

بررسی اثر مشتق جدید کورکومین روی مهار تشکیل تجمعات سمی و جلوگیری از تخریب یادگیری و حافظه فضایی موش صحرائی

حسن رامشینی^۱، عبدالله مهرآبادی^۱، علیرضا مسلم^{۲*}

^۱دانشگاه پیام نور، گروه علمی زیست شناسی، تهران، ص. پ ۶۶۹۷-۱۹۳۹۵-ح. ا. ایران
^۲استادیار گروه بیپوشی، مرکز تحقیقات سلامت سالمندان، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، سبزوار، ایران

*نشانی نویسنده مسؤل: سبزوار، دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، مرکز تحقیقات سالمندان، دکتر علیرضا مسلم
E-mail: alirezamoslem@gmail.com

وصول: ۱۳۹۴/۹/۲۱، اصلاح: ۱۳۹۴/۱۱/۲، پذیرش: ۱۳۹۴/۱۲/۱۳

چکیده

زمینه و هدف: تجمعات پروتئین آمیلوئید بتا (A β) که سازنده اصلی پلاک‌های سنیل می‌باشد یکی از عوامل مهم پاتولوژیکی است که منجر به بیماری آلزایمر می‌گردد. ترکیباتی که قادر به مهار تشکیل فیبرهای A β بشود و یا باعث کاهش سمیت ناشی از این فیبرها گردند ممکن است ارزش درمانی برای بیماری آلزایمر داشته باشند. در حالی که انتظار می‌رود کورکومین به‌عنوان یک دارو در درمان آلزایمر تجویز شود اما به‌علت پایداری پایین آن این امر میسر نشده است. در مطالعه حاضر اثر مهاری **2, 6-bis(3,4-dimethoxybenzylidene)-1- cyclohexanone** که یک مشتق جدید و پایدار از کورکومین است روی تجمع و سمیت لیزوزیم تخم مرغ (HEWL) و همچنین روی یادگیری و حافظه فضایی موش صحرائی بررسی شده است.

مواد و روش‌ها: تعداد ۳۰ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۸۰ گرم به ۵ گروه کنترل، دریافت‌کننده اسکوپولامین، دریافت‌کننده فیبرهای لیزوزیم، دریافت‌کننده فیبرهای لیزوزیم تشکیل شده در حضور کورکومین و یا مشتق کورکومین تقسیم شدند. تمام موش‌ها به کمک ماز آبی تحت آزمون یادگیری و حافظه فضایی قرار گرفتند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که گروه‌های دریافت‌کننده تجمعات لیزوزیم تشکیل شده در حضور کورکومین و یا مشتق آن سکوی پنهان را نسبت به گروه کنترل در زمان کمتر و با طی مسافت کمتری پیدا کردند. تزریق تجمعات آمیلوئیدی لیزوزیم به هیپوکامپ موش صحرائی باعث کاهش حافظه فضایی موش صحرائی شد. در حالی که در حضور کورکومین و مشتق آن تجمعات لیزوزیم تشکیل یافته، غیر سمی بوده و در اثر تزریق به موش صحرائی روی یادگیری و حافظه فضایی تأثیر ندارند.

نتیجه‌گیری: این مشاهدات پیشنهاد می‌کند که کورکومین و یا مشتق آن ممکن است با نفوذ در محل تولید پلاک آمیلوئیدی باعث مهار تشکیل فیبرهای آمیلوئیدی گردد. از طرفی این مطالعه اهمیت استفاده از پروتئین مدل را به‌عنوان یک ابزار قوی برای مطالعه بیماری آلزایمر نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: لیزوزیم تخم مرغ، مشتق کورکومین، آمیلوئید، حافظه فضایی، ماز آبی.

مقدمه

بیماری آلزایمر، عمومی‌ترین شکل دمانس است که به لحاظ بافت شناسی با تجمع رسوبات خارج سلولی آمیلوئید آبتا (βA) و رسوبات داخل سلولی پروتئین تاو (τ) در مغز همراه است (۱). مطالعات زیادی نشان داده‌اند که آبتا (βA) نقش اصلی را در بیماری‌زایی آلزایمر ایفا می‌کند (۲،۳). همچنین نشان داده شده که این پروتئین نقش مهمی در از بین رفتن ادراک، التهابات نورونی و مرگ سلولی که در بیماران آلزایمری مشاهده می‌شود ایفا می‌کند. علی‌رغم مطالعات گسترده‌ای که امروزه روی این بیماری صورت گرفته ولی متأسفانه درمان آن موفقیت‌آمیز نبوده است. گیاهان دارویی به دلیل اثرات درمانی مناسب، همراه با عوارض جانبی کمتر در کنترل و درمان بیماری‌ها از قرن‌ها پیش مورد استفاده پزشکی بوده‌اند.

نکته اصلی در درمان حافظه و یادگیری، لزوم درمان طولانی مدت است که زمینه‌ی بروز عوارض جانبی متعدد داروها شیمیایی را بیشتر فراهم می‌کند. از این رو توجه دوباره به طب سنتی و داروهای گیاهی با هدف دستیابی به داروهای کم‌خطر و با حداقل عوارض جانبی آشکارتر می‌شود (۴،۵). مطالعات نشان داده است که کورکومین (دارای ساختار پلی فنلیک) ماده مؤثره ادویه زرجوبه (*Curcuma longa*) دارای خواص متعدد درمانی از جمله اثر ضد ویروسی، ضد قارچی، ضد التهابی، ضد سرطانی (۶،۷) و همچنین دارای نقش مهمی در کاهش اثرات تخریبی آمیلوئیدهای $A\beta$ در *invitro* دارد (۸،۹). به‌علاوه اینکه کورکومین باعث مهار یا بهبود پروسه‌های پاتولوژیکی که به‌صورت وابسته به سن باعث تخریب یادگیری و ایجاد دمانس و تغییرات خلق و خو شده، می‌گردد (۸). نشان داده شده که کورکومین اثرات حفاظتی از سلول‌های نورونی در تعدادی از مدل‌های آلزایمری دارد و ممکن است این نقش را با جلوگیری از تخریب سیناپس‌ها انجام دهد (۱۱). Hoppe و همکاران

نشان داده‌اند که آمیلوئیدهای آبتا دارای اثرات تخریبی روی فعالیت سیناپس‌ها در قطعات هیپوکمپ در روی محیط کشت دارد و این اثرات بوسیله کورکومین خنثی می‌شود (۱۲).

گزارش‌ها نشان می‌دهد که مصرف خوراکی کورکومین باعث افزایش حافظه و یادگیری در موش‌های پیر می‌شود (۱۳،۱۴) و از طرفی این ماده نقش حفاظتی در مقابل استرس‌هایی که باعث تخریب ادراک شده و همچنین آسیب‌های مربوط به استرس‌های اکسیداتیو دارد (۱۵). اعمال بیولوژیکی متنوع و عدم سمیت کورکومین برای سلول‌ها آن را به‌عنوان یک ترکیب با ارزش و دارای پتانسیل درمانی به‌عنوان دارو معرفی می‌کند (۱۶). متأسفانه مطالعات نشان می‌دهد کورکومین در شرایط pH خون دارای پایداری لازم نیست و همچنین به‌دلیل داشتن گروه‌های هیدروکسی در ساختار آن توسط آنزیم‌های کبد و کلیه متابولیزه شده و از بدن دفع می‌گردد و در نتیجه از نظر غلظت در دسترس (*bioavailability*) را برای اثر بخش بودن در مغز را ندارد (۱۷،۱۸).

