گرفت.

### داروها

از روغن خوراکی بادام به‌عنوان حلال استفاده شد و محلول‌هایی از اسانس با غلظت‌های ۰/۴۸، ۰/۹۶ و ۱/۹۲ میلی گرم در ۱۰ میلی لیتر و دیازپام با غلظت‌های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی گرم در ۱۰ میلی لیتر تهیه شد. حجم تجویز به هر حیوان ۱۰ میلی لیتر

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-11 ]

از هر غلظت به ازای هر کیلوگرم وزن حیوان در نظر گرفته شد. حیوانات به‌صورت اتفاقی در گروه‌های مختلف قرار گرفتند. گروه‌ها به‌طور جداگانه و در قفس‌های مجزا نگهداری شدند.

آزمون‌های فارماکولوژی

آزمون Step-down:

در ابتدا حیوانات درون جعبه آزمون قرار داده شدند تا ۵ دقیقه به‌صورت آزادانه فعالیت داشته باشند. یک ساعت پس از این آشنایی، هر موش به آرامی بر روی سکوی چوبی قرار داده شد. هنگامی که موش از سکو پایین آمده و آخرین دست یا پای خود را پایین گذاشته و تمام پنجه‌های حیوان بر روی شبکه سیمی قرار گرفت شوک الکتریکی به‌مدت ۱۶ ثانیه اعمال شد؛ جریان الکتریکی وارد شده به سیم‌ها از طرف استیمولاتور مشخصات زیر را داشت: مربعی شکل با فرکانس ۰/۵ هرتز و طول مدت هر پالس ۰/۵ ثانیه. سپس حیوان برداشته شده و بر اساس این که در کدام گروه قرار داشت ترکیب مورد نظر (اسانس، دیازپام به‌عنوان کنترل مثبت و حامل) برمبنای دوزهای بیان شده در بالا به حیوان خورانده شد و حیوان به قفس برگردانده شد و ۲۴ ساعت بعدآزمون یادگیری انجام گرفت [۹]. ۲۴ ساعت پس از آموزش، هر موش مجددا روی سکوی چوبی قرار گرفت. با کرونومتر دستی زمان ماندن حیوان بر سکوی چوبی اندازه‌گیری شد. به محض پایین آمدن حیوان از سکو به شکلی که چهار دست و پا روی سیم‌های کف دستگاه قرار گرفت، زمان سنج متوقف و زمان ثبت شد. این زمان (Step-down latency) به‌عنوان میزان یادگیری موش می‌باشد. هرچه مدت آن بیشتر باشد به‌عنوان یادگیری بیشتر تلقی می‌شود. آزمایش حداکثر تا ۳۰۰ ثانیه ادامه داشت [۹].

آزمون رفتاری یادگیری اجتنابی غیر فعال (Passive Avoidance Learning Test)

