

The effect of flavonoid morin on anxiety and depression behaviors induced by amyloid-beta peptide in rats

Negin Mohammadi¹, Masoumeh Asle-Rousta^{1*}, Mehdi Rahnema¹, Rahim Amini²

1. Department of Physiology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran
2. Department of Biology, Zanjan Branch, Islamic Azad University, Zanjan, Iran

* Corresponding author e-mail: mrousta58@gmail.com

Citation: Mohammadi N, Asle-Rousta M, Rahnema M, Amini R. The effect of flavonoid morin on anxiety and depression behaviors induced by amyloid-beta peptide in rats. *Daneshvar Medicine* 2021; 29(4):1-10. doi: 10.22070/DANESHMED.2021.14659.1094

Abstract

Background and Objective: Studies have shown that anxiety and depression appear before memory impairment in Alzheimer's disease and controlling these dysfunctions may prevent the onset and progression of memory deficit. Morin is a natural flavonol that has antioxidant, anti-inflammatory, and neuroprotective effects. In this study, we investigated the effect of morin on anxiety and depression behaviors induced by amyloid-beta peptide in rats.

Materials and Methods: Forty male Wistar rats were divided into control, morin, amyloid-beta, and amyloid-beta-morin groups. Amyloid-beta 1-42 was injected into the hippocampus (4 micrograms on each side) and morin (20 mg/kg) was treated by gavage for 14 consecutive days. At the end of the period, elevated plus maze (EPM) and forced swimming tests were used to evaluate anxiety and depressive behaviors, respectively.

Results: Intrahippocampal injection of amyloid-beta significantly reduced the percentage of entry into the open arm and the percentage of time remaining in the open arm in the EPM ($P < 0.001$). Also, the total immobility time of these animals in the forced swimming test was significantly increased ($P < 0.001$). Morin largely prevented these changes in amyloid-beta injected rats.

Conclusion: Morin prevents anxiety behaviors and depression in Alzheimer's disease model rats and may have neuroprotective effects against amyloid-beta.

Keywords: Morin, Anxiety, Depression

Received: 29 May 2021
Last revised: 14 Sep 2021
Accepted: 29 Sep 2021

فلاونوئید مورین رفتارهای اضطرابی و افسردگی القاشده توسط پپتید آمیلوئید بتا را در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی کاهش می‌دهد

مقاله پژوهشی

نویسندگان: نگین محمدی^۱، معصومه اصل روستا^{۱*}، مهدی رهنما^۱، رحیم امینی^۲

۱. گروه فیزیولوژی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران
۲. گروه زیست‌شناسی، واحد زنجان، دانشگاه آزاد اسلامی، زنجان، ایران

*نویسنده مسئول: معصومه اصل روستا Email: mrousta58@gmail.com

چکیده

مقدمه و هدف: مطالعات نشان داده است که قبل از بروز نقص حافظه در بیماری آلزایمر، اضطراب و افسردگی ظاهر می‌شود و مهار این اختلالات، احتمالاً از پیدایش و پیشرفت اختلال حافظه جلوگیری می‌کند. مورین نوعی فلاونول طبیعی است که دارای اثرات آنتی‌اکسیدانی، ضدالتهابی و محافظت‌کنندگی عصبی است. در این مطالعه، اثر مورین بر رفتارهای اضطرابی و افسردگی القاشده توسط پپتید آمیلوئید بتا در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی بررسی شد.

مواد و روش‌ها: ۴۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار به گروه‌های کنترل، مورین، آمیلوئید بتا و آمیلوئید بتا-مورین تقسیم شدند. آمیلوئید بتا ۱-۴۲ به صورت درون هیپوکامپی (هر طرف ۴ میکروگرم) تزریق شد و مورین (20 mg/kg) نیز به صورت گاوژ به مدت ۱۴ روز متوالی تیمار شد. در پایان دوره به ترتیب از ماز بعلاوه مرتفع و تست شنای اجباری برای بررسی رفتارهای اضطرابی و افسردگی استفاده شد.

نتایج: تزریق درون هیپوکامپی آمیلوئید بتا موجب کاهش معنی‌دار درصد ورود به بازوی باز و درصد زمان ماندن در بازوی باز در ماز بعلاوه مرتفع شد ($P < 0.001$). مجموع زمان بی‌حرکتی این حیوانات نیز در تست شنای اجباری به طور چشمگیری افزایش یافت ($P < 0.001$). مورین تا حد زیادی از بروز این تغییرات در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی دریافت‌کننده آمیلوئید بتا ممانعت نمود.

نتیجه‌گیری: مورین از بروز رفتارهای اضطرابی و افسردگی در موش‌های بزرگ مدل بیماری آلزایمر جلوگیری می‌کند و احتمالاً اثرات محافظت‌کنندگی عصبی در برابر آمیلوئید بتا دارد.