Chakraborti و همکارانش تعدادی از آنالوگ‌هایی کورکومین را طراحی کرده‌اند که بخش دی کتون آن با حلقه ایزوکسازول جایگزین شده و نشان داده‌اند که ترکیبات جدید دارای ساختار پایدار بوده و تا حدودی نقش کورکومین را نیز ایفا می‌کنند (۱۹). *Reinke* و همکاران تعداد زیادی از ترکیبات مشابه کورکومین را مورد آزمایش قرار داده‌اند و نشان داده‌اند که ترکیباتی که از لحاظ ساختاری یعنی حلقه‌های جانبی و طول رابط بین حلقه‌ها مشابه کورکومین است دارای اثرات بهتری است (۲۰). بر همین اساس ما نیز در مطالعه اخیر آنالوگ‌هایی از کورکومین را طراحی کردیم که ضمن اینکه ساختار پایه کورکومین حفظ شده اما با تغییر در جایگاه‌هایی که باعث ناپایداری آن می‌گردد موفق شدیم ترکیبات آنالوگ پایدار را پیشنهاد نماییم. از طرف دیگر فعالیت ضد آمیلوئیدی آنها را بررسی کرده و نشان دادیم که این ترکیبات پایدار

ویال اضافه می‌شد و چندین بار عمل سمپلینگ انجام شد. سپس از این ماده تحت عنوان آمیلوئید تشکیل شده در غیاب کورکومین و یا آنالوگ آن مورد استفاده قرار گرفت.

۲-۲- روش تهیه آمیلوئید لیزوزیم در حضور کورکومین و آنالوگ شماره ۳: کورکومین و آنالوگ آن با غلظت ۵۰ میلی مولار تهیه شد و مقدار مشخصی از این دو ترکیب به ویال‌های تهیه آمیلوئید (مطابق روش تهیه آمیلوئید) اضافه شد تا غلظت نهایی آنها به ۰/۸ میلی مولار برسد. مطالعات قبلی ما نشان می‌داد که این غلظت بیشترین اثر را دارد (۲۱). بعد از ۴۸ ساعت انکوباسیون قبل از تزریق، ویالها در دمای ۴ درجه سانتیگراد و به مدت ۱۵ دقیقه و با قدرت ۱۳۰۰۰ RPM سانتریفوژ شد. سپس محلول رویی (حاوی کورکومین یا آنالوگ کورکومین) دور ریخته شد و به همان حجم نرمال سالیین اضافه گردید و چند بار عمل سمپلینگ انجام شد. سپس از این ماده تحت عنوان آمیلوئید تشکیل شده در حضور کورکومین و یا آنالوگ آن مورد استفاده قرار گرفت (۲۱).

۲-۳-انجام تزریقات:

حیوانات پیش از عمل جراحی، با تزریق درون صفاقی کتامین $100 \frac{mg}{kg}$ و زایلزین $10 \frac{mg}{kg}$ بیهوش شدند. سپس موهای سر حیوان قیچی شد. پس از آن سر موش صحرایی در دستگاه استریوتاکس ثابت شد و پس از بتادینه نمودن سر، برشی طولی در حد فاصل چشمها و گوشها ایجاد گردید و سطح روی جمجمه با کمک پنبه الکلی تمیز شده و نقطه برگما مشخص گردید. سپس بر اساس اطلس پاکسینوس هیپوکامپ روی سطح جمجمه نسبت به برگما با مختصات $AP = -3/3 \text{ mm}$, $L = 2 \text{ mm}$ و $V = 3/3 \text{ mm}$ با کمک دستگاه استریوتاکس تنظیم و علامت‌گذاری شد. پس از سوراخ کردن محل علامت‌گذاری شده به کمک دریل دندانپزشکی، کانول گذاری توسط سر سرنگ شماره ۲۳ انجام شد و سپس

در محیط *in vitro* قادر به مهار تشکیل فیبرهای لیزوزیم شده و همچنین سمیت سلولی ناشی از این فیبرها را نیز کاهش می‌دهد (۲۱).

در مطالعه حاضر اثر یکی از موثرترین این آنالوگها را روی حافظه فضایی موش صحرایی با اثر کورکومین مقایسه می‌نماییم. مطالعات نشان داده است که اثرات نورولوژیکی آمیلوئیدهای پروتئینهای مدل از جمله لیزوزیم در اثر تزریق در مغز مشابه با الیگومرهای $A\beta$ است و می‌تواند باعث تخریب حافظه فضایی شود (۲۲) به همین دلیل در مطالعه حاضر از لیزوزیم سفیده تخم مرغ (HEWL) به عنوان یک پروتئین مدل استفاده شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه روی ۳۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار با وزن ۲۵۰-۲۸۰ گرم انجام شد که از مؤسسه تحقیقاتی پاستور تهران خریداری شد و پس از انتقال به حیوان‌خانه دانشگاه علوم پزشکی سبزوار، تعداد ۴ سر در هر قفس قرار گرفتند و اجازه داده شد تا با محیط جدید سازگار شوند و به سن و وزن مورد نظر برسند. اصول اخلاقی کار بر روی حیوانات بر اساس دستور کار کمیته اخلاقی دانشگاه علوم پزشکی (کد مجوز اخلاق: IR.MEDSAB.REC.1394.102) رعایت گردید.

۱-۲- روش تهیه آمیلوئید سفیده تخم مرغ: برای القای تشکیل آمیلوئید 2 mg/ml پروتئین لیزوزیم سفیده تخم مرغ (خریداری شده از شرکت سیگما) در بافر گلايسین با $\text{pH} = 2/5$ به مدت ۴۸ ساعت همراه با همزدن مداوم در دمای ۵۷ درجه سانتیگراد قرار گرفت (۲۱). سپس ویال حاوی ماده فوق در دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۲۵ دقیقه و با ۱۳۰۰۰ RPM سانتریفوژ شد؛ سپس محلول رویی به آرامی توسط سمپلر (گیلسون، فرانسه) برداشته شد به طوری که هرگز سر سمپلر به دیواره ویال برخورد نمی‌کرد. پس از آن به مقدار محلول رویی برداشته شده نرمال سالیین به ویال اضافه شد به طوری که از کناره‌های

۵- گروه دریافت‌کننده تجمعات آمیلوئیدی تشکیل شده در حضور آنالوگ کورکومین که در روش کار شماره ۳-۲ توضیح داده شد. (به اختصار گروه آنالوگ کورکومین می‌گوییم)

گروه‌های سوم، چهارم و پنجم، بیست روز پس از انجام تزریقات مورد ارزیابی مطالعه رفتاری قرار گرفتند (۲۴).

