

تأثیر عصاره الکلی برگ توت سفید بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر

امیدرضا تمناجی^۱، محمد بهنام^۲، مژگان محمدی فر^۳، سید علی رضا طلایی^۱، سیدمهدی تخت فیروزه^۴، محسن تقی‌زاده^{۳*}

چکیده

زمینه و هدف: بیماری‌های مختلفی مانند مولتیپل اسکلروزیس، پارکینسون، آلزایمر و دمانس منجر به اختلال در یادگیری و حافظه می‌شوند. مطالعات مختلفی جهت بررسی اثرات گیاهان دارویی بر افزایش یادگیری، حافظه و پیشگیری از این اختلالات انجام گرفته است. در مطالعه حاضر تأثیر عصاره الکلی برگ توت سفید بر یادگیری و حافظه فضایی موش‌های صحرایی نر بررسی گردید.

روش بررسی: این مطالعه روی ۳۲ موش صحرایی نر نژاد ویستار انجام شد و حیوانات در چهار گروه شامل: گروه کنترل و سه گروه دریافت‌کننده عصاره الکلی برگ توت سفید با دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن قرار گرفتند. این عصاره هر روز به صورت گاوآذ تجویز شد. پس از یک‌ماه، یادگیری و حافظه فضایی با استفاده از ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت. داده‌ها با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و آزمون بونفرونی تجزیه و تحلیل شدند. سطح معنی‌داری، $p < 0/05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: تجویز عصاره الکلی برگ توت سفید در تمام دوزها منجر به بهبود روند یادگیری در موش‌های صحرایی شد. همچنین این عصاره در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، حافظه فضایی را در موش‌های صحرایی بهبود بخشید.

نتیجه‌گیری: نتایج این مطالعه نشان داد تجویز عصاره الکلی برگ توت سفید منجر به افزایش یادگیری و تثبیت حافظه فضایی در موش‌های صحرایی سالم می‌شود.

کلید واژه‌ها: برگ توت سفید؛ حافظه فضایی؛ یادگیری؛ ماز آبی موریس.

^۱مرکز تحقیقات فیزیولوژی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

^۲کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

^۳مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران.

^۴کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی هرمزگان، بندرعباس، ایران.

*نویسنده مسئول مکاتبات:

محسن تقی‌زاده، مرکز تحقیقات بیوشیمی و تغذیه در بیماری‌های متابولیک، دانشگاه علوم پزشکی کاشان، کاشان، ایران؛

آدرس پست الکترونیکی:

taghizadeh_m@kaums.ac.ir

تاریخ دریافت: ۹۴/۵/۱۸

تاریخ پذیرش: ۹۴/۷/۲۰

لطفاً به این مقاله به صورت زیر استناد نمایید:

Tamtaj OR, Behnam M, Mohammadifar M, Talaei SAR, Takhtfiroozeh SM, Taghizadeh M. The effect of alcoholic extract of *Morus Alba* leaves on learning and spatial memory in male rats. *Qom Univ Med Sci J* 2016;10(5):1-8. [Full Text in Persian]

مقدمه

یادگیری، فرآیندی جهت کسب اطلاعات از دنیای پیرامون خود و حافظه، مکانیسمی جهت کدبندی، ذخیره‌سازی و فراخوانی دوباره اطلاعات ذخیره‌شده است (۱). یکی از مکانیسم‌های مؤثر در یادگیری و حافظه، سیستم کولینرژیک می‌باشد (۳،۲). بیماری‌های مختلفی مانند آلزایمر، دمانس و پارکینسون (۴) و دیابت (۵) باعث اختلال در یادگیری و حافظه می‌شوند. جهت پیشگیری از اختلالات شناختی و تقویت حافظه، مطالعات مختلفی روی گیاهان دارویی صورت گرفته است. در مطالعه‌ای مشخص گردید عصاره ریشه *Clitoria ternatea* با تقویت سیستم کولینرژیک باعث بهبود یادگیری و حافظه در موش‌های صحرایی می‌شود (۶). در مطالعه دیگری نیز گزارش شد عصاره گیاه *جینکو بیلوبا* منجر به بهبود یادگیری و حافظه می‌گردد (۷). در مطالعه Kaur و همکاران نیز نشان داده شد تجویز عصاره چای سبز؛ یادگیری و حافظه را بهبود می‌بخشد (۸). در مطالعه دیگری اثر عصاره *Bacopa monniera* بر حافظه موش‌های صحرایی در آزمون اجتنابی غیرفعال مورد بررسی قرار گرفت که نتیجه آن، حاکی از تأثیر مثبت این گیاه بر حافظه بود (۹).

