بررسی اثر عصاره ی آبی زرشک قرمز *(Berberis vulgaris)* بر یادگیری اجتنابی غیرفعال در موش های صحرایی نر آلزایمری شده توسط استرپتوزوتوسین

رامش احمدی[1*]، ندا ملکی[2]

۱. استادیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم ، ایران

۲. کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد قم، قم، ایران

* Email: ramahmd@yahoo.com

چکیده

سابقه و هدف: بیماری آلزایمر (Alzheimer's Disease)، یک بیماری مختل کننده مغزی پیش رونده و برگشت ناپذیر است و شایع ترین علت زوال عقل در کهنسالی محسوب می شود. تاکنون درمان های دارویی زیادی برای آلزایمر معرفی شده اند که علیرغم ایجاد تحول زیاد موفق نبوده اند؛ لذا در این تحقیق اثر عصاره ی آبی میوه ی زرشک قرمز *(Berberis vulgaris)* بر مرحله تثبیت حافظه ی موش های صحرایی نر نژاد ویستار آلزایمری شده توسط استرپتوزوتوسین (Streptozotocin) بررسی شد.

روش بررسی: به این منظور، تعداد ۳۰ سر موش صحرایی نرنژاد ویستار در ۵ گروه به طور تصادفی قرار گرفتند (n=6)؛ گروه Intact (دست نخورده)؛ گروه کنترل سالین (سالین را به صورت تزریق داخل صفاقی (Intraperitoneal) دریافت نمودند.)؛ گروه کنترل سالین+مایع مغزی نخاعی (Cerebral spinal fluid) (سالین را به صورت IP و CSF را به صورت تزریق داخل بطن مغزی (Intracerebroventricular) (یک طرفه، بطن راست) دریافت نمودند)؛ گروه سالین+STZ (سالین را به صورت IP و STZ را با دوز 1.5mg/Kg (جهت ایجاد مدل آلزایمری در روز اول و سوم پس از کانول گذاری) به صورت ICV دریافت نمودند)؛ گروه عصاره ی زرشک+STZ (عصاره ی زرشک با دوز 10mg/Kg را به صورتIP و STZ را به صورت ICV دریافت نمودند). تزریق به مدت ۴ روز، پس از آموزش یادگیری اجتنابی غیرفعال توسط دستگاه شاتل باکس صورت گرفت و روز پنجم، روز آزمون بود. داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و به روش one way ANOVA و T-test Student تجزیه و تحلیل شد.

یافته ها: در روز آزمون، تأخیر زمانی برای اولین ورود به اتاقک تاریک (Step Through Latency)، مدت زمان باقی ماندن در اتاقک تاریک (Total time in Dark Compartment) و مدت زمان باقی ماندن در اتاقک روشن (Total time in Light Compartment) به عنوان معیارهای یادگیری اجتنابی غیرفعال در نظر گرفته شد. عصاره آبی زرشک در حیوانات دریافت کننده ی STZ باعث افزایش معنی دار در STL (P<0.01) و TLC (p<0.05)، همچنین کاهش معنی دار در TDC (P<0.05) نسبت به گروه دریافت کننده ی سالین+STZ شد.

نتیجه گیری: این تحقیق نشان داد، دوز 10mg/Kg عصاره آبی زرشک سبب بهبود یادگیری در حیوانات آلزایمری (دریافت کننده STZ) شده است که احتمالاً به دلیل دارا بودن خاصیت آنتی اکسیدانی، ترکیبات فلاونوئیدی، ویتامینC و... در زرشک می باشد که سبب مهار برخی از عوامل ایجاد کننده آلزایمر می شود.

واژگان کلیدی: عصاره آبی زرشک، یادگیری اجتنابی غیرفعال، آلزایمر، استرپتوزوتوسین، موش صحرایی نر

مقدمه

بیماری آلزایمر (Alzheimer's Disease = AD)، شایع ترین اختلال عصبی پیش رونده ی مرتبط با سن است که به عنوان یک عامل ایجاد کننده ی زوال عقلی در سالخوردگی مورد توجه قرار می گیرد. زوال عقل با کاهش شدید توانایی های هوشی و شناختی، اختلال در حافظه، تفکر انتزاعی و تغییر شخصیت همراه است. دو عامل اصلی این بیماری شامل تشکیل پلاک های پیری متشکل از پپتید بتاآمیلوئید و کلافه های نوروفیبریلاری[1] متشکل از پروتئین های هیپرفسفریله tau می باشد. پپتید بتاآمیلوئید طی فرآیند پروتئولیتیک از پروتئین پیش ساز خود موسوم به پروتئین پیش ساز بتاآمیلوئید[2] ساخته می شود [1].