۴-۲- بررسی سمیت فیبرهای آمیلوئیدی و تاثیر آن بر حافظه فضایی موش صحرایی توسط آزمون رفتاری ماز آبی موريس

به منظور بررسی میزان حافظه فضایی حیوانات، ماز آبی موريس مورد استفاده قرار می‌گیرد. این وسیله از جمله وسایل و روش‌های مورد استفاده برای بررسی یادگیری و حافظه فضایی در جوندگان است. ماز آبی یک مخزن آب استوانه‌ای سیاه رنگ به قطر ۱۵۲ سانتیمتر و ارتفاع ۶۰ سانتیمتر تشکیل شده است که تا ارتفاع ۳۲/۵ سانتیمتری از آب پر می‌شود. دمای آب هم دمای اتاق آزمایشگاه و برابر با 21 ± 2 درجه سانتیگراد است. یک سکوی قابل تغییر به ارتفاع ۳۰ و قطر ۱۰ سانتیمتر و به رنگ سیاه در مرکز یکی از ربع‌های مخزن قرار گرفته است که ۲ سانتیمتر زیر آب قرار دارد. در طول آزمایش حرکات حیوان توسط دوربین ویدئویی که درست در بالای ماز قرار دارد، از طریق نرم‌افزار ردیاب ثبت می‌شود. این نرم‌افزار قادر به اندازه‌گیری مسافت طی شده توسط حیوان و نیز مدت زمانی که حیوان در هر قسمت از ماز و ربع هدف به سر می‌برد است. کل آزمایش شامل چهار روز آموزش (مرحله یادگیری یا آموزش) و یک روز آزمون (مرحله بازخوانی یا پروب) بود. در مرحله اول هر چهار روز آموزش شامل چهار بار رها کردن حیوان در ماز آبی است برای انجام این کار ماز به چهار قسمت مساوی تقسیم می‌شود و موش ۴ بار و هر بار از یکی از سمت‌های چهارگانه‌ی شمال، جنوب، مغرب‌مشرق که توسط برنامه ردیاب‌اعلام می‌شود در مخزن رها می‌شود. در طی این آزمایش ۶۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شود تا حیوان

به وسیله محلول غلیظ سیمان دندانپزشکی کانول راهنمای تزریق در جایگاه خود فیکس شد. جهت جلوگیری از عفونت‌های بعدی محل جراحی با آنتی-بیوتیک پنی‌سلین آغشته شده و در انتها بخیه زده شد و سپس حیوان برای گذراندن دوره هفت روزه بهبودی به حیوان خانه منتقل شد. هفت روز پس از جراحی تزریقات هر حیوان انجام شد. تزریق مواد مورد نظر در همه گروه‌ها به مقدار ۱ میکرولیتر با کمک سرنگ همیلتون توسط پمپ میکرواینجکشن از طریق کانول راهنما به صورت داخل هیپوکامپی طی پنج دقیقه انجام شد. گروه‌بندی حیوانات به شرح ذیل انجام شد.

۱- گروه کنترل نیم ساعت قبل از انجام آزمون رفتاری ماز آبی یک میکرولیتر نرمال سالین تزریق شد.

۲- گروه دریافت‌کننده اسکوپولامین که از این به بعد به اختصار گروه اسکوپولامین نامیده می‌شود: اسکوپولامین یک آنتاگونیست گیرنده‌های موسکارینی است که باعث اختلال موقت در حافظه فضایی شده و مدلی شبیه بیماری آلزایمر ایجاد می‌کند. ابتدا $3 \mu\text{g}/\text{rat}$ ماده اسکوپولامین هیدروبروماید (خریداری شده از شرکت سیگما) در یک میکرولیتر نرمال سالین ۰/۹ درصد حل شده و به صورت داخل هیپوکامپی و هر روز نیم ساعت قبل از انجام آزمون رفتاری ماز آبی تزریق انجام می‌شد. به دلیل اینکه اثر اسکوپولامین روی تخریب حافظه موقتی است و بعد چند ساعت از بین می‌رود بنابراین در هر روز آموزش نیم ساعت قبل تزریق انجام می‌گیرد (۲۳).

۳- گروه دریافت‌کننده تجمعات آمیلوئیدی لیزوزیم تهیه شده در غیاب کورکومین و یا آنالوگ آن که در روش کار شماره ۲-۲ توضیح داده شد. (به این گروه به اختصار گروه آمیلوئید می‌گوییم).

۴- گروه دریافت‌کننده تجمعات آمیلوئیدی تشکیل شده در حضور عصاره کورکومین که در روش کار شماره ۳-۲ توضیح داده شد.

مرغ

مطالعات قبلی پژوهشگران این مقاله نشان داد که سه آنالوگ ساخته شده برای کورکومین (جدول شماره ۱) ضمن اینکه پایداری لازم در pH طبیعی بدن (۷/۴) را دارند مشابه کورکومین دارای خاصیت ضد آمیلوئیدی نیز هستند (۲۱). از طرف دیگر ساختار آنالوگ شماره ۳ فاقد گروه‌های هیدروکسی می‌باشد لذا در اثر مصرف خوراکی توسط آنزیم‌های کبدی و کلیوی بی‌اثر نمی‌گردد. در پژوهش حاضر اثر آمیلوئیدهای تشکیل شده در حضور کورکومین و آنالوگ شماره ۳ (پایدار و بدون گروه هیدروکسی) روی حافظه فضایی موش صحرایی مورد بررسی قرار گرفت.

در این مطالعه بر اساس دستورالعمل ارائه شده در بخش روش‌ها HEWL تبدیل به فیبر آمیلوئیدی گردید و وجود این ساختارها بعد از ۴۸ ساعت با استفاده از مارکرهایی مثل تیوفلاوین T، قرمز کنگو و عکس میکروسکوپ نیروی اتمی تأیید شد (داده‌ها ارائه نشده است) و نشان داده شد که فیبرهای تشکیل شده در حضور کورکومین و آنالوگ آن به‌طور معنی‌داری ($p < 0/05$) سمیت سلولی کمتری نسبت به آمیلوئیدهای تشکیل شده در عدم حضور آنها دارند (۱۹). هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر تجمعات تشکیل شده در حضور کورکومین و آنالوگ شماره ۳ بر روی حافظه فضایی موش صحرایی است. جهت سنجش اثر تجمعات تشکیل شده در حضور و یا غیاب ترکیبات مورد مطالعه روی یادگیری، از ماز آبی موریس بر اساس توضیحات ارائه شده در بخش روش‌ها استفاده گردید.