ابزار مورد استفاده در این آزمون (دستگاه شاتل باکس) شامل یک جعبه‌ی مستطیلی شکل در ابعاد ۱۵ در ۵۰ سانتی‌متر مربع و ارتفاع ۴۰ سانتی‌متر با دیواره‌هایی از جنس پلکسی گلاس بود. این دستگاه هم‌چنین دارای یک پوشش فلزی الکتریکی در کف است. جعبه به‌وسیله یک دیوار به دو قسمت تقسیم شده و دارای یک در گیوتینی متحرک در ابعاد ۱۰ در۱۰ سانتی‌متر در میان جعبه است که به‌صورت دستی باز و بسته می‌شود. یک منبع شوک مقاومتی ثابت به همراه یک کلید خودکار هم به دستگاه وصل است. در این دستگاه یک سیستم خودکار برنامه ریزی شده برای ایجاد شرایط تحریک و غیر تحریک (برای شرطی کردن موش) طراحی شده است. کل دستگاه در یک اتاق تاریک که قابلیت حذف صداهای زمینه‌ای را دارد، قرار می‌گیرد. در ابتدا به حیوان اجازه داده می‌شود تا به‌مدت ۵ دقیقه درون دستگاه بگردد و جستجو کند، در حالی‌که در میانی باز است [۱۰]. جهت اجرای مرحله یادگیری، موش در حالی که پشتش به سمت در گیوتینی بود در داخل اتاق تاریک قرار گرفت، ۱۰ ثانیه بعد درب گیوتینی بالا کشیده شد؛ بعد از ورود موش به ناحیه تاریک در بسته شد و شوک الکتریکی با شدت ۰/۲ میلی‌آمپر به‌مدت ۲ ثانیه به کف پای حیوان اعمال گردید. پس از آن حیوان از اتاق تاریک خارج شده و بر اساس این‌که در کدام گروه قرار داشت ترکیب مورد نظر (اسانس، دیازپام یا حامل) بر مبنای دوزهای بیان شده در بالا به‌صورت خوراکی به حیوان گاواژ شد و حیوان به قفس برگردانده شد. به‌منظور ارزیابی حافظه، ۲۴ ساعت بعد از دریافت شوک الکتریکی حیوان دوباره در داخل اتاق روشن در حالی که دریچه بین دو اتاق باز است، قرار داده شد و تاخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک ثبت گردید. سقف زمانی در این مرحله ۳۰۰ ثانیه بود و طولانی‌تر بودن تاخیر زمانی برای اولین ورود به اتاق تاریک نشانه یادگیری و حافظه بهتر می‌باشد [۱۰].

بررسی آماری داده‌ها

در هر آزمون رفتاری، پس از به‌دست آوردن درصد اختلاف در هر گروه (قبل از تزریق و بعد از تزریق)، یافته‌ها توسط نرم افزار SPSS (Version 20) و آزمون آنالیز واریانس یک طرفه (One way ANOVA) و پس آزمون Dunnet مورد بررسی قرار گرفت و سطح معنی‌داری $P$ کوچک‌تر از ۰/۰۵ معنی‌دار در نظر گرفته شد.

## نتایج

در اسانس‌گیری از گیاه مرو تلخ از ۱۰۰ گرم پودر ابتدایی نهایتا یک گرم اسانس به‌دست آمد. راندمان این مرحله ۱ درصد وزنی-وزنی بود. نوع و میزان ترکیبات شناسایی شده موجود در اسانس گیاه مرو تلخ تهیه شده به‌روش تقطیر با آب به‌ترتیب خروج از ستون GC در جدول شماره ۱ قید شده است. ترکیبات شناسایی شده اسانس مرو تلخ ۹۱/۵ درصد بوده است که از این میزان ۲۸/۵ درصد را مونوترپن‌ها و ۶۱/۲ درصد ترکیبات را سسکوئی‌ترپن‌ها تشکیل می‌دهند. ترکیبات اصلی گیاه شامل Eudesm-7(11)-en-4-ol (۱۵/۱ درصد)، Cineolee ۱/۸ (۱۱/۳ درصد)، Spathulenol (۹/۷ درصد) و (۹/۵ درصد)-α-Terpinenyl بود (جدول شماره ۱).



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-11 ]

جدول شماره ۱- ترکیبات شناسایی شده از اسانس گیاه مرو تلخ تهیه شده به‌روش تقطیر با آب به‌ترتیب خروج از ستون GC

