مجله علوم پزشکی رازی دوره ۲۷، ویژه‌نامه فیزیولوژی ورزش، ۱۳۹۹

مقاله پژوهشی

تأثیر کورکومین پوشش شده با نانوذرات کیتوزان بر فراموشی ناشی از اتانول در موش سوری نژاد NMRI

گل جهان ایری: کارشناسی ارشد، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گروه زیست شناسی، گرگان، ایران

نسرین سادات اعظمی: استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گروه زیست شناسی، گرگان، ایران (* نویسنده مسئول) azaminasrin@gmail.com

محمود حیدری: استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گروه زیست شناسی، گرگان، ایران

مهدی عبادی: استادیار، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان، گروه شیمی، گرگان، ایران

چکیده

زمینه و هدف: تأثیر استفاده از داروهای گیاهی با خواص آنتی‌اکسیدانی بالا از جمله کورکومین و همچنین روش‌های نانوتکنولوژی جهت بهبود فراموشی در مدل آلزایمر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند. در این مطالعه پتانسیل نانوذرات کیتوزان حاوی کورکومین در بهبود فراموشی ناشی از اتانول مورد بررسی قرار گرفته است.

روش کار: در این مطالعه تجربی، ۱۲۸ سر موش سوری نژاد NMRI به وزن ۴۰-۳۰ گرم در سه آزمایش استفاده شد. تزریق بصورت درون صفاقی صورت گرفت. آزمایش اول جهت تعیین دوز مناسب اتانول به منظور تخریب حافظه، آزمایش دوم به منظور اثبات عدم ایجاد فراموشی توسط کورکومین، آزمایش سوم، جهت بررسی تأثیر دوزهای مختلف کورکومین پوشش شده با نانوذرات کیتوزان بر فراموشی ایجاد شده توسط اتانول انجام شد. داده‌ها در نرم‌افزار SPSS وارد شدند و توسط آزمون ANOVA و تست تعقیبی Tukey تجزیه و تحلیل شدند. $p< ۰/۰۵$ سطح معنی‌داری اول در نظر گرفته شد.

یافته‌ها: آزمایش اول نشان داد که دوزهای mg/kg ۱، ۰/۷۵ ۰/۵ اتانول به طور معنی‌داری ($p< ۰/۰۰۱$ و $p< ۰/۰۱$) باعث فراموشی می‌شوند. آزمایش دوم نشان داد که کورکومین پوشش شده با نانوذرات کیتوزان باعث ایجاد فراموشی نمی‌شوند. آزمایش سوم نشان داد که همه دوزهای کورکومین با اختلاف معنی داری ($p< ۰/۰۰۱$) باعث بازگشت حافظه تخریب شده می‌شوند. ولی تزریق نانوذرات کیتوزان و سالین باعث بهبود حافظه تخریب شده نمی‌شوند.

نتیجه‌گیری: نانوذرات کیتوزان استفاده شده در این مطالعه می‌تواند باعث اثرگذاری دوزهای پایین کورکومین در بهبود حافظه گردد. با این حال، تحقیقات بیشتری در استفاده از این نانوذرات جهت انتقال خوراکی داروها مورد نیاز می‌باشد.

تعارض منافع: گزارش نشده است.

منبع حمایت کننده: حامی مالی نداشته است.

کلیدواژه‌ها

کورکومین،
کیتوزان،
نانوذرات،
اتانول،
فراموشی

تاریخ دریافت: ۹۹/۰۴/۱۶

تاریخ چاپ: ۹۹/۱۲/۰۳

شیوه استناد به این مقاله:

Iri G, Azami N, Heidari M, Ebadi M. Effect of chitosan nanoparticle enclosed curcumin on ethanol induced amnesia in NMRI mice. Razi J Med Sci. 2020;27(Special Issue-Sport Physiology):26-36.

*انتشار این مقاله به‌صورت دسترسی آزاد مطابق با CC BY-NC-SA 3.0 صورت گرفته است.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]

Razi Journal of Medical Sciences. 2020;27(Special Issue-Sport Physiology):26-36.
http://rjms.iums.ac.ir

Original Article

Effect of chitosan nanoparticle enclosed curcumin on ethanol induced amnesia in NMRI mice

Goljahan Iri: MSc, Department of Biology, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran
Nasrinsadat Azami: Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran (*Corresponding author) azaminasrin@gmail.com
Mahmoud Heidari: Assistant Professor, Department of Biology, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran
Mehdi Ebadi: Assistant Professor, Department of Chemistry, Islamic Azad University, Gorgan Branch, Gorgan, Iran

Abstract

Background & Aims: Amnesia is known as central feature and the most prominent symptoms of Alzheimer's disease (AD). Extracellular deposition of beta amyloid peptide and intracellular accumulations of tau protein are contributed in histopathological features of AD. The effect of medicinal herbs with high antioxidant property such as curcumin and nanotechnology approaches has been studied in amnesia improvement of Alzheimer animal model. Recently, positive effects of curcumin on neurogenesis as well as neuronal differentiation by activating brain drived neurotrophic factors have been shown, so that curcumin is being tested in phase II clinical trials. However, some curcumin features including insolubility in water, short half-life, low bioavailability and chemical instability at physiological pH have caused auxiliary use of nanotechnology to improve its biological function. Blood Brain Barrier (BBB) is considered as an obstacle for brain drug delivery. To overcome, different nanocarrier drug delivery systems are being studied. Amongst, chitosan nanoparticle has unique properties that can meet expectations.
Chitosan, a cationic natural polysaccharide, is extensively used in central nervous system scaffold preparations systems in the last decade. It has been applied in for loaded drugs transportation to targeted organs in several cases of CNS and other disorders. Several advantages are considered for chitosan including biodegradability, biocompatibility, flexibility in surface modification and ease of multiple preparation methods. At the molecular level, chitosan exhibits its anti-Alzheimer effect by preventing kinase phosphorylation, inhibiting proinflammatory cytokines and blocking nitric oxide sythase which make it an attractive for nanocarrier forming material. In this study, potential of curcumin included Chitosan nanoparticles has been evaluated in improvement of amnesia induced by ethanol.
Methods: Curcumin was extracted from 10 gr Curcuma longa rhizome dried powder. The extracted components was dried, dissolved in the mixture of water and alcohol to purification of curcuminoid using electrochemically technique. The purified curcuminoid was neutralized using diluted phosphoric acid and dried in the shadow side. The purified powder of curcuminoids was characterized by FTIR. The yield was quantified and qualified using UV-Vis and HPLC. In this experimental study, 128 NMRI mice weighing 30-40mg were used in three phases. Animals were acclimated for two weeks, kept at 23 ± 2°C on a 12:12-h light-dark cycle (lights on 08:00-20:00) with free access to food and water. The mice were randomly divided into 16 groups (8 mice at each group). All experiments were carried out during the light phase between 9:00 and 14:00. Injections were done intraperitoneally. The inhibitory passive avoidance tests were done using shuttle box apparatus which is consisted of two compartments of the same size (20×20×30 cm2) connected to each other and separated by a guillotine

