

## مقاله پژوهشی

مجله دانشگاه علوم پزشکی رفسنجان

دوره پنجم، شماره سوم، پاییز ۱۳۸۵، ۱۴۳-۱۵۰

# بررسی اثر عصاره زعفران (*Crocus sativus*) بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی

دکتر مینا مبشر<sup>۱</sup>، دکتر هدایت صحرائی<sup>۲</sup>، بهنام صادقی راد<sup>۳</sup>، محمد کمالی نژاد<sup>۴</sup>، جمال شمس<sup>۵</sup>

دریافت مقاله: ۸۴/۵/۲۲ ارسال مقاله به نویسنده جهت اصلاح: ۸۴/۱۰/۲۶ دریافت اصلاحیه از نویسنده: ۸۵/۷/۳ پذیرش مقاله: ۸۵/۷/۱۱

### چکیده

**زمینه و هدف:** تاکنون تأثیر زعفران بر اثرات سرخوشی آور مورفین مورد بررسی قرار نگرفته است. در تحقیق حاضر، اثر عصاره آبی کلالة گل زعفران (*Crocus sativus*) بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر نژاد N-MARI در محدوده وزنی ۲۵-۲۰ گرم بررسی شده است.

**مواد و روش‌ها:** این پژوهش به صورت تجربی بر روی ۱۳۶ سر موش کوچک آزمایشگاهی نر که به طور مساوی در ۱۷ گروه تقسیم شدند (۸ سر در هر گروه)، انجام گردید. در آزمایش اولیه، مقادیر متفاوت مورفین و یا عصاره گیاه به حیوانات تزریق شد تا مشخص شود که آیا مورفین و یا عصاره گیاه توانایی القاء ترجیح مکان شرطی شده را در این دستگاه دارند یا خیر؟ در بخش دوم آزمایش‌ها، ابتدا حیوانات مقادیر متفاوت عصاره و پس از ۳۰ دقیقه دوز مؤثر مورفین را دریافت کردند تا اثر عصاره بر کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین بررسی شود. برای بررسی اثر عصاره گیاه بر بیان ترجیح مکان شرطی شده، حیوانات در روزهای آموزش فقط دوز مؤثر مورفین را دریافت کردند و در روز آزمون ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش، مقادیر متفاوت عصاره را دریافت کردند. یافته‌ها در بین گروه‌های مختلف با استفاده از آزمون آنالیز-واریانس یک‌طرفه مقایسه شد.

**یافته‌ها:** آزمایش‌ها نشان داد که تجویز مورفین (۱، ۲، ۴ و ۸) باعث افزایش زمان سپری شده در قسمت دریافت مورفین گردید (ترجیح مکان شرطی شده) ( $p < 0.01$ ). این افزایش در گروه دریافت کننده دوز (۴ و ۸) مورفین کاملاً معنی‌دار بود. تجویز عصاره با دوز (۵۰ mg/kg) نسبت به گروه سالیین باعث بروز ترجیح مکان شرطی شده گردید ( $p < 0.01$ ). تجویز عصاره گیاه مذکور با دوزهای فوق قبل از تجویز مورفین (۸ mg/kg) سبب کاهش معنی‌دار زمان سپری شده در قسمت دریافت دارو در دوز ۱۰۰ mg/kg گردید ( $p < 0.05$ ). همچنین تجویز عصاره به حیواناتی که در روزهای القاء شرطی شدن، مورفین با دوز (۸ mg/kg) دریافت کرده بودند، سبب افزایش بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین گردید که این افزایش در دوز ۵۰ mg/kg عصاره کاملاً معنی‌دار بود ( $p < 0.05$ ).

**نتیجه‌گیری:** از این آزمایش‌ها استنباط می‌شود که عصاره کلالة گل زعفران سبب تضعیف کسب و تقویت بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین می‌گردد. همچنین، این عصاره به تنهایی سبب بروز ترجیح مکان شرطی شده می‌شود.

**واژه‌های کلیدی:** مورفین، ترجیح مکان شرطی شده، موش کوچک آزمایشگاهی، عصاره زعفران

۱- پزشک عمومی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۲- نویسنده مسئول) دانشیار گروه آموزشی فیزیولوژی و بیوفیزیک، مرکز تحقیقات علوم رفتاری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله

تلفن: ۰۲۱-۲۲۲۸۱۵۶۱، فاکس: ۰۲۱-۲۲۲۸۱۵۶۱، پست الکترونیکی: h.sahraei@bmsu.ac.ir

۳- دانشجوی داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی کرمان

۴- مربی گروه آموزشی فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۵- مربی، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

