

Investigating the synergistic effects of piperine and curcumin nanoparticles on learning disorders, spatial memory, and oxidative damage induced by methamphetamines in mice

Parisa Saberi-Hasanabadi^{1,2},
Mohammad Saberi-Hasanabadi^{2,3},
Zahra Aliyari¹,
Hamed Ghazvini⁴,
Javad Akhtari⁵,
Pedram Ebrahimnejad⁶,
Hamidreza Mohammadi⁷

1. Ph.D in Toxicology and pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

2. Student Research Committee, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran.

3. Ph.D in Civil Engineering, Department of Civil Engineering, Saroye University, Mazandaran, Sari, Iran.

4. Assistant Professor, Department of Neuroscience, Faculty of Advanced Medical Technologies, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

5. Associate Professor, Department of Medical Nanotechnology, Faculty of Advanced Medical Technologies, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

6. Professor, Department of Pharmaceutics, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

7. Professor, Department of Toxicology, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received October 6, 2025; Accepted December 30, 2025)

Abstract

Background and purpose: The shift in drug consumption patterns from traditional compounds to industrial chemical substances and the use of stimulants and psychotropic substances is considered a serious problem. Industrial drugs are a combination of traditional drugs with chemical compounds, among which methamphetamine being a notable example. Due to the antioxidant effects and higher bioavailability of nanocurcumin and nanopiperine, this study investigated their synergistic effects on behavioral impairment, learning, and spatial memory through the reduction of oxidative stress induced by a toxic dose of methamphetamine.

Materials and methods: In this experimental study, 104 male mice were randomly divided into 13 groups and treated with curcumin and piperine nanoparticles. The acute toxicity of methamphetamine was evaluated in comparison with a control group. To assess learning and memory abilities, the Morris Water Maze (MWM) test was used. Additionally, key markers of oxidative stress, including glutathione (GSH), protein carbonyl levels (PC), lipid peroxidation (LPO), and reactive oxygen species (ROS), were measured. The MTT test was used to evaluate cellular metabolic activity.

Results: Methamphetamine significantly increased ROS levels, lipid peroxidation, protein carbonyls, while greatly reducing mitochondrial function and glutathione compared to the control group ($p < 0.001$). Cellular function improved and oxidative stress decreased in the mice treated with curcumin and piperine.

Conclusion: This study demonstrated that methamphetamine causes alterations in spatial memory and learning impairment, and oxidative damage in mice, leading to increased ROS production and mitochondrial damage. In addition to enhancing cellular function and attenuating oxidative stress, curcumin and piperine exhibited protective effects against methamphetamine-induced toxicity. Notably, their nanostructured formulations demonstrated significantly greater protective efficacy, likely attributable to improved cellular permeability and enhanced antioxidant capacity.

Keywords: Oxidative stress, Piperine-Curcumin nanoparticles, Methamphetamine.

J Mazandaran Univ Med Sci 2026; 35 (252): 4-17 (Persian).

Corresponding Author: Hamidreza Mohammadi Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: hmohammadi@farabi.tums.ac.ir)

بررسی اثرات هم افزایی نانوذرات پیپرین و کورکومین بر اختلالات یادگیری، حافظه فضایی و آسیب اکسیداتیو ناشی از مت‌آمفتامین‌ها بر موش سوری

پریسا صابری حسن آبادی^{۲،۱}

محمد صابری حسن آبادی^{۳،۲}

زهرا علی یاری^۱

حامد قزوینی^۴

جواد اختری^۵

پدرام ابراهیم نژاد^۶

حمیدرضا محمدی^۷

چکیده

سابقه و هدف: امروزه، تغییر الگوی مصرف مواد مخدر از ترکیبات سنتی به مواد صنعتی-شیمیایی و استفاده از ترکیبات محرک و روانگردان، به‌عنوان یک مشکل جدی به‌شمار می‌رود. مخدرهای صنعتی ترکیبی از مخدرهای سنتی با ترکیبات شیمیایی هستند که از میان آن‌ها می‌توان به مت‌آمفتامین اشاره کرد. به جهت تأثیر آنتی‌اکسیدانی و فراهمی زیستی بالاتر نانو کورکومین و نانو پیپرین، این مطالعه با هدف بررسی اثر هم‌افزایی این ترکیبات بر اختلال رفتاری، یادگیری و حافظه فضایی در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دوز سمی مت‌آمفتامین در موش سوری، انجام پذیرفت.

مواد و روش‌ها: در این مطالعه تجربی، به‌طور تصادفی از ۱۰۴ موش سوری نر در ۱۳ گروه تحت تیمار با نانوذرات کورکومین و پیپرین استفاده شد. سمیت حاد مت‌آمفتامین در آن‌ها با گروه شاهد بررسی گردید. به منظور ارزیابی توان یادگیری و حافظه، از تست ماز آبی موریس (MWM) و جهت آنالیز وضعیت استرس اکسیداتیو از سنجش گلوکوتاتیون (GSH)، پروتئین کربونیل (PC)، لیپید پراکسیداسیون (LPO)، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) و از تست (MTT) هم جهت ارزیابی فعالیت متابولیک سلولی استفاده شد.

یافته‌ها: مت‌آمفتامین به‌طور معنی‌داری باعث افزایش سطوح ROS، لیپید پراکسیداسیون، پروتئین کربونیل و کاهش معنی‌دار در عملکرد میتوکندریایی و گلوکوتاتیون نسبت به گروه شاهد شد ($P < 0/001$). این در حالی است که عملکرد سلولی در موش‌های دریافت‌کننده کورکومین و پیپرین بهبود یافته و استرس اکسیداتیو کاهش یافت.

استنتاج: مت‌آمفتامین موجب تغییر در یادگیری، اختلالات حافظه فضایی و آسیب اکسیداتیو در موش‌ها و منجر به تولید آتی ROS می‌شود که با آسیب میتوکندریایی همراه است. جدا از بهبود عملکرد سلولی و کاهش استرس اکسیداتیو توسط کورکومین و پیپرین، ترکیبات نانو ساختار آن‌ها، احتمالاً با تأثیر نفوذپذیری بیش‌تر و به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی بهتر، اثرات محافظت‌کنندگی بیش‌تری در برابر سمیت ناشی از مت‌آمفتامین از خود نشان می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: استرس اکسیداتیو، نانو کورکومین، نانو پیپرین، مت‌آمفتامین

مؤلف مسئول: حمیدرضا محمدی - ساری: پژوهشکده هم‌گلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران Email: hmohammadi@farabi.tums.ac.ir

۱. فارغ‌التحصیل گروه سم‌شناسی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۲. کمیته تحقیقات دانشجویی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۳. فارغ‌التحصیل دکترای تخصصی، گروه مهندسی عمران، دانشگاه سارویه، مازندران، ساری، ایران

۴. استادیار گروه علوم اعصاب، دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. دانشیار گروه نانوفناوری پزشکی دانشکده فناوری‌های نوین پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۶. استاد گروه فارماسیوتیکس، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۷. استاد گروه سم‌شناسی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۷/۱۴ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۴/۷/۲۶ تاریخ تصویب: ۱۴۰۴/۱۰/۹