Keywords
Curcumin,
Chitosan,
Nanoparticle,
Ethanol,
Amnesia

Received: 06/07/2020
Published: 22/02/2021

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]

door. Floor and walls of one compartment was white while the other compartment's walls were dark with stainless steel bars in the floor. A stimulator provided intermittent electric shocks (50 Hz, 3s, 1.5 mA intensity) to the grid floor of the dark compartment. Passive avoidance behavior included two consecutive days, training in the first day and behavioral test in the day after. Training included two steps: habituation and acquisition. Habituation: Each animal was gently placed in the white compartment; after 5s, the animal was allowed to enter the dark compartment. The latency in which the animal entered the dark chamber was recorded. Latency more than 100s excluded animal from the experiments. Acquisition: thirty minutes after habituation step, animal put in the white chamber. Following complete enter to the dark chamber, the guillotine door was closed and a foot shock (50 Hz, 1 mA and 3s) was immediately delivered to the grid floor of the dark room. Twenty second later, the animal was returned to its cage. Two minutes later, animal was put again in the white chamber, the guillotine door was opened and the latency time was recorded. No enter to the dark chamber during 120s represents successful acquisition of inhibitory avoidance response. Behavioral test step: On the test day (the day after training) each animal gently placed in the white chamber and the guillotine door was opened 10s later. The latency time was recorded as indicator of inhibitory avoidance. Entering to the dark chamber wasn't followed by electric foot shocks. This study was conducted in three phases.The first phase was performed to get optimal ethanol dose can induce amnesia, the second phase to prove non impairing effect of nanoparticle enclosed curcumin, and the third phase to survey the effect of different doses of nanoparticle enclosed curcumin on amnesia induced by ethanol. Data was recorded and analyzed in GraphPad Prism software using ANOVA and Tukey post hoc test. $P<0.05$ was considered as first significant level.

Results: The first phase result showed that doses 0.5, 0.75, 1 mg/kgBW of ethanol can significantly induce amnesia. The second phase result showed non impairing effect of nanoparticle enclosed curcumin on memory function. The third phase result showed that all doses of nanoparticle enclosed curcumin can significantly ($p<0.001$) improve amnesia, but chitosan nanoparticle alone and saline couldn't.

Conclusion: Recently has been shown that cognitive functions, learning and memory are strongly affected by ethanol consumption. According to the results, ethanol can induce memory impairment dose-dependently. Besides, chitosan used in this study didn't impair memory function. The result that has been shown by such previous studies. Hence, chitosan has widely used as an appropriate nanocarrier in drug delivery system. Chitosan nanoparticles used in this study made even lower doses of curcumin to be effective in memory improvement while it has been reported that higher but not lower doses of curcumin can improve impaired memory. Therefore, a range of curcumin doses from high to low was investigated in this study. Drug delivery to the brain tissue requires passing blood brain barrier without any damage to its structure which is one of the most challenges in brain drug delivery. One approach is using anoparticle such as chitosan. It can be suggestad that chitosan not only promote curcumin solubility and bioavailability but also help drugs to pass blood brain barrier. Since, curcumin loaded in chitosan was deliverd to in vivo via intraperitoneal injection, However, more studies are needed for the application of this nanoparticle in oral drug delivery.

Conflicts of interest: None
Funding: None

Cite this article as:

Iri G, Azami N, Heidari M, Ebadi M. Effect of chitosan nanoparticle enclosed curcumin on ethanol induced amnesia in NMRI mice. Razi J Med Sci. 2020;27(Special Issue-Sport Physiology):26-36.

*This work is published under CC BY-NC-SA 3.0 licence.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]

مقدمه

فرایندی که از طریق آن اطلاعات به‌دست‌آمده در یادگیری ذخیره و سپس بازخوانی می‌شود حافظه نام دارد (۱). ایجاد اختلال در حافظه از عوارض بیماری‌های تحلیل برنده سیستم عصبی همچون آلزایمر، صرع و پارکینسون می‌باشد (۲). آلزایمر توسط دو ویژگی اصلی پاتولوژیک شناخته می‌شود که شامل تولید پروتئین بتا آمیلوئید و کلاف‌های رشته‌ای داخل نورونی هستند (۳) بر اساس یک گزارش جهانی حدود ۳۶ میلیون نفر در سال ۲۰۱۰ از بیماری آلزایمر در جهان رنج می‌برند و تخمین زده شده است که این رقم تا سال ۲۰۵۰ به حدود ۱۱۵ میلیون نفر می‌رسد (۴). استراتژی‌های مختلفی جهت درمان بیماری آلزایمر مطرح شده است از جمله استفاده از داروهای خوراکی مرسوم، سیستم‌های دارورسانی از طریق پوست، حفره دهانی و بینی و نهایتاً دارورسانی بر پایه نانوتکنولوژی (۵)

کورکومین به عنوان ماده مؤثره زردچوبه که از ریشه این گیاه به دست می‌آید مدت‌هاست که به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی شناخته شده است (۶،۷) امروزه مشخص شده است که آنتی‌اکسیدان‌های تغذیه‌ای نظیر کورکومین به‌واسطه افزایش میزان پروتئین‌های شوک حرارتی (HSPs) می‌توانند در مقابل آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو دارای نقش محافظتی برای سیستم عصبی باشند(۸،۹). نظر به اثرات سودمند ضدالتهابی و آنتی‌اکسیدانی که کورکومین در متابولیسم پروتئین بتا آمیلویید و جلوگیری از آسیب‌های سد خونی-مغزی، ادم مغزی، تغییرات بافتی و شیمیایی سیستم عصبی مرکزی دارد، پتانسیل بالقوه‌ای برای بهبود بیماری‌هایی چون آلزایمر و پارکینسون دارا می‌باشد (۱۰،۱۱).