مکانیسم های سمیت بتاآمیلوئید شامل استرس اکسیداتیو، اختلال در اعمال میتوکندری، از بین رفتن سیناپس ها و تخریب گیرنده های نیکوتینی، آپوپتوز و واکنش های التهابی می باشد. استرس اکسیداتیو نقش بسیار مهمی در پیشبرد AD ایجاد می کند. تجمع بتاآمیلوئید در خارج سلول باعث تولید گونه های فعال اکسیژن[3] (ROS) می شود و این رادیکال ها با لیپیدها، پروتئین ها، DNA و RNA واکنش داده و باعث آسیب جدی به سلول می شوند [2,3]. عوامل آنتی اکسیدان می توانند با کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از پپتید بتاآمیلوئید از مرگ سلول عصبی جلوگیری نمایند [4,5].

در AD، نورون های کولینرژیک در ناحیه ی قاعده ی مغز جلویی[4] به تدریج از بین می روند که منجر به اختلال حافظه در این بیماران می شود [6]. نوروترانسمیتر استیل کولین برای شکل گیری و رشد حافظه و بازیابی آن لازم و ضروری است و سنتز آن به تجزیه ی گلوکز و وجود انسولین جهت کنترل فعالیت آنزیم استیل کولین ترانسفراز (آنزیم سازنده ی استیل کولین) نیاز

دارد [7]. کاهش میزان استیل کولین در نتیجه ی آزاد شدن بیش از اندازه ی استیل کولین استراز نیز می تواند عامل دیگری برای ایجاد اختلال در حافظه ی فضایی افراد آلزایمریک باشد [8]. به همین دلیل داروهایی که هم اکنون برای کنترل این بیماری استفاده می شوند، داروهای مهارکننده ی آنزیم کولین استراز هستند [9].

1- Neurofibrillary tangles
2- Amyloid Precursor Protein
3- Reactive Oxygen Species
4- Basal forebrain

این داروها باعث بهبود علایم بیماری می شوند ولی از پیشرفت بیماری جلوگیری نمی کنند. ترکیباتی که بتوانند از چند مسیر مانع سمیت بتاآمیلوئید شوند تأثیر بهتری در کنترل این بیماری می توانند داشته باشند [10]. گیاهان دارویی حاوی ترکیبات مختلفی هستند که می توانند با چند مکانیسم مختلف بیماری های پیچیده را کنترل نمایند. به همین دلیل در سال های اخیر توجه زیادی به استفاده از گیاهان دارویی برای درمان این بیماری شده است [11].

مشاهده شده است که در رت، تزریق ماده ی دیابتوژنیک استرپتوزوتوسین، که جهت القای دیابت تیپ یک در حیوانات آزمایشگاهی مورد استفاده قرار می گیرد [12]، به داخل بطن های مغزی، اثراتی مشابه با بیماری آلزایمر نوع تک گیر بر روی حافظه و یادگیری و همچنین بر فرآیندهای متابولیکی در مغز این حیوانات ایجاد می کند؛ بنابراین استرپتوزوتوسین داخل بطنی مدل مناسبی برای مطالعه ی بیماری آلزایمر می باشد [7,13].

گیاه زرشک به طور فراوانی در کوهستان های شمال شرق ایران و خراسان رویش دارد و در طب سنتی به صورت های مختلفی مورد استفاده مردم قرار می گیرد [14,15].

به دنبال تجزیه آزمایشگاهی گیاه زرشک، برخی از آلکالوئیدهای این گیاه شناسایی شده که شامل: بربرین، ژاتروریزین، اکسی اکانتین، برمامین و... است [15]. بربرین یکی از ترکیبات گیاه زرشک است که می تواند در پیشگیری از اختلالات عروق کرونر مؤثر بوده و احتمالاً می تواند سطح کلسترول توتال و تری گلیسیرید را کاهش دهد [16].

در بررسی های فیتوشیمیایی انجام شده، زرشک دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بوده است. از بخش های مختلف گیاه زرشک برای درمان بیماری هایی همچون اسهال، نارسایی کبدی، مالاریا، ناراحتی های معده و بیماری های مجاری ادراری استفاده می شود. میوه ی زرشک دارای ویتامین C و مالیک اسید است به طوری که در ۱۰۰ گرم عصاره ی میوه ی زرشک

1102.81µg ویتامین C، 116.03µg مالیک اسید و 20.51µg تانن وجود دارد [17]. همچنین بررسی های فیتوشیمیایی نشان داده است، ترکیبات این گیاه شامل آلکالوئیدها، ترکیبات فنلی و تری ترپنوئید است [18].