توت سفید (*Morus alba*) گیاهی است از خانواده *Moraceae* که در مناطق وسیعی از جهان، از جمله ایران رشد می‌کند و برگ این گیاه حاوی مقادیر قابل توجهی از ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدها مانند روتین و کوئرستین می‌باشد (۱۰-۱۲). Bondada و همکاران نشان دادند فلاونوئیدهای موجود در برگ توت سفید می‌تواند در بهبود استرس اکسیداتیو در موش‌های صحرایی دیابتی مؤثر باشد (۱۳). همچنین اثرات هایپوکلسترولمیک عصاره الکلی برگ درخت توت سفید در موش صحرایی هایپرکلسترولمیک گزارش شده است (۱۴). در مطالعه دیگری نیز اثر ضدپلاکتی و ضدانعقادی عصاره برگ توت سفید به اثبات رسید (۱۵). به‌علاوه، ثابت شده است عصاره برگ این گیاه با خاصیت آنتی‌اکسیدانی خود باعث مهار نیتریک اکساید و آپوپتوز سلولی می‌شود (۱۶). در مطالعه‌ای گزارش شده است میزان ترکیبات فلاونوئیدی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی عصاره الکلی و برگ توت سفید، بیشتر از عصاره آبی و میوه این گیاه می‌باشد (۱۷). مطالعه حاضر با هدف بررسی تأثیر عصاره الکلی برگ توت سفید بر یادگیری و حافظه

فضایی در موش‌های صحرایی با استفاده از آزمون ماز آبی موریس انجام شد.

روش بررسی

در این مطالعه تجربی، به مدت ۴ هفته عصاره الکلی برگ توت سفید به‌صورت خوراکی با استفاده از سرنگ گاوآژ به موش‌ها تجویز گردید. سپس در پایان ۴ هفته، روند یادگیری و حافظه فضایی با استفاده از آزمون ماز آبی موریس مورد بررسی قرار گرفت. ۳۲ سر موش صحرایی نر نژاد ویستار (با میانگین وزن ۲۵۰ گرم)، از مرکز تحقیقات فیزیولوژی دانشگاه علوم پزشکی کاشان تهیه شد. موش‌ها به‌طور تصادفی به چهار گروه ۸ تایی شامل گروه کنترل و سه گروه دریافت‌کننده عصاره الکلی برگ توت سفید (۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن) تقسیم شدند. حیوانات در شرایط استاندارد (درجه حرارت ۲۲-۲۰ درجه سانتیگراد، رطوبت ۶۰-۵۰٪ و سیکل روشنایی ۱۲ ساعته) با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند. جهت تهیه عصاره الکلی برگ توت سفید، برگهای درخت توت سفید از باغات شهرستان کاشان تهیه و از نظر هر بارיום گیاهی و سلامت به تأیید مرکز تحقیقات گیاهان دارویی شرکت باریج اسانس رسید. برگها طی چند روز خشک و آسیاب شدند. پودر به‌دست آمده در داخل پرکولاتور قرار گرفت و به میزان کافی الکل اتیلیک ۹۶درجه به آن اضافه شد. پس از ۷۲ ساعت، سطح مایع حاصل از پرکولاتور با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید. به‌منظور تغلیظ، محلول حاصل در دمای ۴۰ درجه قرار داده شد. در نهایت، مقدار ماده خشک عصاره تغلیظ‌شده جهت گاوآژ اندازه‌گیری شد. جهت تعیین میزان ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئید تام از روش اسپکتروفتومتری استفاده شد. با استفاده از روش رنگ‌سنجی کلرید آلومینیوم و براساس کوئرستین فلاونوئید تام، این عصاره مورد بررسی قرار گرفت. همچنین، با استفاده از فولین *Ciocalteu*، براساس اسید گالیک، میزان پلی‌فنول‌های تام ارزیابی گردید (۱۸). سنجش یادگیری و تثبیت حافظه فضایی به‌وسیله ماز موریس صورت گرفت که به‌طور گسترده در تحقیقات انجام می‌شود. ماز موریس یک تانک آب با قطر ۱۸۰ و عمق ۷۰ سانتی‌متر است و تقریباً نیمی از آن از آب پر می‌شود.