مشکل اصلی استفاده از کورکومین، جذب و دسترسی زیستی (bioavailability) کم و حذف سریع آن از بدن می‌باشد. به همین دلیل روش‌های مختلفی برای افزایش کارایی و اثربخشی آن صورت گرفته است که یکی از آن‌ها استفاده از نانوذرات می‌باشد (۱۲). استفاده از نانوذرات چندین مزیت به دنبال دارد از جمله اندازه بسیار ریز، ایجاد میزان سطح قابل تنظیم و همچنین میزان تعلیق پذیری یا سوسپانسیون زیاد که منجر به تسهیل اتصال به سد خونی مغزی می‌گردد (۱۳).

کیتوزان ترکیبی داستیله شده و مشتق از کیتین طبیعی است که از ورود آن به حوزه داروسازی حدود سه دهه می‌گذرد. نانوذرات آن با اندازه‌ای کمتر از ۱۰۰ نانومتر کاربردهای وسیعی به دلیل سمی نبودن و تجزیه‌پذیر بودن در رساندن دارو داشته است (۱۴،۱۵).

مطالعات مختلف نقش کورکومین همراه با کیتوزان در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از کادمیوم در بافت‌های بدن (۱۶) حذف پلاک‌های بتا آمیلوئیدی در بیماری آلزایمر (۱۷) بهبود حافظه تخریب شده در مدل بیماری صرع (۱۸) را نشان داده‌اند. انتقال کورکومین همراه با کیتوزان به روش خوراکی و سنجش میزان کورکومین آزاد شده در پلاسمای خون (۱۹) و بافت مغز (۲۰) نشان‌دهنده عملکرد مؤثر کیتوزان در رساندن کورکومین در محیط in vivo بوده است.

در این مطالعه از اتانول جهت القاء فراموشی استفاده شده است. مطالعات نشان داده‌اند که اتانول بخش زیادی از تأثیر مخرب خود بر حافظه را از طریق اثر روی هیپوکامپ پشتی و از طریق برهمکنش با گیرنده‌های سروتونرژیک در سطح سلولی و مولکولی اعمال می‌کند (۲۱).

تا آنجا که بررسی‌های ما نشان داد تاکنون از نانوذرات کیتوزان جهت انتقال کورکومین در مدل بیماری آلزایمر استفاده نشده است. لذا در این مطالعه، کورکومین درون نانوذرات کیتوزان بارگذاری شده و تأثیر آن بر فراموشی ایجاد شده توسط اتانول در موش سوری مورد ارزیابی قرار گرفت. لذا هدف اصلی این مطالعه بررسی تأثیر نانوذرات کیتوزان حاوی کورکومین بر فراموشی ناشی از اتانول بوده است و به این پرسش پاسخ داده شود که آیا این نانوذرات کیتوزان قادرند در محیط in vivo کورکومین را رها کرده و تاثیری بر فراموشی ناشی از اتانول داشته باشند یا خیر.

روش کار

حیوانات: در این مطالعه تجربی که با کد اخلاق IR.IAU.AK.REC.1399.003 مورد تصویب قرار گرفت از موش سوری نر نژاد NMRI به وزن تقریبی ۴۰-۳۰ گرم استفاده شد. موش‌ها از موسسه انستیوپاستور آمل خریداری شدند و به محل نگهداری حیوانات آزمایشگاهی در دانشگاه آزاد اسلامی گرگان منتقل

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]

شدند. طی مدت دو هفته سازگار شدن با محیط حیوان خانه و پس از آن، دسترسی آزاد به آب و غذای کافی برای حیوانات وجود داشت. دمای حیوان خانه در ۳ ±۲۲ درجه حرارت و وضعیت روشنایی بصورت ۱۲ ساعت تاریکی و ۱۲ ساعت روشنایی تنظیم شده بود. موش‌ها به ۱۶ گروه ۸ تایی تقسیم شدند. کار با حیوانات طبق ملاحظات اخلاقی صورت گرفت و تلاش شد تا همه آزمایش‌ها در یک ساعت مشخص از روز انجام گیرد.

داروها: نانوذرات کیتوزان و کورکومین توسط مرکز تحقیقات مواد و آنالیز ترکیبات طبیعی و شیمیایی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان تهیه شدند. ماده کورکومین با استفاده از روش الکتروشیمیایی از زردچوبه به دست آمد. در این روش که به شماره ۹۴۴۴۶، تاریخ ۱۳۹۶/۱۰/۳ ثبت اختراع کشوری گردیده است ابتدا از الکتروفیلترهای پایه معدنی (زیست سازگار) با TiO_2 ساخته شد سپس برای تهیه عصاره اتانولی، ۵۰ گرم ریزوم زردچوبه را با حلال اتانول ۹۶٪ به نسبت ۱:۱۰ مخلوط کرده و روی همزن مغناطیسی با دور ۵۰۰ دور در دقیقه، دمای ۵۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳ ساعت تیمار گردید. عصاره به‌دست‌آمده صاف شد سپس توسط سیستم دو الکترودی و دستگاه اتولب در مدت زمان ۱۵ دقیقه و سطح الکتروفیلترهای ۳ سانتی متر مربعی مورد استخراج قرار گرفت (۲۲). قبل از تزریق کورکومین و کیتوزان، لایه نازکی از آن‌ها در پلیت ایجاد و در اتوکلاو با دمای ۱۲۱ درجه و فشار ۱۵ psi استریل و سپس خشک شدند (۲۳). جهت رقیق سازی از سرم فیزیولوژی استریل استفاده شد.

حافظه اجتنابی غیرفعال و روش بررسی آن: این نوع حافظه توسط دستگاهی بنام شاتل باکس مورد آزمایش قرار می گیرد. این دستگاه از دو اتاقک با ابعاد یکسان با طول و عرض ۲۰ سانتی متر و ارتفاع ۳۰ سانتی متر تشکیل شده است. یک اتاقک دارای رنگ روشن و اتاقک دیگر دیواره مشکی رنگ دارد. این دو اتاقک توسط یک درب گیوتینی از یکدیگر جدا می شوند. علاوه بر این کف اتاقک تاریک میله های استیل شوک دهنده ای تعبیه شده اند که می‌توانند جریان الکتریکی را به بدن حیوان منتقل نمایند. هر شوک الکتریکی یک جریان الکتریکی است با شدت یک میلی آمپر، فرکانس ۵۰ هرتز که توسط دستگاه استیمولاتور به مدت ۳ ثانیه فراهم می‌شود.