| ردیف | نام ترکیب | شاخص بازداری | درصد ترکیب (وزنی-وزنی) | دسته بندی نوع ماده |
|---|---|---|---|---|
| ۱ | Thujene | ۹۳۰ | ۰/۳۱ | Monoterpene |
| ۲ | α-Pinene | ۹۳۸ | ۰/۳۳ | Monoterpene |
| ۳ | Sabinene | ۹۷۶ | ۰/۲۶ | Monoterpene |
| ۴ | β-Pinene | ۹۸۰ | ۰/۶۰ | Monoterpene |
| ۵ | β-Myrecene | ۹۹۰ | ۰/۲۶ | Monoterpene |
| ۶ | Dehydro-1,8-cineolee | ۹۹۱ | ۰/۳۲ | Monoterpene |
| ۷ | α-Terpinene | ۱۰۱۸ | ۰/۱۰ | Monoterpene |
| ۸ | p-Cymene | ۱۰۲۷ | ۰/۷۰ | Monoterpene |
| ۹ | Limonene | ۱۰۳۱ | ۰/۳۱ | Monoterpene |
| ۱۰ | 1,8 Cineolee | ۱۰۳۵ | ۱۱/۳۳ | Monoterpene |
| ۱۱ | γ-Terpinene | ۱۰۶۲ | ۰/۱۶ | Monoterpene |
| ۱۲ | cis-Sabinene hydrate | ۱۰۷۰ | ۰/۱۰ | Monoterpene |
| ۱۳ | α-Terpiolene | ۱۰۸۸ | ۰/۲۰ | Monoterpene |
| ۱۴ | Linalool | ۱۱۰۰ | ۱/۶۰ | Monoterpene |
| ۱۵ | Trans-verbenol | ۱۱۵۰ | ۰/۱۰ | Monoterpene |
| ۱۶ | Nerol oxide | ۱۱۵۸ | ۰/۱۰ | Monoterpene |
| ۱۷ | Pinocarvone | ۱۱۶۸ | ۰/۰۵ | Monoterpene |
| ۱۸ | Terpin-4-ol | ۱۱۸۱ | ۰/۵۱ | Monoterpene |
| ۱۹ | α-Terpineol | ۱۱۹۳ | ۰/۲۲ | Monoterpene |
| ۲۰ | Trans-Carveol | ۱۲۲۲ | ۰/۲۰ | Monoterpene |
| ۲۱ | Linalyl acetate | ۱۲۵۹ | ۲/۵۴ | Monoterpene |
| ۲۲ | Decanol | ۱۲۷۳ | ۰/۴۱ | Monoterpene |
| ۲۳ | α-Terpinenyl acetate | ۱۳۵۵ | ۹/۵۰ | Monoterpene |
| ۲۴ | Neryl acetate | ۱۳۶۷ | ۰/۲۳ | Monoterpene |
| ۲۵ | α-Copaene | ۱۳۸۱ | ۰/۱۵ | Sesquiterpene |
| ۲۶ | β-Elemene | ۱۳۹۶ | ۱/۱۱ | Sesquiterpene |
| ۲۷ | α-Gurjuene | ۱۴۰۶ | ۱/۲۴ | Sesquiterpene |
| ۲۸ | δ-Selinene | ۱۴۲۵ | ۱/۵۰ | Sesquiterpene |
| ۲۹ | Calarene | ۱۴۳۵ | ۰/۰۶ | Sesquiterpene |
| ۳۰ | α-Guaiene | ۱۴۴۸ | ۲ | Sesquiterpene |
| ۳۱ | α-neo-Clovene | ۱۴۵۷ | ۰/۱۳ | Sesquiterpene |
| ۳۲ | α-Humulene | ۱۴۶۱ | ۰/۱۰ | Sesquiterpene |
| ۳۳ | Seychellene | ۱۴۶۴ | ۰/۶۱ | Sesquiterpene |
| ۳۴ | allo-Aromadendrene | ۱۴۶۸ | ۰/۱۰ | Sesquiterpene |
| ۳۵ | Dodecanol | ۱۴۷۵ | ۰/۱۷ | Sesquiterpene |
| ۳۶ | γ-Muurolene | ۱۴۸۰ | ۰/۸۰ | Sesquiterpene |
| ۳۷ | β-Selinene | ۱۴۹۲ | ۰/۹۰ | Sesquiterpene |
| ۳۸ | Bicyclo-Germacrene | ۱۵۰۳ | ۶/۲۵ | Sesquiterpene |
| ۳۹ | α-Bulnesene | ۱۵۱۲ | ۰/۳۰ | Sesquiterpene |
| ۴۰ | γ-Cadinene | ۱۵۲۰ | ۱/۵ | Sesquiterpene |
| ۴۱ | δ-Cadinene | ۱۵۳۰ | ۵/۷۲ | Sesquiterpene |
| ۴۲ | Cadina-1,4-diene | ۱۵۳۹ | ۰/۱۲ | Sesquiterpene |
| ۴۳ | Spathulenol | ۱۵۸۷ | ۹/۷۰ | Sesquiterpene |
| ۴۴ | Caryophyllene oxide | ۱۵۹۱ | ۰/۶۰ | Sesquiterpene |
| ۴۵ | Veridiflorol | ۱۵۹۸ | ۰/۵۲ | Sesquiterpene |
| ۴۶ | 1,10-di-epi –Cubenol | ۱۶۲۲ | ۰/۱۲ | Sesquiterpene |
| ۴۷ | 10-epi- Eudesmol | ۱۶۲۸ | ۰/۱۰ | Sesquiterpene |
| ۴۸ | 1-epi- Cubenol | ۱۶۳۵ | ۰/۴۰ | Sesquiterpene |
| ۴۹ | Muurolol | ۱۶۵۰ | ۳/۵۰ | Sesquiterpene |
| ۵۰ | β-Eudesmol | ۱۶۵۷ | ۱/۸۳ | Sesquiterpene |
| ۵۱ | α-Cadinol | ۱۶۶۳ | ۴/۴۰ | Sesquiterpene |
| ۵۲ | 1-tetra Decanol | ۱۶۷۹ | ۰/۳۴ | Sesquiterpene |
| ۵۳ | Eudesm-7(11)-en-4-ol | ۱۶۹۲ | ۱۵/۱۱ | Sesquiterpene |
| ۵۴ | 1-hexa Decanol | ۱۸۸۰ | ۰/۱۰ | Sesquiterpene |
| ۵۵ | epi-13Monyl oxide | ۲۰۱۰ | ۰/۵۳ | Sesquiterpene |