پس از ۱۰ دقیقه، آزمایش مجدداً تکرار می‌شود، با این تفاوت که محل رها شدن موش در ماز نسبت به مرحله قبل متفاوت است. هر موش، روزانه ۴ جلسه آموزش با فاصله ۱۰ دقیقه‌ای را تجربه می‌کند. در مجموع، این مرحله از آزمایش به مدت ۴ روز طول کشیده و طی آن، ۱۶ جلسه آزمایش روی حیوانات انجام می‌گیرد.

مرحله بازخوانی یا پروب: بلافاصله پس از تکمیل مرحله اول، مرحله بعد انجام می‌شود. در این مرحله (با توجه به اینکه حیوان محل سکوی پنهان را می‌داند) سکو از ماز برداشته شده و آزمایش انجام می‌شود. این نکته باید مورد توجه قرار گیرد که موش در حین آزمایش (که قاعدتاً قادر به یافتن سکو نیست)، بیشترین وقت خود را در کدامیک از قسمت‌های چهارگانه ماز می‌گذراند. لازم به ذکر است در این مرحله از آزمایش، هر جلسه ۳۰ ثانیه طول کشیده و به دلیل عدم وجود سکو پس از پایان زمان، موش از ماز برداشته می‌شود. این مرحله از آزمایش برای هر موش، یک‌بار انجام شده و مدت زمان ماندن و نیز مسافت پیموده شده در ربع صحیح ماز (که در مرحله قبل واجد سکو بود)، معیار میزان یادگیری و یادآوری قرار می‌گیرد.

داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۷ آنالیز شدند. نتایج حاصل از مرحله یادگیری با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه تکراری مقایسه شدند. داده‌های مربوط به مرحله پروب نیز با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه و سپس آزمون بونفرونی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. سطح معنی‌داری، $p < 0.05$ در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

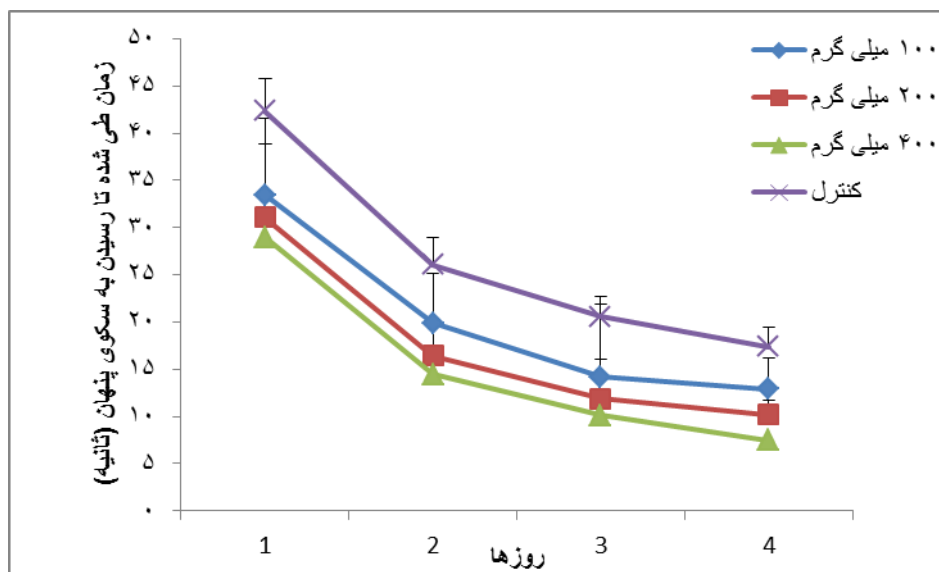
با توجه به معنی‌دار نبودن ($p = 0.142$) آزمون کرویت موخلی (Mauchly's test of Sphericity)، نتایج آزمون Assumed نشان داد از نظر آماری، تفاوت معنی‌داری بین زمان سپری‌شده برای یافتن سکوی پنهان وجود دارد ($p < 0.0001$). نتایج مقایسه بین گروهی نیز نشان داد اختلاف بین روند یادگیری در گروه‌های مختلف آزمایش، معنی‌دار است ($p < 0.0001$). همزمان با پیشرفت روزانه مراحل یادگیری، حیوانات همه گروه‌ها محل سکوی پنهان را آموخته و مدت زمان کمتری را صرف