مقدمه

مخدرهای صنعتی ترکیبی از مخدرهای سنتی با ترکیبات شیمیایی هستند که از میان آن‌ها می‌توان به مت‌آمفتامین اشاره کرد (۱). مت‌آمفتامین، دارویی بسیار اعتیادآور، توهم‌زا و سایکو-کتیو است. در کنار ماریجوانا، دومین ماده مخدری است که به‌طور وسیعی در سراسر جهان به ویژه توسط جوانان و نوجوانان مورد استفاده قرار می‌گیرد (۲). مشخص شده است که این ترکیبات دارای اثرات سمی بر سیستم عصبی مرکزی هستند. مصرف مکرر مت‌آمفتامین سبب آسیب به پایانه‌های عصبی دوپامینرژیک و سروتونرژیک در نواحی مختلف مغز می‌شود. اختلال در حافظه و یادگیری، اضطراب و افسردگی و نیز اختلالات حرکتی نظیر بیماری پارکینسون از جمله اثرات سمی این دارو بر سیستم عصبی هستند. علاوه بر این، شواهد نشان می‌دهد که این ترکیب می‌تواند باعث اسکیزوفرنی، اختلالات شناختی و حرکتی در برخی از مصرف‌کنندگان شود (۳). علیرغم عوارض مخرب ایجاد شده توسط مت‌آمفتامین، مکانیسم اثر این ماده هنوز شناسایی نشده و چالش بزرگی جهت راهکارهای درمانی به وجود آورده است. مت‌آمفتامین به چهار صورت خوراکی، استنشاقی، تزریقی و تدریسی (دود کردنی) مورد سوء مصرف قرار می‌گیرد (۳).

مت‌آمفتامین از طریق تولید رادیکال‌های آزاد، القاء و راه‌اندازی آبشارهای آپوپتوزی وابسته به میتوکنندری سبب مرگ نوروها می‌شود. از طرفی، اثرات سمیت عصبی مت‌آمفتامین با کاهش نوروترنز در هیپوکامپ نیز در ایجاد اختلالات شناختی پایدار نقش دارند. به همین دلیل در حال حاضر و در بهترین شرایط و تحت مناسب‌ترین روش‌های درمانی هم بیش‌تر معتادان ۶ ماه بعد از ترک، دوباره به چرخه اعتیاد بازگشته و درصد باقیمانده هم در یکی دو سال آینده به این چرخه بازخواهند گشت. در چندین مطالعه گزارش شده است که سازوکار نورو توكسیكی مت‌آمفتامین شامل استرس

اکسیداتیو، رادیکال‌های آزاد و سیتوکین‌های التهابی و مرگ برنامه‌ریزی شده در سلول‌های عصبی است (۴، ۵). زردچوبه، به دلیل غنی بودن از ترکیب شیمیایی به نام کورکومین باعث بهبود مقاومت به انسولین در بیماران دیابتی، خنثی شدن انسولین اضافی خون و در نتیجه، جلوگیری از خستگی ناشی از کاهش گلوکز خون و کاهش اشتها و وزن می‌شود و آثار فارماکولوژیکی متعددی مثل اثر آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی، حفاظت عصبی و افزایش حافظه دارد. پیپرین هم به عنوان اصلی‌ترین آلکالوئید موجود در فلفل سیاه یک ترکیب آنتی‌اکسیدانی است که از میوه گیاه فلفل سیاه استخراج می‌شود. پیپرین دارای اثرات تعدیل‌کننده ایمنی، آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و ضد کارسینوژنیک است (۶، ۷). اثرات آنتی‌اکسیدانی و ضدالتهابی پیپرین در مطالعات متعددی گزارش و اثرات ضد آپتوز پیپرین در بیماری‌های عصبی مانند پارکینسون و آلزایمر به تفصیل شرح داده شده است (۸). کورکومین با مهار مسیر جانوس کیناز از طریق جلوگیری از سوء کارکرد میتوکنندری‌ها مانع از بین رفتن نوروها و دوپامینرژیک در مدل موش‌های مبتلا به پارکینسون می‌شود (۹، ۱۰). با توجه به کم بودن عوارض جانبی و هزینه پایین این دو ترکیب گیاهی با تهیه فرمولاسیون‌های مناسب جهت افزایش فراهم‌زیستی همزمان آن‌ها، همراه با سایر داروها در آینده‌ای نزدیک می‌توان به یک روش درمانی مناسب و مؤثر بر پایه گیاهی در پیشگیری و درمان بیماری‌ها دست یافت (۱۱، ۱۲). استفاده از فناوری نانو هم به‌منظور فرمولاسیون نانوذرات پیپرین کورکومین و ریزپوشانی آن در ماتریکس‌های لیپیدی و استفاده از نانومیسل‌های حاوی آن‌ها به شکل سورفاکتانت، به مدل دارورسانی جدیدی دست خواهیم یافت که اثرات این دو ترکیب را بهبود خواهد بخشید. هدف از این مطالعه، ارزیابی اثر هم‌افزایی نانویی پیپرین و نانو کورکومین بر اختلال رفتاری،

یادگیری و حافظه در کاهش استرس اکسیداتیو ناشی از دوز سمی مت آمفتامین در موش سوری است.

مواد و روش‌ها

ترکیبات شیمیایی

در این مطالعه تجربی، مت آمفتامین، کورکومین و پپیرین از شرکت سیگما-آلدریج (با خلوص بیش از ۸۰ درصد، سنت لوئیس) خریداری شدند. سایر مواد شیمیایی و حلال‌ها از شرکت مرک (دارمشتات، آلمان) خریداری شدند.

تهیه نانومیسل‌های حاوی کورکومین و پپیرین

نانوذرات کورکومین و پپیرین مطابق با روش استخری و همکاران در سال (۲۰۱۹) با اصلاحات جزئی تهیه شد (۱۳). کورکومین و پپیرین به دست آمده در حامل پلی سوربات ۸۰، روغن سویا و آلفا-توکوفرول حل شد. سپس، اسید آسکوربیک محلول در آب به آن اضافه شد. ویژگی‌های مورفولوژیکی نانومیسل‌ها با استفاده از میکروسکوپ الکترونی عبوری تعیین شد (جدول شماره ۱).

حیوانات آزمایشگاهی و شرایط نگهداری

در این مطالعه، از موش‌های سوری در ۱۳ گروه ۸ تایی با وزن تقریبی ۲۰ تا ۲۵ گرم استفاده شد که از لانه حیوانات دانشگاه علوم پزشکی مازندران تهیه شدند و در شرایط مناسب کنترل شده (دمای 22 ± 2 درجه سانتی‌گراد؛ چرخه‌های تاریکی/روشنایی ۱۲ ساعته) نگهداری و همگی با آب و غذای معمولی تغذیه شدند. تمامی دستورات عمل‌های آزمایشی توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی مازندران (با کد اخلاق: IR-IR.MAZUMS.AEC.1401.007) تأیید شدند.

