

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

هدایت صحرایی<sup>۱\*</sup>، معصومه محمدی<sup>۲</sup>، محمد کمالی‌نژاد<sup>۳</sup>، جمال شمس<sup>۴</sup>، حسن قشونی<sup>۵</sup>، علی نورووززاده<sup>۶</sup>

۱- دانشیار، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک و مرکز تحقیقات علوم رفتاری، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

۲- کارشناس ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال

۳- مریب، گروه فارماکوگنوزی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۴- استادیار، مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی

۵- مریب، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک و مرکز تحقیقات آسیب‌های شیمیایی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

۶- مریب، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک و مرکز تحقیقات بهداشت نظامی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)

\*آدرس مکاتبه: تهران، گروه فیزیولوژی و بیوفیزیک، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه الله (عج)،

صندوق پستی: ۶۵۵۸ - ۱۹۳۹۵، ایران، تلفن و نامبر: ۰۲۱ ۲۶۱۲۷۲۳۵

پست الکترونیک: h\_sahraei@yahoo.com .h.sahraei@bmsu.ac.ir

تاریخ تصویب: ۸۶/۶/۱۰

تاریخ دریافت: ۸۵/۱۱/۳

### چکیده

مقدمه: تحقیقات نشان می‌دهند که احتمالاً عصاره زعفران با مورفین تداخل عمل داشته باشد. تاکنون تاثیر زعفران بر اثرات سرخوشی آور مورفین در موش ماده بررسی نشده است.

هدف: در تحقیق حاضر، اثر عصاره آبی زعفران (*Crocus sativus L.*) بر کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌های ماده نژاد N-MARI در محدوده وزنی ۲۰ - ۲۵ گرم بررسی شد.

روش بررسی: این تحقیق یک بررسی تجربی مداخله‌ای است که بر روی ۱۳۶ سر موش ماده که به طور مساوی در ۱۷ گروه تقسیم شدند (۸ سر در هر گروه) انجام شده است. در یک آزمایش ابتدایی، 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. 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 تست ۳۰ دقیقه قبل از شروع آزمایش، مقادیر متفاوت عصاره را دریافت می‌کردند. برای بررسی آماری از آنالیز - واریانس یک‌طرفه استفاده شد.

یافته‌ها: آزمایش‌ها نشان داد که تجویز مورفین (۱، ۱۰ و ۲۰ mg/kg) باعث افزایش زمان سپری شده در قسمت دریافت مورفین گردید (ترجیح مکان شرطی شده). این افزایش در گروه دریافت‌کننده دوز (۱۰ و ۲۰ mg/kg) مورفین کاملاً معنی‌دار بود. تجویز عصاره با دوز (۵۰ mg/kg) نسبت به گروه سالین باعث بروز ترجیح مکان شرطی شده گردید. تجویز عصاره گیاه مذکور با دوزهای فوق قبیل از تجویز مورفین (۱۰ mg/kg) سبب کاهش معنی‌دار زمان سپری شده در قسمت دریافت دارو در دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg گردید. هم‌چنین تجویز عصاره به حیواناتی که در روزهای القاء شرطی شدن، مورفین با دوز (۱۰ mg/kg) دریافت کرده بودند سبب کاهش بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین گردید که این کاهش در دوز ۱۰۰ mg/kg عصاره کاملاً معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری: از این آزمایش‌ها استنباط می‌شود که عصاره کلاله گل زعفران سبب تضعیف کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین می‌گردد. هم‌چنین، این عصاره به تنها بیان ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های ماده می‌شود. این نتایج نشان می‌دهند که عصاره زعفران ممکن است در درمان واستگی روانی به اوپیوئیدها مفید باشد.

گل واژگان: مورفین، ترجیح مکان شرطی شده، موش، عصاره زعفران



## مقدمه

از غشاء‌های نازک و قهوه‌ای رنگ است. این گیاه در نقاط مختلف دنیا می‌روید. گل‌های زعفران بنشش رنگ بوده و دارای خامه بلند و کلاله سه قسمتی به رنگ نارنجی یا قرمز است که همین قسمت به عنوان زعفران ارزش تجاری دارد [۷]. زعفران دارای مواد چرب، املاح معدنی و موسیلات است. ترکیبات زیر نیز در زعفران یافت می‌شود: اسانس بی‌رنگی مرکب از ترپین‌ها و سینول 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 پیکروکروسین که از هیدرولیز آن پیکروکروسین و گلوکز به دست می‌آید. کروسین که ماده اصلی رنگی زعفران است که نوعی کاروتونوئید است [۷].

