اثرات مقایسه‌ای ضدافسردگی عصاره‌های زعفران و مواد موثر آن، کروسین و سافرانال در موش

حسین حسین‌زاده[1*]، غلامرضا کریمی[2]، مریم نیاپور[3]

۱- استاد فارماکودینامی و سم‌شناسی، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی و دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۲- استاد یار فارماکودینامی و سم شناسی, دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد
۳- داروساز، مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی مشهد
*آدرس مکاتبه: مشهد، دانشکده داروسازی صندوق‌پستی: ۱۳۶۵-۹۱۷۷۵
تلفن: ۶۶-۸۸۲۳۲۵۵ (۰۵۱۱)، نمابر: ۸۸۲۳۲۵۱ (۰۵۱۱)
پست الکترونیک: hosseinzadehh@yahoo.com

چکیده

باتوجه به اثرات شادی‌آفرین کلاله زعفران در طب سنتی و مطالعات قبلی ما مبنی بر اثرات ضدافسردگی عصاره‌های زعفران، در این تحقیق مکانیسم و اثرات ضدافسردگی عصاره آبی و الکلی کلاله زعفران و دو ماده اصلی آن یعنی کروسین و سافرانال توسط آزمون شنا و آزمون حرکت در موش مورد بررسی قرار گرفت.

تجویز داخل صفاقی عصاره الکلی زعفران با دوزهای ۲۰۰ و۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره‌های آبی زعفران با دوزهای ۱۶۰ و۳۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زمان بی‌تحرکی را در مقایسه با نرمال سالین به طور معنی‌داری کاهش دادند و همچنین مانند فلوکستین موجب افزایش زمان شنا کردن شدند. در آزمون جعبه باز عصاره آبی زعفران برخلاف عصاره الکلی با دوزهای ۱۶۰ و۳۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری در مقایسه با نرمال سالین حرکت کلی را کاهش داد. عصاره الکلی نیز بر رفتارهای استرئوتایپی اثر داشته و به طور معنی‌داری آن را افزایش دادند. کاهش مدت زمان بی حرکت ماندن در آزمون شنا مواد موثر زعفران یعنی سافرانال و کروسین مشاهده شد. مدت زمان شنا در موش‌های دریافت‌کننده فلوکستین و سافرانال افزایش یافت، اما در گروه‌های دریافت‌کننده کروسین هیچ اختلافی بین دوزهای مختلف دیده نشد. دوزهای مختلف سافرانال و کروسین تقریبا همانند هم مدت زمان بالا رفتن را افزایش دادند که به صورت معنی‌داری با نرمال سالین اختلاف داشتند. کروسین حرکات استرئوتایپیک را افزایش و سافرانال حرکت کلی را کاهش داد.

این مطالعه نشان می‌دهد که احتمالاً اثر ضدافسردگی کلاله زعفران حداقل قسمتی از طریق کروسین و سافرانال می باشد. کروسین به عنوان یک ترکیب محلول در آب زعفران و سافرانال به عنوان یک ترکیب محلول در چربی با دو مکانیسم مختلف عمل می‌کنند. احتمالاً کروسین بر سیستم دوپامینرژیک و مهار بازجذب نوراپی نفرین موثر است و سافرانال بر سیستم سروتونرژیک. برای قطعیت بخشیدن به مکانیسم عمل این دو ترکیب نیاز به آزمایش‌های گسترده تری می‌باشد.

گل‌واژگان: زعفران، کروسین، سافرانال، ضد افسردگی

مقدمه

افسردگی از اختلالات عاطفی شدید جامعه امروزی است که حدود ۲۱ درصد افراد کشورهای در حال توسعه در طول زندگی خود به آن مبتلا می‌شوند [۱].

زعفران (*Crocus sativus* L.) از گیاهان مهم استان خراسان بوده که درصد اعظم زعفران دنیا را تامین می‌نماید. امروزه مطالعات وسیعی درمورد اثرات مختلف زعفران صورت گرفته است. این تحقیقات نشان می‌دهد که عصاره زعفران علیه طیف وسیعی از تومورها در موش و سلول‌های لوسمی انسانی و دیگر مدل‌های سرطانی عملکرد خوبی داشته است [۴، ۳، ۲]. همچنین مطالعات رفتاری و الکترو فیزیولوژی نشان می‌دهند که عصاره زعفران اختلالات حافظه ناشی از تجویز اتانل را بهبود بخشیده و اثرات اتانل را در هیپوکامپ آنتاگونیزه می‌کند [۸، ۷، ۶، ۵]. عصاره آبی و الکلی زعفران همچنین تشنج ناشی از پنتیلن تترازول و الکتروشوک را در موش مهار کرد [۹]. عصاره‌های کلاله و گلبرگ زعفران همچنین اثرات ضدالتهابی و ضددردی در مدل‌های حیوانی از خود نشان داده‌اند [۱۰].

ترکیباتی از زعفران که واجد اثرات فارماکولوژیکی می‌باشند مواد تلخی هستند که از سافرانال و پیگمان‌های مربوط به کاروتنویید کروستین مشتق می‌شوند. از مواد تلخ, مهمترین آنها پیکروکروسین می‌باشد. تجزیه پیکروکروسین به روش هیدرولیز اسیدی، موجب تولید گلوکز، آگلیکون فرار و سافرانال (دهیدرو-بتا- سیکلوسیترال) می‌شود. از ترکیبات رنگی, مهمترین آنها شامل انواع کارتنوییدهای کروستین و فرم‌های گلیکوزیدی دی جنتیوبیوزید (کروسین)، جنتیوبیوزید، گلوکوزید، جنتیوگلوکوزید و دی‌گلوکوزید بتا-کروستین(منومتیل استر)، گاماکروستین (دی متیل استر)، آلفا-کاروتن، بتا- کاروتن، لیکوپن و زیزانتین (Zeaxanthin) می باشند [۱۱].

