مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی کردستان / دوره بیستم / آذر و دی 1394/109-102

بررسی اثر مهارکنندگی عصاره اتانولی گیاه سعد کوفی (Cyperusrotandus) بر روی آنزیم استیل کولین استراز

غلامعلی نادری[1]، رضا حاج حسینی[2]، مریم عباسی[3]، آرزو محرابیان[4]

1. دانشیار ،گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران (مولف مسوول)، تلفن ثابت:021-88963849،naderi@shahed.ac.ir

2. استادیار، گروه بیوشیمی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران.

3. کارشناس ارشد، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

4. دکتری عمومی پزشکی، گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران.

چکیده

مقدمه: زوال عقل (Dementia) کاهش پیش‌رونده در توانایی‌های درکی و شناختی است، که ممکن است به علت بیماری یا صدمه به مغز ایجاد شود. دمانس انواع مختلفی دارد که شایع‌ترین آن بیماری آلزایمر است. استیل کولین (acetylcholine) یکی از واسطه های شیمیایی مغز است که در ثبت، نگهداری و یادآوری اطلاعات در مغز نقش کلیدی دارد. سلول های عصبی ترشح کننده ی این ماده در زمره ی نخستین سلول هایی هستند که از تغییرات آسیب شناختی بیماری آلزایمر متأثر شده و از بین می روند.استراتژی دارودرمانی آلزایمر طبق آنچه در علل بروز آن وجود دارد بر اساس: افزایش تاثیر استیل کولین (از طریق افزایش مقدار استیل کولین یا افزایش حسّاسیت گیرنده های آن و یا افزایش پیش سازهای استیل کولین)، افزایش نوروترانسیمترها و نیز محافظت سلولهای عصبی خواهد بود. مهارکننده های کولین استراز داروهای اصلی درمان آلزایمر هستند. به نظر میرسد جلوگیری از تجزیه استیل کولین از طریق مهار آنزیم کولین استراز، میتواند در تثبیت حافظه و قدرت تفکّر اهمیّت زیادی داشته باشد. با توجه به نیاز به داروهایی با عوارض کمتر برای درمان بیماری آلزایمر، این مطالعه با هدف بررسی اثر مهارکنندگی عصاره گیاه سعد کوفی برروی آنزیم استیل‌کولین‌استراز انجام گردید.

روش بررسی: فعالیت آنزیم استیل کولین استراز (AchE) براساس روش المن و همکاران با مقیاس $\frac{nmol}{min/mg}$ اندازه‌گیری شد و سپس با استفاده از نمودار لینوربرگ میزان Km , V_{max} و Ki واکنش‌ها محاسبه شد. در تمام مراحل غلظت آنزیم ثابت بود و فعالیت آن در شش غلظت استیل‌تیوکولین (5، 10، 15، 20، 25 و30 میلی‌مولار) در دمای اتاق (27-25 درجه سانتیگراد) بر اساس میزان جذب نوری در طول موج 412 nm اندازه‌گیری شد؛ آزمایشات در حضور غلظت‌های مختلف فیزوستیگمین (0/5، 0/75، 1، 1/5 و 2) (mg/100ml) و همچنین در حضور غلظت‌های مختلف سعدکوفی (0/1، 0/2، 0/3، 0/4، 0/5، 0/6 و 0/7)(mg/ml) انجام گردید. همچنین براساس معادله دیکسون (Dixon plot) با اثر غلظت‌های مختلف مهارکننده‌ها و محاسبه درصد فعالیت، میزان IC_{50} مهارکننده‌ها به‌دست آمد.

یافته ها: KI سعدکوفی تقریباً 40 برابر بیشتر از KI فیزوستگمین بود. میزان IC_{50} برای فیزوستگمین 2/21 µg/ml و برای سعدکوفی 139 µg/ml بود

نتیجه گیری: بر اساس مکانیسم مهارکنندگی آنزیمی هر چه میزان KI و نیز IC_{50} کمتر باشد قدرت مهارکنندگی بیشتر است، لذا با توجه به نتایج بدست امده فیزوستگمین نسبت به سعدکوفی مهارکننده قوی‌تری می‌باشد. البته با خالص‌سازی ماده موثره این گیاه ممکن است تاثیر و مهارکنندگی آن بیشتر گردد. علاوه براین سعد کوفی عوارض جانبی داروی شیمیایی فیزوستگمین اعم ازسرگیجه، تهوع و غیره را ندارد.

واژه های کلیدی: اسیتل کولین استراز، سعدکوفی، فیزوستگمین، آلزایمر.