گروه‌های مورد آزمایش

در این مطالعه، ۱۰۴ موش صحرایی نر بالغ به ۱۳ گروه (n=8)، گروه کنترل (نرمال سالین)، گروه

دریافت کننده مت آمفتامین (6 mg/kg)، گروه دریافت کننده کورکومین (100 mg/kg)، گروه دریافت کننده نانو کورکومین (60 mg/kg)، گروه دریافت کننده پپیرین (40 mg/kg)، گروه دریافت کننده نانو پپیرین (40 mg/kg)، گروه دریافت کننده مت آمفتامین (6 mg/kg) + کورکومین (100 mg/kg)، گروه دریافت کننده مت آمفتامین (6 mg/kg) + نانو کورکومین (60 mg/kg)، گروه دریافت کننده مت آمفتامین (6 mg/kg) + نانو پپیرین (40 mg/kg)، گروه دریافت کننده مت آمفتامین (6 mg/kg) + نانو پپیرین (40 mg/kg)، گروه دریافت کننده مت آمفتامین (6 mg/kg) + نانو کورکومین (20 mg/kg) + نانو پپیرین (10 mg/kg)، گروه دریافت کننده مت آمفتامین (6 mg/kg) + نانو کورکومین (40 mg/kg) + نانو پپیرین (20 mg/kg) و گروه دریافت کننده مت آمفتامین (6 mg/kg) + نانو کورکومین (60 mg/kg) + نانو پپیرین (40 mg/kg)، تقسیم شدند. در این مطالعه پپیرین، نانو پپیرین، کورکومین، نانو کورکومین و مت آمفتامین به صورت داخل صفاقی به موش‌ها تجویز شدند. دستورات عمل مطالعه حیوانی و دوزهای منتخب بر اساس مطالعات قبلی با کمی تغییر تعیین شدند (۱۴، ۱۵).

استخراج میتوکنندری از بافت مغز

پس از همگن‌سازی و سانتریفیوژ بافت‌های تازه مغز، میتوکنندری‌ها جدا شدند. به طور خلاصه، بافت‌ها برداشته شده و در محلول مانیتول سرد (۲۲۵ میلی‌مولار) چرخ شدند و سپس طبق روش استخری و همکاران (۲۰۱۸)، همگن‌سازی و سانتریفیوژ (با شتاب گرانشی ۱۵۰۰ دور در دقیقه (rpm)، ۱۰ دقیقه) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد انجام شد (۱۳).

آزمون‌های رفتاری ارزیابی حافظه و یادگیری

آزمون معمای آبی موریس، مطابق با روش هادیزاده-بزاز (۲۰۲۱) انجام شد. عملکرد حیوان از طریق یک دوربین مدار بسته که متصل به سقف بالای

وانسگ اندازه‌گیری شد. غلظت گلو‌تاتیون آزاد در محلول نمونه فیلتر شده با استفاده از معرف المن واکنش داده شده با گروه تیول گلو‌تاتیون همراه با طیف‌سنجی UV-Vis در طول موج ۴۱۲ نانومتر تعیین شد (۱۸).

سنجش پروتئین کربونیل

محتوای پروتئین کربونیل با استفاده از معرف ۲، ۴-دی نیتروفنیل هیدرازین اندازه‌گیری شد. پس از آماده‌سازی و افزودن معرف‌ها، جذب در محلول رویی در طول موج ۳۶۰ نانومتر اندازه‌گیری و محتوای کربونیل با استفاده از ضرایب مولی مربوطه تعیین شد (۱۹).

سنجش سطوح گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)

سطوح ROS با استفاده از معرف DCFH-DA اندازه‌گیری شد. بعد از تعیین پروتئین، ۲۰ میکرولیتر DCFH-DA به ۲۰۰۰ میکرولیتر از نمونه اضافه و در ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شد. سپس، شدت فلوروسانس با دستگاه فلورومتری با طول موج تحریک ۴۸۵ و نشر ۵۲۵ نانومتر اندازه‌گیری شد (۲۰).

سنجش عملکرد میتوکنندری

فعالیت سوکسینات دهیدروژناز به عنوان شاخص عملکرد میتوکنندری با استفاده از روش MTT اندازه‌گیری شد. یک میلی‌لیتر از مخلوط میتوکنندری جدا شده با افزودن محلول MTT (نمک زردرنگ تترازولیوم محلول در آب ۰/۲ میلی‌گرم در میلی‌لیتر) به محیط به مدت یک ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از زمان انکوباسیون، محلول به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از سانتریفیوژ، مایع رویی دور ریخته و بافر به لوله‌ها اضافه شد و دوباره تحت شرایط قبلی سانتریفیوژ گردید. در نهایت، دی‌متیل سولفو کسید به کریستال‌های بنفش فورمازان اضافه و نمونه تکان داده شد تا به خوبی حل شود. ۱۰۰

ماز است به کامپیوتر و نرم افزار مربوطه منتقل شده تا پارامترهای لازم از جمله مدت زمان و مسافت طی شده تا یافتن سکو و هم‌چنین سرعت حرکت حیوان پس از آخرین تزریق دارو ارزیابی شد. موش‌ها به مدت ۲ روز متوالی در ۴ آزمایش با فواصل ۳۰ ثانیه آموزش داده شدند تا یک سکوی پنهان در زیر آب را پیدا کنند. در روز اول، یادگیری فضایی حیوانات بررسی شد. در ادامه، تست پروب برای بررسی حافظه فضایی موش‌ها انجام شد (۱۵). سپس، مغز موش‌ها برای سنجش شاخص‌های استرس اکسیداتیو جدا شد.

اندازه‌گیری پارامترهای استرس اکسیداتیو

سنجش پروتئین

غلظت پروتئین در میتوکنندری با روش برادفورد اندازه‌گیری شد. به طور خلاصه، پس از آماده‌سازی و افزودن معرف‌ها در فواصل زمانی ۱۰ دقیقه تا ۱ ساعت، جذب نوری در طول موج ۵۹۵ نانومتر در مقابل نمونه شاهد خوانده شد. غلظت پروتئین از منحنی استاندارد تعیین شد (۱۶).

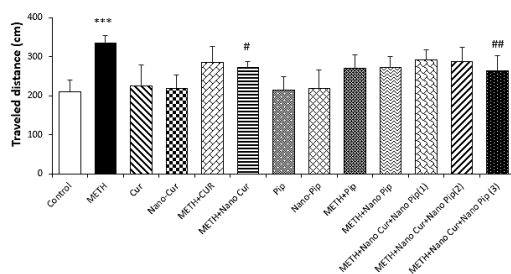
سنجش پراکسیداسیون لیپیدی

پراکسیداسیون لیپیدی با روش اسید تیوباریتوریک اندازه‌گیری شد. ۰/۲ میلی‌لیتر از سوسپانسیون بافتی به ۰/۱ میلی‌لیتر معرف اسید تیوباریتوریک شامل ۰/۵ HCl نرمال، ۱۵ درصد اسید تری کلرواستیک و ۰/۳ درصد اسید تیوباریتوریک اضافه و خوب مخلوط و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم انکوبه شد. لایه N-بوتانل برای اندازه‌گیری در طول موج ۵۳۲ نانومتر جدا شده و مقدار مواد واکنش دهنده اسید تیوباریتوریک از منحنی استاندارد محاسبه شد (۱۷).