۲-۳- نتایج روزهای آموزش

زمان شنا کردن: جهت سنجش یادگیری، در طول مراحل آزمایش، فاکتور زمان سپری شده برای یافتن سکوی پنهان در ۴ روز تست رفتار ماز آبی موریس مورد سنجش قرار گرفت. آنالیز واریانس دو طرفه داده‌های زمان رسیدن به سکو (روز × گروه) نشان‌دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین

بتواند به‌طور اتفاقی سکوی مخفی را بیابد و روی آن قرار گیرد بعد از یافتن به موش به مدت ۲۰ ثانیه زمان داده می‌شود تا با دیدن علائم موجود در اطراف موقعیت خود را شناسایی کند، این عمل به حیوان کمک می‌کند تا در جلسات بعدی با استفاده از علائم جایگاه را پیدا نماید. بعد از ۲۰ ثانیه موش دوباره از جهت دیگر در استخر رها می‌شود. اما اگر در مدت ۶۰ ثانیه حیوان قادر به پیدا کردن سکو نباشد به آرامی به طرف سکو راهنمایی می‌شود. پس از پیدا کردن سکو به او اجازه داده می‌شود تا ۲۰ ثانیه بر روی سکو قرار گیرد و بعد از ۲۰ ثانیه دوباره از جهت دیگر در استخر رها می‌شود. بعد از ۴ بار موش از استخر خارج شده و به آرامی توسط حوله خشک شده و به قفس برگردانده می‌شود. در روز پنجم آزمون پروب انجام می‌شود؛ بدین ترتیب که سکو را از داخل استخر خارج کرده و هر کدام از حیوانات یک بار از نقطه مشخصی که توسط نرم‌افزار ردیاب اعلام می‌گردد، به داخل استخر گذاشته می‌شود. در مدت ۶۰ ثانیه حضور حیوان در استخر، کل مسافت طی شده، تعداد دفعات ورود به ربع هدف و مدت زمانی که حیوان در ربع هدف از استخر (که سکو در آن قرار داشت) شنا می‌کرد، اندازه‌گیری می‌شود (۲۴).

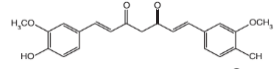
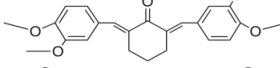
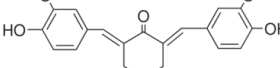
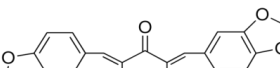
۵-۲- آزمون و روش آماری

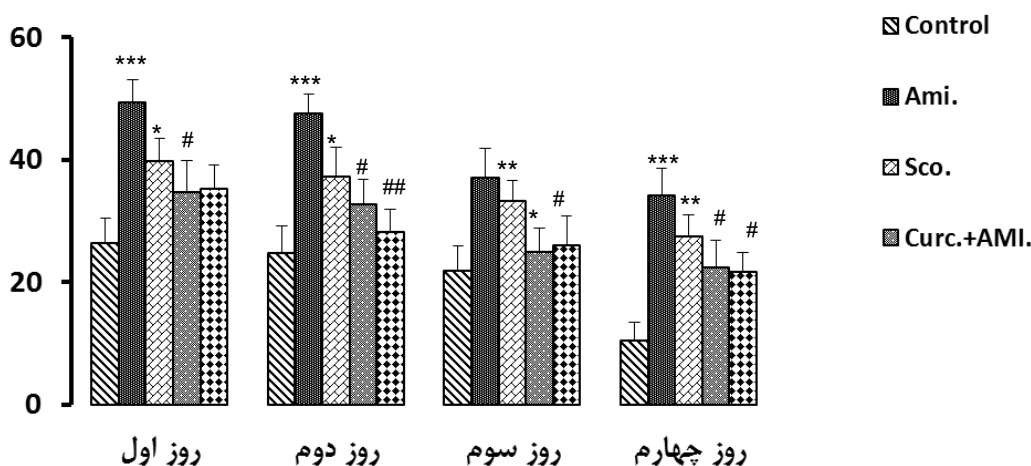
داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS و با آزمون آماری ANOVA - MANOVA و به تناسب نوع آزمایشات از آنالیز واریانس یک طرفه (آزمون به خاطرآوری حافظه فضایی) و با آنالیز واریانس دوطرفه (روزهای آموزش) و در صورت معنی‌داری بودن آزمون، جهت تأیید سطح معنی‌داری از آزمون تکمیلی LSD استفاده شد. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد و با ($p < 0/05$) به‌عنوان شاخص معنی‌داری در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

۱-۳- القای تجمع آمیلوئیدی در لیزوزیم سفیده تخم

جدول ۱: نام و ساختار شیمیایی کورکومین و آنالوگ‌های ساختاری آن

طول رابط	ساختار شیمیایی	نام شیمیایی	ترکیب
۱۱/۹۲		curcumin	
۸/۸۴		2,6Bis(3,4-methylenedioxybenzylidene) 1- cyclohexanone	۱ آنالوگ
۸/۸۴		2, 6-divanillylidene cyclohexanone	۲ آنالوگ
۸/۸۴		2,6 Bis (3,4-dimethoxybenzylidene)- 1- cyclohexanone	۳ آنالوگ



نمودار ۱: مدت زمان طی شده در ماز آبی موریس جهت یافتن سکوی پنهان توسط موش‌های گروه‌های مختلف در دوره آموزش. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. با توجه به نتایج آزمون آماری روند یادگیری بین گروه‌ها اختلاف معنی داری داشت. *** نشان‌دهنده $P < 0.001$ ، ** نشان‌دهنده $P < 0.01$ و * نشان‌دهنده $P < 0.05$ نسبت به کنترل و ### نشان‌دهنده $P < 0.001$ ، ## نشان‌دهنده $P < 0.01$ در مقایسه با گروه‌های آسیب. مقادیر بر حسب میانگین \pm خطای استاندارد نمایش داده شده اند.

روز چهارم نسبت به روز اول کاهش معنی دار داشتند. در مقایسه بین گروهی مشخص شد ضمن این‌که گروه‌های اسکوپولامین و لیزوزیم در هر چهار روز آموزشی نسبت به یکدیگر تفاوت معنی دار نداشتند، گروه اسکوپولامین در روزهای اول، دوم، سوم با $(p < 0.05)$ و روز چهارم با $(p = 0.003)$ و گروه لیزوزیم در روزهای اول، دوم، چهارم با $(p = 0.000)$ و روز سوم با $(p = 0.008)$ نسبت به گروه کنترل افزایش معنی دار نشان داد. گروه کورکومین در هر چهار روز آموزشی با $(p < 0.05)$ و آنالوگ آن در روزهای اول و چهارم با $(p < 0.05)$ و روز دوم با $(p < 0.01)$ ،

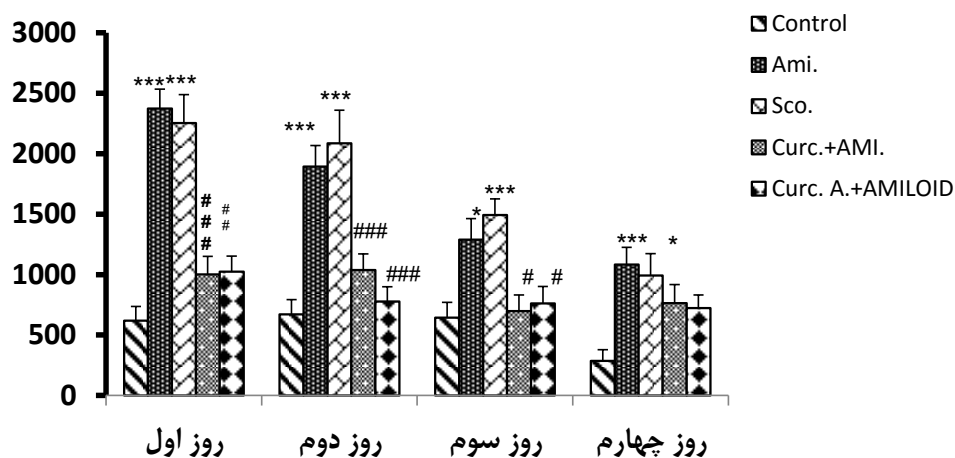
گروه‌های آزمایشی $[F(4) = 15/46, p = 0.0000]$ و روزهای مختلف آموزش $[F(3, 100) = 11/54, P = 0.0001]$ می‌باشد ولی بین روزهای آموزشی و گروه‌های مختلف تعامل معنی داری وجود نداشت $[F(12, 100) = 0/26369, P = 0.9933]$ در مقایسه درون گروهی بر اساس آزمون تکمیلی LSD، گروه‌های اسکوپولامین با $(p = 0.032)$ و لیزوزیم با $(p = 0.009)$ در روز چهارم نسبت به روز اول کاهش معنی داری دارند. همچنین گروه کورکومین با $(p = 0.032)$ و آنالوگ کورکومین با $(P = 0.019)$ در