رفتار احترازی غیرفعال در موش‌ها در دو روز پشت سر هم مورد بررسی قرارگرفت. در روز اول ایجاد آموزش و در روز دوم برگشت حافظه مورد بررسی قرار می گیرد. مرحله آموزش خود دارای سه مرحله است:

مرحله عادت (Pre-training): هر موش در اتاقک روشن قرار داده می‌شود و بعد از گذشت ۵ ثانیه درب گیوتینی باز می‌شود و به موش اجازه ورود به اتاقک تاریک داده می‌شود. زمان تاخیر ورود به اتاقک تاریک ثبت می‌گردد. ۱۰ ثانیه پس از ماندن در اتاقک تاریک، حیوان به قفس بازگردانده می‌شود. چنانچه زمان تاخیر بیش از ۱۰۰ ثانیه باشد، آن موش از مطالعه حذف می‌گردد.

مرحله اکتساب حافظه (Training): پس از گذشت ۳۰ دقیقه، مجدداً موش در اتاقک روشن قرار داده می‌شود. ۵ ثانیه بعد درب گیوتینی باز می‌شود. پس از ورود موش به اتاقک تاریک، درب گیوتینی بسته می‌شود و به حیوان شوک الکتریکی داده می‌شود. حیوان بعد از ۱۰ ثانیه به قفس بازگردانده می‌شود.

مرحله پس از آموزش (Post-training): به منظور اطمینان از آموزش، دو دقیقه بعد مجددا حیوان در اتاقک روشن قرار داده می‌شود. اگر فرایند آموزش به درستی انجام شده باشد، موش وارد اتاقک تاریک نخواهد شد. در حقیقت، مدت زمان تاخیر ورود به اتاقک تاریک ملاک میزان حافظه القاء شده می‌باشد. در این صورت، مرحله آموزش پایان یافته است. اما در صورتی که حیوان وارد اتاقک تاریک شود، دریافت شوک و تست آموزش مجددا تکرار می‌گردد.

بررسی برگشت حافظه: حافظه ایجاد شده در مرحله آموزش، در روز دوم (۲۴ ساعت بعد از آموزش)، تست برگشت حافظه انجام می‌شود تا حافظه بلند مدت حیوان بررسی شود. در این مرحله حیوان در اتاقک روشن قرار می گیرد و بعد از ۱۰ ثانیه درب گیوتینی باز می‌شود و زمانی که طول می کشد تا حیوان وارد اتاقک تاریک شود یادداشت می‌شود. در صورتی که حافظه حیوان تثبیت شده باشد، وارد اتاقک تاریک نمی‌شود. پس از ۵ دقیقه و اندازه گیری زمان سپری شده در هر اتاقک، بررسی حافظه خاتمه می یابد.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]

گروه های مورد آزمایش

تزریق در همه گروه ها بصورت درون صفاقی انجام شد. بعلاوه، در روز آموزش تزریق دارو بلافاصله بعد از آموزش (Post-training) و در روز بررسی برگشت حافظه ۳۰ دقیقه قبل از تست (Pre-test) انجام گرفت. جهت تهیه غلظت های مورد نیاز آزمایش، کورکومین و نانوذرات کیتوزان در سالین حل و تزریق شدند.

آزمایش اول: پنج گروه (در هر گروه ۸ سر موش) جهت اطلاع از این که کدام دوز اتانول (Dose response) می تواند فراموشی را القاء نماید مورد استفاده قرار گرفت. موش‌های گروه اول بلافاصله بعد از آموزش سالین دریافت کردند. در روز بررسی برگشت حافظه، ۳۰ دقیقه قبل از تست، سالین دریافت کردند و سپس تست حافظه با استفاده از دستگاه شاتل باکس انجام گرفت. موش‌های گروه های دوم، سوم، چهارم و پنجم بلافاصله بعد از آموزش به ترتیب دوزهای مختلف اتانول شامل ۰/۲۵ mg/kg BW ، ۰/۵، ۰/۷۵و ۱ را بصورت درون صفاقی دریافت کردند و در روز بررسی برگشت حافظه، نیم ساعت قبل از تست، سالین تزریق شد و سپس مورد تست حافظه قرار گرفتند.

آزمایش دوم: شامل ۵ گروه (در هر گروه ۸ سر موش) جهت اطلاع از اینکه دوزهای مختلف کورکومین پوشش شده با نانوذرات کیتوزان، خود باعث تخریب حافظه نمی شوند انجام گرفت. موش‌های گروه اول بلافاصله بعد از آموزش سالین و در روز بررسی برگشت حافظه، سالین حاوی کیتوزان هم حجم با میزان سایر گروه ها دریافت کردند و سپس مورد تست حافظه قرار گرفتند. موش‌های گروه دوم، سوم، چهارم و پنجم در روز آموزش سالین و در روز بررسی برگشت حافظه نیم ساعت قبل از تست، به ترتیب دوزهای مختلف کورکومین پوشش شده با نانوذرات کیتوزان شامل ۶/۵ mg/kg BW، ۱۲،۲۵/۵، ۵۰ دریافت کردند و سپس مورد تست حافظه قرار گرفتند.

آزمایش سوم: شامل ۵ گروه (در هر گروه ۸ سر موش) که در روز آموزش دوز تخریب کننده اتانول (۱ mg/kg BW) را بلافاصله پس از آموزش دریافت کردند و در روز بررسی برگشت حافظه، نیم ساعت قبل از تست، دوزهای مختلف کورکومین پوشش شده با نانوذرات کیتوزان دریافت کردند و سپس مورد تست حافظه قرار گرفتند. گروه اول در روز آموزش دوز تخریب کننده اتانول و در روز بررسی برگشت حافظه سالین حاوی نانوذرات کیتوزان دریافت کردند و تست حافظه روی آن‌ها انجام گرفت. گروه های دوم، سوم، چهارم و پنجم در روز آموزش دوز تخریب کننده اتانول (۱ mg/kg BW) و در روز بررسی برگشت، نیم ساعت قبل از تست حافظه، دوزهای مختلف کورکومین پوشش شده با نانوذرات کیتوزان ۶/۵ mg/kg BW، ۱۲،۲۵/۵، ۵۰ دریافت کردند و سپس تست حافظه انجام شد.