در مورد اثر عصاره زعفران در برخی بیماری‌ها مانند افسردگی در انسان، تحقیقاتی انجام گرفته است. به عنوان مثال، آخوندزاده و همکاران در یک تحقیق اثر عصاره گیاه زعفران را با ایمی پرامین به عنوان یک داروی ضدافسردگی رایج در درمان افسردگی‌های خفیف تا متوسط بررسی کردند [۱۰]. نتیجه این تحقیق نشان داد که عصاره زعفران همان کارایی ایمی پرامین را بدون عوارض جانبی آن دارد. همچنین در یک تحقیق دیگر، نوربالا و همکاران [۱۱] اثر عصاره آبی - الکلی زعفران را بر بهبود افسردگی خفیف تا متوسط بررسی کرده و اثر آن را با فلوگزتین بررسی کردند. نتایج این تحقیق نیز بر اثر مثبت زعفران در کاهش علایم افسردگی در مقایسه با فلوگزتین تاکید دارد. از سوی دیگر، تحقیقات قبلی بر توانایی ضددردی و ضدالتهابی عصاره زعفران در موش‌ها نسبت به داروهای ضددرد و ضدالتهاب رایج تاکید دارد [۱۲]. یک تحقیق نسبتاً جدید نیز اشاره دارد که کروسین (کاروتونوئید اصلی زعفران) هنگامی که قبل از تجویز سم 6-OHDA به داخل ماده سیاه به صورت یک طرفه، به مدت هفت روز به موش‌ها تجویز شود، از کاهش دوپامین مغز و از افزایش عوامل اکسیدکننده و تخریب نورن‌های دوپامینی جلوگیری کرده و سطح دوپامین را در استریاتوم بالا می‌برد [۱۳]. محققان همچنین بر تاثیر کروسین در بهبود حافظه و القاء پدیده تقویت طولانی مدت<sup>۱</sup> در موش‌های نر تاکید دارند [۱۴، ۱۵]. با این حال تاکنون

امروزه، مکانیسم‌ها و عوامل اصلی در مغز که با وابستگی به اوپیوپیدها سروکار دارند، تا حدود زیادی شناخته شده‌اند. یکی از مهم‌ترین این مکان‌ها، مسیر دوپامینی مزوکورتیکولیمیک است که نقش اصلی و مهمی را در وابستگی روانی به اوپیوپیدها بازی می‌کند [۱، ۲]. این مسیر از ناحیه تگمتوم شکمی که در واقع نورن‌های دوپامینی A10 محسوب می‌شود [۳]. با این حال، مسیرهای آناتومیکی دیگر [۴] و نوروترانسミترهای دیگری [۵] نیز در مغز شناخته شده‌اند که حداقل قسمتی از عملکرد اوپیوپیدها در القاء وابستگی روانی به آن‌ها نسبت داده شده است. به دلیل توانایی داروهای مخدر اوپیوپیدی در تحریک رها شدن دوپامین در مسیر مزوکورتیکولیمیک، این داروها توانایی القاء حافظه بلند مدت را نیز دارند. این امر یکی از دلایل اصلی وجود خاطره مصرف مواد مخدر در افراد معتاد است که برای مدت‌ها بعد از ترک مصرف مواد مخدر نیز بر جای می‌ماند [۱]. همچنین، بر اساس این توانایی است که برخی روش‌های بررسی مانند ترجیح مکان شرطی شده در حیوانات به عنوان یک مدل حیوانی اختراع و توسعه یافته‌اند [۶].

امروزه استفاده از داروهای با منشای گیاهی به جای داروهای شیمیایی در دنیا رو به افزایش است و به همین دلیل، بررسی‌ها در مورد این نوع داروها و نیز عصاره گیاهان مختلف بسیار گسترش یافته است [۷].

زعفران از جمله گیاهانی است که در نقاط مختلف دنیا به عنوان یک گیاه دارویی از قدیم مورد استفاده قرار گرفته است [۷]. در ایران این گیاه به عنوان ضداسپاسم، آرامبخش، کمک‌کننده هضم غذا، ضدنفخ، معرق، خلط‌آور، محرك میل جنسی و تسکین‌دهنده درد مورد استفاده بوده است [۷]. در طب چینی این گیاه برای درمان آمنوره [۸، ۹] نیز استفاده شده است. این گیاه را به صورت دم کرده مصرف می‌کنند. زعفران گیاهی است از تیره زنبق و چند ساله به ارتفاع ۱۰ تا ۳۰ سانتی‌متر و دارای پیازی سخت و مدور و گوشتشدار و پوشیده

<sup>۱</sup> LTP



صفاقی به حیوانات تزریق می شد.

## حیوانات

در این تحقیق از موش‌های ماده نژاد MRI-N با میانگین وزنی ۲۵ - ۲۰ گرم استفاده شد. حیوانات در قفس‌های ۱۰ تایی با دوره شبانه‌روزی طبیعی و در دمای ۲۴ - ۲۲ درجه سانتی‌گراد، با آب و غذای کافی نگهداری می‌شدند. در هر سری آزمایش ۸ سر حیوان استفاده شد.