مواد و روش ها

در این مطالعه ی تجربی، موش های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده ی وزنی ۲۰۰-۲۵۰ گرم از انستیتو پاستور ایران خریداری شده و در شرایط آزمایشگاهی مناسب با درجه حرارت ۲۳±۲ سانتی گراد و سیکل نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند. آب و غذای کافی همواره در دسترس حیوانات قرار داشت. در این تحقیق از ۳۰ رت استفاده گردید. حیوانات در ۵ گروه ۶ تایی قرار گرفتند:

۱.گروه Intact یا دست نخورده که هیچ تزریقی بر روی آن انجام نگرفت.

۲.گروه کنترل سالین که سالین را به صورت IP دریافت نمودند.

۳.گروه کنترل سالین+CSF که سالین را به صورت IP و CSF را به صورت ICV (یک طرفه، بطن راست) دریافت نمودند.

۴.گروه سالین+STZ که سالین را به صورت IP و STZ را با دوز 1.5mg/Kg (جهت ایجاد مدل آلزایمری در روز اول و سوم پس از کانول گذاری) به صورت ICV دریافت نمودند.

۵.گروه عصاره ی زرشک+STZ که عصاره ی زرشک با دوز 10mg/Kg را به صورت IP و STZ را به صورت ICV دریافت نمودند.

حیوانات گروه ۳، ۴ و ۵ در روز عمل جراحی ابتدا به وسیله ی تزریق 0.4ml کتامین ۱۰٪ + 0.1ml زایلازین ۲٪ به صورت داخل صفاقی به نوبت بی هوش شدند. پس از تراشیده شدن موی سر حیوان حدفاصل بین گوش ها و چشم ها، سر حیوان در دستگاه استرئوتاکسیک قرار گرفت و کاملاً ثابت شد. مختصات بطن جانبی سمت راست با توجه به مختصات استخراج شده از اطلس جراحی پاکسینوس و واتسون (Anterio-Posterior=-0.8, Medio-Lateral=+1.6, Dorso-Ventral=-4.2) یافت [19]، علامت گذاری و جهت قرار دادن کانول راهنما سوراخ شد. پس از جراحی رت ها در قفس های انفرادی نگهداری شدند.

برای ایجاد مدل حیوانی بیماری آلزایمر، استرپتوزوتوسین (1.5mg به ازای هر کیلوگرم وزن بدن) به صورت تزریق داخل بطن مغزی در روز اول و سوم پس از جراحی به کار برده شد. برای انجام عمل ICV از سرنگ هامیلتون استفاده گردید؛ STZ در CSF حل شد و به آرامی طی ۳ دقیقه به درون بطن جانبی تزریق شد. سرنگ هامیلتون به مدت ۵ دقیقه پس از تزریق در محل باقی ماند تا از پس زدن محلول دارو پیشگیری شود.

یک هفته پس از انجام عمل جراحی، حیوانات به مدت ۴ روز تحت آموزش با دستگاه شاتل باکس[۵] قرار گرفتند، تزریق داخل صفاقی دارو بلافاصله پس از آموزش و خروج از دستگاه انجام پذیرفت (تثبیت[۶]) و در روز پنجم آزمون یادگیری اجتنابی غیرفعال[۷] گرفته شد. دستگاه شاتل باکس به شکل مکعب مستطیلی است که به دو قسمت یکسان (تاریک و روشن) تقسیم شده است. کف جعبه متشکل از میله های فلزی موازی با یکدیگر می باشد که در موقع آموزش اگر نیاز به شوک الکتریکی باشد از طریق همین میله ها اعمال می شود. جهت ارتباط میان دو قسمت جعبه پنجره ای کوچک تعبیه شده که در مواقع لزوم باز یا بسته می شود. این دستگاه دارای یک قسمت کنترل کننده می باشد که با تنظیم شدت[۸]، مدت[۹] و فرکانس[۱۰] میزان شوک الکتریکی لازم به پاهای حیوان اعمال می گردد.

به منظور تهیه ی عصاره ی آبی میوه ی زرشک، زرشک قرمز *Berberis vulgaris* از فروشگاه گیاهان دارویی در شهر قم تهیه گردید. زرشک پس از پاک شدن به میزان ۱۰۰ گرم توسط ترازو توزین و درون پارچه ی تمیزی ریخته شد. درون بالن حجمی به میزان ۱ لیتر آب ریخته شد و توسط دستگاه عصاره گیری (سوکسله) عصاره ی آبی زرشک گرفته شد.

داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS و به روش آنالیز واریانس یک طرفه ANOVA و تست T-Student بررسی گردیدند.