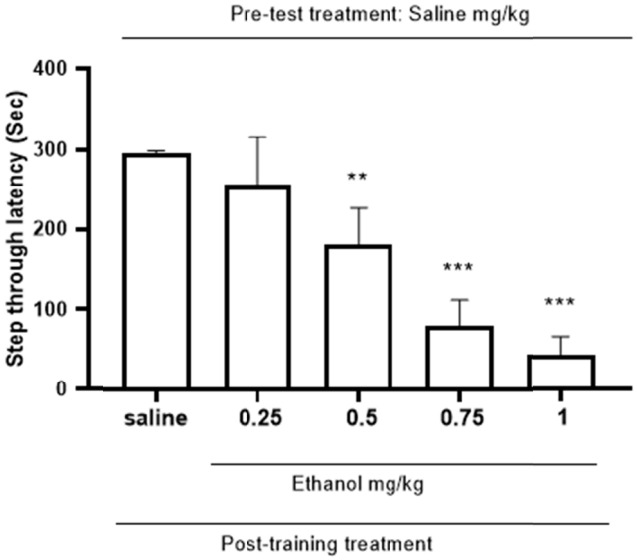
تجزیه و تحلیل آماری: زمان تاخیر ورود به اتاقک تاریک در روز بررسی برگشت حافظه به عنوان شاخص حافظه در نظر گرفته شد. داده ها بصورت میانگین و انحراف معیار در نرم افزار آماری SPSS نسخه ۲۵ وارد شد. آزمون آماری ANOVA و تست تعقیبی Tukey جهت تحلیل داده مورد استفاده قرار گرفت. $p < ۰/۰۵$ به عنوان سطح معنی داری اول در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

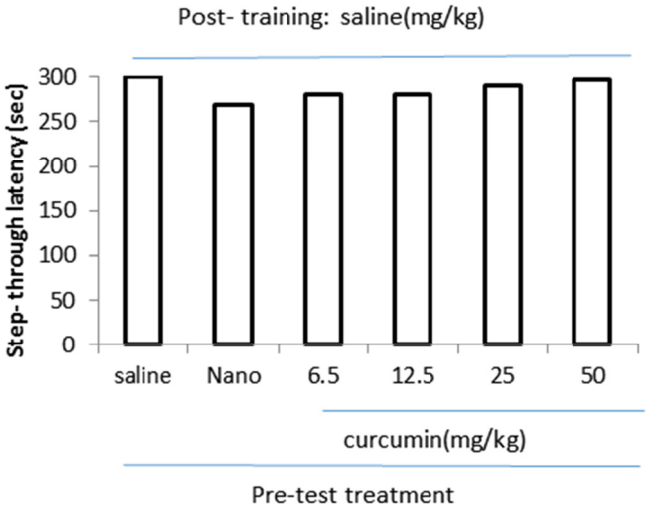
آزمایش اول Dose response اتانول: نتیجه این آزمایش در نمودار ۱ دیده می‌شود. تزریق سه دوز اتانول شامل ۰/۵ mg/kg BW، ۰/۷۵ و۱ در روز آموزش در مقایسه با حیواناتی که سالین دریافت نمودند به طور معنی داری سبب تخریب حافظه و ایجاد فراموشی شد بدون اینکه باعث مرگ و میر حیوانات گردد. در حالیکه دوز ۰/۲۵ mg/kg BW اختلاف معنی داری با گروه کنترل نشان نداد. بعلاوه تخریب دوزهای ۰/۷۵ mg/kg BW و ۱ در $P < ۰/۰۰۱$ و دوز ۰/۵ mg/kg BW در $P < ۰/۰۱$ معنی دار شده است. به عبارت دیگر با افزایش دوز اتانول، زمان تاخیر به خانه تاریک کاهش یافته است.

آزمایش دوم Dose response کورکومین: همانگونه که در نمودار ۲ قابل مشاهده است تفاوت معنی داری بین گروه های آزمایشی شامل دوزهای مختلف کورکومین پوشش شده با نانوذرات کیتوزان و نانوذرات کیتوزان به تنهایی با گروه سالین مشاهده نمی‌شود. به عبارت دیگر تزریق دوزهای مختلف کورکومین و نانوذرات کیتوزان به تنهایی قبل از تست در روز برگشت حافظه باعث ایجاد فراموشی یا تخریب

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]



نمودار ۱- تاثیر تزریق پس از آموزش اتانول یا سالین بر زمان تأخیر ورود به محل شوک. سه دوز mg/kg BW ۰/۵، ۰/۷۵ و۱ با اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه سالین/ سالین باعث ایجاد فراموشی شدند. ۰/۰۰۱ > P*** و ۰/۰۱ > P**



نمودار ۲- تاثیر تزریق پیش از تست کورکومین و نانوذرات کیتوزان در ایجاد فراموشی در مقایسه با گروه سالین/ سالین. هیچ تفاوت معنی داری بین گروه های آزمایشی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده نشد.

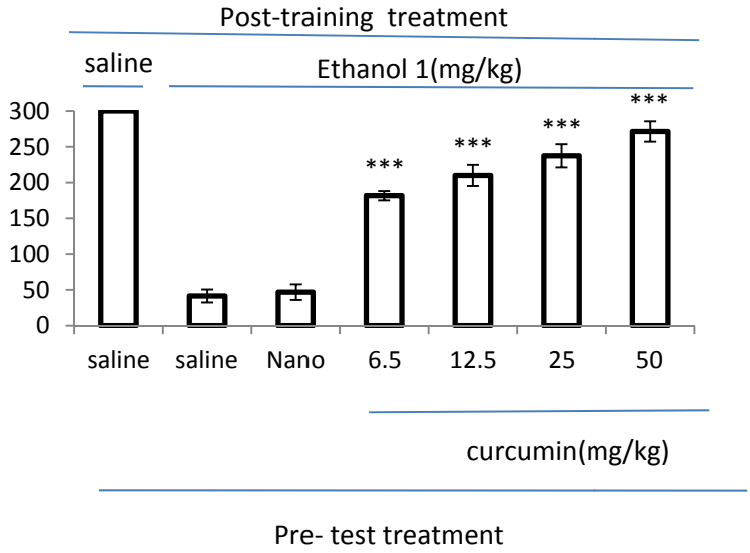
حافظه نمی شوند.

آزمایش سوم: نتیجه این آزمایش در نمودار ۳ نشان داده شده است. تزریق همه دوزهای کورکومین پوشش شده در نانوذرات کیتوزان در روز برگشت حافظه توانستند حافظه تخریب شده توسط اتانول در روز آموزش را بطور معنی داری (p <۰/۰۰۱) برگردانند. در حالیکه تزریق نانوذرات کیتوزان به تنهایی و سالین در روز برگشت منجر به بازگشت حافظه نگردید.