## مقدمه

امروزه، مکانیسم‌ها و عوامل اصلی در مغز که با وابستگی به اوپیوئیدها ارتباط دارند، تا حدود زیادی شناخته شده‌اند. یکی از مهم‌ترین مسیرهای مرتبط با وابستگی دارویی، مسیر دوپامینی مزوکورتیکولیمبیک است که نقش اصلی و مهمی را در وابستگی روانی به اوپیوئیدها بازی می‌کند [۱]. این مسیر از ناحیه تگمنتوم شکمی که در واقع نورون‌های دوپامینی A<sub>10</sub> محسوب می‌شوند، شروع شده و به هسته آکومبانس، قشر جلو پیشانی و نواحی درگیر در حافظه مانند هیپوکامپ و آمیگدال ختم می‌شود [۲-۴]. با این حال، مسیرهای آناتومیکی دیگر [۵-۶، ۳] و نوروترانسمیترهای دیگری [۵-۲] نیز در مغز شناخته شده‌اند که حداقل قسمتی از عملکرد اوپیوئیدها در القاء وابستگی روانی به آن‌ها نسبت داده شده است. به دلیل توانایی داروهای مخدر اوپیوئیدی در تحریک آزاد شدن دوپامین در مسیر مزوکورتیکولیمبیک، این داروها توانایی القاء حافظه بلند مدت را نیز دارند. این امر یکی از دلایل اصلی وجود خاطره مصرف مواد مخدر در افراد معتاد می‌باشد که برای مدت‌ها بعد از ترک مصرف مواد مخدر نیز برجای می‌ماند [۲-۱]. هم‌چنین، بر اساس این توانایی است که برخی روش‌های مطالعه مانند ترجیح مکان شرطی شده در حیوانات به عنوان یک مدل حیوانی اختراع شده و توسعه یافته‌اند [۸-۷].

داروهای گیاهی به دلیل اثرات جانبی کمتر، از چند دهه پیش به عنوان جایگزینی خوب برای داروهای شیمیایی مطرح شده‌اند و مصرف آن‌ها در دنیا رو به افزایش است [۹].

زعفران از جمله گیاهانی است که در نقاط مختلف دنیا به عنوان یک گیاه دارویی از قدیم مورد استفاده قرار گرفته است [۹]. در ایران این گیاه به عنوان ضد اسپاسم، آرامبخش، کمک کننده هضم غذا، ضد نفخ، معرق، خلط‌آور، محرک میل جنسی و تسکین دهنده درد مورد استفاده بوده است [۹]. در طب چینی از این گیاه برای درمان آمنوره [۱۰-۱۱] نیز استفاده شده است. این گیاه را به صورت دم کرده مصرف می‌کنند.

زعفران گیاهی از تیره زنبق و چند ساله به ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر و دارای پیازی سخت و مدور و گوشت‌دار و پوشیده از غشاهای نازک و قهوه‌ای رنگ است. این گیاه در نقاط مختلف دنیا می‌روید. گل‌های زعفران بنفش رنگ و دارای خامه بلند و کلاله سه قسمتی به رنگ نارنجی یا قرمز است که همین قسمت به عنوان زعفران، ارزش تجاری دارد [۹]. زعفران دارای مواد چرب، املاح معدنی و موسیلاژ است. ترکیبات زیر نیز در زعفران یافت می‌شود: اسانس بی‌رنگی مرکب از ترپن‌ها و سینئول که بوی زعفران مربوط به این مواد است. پیکروکروسین که یک هتروزید تلخ است و در آب و الکل به راحتی حل می‌شود. گلوکزیدی به نام پیکروکروستین که از هیدرولیز آن پیکروکروسین و گلوکز به دست می‌آید. کروسین که ماده اصلی رنگی زعفران است که نوعی کاروتنوئید می‌باشد [۹].

در تحقیقات قبلی، در مورد اثر عصاره زعفران در برخی بیماری‌ها در انسان، تحقیقاتی انجام گرفته است. در مورد کاهش افسردگی در انسان، آخوندزاده و همکاران در یک تحقیق اثر عصاره گیاه زعفران را با ایمی‌پرامین به عنوان یک داروی ضد افسردگی رایج در درمان افسردگی‌های خفیف تا متوسط مطالعه کردند [۱۲]. نتیجه این تحقیق نشان داد که عصاره زعفران همان کارایی ایمی‌پرامین را بدون عوارض جانبی آن دارد. هم‌چنین در یک تحقیق دیگر، نوربالا و همکاران [۴]، اثر عصاره آبی-الکلی زعفران را بر بهبود افسردگی خفیف تا متوسط مطالعه کرده و اثر آن را با فلوکستین مورد مقایسه قرار دادند. این گروه در تحقیق دیگری اثر عصاره آبی-الکلی گیاه زعفران را بر کاهش افسردگی خفیف تا متوسط مورد تأکید قرار دادند [۴].

نتایج این تحقیق نیز بر اثر مثبت زعفران در کاهش علائم افسردگی در مقایسه با فلوکستین تأکید دارد. از سوی دیگر، تحقیقات قبلی بر اثرات مشابه ضد درد و ضد التهاب عصاره زعفران و داروهای ضد درد و ضد التهاب رایج در موش‌های کوچک آزمایشگاهی تأکید دارد [۱۳]. یک تحقیق نسبتاً جدید نیز اشاره دارد که کروسین (آلکالوئید اصلی زعفران) هنگامی

بن‌ماری با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت تا آب عصاره نیز به آرامی تبخیر شده و پودر عصاره به جا بماند. از هر ۱۰۰ گرم پودر کلالة به این روش، ۲۵ گرم عصاره به دست می‌آمد. این عصاره در سالیین حل و به صورت داخل صفاقی به حیوانات تزریق می‌شد.