از زعفران در طب سنتی به عنوان گیاه شادی‌آور یاد می‌شود [۱۲]. مطالعات قبلی ما نشان می‌دهد که عصاره‌های الکلی و آبی کلاله و گلبرگ زعفران دارای اثرات ضدافسردگی در موش می‌باشند [۱۳]. در این تحقیق اثرات ضدافسردگی عصاره‌های کلاله زعفران و ۲ ماده آن کروسین و سافرانال توسط آزمون شنا در موش مورد ارزیابی قرار گرفته است. هم چنین تاثیر عصاره آبی و الکلی زعفران و کروسین و سافرانال بر سیستم فعالیت حرکتی توسط آزمون جعبه باز ارزیابی و سعی شده است مکانیسم احتمالی ضدافسردگی این گیاه تا حدودی مشخص شود.

مواد و روش‌کار

حیوان

موش سفید نر، با محدوده وزنی ۲۵-۲۲ گرم که از اتاق حیوانات مرکز تحقیقات علوم دارویی پژوهشکده بوعلی تهیه شد. موش‌ها در چرخه روشنایی/ تاریکی ۱۲ ساعته در دمای ۲ ± ۲۳ درجه سانتی‌گراد و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

عصاره‌گیری

عصاره آبی

از روش خیساندن استفاده شد. ۴ گرم از کلاله زعفران پودر و سپس داخل ظرف شیشه‌ای تیره ریخته و به آن ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر افزوده شد. بعد از ۲۴ ساعت محتویات ظرف سانتریفوژ و رسوبات جدا گردید. با کمک دستگاه حذف حلال در خلا در دمای ۶۵ درجه سانتی‌گراد آب حذف شد و عصاره تغلیظ شده برای خشک شدن به مدت ۲۴ ساعت در در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خشک شدن کامل در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

عصاره الکلی

از روش خیساندن استفاده شد. ۴ گرم از کلاله زعفران پودر و داخل ظرف شیشه‌ای تیره ریخته و به آن ۵۰۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درجه افزوده شد. بعد از ۲۴ ساعت محتویات ظرف سانتریفوژ گردید و رسوبات جدا گردید. با کمک دستگاه حذف حلال در خلا و در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد اتانول حذف شد. عصاره تغلیظ شده برای خشک شدن کامل به مدت یک شب در محیط آزمایشگاه قرار داده شد و پس از خشک شدن کامل در فریزر ۲۰- درجه سانتی‌گراد تا زمان استفاده نگهداری شد.

حداکثر دوز قابل تحمل

دوزهای متفاوت عصاره آبی و الکلی به گروه‌های شش‌تایی حیوانات به صورت داخل صفاتی تزریق گردید. بعد از ۴۸ ساعت بیشترین دوز که در آن مرگ و میر مشاهده نشد به عنوان حداکثر دوز قابل تحمل درنظر گرفته شد.

آزمون ضدافسردگی

آزمون شنا [۱۴] Forced swiming test (FST)

ابتدا ۲۴ ساعت قبل از آزمایش موش‌ها در یک ظرف شیشه ای استوانه‌ای به قطر ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر محتوی آب ۲ ± ۲۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از ۱۵ دقیقه از آب خارج شده و خشک شدند. روز بعد ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش عصاره‌های آبی و الکلی زعفران و مواد موثر آن با دوزهای زیر تزریق شدند:

عصاره آبی: ۳۲۰ mg/kg، ۱۶۰ mg/kg، ۸۰ mg/kg

عصاره الکلی: ۸۰۰ mg/kg، ۴۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg

سافرانال: ۰/۵ ml/kg، ۰/۳۵ ml/kg، ۰/۱۵ ml/kg

کروسین: ۶۰۰ mg/kg، ۲۰۰ mg/kg، ۵۰ mg/kg

ایمی پرامین: ۱۵ mg/kg
فلوکستین: ۱۰ mg/kg
نرمال سالین: ۱۰ ml/kg

تمام غلظت‌های فوق به گروه‌های ۵ تایی و جداگانه تزریق شدند. همه تزریق‌ها به صورت داخل صفاقی انجام شد. نیم ساعت بعد از تزریق، حیوانات در ظرف‌های شیشه‌ای استوانه‌ای با شرایط گفته شده قرار گرفتند (به مدت ۶ دقیقه) و مدت زمان بی تحرکی، شناکردن، بالارفتن در ۴ دقیقه آخر ثبت شد.

تعیین فعالیت حرکتی

آزمون جعبه باز [۱۵] Open field activity

حیوانات نیم ساعت بعد از دریافت عصاره‌های آبی و الکلی زعفران، کروسین، سافرانال، ایمی‌پرامین و نرمال سالین در گروه های ۱۰تایی با دوزهای ذکر شده در آزمون حرکت به مدت ۱۰ دقیقه در جعبه قرار گرفتند. در این آزمون حیوان در مرکز یک جعبه سفید رنگ قرار گرفت که جعبه‌ای با ۲۵ خانه با طول وعرض ۲۵ سانتی‌متر که با خطوط قرمز تقسیم شده بود.

متغیرهای مورد بررسی

Locomotion: که به سه قسمت مرکزی، محیطی و کلی (مجموع مرکزی و محیطی) تقسیم شد.
Grooming: حیوان خود را می‌لیسد و تمیز می‌کند.
Rearing: حیوان بر روی دو پای خود می‌ایستد.
Leaning: حیوان خود را به دیواره متصل می‌کند.
Defecation: تعداد فضله‌های حیوان

آنالیز آماری داده‌ها

داده‌ها به صورت میانگین ± خطای معیار گزارش شده است. بعد از انجام ANOVA و در صورت معنی‌دار بودن آن از تست Tukey-Kramer استفاده گردید. نتایج با $p< ۰/۰۵$ به عنوان معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج

حداکثر دوز قابل تحمل

حداکثر دوز غیرکشنده عصاره آبی و الکلی زعفران به ترتیب ۳۲۰ mg/kg و ۲ g/kg تعیین شد.