واژه‌های کلیدی: مورین، اضطراب، افسردگی

دریافت: ۱۴۰۰/۰۳/۰۸
آخرین اصلاح‌ها: ۱۴۰۰/۰۶/۲۳
پذیرش: ۱۴۰۰/۰۷/۰۳

مقدمه

صورت یک رنگدانه زرد به فراوانی در برگ، ساقه و میوه گیاهان خانواده *Moraceae* وجود دارد و در طب سنتی مورد استفاده قرار گرفته است. مورین تقریباً بدون سمیت بوده و مصرف طولانی مدت آن نیز مشکلی را در سیستم های حیاتی ایجاد نمی کند (۹). اثرات دارویی مورین در مطالعات به اثبات رسیده است. به طور مثال، اثر آنتی اکسیدانی این ترکیب در مطالعات *in vitro* و *in vivo* گزارش شده است. مورین سیستم آنتی اکسیدانی را در اندام های مختلف نظیر کبد، کلیه و مغز تقویت می کند، بیان سایتوکاین های پیش التهابی را کاهش می دهد و به طور کلی دارای اثرات محافظت کننده کبد، محافظت کننده کلیه و محافظت کننده عصبی است (۱۴-۱۰). به علاوه، تحقیقات نشان داده است که مورین در برابر الیگومرهای آمیلوئید بتا اثر محافظتی داشته و از هیپرفسفریلاسیون تاو (که از شاخصه های بیماری آلزایمر است) نیز ممانعت می کند (۱۶، ۱۵). بر این اساس این فرضیه به وجود آمد که ممکن است مورین از بروز اختلالات رفتاری ناشی از آمیلوئید بتا نظیر اضطراب و افسردگی نیز جلوگیری نماید. در این تحقیق اثر مورین بر رفتارهای اضطرابی و افسردگی القا شده توسط *Aβ 1-42* در موش های بزرگ آزمایشگاهی بررسی نمودیم.

مواد و روشها

در این مطالعه تجربی ۴۰ سر موش بزرگ آزمایشگاهی نر نژاد ویستار از انستیتو پاستور خریداری شد و در شرایط استاندارد آزمایشگاهی (دمای ۲۵-۲۳ درجه سانتی گراد، دوره روشنایی و تاریکی ۱۲/۱۲ ساعته و دسترسی آسان به آب و غذا) نگهداری شدند. مراحل کار با حیوانات آزمایشگاهی توسط کمیته اخلاق دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان تایید شد (کد اخلاق: IR.IAU.Z.REC.1399.074).

موش های بزرگ آزمایشگاهی به چهار گروه (هر گروه ۱۰ سر) تقسیم شدند: (۱) کنترل (C): حلال آمیلوئید بتا (فسفات بافر سالین) را طی جراحی استریوتاکسی به صورت درون هیپوکامپی دریافت نمودند و تحت تیمار

رسوب پتید آمیلوئید بتا در فضای بین سلولی نورون های مغزی در نواحی مختلف مغز از جمله کورتکس و هیپوکامپ از مهم ترین شاخص های بیماری آلزایمر است. آمیلوئید بتا ($A\beta$) توسط آنزیم بتاسکرتاز تولید شده، سپس تجمع یافته و به صورت فیبریل در پلاک های آمیلوئیدی رسوب می کند. آمیلوئید بتا به عنوان مهم ترین جزء پلاک های آمیلوئیدی محسوب می شود (۱) و با تحریک تولید رادیکال های آزاد به پیدایش استرس اکسیداتیو و تضعیف سیستم آنتی اکسیداتیو در مغز منجر می گردد (۲). به علاوه، آمیلوئید بتا موجب تحریک فعال سازی میکروگلیا می شود و به دنبال تولید سایتوکاین های التهابی از این سلول ها، التهاب عصبی و در نهایت مرگ نورونی در نواحی مختلف مغز بخصوص در هیپوکامپ رخ می دهد (۳). استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی، اهمیت ویژه ای در ایجاد اختلالات رفتاری نظیر اضطراب و افسردگی دارند (۵، ۴). تحقیقات نشان داده است که آمیلوئید بتا حتی قبل از آن که یادگیری و حافظه را مختل نماید، اضطراب و افسردگی را ایجاد می کند. ادامه ی این اختلالات موجب تحریک رسوب آمیلوئید بتا و پیشرفت بیماری آلزایمر می شود. در نتیجه، پیشنهاد شده است که مهار رفتارهای اضطرابی و افسردگی القاشده توسط آمیلوئید بتا احتمالاً تا حد زیادی از بروز نقص حافظه جلوگیری نموده و از پیشروی بیماری آلزایمر نیز ممانعت کند (۷، ۶). تاکنون درمان قطعی برای بیماری آلزایمر پیدا نشده است و داروهای موجود، فقط تا حدی در جلوگیری از پیشرفت بیماری موفق بوده اند. به طور مثال، سرکوب آمیلوئیدورنز و مهار استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی از جمله استراتژی هایی است که برای جلوگیری از پیشرفت این بیماری در نظر گرفته شده است (۳، ۱) و (با توجه به مطالبی که ذکر شد) احتمالاً بر کاهش اضطراب و افسردگی ناشی از آمیلوئید بتا نیز اثربخش خواهد بود.