سنجش گلو‌تاتیون

گلو‌تاتیون با استفاده از روش المن (DTNB، ۵، ۵-دیتیویس (۲-نیتروبنزوئیک اسید) مشابه با مطالعه

تفاوت معناداری داشت. مدت زمان صرف شده برای رسیدن به سکو در موش های گروه دریافت کننده مت آفتماین در مقایسه با گروه کنترل به طور معناداری افزایش یافت ($P < 0.001$). مدت زمان های مورد نیاز برای آزمایش هم نشان داد که این پارامتر در موش های تیمار شده با نانوذرات کور کومین (۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) و نانوذرات پیپرین (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه دریافت کننده مت آفتماین به طور معنی داری کاهش یافت (تصویر شماره ۱).



تصویر شماره ۱: مسافت طی شده در طی آزمون ماز آبی مورس جهت یافتن سکو در موش های دریافت کننده مت آفتماین، کور کومین، نانوکور کومین، پیپرین و نانوپپیرین ۳۰ دقیقه بعد از تزریق دارویی، داده ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در هر گروه می باشد، CT (گروه کنترل)، MET (مت آفتماین)، CUR (کور کومین)، NCUR (نانوکور کومین)، PI (پیپرین)، NPI (نانوپپیرین)، $P < 0.001$ ***: معنی داری نسبت به گروه کنترل، ## $P < 0.01$: معنی داری نسبت به گروه مت آفتماین، # $P < 0.05$: معنی داری نسبت به گروه مت آفتماین

میانگین مسافت طی شده در مرحله دوم

در موش های تیمار شده با مت آفتماین، افزایش معنی داری در مدت زمان صرف شده برای یافتن سکو در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0.01$). هم چنین کاهش معنی داری در زمان سپری شده در موش های تیمار شده با مت آفتماین + کور کومین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم)، نانوذرات کور کومین (۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم) + مت آفتماین، مت آفتماین + نانوذرات کور کومین (۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) + نانوذرات پیپرین

میکرولیتر از محلول بنفش را به چاهک های پلیت ۹۶ خانه ای منتقل کرده و جذب را با دستگاه پلیت ریدر در طول موج ۵۸۷ نانومتر اندازه گیری شد (۲۱).

آنالیز آماری

تحلیل داده ها با استفاده از نسخه ۶ نرم افزار آمار GraphPad Prism انجام شد. برای ارزیابی تفاوت بین گروه ها از تحلیل واریانس یک طرفه و به دنبال آن از آزمون های تعقیبی توکی و تحلیل واریانس دوطرفه با اندازه گیری های مکرر استفاده شد. نتایج به صورت میانگین (\pm) انحراف معیار ارائه شدند. حد معنی داری ($P < 0.05$) تعریف شد.

یافته ها

اندازه ذرات، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و راندمان ریزپوشانی نانومیسسل ها کور کومین و پیپرین در این ساختارها در درون میسل ها جای گرفتند و نتایج آنالیز پراکندگی نور دینامیکی (DLS) نشان داد که میانگین اندازه ذرات در حدود ۱۰ نانومتر با شاخص پراکندگی ($PDI < 0.2$) است که حاکی از توزیع مناسب نانوساختاری این نمونه ها بود.

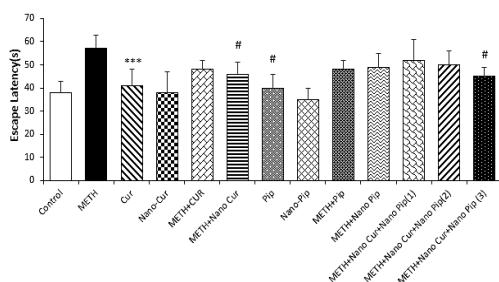
جدول شماره ۱: اندازه ذرات، شاخص پراکندگی، پتانسیل زتا و راندمان ریزپوشانی نانومیسسل های کور کومین و پیپرین

ابعاد (نانومتر)	شاخص پراکندگی	پتانسیل زتا (میلی ولت)	کارآیی ریزپوشانی (سازگی درصد)
۳۷۰	۰/۱۷۵	-۶/۳۳	۹۲/۱۶
۱۰	۰/۲	-۹/۱۲	۹۱/۲

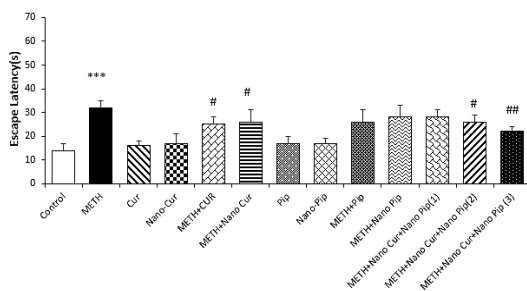
میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو

مسافت طی شده برای رسیدن به سکو بین موش های موجود در گروه های شاهد و تحت تیمار پس از ۳۰ دقیقه ارزیابی شد. نتایج آزمایش تست ماز آبی مورس در روزهای آزمایش نشان داد که میانگین مسافت طی شده برای رسیدن به سکو بین گروه ها

کیلوگرم)، مت‌آمفتامین + نانو کورکومین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم)، مت‌آمفتامین + نانو کورکومین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) + نانو پیپرین (۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و مت‌آمفتامین + نانو کورکومین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) + نانو پیپرین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه دریافت‌کننده مت‌آمفتامین مشاهده شد (به ترتیب: $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.05$) (تصویر شماره ۴).

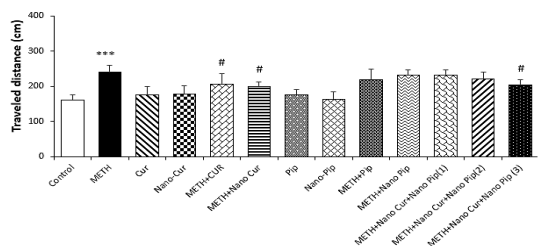


تصویر شماره ۳: مدت‌زمان سپری شده در آزمایش ماز آبی مورس جهت یافتن سکو توسط موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، کورکومین، نانو کورکومین، پیپرین و نانو پیپرین در مرحله اول آزمایش، داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در هر گروه می‌باشد، CT (گروه کنترل)، MET (مت‌آمفتامین)، CUR (کورکومین)، NCUR (نانو کورکومین)، PI (پیپرین)، NPI (نانو پیپرین)، $P < 0.001$ معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، $P < 0.01$ معنی‌داری نسبت به گروه مت‌آمفتامین، $P < 0.05$ معنی‌داری نسبت به گروه مت‌آمفتامین



تصویر شماره ۴: مدت‌زمان سپری شده در ماز آبی مورس جهت یافتن سکو توسط موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، کورکومین، نانو کورکومین، پیپرین و نانو پیپرین در مرحله دوم آزمایش، داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در هر گروه می‌باشد، CT (گروه کنترل)، MET (مت‌آمفتامین)، CUR (کورکومین)، NCUR (نانو کورکومین)، PI (پیپرین)، NPI (نانو پیپرین)، $P < 0.001$ معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، $P < 0.01$ معنی‌داری نسبت به گروه مت‌آمفتامین، $P < 0.05$ معنی‌داری نسبت به گروه مت‌آمفتامین

(۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و مت‌آمفتامین + نانوذرات کورکومین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) + نانوذرات پیپرین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در مقایسه با گروه مت‌آمفتامین مشاهده شد (به ترتیب، در سطوح آماری $P < 0.05$ ، $P < 0.01$ و $P < 0.05$) (تصویر شماره ۲).