5- shuttle box

6- consolidation

7- passive avoidance learning test

8- Amplitude

9- Duration

10- Frequency

یافته ها

گروه آلزایمری دریافت کننده ی سالین، کاهش معنی داری را نسبت به گروه سالین+مایع مغزی نخاعی در میزان تأخیر ورود به اتاقک تاریک[11] (STL) نشان داد (**P<0.01)؛ همچنین در مقایسه ی گروه های آلزایمری، گروه دریافت کننده ی دوز 10mg/Kg عصاره آبی میوه زرشک، افزایش معنی داری را نسبت به گروه دریافت کننده ی STZ+Salin درمیزان STL (##P<0.01) نشان داد (نمودار ۱).

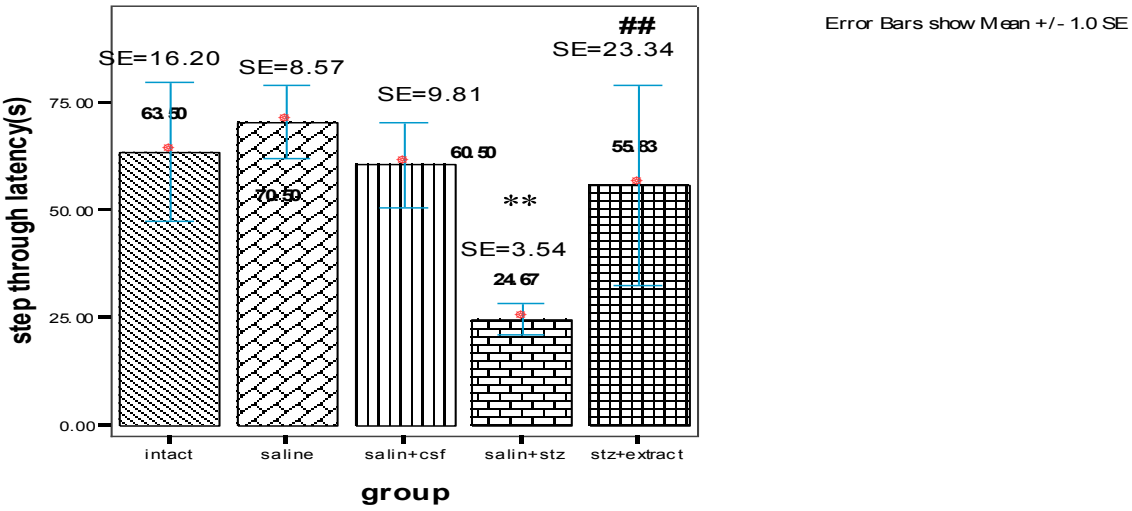
گروه سالین+استرپتوزوتوسین، افزایش معنی داری را نسبت به گروه سالین+ مایع مغزی نخاعی در مدت زمان سپری شده در اتاقک تاریک[12] (TDC) نشان داد (*P<0.05)؛ همچنین در مقایسه ی گروه های آلزایمری، گروه دریافت کننده ی دوز 10mg/Kg عصاره آبی میوه زرشک، کاهش معنی داری را نسبت به گروه دریافت کننده ی STZ+Salin درمیزان TDC (##P<0.05) نشان داد (نمودار ۲).

گروه سالین+استرپتوزوتوسین، کاهش معنی داری را نسبت به گروه سالین+ مایع مغزی نخاعی در مدت زمان سپری شده در اتاقک روشن[13] (TLC) نشان داد (*P<0.05)؛ همچنین در مقایسه ی گروه های آلزایمری، گروه دریافت کننده ی دوز 10mg/Kg عصاره آبی میوه زرشک، افزایش معنی داری را نسبت به گروه دریافت کننده STZ+Salin در میزان TLC (#P<0.05) نشان داد (نمودار ۳).