فلاونوئیدها از جمله ترکیبات پلی فنلی هستند که در میوه ها، سبزیجات و نوشیدنی های گیاهی یافت می شوند. این ترکیبات، واجد اثر محافظت کنندگی عصبی بوده و در سرکوب اثرات ناشی از آمیلوئید بتا موفق هستند (۸). مورین (C15H10O7) یک بیوفلاونول طبیعی است که به

درصد زمان ماندن در بازوی باز (OAT) محاسبه شد. افزایش مقدار این دو فاکتور نشان دهنده کاهش سطح اضطراب در حیوانات است. برای بررسی اثر احتمالی تیمارها بر فعالیت حرکتی حیوانات نیز مجموع ورود به بازوهای باز و بسته محاسبه شد (۱۹،۲۰).

تست شنای اجباری از یک استوانه محتوی آب (به دمای ۲۵ درجه سانتی گراد) تشکیل شده است که تا ارتفاع ۳۰ سانتی-متری از آب پر می شود. حیوان به مدت ۶ دقیقه در داخل آب قرار گرفت. ۲ دقیقه اول به خوگیری حیوان به شرایط آزمون اختصاص داده شد و مجموع زمان بی حرکتی (بر حسب ثانیه) در چهار دقیقه ی بعدی محاسبه شد (۱۹).