ماز به‌طور فرضی به ۴ ربع مساوی شمالی، جنوبی، شرق و غربی تقسیم و یک سکوی نجات با ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر در وسط یکی از این ۴ ربع قرار می‌گیرد؛ به‌طوری‌که حدود ۱/۵ سانتی‌متر زیر سطح آب واقع شده و از بیرون قابل دیدن نیست. حرارت آب در حدود ۲۰-۲۲ درجه سانتیگراد تنظیم شده است. ماز در اتاقی قرار می‌گیرد که در آن علائم فضایی مختلفی وجود دارد که در طول آزمایشها ثابت بوده و برای حیوان در ماز قابل دیدن است. این مجموعه از طریق یک دوربین ردیاب که در ارتفاع ۱۸۰ سانتی‌متری و در بالای مرکز ماز آبی قرار گرفته، مونیتور شده و از طریق اتصال به کامپیوتر، اطلاعات مربوط به آزمایش در حال انجام ذخیره می‌شود. جهت انجام، ثبت و آنالیز بعدی داده‌های حاصل از آزمایش، از نرم‌افزار اختصاصی "ردیاب-۱ ویرایش ۷" که توانایی پذیرش تنظیمات مختلف برای آزمایشهای گوناگون در ماز آبی را دارد، استفاده می‌شود (۱۸).

مرحله یادگیری یا آموزش: طی این مرحله، حیوان از یکی از سمت‌های چهارگانه (شمال، جنوب، مشرق و مغرب) ماز درحالی‌که صورت آن به طرف دیواره ماز است، در آب رها می‌شود (لازم به ذکر است که انتخاب ناحیه شروع آزمایش به‌طور تصادفی بوده و به‌وسیله برنامه نرم‌افزاری پیشنهاد می‌گردد). با توجه به اندازه ماز و نوع حیوان (موش صحرایی)، حداکثر زمان آزمایش، ۶۰ ثانیه در نظر گرفته می‌شود. در صورتی‌که حیوان به‌طور اتفاقی سکوی پنهان مخفی در زیر آب را پیدا کند و روی آن قرار گیرد، به حیوان اجازه داده می‌شود به مدت ۱۵ ثانیه روی سکو بماند و با جستجوی اطراف و دیدن علائم موجود در آزمایشگاه، موقعیت خود را شناسایی کند. این موضوع به حیوان کمک می‌کند در جلسات بعدی آزمایش با استفاده از علائم بینایی در اتاق محل آزمایش، جایگاه سکو را پیدا کند. لازم به ذکر است هم علائم فضایی موجود در محل آزمایش و هم موقعیت سکو در یکی از چهار قسمت ماز، در طول آزمایشها ثابت است. در صورتی‌که در مدت تعیین‌شده، موش نتواند سکو را پیدا کند، حیوان توسط آزمایش‌کننده به آرامی به سوی سکو هدایت شده تا سکو را یافته و برای ۱۵ ثانیه روی آن قرار گیرد. پس از گذشت این زمان، حیوان از سکو برداشته شده و بعد از خشک شدن با یک حوله به قفس خود برگردانده می‌شود.

منجر به کاهش مدت زمان یادگیری برای یافتن سکوی هدف نسبت به گروه کنترل شد (به ترتیب $p < 0.0001$ و $p < 0.0001$).

یافتن سکوی هدف (جدول و نمودار شماره ۱). مصرف عصاره الکلی برگ توت سفید در دوزهای ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی گرم



نمودار شماره ۱: زمان لازم جهت یافتن سکوی پنهان در آزمون ماز آبی موریس توسط حیوانات (در روزهای مختلف آزمایش). داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف میانگین استاندارد حاصل از مجموع جلسات انجام شده طی یک روز نمایش داده شدند. اختلاف بین گروه‌های کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده عصاره به ترتیب برابر با $p < 0.0001$ ، $p < 0.0001$ و $p < 0.0001$ می‌باشد.