وصول مقاله:93/12/12 اصلاحیه نهایی:94/6/16 پذیرش:94/7/19

مقدمه

زوال عقل (Dementia) عبارت است از کاهش پیشرونده در توانایی‌های درکی و شناختی که ممکن است به علت بیماری یا صدمه به مغز ایجاد شود. علایم اولیه زوال عقل شامل تغییر در شخصیت، رفتار، تأثیر بر حافظه کوتاه‌مدت، قدرت فهم و تکلمی باشد. دمانس انواع مختلفی دارد که شایعترین آن بیماری آلزایمر است (1). در این بیماری کاهش حافظه، رفتار غیر معمول، کاهش توانایی تفسیر و تغییر شخصیت دیده می‌شود (2). علل بیماری می‌تواند: 1)ژنتیک 2)سن 3)وجود آلومینیوم در محیط یا غذا باشد (3). روش‌های درمانی مشخص و قطعی برای این بیماری وجود ندارد لیکن با روش‌های مختلف می‌توان این بیماری را کنترل نمود و عوارض آن‌را کاهش داد. دراین راستا می‌توان استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و مهارکننده‌های استیل-کولین‌استراز و داروهای ضدالتهاب غیراستروئیدی رانام برد (4).

استیل‌کولین نقش بسیار مهمی را به عنوان یک ماده هدایت‌کننده جریان عصبی در اعصاب کنترل‌کننده عضلات مخطط، صاف، عضله قلبی و غدد بازی می‌کند. استیل‌کولین‌استراسیداستیک و کولین می‌باشد (5). استرازها در اصل گروهی از هیدرولازها می‌باشند. هیدرولازها سبب تسهیل عمل هیدرولیز اتصالات گوناگون می‌شوند (6). استیل-کولین استراز از نظر فیزیولوژی و مکانیسم عملکرد دارای اهمیت زیادی می‌باشد و می‌تواند به عنوان شاخص برای مطالعه فرآیند سیناپتوژن و میان‌کنش عصبی-عضلانی مورد بررسی قرار گیرد. استیل‌کولین‌استرازباعث تجزیه استیل-کولین در مواضع سیناپسی می‌گردد (7).

استفاده از مهارکننده‌های آنزیم کولین‌استراز به عنوان دارودر مواردی رخ می‌دهد که بدن با کاهش فعالیت کولینرژیک مواجه باشد و پزشک بخواهد با مهار آنزیم هیدرولیزکننده AChE میزان استیل‌کولین را در بدن افزایش دهد. از این دست داروها می‌توان فیزوستگمین را نام برد که یک مونومتیل کاربامات است. این دارو به آسانی از دستگاه گوارش، غشاهای مخاطی و زیر جلد جذب شده و از سد خونی مغزی عبور می‌کند و نیزدارای عوارض نامطلوبی مانند انقباض عضلانی، ضعف، تهوع، استفراغ، انقباض نایژه‌ها و تحریک سیستم اعصاب مرکزی است که با توجه به این عوارض آزار دهنده نیاز به داروهایی با عوارض کمتر می‌باشد (8).

سعد، گیاهی است از خانواده جگنها (Cyperaceae) که متجاوز از یکصد گونه دارد که بعضی ازگونه‌های آن مصرف دارویی دارند (9). سعدکوفی به طور کلی افزایش دهنده هوش و حافظه، مدر، التیام‌دهنده زخم، تب‌بر و ضد-آفت می‌باشد و نیز در موارد تپش قلب، یرقان و انگل‌های روده‌ای استفاده درمانی دارد (10). با توجه به خواص درمانی ذکر شده برای این گیاه در کتب طب سنتی و نیاز به داروهایی با عوارض کمتر برای درمان بیماری‌هایی هم‌چون آلزایمر،این مطالعه با هدف بررسی اثر مهارکنندگی عصاره گیاه سعد کوفی برروی آنزیم استیل‌کولین‌استراز انجام گردید.

روش بررسی

نوع مطالعه توصیفی – آزمایشگاهی بود. مراحل اجرا و مواد مورد نیاز:

الف-مواد:1)آنزیم استیل‌کولین‌استراز با فعالیت ویژه 52/63IU، 2) سوبسترای استیل‌تیوکولین با غلظت‌های 5 الی 30 میلی‌مولار 3) بافرفسفات 70 میلی‌مولار با 7/4 =PH،4)بافرتریس 25 میلی‌مولار با 7/4 =pH، 5) ماده رنگی 5و5 دی‌تیوبیس2نیتروبنزوئیک اسید 10 میلی مولار (DTNB) 6) فیزوستگمین وسعد کوفی با غلظت‌های مختلف بر حسب میلی‌گرم بر میلی‌لیتر.