آزمون شنا

Immobility: ایمی پرامین با دوز ۱۵میلی‌گرم بر کیلوگرم زمان بی‌تحرکی را به طور معنی‌داری کاهش داده است ($p< ۰/۰۰۱$). عصاره الکلی زعفران با دوزهای ۲۰۰ و۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز زمان بی‌تحرکی را در مقایسه با نرمال‌سالین به طور معنی‌داری کاهش داده است ($p< ۰/۰۰۱$). عصاره آبی زعفران نیز با دوزهای ۱۶۰ و ۳۲۰ گرم بر کیلوگرم نیز زمان بی‌تحرکی را در مقایسه با نرمال سالین به طور معنی‌داری کاهش داده است ($p< ۰/۰۰۱$) (شکل شماره ۱).

Climbing: ایمی پرامین با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم زمان بالا رفتن را به طور معنی‌داری افزایش داده است ($p< ۰/۰۰۱$). عصاره الکلی با دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰، ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز زمان Climbing را به طور معنی‌داری کاهش داده است. عصاره آبی زعفران نیز با دوزهای ۸۰، ۱۶۰، ۳۲۰ گرم بر کیلوگرم زمان بالا رفتن را به طور معنی‌داری در مقایسه با نرمال سالین کاهش داده است ($p< ۰/۰۰۱$) (شکل شماره ۲).

Swimming: فلوکستین با دوز ۱۰ گرم بر کیلوگرم زمان شنا کردن را به طور معنی‌داری ($p< ۰/۰۰۱$) را افزایش داده است. در مقایسه با نرمال سالین، عصاره اتانلی با دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ و ۸۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم نیز زمان شناکردن را به طور معنی داری ($p< ۰/۰۰۱$) افزایش داده است.

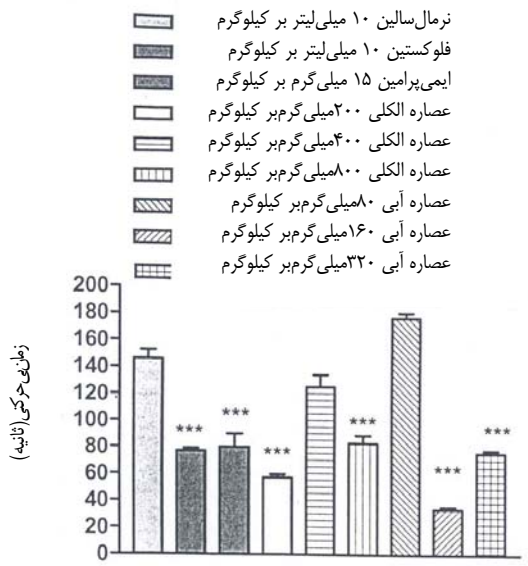
در مورد عصاره آبی نیز دوزهای ۱۶۰ و۳۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم زمان شناکردن را در مقایسه با نرمال سالین به صورت معنی‌داری افزایش داده است (شکل شماره ۳) ($p< ۰/۰۰۱$).

بررسی اثر ضد افسردگی کروسین و سافرانال توسط آزمون شنا در موش

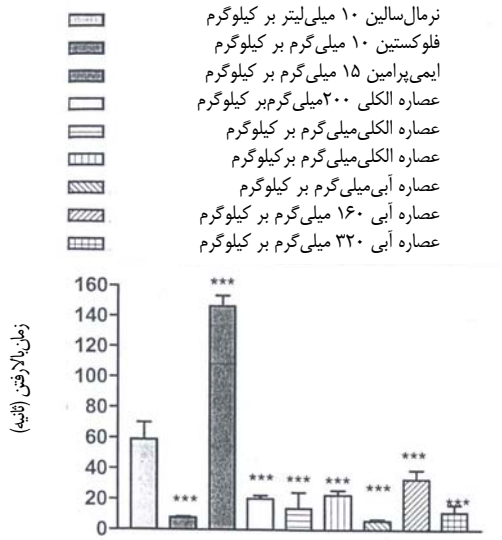
آزمون شنا

Immobility: مدت زمان بی‌حرکت ماندن در موش‌های دریافت‌کننده فلوکستین به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده نرمال سالین کاهش یافته است ($p< ۰/۰۰۱$). این کاهش در حداکثر دوز سافرانال نیز مشاهده می‌شود زیرا سافرانال به صورت وابسته به دوز این مدت را کاهش داده است. ($p< ۰/۰۰۱$). همچنین کاهش این زمان در هر سه گروه دریافت‌کننده دوزهای کروسین مشاهده می‌شود که به صورت معنی‌داری در مقایسه با نرمال سالین کاهش یافته است ($p< ۰/۰۰۱$) (شکل شماره ۴).

Climbing: مدت زمان این متغیر هم به صورت افزایش و هم به صورت کاهش در گروه‌های مختلف اختلاف معنی‌داری با نرمال سالین نشان داده است. فلوکستین به صورت کاهش اختلاف معنی‌داری با نرمال سالین نشان می‌دهد. دوزهای مختلف سافرانال، اثرات مختلف داشته‌اند ولی دوزهای مختلف کروسین تقریباً همانند هم به صورت افزایش در مدت زمان بالا رفتن اختلاف معنی‌داری را با نرمال سالین دارند (شکل شماره ۵).