بحث

امروزه مشخص شده است که فرایندهای شناختی، حافظه و یادگیری به شدت تحت تأثیر مصرف اتانول قرار می گیرند به نحوی که از طریق ایجاد اختلالات نوروفیزیولوژیکی در هیپوکمپ کاهش فرایندهای ذکر شده را به دنبال دارند (۲۴،۲۵). سیستم‌های نوروترانسمیتری مختلفی که می‌توانند تحت تأثیر اتانول قرار گیرند شامل گلوتامات، دوپامین، استیل کولین، گابا و آمینو اسیدی می باشند(۲۶). نشان داده شده است

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]



نمودار ۳- تاثیر تزریق پیش از تست دوزهای مختلف کورکومین بر زمان تأخیر ورود به محل شوک. همه دوزهای کورکومین به یک میزان با اختلاف معنی داری باعث بازگشت حافظه تخریب شده با اتانول گردیده اند. تزریق نانوذرات کیتوزان فاقد کورکومین و سالین پیش از تست منجر به بازگشت حافظه نشدند. ***P<۰/۰۰۱

که اتانول قادر به تخریب انواع مختلف حافظه اعم از اجتنابی و یا فضایی در مدل های حیوانی است (۲۷،۲۸). جهت ایجاد فراموشی می توان داروها از جمله اتانول را در روز آموزش بلافاصله پس از آموزش (۲۹) و یا قبل از تست در روز برگشت حافظه (۳۰) استفاده کرد. اتانول در مطالعه حاضر در روز آموزش جهت ایجاد فراموشی مورد استفاده قرار گرفت. در حقیقت هدف از آزمایش اول این بود که دوز مناسب (Dose response) اتانول جهت ایجاد فراموشی به دست آورده شود. همانگونه که نمودار ۱ نشان می دهد دوزهای ۰/۷۵ mg/kg BW و ۱ اتانول به یک میزان و سپس دوز ۰/۵ mg/kg BW به میزان کمتر باعث ایجاد فراموشی شد در حالیکه دوز ۰/۲۵ mg/kg BW قادر به ایجاد فراموشی نشد. به عبارت دیگر اتانول بصورت وابسته به دوز باعث ایجاد فراموشی گردید. با توجه به این نتایج، از دوز ۱ mg/kg BW در آزمایش‌های بعدی جهت ایجاد فراموشی استفاده شد. فراموشی در این مطالعه به دلیل اختلال در حافظه اجتنابی غیرفعال ایجاد گردیده است. در مطالعه دیگری نشان داده شده است که اتانول قادر است باعث ایجاد اختلال در حافضه فضایی (spatial memory) نیز گردد که در آن عملکرد حافظه در ماز آبی موریس (Morris water maze) دچار اختلال می‌شود (۲۸)

هدف از انجام آزمایش دوم نیز کسب اطمینان از عدم تأثیر منفی نانوذرات کیتوزان به تنهایی و همچنین دوزهای مختلف کورکومین پوشش شده در نانوکیتوزان بر فرایند یادگیری و حافظه بوده است و همانگونه که نمودار ۲ نشان می دهد تزریق دوزهای مختلف کورکومین پوشش شده در نانوذرات و نانوذرات کیتوزان به تنهایی در روز برگشت حافظه تأثیر منفی بر فرایند حافظه ندارند.

اگرچه می توان انتظار داشت که کورکومین تأثیر منفی بر حافظه اعمال نکند، ولی بالستر و همکاران (۲۰۱۱) نشان دادند که حتی داروهای مفید برای آلزایمر همانند دونپزیل نیز می‌توانند باعث تضعیف فعالیت شناختی در افراد سالم سالمند بشوند (۳۱) در این خصوص این توجیه وجود دارد که پاسخ افراد به داروها می تواند به سن افراد، دوز دارو، شدت و نوع فراموشی بستگی داشته باشد (۳۲). با این حال عدم تأثیر منفی کورکومین در این آزمایش نشان داده شد. بعلاوه، عدم تأثیر منفی کیتوزان نیز بر حافظه اجتنابی غیر فعال در این آزمایش حاصل گردید. نتیجه ای که توسط محققان دیگر در ارتباط با حافظه فضایی نشان داده شده است (۱۸) و لذا کیتوزان در بسیاری از مطالعات به عنوان یک حامل مناسب جهت انتقال مواد مختلف در درمان بیماری آلزایمر مورد استفاده قرار

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]

گرفته است(۳۳).

در آزمایش سوم، بلافاصله پس از آموزش اتانول جهت ایجاد فراموشی تزریق شد و تأثیر دوزهای مختلف کورکومین در روز برگشت حافظه قبل از انجام تست تزریق شد و همانگونه که نمودار ۳ نشان می دهد تزریق سالین و نانوذرات کیتوزان به تنهایی قادر به برگشت حافظه نشده اند در حالیکه تمامی دوزهای کورکومین پوشش شده با نانوذرات در یک سطح معنی داری یکسانی توانستند فراموشی ایجاد شده را بهبود ببخشند.