**حیوانات:** در این پژوهش از موش‌های سوری نر نژاد N-MARI با میانگین وزنی ۲۵-۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۱۰ تایی با دوره شبانه‌روزی طبیعی و در دمای ۲۴-۲۲°C، با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند. در هر سری آزمایش ۸ سر حیوان مورد استفاده قرار گرفت. هر حیوان به روش تصادفی ساده انتخاب و آزمایش می‌شد.

**روش القاء ترجیح مکان شرطی شده:** برای انجام آزمایش ترجیح مکان شرطی شده از دستگاه چوبی مخصوصی استفاده شد که از دو قسمت مجزا تشکیل شده است [۸]. این دو قسمت دارای ابعاد مساوی ۱۵×۱۵×۱۵ سانتی‌متر (طول و عرض و ارتفاع) می‌باشند که توسط یک دریچه گیوتینی مرکزی می‌توانند با هم در ارتباط باشند. رنگ دیواره‌های هر دو طرف سفید اما دیواره‌های هر قسمت دارای تزئینات متمایز از طرف دیگر بود. کف هر قسمت نیز دارای خراشیدگی‌هایی بود که از طرف مقابل متمایز بود (جهت خراشیدگی‌ها در یک طرف عمود بر دریچه مرکزی و در طرف دیگر موازی با دریچه مرکزی بود). دوره آزمایش ترجیح مکان شرطی شده پنج روز بود که شامل مراحل زیر بوده است:

**الف) مرحله پیش شرطی‌سازی:** در اولین روز هر دوره که روز آشنایی نامیده می‌شود، پس از برداشتن دریچه گیوتینی، هر حیوان به مدت ۱۰ دقیقه در داخل دستگاه قرار گرفته تا آزادانه در دستگاه گردش کرده و با محیط آن آشنا شود. زمان سپری شده در هر قسمت دستگاه در این روز ثبت می‌شد. نتایج نشان داد که در این دستگاه حیوانات تمایل ذاتی به هیچ کدام از دو قسمت نشان نمی‌دهند و بنابراین از روش غیر طرفدار (Un-Biased) برای ادامه کار استفاده شد. در این روش نیمی از حیوانات در هر سری در یک قسمت و نیم دیگر

که قبل از تجویز سم 6-OHDA به داخل ماده سیاه به صورت یک‌طرفه، به مدت هفت روز به موش‌های بزرگ تجویز شود، از کاهش دوپامین مغز، افزایش عوامل اکسیدکننده و تخریب نورون‌های دوپامینی جلوگیری کرده و سطح دوپامین را در استریاتوم بالا می‌برد [۱۴].

محققان هم‌چنین بر تأثیر کروسین در بهبود حافظه و القاء پدیده تقویت طولانی مدت (LTP) در موش‌های بزرگ آزمایشگاهی نر تأکید دارند [۱۵]. با این حال تاکنون تحقیقی در مورد اثرات سرخوشی‌آور زعفران (که با القاء حافظه نیز همراه است) یا اثر این گیاه بر بروز اثرات سرخوشی‌آور مورفین انجام نشده است. به همین دلیل در تحقیق حاضر توانایی عصاره آبی زعفران در القاء اثرات سرخوشی‌آور و نیز تشدید و یا تضعیف شدن اثرات سرخوشی‌آور مورفین در موش کوچک آزمایشگاهی نر بررسی شده است. به این منظور از روش ترجیح مکان شرطی شده که یک روش استاندارد، کم‌هزینه و دقیق در بررسی اثرات سرخوشی‌آور داروهای مخدر است [۸]، استفاده شد. در ضمن با این روش القاء حافظه نیز مورد بررسی قرار می‌گیرد.

## مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر پژوهشی است که به صورت تجربی انجام شده است.

**عصاره گیری:** کلالة گیاه زعفران توسط شرکت طلاکاران مزرعه (بیرجند- خراسان جنوبی) در اختیار این گروه قرار گرفت. زعفران به آزمایشگاه دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی انتقال یافت و توسط مهندس کمالی‌نژاد مورد شناسایی قرار گرفت و کد ۴۰۸ به آن داده شد. سپس کلالة پودر شده و در دستگاه تقطیر، عصاره آبی آن گرفته شد. برای این منظور، ۱۰۰ گرم از پودر کلالة خشک شده در یک مخزن شیشه‌ای ریخته می‌شد و به آن ۱۰۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه و برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده می‌شد. سپس محلول به دست آمده از یک صافی عبور داده می‌شد و برای مدت یک هفته در دستگاه

مورفین به دست آمد. همین کار برای عصاره نیز انجام شد و در نتیجه دوزهای مؤثر هر دو دارو شناخته شدند.