## روش القای ترجیح مکان شرطی شده

برای انجام آزمایش ترجیح مکان شرطی شده از دستگاه چوبی مخصوصی استفاده شد که از دو قسمت مجرزا تشکیل شده است [۱۶]. این دو قسمت دارای ابعاد مساوی  $15 \times 15 \times 15$  سانتی‌متر (طول و عرض و ارتفاع) هستند که توسط یک دریچه گیوتینی مرکزی می‌توانند با هم در ارتباط باشند. رنگ دیواره‌های هر دو طرف سفید اما دیواره‌های هر قسمت دارای تزیینات 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 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 هیچ‌کدام از دو قسمت نشان نمی‌دهند و بنابراین از روش غیرطرفدار<sup>۱</sup> برای ادامه کار استفاده شد. در این روش نیمی از حیوانات در هر سری در یک قسمت شرطی شده و

تحقیقات کمی در مورد اثرات سرخوشی‌آور (که با القای حافظه نیز همراه است) زعفران و یا اثر این گیاه بر بروز اثرات سرخوشی‌آور مورفين انجام شده است. در تحقیق قبلی ما، این عصاره اثرات جالبی را هم در القای ترجیح مکان شرطی شده در موش‌های نر [۱۷] و هم در القای حساسیت رفتاری [۱۷] در موش‌های ماده داشت. به همین دلیل در تحقیق حاضر توانایی عصاره آبی زعفران در القاء اثرات سرخوشی‌آور و نیز بهبود و یا وخیم شدن اثرات سرخوشی‌آور مورفين در موش ماده با استفاده از روش ترجیح مکان شرطی شده بررسی شده است. لازم به توضیح است که تحقیقات مختلف اثربخشی بیشتر مورفين را در موش‌های ماده نسبت به حیوانات نر نشان داده‌اند [۱۸].

## مواد و روش‌ها

### عصاره‌گیری

کلاله گیاه زعفران تهیه شده در سال ۱۳۸۴ شمسی توسط شرکت طلاکاران مزرعه (ترتیب حیدریه - خراسان رضوی) در اختیار این گروه قرار گرفت. زعفران به آزمایشگاه دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی منتقل گردید و توسط مهندس کمالی نژاد شناسایی شد و کد ۴۰۸ به آن داده شد. سپس از پودر این کلاله به روش جوشاندن<sup>۱</sup>، عصاره آبی آن گرفته شد. برای این منظور، ۱۰۰ گرم از پودر کلاله خشک شده در یک بالن شیشه‌ای به حجم ۲ لیتر ریخته می‌شد و به آن ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شده و برای مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد جوشانده می‌شد. سپس محلول رویی از یک صافی کاغذی متغیر با قطر منفذ بین ۲۰ - ۳۰ میکرومتر عبور داده می‌شد. این محلول برای مدت یک روز در دستگاه بن ماری با دمای ۵۵ درجه سانتی‌گراد و یک هفتۀ در انکوباتور با دمای ۳۳ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت تا آب عصاره نیز به آرامی تبخیر شده و پودر عصاره به جا بماند. از هر ۱۰۰ گرم پودر کلاله به این روش، ۲۵ گرم عصاره به دست می‌آمد. این عصاره در سالین حل شده و به صورت داخل

<sup>1</sup> Decoction

<sup>1</sup> Un-Biased



نیم دیگر در طرف مقابل (به این ترتیب طراحی به صورت متعادل<sup>۱</sup> بود).

### ب) مرحله شرطی سازی

برای این که حیوان را به مکان معینی شرطی کنیم، طی مدت سه روز به طور متناوب به آن‌ها دارو تزریق می‌کردیم. 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 شرطی سازی

در روز پنجم آزمایش‌ها (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 دستگاه ثبت شده و زمان توقف در قسمت دریافت دارو<sup>۲</sup> از زمان توقف حیوان در قسمت دریافت سالین<sup>۳</sup> کم شده و به عنوان نمره شرطی شدن<sup>۴</sup> به عنوان نمادی از اثر دارو در القاء شرطی شدن در نظر گرفته می‌شد.

### داروها

دراین تحقیق، 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 استفاده شد. گروه‌های کترل در هر قسمت سالین را به صورت زیر جلدی یا داخل صفاقی دریافت کردند.