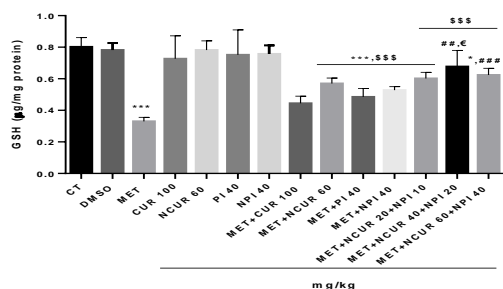
تصویر شماره ۲: میزان مسافت طی شده در ماز آبی مورس جهت یافتن سکو توسط موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، کورکومین، نانو کورکومین، پیپرین و نانو پیپرین در مرحله دوم آزمایش، داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در هر گروه می‌باشد، CT (گروه کنترل)، MET (مت‌آمفتامین)، CUR (کورکومین)، NCUR (نانو کورکومین)، PI (پیپرین)، NPI (نانو پیپرین)، $P < 0.001$ معنی‌داری نسبت به گروه کنترل، $P < 0.01$ معنی‌داری نسبت به گروه مت‌آمفتامین، $P < 0.05$ معنی‌داری نسبت به گروه مت‌آمفتامین

میانگین مدت زمان سپری شده

موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، زمان بیشتری را نسبت به گروه کنترل برای یافتن سکو سپری کردند که حاکی از وجود تفاوت معنی‌دار در میان گروه‌های مت‌آمفتامین و کنترل ($P < 0.001$) داشت (تصویر شماره ۳).

میانگین مدت‌زمان سپری‌شده در موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، کورکومین و پیپرین در مرحله دوم آزمایش ماز آبی مورس

افزایش معنی‌داری ($P < 0.001$) در مدت زمان سپری شده جهت یافتن سکو در گروه‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین نسبت به گروه کنترل گزارش شد. کاهش معنی‌داری در مدت زمان سپری شده در موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین + کورکومین (۱۰۰ میلی‌گرم بر

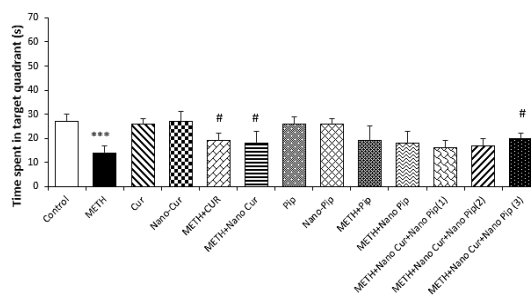


تصویر شماره ۶: اثر کور کومین، نانو کور کومین، پیپرین و نانوپپرین در دوزهای مختلف بر میزان گلو تاتیون در موش های دریافت کننده مت آمفتامین، داده ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در هر گروه (۸ تایی) می باشد، CT (کنترل)، MET (مت آمفتامین)، CUR (کور کومین)، NCUR (نانو کور کومین)، PI (پیپرین)، NPI (نانوپپرین)، معناداری $P < 0.001$: معناداری نسبت به گروه کنترل، $P < 0.001$: معناداری نسبت به گروه MET، $P < 0.001$: معناداری نسبت به گروه CUR 100 + MET، $P < 0.01$: معناداری نسبت به گروه PI 40 + MET، $P < 0.05$: معناداری نسبت به گروه MET+NCUR 60+NPI 40.

پراکسیداسیون لیپید معمولاً روی اسیدهای چرب غیر اشباع تشکیل شده و محصول نهایی آن آلدئیدهای فعال مانند مالون دی آلدئید است (۲۲). افزایش قابل توجهی در سطح مالون دی آلدئید در گروه تحت تیمار با مت آمفتامین در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0/001$) (تصویر شماره ۷). بعلاوه، کاهش معنی داری ($P < 0/001$) در سطح مالون دی آلدئید در موش های تحت درمان با مت آمفتامین + نانوذرات کور کومین و پیپرین در مقایسه با گروه های تحت تیمار با هریک از این ترکیبات به تنهایی مشاهده شد.

افزایش معنی داری در تولید گونه های اکسیژن آزاد در گروه های تحت تیمار با مت آمفتامین در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($P < 0/001$). کاهش معنی داری در شکل گیری ROS در گروه های دریافت کننده مت آمفتامین + نانو کور کومین (۴۰ و ۶۰ میلی گرم بر کیلو گرم) + نانوپپرین (۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلو گرم) مشاهده شد که دارای اختلاف معنی داری در مقایسه با گروه مت آمفتامین + کور کومین (۱۰۰ میلی گرم بر کیلو گرم) و پیپرین (۴۰ میلی گرم بر کیلو گرم) بود ($P < 0/001$) (تصویر شماره ۸).

اثر مت آمفتامین، کور کومین و پیپرین بر حافظه کوتاه مدت در آزمایش پروب
آزمایش پروب به منظور ارزیابی اثرات مت آمفتامین، کور کومین، نانو کور کومین، پیپرین و نانوپپرین بر حافظه کوتاه مدت انجام شد. نتایج این آزمون نشان داد که در گروه دریافت کننده مت آمفتامین، میانگین زمان شنا در چارک هدف به طور معنی داری کم تر از گروه کنترل بود ($P < 0/001$) (تصویر شماره ۵).

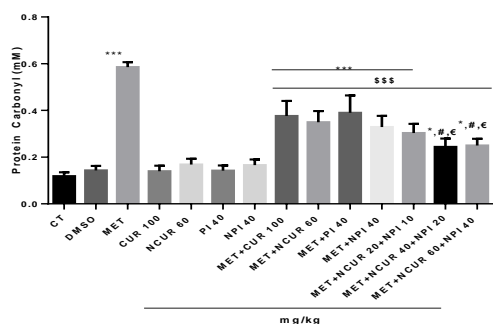


تصویر شماره ۵: اثر مت آمفتامین، کور کومین، نانو کور کومین، پیپرین و نانوپپرین بر حافظه کوتاه مدت در آزمایش پروب در مدل ماز آبی موریس، داده ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در هر گروه می باشد، CT (گروه کنترل)، MET (مت آمفتامین)، CUR (کور کومین)، NCUR (نانو کور کومین)، PI (پیپرین)، NPI (نانوپپرین)، معناداری نسبت به گروه کنترل، $P < 0.001$: معناداری نسبت به گروه کنترل، $P < 0.01$: معناداری نسبت به گروه مت آمفتامین، $P < 0.05$: معناداری نسبت به گروه مت آمفتامین

شاخص های استرس اکسیداتیو

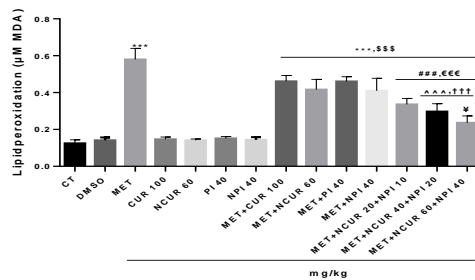
گلو تاتیون یکی از مهم ترین آنتی اکسیدان های دفاع غیر آنزیمی است که نقش مهمی را در خنثی سازی گونه های فعال اکسیژن تولیدی در میتوکندری ایفا می کند (۱۴). نتایج نشان از کاهش معنی دار سطح گلو تاتیون در گروه های تیمار شده با کور کومین و پیپرین در مقایسه با گروه شاهد داشت ($P < 0/001$). هم چنین، افزایش معنی داری ($P < 0/001$) در سطح گلو تاتیون در موش های تیمار شده با نانوذرات کور کومین و پیپرین در دوزهای مختلف در مقایسه با موش های تیمار شده با مت آمفتامین مشاهده شد (تصویر شماره ۶).