ب- اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز: فعالیت آنزیم AChE بر اساس روش المن و همکاران با مقیاس $\frac{nmol}{min/mg}$ اندازه‌گیری شد (11). برای این منظور جهت بررسی میزان جذب نور از دستگاه اسپکتوفوتومتر

(UV.Vis مدل PG Instrument) استفاده شد، بنابراین محلول‌هایی به حجم 3/1 میلی‌لیتر شامل100 میکرولیتر ماده رنگی 5و5 دی‌تیوبیس2نیتروبنزوئیک اسید 10 میلی مولار (DTNB)، 40 میکرولیتر استیل‌تیوکولین یددار به عنوان سوبسترا با غلظت‌های مختلف ، 200 میکرولیتر آنزیم استیل کولین‌استراز با غلظت 1 میلی‌گرم در مولار، 60 میکرولیتر از مهارکننده‌های فیزوستگمین یا سعدکوفی ومابقی حجم لازم محلول بافر تریس در کووت‌های مختلف تهیه شد. محلول‌ها در فر به مدت 10 دقیقه تحت دمای 37-35 سانتیگراد قرار داده‌شدند و سپس توسط دستگاه اسپکتوفتومتر در طول موج 412 نانومتر برای مدت 20 دقیقه، هر دقیقه یک‌بار جذب نوری (دانسیته نوری) محلول‌ها اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم براساس نانومول بر دقیقه بر میلی‌گرم پروتیین نشان داده‌شد.

بررسی سینتیکی

در تمام مراحل غلظت آنزیم ثابت بود و فعالیت آن در شش غلظت استیل‌تیوکولین (5، 10، 15، 20، 25 و30 میلی‌مولار) در دمای اتاق (27-25درجه سانتیگراد) بر اساس میزان جذب نوری در طول موج 412 nm اندازه‌گیری شد؛ آزمایشات در حضور غلظت‌های مختلف فیزوستیگمین (0/5، 0/75، 1، 1/5 و 2)(mg/100ml) و

همچنین در حضور غلظت‌های مختلف سعدکوفی (0/1، 0/2، 0/3، 0/4، 0/5، 0/6 و 0/7)(mg/ml) انجام گردید. در تمام مراحل شرایط یکسان بوده و این دو ماده به عنوان مهارکننده آنزیمی مورد استفاده قرار گرفتند. در هر یک از آزمایشات پس از محاسبه میانگین جذب (ΔA) برای هر نمونه از رابطه زیر برای محاسبه سرعت آنزیم استفاده شد:

$$\text{Rate} = \frac{\Delta A.V}{1.36 \times 10^{-2}} \times \frac{1}{C.Y}$$

ΔA:اختلاف جذب؛ V:حجم کووت برابر با3/1ml؛ Y:حجم آنزیم برابر با0/2ml؛ C:غلظت آنزیم برابر با 1mg/ml

همچنین با استفاده از فرمول زیر درصد مهارکنندگی و درصد فعالیت آنزیم را در هر واکنش محاسبه گردید:

$$\text{درصد مهارکنندگی} = \frac{\text{سرعت در حضور مهارکننده} - \text{سرعت در غیاب مهارکننده}}{\text{سرعت در غیاب مهارکننده}}$$

درصد مهارکنندگی -ACT%=100

در مطالعات سینتیکی انجام شده با استفاده از نمودار لینوربرگ میزان Km و V_{max} وKiواکنش‌ها محاسبه شد. همچنین براساس معادله دیکسون (Dixon plot) با اثر غلظت‌های مختلف مهارکننده‌ها و محاسبه درصد فعالیت، میزان IC_{50} مهارکننده‌ها بدست آمد.

روش تهیه عصاره اتانولی سعد کوفی

ریشه گیاه به صورت ریزوم و مغز است که تنها ریزوم مورد استفاده قرار گرفت. ابتدا ریزوم جدا و آسیاب شد و سپس 100 گرم از پودر حاصل در یک بشر یک لیتری، توزین شد و مقدار 400 میلی‌لیتر اتانول 90 درصد به آن اضافه گردید. پس از مخلوط کردن محتویات داخل بشر با همزن، بشر به صورت در بسته در مکانی خشک و خنک به دور از نور آفتاب به مدت 72 ساعت نگه‌داری شد. در این مدت محتویات بشر به صورت روزانه مخلوط می‌گردید. در پایان محتویات بشر از کاغذ صافی (واتمن) عبور داده شد تا محلول صاف و یک دستی به‌دست آید. مایع حاصل در پلیت‌های شیشه‌ای که از قبل تهیه شده بود به صورت لایه ای ریخته و روی آن با پارچه توری پوشانیده شد که در نهایت منجر به تولید الکل بخار و عصاره گیاه گردید.