اندازه‌گیری شد. آنالیز واریانس دو طرفه پارامتر مسافت طی شده (بر اساس داده‌های ارائه شده در نمودار شماره ۲) برای پیدا کردن سکوی نجات نشان دهنده وجود تفاوت معنی‌دار بین چهار گروه مورد آزمایش $p=0.0000$ $F(4,44)=40/100$ و روزهای مختلف آموزش $p=0.0000$ $F(3,40)=17/100$ است. همچنین بین روزهای آموزشی و گروه‌های مختلف $p=0.0048$ $F(12,59)=2/100$ تفاوت معنی‌داری وجود

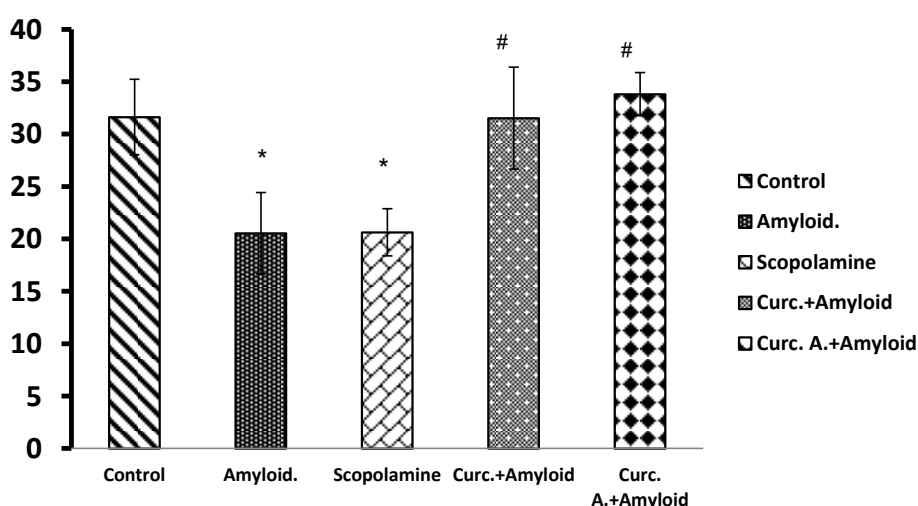
نسبت به گروه لیزوزیم کاهش معنی‌دار نشان دادند. همچنین گروه کورکومین و آنالوگ آن با $p<0.05$ نسبت به گروه اسکوپولامین در هر چهار روز آموزشی کاهش معنی‌دار نشان دادند. در ضمن اختلاف بین این دو گروه (کورکومین و آنالوگ آن) نیز با یکدیگر معنی‌دار نبود.

مسافت طی شده برای یافتن سکو

مقدار مسافت طی شده جهت پیدا نمودن سکوی پنهان در گروه‌های مختلف آموزشی در طی روزهای آموزش



نمودار ۲: مسافت طی شده در ماز آبی موریس برای یافتن سکوی مخفی توسط موش‌های گروه‌های مختلف در روزهای آموزش. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. با توجه به نتایج آزمون آماری روند یادگیری بین گروه‌ها اختلاف معنی‌داری داشت. *** نشان‌دهنده $P<0.001$ ، ** نشان‌دهنده $P<0.01$ نسبت به کنترل و ### نشان‌دهنده $P<0.001$ در مقایسه با گروه‌های آسیب. مقادیر بر حسب میانگین \pm خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.



نمودار ۳: مقایسه درصد مسافت طی شده در ربع هدف ماز آبی در آزمون به خاطر آوری. داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف معیار نمایش داده شده است. با توجه به نتایج آزمون آماری روند مسافت طی شده در ربع هدف بین گروه‌های تیمار و گروه‌های اسکوپولامین و لیزوزیم تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. * نشان‌دهنده $P<0.05$ نسبت به کنترل و ## نشان‌دهنده $P<0.01$ در مقایسه با گروه‌های آسیب. مقادیر بر حسب میانگین \pm خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.

واریانس یک طرفه حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها است [$F(4,25)=3.45$, $P = 0.022$]. آزمون تکمیلی LSD نشان داد که درصد مسافت طی شده در ربع هدف به‌ترتیب در گروه‌های لیزوزیم و اسکوپولامین نسبت به گروه‌های کنترل ($P=0/033$) و ($P=0/035$) کاهش معنی‌داری داشت. همچنین گروه‌های تیمار با کورکومین و آنالوگ کورکومین به‌ترتیب با ($p=0/036$) و ($0/013$) نسبت به گروه‌های اسکوپولامین و با ($p=0/035$) و ($p=0/012$) نسبت به گروه لیزوزیم افزایش معنی‌داری داشتند. افزایش درصد مسافت طی شده در ربع هدف نشان‌دهنده کارایی بالاتر حافظه فضایی می‌باشد.

مدت زمان حضور در ربع هدف

در روز پروب، مدت زمان حضور هر یک از گروه‌ها در ربع هدف مورد مطالعه قرار گرفت و نتایج آن در نمودار شماره ۴ آورده شده است. آنالیز واریانس یک طرفه حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار بین گروه‌ها می‌باشد [$F(4,25)=27.4$ $P = 0.000$]. آزمون تکمیلی LSD نشان داد که مدت زمان حضور در ربع هدف در گروه‌های لیزوزیم و اسکوپولامین نسبت به گروه‌های کنترل ($P=0/000$) کاهش معنی‌داری داشت. گروه‌های تیمار با کورکومین و آنالوگ کورکومین ($p=0/000$) نسبت به گروه لیزوزیم و اسکوپولامین افزایش معنی‌داری داشتند. افزایش مدت زمان حضور در ربع هدف نشان‌دهنده کارایی بالاتر حافظه فضایی می‌باشد.