گروه‌های تیمار شده با مت‌آمفتامین+نانو کورکومین (۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم)+نانو پیپرین (۱۰ میلی گرم بر کیلوگرم) به میزان قابل توجهی افزایش یافت که نسبت به گروه کنترل دارای تفاوت معنی داری بودند ($P < 0.001$). هم‌چنین افزایش معنی داری ($P < 0.05$) در گروه‌های تحت تیمار با مت‌آمفتامین+نانو کورکومین (۴۰ و ۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم)+نانو پیپرین (۲۰ و ۴۰ میلی گرم بر کیلوگرم) نسبت به گروه کنترل در سطوح پروتئین کربونیل مشاهده شد (تصویر شماره ۹).

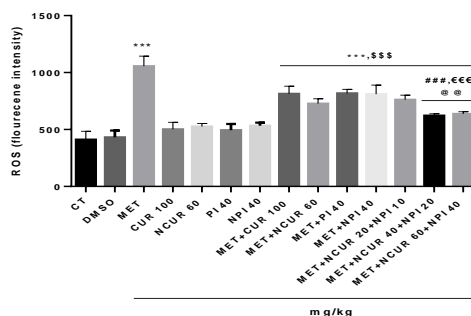


تصویر شماره ۹: اثر کورکومین، نانو کورکومین، پیپرین و نانو پیپرین در دوزهای مختلف بر شکل‌گیری پروتئین کربونیل در موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در هر گروه (۸ تایی) می‌باشد، CT (کنترل)، MET (مت‌آمفتامین)، CUR (کورکومین)، NCUR (نانو کورکومین)، PI (پیپرین)، NPI (نانو پیپرین)، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه کنترل، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه MET، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه CUR 100 + MET، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه CUR 100 + MET، $P < 0.05$: معنی داری نسبت به گروه CUR 100 + MET + PI 40 + MET.

اساس آزمایش MTT مبتنی بر فعالیت، سلامت میتو کندری و تعیین میزان زنده‌مانی سلول‌ها انجام می‌شود. این آزمون، یکی از روش‌های آزمایش سمیت سلولی و عملکرد میتو کندری در سنجش میزان مرگ سلولی است (۲۰، ۲۱). افزایش معنی داری در عملکرد میتو کندری موش‌های تحت درمان با پیپرین و کورکومین در مقایسه با موش‌های کنترل مشاهده شد ($P < 0.001$) (تصویر شماره ۱۰).



تصویر شماره ۷: اثر کورکومین، نانو کورکومین، پیپرین و نانو پیپرین بر میزان مالون‌دی‌آلدهید، داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در هر گروه (۸ تایی) می‌باشد، CT (کنترل)، MET (مت‌آمفتامین)، CUR (کورکومین)، NCUR (نانو کورکومین)، PI (پیپرین)، NPI (نانو پیپرین)، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه کنترل، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه MET، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه CUR 100 + MET، $P < 0.05$: معنی داری نسبت به گروه CUR 100 + MET + PI 40 + MET.



تصویر شماره ۸: اثر کورکومین، نانو کورکومین، پیپرین و نانو پیپرین در دوزهای مختلف بر سطح ROS در موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار در هر گروه (۸ تایی) می‌باشد، CT (کنترل)، MET (مت‌آمفتامین)، CUR (کورکومین)، NCUR (نانو کورکومین)، PI (پیپرین)، NPI (نانو پیپرین)، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه کنترل، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه MET، $P < 0.001$: معنی داری نسبت به گروه CUR 100 + MET، $P < 0.05$: معنی داری نسبت به گروه CUR 100 + MET + PI 40 + MET.

نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد که میزان شکل‌گیری پروتئین کربونیل در موش‌های دریافت‌کننده مت‌آمفتامین، مت‌آمفتامین + کورکومین و نانو کورکومین، مت‌آمفتامین + پیپرین و نانو پیپرین و

هستند، بنابراین نورون‌ها به طور ویژه در برابر پراکسیداسیون لیپید حساس هستند (۲۵). با این حال، تلاش‌ها برای درک مکانیسم دقیق استرس اکسیداتیو ناشی از دریافت مت‌آفتامین در تشدید اختلال عملکرد سلولی ادامه دارد.

در مطالعه حاضر نشان داده شد که اثر هم‌افزایی دو ترکیب آنتی‌اکسیدانی کورکومین (۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) و پیپرین (۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) در ابعاد نانو منجر به تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی می‌شود. تحت این شرایط، آن‌ها قادر به تداوم تولید رادیکال و شروع اصلاح اکسیداتیو پروتئین‌ها (G13) نیستند. به نظر می‌رسد اثرات منفی تزریق مت‌آفتامین بر حافظه و یادگیری از طریق افزایش بار اکسیداتیو باشد که به صدمات جبران‌ناپذیری به مغز و سلول‌های عصبی منتهی می‌گردد (۲۶). هنگامی که تولید گونه‌های فعال اکسیژن از ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلولی تجاوز کند، استرس اکسیداتیو روی می‌دهد که در نهایت منجر به آسیب به ماکرومولکول‌هایی نظیر لیپیدهای غشایی، پروتئین‌های ضروری و نوکلئوتیدها می‌گردد. استرس اکسیداتیو با افزایش تولید ROS و یا با کاهش سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تشدید می‌شود. مصرف اکسیژن در سلول‌های سیستم عصبی مرکزی بالا است و آن‌ها غنی از پلی‌اسیدهای چرب غیراشباع می‌باشند. بنابراین، نورون‌ها به طور مشخص نسبت به پروکسیداسیون لیپیدی حساس هستند (۲۷).

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که تزریق مت‌آفتامین (۶ میلی‌گرم بر کیلوگرم) باعث سمیت سلولی و تغییر وضعیت استرس اکسیداتیو در موش‌ها شد. در موش‌های تحت تیمار با مت‌آفتامین، افزایش قابل توجهی در شاخص‌های استرس اکسیداتیو (مالون دی‌آلدهید، پروتئین کربونیل و سطوح ROS) همراه با کاهش معنادار در محتوای پروتئین گلو‌تاتیون و عملکرد میتو‌کندریایی در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد. این تغییرات با اثرات مستقیم سرکوب‌کننده سیستم ایمنی

ناشی از مت‌آفتامین بر میتو‌کندری سلول‌های مغزی همراه خواهد بود.