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-11 ]

مقایسه نتایج گروه‌های درمانی و کنترل در آزمون شاتل باکس در جدول شماره ۲ قید شده است. همان‌طور که مشاهده می‌شود دیازپام در دوزهای ۱ و ۱/۵ میلی‌گرم توانسته است به‌طور معنی‌داری باعث کاهش زمان اقامت حیوان در منطقه روشن شده ($P<۰/۰۵$) و اسانس در دوز ۱/۹۲ میلی گرم توانسته به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این زمان تاخیر شود ($P<۰/۰۱$). نتایج به‌دست آمده در گروه‌های درمانی و کنترل در دستگاه Step down در آزمون رفتاری یادگیری اجتنابی غیر فعال نیز (Passive (Avoidance learning test در جدول شماره ۲ آمده است.

همان‌طور که در جدول شماره ۲ مشاهده می‌شود، دیازپام در دوزهای ۱ ($P<۰/۰۵$) و ۱/۵ میلی گرم توانسته به‌طور معنی‌داری باعث کاهش زمان اقامت حیوان در منطقه روشن شده ($P<۰/۰۱$) و اسانس در دوز ۱/۹۲ میلی گرم توانسته به‌طور معنی‌داری باعث افزایش این زمان تاخیر شود ($P<۰/۰۱$).