به منظور پیدا کردن بهترین غلظت جهت مهار آنزیم استیل-کولین‌استراز، سه غلظت 1mg/100ml، 1mg/10ml و 1mg/ml از عصاره سعدکوفی تهیه شد و تاثیر مهارکنندگی هر کدام از این غلظت‌ها مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شدکه بهترین اثر مربوط به غلظت 1mg/ml با اثر حدود 95% اثر مهارکنندگی بود. بنابراین از این غلظت به عنوان استوک جهت تهیه غلظت‌های مختلف از عصاره گیاه استفاده شد.

روش آماری

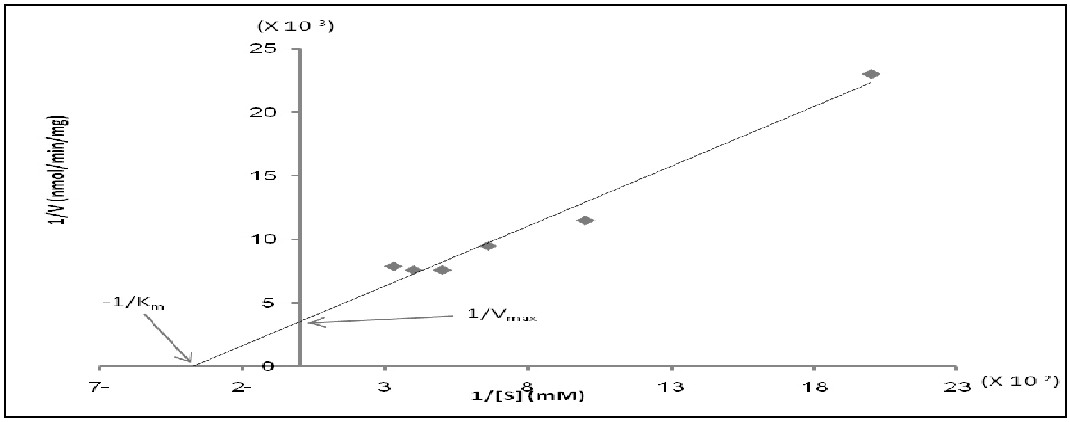
داده ها وارد محیط نرم افزار spss شده و با استفاده از شاخص های آمار توصیفی تحلیلی لازم انجام گردید و نتایج بصورت جدول و نمودار ارائه شد.