در ارتباط با دوزهای مورد آزمایش کورکومین، روغنی و همکاران (۱۳۹۰) نشان دادند که کورکومین در دوز بالا (۵۰ mg/kg BW) می تواند باعث بهبود یادگیری و حافظه اجتنابی و فضایی گردد(۳۴). قدیمی و همکاران نیز (۱۳۹۱) نشان دادند که تزریق دوز های پایین تر کورکومین (۱۰ mg/kg BW و ۳۰) نمی‌توانند تخریب فرایند یادگیری ناشی از اسکوپولامین را بهبود بخشند در حالیکه تزریق دوز بالاتر (۶۰ mg/kg BW) می تواند این اختلال را بهبود ببخشد(۳۵). از آنجایی که یکی از اهداف مطالعه حاضر ارزیابی پتانسیل نانوذرات کیتوزان جهت انتقال کورکومین بوده است لذا طیفی از دوزهای بالا، متوسط و پایین شامل ۶/۵ mg/kg BW، ۱۲/۵، ۲۵ و ۵۰ مورد مطالعه قرار گرفت. با توجه به نتایج نمودار ۳ می توان چنین استنباط نمود که استفاده از نانوذرات کیتوزان توانسته است اثرات تقویتی دوزهای پایین کورکومین را نیز در بهبود حافظه آشکار سازد. رساندن دارو به بافت مغز پس از عبور از سد خونی مغزی بدون آسیب رساندن به ساختار آن یکی از چالش های مهم در حوزه دارورسانی می‌باشد (۳۶). علی رغم پتانسیل بسیار بالای کورکومین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی و نقش محافظتی آن در برابر استرس اکسیداتیو به منظور بهبود اختلالات شناختی ایجاد شده در بیماری آلزایمر(۳۷) ، به دلیل حلالیت کم آن در آب و متعاقبا کاهش فراهمی زیستی (bioavailability) و همچنین ناپایداری در شرایط خنثی و قلیایی بطور گسترده ای در درمان بیماری ها مورد استفاده قرار نمی گیرد(۳۸). یکی از راهکارهای عبور از چنین مشکلی استفاده از نانوذرات است. زیرا نشان داده شده است که قرار گرفتن در پوشش های نانو می تواند حلالیت کورکومین را افزایش دهد(۳۹). انتقال مؤثر کورکومین توسط نانوذرات به بافت مغز جهت درمان آلزایمر و یا صرع در مطالعات مختلف نشان داده شده است(۱۸،۴۰،۴۱). یکی از نانوذرات پلیمری که می تواند به صورت کپسولی اطراف ذرات کورکومین قرار گیرد کیتوزان می‌باشد. تا آنجایی که بررسی‌های ما نشان داد هیچ مطالعه ای تأثیر نانوذرات کیتوزان حاوی کورکومین را بر بهبود فراموشی در حیوانات مدل آلزایمر مورد بررسی قرار نداده است. مطالعه پیشین ما با استفاده از تکنیک HPLC نشان داد که نانوذرات کیتوزان می تواند به طور موثرتری انتقال کورکومین به بافت مغز در موش‌های مدل آلزایمری را به انجام برسانند(داده ها منتشر نشده اند). آبروزو و همکاران (۲۰۱۲) نشان دادند که کیتوزان از طریق ایجاد تعامل خوب با مایع بزاق باعث باز کردن اتصالات بین سلول های اپیتلیومی شده و نهایتاً باعث بهبود دارورسانی می‌گردد(۴۲). علی رغم اینکه خوراندن دارو به حیوان آزمایشگاهی و اطمینان از دریافت دوز کامل آن به عنوان یک محدودیت تحقیقاتی قابل ذکر است، ولی با توجه به فراوانی پلیمر کیتین، پتانسیل بالای کیتوزان جهت استفاده در صنایع غذایی و دارویی(۴۳).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این تحقیق، می توان پیشنهاد انکپسوله کردن کورکومین در نانوذرات کیتوزان جهت ساخت داروی خوراکی در بیماران آلزایمری را مطرح نمود. هرچند مطالعه تکمیلی بالینی نیز اجتناب ناپذیر است.

تقدیر و تشکر

این مطالعه مستخرج از پایان نامه کارشناسی ارشد خانم گل جهان ایری دانشجوی دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان بوده است و تحت ملاحظات اخلاقی صورت پذیرفته است.

References

1. Forehand CJ. Integrative functions of the nervous system. Rhoades R, Tann G Med Physiol 2nd ed Philadelphia Williams Wilkins. 2003;130–2.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]

2. Okano H, Hirano T, Balaban E. Learning and memory. Proc Natl Acad Sci. 2000;97(23):12403–4.

3. Peric A, Annaert W. Early etiology of Alzheimer's disease: tipping the balance toward autophagy or endosomal dysfunction? Acta Neuropathol. 2015;129(3):363–81.

4. Nisbet RM, Polanco J-C, Ittner LM, Götz J. Tau aggregation and its interplay with amyloid-β. Acta Neuropathol. 2015;129(2):207–20.

5. Di Stefano A, Iannitelli A, Laserra S, Sozio P. Drug delivery strategies for Alzheimer's disease treatment. Expert Opin Drug Deliv [Internet]. 2011;8(5):581–603. Available from: http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1517/17425247.2011.561311

6. Belkacemi A, Doggui S, Dao LL, Ramassamy C. Challenges associated with curcumin therapy in Alzheimer disease. Expert Rev Mol Med. 2018 Nov;13(November 2011):1–15.

7. Moore TL, Bowley B, Shultz P, Calderazzo S, Shobin E, Killiany RJ, et al. Chronic curcumin treatment improves spatial working memory but not recognition memory in middle-aged rhesus monkeys. Geroscience. 2017;571–84.

8. Mancuso C, Bates TE, Butterfi DA, Calafato S, Cornelius C, Lorenzo A De, et al. Natural antioxidants in Alzheimer ' s disease. Expert Opin Investig Drugs. 2007;16(12):1921–31.

9. Sikora E, Scapagnini G, Barbagallo M. Curcumin, inflammation, ageing and age-related diseases. Immunity and Ageing. 2010.

10. Fang L, Gou S, Fang X, Cheng L, Fleck C. Current progresses of novel natural products and their derivatives/analogs as anti-Alzheimer candidates: an update. Mini Rev Med Chem. 2013;13(6):870–87.

11. Goozee KG, Shah TM, Sohrabi HR, Rainey-Smith SR, Brown B, Verdile G, et al. Examining the potential clinical value of curcumin in the prevention and diagnosis of Alzheimer's disease. Br J Nutr. 2016;115(3):449–65.

12. Hagl S, Kocher A, Schiborr C, Kolesova N, Frank J, Eckert GP. Curcumin micelles improve mitochondrial function in neuronal PC12 cells and brains of NMRI mice–impact on bioavailability. Neurochem Int. 2015;89:234–42.

13. Kogan MJ, Bastus NG, Amigo R, Grillo-Bosch D, Araya E, Turiel A, et al. Nanoparticle-Mediated Local and Remote Manipulation of Protein Aggregation. Nano Lett [Internet]. 2006 Jan [cited 2018 Feb 8];6(1):110–5. Available from: http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/nl0516862

14. Raafat D, Sahl H. Minireview Chitosan and its antimicrobial potential – a critical literature survey. 2009;2:186–201.

15. Tang C, Chen N, Zhang Q, Wang K, Fu Q, Zhang X. Preparation and properties of chitosan nanocomposites with nanofillers of different dimensions. Polym Degrad Stab [Internet]. 2009;94(1):124–31. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.polymdegradstab.2008.09.008

16. Ahmad M, Taweel GMA, Hidayathulla S. Nano-composites chitosan-curcumin synergistically inhibits the oxidative stress induced by toxic metal cadmium. Int J Biol Macromol [Internet]. 2018;108:591–7. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813017342605

17. Yang, Rui and Zheng, Yan and Wang, Qingjun and Zhao L. Curcumin-loaded chitosan bovine serum albumin nanoparticles potentially enhanced A beta 42 phagocytosis and modulated macrophage polarization in Alzheimer's disease. Nanoscale Res Lett. 2018;13(1):330.