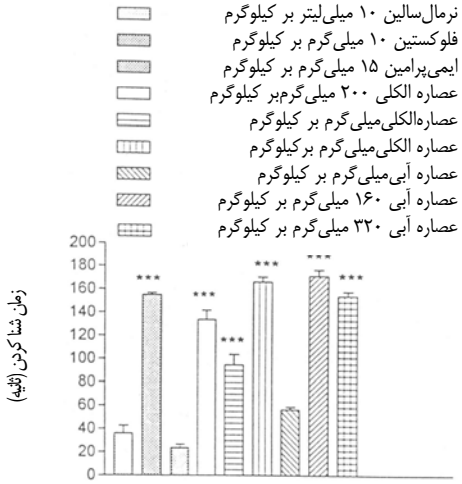


شکل شماره ۱- اثر عصاره‌های الکلی و آبی کلاله زعفران و داروهای فلوکستین و ایمی پرامین بر روی مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون شنا در موش. مواد نیم ساعت قبل از شروع آزمایش به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. داده‌ها به صورت میانگین + خطای معیار گزارش شده است.
آزمون Tukey - Kramer، ***p< ۰/۰۱، n =۵

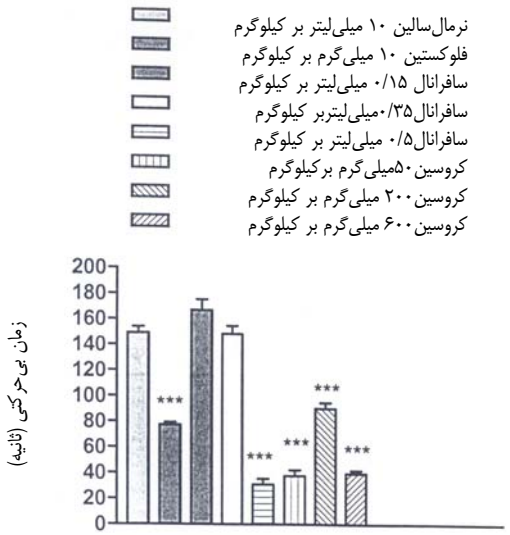


شکل شماره ۲- اثر عصاره‌های الکلی و آبی کلاله زعفران و داروهای فلوکستین و ایمی‌پرامین بر روی مدت زمان بالا رفتن در آزمون شنا در موش. مواد نیم ساعت قبل از شروع آزمایش به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. داده‌ها به صورت میانگین + خطای معیار گزارش شده است.
آزمون Tukey - Kramer، ***p< ۰/۰۰۱، n =۵

Swimming: مدت زمان شنا در موش‌های دریافت‌کننده فلوکستین به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده نرمال سالین افزایش داشته است (p<۰/۰۰۱). همچنین سافرانال به صورت وابسته به دوز باعث افزایش این متغیر شده است به صورتی که در حداکثر دوز مصرفی یعنی ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم به صورت معنی‌داری در مقایسه با گروه دریافت‌کننده نرمال سالین باعث افزایش مدت زمان شنا شده است (p< ۰/۰۰۱). اما در گروه های دریافت‌کننده کروسین هیچ اختلافی بین دوزهای مختلف دیده نمی‌شود (شکل شماره ۶).



شکل شماره ۳- اثر عصاره‌های الکلی و آبی کلاله زعفران و داروهای فلوکستین و ایمی‌پرامین بر روی مدت زمان شنا در آزمون شنا در موش. مواد نیم ساعت قبل از شروع آزمایش به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. داده‌ها به صورت میانگین + خطای معیار گزارش شده است.
آزمون Tukey - Kramer، ***p< ۰/۰۰۱، n =۵

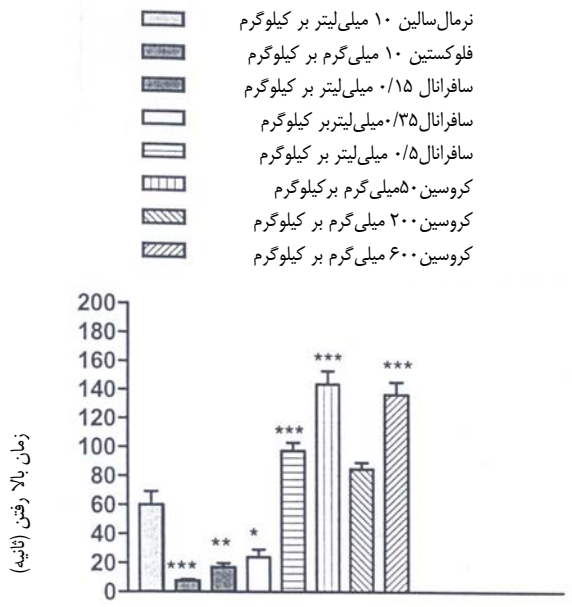


شکل شماره ٤- اثر مواد موثر زعفران, سافرانال و کروسین, و فلوکستین بر روی مدت زمان بی‌حرکتی در آزمون شنا در موش. مواد نیم ساعت قبل از شروع آزمایش به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. داده ها به صورت میانگین + خطای معیار گزارش شده است.
آزمون Tukey - Kramer، ***p< ۰/۰۰۱، n =۵