تعداد دفعات ورود حیوان به ربع هدف

یکی دیگر از پارامترهای مورد مطالعه تعداد دفعاتی است که هر یک از گروه‌ها در روز پروب وارد ربع هدف می‌شوند. نتایج حاصل از این مطالعه در نمودار شماره ۵ آورده شده است. آنالیز واریانس یک طرفه بیانگر وجود تفاوت معنی‌دار از این نظر در بین گروه‌ها می‌باشد [$F(4,25)=10.08$, $P = 0.0000$]. آزمون تکمیلی LSD نشان داد که تعداد دفعات ورود حیوان به ربع هدف به‌ترتیب در گروه‌های لیزوزیم و اسکوپولامین نسبت به

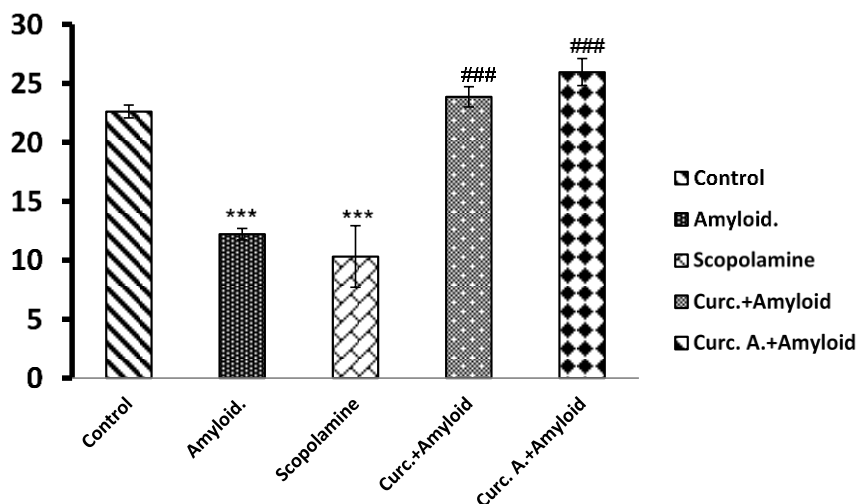
دارد. در مقایسه درون گروهی بر اساس آزمون تکمیلی LSD، گروه‌های اسکوپولامین با ($p=0/0000$) و لیزوزیم با ($p=0/0000$) در روز چهارم نسبت به روز اول کاهش معنی‌داری دارند. در مقایسه بین گروهی مشخص شد ضمن این‌که گروه‌های اسکوپولامین و لیزوزیم در هر چهار روز آموزشی نسبت به یکدیگر تفاوت معنی‌دار نداشتند، گروه اسکوپولامین در روزهای اول، دوم، سوم با ($p=0/000$) و روز چهارم با ($p=0/003$) و لیزوزیم در روزهای اول، دوم، چهارم با ($p=0/000$) و روز سوم با ($p=0/006$) نسبت به گروه کنترل افزایش معنی‌دار نشان دادند. گروه کورکومین در روزهای اول و دوم با ($p=0/000$) و روز سوم با ($p<0/05$) و آنالوگ آن در روزهای اول و دوم با ($p=0/000$) و روز سوم با ($p<0/05$) نسبت به گروه‌های لیزوزیم کاهش معنی‌دار نشان دادند. همچنین گروه کورکومین در روزهای اول، دوم و سوم با ($p=0/000$) و گروه آنالوگ کورکومین در روزهای اول و دوم با ($p=0/000$) و روز سوم با ($p=0/002$) نسبت به گروه‌های اسکوپولامین کاهش معنی‌دار نشان دادند. در ضمن اختلاف بین این دو گروه (کورکومین و آنالوگ آن) نیز با یکدیگر معنی‌دار نبود.

۳-۳- یافته‌های آزمون به خاطر آوری

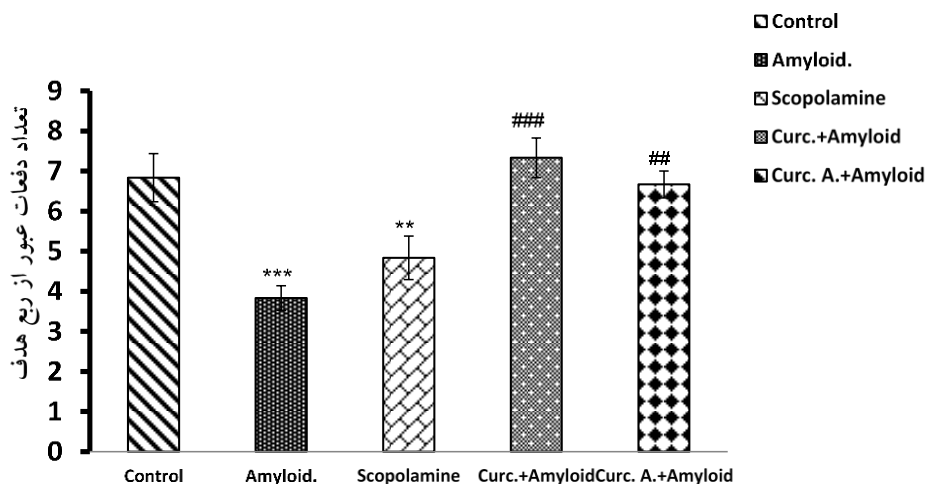
برای ارزیابی و توانایی به خاطر آوری (روز پروب)، حیوانات در ماز قرار گرفتند و به آنها فرصت داده شد تا ۶۰ ثانیه شنا کنند. مدت زمان سپری شده در ربع هدف، درصد مسافت طی شده در ربع هدف و تعداد دفعات ورود حیوان به ربع هدف در روز آزمون به خاطر آوری بررسی شد. میزان ارزیابی این شاخص‌ها در ربع هدف توسط حیوان در آزمون به خاطر آوری از شاخص‌های مهمی می‌باشند که حافظه فضایی و توانایی به خاطر آوری حیوان را می‌سنجند.

درصد مسافت طی شده در ربع هدف

نتایج درصد مسافت طی شده در ربع هدف (در روز پروب) در نمودار شماره ۳ آورده شده است. آنالیز



نمودار شماره ۴: مقایسه مدت زمان حضور در ربع هدف ماز آبی در آزمون به خاطر آوری. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده است. با توجه به نتایج آزمون آماری مدت زمان حضور در ربع هدف بین گروه تیمار و گروه‌ها یا اسکوپولامینولیزوزیم متفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. *** نشان‌دهنده $P < 0.001$, ** نشان‌دهنده $P < 0.01$ نسبت به گروه کنترل و ### نشان‌دهنده $P < 0.01$ در مقایسه با گروه‌های آسیب. مقادیر بر حسب میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.



نمودار شماره ۵: مقایسه تعداد دفعات ورود موش‌ها به ربع هدف ماز آبی در آزمون به خاطر آوری. داده‌ها به صورت میانگین ± انحراف معیار نمایش داده شده است. با توجه به نتایج آزمون آماری تعداد دفعات ورود موش‌ها به ربع هدف بین گروه‌های تیمار و گروه‌های اسکوپولامینولیزوزیم تفاوت معنی‌داری را نشان می‌دهد. *** نشان‌دهنده $P < 0.001$, ** نشان‌دهنده $P < 0.01$ نسبت به کنترل و ## نشان‌دهنده $P < 0.01$ در مقایسه با گروه‌های آسیب. مقادیر بر حسب میانگین ± خطای استاندارد نمایش داده شده‌اند.

بحث

همان‌طور که گفته شد، ما قبلاً نشان دادیم که هم کورکومین و هم آنالوگ ۳ طراحی شده مانع تشکیل فیبرهای آمیلوئیدی می‌گردند. از طرف دیگر تجمعات لیزوزیم تشکیل شده در حضور هر دو ترکیب در مقایسه با تجمعات تشکیل شده در عدم حضور این ترکیبات بطور معنی‌داری سمیت سلولی کمتری داشتند. هدف مطالعه حاضر بررسی اثر تجمعات تشکیل شده در حضور

گروه‌های کنترل ($P=0/000$) و ($P=0/005$) کاهش معنی‌داری داشت. گروه‌های تیمار با کورکومینو آنالوگ کورکومین با ($p=0/000$) نسبت به گروه لیزوزیم افزایش معنی‌داری داشتند. همچنین گروه‌های تیمار با کورکومین با ($p=0/000$) و آنالوگ کورکومین با ($p=0/01$) نسبت به گروه اسکوپولامین افزایش معنی‌داری داشتند.