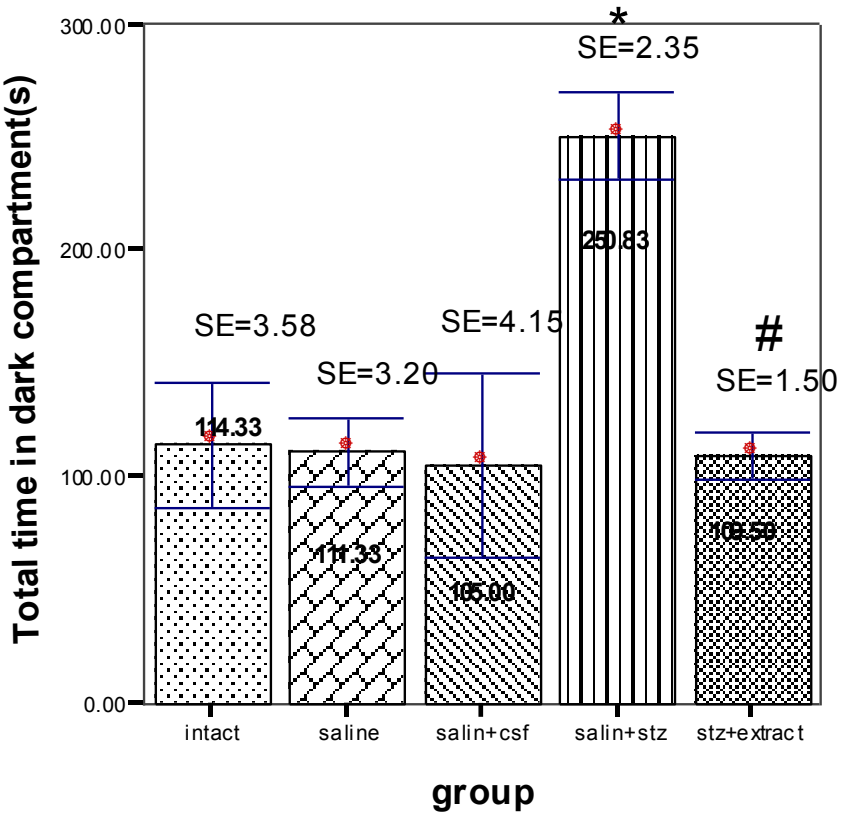
11- Step Through Latency

12- Total time in Dark Compartment

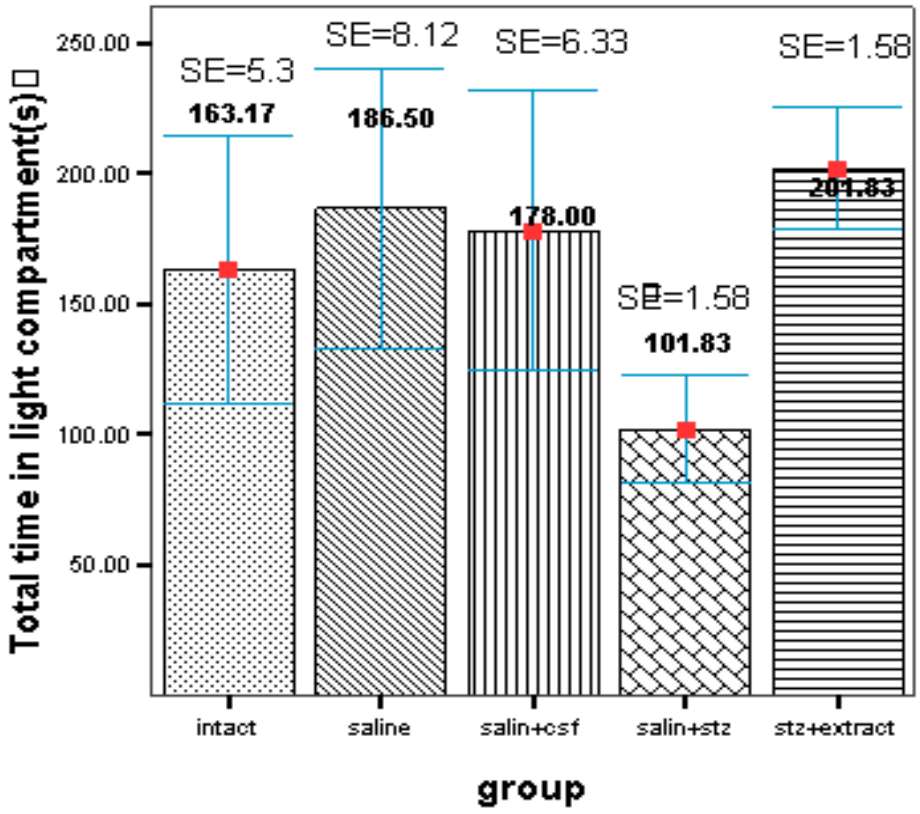
13- Total time in Light Compartment



نمودار ۱- مقایسه ی تأثیر تزریق داخل صفاقی دوز 10mg/Kg عصاره زرشک پس از ۴ روز متوالی بر مدت زمان تأخیر ورود به قسمت تاریک (STL) در یادگیری اجتنابی غیرفعال در رت های نر آلزایمری شده نسبت به گروه های کنترل



نمودار ۲- مقایسه ی تأثیر تزریق داخل صفاقی دوز 10mg/Kg عصاره زرشک پس از ۴ روز متوالی بر مدت زمان سپری شده در قسمت تاریک (TDC) در یادگیری اجتنابی غیرفعال در رت های نر آلزایمری شده نسبت به گروه های کنترل