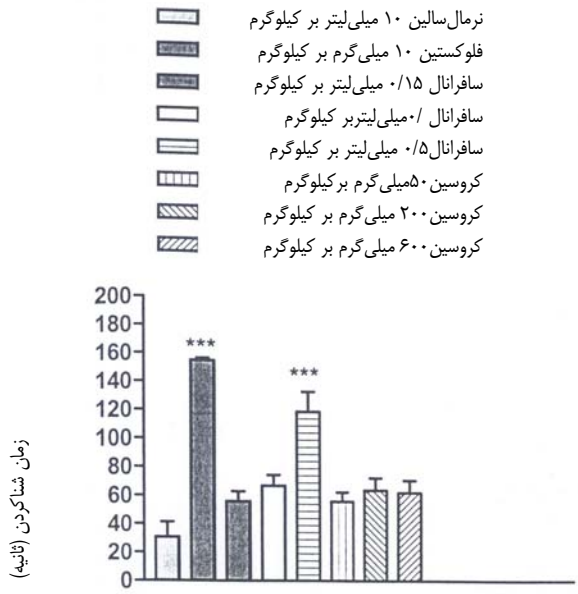
آزمون جعبه باز

عصاره‌های زعفران

حرکت مرکزی: ایمی پرامین با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم در مقایسه با نرمال سالین به طور معنی‌داری حرکت در خانه‌های مرکزی را افزایش (p< ۰/۰۵) و عصاره آبی زعفران با دوز ۱۶۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری در مقایسه با نرمال سالین حرکت در خانه‌های مرکزی را کاهش داده است (p< ۰/۰۱) (جدول شماره ۱).



شکل شماره ۵- اثر مواد موثره زعفران, سافرانال و کروسین, و فلوکستین بر روی مدت زمان بالا رفتن در آزمون شنا در موش. مواد نیم ساعت قبل از شروع آزمایش به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. داده‌ها به صورت میانگین + خطای معیار گزارش شده است. آزمون Tukey - Kramer ، ***p< ۰/۰۰۱، **p< ۰/۰۱، *p<۰/۰۵، n =۵



شکل شماره ٦- اثر مواد موثره زعفران, سافرانال و کروسین, و فلوکستین بر روی مدت زمان شنا کردن در آزمون شنا در موش. مواد نیم ساعت قبل از شروع آزمایش به صورت داخل صفاقی تزریق شدند. داده‌ها به صورت میانگین + خطای معیار گزارش شده است. آزمون Tukey - Kramer، ***p< ۰/۰۰۱، n =۵

حرکت محیطی: عصاره زعفران با دوزهای ۱۶۰، ۳۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری در مقایسه با نرمال سالین حرکت در خانه‌های محیطی را کاهش داده است (p< ۰/۰۰۱) (جدول شماره ۱).

جدول شماره ۱- بررسی فعالیت حرکتی موش‌های دریافت‌کننده عصاره آبی و الکلی زعفران در آزمون جعبه باز

	حرکت کلی	حرکت محیطی	حرکت مرکزی	حرکت مرکزی بر حرکت کلی	دفع	ایستادن	اتصال به دیواره	لیسیدن
نرمال سالین ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم	۱۵۱/۱ ± ۵/۸	۱۲۳/۷ ±۶/۱	۲۷/۴ ±۱/۹	۰/۱۷ ±۰/۰۱	۰/۶±۰/۲	۲/۶ ±۰/۴	۳/۳±۰/۵	۳/۵±۰/۵
ایمی پرامین ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۸۱/۰±۹/۷	۱۳۳/۱±۱۱/۹	۴۷/۸±۵/۶ *	۰/۲۶±۰/۰۳	۰/۶۲±۰/۲	۱۲/۰±۱/۳***	۲۵/۳±۰/۸***	۷/۳±۰/۶
عصاره اتانلی ۸۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۴۳/۰±۱۷/۶	۱۱۶/۶±۱۳/۶	۲۶/۳±۵/۱	۰/۱۸±۰/۰۱	۱/۳±۰/۴	۹/۵±۱/۶***	۱۱/۴±۲/۸	۵/۹±۰/۷
عصاره اتانلی ۴۰۰میلی گرم بر کیلوگرم	۱۶۵/۰±۱۵/۹	۱۴۵/۴±۱۲/۲	۲۰/۰±۱۳/۱	۰/۳۸±۰/۱۰	۰/۷±۰/۳	۱/۱±۰/۳	۲۵/۳±۲/۳***	۴/۸±۰/۷
عصاره اتانلی ۲۰۰میلی گرم بر کیلوگرم	۱۷۷/۲±۲/۹	۱۵۶/۱±۲/۷	۱۸/۳±۲/۸	۰/۰۹±۰/۰۱	۰/۵±۰/۲	۱/۹±۰/۵	۲۰/۵±۱۰/۰***	۷/۹±۱/۴*
عصاره آبی ۳۲۰میلی گرم بر کیلوگرم	۲۱/۸±۹/۲***	۱۱/۰±۶/۱***	۱۰/۸±۴/۶	۰/۷۷±۰/۰۹	۰/۵±۰/۲	۰/۰±۰/۰	۰/۴±۰/۲	۱/۳±۰/۵
عصاره آبی ۱۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۳۴/۵±۱۵/۶***	۳۰/۵±۱۴/۸***	۴/۳±۰/۹ **	۰/۴۶±۰/۱۵	۰/۸±۰/۲	۱/۷±۰/۶	۲/۱±۱/۱	۲/۹±۰/۷
عصاره آبی ۸۰میلی گرم بر کیلوگرم	۱۴۱/۴±۱۴/۷	۱۲۸/۵±۱۲/۹	۱۲/۸±۳/۲	۰/۰۸±۰/۰۱	۰/۶±۰/۳	۴/۹±۰/۸	۱۲/۳ ±۱/۸*	۳/۶±۰/۹

حیوانات نیم ساعت بعد از دریافت عصاره‌های آبی، الکلی زعفران، ایمی‌پرامین و نرمال‌سالین در آزمون حرکت به مدت ۱۰ دقیقه در جعبه قرار گرفتند. داده‌ها به صورت میانگین ± میانگین خطای استاندارد برای ۱۰ حیوان گزارش شده است. ***p< ۰/۰۰۱، **p< ۰/۰۱، *p< ۰/۰۵ و آزمون Tukey - Kramer

حرکت کلی: عصاره آبی زعفران با دوزهای ۳۲۰، ۱۶۰ میلی گرم بر کیلوگرم به طور معنی‌داری در مقایسه با نرمال سالین حرکت کلی را کاهش داده است ($p< ۰/۰۰۱$). در نسبت CL/TL (حرکت مرکزی به حرکت کلی) هیچ یک از دوزهای آبی و الکلی زعفران با نرمال‌سالین تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول شماره ۱).