نتایج

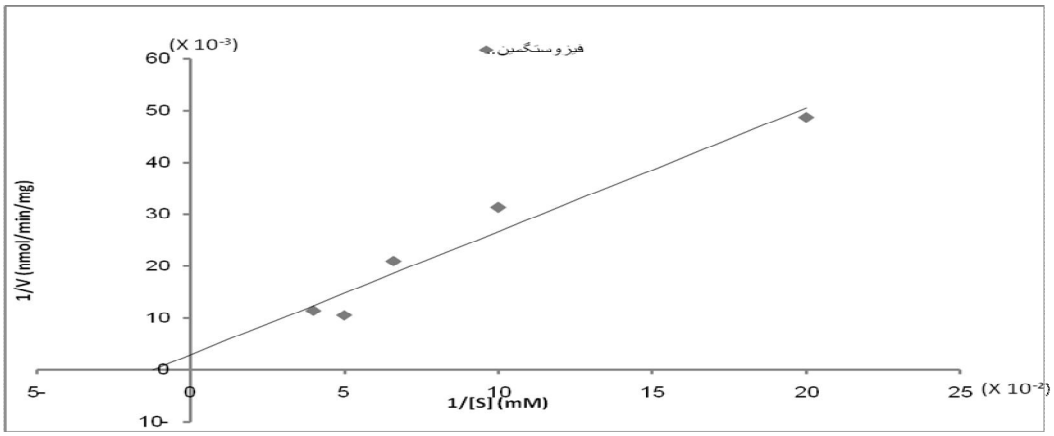
در حالت کنترل از غلظت‌های 5، 10، 15، 20، 25 و30 میلی‌مولار استیل‌تیوکولین‌یددار (سوبسترا) و غلظت 1mg/ml آنزیم استیل‌کولین‌استراز استفاده شد که در نتیجه Km واکنش برابر با 30mM و V_{max} واکنش برابر با $286\frac{nmol}{min/mg}$ بدست آمد (نمودار 1). هنگامی‌که از غلظت 10μg/ml فیزوستگمین در حضور غلظت‌های 5، 10، 15، 20، 25، 30 میلی مولار سوبسترا و غلظت 1mg/ml آنزیم استیل‌کولین‌استراز استفاده شد، مشابه حالت کنترل V_{max} واکنش برابر با $286\frac{nmol}{min/mg}$ بود ولی Km ظاهری واکنش برابر با 90mM گردید (نمودار2) (مهارکننده رقابتی). وقتی در همین شرایط از غلظت 400μg/ml سعدکوفی در حضور غلظت‌های 5، 10، 15، 20، 25، 30 میلی‌مولار سوبسترا و غلظت 1mg/ml آنزیم استیل‌کولین‌استراز استفاده‌شد V_{max} واکنش برابر با $106\frac{nmol}{min/mg}$ گردید ولی Km ظاهری واکنش برابر با 10mM به‌دست آمد (نمودار3) که نشان‌دهنده این موضوع است که عصاره گیاه سعدکوفی تاثیر مثبت خود را بر روی آلزایمر مانند فیزوستگمین از طریق مهار فعالیت آنزیم استیل‌کولین‌استراز نهاده است. اما برخلاف فیزوستگمین به‌صورت نارقابتی موجب مهار آنزیم می‌شود (جدول 1). هم‌چنین Ki واکنش طبق فرمول Km ظاهری مهارکننده رقابتی و نمودار لینوربرگ در غلظت 10 μg/ml فیزوستگمین برابر با 5μg/ml محاسبه شد و در غلظت 400μg/ml سعدکوفی با استفاده از فرمول Km ظاهری مهارکننده نارقابتی و به کمک نمودار لینوربرگ، Ki واکنش برابر با 200 μg/ml تعیین شد. در واقع Ki سعدکوفی تقریباً 40 برابر بیشتر از Ki فیزوستگمین بود، که بر اساس مکانیسم مهارکنندگی آنزیمی هر چه Ki میزان کمتر باشد قدرت مهارکنندگی بیشتر است. بنابراین فیزوستگمین قدرت مهارکنندگی بیشتری نسبت به سعدکوفی دارد. میزان IC_{50} در نمودار4 برای فیزوستگمین 2/21 μg/ml و در نمودار 5 برای سعدکوفی 139 μg/ml می‌باشد،که این خود نیز نشان‌دهنده قوی بودن اثر مهارکنندگی فیزوستگمین نسبت به سعد کوفی برروی آنزیم استیل کولین استراز می باشد.

جدول 1: مقایسه ثابتهای سینتیکی انزیم استیل کولین استراز در حضور مهار کننده های فیزوستگمین وسعدکوفی

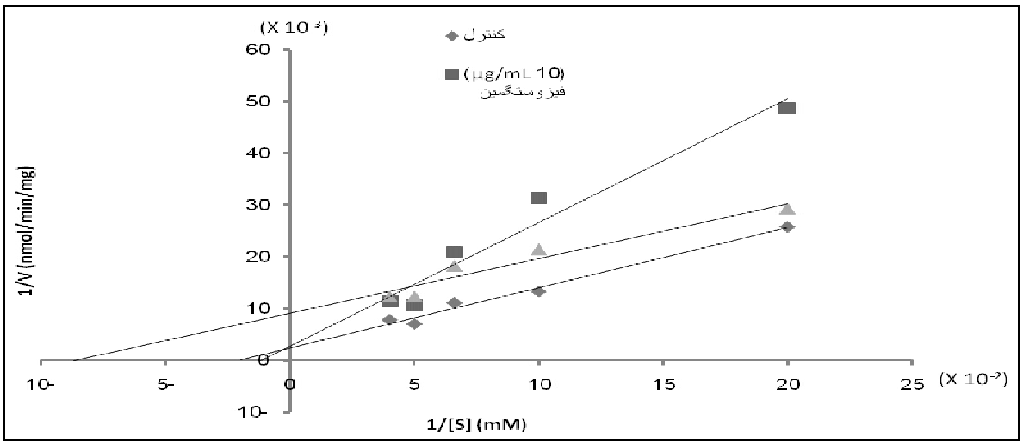
نام ترکیب	غلظت مهارکننده Ug/ml	نوع مهارکننده	IC_{50} μg/ml	Ki (μ/ml)	V_{max} $(\frac{nmol}{min/mg})$	Km (mM)
آنزیم نرمال	0	_	0	0	286	30
فیزوستگمین	10	رقابتی	3/21	5	286	90
سعد کوفی	400	نارقابتی	139	200	106	10