جدول شماره ۲- مقایسه نتایج گروه‌های درمانی و کنترل در آزمون‌های رفتاری Shuttle box و Step down.

| گروه | آزمون Shuttle box | آزمون Step down |
|---|---|---|
| کنترل | ۱۵/۸۷±۲/۷۲ | ۴۶/۲۸±۸ |
| ۰/۵mg/kg دیازپام | ۱۳/۳۳±۱/۹۲ | - ۳/۴۵±۱۰/۱۰ |
| ۱ mg/kg دیازپام | -۳/۶۶±۲/۷۸* | -۱۷±۱۲/۲۵* |
| ۱/۵mg/kg دیازپام | -۳/۶±۳/۴۷* | -۱/۰۸۲±۸/۶۶ |
| ۰/۴۸mg/kg اسانس | ۱۴/۶۶±۱/۷۶ | ۴۳/۶۴±۱۴ |
| ۰/۹۶ mg/kg اسانس | ۳۱±۶/۳۷ | ۹۴/۶۹±۱۲/۹۱ |
| ۱/۹۲mg/kg اسانس | ۴۰/۲۸±۸/۹۰** | ۱۲۲/۶۶±۲۵/۴۲ ** |

مقادیر نشان‌دهنده اختلاف زمان تاخیر قبل و بعد از تزریق در هر گروه می‌باشد. تمام گروه‌ها با گروه کنترل مقایسه شده‌اند.

*: اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۵$)، **: اختلاف معنی‌دار ($P<۰/۰۱$)

## بحث

در این مطالعه اثرات اسانس گیاه مرو تلخ با غلظت‌های مختلف، بر حافظه و یادگیری موش سوری در دو مدل فارماکولوژیکی مورد بررسی قرار گرفت. مطالعات قبلی نشان می‌دهند که سایر گونه‌های مریم‌گلی هم‌چون *S. lavandulaefolia* [۱۱]، *S. triloba* [۱۲]، *S. fruticosa* [۱۳] و *S. leriifolia* [۱۴] دارای اثرات تقویت کننده سیستم کولینرژیک و افزایش دهنده حافظه و یادگیری می‌باشند. در یک مطالعه اثر آنتی‌کولین استرازی و آنتی‌اکسیدانی عصاره *Salvia tiliifolia* با داروی گالانتامین مقایسه شد و نتیجه حاصل از این مطالعه نشان داد که این گونه توانایی مهار کولین استراز را دارد و می‌تواند به‌عنوان جایگزینی برای داروهای مهار کننده کولین استراز مورد استفاده قرار گیرد [۱۵]. هم‌چنین، در مطالعه‌ای که بر روی اسانس *S. lavandulaefolia* صورت گرفت، اثرات فارماکولوژیک درمان فراموشی مشاهده گردید. در این مطالعه پس از ۶ هفته درمان با گیاه مذکور بهبود قابل توجهی در بیماران مبتلا به فراموشی مشاهده شد. در همین مطالعه عارضه جانبی خاصی گزارش نشده است، فقط افزایش ناچیز فشار خون پس از مصرف کپسول‌های حاوی اسانس گیاه قابل توجه بود [۱۱]. مطالعه دیگری بر روی گیاه *Panax ginseng* جهت بررسی اثرات ضد آلزایمری آن صورت گرفته است و نشان داده شده که یک دوز ۴۰۰ میلی‌گرم از عصاره این گیاه سبب افزایش کیفیت حافظه می‌گردد. در همین مطالعه به نقش کلیدی ترپنوییدها به‌عنوان ترکیباتی موثر در درمان بیماری آلزایمر اشاره شده است [۱۶]. در مطالعه حاضر از دو دستگاه Shuttle box و Step down برای بررسی حافظه و یادگیری موش‌ها استفاده شد. تفاوت برجسته‌ای که در مطالعه‌ی حاضر با سایر مطالعات مربوط به بررسی حافظه وجود داشت، استفاده از دو مدل فارماکولوژیک است. این در حالی است که در بیشتر مطالعات از یک مدل استفاده شده است. هم‌چنین، استفاده از غلظت‌های مختلف اسانس و دیازپام برای هر مدل فارماکولوژیک امکان بررسی و مقایسه بیشتر را فراهم می‌سازد. سه مرحله یادگیری و حافظه عبارتند از: یادگیری (Acquisition)، ذخیره اطلاعات (Storage) و یادآوری (Retrieval). در ابتدا، اطلاعات باید یاد گرفته شود، سپس این اطلاعات باید برای استفاده بعدی ذخیره شود و در نهایت، فرد باید بتواند اطلاعات ذخیره شده را به یاد آورد. اگر ترکیبی باعث اختلال در هر کدام از مراحل فوق شود، باعث می‌شود که نتوان اطلاعات را به یاد آورد. هر چند در ابتدا تصور می‌شد که بنزودیازپین‌ها بر مرحله Acquisition اثر می‌گذارند، ولی تحقیقات نشان داده است که هر سه مرحله می‌تواند توسط بنزودیازپین‌ها آسیب ببیند [۱۷]. مطالعات قبلی نشان داده