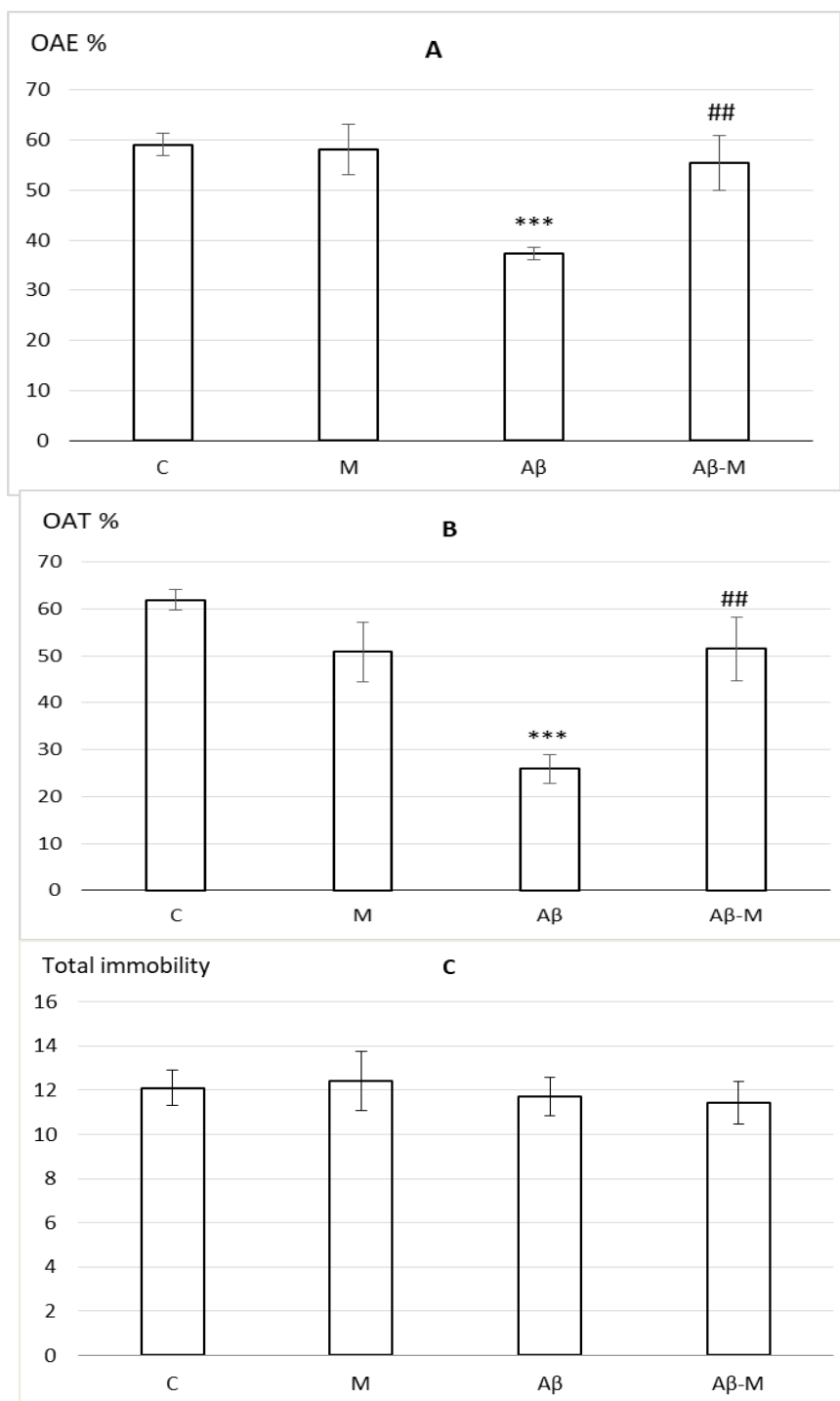
تجزیه و تحلیل آماری

نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شد. تجزیه و تحلیل اطلاعات توسط One Way ANOVA و همچنین تست Tukey LSD post hoc انجام گرفت و $P < 0.05$ ملاک معنی داری نتایج در نظر گرفته شد.

نتایج

اثر مورین بر رفتارهای اضطرابی القاشده توسط آمیلوئید بتا نتایج حاصل از آزمون ماز بعلاوه مرتفع حاکی از پیدایش اضطراب در موش های بزرگ آزمایشگاهی گروه $A\beta$ بود. درصد OAE و OAT در این گروه در مقایسه با کنترل به طور معنی داری کاهش یافت ($P < 0.001$) و تیمار ۱۴ روزه مورین توانست از کاهش درصد OAE و OAT در رت هایی که $A\beta 1-42$ دریافت کردند ممانعت نماید ($P < 0.01$). همچنین تفاوت چشمگیری در فعالیت حرکتی حیوانات (مجموع ورود به بازوهای باز و بسته) در بین گروه های مختلف مشاهده نشد (شکل ۱).

دیگری قرار نگرفتند. ۲) مورین (M): علاوه بر تزریق درون هیپوکامپی فسفات بافر سالین، مورین را به مدت ۱۴ روز متوالی به صورت گاواژ با دوز 20 mg/kg دریافت کردند (۱۰). ۳) آمیلوئید بتا ($A\beta$): پس از تزریق درون هیپوکامپی $A\beta 1-42$ ($4 \mu\text{g}$ هر طرف) (۱۷)، تیمار دیگری دریافت نکردند. ۴) آمیلوئید بتا-مورین ($A\beta$ -M): پس از تزریق درون هیپوکامپی $A\beta 1-42$ ، مورین را به مدت ۱۴ روز متوالی دریافت کردند. $A\beta 1-42$ به غلظت $2 \mu\text{g}/\mu\text{l}$ در فسفات بافر سالین حل شده و به مدت یک هفته در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد انکوبه و سپس تا زمان جراحی استریوتاکسی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شد. مورین نیز به غلظت 20 mg/ml در آب مقطر حل شده و در دمای اتاق نگهداری شد. برای جراحی استریوتاکسی ابتدا حیوانات با تزریق درون صفاقی کلرال هیدرات (400 mg/kg) بیهوش شدند. مختصات محل تزریق توسط اطلس مغز موش بزرگ آزمایشگاهی تعیین شد (۱۸). تزریق در ناحیه CA1 با مختصات AP: -3.84 mm, L: $\pm 2.2 \text{ mm}$, and V: 2.5 mm انجام گرفت. $A\beta 1-42$ و یا حلال آن به حجم $2 \mu\text{l}$ توسط سرنگ همیلتون (در مدت زمان ۲ دقیقه) به هر هیپوکامپ تزریق شدند و سرنگ به مدت ۵ دقیقه پس از پایان تزریق در محل باقی ماند. یک روز پس از جراحی استریوتاکسی، تیمار مورین در حیوانات گروه ۴ شروع شده و ۱۴ روز ادامه یافت. در پایان دوره، سطح اضطراب و افسردگی رت ها به ترتیب توسط ماز بعلاوه مرتفع و تست شنای اجباری ارزیابی شد. هر موش بزرگ آزمایشگاهی فقط یه بار به مدت ۵ دقیقه در ماز بعلاوه مرتفع قرار گرفت. این ماز از دو بازوی باز و دو بازوی بسته (به صورت بعلاوه) تشکیل شده و در ارتفاع ۵۰ سانتی متری از سطح زمین قرار دارد. تعداد ورود به بازوی باز و بسته و مدت زمان ماندن در هر بازو مانیتور شده و درصد ورود به بازوی باز (OAE) و