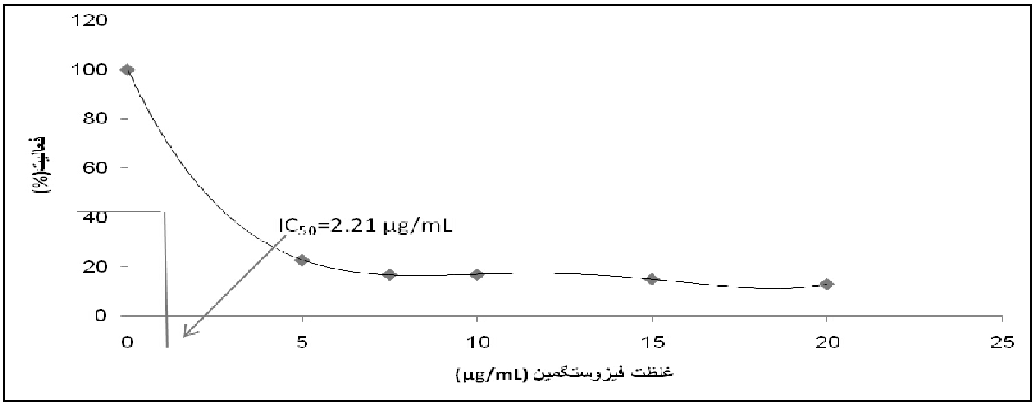
نمودار 1: منحنی لینوربرگ 1/V در مقابل 1/ASCh آنزیم استیل کولین استراز



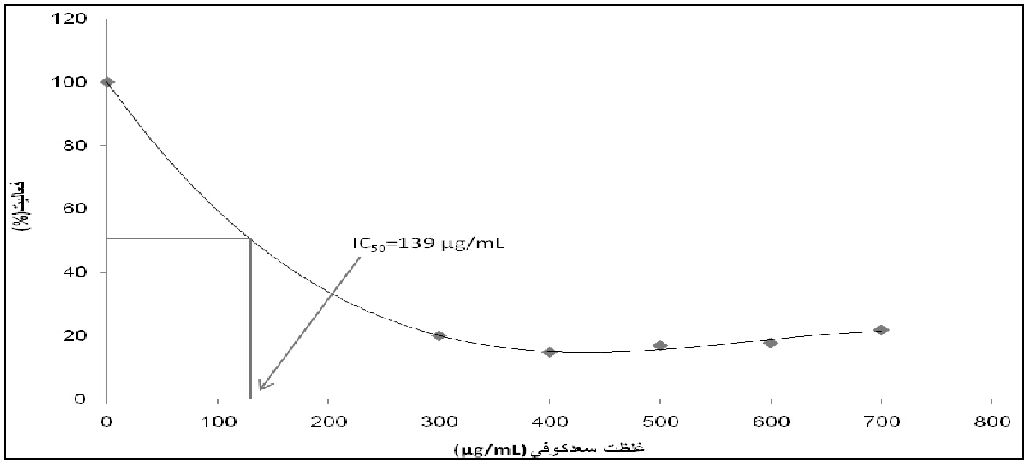
نمودار2: منحنی لینوربرگ 1/V در مقابل 1/ASCh در حضور غلظت 10 µg/ml مهارکننده فیزوستگمین



نمودار3: منحنی لینوربرگ 1/V در مقابل 1/ASCh در حضور مهارکننده فیزوستگمین (10 µg/ml) وعصاره گیاه سعدکوفی (400 µg/ml) وعدم حضور مهارکننده‌ها.



نمودار4: اثر غلظت‌های مختلف مهارکننده فیزوستگمین بر روی آنزیم استیل‌کولین‌استراز (محاسبه IC_{50}مهارکننده).



نمودار5: اثر غلظت‌های مختلف مهارکننده عصاره سعدکوفی بر روی آنزیم استیل‌کولین‌استراز (محاسبه IC_{50} مهارکننده).

بحث

برخی از ترکیبات شیمیایی قادرند با عوامل شیمیایی موجود در جایگاه فعال آنزیم ها یا با کوآنزیم و با یون‌های فعال‌کننده یک آنزیم اتصال برقرار نموده و به عنوان یک عامل مهاری در مقابل فعالیت کاتالیزوری آنها عمل نمایند (13و12). بسیاری از این ترکیبات مهارکننده آنزیم ها در قالب دارو و یا سموم برای درمان گروهی از بیماری‌ها مانند آلزایمر و گلوکوم مورد استفاده قرار می گیرند (16-14). از طرفی با توجه به روند افزایشی شیوع بیماری آلزایمر در بین سالمندان و مؤثر بودن داروهای مهارکننده آنزیم استیل کولین استراز در بهبود بیماری، یافتن داروهای جدید مهارکننده این آنزیم از اهمیت ویژه ای برخوردار است. یک دسته ازگیاهانی که اثرات بیولوژیک فراوانی برای آنها گزارش شده است گیاهان جنس Ferula هستند . این گیاهان سرشار از ترکیبات سزکویی ترپن وکومارین می باشند.در همین راستا در تحقیقی هما حاجی مهدی پور و همکاران اثرات مهارکننده آنزیم استیل کولین استراز برخی گونه های جنس Ferula را مورد بررسی قرارداده که نتایج مثبتی را در اکثر گونه های آن بدست آوردند (17). از طرفی دارو های فیزوستیگمین و گالانتامین دو ترکیب با ساختار آلکالوئیدی هستند که از گیاهان جدا شده اند و دارای اثر مهارکنندگی بر روی آنزیم استیل کولین استراز