## نتایج

**القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط مورفین در موش‌ها**  
در این آزمایش، موش‌ها به پنج گروه تقسیم شدند. یک گروه سالین (به روش ذکر شده در قسمت روش‌ها) دریافت کرد و چهار گروه دیگر دوزهای مختلف مورفین را به منظور القاء ترجیح مکان شرطی شده دریافت کردند. تجویز مورفین

<sup>1</sup> Counterbalance  
<sup>3</sup> Saline-Paired

<sup>2</sup> Drug-Paired  
<sup>4</sup> Conditioning Score

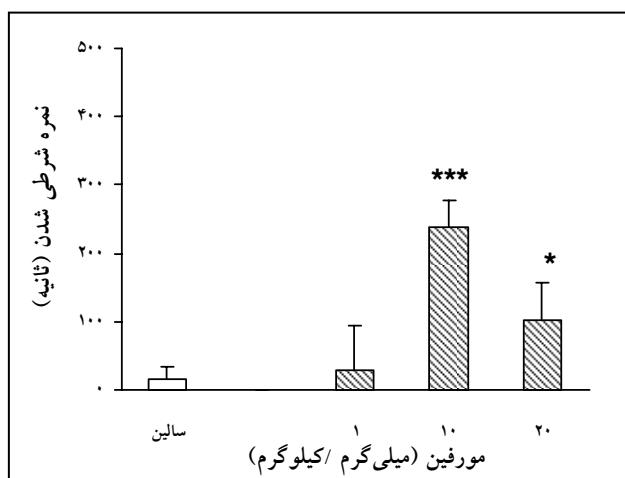


مکان شرطی شده بررسی شد. نتایج نشان دادند که تجویز دوزهای مختلف عصاره زعفران ( $50$ ,  $10$  و  $100$  mg/kg) به همان روشی که برای مورفین ذکر شد، باعث بروز ترجیح و تنفس مکانی در موش‌ها می‌شود. آنالیز بعدی اطلاعات نشان داد که دوز  $50$  mg/kg عصاره زعفران باعث بروز ترجیح مکان شرطی شده معنی‌داری می‌شود اما دوز  $100$  mg/kg این عصاره هرچند تنفس مکانی شرطی شده را در حیوانات القاء می‌کند، اما این اثر از نظر آماری معنی‌دار نیست [نمودار شماره ۱ - آ] ( $F(3,28)=3.48$ ,  $p<0.05$ ).

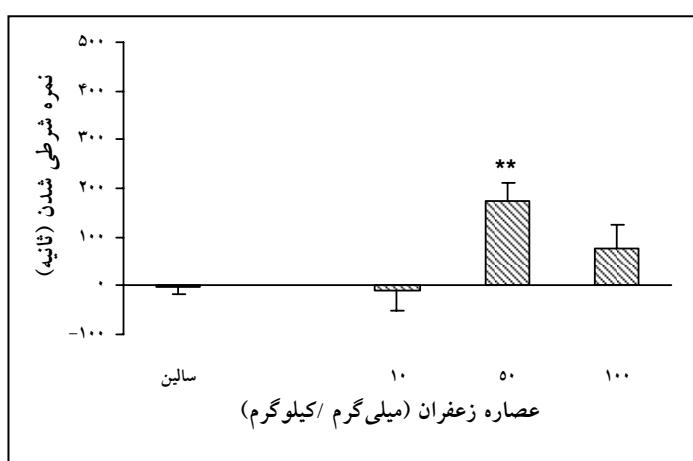
سبب افزایش زمان سپری شده در قسمت دریافت مورفین نسبت به زمان سپری شده در قسمت دریافت سالین گردید [ترجیح مکان شرطی شده] ( $F(4,36)=3.12$ ,  $p<0.01$ ) (نمودار شماره ۱ - آ). چون دوز  $10$  mg/kg مورفین بهترین جواب را القاء کرد، در قسمت‌های بعدی آزمایش از این دوز استفاده شد.

#### القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط عصاره زعفران در موش‌ها

در دور دوم آزمایش‌ها اثر عصاره زعفران در القاء ترجیح



نمودار شماره ۱ - آ - اثر مورفین در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موش‌ها. تزریق مورفین به حیوانات باعث افزایش معنی‌دار زمان توقف در قسمت دریافت مورفین می‌شود. تجویز سالین در روزهای آموزش اثری را در القاء ترجیح یا تنفس مکانی ندارد. این نتیجه در مورد دوز  $8$  mg/kg مورفین قوی‌تر بود. نتایج به صورت (Mean ± SEM) نمره شرطی شدن در مورد  $8$  سر حیوان است. \*\*\* $p<0.001$ , \* $p<0.05$ .



نمودار شماره ۱ - ب - اثر عصاره زعفران در القاء ترجیح مکان شرطی شده در موش‌ها. تزریق دوزهای مختلف عصاره زعفران به حیوانات باعث تغییر معنی‌داری در زمان توقف در قسمت دریافت دارو شده است. نتایج به صورت (Mean ± SEM) نمره شرطی شدن در مورد  $8$  سر حیوان است. \*\* $p<0.01$ .