**بررسی اثر عصاره زعفران بر کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین:** در این مرحله دوزهای مختلف عصاره (۱۰ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰) ۳۰ دقیقه قبل از تزریق مورفین (۸ mg/kg) به حیوانها تزریق شد. در روز آزمون حیوانها بدون هیچ‌گونه تزریقی مورد آزمایش قرار گرفتند.

**بررسی اثر عصاره زعفران بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین:** در ادامه مطالعه در چهار گروه از حیوانها، در روزهای القاء شرطی شدن، مورفین (۸ mg/kg) تزریق شد. در روز آزمون ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش به سه گروه از حیوانها عصاره (۱۰ mg/kg، ۵۰ و ۱۰۰) تزریق و حیوانها به مدت ۱۰ دقیقه مورد آزمون قرار گرفتند.

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** اطلاعات به دست آمده به صورت میانگین  $\pm$  انحراف معیار استاندارد (Mean  $\pm$  SEM) نمره شرطی شدن بیان شدند. به منظور تجزیه و تحلیل اطلاعات از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه و به دنبال آن تست توکی استفاده شد و  $p < 0.05$  به مفهوم معنی‌دار بودن آماری در نظر گرفته شد.

## نتایج

**- القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی:** در این آزمایش، موش‌ها به پنج گروه تقسیم شدند. یک گروه سالین (به روش ذکر شده در قسمت مواد و روش‌ها) دریافت کرد و چهار گروه دیگر دوزهای مختلف مورفین را به منظور القاء ترجیح مکان شرطی شده دریافت کردند. نمره شرطی شدن در بین گروه‌های دریافت کننده دوزهای مختلف مورفین (۱، ۲، ۴ و ۸ mg/kg) با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یکطرفه مقایسه شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تجویز مورفین سبب افزایش زمان سپری شده در قسمت دریافت مورفین نسبت به زمان سپری شده در قسمت دریافت سالین می‌شود (ترجیح مکان شرطی شده) [ $F(4,36)=3/12, p < 0.01$ ] (نمودار ۱-آ). چون

در طرف مقابل شرطی می‌شدند. به این ترتیب طراحی به صورت متعادل (Cuonterbalance) بود.

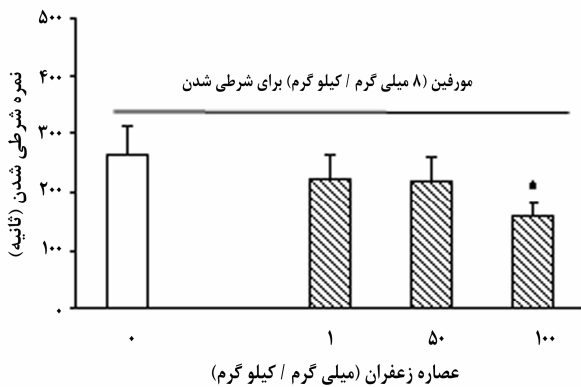
**(ب) مرحله شرطی‌سازی:** برای اینکه حیوان را به مکان معینی شرطی کنیم، طی مدت سه روز به طور متناوب به آن‌ها دارو تزریق نمودیم. به این ترتیب که در ساعت ۹ صبح روز دوم، پس از توزین حیوانات، مورفین (یا عصاره) را به صورت زیر جلدی (یا داخل صفاقی) به هر حیوان تزریق و پس از بستن دریچه گیوتینی آن‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در یکی از دو قسمت دستگاه قرار می‌دادیم. شش ساعت بعد، پس از توزین مجدد به حیوانات سالین تزریق می‌کردیم و آن‌ها را به مدت ۳۰ دقیقه در قسمت مخالف قرار می‌دادیم. در روز سوم زمان تزریق مورفین و سالین بر عکس می‌شد (صبح سالین و عصر مورفین). در روز چهارم زمان تزریقات مانند روز دوم بود.

**(ج) مرحله پس از شرطی‌سازی:** در روز پنجم آزمایشات (آخرین روز هر دوره آزمایش)، ابتدا دریچه گیوتینی برداشته می‌شد و سپس هر حیوان در داخل دستگاه قرار می‌گرفت و برای مدت ۱۰ دقیقه اجازه حرکت آزادانه در هر دو قسمت دستگاه را داشت. مدت زمان توقف هر حیوان در هر قسمت از دستگاه ثبت و زمان توقف در قسمت دریافت دارو (Drug-Paired) از زمان توقف حیوان در قسمت دریافت سالین (Saline-Paired) کم و به عنوان نمره شرطی شدن (Conditioning Score) به عنوان نمادی از اثر دارو در القاء شرطی شدن در نظر گرفته می‌شد.

**داروها:** در این پژوهش، مورفین سولفات (تماد- ایران) مورد استفاده قرار گرفت. مورفین در سالین حل شده و با حجم ۱۰ ml/kg به صورت زیر جلدی مورد استفاده قرار گرفت. عصاره کلاله گل زعفران نیز پس از توزین در سالین حل شده و به صورت داخل صفاقی مورد استفاده قرار گرفت. گروه‌های کنترل در هر قسمت سالین را به صورت زیر جلدی یا داخل صفاقی دریافت کردند.