نمودار ۳- مقایسه ی تأثیر تزریق داخل صفاقی دوز 10mg/Kg عصاره زرشک پس از ۴ روز متوالی بر مدت زمان سپری شده در قسمت روشن (TLC) در یادگیری اجتنابی غیرفعال در رت های نر آلزایمری شده نسبت به گروه های کنترل

بحث

داده ها نشان می دهند که یادگیری و حافظه در رت های نر نژاد ویستار با دریافت STZ به صورت ICV به طور معنی داری کاهش می یابد. رت های دریافت کننده ی STZ که به مدت ۴ روز عصاره ی زرشک را با دوز 10mg/Kg دریافت کردند، بهبودی معنی داری ($P<0.01$) در یادگیری و حافظه نشان دادند.

این تحقیق هماهنگ با مطالعات پیشین نشان داد تزریق STZ به داخل بطن های مغزی موجب اختلال شدید یادگیری و حافظه می گردد [20].

در خصوص اثرات سودمند مصرف خوراکی و دراز مدت زرشک قبلاً مشخص شده است که این گیاه جمع کننده ی رادیکال های آزاد، محافظ سلول در برابر آسیب های شیمیایی، کاهنده ی پراکسیداسیون لیپیدی و محافظ کبد در برابر انواع استرس ها است که علت اصلی آن سطوح بالای مواد آنتی اکسیدانی می باشد. به همین دلیل مصرف این گیاه اثرات حفاظتی بر بافت های بدن اعمال نموده و در جهت کاهش استرس اکسیداتیو عمل می کند [21,22]. آنزیم های آنتی اکسیدان به بهبود هوشیاری، حافظه و به طور کلی عملکرد مغز کمک می کنند. آن ها با مهار تشکیل رادیکال های آزاد و پراکسیداسیون لیپیدی از آسیب سلول های مغز جلوگیری می کند. ویتامین E، ویتامین C، بتا کاروتن نمونه هایی هستند که کمک می کنند تا پیری را به تأخیر بیندازند و عملکرد مغز را بهبود می بخشند [23]. میوه ی زرشک دارای فعالیت های گوناگون آنتی اکسیدانی به واسطه ی ترکیبات متفاوت آنتی اکسیدانی مانند بتاکاروتن، ویتامین C، بوتیلات هیدروکسیلاز تولوئن (BHT) و ترکیبات فنولی می باشد. فعالیت بالای آنتی اکسیدانی میوه ی زرشک ممکن است ناشی از ترکیبات فلاونوئید باشد [24].

در سال ۲۰۰۶، Feiqi Zhu و همکارش در آزمایشی نشان دادند بربرین ممکن است با اصلاح و رفع اختلال حافظه ی مکانی، بهبود بیان عوامل التهابی و رهاسازی پلاک های پیری به نفع بیماری آلزایمر باشد [25].

در یک مطالعه ی جدید انجام شده در دانشگاه شاندونگ در چین، محققان فعالیت های متعدد بربرین را که شامل خاصیت آنتی اکسیدانی آن، مهار استیل کولین استراز و بوتیریل کولین استراز، مهار مونوآمین اکسیداز، کاهش سطح پپتید بتا آمیلوئید و فعالیت های کاهندگی کلسترول را مورد بررسی قرار دادند [26]. به عبارت دیگر، بربرین کمک می کند تا از آسیب رسیدن به مولکول های زیستی در مغز جلوگیری شود، آنزیم های تجزیه کننده ی مولکول های مهم حافظه را مهار می کند، پپتیدهایی را که با عملکرد صحیح حافظه تداخل دارند را کاهش می دهد و باعث کاهش چربی هایی که جریان خونی مغز را

مختل می کنند، می شود. با این تفاسیر، این ظرفیت نشان می دهد که بربرین ممکن است به عنوان یک عامل امیدوار کننده برای مبارزه با بیماری آلزایمر عمل کند [27].

یک مطالعه ی اخیر نشان داده است که تجمع پپتید بتا آمیلوئید مشتق شده از پروتئین پیش ساز آمیلوئید (APP) رویدادی تحریکی برای ایجاد پاتولوژی بیماری آلزایمر است [28]. بنابراین، مهار تولید بتا آمیلوئید باید یک استراتژی درمانی منطقی در پیشگیری و درمان بیماری آلزایمر باشد. بر طبق مقاله ی Will Block، بربرین سطح بتا آمیلوئید را توسط تنظیم پردازش پروتئین پیش ساز آمیلوئید در سلول های نوروگلیوما(نوروگلیوما= توموری که از رشد بیش از حد نوروگلیا تشکیل شده است)ی انسانی، بدون سمیت سلولی، کاهش می دهد [27].