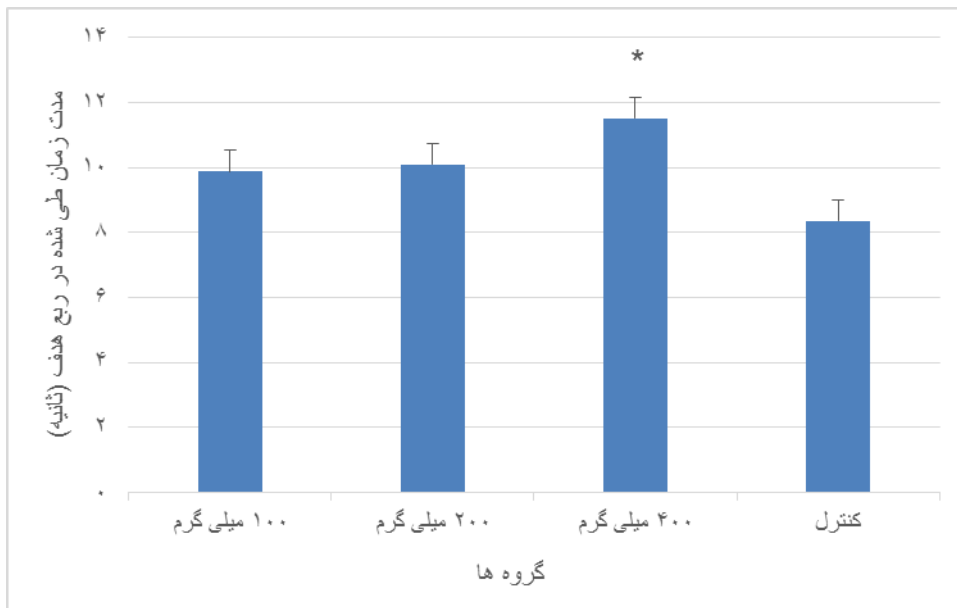
جدول شماره ۱: زمان لازم جهت یافتن سکوی پنهان بر حسب ثانیه، در آزمون ماز آبی موریس توسط حیوانات (در روزهای مختلف آزمایش)

گروه	روز اول	روز دوم	روز سوم	روز چهارم
کنترل	۴۲/۳۶ \pm ۳/۳۸	۲۶/۰۶ \pm ۲/۹۱	۲۰/۵۸ \pm ۲/۰۸	۱۷/۴۰ \pm ۲/۰۵
دریافت‌کننده عصاره ۱۰۰ میلی گرم	۳۳/۴۴ \pm ۸/۰۷	۱۹/۹۱ \pm ۵/۲۱	۱۴/۱۶ \pm ۷/۷۶	۱۲/۹۰ \pm ۳/۲۳
دریافت‌کننده عصاره ۲۰۰ میلی گرم	۳۱/۰۶ \pm ۷/۰۸	۱۶/۴۲ \pm ۵/۲۸	۱۱/۸۴ \pm ۳/۲۶	۱۰/۲۰ \pm ۴/۳۰
دریافت‌کننده عصاره ۴۰۰ میلی گرم	۲۸/۹۸ \pm ۷/۷۶	۱۴/۴۸ \pm ۳/۹۴	۱۰/۰۹ \pm ۴/۱۵	۷/۴۳ \pm ۱/۴۸

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف میانگین استاندارد نشان داده شده است.

کنترل، زمان بیشتری را در ربع دارای سکوی سبزی کردند (با $p < 0.0001$)، اما این افزایش زمان در سایر گروه‌های دریافت‌کننده عصاره قابل توجه نبود (جدول و نمودار شماره ۲).

در مرحله بازخوانی (پروپ)، تفاوت معنی‌داری بین گروه‌های شرکت‌کننده در آزمایش وجود داشت ($p < 0.003$) و با تجویز این عصاره (به مقدار ۴۰۰ میلی گرم) در مقایسه با حیوانات گروه



نمودار شماره ۲: مدت زمانی که موش‌های گروه‌های آزمایش در مرحله بازخوانی اطلاعات آموخته‌شده برای یافتن سکوی پنهان صرف کردند.

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف میانگین استاندارد نمایش داده شده است.

* اختلاف معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده عصاره الکلی برگ توت سفید در دوز ۴۰۰ میلی‌گرم ($p < 0.026$).