عصاره الکلی زعفران با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان لیسیدن دست و پا را درمقایسه با نرمال‌سالین به طور معنی‌داری افزایش داده است ($p< ۰/۵$) (جدول شماره ۱).

ایمی‌پرامین با دوز ۱۵ میلی‌گرم کیلوگرم و عصاره الکلی با دوز ۸۰۰ گرم بر کیلوگرم میزان ایستادن حیوان را به طور معنی داری در مقایسه با نرمال سالین افزایش داده است ($p< ۰/۰۰۱$) (جدول شماره ۱).

همچنین ایمی‌پرامین با دوز ۱۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم و عصاره الکلی با دوزهای ۲۰۰، ۴۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم میزان اتصال به دیواره را به طور معنی‌داری در مقایسه با نرمال سالین افزایش داده است ($p< ۰/۰۰۱$). همچنین عصاره آبی نیز با دوز ۸۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم این متغیر را در مقایسه با نرمال سالین افزایش داده است ($p< ۰/۰۵$). هیچ یک از دوزهای آبی و الکلی زعفران در متغیر دفع مدفوع با نرمال سالین تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول شماره ۱).

آزمون جعبه باز

کروسین و سافرانال

حرکت مرکزی: در بین گروه‌های مختلف مورد بررسی اختلاف معنی‌داری با نرمال‌سالین مشاهده نشد. تنها گروه دریافت کننده ایمی‌پرامین به صورت افزایشی اختلاف معنی‌داری با گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین داشتند ($p< ۰/۰۵$). کروسین به صورت وابسته به دوز باعث کاهش تعداد حرکت در خانه‌های مرکزی شده است ولی این اختلاف با نرمال‌سالین معنی‌دار نمی‌باشد (جدول شماره ۲).

حرکت محیطی: در بین گروه‌های مختلف مورد بررسی اختلاف معنی‌داری با نرمال سالین مشاهده نشد تنها کروسین با حداکثر دوز مصرفی افزایش در تعداد حرکت خانه‌های محیطی نشان داد که اختلاف معنی‌داری با گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین داشتند ($p< ۰/۰۵$). همچنین سافرانال با حداکثر دوز باعث کاهش در تعداد حرکت محیطی شد که اختلاف معنی‌داری با گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین دارد ($p< ۰/۵۰$).

در تست CL/TL سافرانال در کمترین دوز مصرفی باعث کاهش این نسبت شده است ($p< ۰/۰۵$) (جدول شماره ۲).

در هر سه دوز مورد استفاده از کروسین تقریباً به یک اندازه باعث افزایش این متغیر شده است که این افزایش اختلاف معنی داری با نرمال‌سالین دارد ($p< ۰/۰۰۱$). اما در هیچ یک از گروه های دریافت‌کننده سافرانال اختلاف معنی‌داری با گروه دریافت کننده نرمال سالین مشاهده نشد (جدول شماره ۲).

Rearing: فقط در موش‌های دریافت‌کننده ایمی‌پرامین اختلاف معنی‌داری به صورت افزایشی در مقایسه با نرمال سالین نشان دادند ($p< ۰/۰۵$). در موش‌های دریافت‌کننده کروسین با دوز ۶۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم، لیسیدن به صورت معنی داری به صورت افزایشی در مقایسه با نرمال سالین اختلاف دارد ($p< ۰/۰۰۱$). در هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه دفع فضله اختلاف معنی داری با نرمال سالین وجود نداشت (جدول شماره ۲).

بحث

در آزمون شنا، عصاره الکلی و آبی زعفران زمان بی‌تحرکی را کاهش, مدت زمان شناکردن را افزایش و زمان بالا رفتن را کاهش دادند. این اثرات در اکثر موارد وابسته به دوز نبود.

در آزمون شنا, چنانچه ماده‌ای زمان بی‌حرکتی را کاهش دهد دارای اثر ضد افسردگی است [۱۴]. ترکیبات تاثیرگذار بر روی سروتونین مانند داروهای مهارکننده انتخابی بازجذب سروتونین از جمله فلوکستین علاوه بر کاهش زمان بی‌حرکتی موجب افزایش زمان شناکردن و مواد موثر بر مهار بازجذب نور اپی نفرین مانند ربکستین باعث افزایش زمان بالارفتن علاوه بر کاهش زمان بی حرکتی می‌شوند [۱۸، ۱۷، ۱۶].

نتایج آزمون شنا در مورد عصاره تام کلاله زعفران هم آبی و هم الکلی نشان می‌دهد که ترکیبات موجود در این عصاره‌ها بر روی زمان شنا کردن تاثیر بیشتری دارند و احتمالاً از طریق سیستم سروتونرژیک عمل می‌کنند [۱۷، ۱۶]. در مورد فراکسیون های زعفران سافرانال به صورت وابسته به دوز زمان شناکردن را افزایش داده است اما در گروه‌های دریافت‌کننده کروسین این اثر وابسته به دوز نیست. همچنین سافرانال به صورت وابسته به دوز زمان بی‌حرکتی را کاهش داده است ولی این اثر باز هم در مورد کروسین وابسته به دوز نیست.