کورکومین، یک جاذب قوی رادیکال‌های آزاد با خواص آنتی‌اکسیدانی مؤثر است. به نظر می‌رسد اثرات قابل توجهی در کاهش آسیب اکسیداتیو دارد. Ryskalin و همکاران (۲۰۲۱)، اثرات محافظت عصبی کورکومین را در سمیت ناشی از مت‌آفتامین ارزیابی کردند. نتایج به دست آمده نشان داد که کورکومین با تقویت اتوفآژی، اثرات عصبی ناشی از مت‌آفتامین را خنثی می‌کند (۱۲).

مطالعه حاضر شواهدی را در تأیید اثر مفید تجویز نانوذرات کورکومین و پیپرین بر کاهش اختلالات حافظه فضایی پس از سمیت عصبی با مت‌آفتامین ارائه داد. یافته‌های به دست آمده با سایر نتایج اختلالات عصبی در مدل‌های حیوانی سازگار است و نشان می‌دهد که نانو ذرات کورکومین و پیپرین قادر به کاهش بافت مغز و همچنین اختلالات شناختی هستند (۲۶، ۲۷). فرمولاسیون نانو می‌تواند نفوذپذیری سلولی را به طور قابل توجهی افزایش دهد و اثرات محافظتی بیش‌تری را در شرایط آزمایشگاهی (in vitro) و درون تنی (in vivo) نشان دهد (۲۶). بهترین نتایج در بهبود عملکرد میتو‌کندری با کمک اثر هم‌افزایی نانوذرات کورکومین و پیپرین به دست آمد. محققان اظهار داشتند که کورکومین و نانوذرات آن با تعدیل استرس اکسیداتیو، التهاب و مسیر پیام‌رسانی Akt/GSK-3 β ، سمیت عصبی ناشی از مس را کاهش می‌دهند (۲۷، ۲۸). آن‌ها نتیجه گرفتند که اثر محافظت عصبی نانوذرات کورکومین در مقایسه با شکل طبیعی آن قوی‌تر است که می‌توان آن را به خواص بهبود یافته کورکومین نسبت داد. علاقه فزاینده‌ای نسبت به کارآزمایی‌های پیش‌بالینی و بالینی وجود دارد که اثرات ضد افسردگی و ضد اضطرابی کورکومین و پیپرین را در راستای بهبود سلامت روان مورد ارزیابی و پایش قرار می‌دهند. در این راستا، لورستی (۲۰۲۲)، اقدام به ارزیابی کارآزمایی‌های آزمایشگاهی در دو مدل حیوانی و انسانی

آبی موریس مشاهده شد. به نظر می‌رسد اثرات محافظتی سلولی تزریق نانوذرات کورکومین و پپیرین به دلیل سازوکارهایی چون مهار استرس اکسیداتیو و بهبود عملکرد میتوکندری باشد. علاوه بر این، درمان با نانوذرات کورکومین و پپیرین اثرات پیشگیرانه و محافظتی مضاعفی بر سمیت سلولی، استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی ناشی از دریافت مت‌آفتامین داشت. ترکیبی از نانوذرات کورکومین و پپیرین در این مطالعه منجر به کاهش قابل توجه نشانگرهای زیستی اکسیداتیو در مقایسه با اشکال طبیعی این دو ترکیب طبیعی شد. سطح گلو تاتیون و عملکرد میتوکندری موش بهبود یافت که می‌تواند نشان‌دهنده اثرات هم‌افزایی موفق نانوذرات کورکومین و پپیرین باشد. با توجه به نتایج به‌دست آمده، می‌توان امیدوار به استفاده از اشکال نانودارویی کورکومین و پپیرین به‌عنوان یک درمان مؤثر در کاهش عوارض ناشی از مصرف مت‌آفتامین بود، هرچند که نیازمند تحقیقات بیش‌تر در شناخت دقیق مکانیسم یا سازوکارهای مؤثر در عملکرد فارماکولوژیکی این دسته از ترکیبات گیاهی هست.

سپاسگزاری

از تمام کسانی که در انجام این مطالعه یاری رساندن تشکر می‌گردد. مؤلفان اظهار داشتند که منافع متقابلی از تألیف یا انتشار این مقاله ندارند و همه نویسندگان در تألیف مقاله مشارکت داشته و نسخه نهایی آن را خوانده و تأیید کرده‌اند.

References

1. United Nations Office on Drugs and Crime (UNODC). (2021). World drug report 2021. Retrieved from: https://www.unodc.org/res/wdr2021/field/WDR21_Booklet_1.pdf. Accessed 25 Aug 2021.
2. Daiwile AP, Jayanthi S, Cadet JL. Sex differences in methamphetamine use disorder perused from pre-clinical and clinical studies: Potential therapeutic impacts. *Neurosci Biobehav Rev* 2022;137: 104674 PMID: 35452744.

در زمینه پایش اثرات کورکومین در درمان افسردگی یا علائم ناشی از آن نمود. تغییرات در غلظت و فعالیت انتقال دهنده‌های عصبی، اثرات ضد التهابی، سطوح پایین‌تر مالون دی آلدئید، پروتئین کربونیل، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت پاکسازی ROS از جمله مکانیسم‌های مؤثر در استفاده از کورکومین برای بهبود سلامت سیستم عصبی بود (۲۹، ۳۰).

در این مطالعه هم، اثرات هم‌افزایی نانوذرات کورکومین و پپیرین در دو دوز ۶۰ و ۴۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم ممکن است به دلیل بروز بهتر اثرات آنتی‌اکسیدانی معنی‌دار بود، بنابراین نتیجه گرفته شد که نانوذرات کورکومین و پپیرین از طریق کاهش استرس اکسیداتیو با فعالیت‌های مهار رادیکال‌های آزاد، اختلالات یادگیری و حافظه فضایی ناشی از مواجهه با مت‌آفتامین را کاهش می‌دهند.

در مطالعه حاضر، نشان داده شد که مت‌آفتامین باعث تغییر در یادگیری، اختلالات حافظه فضایی و آسیب اکسیداتیو در موش‌ها و منجر به تولید آنتی‌اکسیداتیو می‌شود که با آسیب میتوکندریایی همراه است. این مطالعه با هدف بررسی این موضوع انجام شد که آیا تجویز همزمان کورکومین و پپیرین می‌تواند به‌طور بالقوه اثر پیشگیرانه‌ای بر اختلالات یادگیری فضایی و حافظه ناشی از مت‌آفتامین داشته باشد؟ اولین مجموعه یافته‌ها نشان‌دهنده اثر مهارتی قابل توجه این نوع ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به شکل نانوذرات بر بهبود اختلال یادگیری فضایی و از دست دادن حافظه ناشی از تزریق مت‌آفتامین بود که در طول آزمایش‌های ماز