جدول شماره ۲: مدت زمان صرف‌شده برای یافتن سکوی پنهان در موش‌های گروه‌های آزمایش در مرحله بازخوانی اطلاعات آموخته‌شده

گروه	مدت زمان ماندن در ربع هدف (ثانیه)
کنترل	۸/۳۵ \pm ۰/۴۵
دریافت‌کننده عصاره ۱۰۰ میلی‌گرم	۹/۸۸ \pm ۱/۱۵
دریافت‌کننده عصاره ۲۰۰ میلی‌گرم	۱۰/۱۰ \pm ۰/۵۹
دریافت‌کننده عصاره ۴۰۰ میلی‌گرم	۱۱/۵۱ \pm ۰/۴۱

داده‌ها به صورت میانگین \pm انحراف میانگین استاندارد می‌باشد.

بحث

در مطالعه حاضر برای اولین بار، اثر عصاره الکلی برگ توت سفید بر روی روند یادگیری و حافظه فضایی با استفاده از ماز آبی موریس انجام شد. یافته‌های مطالعه حاضر نشان داد تجویز عصاره الکلی برگ توت سفید در تمام دوزها به‌طور قابل توجهی باعث افزایش یادگیری در طی ۴ شب نسبت به گروه کنترل می‌شود. همچنین این عصاره منجر به تثبیت بهتر حافظه فضایی نسبت به گروه کنترل شد. در مطالعه حاضر مشخص گردید عصاره الکلی برگ توت سفید دارای مقادیر زیادی از ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی بوده که در مطالعات قبلی نیز به وجود مقادیر قابل توجه این ترکیبات در میوه این گیاه اشاره شده است (۱۲). سیستم کولینرژیک، نقش بسیار مهمی در یادگیری و حافظه دارد (۳)، به‌طوری‌که با افزایش تولید استیل‌کولین و تقویت سیستم کولینرژیک مغز، بهبود در روند یادگیری و حافظه به وجود می‌آید (۱۹).

گزارش شده است ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی موجود در گیاهان، اثر قابل توجهی در بهبود عملکرد و فعالیت سیستم کولینرژیک دارند. عصاره گیاه *Scolopia crenata* که دارای مقادیر قابل توجهی از ترکیبات پلی‌فنولی و فلاونوئیدی مانند آپیجین، کاتچین و کوئرستین است با مهار آنزیم استیل‌کولین استراز منجر به بهبود عملکرد سیستم کولینرژیک می‌شود (۲۰). همچنین عصاره برگ گیاه *Aegle marmelos* که دارای مقادیر بسیار زیادی از ترکیبات فلاونوئیدی است، اثر قابل توجهی در بهبود سیستم کولینرژیک دارد (۲۱). عصاره گیاه *Biscutella* نیز که غنی از فلاونوئیدها می‌باشد اثر آنتی‌کولین استرازی دارد (۲۲). عصاره برگ مریم‌گلی، حافظه را در موش‌های سوری از طریق مهار آنزیم استیل‌کولین استراز بهبود می‌بخشد (۲۳). ترکیبات فلاونوئیدی موجود در گیاه *laciniata* دارای اثر مهارکنندگی بر آنزیم استیل‌کولین استراز بوده که تجویز آن می‌تواند راهکار درمانی مناسبی جهت درمان بیماری‌های نورودژنراتیو باشد (۲۴).

آن می‌تواند مهار آنزیم استیل‌کولین استراز توسط ترکیبات فلاونوئیدی و پلی‌فنولی موجود در عصاره باشد. همچنین مصرف این عصاره ممکن است بتواند در تقویت حافظه و پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با حافظه مؤثر باشد که این امر نیازمند انجام مطالعات بیشتری است.

تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه علوم پزشکی کاشان (کد ۹۳۱۷۱) می‌باشد. بدین وسیله نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی این دانشگاه به دلیل همکاری و حمایت‌های مالی، کمال تشکر و قدردانی را به عمل می‌آورند.

به‌علاوه، پلی‌فنول‌های موجود در چای سبز نیز اثر مهارکنندگی قابل توجهی بر آنزیم استیل‌کولین استراز دارند (۲۵). ترکیب فلاونوئیدی نارینجین با بهبود عملکرد سیستم کولینرژیک، اختلال حافظه ناشی از سیس‌پلاتین را در موش‌های صحرایی بهبود می‌بخشد (۲۶). ترکیب فلاونوئیدی کوئرستین نیز با مهار آنزیم استیل‌کولین استراز مانع از اختلالات مغزی در موش‌های صحرایی می‌شود (۲۷).