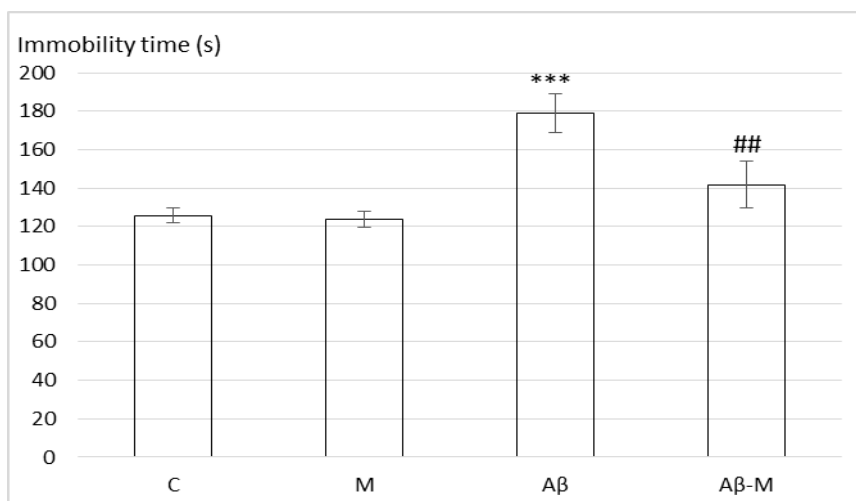


شکل ۱. بررسی اثر مورین بر اضطراب ناشی از پپتید آمیلوئید بتا با استفاده از ماز بعلاوه مرتفع. **A.** درصد ورود به بازوی باز (OAE). **B.** درصد زمان ماندن در بازوی باز (OAT) و **C** فعالیت حرکتی حیوانات (مجموع ورود به بازوها) نمایش داده شده است. آمیلوئید بتا به صورت درون هیپوکامپی تزریق شد و تیمار مورین به صورت گاوآژ انجام گرفت. کنترل (C)، مورین (M)، آمیلوئید بتا (Aβ) و آمیلوئید بتا-مورین (Aβ-M). $P < 0.001$ *** در مقایسه با کنترل و $P < 0.01$ ## در مقایسه با گروه Aβ. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارایه شده است و ۱۰ سر رت در هر گروه قرار دارد.

بی حرکتی در حیوانات دریافت کننده ی $A\beta$ 1-42 منجر شد ($P < 0/01$) (شکل ۲). گروه مورین در فاکتورهای مربوط به هر دو آزمون، تفاوت معنی داری در مقایسه با گروه کنترل نداشت.

اثر مورین بر افسردگی القا شده توسط آمیلوئید بتا

نتایج تست شنای اجباری نیز نشان داد که تزریق درون هیپوکامپی $A\beta$ 1-42 به افسردگی موش های بزرگ آزمایشگاهی منجر شد زیرا مجموع زمان بی حرکتی در این گروه افزایش معنی داری را در مقایسه با گروه کنترل نشان داد ($P < 0/001$). تیمار مورین به کاهش معنی دار زمان



شکل ۲. بررسی اثر مورین بر افسردگی ناشی از پپتید آمیلوئید بتا با استفاده از تست شنای اجباری. نتایج حاصل از مجموع زمان بی حرکتی در استوانه حاوی آب نمایش داده شده است. آمیلوئید بتا به صورت درون هیپوکامپی تزریق شد و تیمار مورین به صورت گاواژ انجام گرفت. کنترل (C)، مورین (M)، آمیلوئید بتا ($A\beta$) و آمیلوئید بتا-مورین ($A\beta$ -M). $P < 0/001$ در مقایسه با کنترل و $P < 0/01$ در مقایسه با گروه $A\beta$. نتایج به صورت میانگین \pm انحراف معیار ارائه شده است و ۱۰ سر رت در هر گروه قرار دارد.

بحث

اخیراً اثر ضد اضطرابی مورین در موش هایی که از خواب REM محروم شده بودند نیز گزارش شده است (۲۳). مورین (در دوزهای 10 و 20 mg/kg)، زمان گذرانده شده در بازوی باز ماز بعلاوه مرتفع را در موش هایی که با استرس بی حرکتی حاد مواجه شده بودند نیز افزایش داد (۲۴). Ben-Azu و همکاران (۲۰۱۸) ثابت کردند که مورین موجب تقویت سیستم گاباآرژیک در جسم مخطط، کورتکس پیش پیشانی و هیپوکامپ موش-های دریافت کننده ی کتامین می شود (۲۵). تضعیف سیگنالینگ گابا نقش مهمی در بروز اضطراب دارد و تقویت این سیستم بخصوص فعال شدن گیرنده ی گابا-A مدت هاست که به عنوان یک راهکار درمانی برای اضطراب به شمار می رود (۲۶).