می باشند (18). همچنین عصاره برخی از گیاهان مانند سعدکوفی برروی آنزیم استیل‌کولین‌استراز اثر مهاری داشته که می‌تواند در درمان بیماری آلزایمر و عدم پیشرفت آن موثر باشند. سعد کوفی دارای مواد موثره مختلف مانند ترکیبات آلکالوئید، فلاونوئید اولیگو مریک و تانین با خواص آنتی اکسیدانتی می باشد (19).کار برد بالینی و درمانی این گیاه بدلیل وجود این مواد موثره و نیز سایر ترکیبات مهم آن بعنوان اثرات ضد دیابت، ضد بیماریهای التهابی، ضد مالاریا، ضد درد، موثر در بیماریهای گوارشی و نیز ضد آلزایمر می باشد (21و20).

در تحقیقی R Sharman اثر مهاری سعد کوفی را بر روی آنزیم استیل کولین استراز در حیوانات و نیز گیاهان مورد بررسی و مقایسه قرار داد (22). همچنین در تحقیقی دیگر محمود عزیزی و همکاران با استفاده از مکمل غذایی حاوی عسل و زعفران و نیز سعد کوفی برای درمان بیماران آلزایمری نتایج مثبت و امیدوار کننده ای را بدست آوردند (23). همچنین در بررسی دیگر محمد رضا حجتی و همکاران با اثر ریزوم گیاه سعد کوفی و تاثیر مثبت بر روی فعالیت میانجی عصبی استیل کولین و متعاقب آن تاثیر بر روی تعادل حرکتی موش ها به نتایج مثبت و معنی داری رسیدند (19). مجموعه این تحقیقات نشان می دهد که گیاه سعد کوفی میتواند در درمان آلزایمر موثر باشد.

نتایج تحقیق ما نیز از نظر آزمایشگاهی نشان می‌دهد که سرعت ماکزیمم برای آنزیم (V_{max}) بدون مهارکننده برابر $286\frac{nmol}{min/mg}$ ودر حضور فیزوستگمین نیز 286 ولی در حضور سعدکوفی کاهش یافته و برابر با 106گردیده است ،بعلاوه ثابت میکائیلیس و منتون (Km) آنزیم بدون مهارکننده برابر با 30mM و با حضور فیزوستگمین90 و در حضور سعدکوفی 10 mM که کاهش یافته است. بر اساس این نتایج و به استناد معادلات مهم سنیتیک آنزیمی میکائیلیس-منتون ولنینوربرگ داروی فیزوستگمین بر روی آنزیم استیل‌کولین‌استراز بصورت مهارکننده رقابتی و سعدکوفی از نوع مهارکننده نارقابتی عمل می نماید. همچنین با مقایسه ثابت مهارکنندگی (KI) دو ترکیب، KI برای فیزوستگمین برابر با 5µg/ml و برای سعدکوفی 200 µg/ml می باشد و از طرف دیگر مقدار IC50 برای فیزوستگمین برابر 2/21ug/ml و برای سعد کوفی 139ug/ml خواهد بود. با توجه به اینکه میزان IC_{50} عصاره سعد کوفی نسبت به فیزوستگمین بیشتر است، لذا از نظر فارماکولوژیک، سعدکوفی نسبت به فیزوستگمین مهار کننده نسبتا ضعیف برای آنزیم می‌باشد. البته با خالص-سازی ماده موثره این گیاه ممکن است اثر مهارکنندگی آن بیشتری شود.

نتیجه گیری

براساس این نتایج اولا: مصرف این گیاه با توجه به مهار آنزیم استیل کولین استراز موثر در درمان بیماری آلزایمر خواهد بود،ثانیا: با وجود قدرت مهاری کمتر آن نسبت به داروی شیمیایی فیزوستگمین، انواع عوارض جانبی فیزوستگمین از جمله سرگیجه، تهوع وخواب آلودگی و... را برای انسان نخواهد داشت.