طور معنی داری افزایش می دهد  $[F(3,28)=4.12, p<0.05]$  (نمودار شماره ۲ - ب). آنالیز بعدی اطلاعات نشان داد که اثر دوز  $50 \text{ mg/kg}$  عصاره زعفران بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین کاملاً معنی دار است.

## بحث

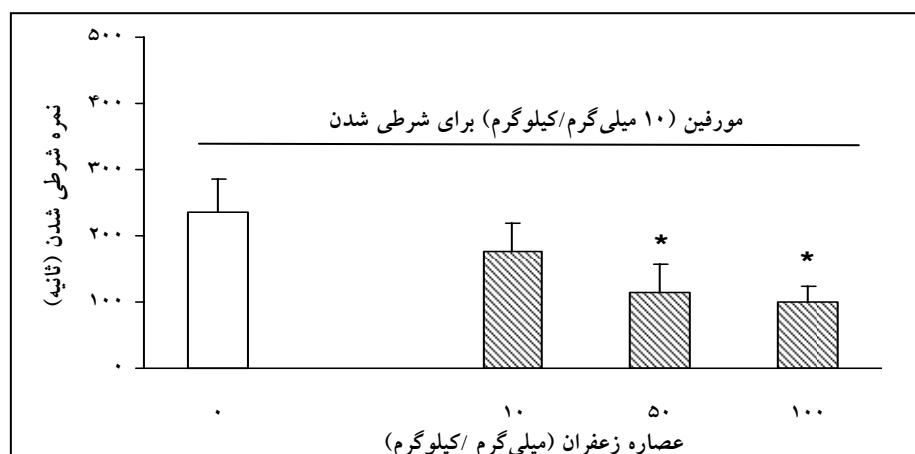
این بررسی نشان داد که حیوانات ماده ترجیح کاملاً واضحی برای مکان دریافت مورفین نسبت به مکان دریافت سالین از خود نشان می دهند. به علاوه، در تحقیق حاضر عصاره زعفران توانست اثرات سرخوشی آور را در موش های ماده از خود نشان دهد. این یافته ها با یافته های قبلی ما در مورد حیوانات نر [۱۶] کاملاً هم خوانی دارند و نشان دهنده وجود جزء (یا اجزاء) در عصاره زعفران هستند که در هر دو جنس نر و ماده اثربخشی دارد. این یافته بسیار مهم است و نشان می دهد که زعفران به نحوی با سیستم های پاداشی در مغز تداخل کرده و سبب بروز پاسخ های پاداشی یا تنفری در حیوانات می شود. هرچند تاکنون گزارش زیادی از اثرات سرخوشی آور زعفران دیده نشده است.

## بررسی اثر عصاره زعفران بر کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین

در این سری از آزمایش ها نیز از چهار گروه حیوان استفاده شد. سه گروه از حیوانات در روزهای آموزش قبل از تجویز مورفین ( $10 \text{ mg/kg}$ ) و یکی از سه دوز عصاره ( $10 \text{ mg/kg}$ ) و  $50 \text{ mg/kg}$  را دریافت کردند. گروه چهارم سالین دریافت کردند. نتایج نشان دادند که تجویز عصاره زعفران اثر مورفین را در القاء ترجیح مکان شرطی شده به طور معنی داری کاهش می دهد  $[F(3,28)=3.29, p<0.05]$  (نمودار شماره ۲ - آ). این اثر در دوز  $100 \text{ mg/kg}$  کاملاً معنی دار بود.

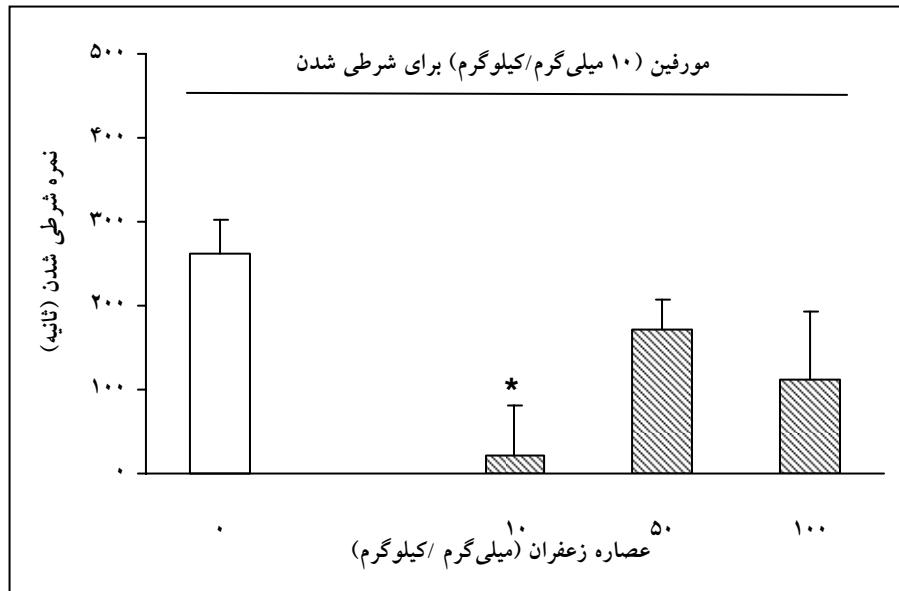
## بررسی اثر عصاره زعفران بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین