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد تجویز عصاره الکلی برگ توت سفید باعث افزایش یادگیری و تثبیت حافظه فضایی می‌شود که علت

References:

- Milner B, Squire LR, Kandel ER. Cognitive neuroscience and the study of memory. *Neuron* 1998;20(3):445-68.
- Hawley WR, Witty CF, Daniel JM, Dohanich GP. Choline acetyltransferase in the hippocampus is associated with learning strategy preference in adult male rats. *Behav Brain Res* 2015;289:118-24.
- Drever BD, Riedel G, Platt B. The cholinergic system and hippocampal plasticity. *Behav Brain Res* 2011;221(2):505-14.
- Arshavsky YI. Alzheimer disease and cellular mechanisms of memory storage. *J Neuropathol Exp Neurol* 2014;73(3):192-205.
- Gold S, Dziobek I, Sweat V, Tirsi A, Rogers K, Bruehl H, et al. Hippocampal damage and memory impairments as possible early brain complications of type 2 diabetes. *Diabetologia* 2007;50(4):711-9.
- Rai K, Murthy K, Karanth K, Nalini K, Rao M, Srinivasan K. Clitoria ternatea root extract enhances acetylcholine content in rat hippocampus. *Fitoterapia* 2002;73(7-8):685-9.
- Winter E. Effects of an extract of Ginkgo biloba on learning and memory in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 1991;38(1):109-14.
- Kaur T, Pathak C, Pandhi P, Khanduja K. Effects of green tea extract on learning, memory, behavior and acetylcholinesterase activity in young and old male rats. *Brain Cogn* 2008;67(1):25-30.
- Vollala VR, Upadhyaya S, Nayak S. Effect of Bacopa monniera Linn.(brahmi) extract on learning and memory in rats: A behavioral study. *J Vet Behav: Clin Appl Res* 2010;5(2):69-74.
- Khan MA, Rahman AA, Islam S, Khandokhar P, Parvin S, Islam MB, et al. A comparative study on the antioxidant activity of methanolic extracts from different parts of Morus alba L.(Moraceae). *BMC Res Notes* 2013;6:24.
- Jung IH, Lee HE, Park SJ, Ahn YJ, Kwon G, Woo H, et al. Ameliorating effect of spinosin, a C-glycoside flavonoid, on scopolamine-induced memory impairment in mice. *Pharmacol Biochem Behav* 2014;120:88-94.
- Katsube T, Imawaka N, Kawano Y, Yamazaki Y, Shiwaku K, Yamane Y. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (Morus alba L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity. *Food Chem* 2006;97(1):25-31.