در این مطالعه اثر مورین بر رفتارهای اضطرابی و افسردگی القا شده توسط $A\beta$ 1-42 در موش های بزرگ آزمایشگاهی مورد بررسی قرار گرفت. به دنبال تزریق درون هیپوکامپی $A\beta$ 1-42 درصد OAT و OAE در ماز بعلاوه مرتفع کاهش یافت و مجموع زمان بی حرکتی این حیوانات نیز در تست شنای اجباری در مقایسه با گروه کنترل افزایش یافت که بیان گر بروز اضطراب و افسردگی در گروه $A\beta$ است و با گزارش Cioanca و همکاران (۲۰۱۴) و Song و همکاران (۲۰۱۷) مبنی بر پیدایش اضطراب و افسردگی در موش های بزرگ آزمایشگاهی دریافت کننده $A\beta$ 1-42 همسو می باشد (۲۱، ۲۲). تیمار مورین (20 mg/kg) موجب کاهش سطح اضطراب در حیوانات دریافت کننده $A\beta$ شد زیرا عملکرد آنها در ماز بعلاوه مرتفع در مقایسه با گروه $A\beta$ بهبود یافت.

موش‌های صحرایی بزرگی که تحت تزریق درون هیپوکامپی $A\beta$ 1-42 قرار گرفتند تایید نمود، بنابراین احتمالاً اثر ضدافسردگی و ضداضطرابی مورین تا حد زیادی به این موضوع ربط داشته باشد. به طور کلی فلاونوئیدها با مهار استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی، تنظیم سطح نوروترنس میتراها، افزایش پلاستی سیتی سیناپسی، تحریک سیگنالینگ فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز و... کاندیدای مناسبی برای درمان اضطراب و افسردگی معرفی شده اند (۳۱) و با توجه به نتایج حاصل از مطالعه حاضر، به نظر می رسد فلاونوئید مورین نیز در این زمینه موفق است. برای تقویت فرضیه ضد اضطراب و ضد افسردگی بودن مورین در حیوانات مدل آلزایمر بهتر است مطالعات مولکولی و هیستولوژیکی نیز انجام گیرد.

نتیجه گیری

در مجموع نتیجه گیری می شود که مورین از بروز اختلالات رفتاری نظیر رفتارهای اضطرابی و افسردگی ناشی از پپتید آمیلوئید بتا (مدل بیماری آلزایمر) مانع شده و احتمالاً پتانسیل بالایی برای محافظت کنندگی عصبی در برابر آمیلوئید بتا دارد.

تقدیر و تشکر

نویسندگان مقاله از خانم نهاله توفیقی برای همکاری در جراحی استریوتاکسی قدردانی می کنند.

تعارض منافع

تعارض منافع وجود ندارد.

طبق نتایج حاصل از تست شنای اجباری، مورین موجب کاهش سطح افسردگی در موش های بزرگ آزمایشگاهی دریافت کننده $A\beta$ 1-42 شد زیرا مدت زمان بی حرکتی در گروه آمیلوئید بتا-مورین در مقایسه با گروه آمیلوئید بتا به طور معنی داری کاهش یافت. اخیراً اثر ضدافسردگی مورین در موش های بزرگ آزمایشگاهی که با استرس خفیف مزمن غیرقابل پیش بینی مواجه شدند نیز گزارش شده است. اثر ضدافسردگی مورین در این حیوانات به توانایی این ترکیب در کاهش استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی نسبت داده شد. به علاوه، مورین توانست از کاهش سطح نوروترنس میتراها سروتونین، اپی-نفرین و نوراپی نفرین (که نقش مهمی در بروز افسردگی دارد) در حیوانات تحت استرس جلوگیری نماید (۲۷). مورین سطح گلوتامیک اسید دکربوکسیلاز ۶۷ (آنزیم سازنده ی گابا) را در جسم مخطط، هیپوکامپ و کورتکس پری فرونتال موش‌هایی که با استرس روانی اجتماعی مواجه بودند نیز افزایش داد (۲۵). آنزیم مذکور در کورتکس بیماران مبتلا به افسردگی شدید کاهش می یابد (۲۸). همچنین مورین می تواند التهاب عصبی را سرکوب نموده و با مهار کاسپاز-۳ نرون ها در برابر آپوپتوز القا شده توسط استرس و ایفوسفامید محافظت نماید (۲۷،۲۹). با توجه به این که آپوپتوز نرونی نقش اساسی در پیدایش افسردگی دارد (۳۰) به نظر می رسد این موضوع هم در اثر ضدافسردگی مورین دخالت داشته باشد.

استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی در مغز مبتلایان به اضطراب و افسردگی در مراحل مختلف بیماری مشاهده شده است (۴،۵) و از آنجا که اثر آنتی اکسیدانی و ضدالتهابی مورین در پژوهش های متعددی ثابت شده است (۱۴،۱۶،۱۹) و نتایج منتشر نشده ما نیز این موضوع را در

منابع

1. Abeyasinghe AA, Deshapriya RD, Udawatte C. Alzheimer's disease; a review of the pathophysiological basis and therapeutic interventions. *Life Sciences* 2020;256:117996. doi: 10.1016/j.lfs.2020.117996 .
2. Chen Z, Zhong C. Oxidative stress in Alzheimer's disease. *Neuroscience Bulletin* 2014;30(2):271-81. doi: 10.1007/s12264-013-1423-y.
3. Sinyor B, Mineo J, Ochner C. Alzheimer's Disease, Inflammation, and the Role of Antioxidants. *Journal*

- of Alzheimer's Disease Reports 2020;4:175-83. doi: 10.3233/ADR-200171.
4. Salim S, Asghar M, Taneja M, Hovatta I, Chugh G, Vollert C, et al. Potential contribution of oxidative stress and inflammation to anxiety and hypertension. *Brain Research* 2011;1404:63-71. doi: 10.1016/j.brainres.2011.06.024.
 5. Rawdin BJ, Mellon SH, Dhabhar FS, Epel ES, Puterman E, Su Y, et al. Dysregulated relationship of inflammation and oxidative stress in major depression. *Brain, Behavior, and Immunity* 2013;31:143-52. doi: 10.1016/j.bbi.2012.11.011.
 6. Pietrzak RH, Lim YY, Neumeister A, Ames D, Ellis KA, Harrington K, et al. Amyloid- β , anxiety, and cognitive decline in preclinical Alzheimer disease: a multicenter, prospective cohort study. *JAMA Psychiatry* 2015;72(3):284-91. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2014.2476.
 7. Donovan NJ, Locascio JJ, Marshall GA, Gatchel J, Hanseeuw BJ, Rentz DM, et al. Harvard Aging Brain Study. Longitudinal association of amyloid beta and anxious-depressive symptoms in cognitively normal older adults. *American Journal of Psychiatry* 2018;175:530-7. doi: 10.1176/appi.ajp.2017.17040442.
 8. Kim JK, Park SU. Flavonoids for treatment of Alzheimer's disease: An up to date review. *EXCLI Journal* 2021;20:495-502. doi: 10.17179/excli2021-3492.
 9. Caselli A, Cirri P, Santi A, Paoli P. Morin: a promising natural drug. *Current Medicinal Chemistry* 2016;23(8):774-91. doi: 10.2174/0929867323666160106150821.
 10. Lee HS, Jung KH, Hong SW, Park IS, Lee C, Han HK, et al. Morin protects acute liver damage by carbon tetrachloride (CCl₄) in rat. *Archives of Pharmacal Research* 2008;31(9):1160-5. doi: 10.1007/s12272-001-1283-5.
 11. Subash S, Subramanian P. Morin a flavonoid exerts antioxidant potential in chronic hyperammonemic rats: a biochemical and histopathological study. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2009;327(1):153-61. doi: 10.1007/s11010-009-0053-1.
 12. Kapoor R, Kakkar P. Protective role of morin, a flavonoid, against high glucose induced oxidative stress mediated apoptosis in primary rat hepatocytes. *PLoS One* 2012;7(8):e41663. doi: 10.1371/journal.pone.0041663.
 13. Ola MS, Aleisa AM, Al-Rejaie SS, Abuhashish HM, Parmar MY, Alhomida AS, et al. Flavonoid, morin inhibits oxidative stress, inflammation and enhances neurotrophic support in the brain of streptozotocin-induced diabetic rats. *Neurological Sciences* 2014;35(7):1003-8. doi: 10.1007/s10072-014-1628-5.
 14. Lee KM, Lee Y, Chun HJ, Kim AH, Kim JY, Lee JY, et al. Neuroprotective and anti-inflammatory effects of morin in a murine model of Parkinson's disease. *Journal of Neuroscience Research* 2016;94(10):865-78. doi: 10.1002/jnr.23764.
 15. Gong EJ, Park HR, Kim ME, Piao S, Lee E, Jo DG, et al. Morin attenuates tau hyperphosphorylation by inhibiting GSK3 β . *Neurobiology of Disease* 2011;44(2):223-30. doi: 10.1016/j.nbd.2011.07.005.
 16. Alberdi E, Sánchez-Gómez MV, Ruiz A, Cavaliere F, Ortiz-Sanz C,