3. Jayanthi S, Daiwile AP, Cadet JL. Neurotoxicity of methamphetamine: Main effects and mechanisms. *Exp Neurol* 2021;344: 113795 PMID: 34186102.
4. Shin EJ, Jeong JH, Hwang Y, Sharma N, Dang DK, Nguyen BT, et al. Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity as a model of Parkinson's disease. *Arch Pharm Res* 2021;44(7):668-688 PMID: 34286473.
5. Franke A, Koller G, Neumann S, Proebstl L, Manz K, Krause D, et al. Psychopathology and Attention Performance in Methamphetamine Users with ADHD Symptomology in Childhood. *Int J Ment Health Addict* 2021; 21: 1663-1678.
6. Narang JK, Dogra A, Kaur T, Narang RS, Singh AP. Antioxidants Against Neurological Disorders. *Antioxidants: Nature's Defense Against Disease* 2024; 285-367.
7. Thanos PK, Kim R, Delis F, Rocco MJ, Cho J, Volkow ND. Effects of chronic methamphetamine on psychomotor and cognitive functions and dopamine signaling in the brain. *Behav Brain Res* 2017; 320 282-290 PMID: 27993694.
8. Cao F, Gui SY, Gao X, Zhang W, Fu ZY, Tao LM, et al. Research progress of natural product-based nanomaterials for the treatment of inflammation-related diseases. *Mater Design* 2022;218(110686): 110686.
9. Daiwile AP, Sullivan P, Jayanthi S, Goldstein DS, Cadet JL. Sex-Specific Alterations in Dopamine Metabolism in the Brain after Methamphetamine Self-Administration. *Int J Mol* 2022; Sci 23(8): 4353 PMID: 35457170.
10. Fakharbad MJ, Moshiri M, Ommati MM, Talebi M, Etemad L. A review of basic to clinical studies of the association between hyperammonemia, methamphetamine. *Naunyn-Schmiedeb Arch Pharmacol* 2022 ;395(8):921-931 PMID: 35604430.
11. Potula R, Hawkins BJ, Cenna JM, Fan S, Dykstra H, Ramirez SH, et al. Methamphetamine causes mitochondrial oxidative damage in human T lymphocytes leading to functional impairment. *J Immunol* 2010;185(5): 2867-2876 PMID: 20668216.
12. Ryskalin L, Puglisi-Allegra S, Lazzeri G, Biagioni F, Busceti CL, Balestrini L, et al. Neuroprotective effects of curcumin in methamphetamine-induced toxicity. *Molecules* 2021; 26(9): 2493 PMID: 33923340.
13. Estakhri MA, Shokrzadeh M, Jaafari MR, Karami M, Mohammadi H. Organ toxicity attenuation by nanomicelles containing curcuminoids: Comparing the protective effects on tissues oxidative damage induced by diazinon. *Iran J Basic Med Sci* 2019; 22(1) : 17-24.
14. Singh S, Kumar P. Neuroprotective potential of curcumin in combination with piperine against 6-hydroxy dopamine induced motor deficit and neurochemical alterations in rats. *Inflammopharmacology* 2017; 25(1): 69-79 PMID: 27853890.
15. Hadizadeh-Bazaz M, Vaezi G, Hojati V. Curcumin attenuates spatial memory impairment by anti-oxidative, anti-apoptosis, and anti-inflammatory mechanism against methamphetamine neurotoxicity in male Wistar rats: Histological and biochemical changes. *Neurotoxicology* 2021;84 :208-217 PMID: 33819551.
16. Pandey N, Budhathoki U. Protein determination through Bradford's method of Nepalese mushroom. *Sci World J* 2007;5(5): 85-88.

17. Altomare A, Baron G, Gianazza E, Banfi C, Carini M, Aldini G. Lipid peroxidation derived reactive carbonyl species in free and conjugated forms as an index of lipid peroxidation: limits and perspectives. *Redox Biol* 2021; 42:101899.
18. Wang Y, Basdogan Y, Zhang T, Lankone RS, Wallace AN, Fairbrother DH,etal. Unveiling the synergistic role of oxygen functional groups in the graphene-mediated oxidation of glutathione. *ACS Appl Mater Interfaces* 2020;12(41) : 45753-45762 PMID: 32940454.
19. Nakamura A, Goto, S. Analysis of protein carbonyls with 2, 4-dinitrophenyl hydrazine and its antibodies by immunoblot in two-dimensional gel electrophoresis. *J Biochem* 1996; 119(4): 768-774.
20. Hayashi I, Morishita Y, Imai K, Nakamura M, Nakachi K, Hayashi T. High-throughput spectrophotometric assay of reactive oxygen species in serum. *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* 2007; 631(1) 55-61 PMID: 17499011.
21. Mohammadi-Bardbori A, Najibi A, Amirzadegan N, Gharibi R, Dashti A, Omidi M, Saeedi A. Coenzyme Q10 remarkably improves the bio-energetic function of rat liver mitochondria treated with statins. *Eur J Pharmacol* 2015;762: 270-274 PMID: 26007644.
22. Motaghinejad M, Motevalian M, Shabab B, Fatima S. Effects of acute doses of methylphenidate on inflammation and oxidative stress in isolated hippocampus and cerebral cortex of adult rats. *J Neural Transm* 2017; 124(1) 121-131 PMID: 27682635.
23. Calma ID, Persons AL, Napier TC. Mitochondrial function influences expression of methamphetamine-induced behavioral sensitization. *Sci Rep* 2021;11(1) ; 24529 PMID: 34972820.
24. Lopresti AL. Potential Role of Curcumin for the Treatment of Major Depressive Disorder. *CNS Drugs* 2022;36(2): 123-141 PMID: 35129813.
25. Sarawi WS, Alhusaini AM, Fadda LM , Alomar HA, Albaker AB, Aljrboa AS,etal. Curcumin and nano-curcumin mitigate copper neurotoxicity by modulating oxidative stress, inflammation, and akt/gsk-3 β signaling. *Molecules* 2021; 26(18) 5591 PMID: 34577062.
26. Visentini FF, Perez AA, Ferrado JB,Deseta ML,Santiago LG. Bioactive Compounds: Encapsulation, Delivery, and Applications Using Albumins as Carriers. *Biomolecules from Natural Sources: Advances and Applications* 2022; 113-180.
27. Guo J, Cao X, Hu X, Li S, Wang J. The anti-apoptotic, antioxidant and anti-inflammatory effects of curcumin on acrylamide-induced neurotoxicity in rats. *BMC Pharmacol Toxicol* 2020; 21(1) : 62 PMID: 32811563.
28. Elnaggar YS, Etman SM, Abdelmonsif DA, Abdallah OY. Intranasal piperine-loaded chitosan nanoparticles as brain-targeted therapy in Alzheimer's disease: optimization, biological efficacy, and potential toxicity. *J Pharm Sci* 2015; 104(10) 3544-3556 PMID: 26147711.
29. Lopresti AL. Potential Role of Curcumin for the Treatment of Major Depressive Disorder. *CNS Drugs* 2022; 36(2):123-141 PMID: 35129813.
30. Patel M, Patel D, Shah U, Patel A, Ashish S, Nilay P,etal. Piperine: Medicinal, Analytical and Therapeutics Perspective. *Curr Bioact Compd* 2022; 18(1) (2022) 3-23.