(diketone) کورکومین با حلقه‌های ایزوکسالون (isoxazole) موفق به تولید آنالوگ نسبتاً پایدار آن شدند. ما نیز با طراحی آنالوگ شماره ۳ علاوه بر جایگزین کردن گروه دی کتون، گروه‌های هیدروکسی آنرا نیز مسدود نموده و نشان دادیم که نه تنها نسبت به کورکومین پایدار است بلکه فعالیت ضد تجمعی قابل مقایسه با کورکومین دارد (۲۱). در این پژوهش برای بررسی اثر ضد تجمعی از پروتئین مدل لیزوزیم استفاده نمودیم. این نتایج فرصتی را فراهم می‌آورد که برای مطالعه بیماری نتایج از پروتئین‌های مدل استفاده شود که ضمن اینکه دقیقاً مشابه پروتئین $A\beta$ قادر به تخریب حافظه فضایی و آلزایمر هستند و همچنین دارای مزایایی دیگری مثل پایداری زیاد، تکرار پذیری بالا و همچنین به دلیل ارزانی این پروتئینها نسبت به $A\beta$ از لحاظ اقتصادی صرفه جویی در هزینه‌ها را به همراه دارد (۲۲). مطالعات محققین دیگر نیز با القای تجمع آمیلوئیدی در پروتئین-های غیروابسته به بیماری (پروتئین‌های مدل) مثل انسولین و یا یک پروتئین سنتتیک به نام HypF-N و تزریق آن به موش صحرایی توانسته‌اند باعث بیماری آلزایمر در موش‌های صحرایی شوند (۲۹، ۲۲). در مجموع مطالعات ما نشان داد که آنالوگ طراحی شده که علاوه بر اینکه نسبت به کورکومین در pH طبیعی بدن (۷/۴) پایدارتر است و همچنین خواص ضد تجمعی مشابه کورکومین دارد و همچنین تجمعات تشکیل شده در حضور آن مثل کورکومین غیر سمی بوده و حافظه فضایی موش صحرایی را تخریب نمی‌کند می‌تواند یک ترکیب مفید برای طراحی داروی ضد آلزایمر البته بعد از بررسی‌های بیشتر مورد استفاده قرار گیرد.

و عدم حضور این دو ترکیب روی حافظه فضایی موش صحرایی بود. همانطور که مطالعات روی موشهای مدل آلزایمری در ماز آبی نشان داد هر دو گروه تیمار از نظر زمان پیدا کردن سکوی نجات، مسافت طی شده برای پیدا کردن سکو در روزهای آموزش و از نظر درصد مسافت طی شده در ربع هدف، مدت زمان حضور در ربع هدف و تعداد دفعات ورود به ربع هدف در روز آزمون به طور معنی‌داری عملکرد بهتری داشتند. امروزه مطالعات گسترده‌ای در زمینه اثر کورکومین روی حافظه فضایی صورت گرفته است.

Yang و همکاران نشان داده‌اند که کورکومین از طریق ممانعت از تشکیل الیگومرهای آمیلوئید بتا و همچنین با اتصال به پلاکها و فیبریل‌های آمیلوئیدی و تخریب آنها می‌تواند باعث بهبود حافظه فضایی شود (۲۵). Garcia-Alloza و همکاران (۲۶) نیز در مطالعات خودشان نشان دادند که کورکومین دارای خاصیت ضد آلزایمری است و از طریق مهار تشکیل بتا-آمیلوئید، از بین بردن پلاک‌های تشکیل شده و بهبود نسبی نورون‌های آسیب دیده این نقش خود را ایفا می‌کند. همان‌طور که در بخش مقدمه به آن اشاره شد کورکومین علاوه بر اثر ضد آلزایمری، دارای اثرات دیگری از جمله خواص ضد باکتریایی، ضد قارچی، ضد ویروسی، ضد التهابی و ضد سرطانی است (۱۹). علی‌رغم این خواص متنوع متأسفانه در محیط خون دارای پایداری ضعیفی است. تحقیقات گسترده‌ای برای پایدار سازی آن از طریق کمپلکس کردن آن با الیگو ساکاریدهای حلقوی، سیکلودکسترین، نانو ذرات (۲۷، ۲۸) و یا تولید آنالوگهای پایدار آن تاکنون صورت گرفته است. Chakraborti و همکاران (۱۹) از طریق جایگزین کردن بخش دی کتون

References

1. Acosta D, Wortmann M. Alzheimer's Disease International World Alzheimer Report 2009. Prince, M. 2009;1-92.
2. Selkoe DJ. The molecular pathology of Alzheimer's disease. Neuron. 1991; 6(4):487-98.
3. Hardy J, Allsop D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. Trends