زمان بالارفتن در مورد دوز ۰/۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم سافرانال افزایش معنی‌داری با نرمال سالین نشان داده است اما در مورد دوزهای ۰/۱۵ و ۰/۳۵ میلی‌لیتر بر کیلوگرم این زمان کاهش یافته و اختلاف با نرمال‌سالین معنی‌دار است که نشان می‌دهد احتمالاً سافرانال در دوزهای بالا از طریق مکانیسم دیگری (تاثیر بر مهار بازجذب نور اپی نفرین) اثر می‌کند [۱۸].

در آزمون جعبه باز عصاره آبی زعفران حرکت کلی را کاهش داده است و رفتارهای استرئوتایپی درمورد گروه‌های دریافت‌کننده عصاره الکلی افزایش یافته است که احتمالاً ناشی از تاثیر ترکیبات این عصاره بر سیستم دوپامینرژیک است [۱۹].

جدول شماره ۲- بررسی فعالیت حرکتی موش‌های دریافت‌کننده کروسین و سافرانال در آزمون جعبه باز

	حرکت کلی	حرکت محیطی	حرکت مرکزی	حرکت مرکزی بر حرکت کلی	دفع	ایستادن	اتصال به دیواره	لیسیدن
نرمال سالین ۱۰ میلی لیتر بر کیلوگرم	۱۵۱/۱ ± ۵/۸	۱۲۳/۷ ±۶/۰	۲۷/۴ ±۱/۹	۰/۱۷ ±۰/۰۱	۰/۶۲±۰/۲۶	۲/۶ ±۰/۵	۳/۲±۰/۵	۳/۵±۰/۵
ایمی پرامین ۱۵ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۸/۱±۹/۷	۱۳۳/۱±۱۱/۹	۴۷/۸±۵/۶ *	۰/۲۰±۰/۰۳	۰/۶۲±۰/۲۶	۱۲/۰±۱/۳**	۲۵/۳±۰/۸***	۷/۳±۰/۶
سافرانال ۰/۵ میلی لیتر بر کیلوگرم	۶۵/۲±۲/۱ *	۵۱/۰±۲/۳ *	۱۴/۲±۱/۳	۰/۲۱±۰/۰۲	۱/۳۰±۰/۷۰	۰/۰±۰/۰۶	۷/۸±۱/۲	۷/۸±۱/۲
سافرانال ۰/۳۵ میلی لیتر بر کیلوگرم	۱۱۰/۵ ±۱۰/۰	۹۵/۳±۷/۵	۱۵/۲±۲/۵	۰/۱۳±۰/۰۳	۰/۱۶±۰/۱۶	۳/۰±۰/۸	۴/۸±۱/۴	۴/۱±۰/۴
سافرانال ۰/۱۵ میلی لیتر بر کیلوگرم	۱۲۹/۵±۵/۴	۱۲۱/۱±۵/۸	۸/۳±۱/۴	۰/۰۴±۰/۰۱**	۱/۱۶±۰/۳۰	۰/۵±۰/۲	۴/۵±۱/۵	۶/۰±۰/۹
کروسین ۵۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۹۹/۷±۲۱/۲	۱۶۵/۷±۱۷/۰	۳۲/۲±۵/۳	۰/۱۵±۰/۰۱	۲/۰±۰/۵۰	۷/۲±۲/۲	۱۸/۰±۱/۱ ***	۶/۵±۱/۰
کروسین ۲۰۰ میلی گرم بر کیلوگرم	۱۸۹/۶±۲۴/۳	۱۶۳/۱±۲۰/۶	۲۱/۰±۶/۵	۰/۱۰±۰/۰۲	۱/۵۰±۰/۲۰	۶/۳±۱/۶	۲۱/۰±۴/۶ ***	۷/۴±۱/۳
کروسین ۶۰۰میلی گرم بر کیلوگرم	۲۰۳/۶±۱۲/۴	۱۸۸/۲±۱۲/۲*	۱۵/۳±۱/۸	۰/۰۷±۰/۰۱ *	۱/۰۰±۰/۲۵	۸/۲±۱/۲	۱۹/۵±۰/۸ ***	۱۲/۱±۱/۰ ***

حیوانات نیم ساعت بعد از دریافت کروسین، سافرانال، ایمی‌پرامین و نرمال سالین در آزمون حرکت به مدت ۱۰ دقیقه در جعبه مربوطه قرار گرفتند. داده‌ها به صورت میانگین ± میانگین خطای استاندارد برای ۱۰ حیوان گزارش شده است.
*p< ۰/۰۵، **p< ۰/۰۱، ***p< ۰/۰۰۱ و آزمون Tukey - Kramer

در مورد فراکسیون‌های زعفران، کروسین حرکت محیطی را افزایش داده و سافرانال باعث کاهش حرکت محیطی و کلی شده است. افزایش رفتارهای استرئوتایپی در مورد موش‌های دریافت کننده کروسین مشاهده شد که نشانگر تاثیر این ترکیب بر سیستم دوپامینرژیک است [۱۹]. سافرانال به صورت وابسته به دوز باعث ایجاد اثرات شبه سروتونینی شده است، احتمالاً این ترکیب با افزایش غلظت، باعث مهار بازجذب سروتونین می‌شود [۱۷، ۱۶]. اما این ترکیب در مدت زمان بالارفتن نیز اثر داشته است که احتمالاً ناشی از تاثیر آن بر روی مهار بازجذب نور اپی نفرین می‌باشد. در مورد کروسین هیچ یک از دوزهای مصرفی روی مدت زمان شناکردن تاثیر نداشته است، که احتمالاً این ترکیب با مکانیسمی کاملاً متفاوت از سافرانال عمل می‌کند. با مصرف این ترکیب مدت زمان بالارفتن افزایش و زمان بی تحرکی کم شده است که بیانگر اثر احتمالی این ترکیب بر مهار بازجذب نور اپی نفرین است [۱۸].