13. Andallu B, Kumar AV, Varadacharyulu NC. Oxidative stress in streptozocin-diabetic rats: Amelioration by mulberry (*Morus Indica L.*) leaves. *Chin J Integr Med* 2012 Dec 22.
14. El-Beshbishy HA, Singab ANB, Sinkkonen J, Pihlaja K. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Morus alba L.* (Egyptian mulberry) root bark fractions supplementation in cholesterol-fed rats. *Life Sci* 2006;78(23):2724-33.
15. Kim DS, Ji HD, Rhee MH, Sung YY, Yang WK, Kim SH, et al. Antiplatelet activity of *Morus alba* leaves extract, mediated via inhibiting granule secretion and blocking the phosphorylation of extracellular-signal-regulated kinase and akt. *Evid Based Complement Alternat Med* 2014;2014.
16. Deepa M, Sureshkumar T, Satheeskumar PK, Priya S. Antioxidant rich *Morus alba* leaf extract induces apoptosis in human colon and breast cancer cells by the downregulation of nitric oxide produced by inducible nitric oxide synthase. *Nutr Cancer* 2013;65(2):305-10.
17. Wang W, Zu Y, Fu Y, Efferth T. In vitro antioxidant and antimicrobial activity of extracts from *Morus alba L.* leaves, stems and fruits. *Am J Chin Med* 2012;40(2):349-56.
18. Tamtaji O, Taghizadeh M, Takhtfiroozeh S, Talaei S. The effect of *elaegnus angustifolia* water extract on scopolamine-induced memory impairment in rats. *Sci J Zanjan* 2014;22(95):101-11. [Full Text in Persian]
19. Hasselmo ME. The role of acetylcholine in learning and memory. *Curr Opin Neurobiol* 2006;16(6):710-15.
20. Gomathi R, Manian S. Analgesic and acetylcholinesterase inhibition potential of polyphenols from *Scolopia crenata* (Flacourtiaceae): An endemic medicinal plant of India. *Ind Crops Prod* 2015;73:134-43.
21. Kumar S, Mahaseth RK, Tiwari M, Sehgal R, Rajora P, Mathur R. Interaction of aqueous leaf extract of *Aegle marmelos (L.)* Corr. with cholinergic, serotonergic and adrenergic receptors: An ex vivo study. *Indian J Pharmacol* 2015;47(1):109-13.
22. Boudouda HB, Zeghib A, Karioti A, Bilia AR, Öztürk M, Aouni M, et al. Antibacterial, antioxidant, anti-cholinesterase potential and flavonol glycosides of *Biscutella raphanifolia* (Brassicaceae). *Pak J Pharm Sci* 2015;28(1):153-8.
23. Smach M, Hafsa J, Charfeddine B, Dridi H, Limem K. Effects of sage extract on memory performance in mice and acetylcholinesterase activity. *Ann Pharm Fr* 2015;73(4):281-8.
24. Kamal Z, Ullah F, Ayaz M, Sadiq A, Ahmad S, Zeb A, et al. Anticholinesterase and antioxidant investigations of crude extracts, subsequent fractions, saponins and flavonoids of *atriplex laciniata L.* potential effectiveness in Alzheimer's and other neurological disorders. *Biol Res* 2015;48:21.
25. Raghavendra H, Prashith K, Khanum F. Acetylcholinesterase inhibitory activity of Green tea polyphenols. *Sci Technol Arts Res J* 2015;3(4):141-2.
26. Chtourou Y, Gargouri B, Kebieche M, Fetoui H. Naringin abrogates cisplatin-induced cognitive deficits and cholinergic dysfunction through the down-regulation of ache expression and inos signaling pathways in hippocampus of aged rats. *J Mol Neurosci* 2015;56(2):349-62.
27. Bouhali IE, Tayaa H, Tahraoui A. Quercetin, a natural flavonoid, mitigates fenthion induced locomotor impairments and brain acetylcholinesterase inhibition in male wistar rat. *Middle-East J Sci Res* 2015;23(1):55-8.

Original Article

The Effect of Alcoholic Extract of *Morus Alba* Leaves on Learning and Spatial Memory in Male Rats

Omid Reza Tamtaji¹, Mohammad Behnam², Mojgan Mohammadifar³, Seyed Alireza Talaei¹, Seyed Mahdi Takhtfiroozeh⁴, Mohsen Taghizadeh^{3*}

¹Physiology Research Center, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

²Student Research Committee, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

³Research Center for Biochemistry & Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

⁴Student Research Committee, Hormozgan University of Medical Sciences, Bandar Abbas, Iran.

*Corresponding Author:
Mohsen Taghizadeh,
Research Center for Biochemistry & Nutrition in Metabolic Diseases, Kashan University of Medical Sciences, Kashan, Iran.

Email:
taghizadeh_m@kaums.ac.ir

Received: 9 Aug, 2015

Accepted: 12 Oct, 2015

Abstract

Background and Objectives: Various diseases, such as multiple sclerosis, Parkinson, Alzheimer, and dementia lead to impairment in learning and memory. Several studies have been performed to investigate the effects of medicinal plants on improvement of learning and memory and prevention of these disorders. In the present study, the effect of alcoholic extract of *Morus Alba* leaves was investigated on learning and spatial memory in male rats.

Methods: This study was performed on 32 male Wistar rats. Animals were assigned to four groups, including control group and 3 groups receiving alcoholic extract of *Morus Alba* leaves at doses of 100, 200, and 400mg/kg. This extract was daily administered by gavage. After one month, learning and spatial memory were evaluated by Morris water maze.

Results: Administration of alcoholic extract of *Morus Alba* at all doses led to improvement of learning process in rats. Also, this extract at the dose of 400mg/kg improved spatial memory in rats.

Conclusion: The results of this study showed that administration of alcoholic extract of *Morus Alba* leads to increases in learning and consolidation of spatial memory in healthy rats.

Keywords: *Morus Alba* leaves; Spatial memory; Learning; Morris water maze.