در سیستم عصبی مرکزی، آنزیم استیل کولین استراز در جایی که نقش اصلی اش کاتالیز هیدرولیز نوروترانسمیتر استیل کولین به کولین است، به وفور یافت می شود. بیماری آلزایمر با کمبود استیل کولین در مغز در ارتباط است. بر این اساس، به دلیل اینکه استیل کولین استراز عامل مهم پاتوژن بیماری آلزایمر است، اغلب مطالعات فارماکولوژیکی که بر روی عوامل مبارزه با بیماری آلزایمر بررسی می کنند، بر روی مهار کننده های استیل کولین استراز (مانند گالانتامین)، به منظور کاهش کمبود کولین و بهبود بخشیدن نوروترانسمیترها متمرکز شده اند. بسیاری از مطالعات درباره ی بربرین نشان می دهد که بربرین دارای اثرات مهاری در برابر استیل کولین استراز می باشد [27].

References

1- Blennow K, de Leon MJ, Zetterberg H. **Alzheimer's disease**, Lancet 2006; 29, 368: 387-403

2- Butterfield DA, Reed T, Newman SF, Sultana R. **Roles of amyloid beta-peptide-associated oxidative stress and brain protein modifications in the pathogenesis of Alzheimer's disease and mild cognitive impairment**, Free Radic Biol Med 2007; 43(5): 658-677

3- Miranda S, Opazo C, Larrondo LF, Munoz FJ, Ruiz F, Leighton F, et al. **The role of oxidative stress in the toxicity induced by amyloid beta-peptide in Alzheimer's disease**, Prog Neurobiol 2000; 62(6): 633-648

4- Alive G, Obrenovich ME, Reddy VP, Shenk JC, Moreira PI, Nunomura A, et al. **Antioxidant therapy in Alzheimer's disease: theory and practice**, Mini Rev Med Chem 2008; 8(13): 1395-1406

5- Ono K, Hamaguchi T, Naiki H, Yamada M. **Anti-amyloidogenic effects of antioxidants: implications for the prevention and therapeutics of Alzheimer's disease**, Biochim Biophys Acta 2006; 1762(6): 575-586

6- Schliebs R. **Basal forebrain cholinergic dysfunction in Alzheimer's disease interrelationship with beta-amyloid, inflammation and neurotrophin signaling**, Neurochem, Res 2005; 30: 895-908

7- Ishrat T, Khan MB, Hoda MN, Yousuf S, Ahmad M, Ansari MA, et al. **Coenzyme Q10 modulates cognitive impairment against intracerebroventricular injection of streptozotocin in rats**, Behavioural Brain Research 2006; 171(1): 9-16

8- Margita Dinamarca MA, Enrique T. **Release of acetylcholine esterase (AChE) from β-amyloid plaque assemblies improves the spatial memory impairment in APP-transgenic mice**, Chem Biol Interact 2008; 175: 142-149

9- Lane RM, Kivipelto M, Greig NH. **Acetylcholinesteras and its inhibition in Alzheimer disease**, Clin, Neuropharmacol 2004; 27: 141-149

10- Carreiras MC, Marco JL. **Recent approaches to novel anti-Alzheimer therapy**, Curr Pharm Des 2004; 10: 3167-3175

11- Anekonda TS, Reddy PH. **Can herbs provide a new generation of drugs for treating Alzheimer's disease?**, Brain Res Rev 2005; 50(2): 361-376

12- Reisi P, Babri S, Alaei H, Sharifi MR, Mohaddes G, Lashgari R. **Effects of treadmill running on short-term pre-synaptic plasticity at dentate gyrus of streptozotocin-induced diabetic rats**, Brain Res 2008; (1211): 30-36

13- Lannert H, Hoyer S. **Intracerebroventricular administration of Streptozotocin causes long-term diminutions in learning and memory abilities and in cerebral energy metabolism in adult rats**, Behav Neurosci 1998; 112(5): 1199-1208

14- Fatehi M, Saleh TM, Fatehi-Hassanabad Z, Farrokhfal K, Jafarzadeh M, Davodi S. **A pharmacological study on Berberis vulgaris fruit extract**, J Ethnopharmacol 2005; 31, 102: 46-52

15- Fatehi-Hassanabad Z, Jafarzadeh M, Tarhini A, Fatehi M. **The antihypertensive and vasodilator effects of aqueous extract from Berberis vulgaris fruit on hypertensive rats**, Phytother Res 2005; 19(3): 222-225

16- Kong W. **Berberine is a novel cholesterol lowering drug**, Nature Med 2004; 10: 1344-1351