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-11 ]

است که دیازپام و لورازپام باعث اختلال در یادگیری می‌شوند و فلورازپام باعث اختلال در تثبیت و ذخیره اطلاعات می‌شود [۱۸]. پدیده LTP در هیپوکامپ، پایه و اساس الکتروفیزیولوژیکی یادگیری و حافظه است و دیازپام می‌تواند باعث کاهش LTP در منطقه CA1 هیپوکامپ شود [۱۹]. اسانس گیاه مرو تلخ با دوز ۱/۹۲ میلی گرم بر کیلوگرم توانست به‌طور موثر زمان پایین آمدن موش از روی سکو را به تاخیر بیاندازد. به بیان دیگر میزان حافظه و یادگیری موش‌ها در این گروه حدود دو برابر افزایش داشت. هم‌چنین، دیازپام با دوزهای ۱ و ۱/۵ میلی گرم بر کیلوگرم باعث کاهش زمان پایین آمدن موش از روی سکو شد (کاهش یادگیری و حافظه). برای ترکیب Spathulenol که یک ترپنیک الکل است خاصیت آنتی کولین استراز گزارش شده است [۲۰]. مطالعه‌ای که توسط Kennedy و همکاران بر روی *S. lavandulaefolia* انجام گرفته است حاکی از افزایش قابل توجه کیفیت حافظه می‌باشد. در این تحقیق مصرف خوراکی اسانس این گیاه باعث بهبود کارایی حافظه به‌خصوص ۱ ساعت بعد از انجام تست شده است. نتیجه این مطالعه نشان می‌دهد مصرف این گیاه سبب افزایش هوشیاری و بیداری مغز می‌شود [۲۱]. هم‌چنین، در یک مطالعه دیگر که بر روی *S. lavandulaefolia* صورت گرفته است اثرات آنتی‌اکسیدانی ترکیباتی هم‌چون linalool ,1,8-cineole و α-pinene به اثبات رسیده است [۱۱]. با توجه به بررسی‌های قبلی [۱۲،۲۰،۲۱] و مسجل بودن اثرات آنتی کولین استراز، آنتی‌اکسیدانی و افزایش دهنده حافظه ترکیباتی نظیر Spathulenol و 1,8-cineole و از آن‌جا که اسانس گیاه مرو تلخ دارای ۱۵/۱۰ درصد Eudesm-7(11)-en-4-ol و ۱۱/۳۳ درصد 1,8-cineole، ۹/۷۰ درصد Spathulenol، ۶/۲۵ درصد Bicyclo-germacrene و ۹/۵۰ درصد α-terpinenyl می‌باشد، اگر چه اثرات درمانی این گیاهان قابل انتظار است، اما نمی‌توان به قطع یقین این اثرات درمانی را صرفا محدود و مربوط به ماده‌ی خاصی دانست. نکته‌ی دیگر اینکه وجود مواد مختلف در کنار هم و اثر هم‌افزایی آنها را نمی‌توان نادیده گرفت، بنابراین عوامل گوناگونی در موثر بودن گیاه مرو تلخ در افزایش حافظه دخیل هستند. در انتها پیشنهاد می‌شود که از دیگر مدل‌های مورد استفاده برای آزمون‌های یادگیری و حافظه، نظیر ماز آبی موریس نیز استفاده شود. هم‌چنین، استفاده از دستگاه‌های Shuttle box و Step down مجهز به دوربین و زمان سنج خودکار میزان خطا را تا حد زیادی کاهش می‌دهد. به‌علاوه، پیشنهاد می‌شود در کنار اسانس از عصاره گیاه مرو تلخ نیز استفاده گردد. اسانس‌ها با روش‌های مختلف مانند کروماتوگرافی ستونی جهت شناسایی ترکیبات موثر، فراکسیونه، تفکیک و آنالیز شوند و هر فراکسیون جداگانه مورد بررسی قرار بگیرد. شناخت هر فراکسیون و جدا کردن ترکیبات آن به نوبه‌ی خود، اطلاعات جدیدی در مورد ترکیبات را به‌دست می‌دهد و دریچه‌ای تازه منتهی به ترکیبات دارای اثر آنتی کولین استراز را می‌گشاید.