در این قسمت ابتدا چهار گروه حیوان انتخاب شدند. همه گروه ها در روزهای آموزش به رو شی که در قسمت قبل ذکر شد مورفین ( $10 \text{ mg/kg}$ ) دریافت کردند. در روز تست،  $30$  دقیقه قبل از شروع آزمایش به سه گروه از حیوانات سه دوز از عصاره زعفران ( $10, 50$  و  $100 \text{ mg/kg}$ ) تزریق شد. گروه چهارم سالین دریافت کردند. آزمایش ها نشان دادند که تجویز عصاره بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را به



نمودار شماره ۲ - آ - اثر تجویز عصاره زعفران بر کسب (ایجاد) ترجیح مکان شرطی ناشی از مورفین در موش ها. حیوانات در روزهای آموزش  $30$  دقیقه قبل از تجویز مورفین عصاره زعفران ( $10, 50$  و  $100 \text{ mg/kg}$  را دریافت می کردند. در روز تست، حیوانات بدون دریافت هیچ دارویی به مدت  $10$  دقیقه مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج به صورت  $(\text{Mean} \pm \text{SEM})$  نمره شرطی شدن در مورد  $8$  سر حیوان است.  $*p < 0.05$





نمودار شماره ۲ - ب - اثر تجویز عصاره زعفران بر بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌ها. حیوانات در روزهای آموزش مورفین (۸ mg/kg) را دریافت می‌کردند. در روز تست، ۳۰ دقیقه قبل از آزمون هر حیوان ابتدا دوزهای مختلف عصاره زعفران (۵۰، ۱۰۰ یا ۱۰۰۰ mg/kg) را دریافت می‌کرد و سپس به مدت ۱۰ دقیقه مورد بررسی قرار می‌گرفت. نتایج به صورت (Mean  $\pm$  SEM) نموده شرطی شدن در مورد ۸ سر حیوان است. \*p<0.05

بایستی در تحقیقات بعدی بررسی شود. یکی از مهم‌ترین این کاروتوئوییدها، کروسین است که رنگ زعفران را به آن نسبت می‌دهند [۷]. در یک تحقیق جالب مشخص شده است که تجویز این ماده به موش‌ها، مقاومت آن‌ها را در مقابل سم 6-OHDA که باعث تخریب نورون‌های دوپامینی در هسته ماده سیاه مغز می‌شود را بالا برده و یک اثر محافظتی را بر این نورون‌ها اعمال می‌کند (اثر ضدپارکینسونی) [۱۳]. این ماده همچنین ترشح دوپامین از این نورون‌ها را افزایش داده و متابولیت‌های حاصل از تجزیه دوپامین را از محیط جمع‌آوری می‌کند [۱۳]. بنابراین، با توجه به اینکه نورون‌های دوپامینی ناحیه تگمتوم شکمی در فاصله بسیار نزدیکی از نورون‌های ماده سیاه قرار دارند و در اکثر موارد به صورت هماهنگ با این نورون‌ها کار می‌کنند [۱۳]، این احتمال وجود دارد که در آزمایش ما هم این کاروتوئویید با اثر بر نورون‌های ماده سیاه و یا تگمتوم شکمی ترشح دوپامین را از آن‌ها 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 حیوانات متجلی شده است. از سوی دیگر، چندین تحقیق وجود دارد که بر تاثیر عصاره زعفران بر کاهش افسردگی ملایم تا متوسط تأکید دارند [۱۰، ۱۱]. بایستی در نظر داشت که در بروز

این یافته ممکن است در مورد انسان هم صادق باشد اما تاکنون تحقیقات جامعی در این زمینه انجام نشده است. مشاهدات این بررسی 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 تست، 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 کاروتوئوییدی موجود در این گیاه اثرات مهمی را در مغز مانند تقویت حافظه [۱۴، ۱۵]، محافظت نورون‌ها در مقابل سموم [۱۳] و بهبود افسردگی [۱۰، ۱۱] را از خود نشان داده‌اند. در بررسی حاضر، عصاره زعفران توانست ترجیح مکان شرطی شده را در موش‌های ماده القاء کند. هرچند تنفس اندرک 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. در هر حال، عصاره زعفران دارای کاروتوئوییدهای متعددی است که نقش آن‌ها در این پدیده