- Pharmacol Sci. 1991; 12(10):383–8.
4. Sofiabadi M, Esmaeili MH, Haghdoost Yazdy H, Azhdari Zarmehri H. The prenatal consumption of aqueous extract of *Glycyrrhiza glabra*, improves memory retrieval in mice. 2011;10(38):49-54.
 5. Sofiabadi M, Rajaei F, Azhdari-Zarmehri H, Atashgar E, Ghadimi F. The effects of separate and combined stress during pregnancy on motor learning of offspring of rats. 2014;21(6):532-9.
 6. Aggarwal BB, Sundaram C, Malani, N, and Ichikawa, H. Curcumin: The Indian solid gold. *Adv. Exp. Med. Biol.* 2007; 595, 1–75.
 7. AggarwalBB, and Sung B. Pharmacological basis for the role of curcumin in chronic diseases: An age-old spice with modern targets. *Trends Pharmacol. Sci.* 2009; 30, 85–94
 8. Qin XY, Cheng Y, Yu LC. Potential protection of curcumin against intracellular amyloid beta-induced toxicity in cultured rat prefrontal cortical neurons. *Neuroscience letters.* 2010; 480(1):21–4.
 9. Ye J, Zhang Y. Curcumin protects against intracellular amyloid toxicity in rat primary neurons. *International journal of clinical and experimental medicine.* 2012; 5(1):44–9.
 10. Begum AN, Jones MR, Lim GP, Morihara T, Kim P, Heath DD, et al. Curcumin structure-function, bioavailability, and efficacy in models of neuroinflammation and Alzheimer's disease. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics.* 2008; 326(1):196–2
 11. Sun CY, Qi SS, Zhou P, Cui HR, Chen SX, Dai KY, et al. Neurobiological and pharmacological validity of curcumin in ameliorating memory performance of senescence-accelerated mice. *Pharmacology, biochemistry, and behavior.* 2013; 105:76–82
 12. Hoppe JB, Haag M, Whalley BJ, Salbego CG, Cimarosti H. Curcumin protects organotypic hippocampal slice cultures from Abeta1-42-induced synaptic toxicity. *Toxicology in vitro: an international journal published in association with BIBRA.* 2013; 27(8):2325–30.
 13. Tsai YM, Chien CF, Lin LC, Tsai TH: Curcumin and its nanoformulation:the kinetics of tissue distribution and blood–brain barrier penetration. *Int J Pharm* 2011;416:331–338.
 14. Conboy L, Foley AG, O'Boyle NM, Lawlor M, Gallagher HC, Murphy KJ, Regan CM: Curcumin-induced degradation of PKC δ is associated with enhanced dentate NCAM PSA expression and spatial learning in adult and aged Wistar rats. *BiochemPharmacol.* 2009;77:1254–1265.
 15. Rinwa P, Kumar A: Piperine potentiates the protective effects of curcumin against chronic unpredictable stress-induced cognitive impairment and oxidative damage in mice. *Brain Res.* 2012;1488: 38–50.
 16. Hatcher H, Planalp R, Cho J, Torti, F M, and Torti S V. Curcumin: From ancient medicine to current clinical trials. *Cell. Mol. Life Sci.* 2008;65: 1631–1652.
 17. Leung, M H, and Kee TW. Effective stabilization of curcumin by association to plasma proteins: Human serum albumin and fibrinogen. *Langmuir* 2009;25: 5773–5777.
 18. Wang Y J, Pan M-H, Cheng A-L, Lin L-I, Ho Y-S, Hsieh C-Y, and Lin J-K J. Stability of curcumin in buffer solutions and characterization of its degradation products.*J. Pharm. Biomed. Anal.*1997; 15:1867-76.
 19. Chakraborti G, Dhar V, Dwivedi A, Das A, Poddar G, Chakraborti G, Basu P, Chakrabarti A, Suroliya B,Bhattacharyy A. *Biochemistry* 2013;52: 7449–7460.
 20. Reinke AA, Gestwicki JE. Structure-activity relationships of amyloid beta-aggregation inhibitors based on curcumin: influence of linker length and flexibility. *Chem. Biol. Drug. Des.* 2007;70: 206–215
 21. Ramshini H, mohammad-zadeh M, Ebrahim-Habibi A. Inhibition of amyloid fibril formation and cytotoxicity by a chemical analog of Curcumin as a stable inhibitor. *Int. J. Biol. Macromol.* 2015;78: 396-404.
 22. Tatini F, Pugliese AM, Traini C, Niccoli S, Maraula G, Ed Dami T, Mannini B, Scartabelli T, Pedata F, Casamenti F, Chiti F. Amyloid- β oligomer synaptotoxicity is mimicked by oligomers of the model protein HypF-N. *Neurobiol. Aging* 2013; 34: 2100–2109.
 23. Ebert U, Kirch W. Scopolamine model of dementia: electroencephalogram findings and cognitive performance. *Eur J Clin Invest.* 1998; 28: 944-9.
 24. Wilcock DM, Gordon MN, Morgan D. Quantification of cerebral amyloid angiopathy and parenchymal amyloid plaques with Congo red histochemical stain. *Nat Protocols* 2006; 1: 1591-95.
 25. Yang F, Lim GP, Begum AN, Ubeda OJ, Simmons MR, Ambegaokar SS, Chen PP, Kaye R, Glabe CG, Frautschy SA, Cole GM. Curcumin inhibits formation of amyloid beta oligomers and fibrils, binds plaques, and reduces amyloid in vivo. *J. Biol. Chem.* 2005; 280: 5892-901.
 26. Garcia-Alloza M, Borrelli LA, Rozkalne A, Hyman BT, Bacskai BJ: Curcumin labels amyloid pathology in vivo, disrupts existing plaques, and partially restores distorted neurites in an Alzheimer mouse model. *J Neurochem* 2007;102:1095–1104.
 27. Tønnesen HH, Måsson M, and Loftsson T. Studies of curcumin and curcuminoids. XXVII. Cyclodextrin complexation: Solubility, chemical and photochemical stability. *Int. J. Pharm.* 2002; 244, 127–135.

28. Bisht S, Feldmann G, Soni S, Ravi R, Karikar C, and Maitra A. Polymeric nanoparticle-encapsulated curcumin "nanocurcumin": A novel strategy for human cancer therapy. *J. Nanobiotechnol.* 2007; 5: 3.
29. Kheirbakhsh R, Chinisaz M, Khodayari S, Amanpour S, Dehpour AR, Muhammadnejad A, Larijani B, Ebrahim-Habibi A. Injection of insulin amyloid fibrils in the hippocampus of male Wistar rats: report on memory impairment and formation of amyloid plaques. *Neurol Sci.* 2015 Mar 19(in press).

Study of Effect of a New Curcumin Derivative on Formation of Toxic α Aggregates and Prevention of Learning and Spatial Memory Impairment in Male Wistar Rats

Hasan Ramshini

Department of Biology, Payam Noor University, PO Box 19395-3697, Tehran, Iran.

Abdollah Mehrabadi

Department of Biology, Payam Noor University, PO Box 19395-3697, Tehran, Iran.

Alireza Moslem

Assistant Professor of Anesthesiology, Iranian Research Center on Healthy Aging, Sabzevar University of Medical Sciences, Sabzevar, Iran

Received:12/12/2015, Revised:22/01/2016, Accepted:03/03/2016

Corresponding author:

Alireza Moslem,
Iranian Research Center on
Healthy Aging, Sabzevar
University of Medical Sciences,
Sabzevar, Iran
E-mail:
alirezamoslem@gmail.com

Abstract

Backgrounds & Objectives: Aggregates of β -amyloid protein are the main constituent of senile plaques and considered to be one of the causative events in the pathogenesis of Alzheimer's disease (AD). Compounds that could inhibit $A\beta$ fibrils formation and or reduce their associated neurotoxicity might have therapeutic values for treating AD. Although curcumin has shown promising therapeutic utilities for many diseases, including Alzheimer, its clinical application is severely limited because of its poor stability under physiological conditions. In this study, the inhibitory effects of 2, 6-bis (3, 4-dimethoxybenzylidene)-1-cyclohexanone on aggregation and neurotoxicity of hen egg white lysozyme (HEWL) and, also, on spatial learning and memory of rats were evaluated.

Methods: 30 male wistar rates (250-280 g) were divided into 5 groups: control, received scopolamine, received lysozyme amyloid aggregates, received lysozyme aggregates formed in presence of Curcumin and/or Curcumin derivative. The Morris Water maze was used for studying the spatial learning memory.

Results: The results showed that, in comparison with receiver groups of lysozyme aggregates alone, the receiver rats of the aggregates formed in the presence curcumin and its derivative found platform in less time and with less distance traveled. The hippocampal injection of HEWL aggregates damaged the spatial memory of rates. Meanwhile amyloid aggregates formed in presence of curcumin or curcumin derivative were nontoxic and had no significant effect on spatial memory in rats.

Conclusions: These observations suggest that Curcumin and its derivative are capable to insert directly into amyloidogenic core of early aggregates and inhibiting amyloid fibril formation. Also, this study showed the importance of using model proteins as a valid tool to investigate the pathogenesis of Alzheimer's disease.

Keywords: Egg lysozyme; Curcumin derivative; Amyloid; Spatial memory; Water maze