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله از زحمات بی شائبه آقای حسین نامی کارشناس بخش بیوشیمی دانشکده پزشکی دانشگاه شاهد و مسئولین دانشکده و همچنین از دانشگاه پیام نور استان تهران - دانشکده علوم پایه به خاطر همکاری در انجام پژوهش سپا سگزاری می نماید.

References

1. Rogin S, Ceaol F, Lippe. Alzheimer disease and other dementias. A review 2002; 17:7.
2. Parihar M.S, Hemneni T. Alzheimer disease pathogenesis and therapeutic interventions. Clinneurosci 2004; 11: 456-67.
3. Giacobini E. Do cholinesterase inhibitors have disease - modifying effect in Alzheimer's disease?. CNS Drugs 2001; 15: 85-91.
4. Lannert H, Hoyer S. Intracerebroventricular administration of streptozotocin causes long-term diminutions in learning and memory abilities and in cerebral energy metabolism in adult rats. BehavNeurosci, 1998; 112: 1199–1208.
5. Oliver, Camier. Pharmacology of the peripheral Autonomic Nervous system. Year book medical publishers, Inc., 1972; pp121-129.
6. Dixon M. Webb E. C. Enzymes, 3rd.end. Academic press Inc.USA., 1979. PP:208،301
7. Carrol R.T, Grimm J.L, Hepburn T. W and E merlingM.R.Purification of acethylcholinestrase by tacrine affinity chromatography. Protein expression and purification, 1995; pp389-393.
8. Oveysi Y., Pharmacology of neural system drugs, Medical publication of the year, 1370; pp54-66
9. Mirheydar H. Plant Sciences. Office of publication of Islamic culture.Tehran, 1375; pp351-357
10. Soltani A. Encyclopedia of traditional medicine. Arjomand Publisher. Tehram, 1383; pp447-448
11. Ellman G.L, Courthey K.D, Andres V, Featherstone A.M. A new and rapid colorimic determination of acetyl cholinesterase activity. Biochempharmacol 1961; 7:88-95
12. Carotti A, Candia M, Catto M. Ester derivatives of annulated tetrahydroazocines:A new class of selective acetylcholinesteraseinhibitors.Bioorg Med Chem. 2006; 14:7205-7212.
13. Choudhary M.I, Devkota K.P, Nawaz S.A, Ranjit R, Rahman A. Cholinesterase inhibitory pregnan- type steroidal alkaloids from SarcococcahookerianaStteroids. 2005; 70: 295-303.
14. Khalid A, Haq Z, Ghayur M.N, Feroz F, Rahman A, Choudhary M.I. Cholinesterase inhibitory and spasmolytic potential of steroidal alkaloids. Steroid BiochemMol Biol. 2004; 92: 477-489.
15. Ballaed C, Gauthier S, Corbett A, Brayne C, Aarsland D, Jones e. Alzheimer's disease. Lancet. 2011; 377: 1019-1031.
16. Massoud F, Leger G.C. Pharmacological treatment of Alzheimer disease. Can .j.Psychiatry. 2011;56:579-588.
17. Shekarchi, Hajimehdipoor H, Naghibi F. Investigating Acetylcholinesterase Inhibitory Effects of some Ferula. Journal of Medicinal Plants.2013:12:106-112.
18. Colombres M, Sagal J.P, Inestrosa N.C. An overview of the current and novel drugs for Alzheimer's disease with particular reference to anti-cholinesterase compounds. Curr. Pharm. Des. 2004; 10: 3121-3130.
19. Rabiei Z, Gholami M, Hojjati MR. The Effect of Cyperus Rotundus Ethanolic Extract on Motor Coordination in a Rat Model of Alzheimer. Journal of Shahrekord University of Medical Sciences. 2014: 92:43-54.
20. Singh N,Pandey BR,Varma P,Bhalla M and Gilca M. Phyto-pharmacotherapeutics of Cyperus rotundus Linn. (Motha): An overview.Indian Journal of Natural Products and Resources. 2012:3: 467-476.
21. Sivapalan S R. Medicinal uses and pharmacological activities of Cyperus rotundus Linn-A Review.International Journal of Scientific and Research Publications. 2013: 3: 2250-3153.
22. Sharma R., Gupta R. Cyperus rotundus extract inhibits acetylcholinesterase activity from animal and plants as well as inhibits germination and seedling growth in wheat and tomato. Life Sciences. 2007 :30;80:2389-92.
23. Jivadi N. Zare-Hassanabadi N; Azizi M. Effect of combination of honey, saffron (Crocus sativus L.) and sedge (Cyperus rotundus L.) on cognitive dysfunction in patients with Alzheimer's disease. Advanced Herbal Medicine. 2015;1: 11-16.