قسمتی از استریاتوم است [۲۰] جمع شود، بایستی تقویت اثر مورفین دیده می‌شد. بنابراین، در نتایج مشاهده شده، این امکان کمتر بایستی مورد توجه قرار گیرد. امکان تداخل سایر کاروتوپوییدهای موجود در عصاره زعفران مانند پیکروکروستین و پیکروکروسین نیز در کار مورفین دور از ذهن نیست. برای تعیین نقش دقیق این ترکیبات در کار مورفین، پیشنهاد می‌شود که در کارهای بعدی نقش هر کدام از این ترکیبات به طور جداگانه بر کار مورفین بررسی شود.

القاء ترجیح مکان شرطی شده توسط مورفین یک پدیده بسیار پیچیده است و دستگاه‌های نوروترانسمیتری متفاوت و مختلفی شامل دستگاه‌های اوپیوپیدی، دوپامینی و گاباپرژیک در آن دخالت دارند [۲،۳،۶]. به علاوه، نواحی مختلفی از مغز مانند تگمنتوم شکمی، هسته آکومبانس و هیپوکامپ در القاء این پدیده دخالت دارند [۲،۳]. بایستی در نظر داشت که محققان برای کاروتوپوییدهای زعفران نقش تداخلی با گیرنده‌های گلوتاماتی از نوع N-methyle-D-(NMDA aspartate را قایل هستند [۱۴]. هرچند این تداخل کاملاً شناخته شده نیست، اما با توجه به اینکه این گیرنده‌ها نقش مهمی را در پاداش ناشی از مورفین بازی می‌کنند [برای مرور رجوع شود به: ۲]، یک احتمال برای اثرات دیده شده در تحقیق حاضر احتمال درگیر شدن این گیرنده‌ها است.

احتمال دیگر 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 است. به بیان دیگر، نتیجه به دست آمده، تنها جمع اثرات دو دارو بوده و تداخل مؤثری بین عملکرد این دارو وجود نداشته باشد. بدین ترتیب که عصاره زعفران در دوزهای ۵۰ mg/kg و ۱۰۰ دارای اثرات ترجیحی است (نمودار شماره ۱ - ب) و مورفین دارای اثر پاداشی (نمودار شماره ۱ - آ) و این دو اثر با هم جمع شده و کاهشی را در اثر مورفین نشان می‌دهند. با این نتیجه گیری باید گفت که ممکن است مکانیسم (های) که عصاره زعفران برای کار خود به کار می‌برد، یک مکانیسم جدا از مکانیسم مربوط به پاداش و یا حافظه است که این امر نیاز به تحقیق بیشتر دارد.

افسردگی نوروترانسمیترهایی مانند دوپامین، سروتونین و نوراپی‌نفرين دخالت دارند [۱۹]. به همین دلیل، داروهای ضدافسردگی با توانایی مهار باز جذب این نوروترانسمیترها می‌توانند شدت افسردگی را کاهش دهند [۱۷]. با توجه به عملکرد مثبت زعفران در کاهش شدت افسردگی، محتمل است که یکی یا چند ترکیب کاروتوپوییدی موجود در عصاره زعفران اثر مهمی را بر این نوروترانسمیترها و تحریک ترشح بیشتر و یا مهار باز جذب آن‌ها داشته باشد. با این استدلال، شاید همین مکانیسم در عملکرد زعفران در القاء ترجیح مکان شرطی شده نقش داشته باشد. در هر حال، بررسی‌های بیشتر در این زمینه می‌تواند راه‌گشای سوالات موجود باشد.

از سوی دیگر، عصاره زعفران واجد توانایی تقویت حافظه بوده و توانایی محافظت از حافظه القاء شده را در مقابل سموم مختلف دارد [۱۱، ۱۴، ۱۵]. این خاصیت را به توانایی تحریک گیرنده‌های گلوتاماتی توسط اجزاء مختلف این عصاره نسبت داده‌اند [۱۴]. چون روش ترجیح مکان شرطی شده یک روش القاء حافظه نیز است [۶]، ممکن است عصاره زعفران با القاء حافظه توانایی القاء ترجیح مکان شرطی شده را در حیوانات داشته باشد. در هر حال تحقیقات بیشتر با روش‌های دیگری مانند روش خود - تزریقی شاید بتواند به ما در شناخت توانایی عصاره زعفران در القاء خواص پاداشی کمک بیشتری بنماید.