17- Hanachi P, Golkho Sh. **Using HPLC to determination the composition and antioxidant activity of Berberis vulgaris**, Europ J Scientific Res 2009; 29: 47-54

18- Imanshahidi M, Hosseinzadeh H. **Pharmacological and therapeutic effects of Berberis vulgaris and its active constituent, berberine**, Phytother, Res 2008; 22: 999-1012

19- Paxinos G, Watson V. **The rat brain in stereotaxic coordinate**, Creaned, academic press limited, 2nd Ed, 2006

20- Ishrat T, et al. **Amelioration of cognitive deficits and neurodegeneration by cur cumin in rat model of sporadic dementia of Alzheimer's type (SDAT)**, Eur Neuropsychopharmacol 2009; 19(19): 636-647

21- Kumar S, Kumar D, Rakash O. **Evaluation of antioxidant potential, phenolic and flavonoid contents of hibiscus liliaceous flowers**, EJAF Che 2008; 7(4): 2863-2871

22- Zovko Koncic M, Kremer D, Karlovic K, Kosalec I. **Evaluation of antioxidant activities and phenolic content of Berberis vulgaris L. and Berberis croatica Horvat**, Food Chem Toxical 2010; 48(8-9): 2176-2180

23- Rao AV, Balachandran B. **Role of oxidative stress and antioxidant in neurodegenerative disease**, Nutr Neurosc 2002; 5(5): 291-309

24- Motalleb G, Hanachi P, et al. **Evaluation of phenolic content and total antioxidant activity in berberis vulgaris fruit extract**, Journal of Biological Sciences 2005; 5

25- Feiqi Zhu, Caiyun Qian. **Berberis chloride can ameliorate the spatial memory impairment and increase the expression of interleukin-1beta and inducible nitric oxide synthase in the rat model of Alzheimer's disease**, BMC Neuroscience 2006

26- Ji HF, Shen L. **Berberine: a potential multipotent natural product to combat Alzheimer's disease**, Molecules, 2011 Aug 9; 16(8): 6732-6740

27- Will Block. **Berberine is a Multipotent Anti-Alzheimer's Weapon**, October 2011 Magazine

28- Asai M, Iwata N, Yoshikawa A, Aizaki Y, Ishiura S, Saido TC, Maruyama K. **Berberine alters the processing of Alzheimer's amyloid precursor protein to decrease Abeta secretion**, Biochem Biophys Res Commun 2007 Jan 12; 352(2): 498-502.

ABSTRACT

Effect of *Berberis vulgaris* extract on Passive Avoidance learning and memory in rat model of streptozotocin-induced Alzheimer's disease

Background: Alzheimer's disease (AD) is a progressive and irreversible brain disturbing disorder and is the most common cause of dementia in the elderly. Since many drug treatments have been introduced for AD, despite the change many have failed; therefore in this research, effect of *Berberis vulgaris* fruit aqueous extract on memory consolidation stage in Wistar male rats with Streptozotocin (STZ)-induced AD was studied.

Methods: For this purpose, a total of 30 male rats were randomly divided into 5 groups (n=6); Intact groups; Saline control groups (received saline via intraperitoneal (IP) injection); Saline control+Cerebrospinal fluid (CSF) groups (received saline via IP route and received CSF via Intracerebroventricular (ICV) route (unilateral, right ventricle)); Saline+STZ groups (received saline via IProute and received STZ with a dose 1.5mg/Kg (to create Alzheimer model in the first and third days after canulation) via ICV route); *Berberis vulgaris* extract+STZ groups (received *Berberis vulgaris* extract with dose of 10mg/Kg via ip route and received STZ via ICV route). Injection for 4 days, was done After teaching passive avoidance learning by the shuttle box and On the fifth day, the day of the test. Data were analyzed using SPSS software and one way ANOVA and T-Student test method.

Results: on the test day, step through latency (STL), and total time in dark compartment (TDC) and total time in light compartment (TLC) Was considered as a measure of passive avoidance learning. The aqueous extract of barberry fruit in the rats receiving STZ was significantly increased in STL ($P<0.01$) and TLC ($P<0.05$), also significant decrease in TDC ($P<0.05$) Compared with groups receiving the saline+STZ.

Conclusions: This research showed, 10mg/kg doses of aqueous extract of *Berberis vulgaris* caused improvement of learning in animals with Alzheimer (recipient of STZ) which is probably due to antioxidant property, flavonoids, vitamin C and … in *Berberis vulgaris* that inhibit some of the factors causing of AD.

Keywords: The aqueous extract of *Berberis vulgaris*, passive avoidance learning, Alzheimer¸STZ ,Rat