**گروه‌بندی دارویی:** در ابتدا به منظور تعیین دوز مؤثر مورفین در القاء ترجیح مکان شرطی شده، منحنی دوز- پاسخ

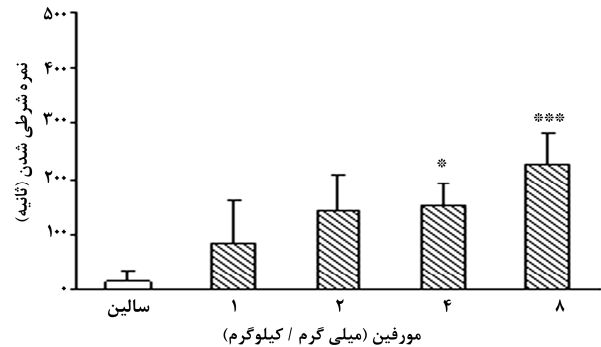
- بررسی اثر عصاره زعفران بر کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین: در این سری از آزمایش‌ها نیز از چهار گروه حیوان استفاده شد. سه گروه از حیوانات در روزهای آموزش قبل از تجویز مورفین ( $8\text{mg/kg}$ ) یکی از سه دوز عصاره ( $10$ ،  $50$  و  $100$ ) را دریافت کردند. گروه چهارم سالیین دریافت کردند. آنالیز- واریانس یک‌طرفه نشان داد که تجویز عصاره زعفران، اثر مورفین را در القاء ترجیح مکان شرطی شده به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد [ $F(3,28)=3/29$ ,  $p<0/05$ ] (نمودار ۲-آ). این اثر در دوز  $100\text{ mg/kg}$  کاملاً معنی‌دار بود.



نمودار ۲-آ: اثر تجویز عصاره زعفران بر کسب (ایجاد) ترجیح مکان شرطی شدن ناشی از مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتایج به صورت (Mean±SEM) نمره شرطی شدن در مورد ۸ سر حیوان است. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل: \*  $p<0/05$ .

- بررسی اثر عصاره زعفران بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین: در این قسمت ابتدا چهار گروه حیوان انتخاب شدند. همه گروه‌ها در روزهای آموزش به روشی که در قسمت قبل ذکر شد، مورفین ( $8\text{mg/kg}$ ) دریافت کردند. در روز آزمون، ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش به سه گروه از حیوانات، سه دوز از عصاره زعفران ( $10$ ،  $50$  و یا  $100$ ) تزریق شد. گروه چهارم سالیین دریافت کردند. تجزیه و تحلیل نتایج با استفاده از آزمون آنالیز- واریانس یک‌طرفه نشان داد که تجویز عصاره زعفران، بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را به طور معنی‌داری افزایش می‌دهد [ $F(3,28)=4/12$ ,  $p<0/05$ ] (نمودار ۲-ب). آنالیز بعدی داده‌ها نشان داد که اثر دوز  $50\text{ mg/kg}$  عصاره زعفران بر بیان

دوز  $8\text{mg/kg}$  مورفین بهترین جواب را القاء کرد، در قسمت‌های بعدی آزمایش از این دوز استفاده گردید.



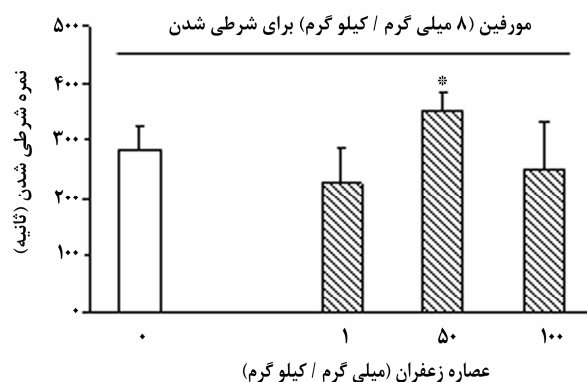
نمودار ۱-آ: اثر مورفین در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتایج به صورت (Mean±SEM) نمره شرطی شدن در مورد ۸ سر حیوان است. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل: \*  $p<0/05$ ; \*\*\*  $p<0/001$ .

- القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط عصاره زعفران در موش‌های کوچک آزمایشگاهی: در دور دوم آزمایش، اثر عصاره زعفران در القاء ترجیح مکان شرطی شده، مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان دادند که تجویز دوزهای مختلف عصاره زعفران ( $10$ ،  $50$  و  $100\text{ mg/kg}$ ) به همان روشی که برای مورفین ذکر شد، باعث بروز ترجیح و تنفر مکانی در موش‌ها می‌شود. آنالیز واریانس یک‌طرفه داده‌ها نشان داد که دوز  $50\text{ mg/kg}$  عصاره زعفران باعث بروز ترجیح مکان شرطی شده معنی‌داری می‌شود، اما دوز  $100\text{ mg/kg}$  این عصاره هرچند تنفر مکانی شرطی شده را در حیوانات القاء می‌کند، اما این اثر از نظر آماری معنی‌دار نمی‌باشد [ $F(3,28)=3/48$ ,  $p<0/05$ ] (نمودار ۱-ب).