## نتیجه‌گیری

این مطالعه نشان داد که اسانس مرو تلخ باعث افزایش حافظه و یادگیری در موش‌های سوری می‌شود و بررسی‌های بیشتر جهت درک مکانیسم این اثر ضروری است. هر چند این اثر را به راحتی نمی‌توان به انسان نیز تعمیم داد، ولی شاید در آینده بتواند به‌عنوان یک درمان کمکی در افزایش حافظه و جلوگیری از بروز آلزایمر در انسان مطرح باشد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله مستخرج از پایان‌نامه دکترای حرفه‌ای آقای امیرحسام معمار کرمانی با شماره ۱۵ در دانشکده داروسازی واحد بین الملل دانشگاه علوم پزشکی شیراز می‌باشد که هزینه آن از طرف معاونت محترم پژوهشی واحد بین الملل دانشگاه علوم پزشکی شیراز پرداخت شده است. بدین‌وسیله از آن معاونت تشکر می‌شود. هم‌چنین، از سرکار خانم مهندس کرمی به پاس همکاری در تعیین مقدار و شناسایی اجزاء اسانس به کمک دستگاه کروما-توگرافی گازی قدردانی می‌شود.

## References:

[1] Wong KK, Ho MT, Lin HQ, Lau KF, Rudd JA, Chung RC, et al. Cryptotanshinone, an acetylcholinesterase inhibitor from Salvia miltiorrhiza, ameliorates scopolamine-induced amnesia in Morris water maze task. ***Planta Med*** 2010; 76(3): 228-34.

[2] Alldredge BK, Koda-Kimble MA, Young LY, Kradjan WA, Guglielmo BJ. Applied therapeutics: the clinical use of drugs. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins; 2009.

[3] Eidi M, Eidi A, Bahar M. Effects of *Salvia officinalis* L.(sage) leaves on memory retention and its interaction with the cholinergic system in rats. ***Nutrition*** 2006; 22(3): 321-6.

[4] Kamatou GP, Makunga NP, Ramogola WP, Vilgoen AM. South African *Salvia* species: A review of biological activities and phytochemistry. ***J Ethnopharmacol*** 2008; 119(3): 664-72.



[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-11 ]