در عصاره متانولی گلبرگ زعفران کامپفرول به عنوان ماده اصلی شناسایی شده است [۲۰]. کامپفرول در گیاهان دیگر از جمله علف چای یافت شده و اثرات ضدافسردگی از خود نشان داده است [۲۱].

مکانیسم‌های دیگر ضدافسردگی از جمله مهار آنزیم منو آمین اکسیداز (MAO) می‌تواند در این فعالیت نقش داشته باشد.

این مطالعه نشان می‌دهد که احتمالاً اثر ضدافسردگی کلاله زعفران حداقل قسمتی از طریق کروسین و سافرانال می‌باشد. کروسین به عنوان یک ترکیب محلول در آب زعفران و سافرانال به عنوان یک ترکیب محلول در چربی با دو مکانیسم مختلف عمل می‌کنند. احتمالاً کروسین بر سیستم دوپامینرژیک و مهار بازجذب نور اپی‌نفرین و سافرانال بر سیستم سروتونرژیک موثر است. برای قطعیت بخشیدن به مکانیسم عمل این دو ترکیب مسلماً نیاز به آزمایش‌های گسترده‌تر و دقیق‌تر می‌باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از شرکت محترم نوین زعفران و شرکت محترم شهرک‌های صنعتی خراسان که در تامین بودجه این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Cryan GF, Markou A and Lucki I. Assessing antidepressant activity in rodents: recent developments and future needs. *Trends Pharmacol. Sci.* 2002; 23: 238-45.

2. Nair SC, Kurumboor SK and Hasegawa JH. Saffron chemoprevention in biology and medicine: a review. *Cancer Biother*. 1995; 10: 257-64.

3. Abdullaev FI. Cancer chemopreventive and tumoricidal properties of saffron (*Crocus sativus* L.). *Exp. Biol. Med.* 2002; 227: 20–25.

4. Tarantilis PA, Morjani H, Polissiou M and Manfait M. Inhibition of growth and induction of differentiation of promyelocytic leukemia (HL-60) by carotenoids from *Crocus sativus* L. *Anticancer Res*. 1994; 14: 1913-18.

5. Abe K and Saito H. Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behaviour and long-term potentiation. *Phytother. Res.* 2000; 14: 149-52.

6. Sugiura M, Shoyama Y, Saito H and Abe K. Crocin (crocetin digentiobiose ester) prevents the inhibitory effect of ethanol on long-term potentiation in the dentate gyrus in vivo. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 1994; 271: 703-707.

7. Sugiura M, Shoyama Y, Saito H and Nishiyama N. Crocin improves the ethanol-induced impairment of learning behaviors of mice in passive avoidance tasks. *Proc. Japan Acad.* 1995; 71: 319-24.

8. Sugiura M, Shoyama Y, Saito H and Abe K. Ethanol extract of *Crocus sativus* L. antagonizes the inhibitory action of ethanol on hippocampal long-term potentiation in vivo. *Phytother. Res.* 1995; 9: 100-104.

9. Hosseinzadeh H, Khosravan V. Anticonvulsant effects aqueous and ethanolic extracts of *Crocus sativus* L. stigmas in mice. *Arch. Irn. Med.* 2002; 5: 44-7.

10. Hosseinzadeh H, Younesi H. Petal and stigma extracts of *Crocus sativus* L. have antinociceptive and anti-inflammatory effects in mice. *BMC Pharmacol*. 2002; 2: 7.

11. Ríos JL, Recio MC, Giner RM and Máñez S. An update review of saffron and its active constituents. *Phytother. Res*. 1996; 10: 189-93.

۱۲. میرحیدر حسین. *معارف گیاهی، کاربرد گیاهان در پیشگیری و درمان بیماری‌ها*. دفتر نشر فرهنگ اسلامی تهران. ۱۳۷۷، جلد دوم، صفحات ۳۴۵-۳۴۱.

13. Karimi G, Hosseinzadeh H and Khaleghpanah P. Study of antidepressant effect of aqueous and ethanolic extract of *Crocus sativus* in mice. *Irn. J. Basic Med. Sci.* 2001; 4: 11-15.

14. Porsolt DR, Anton G, Blavet N and Jalfre M. Behavioral despair in rats: a new model sensitive to antidepressant treatments. *Eur. J. Pharmacol*. 1978; 47: 379-91.

15. Pardon MC, Perez-Diaz F, Joubert C and Cohen-Salmon C. Age- dependent effects of a chronic ultramild stress procedure on open-field behaviour in B6D2F1 female mice. *Physiol. Behav*. 2000; 70: 7-13.

16. Lucki I. The forced swimming test as a model for core and component behavioral effects of antidepressant drugs. *Behav. Pharmacol*. 1997; 8: 523–32.

17. Cryan JF and Lucki I. Antidepressantlike behavioral effects mediated by 5-hydroxytryptamine (2C) receptors. *J. Pharmacol. Exp. Ther*. 2000; 295: 1120–26.

18. Cryan JF. et al. Noradrenergic lesions differentially alter the antidepressant-like effect of reboxetine in a modified forced swim test. *Eur. J. Pharmacol*. 2002; 436: 197–205

19. Rodenburg TB, Buitenhuis AJ, Ask B, Vitdehaag KA, Koene P, van der Poel JJ and Bovenhuis H. Heritability of feather pecking and open-field response of laying hens at two different ages. *Poult Sci*. 2003; 82: 861- 7.

20. Straubinger M, Jezussek M, Waibel R and Winterhalter P. Two kaempferol sophorosides from *Crocus sativus*. *Nat. Prod. Lett.* 1997; 10: 213-16.

21. Müller WE and Schfer CS. St. John's wort: in vitro study about hypericum extract, hypericin and kampferol as antidepressants. *Deutsche Apotheker Zeitung* 1996; 136: 1015-22.