نمودار ۱-ب: اثر عصاره زعفران در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتایج به صورت (Mean±SEM) نمره شرطی شدن در مورد ۸ سر حیوان است. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل: \*  $p<0/05$ ; \*\*  $p<0/01$ .

ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین کاملاً معنی‌دار است.



نمودار ۲-ب- اثر تجویز عصاره زعفران بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی. نتایج به صورت (Mean±SEM) نمره شرطی شدن در مورد ۸ سر حیوان است. اختلاف معنی‌دار با گروه کنترل\*:  $p < 0.05$ .

## بحث

مطالعه حاضر نشان داد که حیوانات، ترجیح کاملاً واضحی برای مکان دریافت مورفین نسبت به مکان دریافت سالیین از خود نشان می‌دهند، به علاوه، در پژوهش حاضر عصاره زعفران توانست اثرات سرخوشی‌آور و تنفرزا را به صورت وابسته به دوز از خود نشان دهد. این یافته مهم است و نشان می‌دهد که زعفران به نحوی با سیستم‌های پاداشی در مغز تداخل کرده و سبب بروز پاسخ‌های پاداشی یا تنفیری در حیوانات می‌شود. هرچند تاکنون گزارش زیادی از اثرات سرخوشی‌آور زعفران دیده نشده است. این یافته ممکن است در مورد انسان هم صادق باشد اما تاکنون تحقیقات جامعی در این زمینه انجام نشده است. مشاهدات مطالعه حاضر نشان می‌دهند که تزریق مزمن عصاره زعفران در روزهای القاء ترجیح مکان شرطی شده قبل از تزریق مورفین، قادر به مهار کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین است. هم‌چنین، تجویز عصاره زعفران در روز آزمون، بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را تقویت می‌کند.

زعفران از مهم‌ترین گیاهان مورد استفاده در مواد غذایی در کشورهای مختلف دنیاست و تحقیقات مختلفی بر روی خواص مختلف آن در حال انجام است. ترکیبات آلكالوئیدی موجود در

این گیاه، اثرات مهمی در مغز مانند تقویت حافظه [۱۵]، محافظت نورون‌ها در مقابل سموم [۱۴] و بهبود افسردگی [۴،۱۲]، از خود نشان داده‌اند. در مطالعه حاضر، عصاره زعفران توانست، ترجیح و تنفر مکان شرطی شده را به صورت وابسته به دوز در حیوانات القاء کند. هرچند تنفر القاء شده توسط زعفران از نظر آماری معنی‌دار نبود اما این بدان معنی نیست که اگر دوز عصاره زعفران افزایش یابد، باز هم اثری از این عصاره دیده نشود. عصاره زعفران دارای آلكالوئیدهای متعددی است که نقش آن‌ها در این پدیده باید در تحقیقات بعدی بررسی شود. یکی از مهم‌ترین این آلكالوئیدها، کروسین است که رنگ زعفران را به آن نسبت می‌دهند [۹]. در یک تحقیقی که Ahmad در سال ۲۰۰۵ انجام داده است مشخص شده که تجویز این ماده به موش‌های بزرگ آزمایشگاهی، مقاومت آن‌ها را در مقابل سم 6-OHDA که باعث تخریب نورون‌های دوپامینی در هسته ماده سیاه مغز می‌شود، بالا برده و اثر محافظتی بر این نورون‌ها اعمال می‌کند (اثر ضد پارکینسونی) [۱۴]. این ماده هم‌چنین ترشح دوپامین از این نورون‌ها را افزایش داده و متابولیت‌های حاصل از تجزیه دوپامین را از محیط جمع‌آوری می‌کند [۱۴]. بنابراین، با توجه به این که نورون‌های دوپامینی ناحیه تگمنتوم شکمی در فاصله بسیار نزدیکی از نورون‌های ماده سیاه قرار دارند و در اکثر موارد به صورت هماهنگ با این نورون‌ها کار می‌کنند [۱۴]، این احتمال وجود دارد که در آزمایش ما هم این آلكالوئید با اثر بر نورون‌های ماده سیاه و یا تگمنتوم شکمی ترشح دوپامین از آن‌ها را افزایش داده و سبب بروز پاداش شده باشد که این امر به صورت تمایل بیشتر برای ماندن در مکانی که عصاره دریافت شده بود، در حیوان‌ها متجلی شده است. از سوی دیگر، چندین تحقیق وجود دارد که بر تأثیر عصاره زعفران بر کاهش افسردگی ملایم تا متوسط تأکید دارند [۴،۱۲]. بایستی در نظر داشت که در بروز افسردگی نوروترانسمیترهایی مانند دوپامین، سروتونین و نوراپی‌نفرین دخالت دارند [۱۶]. به همین دلیل، داروهای ضدافسردگی با توانایی مهار باز جذب این نوروترانسمیترها می‌توانند شدت افسردگی را کاهش دهند