[5] Moein MR, Moein S, Ahmadizadeh S. Radical scavenging and reducing power of *Salvia mirzayanii* subfractions. ***Molecules*** 2008; 13(11): 2804-13.
[6] Asadi S, Khodagholi F, Esmaeili MA, Tusi SK, Ansari N, Shaerzadeh F, et al. Chemical composition analysis, antioxidant, antiglycating activities and neuroprotective effects of S. choloroleuca, *S. mirzayanii* and S. santolinifolia from Iran. ***Am J Chinese Med*** 2011; 39(3): 615-38.
[7] Kennedy DO, Pace S, Haskell C, Okello EJ, Milne A, Scholey AB. Effects of cholinesterase inhibiting sage (*Salvia officinalis*) on mood, anxiety and performance on a psychological stressor battery. ***Neuropsychopharmacol*** 2005; 31(4): 845-52.
[8] Sonnen JA, Larson EB, Gray SL, Wilson A, Kohama SG, Crane PK, et al. Free radical damage to cerebral cortex in Alzheimer's disease, microvascular brain injury, and smoking. ***Ann Neurol*** 2009; 65(2): 226-9.
[9] Vogel HG. Drug Discovery and Evaluation: Pharmacological Assays. Berlin: Springer; 2002.
[10] van der Stelt M, Mazzola C, Esposito G, Matias I, Petrosino S, De Filippis D, et al. Endocannabinoids and β-amyloid-induced neurotoxicity in vivo: effect of pharmacological elevation of endocannabinoid levels. ***Cell Mol Life Sci*** 2006; 63(12): 1410-24.
[11] Perry NS, Bollen C, Perry EK, Ballard C. Salvia for dementia therapy: review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. ***Pharmacol Biocheml Be*** 2003; 75(3): 651-9.
[12] Mahdy K, Shaker O, Wafay H, Nassar Y, Hassan H, Hussein A. Effect of some medicinal plant extracts on the oxidative stress status in Alzheimer's disease induced in rats. ***Eur Rev Med Pharmacol Sci*** 2012; 16(3 Suppl): 31-42.
[13] Savelev SU, Okello EJ, Perry EK. Butyryl and acetyl cholinesterase inhibitory activities in essential oils of Salvia species and their constituents. ***Phytother Res*** 2004; 18(4): 315-24.
[14] Loizzo MR, Tundis R, Conforti F, Menichini F, Bonesi M, Nadjafi F, et al. *Salvia leriifolia* Benth (Lamiaceae) extract demonstrates in vitro antioxidant properties and cholinesterase inhibitory activity. ***Nutr Res*** 2010; 30(12): 823-30.
[15] Adewusi E, Moodley N, Steenkamp V. Antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activity of selected southern African medicinal plants. ***S Afr J Bot*** 2011; 77(3): 638-44.
[16] Yoo KY, Park SY. Terpenoids as potential anti-Alzheimer's disease therapeutics. ***Molecules*** 2012; 17(3): 3524-38.
[17] Buffett J, Stewart SH. Cognitive and sedative effects of benzodiazepine Use. ***Curr Pharm Design*** 2002; 8(1): 45-58.
[18] Jensen RA, Martinez JL, Vasquez BJ, McGaugh JL. Benzodiazepines alter acquisition and retention of an inhibitory avoidance response in mice. ***Psychopharmacol*** 1979; 64(1): 125-6.
[19] Mori K, Togashi H, Kojima T, Matsumoto M, Ohashi S, Ueno Ki, et al. Different Effects of Anxiolytic Agents, Diazepam and 5-HT1A Agonist tandospirone, on hippocampal long-term potentiation in vivo. ***Pharmacol Biochem Behav*** 2001; 69(3-4): 367-72.
[20] Zhengwen Yu, Bochu W, Fumei Y, Qianyun S, Zhannan Y, Liancai Z. Chemical Composition and Anti-acetylcholinesterase Activity of flower essential oils of *artemisia annua* at different flowering stage. ***Iran J Pharm Res*** 2011; 10(2): 265-71.
[21] Kennedy DO, Dodd FL, Robertson BC, Okello EJ, Reay JL, Scholey AB, et al. Monoterpenoid extract of sage (*Salvia lavandulaefolia*) with cholinesterase inhibiting properties improves cognitive performance and mood in healthy adults. ***J Psychopharmacol*** 2011; 25(8): 1088-100.

[ Downloaded from feyz.kaums.ac.ir on 2026-11-11 ]