18. Hashemian M, Anisian D, Ghasemi-Kasman M, Akbari A, Khalili-Fomeshi M, Ghasemi S, et al. Curcumin-loaded chitosan-alginate-STPP nanoparticles ameliorate memory deficits and reduce glial activation in pentylenetetrazol-induced kindling model of epilepsy. Prog Neuro-Psychopharmacology Biol Psychiatry [Internet]. 2017;79(April):462–71. Available from: http://dx.doi.org/10.1016/j.pnpbp.2017.07.025

19. Chen H, Wu J, Sun M, Guo C, Yu A, Cao F, et al. N-trimethyl chitosan chloride-coated liposomes for the oral delivery of curcumin. J Liposome Res [Internet]. 2012 Jun 1;22(2):100–9. Available from: https://doi.org/10.3109/08982104.2011.621127

20. Ramalingam P, Ko YT. Enhanced oral delivery of curcumin from N-trimethyl chitosan surface-modified solid lipid nanoparticles: Pharmacokinetic and brain distribution evaluations. Pharm Res. 2015;32(2):389–402.

21. Asadi Motlagh M, Pakpour B, Navaian M. The effect of 5-HT3 receptor agonist of the ventral hippocampus on amnesia induced by ethanol in mice. Feyz J Kashan Univ Med Sci. 2018;22(3):239–47.

22. Malekifar P, Ebadi M, Nadimi MA Ahmadigolsefidi M. High purity rate curcumin extraction from Turmeric using electrochemical method. Iran: Real Estate Registration Organization of Iran; 94446, 2017.

23. Shabani SH, Zojaji M. Assessment of contaminated spices employed in food preperation concerned with the heat resistant spores. 2011;

24. Squeglia LM, Schweinsburg AD, Pulido C, Tapert SF. Adolescent binge drinking linked to abnormal spatial working memory brain activation: differential gender effects. Alcohol Clin Exp Res. 2011;35(10):1831–41.

25. Schulteis G, Archer C, Tapert SF, Frank LR. Intermittent binge alcohol exposure during the periadolescent period induces spatial working memory deficits in young adult rats. Alcohol. 2008;42(6):459–67.

26. Schummers J, Browning MD. Evidence for a

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]

role for GABAA and NMDA receptors in ethanol inhibition of long-term potentiation. Mol Brain Res. 2001;94(1–2):9–14.

27. Hajizadeh E, Khezri S, Piri M. Influence of ethanol on amnesia and state-dependent learning induced by scopolamine in male mouse. J Anim Biol. 2014;6(4):1-11.

28. Rajaei F, Moghaddam-shad M, Salehi Z. The effects of amygdalin on the morphologic structure of mouse cerebellar cortex. J Shahrekord Uuniversity Med Sci. 2013;15.

29. Piri M, Moshfegh A, Raoufi N, Shahin M. The influence of L-arginine in the improving effect of nicotine on ethanol- induced amnesia. 2012;

30. Pakpour B, Hadidi A hosein, Navaeian M, Jafari P, Ghobadnia B, Mohammadi B. Repair ethanol induced amnesia with Iranian Lactobacillus brevis in rats. 2015;

31. Balsters JH, O'Connell RG, Martin MP, Galli A, Cassidy SM, Kilcullen SM, et al. Donepezil impairs memory in healthy older subjects: Behavioural, EEG and simultaneous EEG/fMRI biomarkers. PLoS One. 2011;6(9).

32. Repantis D, Laisney O, Heuser I. Acetylcholinesterase inhibitors and memantine for neuroenhancement in healthy individuals: a systematic review. Pharmacol Res. 2010;61(6):473–81.

33. Sarvaiya J, Agrawal YK. Chitosan as a suitable nanocarrier material for anti-Alzheimer drug delivery. Int J Biol Macromol [Internet]. 2015;72:454–65. Available from: http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0141813014005960

34. Roghani M, Baluchnejadmojarad T. The effect of curcumin on short-term spatial memory and passive avoidance learning and memory in diabetic rats and evaluation of the role of lipid peroxidation. Daneshvar. 2012;19(97):51–60.

35. Ghadami MR, Pourmotab A, Khademi N. The protective effect of curcumin on scopolamine induced spatial learning and memory deficits in rats. J Kermansha Univ Med Sci. 2012;16(3):201.

36. Al Asmari AK, Ullah Z, Tariq M, Fatani A. Preparation, characterization, and in vivo evaluation of intranasally administered liposomal formulation of donepezil. Drug Des Devel Ther [Internet]. 2016 [cited 2018 Feb 2];10:205–15. Available from: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4716722/pdf/dddt-10-205.pdf

37. Ghosh S, Banerjee S, Sil PC. The beneficial role of curcumin on inflammation, diabetes and neurodegenerative disease: A recent update. Food Chem Toxicol. 2015;83:111–24.

38. Al-Musawi S, Naderi-Manesh H, Mohammad Hassan Z, Yeganeh H, Nikzad S, Kheiri Manjili H. Construction of polyurethane polymeric-based nano-carriers for curcumin in cancer therapy. Pathobiol Res. 2015;17(4):25–39.

39. Bharali DJ, Siddiqui IA, Adhami VM, Chamcheu JC, Aldahmash AM, Mukhtar H, et al. Nanoparticle delivery of natural products in the prevention and treatment of cancers: current status and future prospects. Cancers (Basel). 2011;3(4):4024–45.

40. Mourtas S, Lazar AN, Markoutsa E, Duyckaerts C, Antimisiaris SG. Multifunctional nanoliposomes with curcumin-lipid derivative and brain targeting functionality with potential applications for Alzheimer disease. Eur J Med Chem. 2014;

41. Lazar AN, Mourtas S, Youssef I, Parizot C, Dauphin A, Delatour B, et al. Curcumin-conjugated nanoliposomes with high affinity for Abeta deposits: possible applications to Alzheimer disease. Nanomedicine. 2013 Jul;9(5):712–21.

42. Abruzzo A, Bigucci F, Cerchiara T, Cruciani F, Vitali B, Luppi B. Mucoadhesive chitosan/gelatin films for buccal delivery of propranolol hydrochloride. Carbohydr Polym. 2012;87(1):581–8.

43. Molaee Aghaee E, Kamkar A, Akhondzadeh Basti A, Khanjari A, Kontominas MG. Effect of packaging with Chitosan biodegradable films formulated with Garlic essential oil (Allium sativum L.) on the chemical properties of chicken fillet. Iran J Heal Environ. 2015;8(3):379–90.

[Downloaded from rjms.iums.ac.ir on 2026-11-18]