هسته آکومبانس و هیپوکامپ در القاء این پدیده دخالت دارند [۱۷، ۸-۷]. احتمال دوم در مورد کاهش کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین توسط عصاره زعفران این است که در واقع نتیجه به دست آمده حاصل جمع جبری اثر مورفین به تنهایی و اثر عصاره زعفران به تنهایی می‌باشد. به بیان دیگر، نتیجه به دست آمده، تنها جمع اثرات دو دارو بوده و تداخل مؤثری بین عملکرد این داروها وجود ندارد. بدین ترتیب که عصاره زعفران در دوز  $100 \text{ mg/kg}$  دارای اثرات تنفرزای ملایم (نمودار ۱-ب) و مورفین دارای اثر پاداشی است (نمودار ۱-آ) و این دو اثر با هم جمع شده و کاهش در اثر مورفین را نشان می‌دهند. با این نتیجه‌گیری باید گفت که ممکن است مکانیسم عملکرد عصاره زعفران در این مورد، یک مکانیسم جدا از مکانیسم مربوط به پاداش و / یا حافظه است که این امر نیاز به مطالعه بیشتر دارد. این که چرا این جمع اثرات در مورد دوز  $50 \text{ mg/kg}$  عصاره زعفران دیده نشده است نیز، امری است که نیاز به مطالعات بیشتر دارد.

در بخش پایانی، تجویز عصاره زعفران در روز آزمون و قبل از شروع آزمایش‌ها سبب افزایش بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین گردید. این افزایش تنها در دوز  $50 \text{ mg/kg}$  عصاره زعفران معنی‌دار بود. بایستی اشاره شود که بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین نیز یک پدیده بسیار پیچیده بوده و بر اساس مکانیسم‌های پاداشی و حافظه که در نقاطی مثل هسته آکومبانس و هیپوکامپ جمع‌بندی می‌شوند، قرار دارد [۱۷، ۸-۷]. این مکانیسم‌ها در هنگام تزریق مورفین در مغز القاء شده و هنگامی که حیوان در محیطی قرار می‌گیرد که قبلاً مورفین دریافت کرده بود، فعال شده و حیوان به رفتاری روی می‌آورد که رفتار جستجوی دارو نامیده می‌شود [۷]. نتایج حاضر بیانگر آن است که عصاره زعفران توانایی تقویت مکانیسم‌های پاداشی و یا حافظه‌ای فعال شده در اثر تزریقات قبلی مورفین را دارد. این که کدام یک از آکالوئیدهای موجود در عصاره زعفران این کار را انجام داده‌اند و یا سهم هر کدام از این ترکیبات در تقویت بیان ترجیح مکان شرطی شده چقدر است، باید در آینده مورد

[۱۶]. با توجه به عملکرد مثبت زعفران در کاهش شدت افسردگی، احتمال دارد که یکی یا چند ترکیب آکالوئیدی موجود در عصاره زعفران اثر مهمی را بر این نوروترانسمیترها و تحریک ترشح بیشتر و یا مهار باز جذب آن‌ها داشته باشند. با این استدلال، شاید همین مکانیسم در عملکرد زعفران، در القاء ترجیح مکان شرطی شده نقش داشته باشد. بررسی‌های بیشتر در این زمینه می‌تواند راهگشای سؤالات موجود باشد. در بخش دوم مطالعه حاضر، اثر عصاره زعفران بر کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌های کوچک آزمایشگاهی بررسی شد. این نتایج نشان داد که تجویز عصاره زعفران قبل از تجویز مورفین در روزهای شرطی شدن، باعث کاهش کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در این حیوانات می‌شود. این یافته در مورد دوز  $100 \text{ mg/kg}$  عصاره معنی‌دار بود. در مورد این که چه مکانیسم (یا مکانیسم‌هایی) در این امر دخالت دارند نمی‌توان اظهار نظر قطعی نمود. عصاره زعفران دارای آکالوئیدهای فراوانی است که هر کدام از آن‌ها ممکن است در این امر مؤثر باشند. یکی از مهم‌ترین این آکالوئیدها، کروسین است که قبلاً اثر آن بر رها شدن دوپامین در استریاتوم بررسی شده است [۱۴]. اگر این اثر با اثر مورفین در القاء رها شدن دوپامین در هسته آکومبانس که قسمتی از استریاتوم است [۷] جمع شود، بایستی تقویت اثر مورفین دیده می‌شد. بنابراین، در نتایج مشاهده شده، این امکان باید مورد توجه کمتری قرار گیرد. امکان تداخل سایر آکالوئیدهای موجود در عصاره زعفران مانند پیکروکروستین و پیکروکروسین نیز در کار مورفین دور از انتظار نیست. برای تعیین نقش دقیق این ترکیبات در عملکرد مورفین، پیشنهاد می‌شود که در مطالعات بعدی نقش هر کدام از این ترکیبات به طور جداگانه بر عملکرد مورفین مورد بررسی قرار گیرد. القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط مورفین یک پدیده بسیار پیچیده است و دستگاه‌های نوروترانسمیتری متفاوت و مختلفی، شامل دستگاه‌های اوپیوئیدی، دوپامینی و گابائوژیک در آن دخالت دارند [۱۷، ۸-۷]. به علاوه، نواحی مختلفی از مغز مانند تگمنتوم شکمی،