- Quintela-Lopez T, et al. Mangiferin and morin attenuate oxidative stress, mitochondrial dysfunction, and neurocytotoxicity, induced by amyloid beta oligomers. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* 2018;2018:2856063. doi: 10.1155/2018/2856063.
17. Liu H, Li S, Yang C, Jia H, Gu Z, Tu X, et al. D-serine Ameliorates Motor and Cognitive Impairments in β -amyloid 1-42 Injected Mice by Inhibiting JNK Signaling Pathway. *Journal of Chemical Neuroanatomy* 2020;109:101852. doi: 10.1016/j.jchemneu.2020.101852.
 18. Paxinos G, Watson C. The rat brain in stereotaxic coordinates. New York: Academic Press 2006.
 19. Fadaei S, Asle-Rousta M. Anxiolytic and antidepressant effects of cinnamon (*Cinnamomum verum*) extract in rats receiving lead acetate. *Scientific Journal of Kurdistan University of Medical Sciences* 2018, 22(6): 31-39.
 20. Maghsoud-Nia L, Asle-Rousta M, Rahnema M, Amini R. Sesame Oil and Its Component Oleic Acid Ameliorate Behavioral and Biochemical Alterations in Socially Isolated Rats. *Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science* 2021;1-9. doi: 10.1007/s40995-021-01098-0.
 21. Cioanca O, Hritcu L, Mihasan M, Trifan A, Hancianu M. Inhalation of coriander volatile oil increased anxiolytic-antidepressant-like behaviors and decreased oxidative status in beta-amyloid (1-42) rat model of Alzheimer's disease. *Physiology & Behavior* 2014;131:68-74. doi: 10.1016/j.physbeh.2014.04.021.
 22. Song X, Liu B, Cui L, Zhou B, Liu W, Xu F, et al. Silibinin ameliorates anxiety/depression-like behaviors in amyloid β -treated rats by upregulating BDNF/TrkB pathway and attenuating autophagy in hippocampus. *Physiology & Behavior* 2017;179:487-93. doi: 10.1016/j.physbeh.2017.07.023.
 23. Olonode ET, Aderibigbe AO, Adeoluwa OA, Eduviere AT, Ben-Azu B. Morin hydrate mitigates rapid eye movement sleep deprivation-induced neurobehavioural impairments and loss of viable neurons in the hippocampus of mice. *Behavioural Brain Research* 2019;356:518-25. doi: 10.1016/j.bbr.2017.12.024.
 24. Olonode ET, Aderibigbe AO, Adeoluwa OA, Ajayi AM. Protective effects of morin hydrate on acute stress-induced behavioral and biochemical alterations in mice. *Basic and Clinical Neuroscience* 2018;9(3):195-208. doi: 10.29252/NIRP.BCN.9.3.195.
 25. Ben-Azu B, Aderibigbe AO, Ajayi AM, Eneni AE, Umukoro S, Iwalewa EO. Involvement of GABAergic, BDNF and Nox-2 mechanisms in the prevention and reversal of ketamine-induced schizophrenia-like behavior by morin in mice. *Brain Research Bulletin* 2018;139:292-306. doi: 10.1016/j.brainresbull.2018.03.006.
 26. Sanders SK, Shekhar A. Regulation of anxiety by GABAA receptors in the rat amygdala. *Pharmacology Biochemistry and Behavior* 1995;52(4):701-6. doi: 10.1016/0091-3057(95)00153-N.
 27. Hassan MA, Gad AM, Menze ET, Badary OA, El-Naga RN. Protective effects of morin against depressive-like behavior prompted by chronic unpredictable mild stress in rats: Possible role of inflammasome-related pathways. *Biochemical Pharmacology*

2020;180:114140. doi:
10.1016/j.bcp.2020.114140.

28. Karolewicz B, Maciag D, O'Dwyer G, Stockmeier CA, Feyissa AM, Rajkowska G. Reduced level of glutamic acid decarboxylase-67 kDa in the prefrontal cortex in major depression. *International Journal of Neuropsychopharmacology* 2010;13(4):411-20. doi:
10.1017/S1461145709990587.
29. Çelik H, Kucukler S, Çomaklı S, Özdemir S, Caglayan C, Yardım A, et al. Morin attenuates ifosfamide-induced neurotoxicity in rats via suppression of oxidative stress, neuroinflammation and neuronal apoptosis. *Neurotoxicology* 2020;76:126-37. doi:
10.1016/j.neuro.2019.11.004.
30. Lucassen PJ, Müller MB, Holsboer F, Bauer J, Holtrop A, Wouda J, et al. Hippocampal apoptosis in major depression is a minor event and absent from subareas at risk for glucocorticoid overexposure. *The American Journal of Pathology* 2001;158(2):453-68. doi:
10.1016/S0002-9440(10)63988-0.
31. Ko YH, Kim SK, Lee SY, Jang CG. Flavonoids as therapeutic candidates for emotional disorders such as anxiety and depression. *Archives of Pharmacal Research* 2020;22:1-6. doi:
10.1007/s12272-020-01292-5.