تقویت کرد اما، مکانیسم دقیق این عملکرد بایستی در مطالعات بعدی مورد بررسی قرار گیرد. با این نتیجه‌گیری، ممکن است که این عصاره در موارد انسانی نیز برای ترک وابستگی روانی، مؤثر باشد.

### تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مشترک مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی کرمان و مرکز تحقیقات علوم رفتاری پژوهشکده طب رزمی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) و مرکز تحقیقات علوم اعصاب و دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی است. نویسندگان از مراکز مذکور به دلیل تقبل هزینه اجرای این طرح سپاس‌گزارند. هم‌چنین، نویسندگان از جناب آقای مهندس جعفری، مدیر عامل محترم شرکت طلاکاران مزرعه (تربت حیدریه) که زعفران مورد نیاز طرح مطالعاتی را تهیه و تأمین نموده‌اند، کمال تشکر را دارند.

بررسی قرار گیرد. باید در نظر داشت که تقویت بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین توسط عصاره زعفران، ممکن است توسط مکانیسم‌های غیر مستقیمی باشد که هنوز شناخته نشده‌اند. در نهایت، یک برهم‌کنش فارماکوکینتیک ممکن است بین اثرات القاء شده توسط مورفین و عصاره زعفران رخ داده باشد که به تقویت بیان ترجیح مکان شرطی شده منجر شده است.

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که عصاره زعفران در حالی که توانست هم تنفر و هم ترجیح مکان شرطی شده را در موش‌های کوچک آزمایشگاهی نر القاء نماید، کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را کاهش و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را نیز در این حیوانات

## References

- [1] Hyman SE, Malenka RC. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nat Rev Neurosci*, 2001; 2(10): 695-703.
- [2] De Vries TJ, Shippenberg TS. Neural systems underlying opiate addiction. *J Neurosci*, 2002; 22(9): 3321-25.
- [3] Cami J, Farre M. Drug addiction. *N Engl J Med*, 2003; 349(10): 975-86.
- [4] Noorbala AA, Akhondzadeh Sh, Tahmacebi-Pour N, Jamshidi AH. Hydro-alcoholic extract of *Crocus sativus* L. versus fluoxetine in the treatment of mild to moderate depression: a double-blind, randomized pilot trial. *J Ethnopharmacol*, 2005; 97(2): 281-4.
- [5] Nestler EJ. Molecular basis of long-term plasticity underlying addiction. *Nat Rev Neurosci*, 2001; 2(2): 119-128.
- [6] Robinson TE, Berridge KC. Addiction. *Annu Rev Psychol*, 2003; 54: 25-53
- [7] Koob GF. Drugs of abuse: anatomy, pharmacology, and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci*, 1992; 13(5): 177-84.
- [8] Stolerman I. Drugs of abuse: behavioral principles, methods and terms. *Trends Pharmacol Sci*, 1992; 13(5): 170-6.
- [9] زرگری ع. گیاهان دارویی. چاپ ششم. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران، جلد چهارم، ۱۳۷۵، صفحات: ۸-۵۷۴.
- [10] Duke JA. Saffron, In: *Handbook of Medicinal Herbs*, 2th ed. CRC Press, New York. 2001; pp: 256-68.
- [11] Huang KC. *The Pharmacology of Chinese Herb*. 2th ed. CRC Press. USA. 1999; pp: 474-5.
- [12] Akhondzadeh Sh, Fallah-Pour H, Afkham Kh, Jamshidi AH, Khalighi-Cigaroudi F. Comparison of *Crocus sativus* L. and imiperamine in the treatment of mild to moderate depression: a pilot double-blind randomized trial. *BMC Complement Altern Med*, 2004; 4: 12-6.
- [13] Hosseinzadeh H, Younesi HM. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Crocus Sativus* L. stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol*, 2002; 2: 7.
- [14] Ahmad AS, Ansari MA, Ahmad M, Saleem S, Yousuf S, Hoda MN, et al. Neuroprotection by crocetin in a hemiparkinsonism rat model. *Pharmacol Biochem Behav*, 2005; 81: 805-13.
- [15] Abe K, Saito H. Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behavior and long-term potentiation. *Phytother Res*, 2000; 14: 149-52.
- [16] MacDonald TM. Treatment of depression: prescription for success? *Prim Care Psychiatry*, 1997; 3 (1): 7-10.
- [17] Nestler EJ. Molecular mechanisms of opiate and cocaine addiction. *Curr Opin Neurobiol*, 1997; 7(5): 713-9.