در بخش دوم تحقیق حاضر، اثر عصاره زعفران بر کسب ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌ها 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 دوزهای ۵۰ و ۱۰۰ mg/kg عصاره معنی دار بود. در مورد اینکه چه مکانیسم (یا مکانیسم‌هایی) در این امر دخالت دارند، نظر قطعی نمی‌توان داد. در هر حال، عصاره زعفران دارای کاروتوپوییدهای فراوانی است که هر کدام از آن‌ها ممکن است در این امر مؤثر باشند. یکی از مهم‌ترین این کاروتوپوییدها، کروسین است که قبلاً اثر آن بر رها شدن دوپامین در استریاتوم بررسی شده است [۱۳]. اگر این اثر با اثر مورفین در القاء رها شدن دوپامین در هسته آکومبانس که

اثرات القاء شده توسط مورفین و عصاره زعفران رخ داده باشد که به تضعیف بیان ترجیح مکان شرطی شده منجر شده است. در یک نتیجه‌گیری کلی باید عنوان کرد که نتایج این بررسی نشان داد که عصاره زعفران توانست هم تنفر و هم ترجیح مکان شرطی شده را در موش‌های ماده القاء نماید که با تحقیقات قبلی در مورد موش‌های نر هم خوانی داشت [۱۶]. همچنین، نتایج حاضر در مورد اثر عصاره زعفران بر ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین در موش‌های ماده با نتایج قبلی در مورد حساسیت رفتاری ناشی از مورفین در موش‌های ماده [۱۷] بسیار هم خوانی دارد. عصاره زعفران کسب و بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین را کاهش داد اما، مکانیسم دقیق این عملکرد بایستی در تحقیقات بعدی مورد بررسی قرار گیرد.

## تشکر و قدردانی

این مقاله حاصل طرح تحقیقاتی مشترک مرکز تحقیقات علوم رفتاری پژوهشکده طب رزمی، دانشگاه علوم پزشکی بقیه‌الله (عج) و مرکز تحقیقات علوم اعصاب، دانشگاه علوم پزشکی شهید بهشتی است. نویسنده‌گان از مراکز مذکور به دلیل تقبل هزینه اجرای این طرح سپاسگزارند. همچنین، نویسنده‌گان از جناب آقای مهندس جعفری، مدیر عامل محترم شرکت طلاکاران مزرعه (ترتیب حیدریه - خراسان رضوی) به خاطر در اختیار قرار دادن زعفران کمال تشکر را دارند.

در بخش پایانی، تجویز عصاره زعفران در روز تست و قبل از شروع آزمایش‌ها سبب کاهش بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین گردید. این کاهش تنها در دوز  $10 \text{ mg/kg}$  عصاره زعفران معنی دار بود. نتیجه به دست آمده در این قسمت کاملاً با نتایج قبلی در حیوانات نر متفاوت بود [۱۶]. این امر بیانگر تفاوت جنسیت در پاسخ‌های به دست آمده است. بنابراین، یک یافته مهم محسوب می‌شود. بایستی اشاره شود که مکانیسم‌های پاداشی و حافظه در نقاطی مثل هسته آکومبانس و هیپوکمپ در بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین نقش دارند [۲۳، ۶]. این مکانیسم‌ها در هنگام تزریق مورفین در مغز القاء شده و هنگامی که حیوان در محیطی قرار می‌گیرد که قبل از مورفین دریافت کرده بود، فعال شده و حیوان به رفتاری روی می‌آورد که رفتار جستجوی دارو نامیده می‌شود [۶]. نتایج حاضر بیانگر آن است که عصاره زعفران توانایی تضعیف مکانیسم‌های پاداشی و یا حافظه‌ای فعال شده در اثر تزریقات قبلی مورفین را دارد. این که کدامیک از کاروتوئیدهای 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، بایستی در آینده بررسی شود.

باید در نظر داشت که تضعیف بیان ترجیح مکان شرطی شده ناشی از مورفین توسط عصاره زعفران ممکن است توسط مکانیسم‌های غیرمستقیمی باشد که هنوز شناخته نشده‌اند و در نهایت، یک برهم‌کنش فارماکوکیتیک ممکن است که بین

## منابع

1. Hyman SE, Malenka RC. Addiction and the brain: the neurobiology of compulsion and its persistence. *Nature Rev. Neurosci.* 2001; 2: 695 - 703.
2. Cami J, Farre M. Drug addiction. *New Engl J. Med.* 2003; 349: 975 - 86.
3. Koob GF. Drug of Abuse: anatomy, pharmacology, and function of reward pathways. *Trends Pharmacol Sci.* 1992; 13: 177 - 84.
4. De Vries TJ, Shippenberg TS. Neural systems underlying opiate addiction. *J. Neurosci.* 2002; 22: 3321 - 25.
5. Robinson TE, Berridge KC. Addiction. *Annu. Rev. Psychol.* 2003; 54: 25 - 53.
6. Stolerman I: Drugs of abuse: behavioral principles, methods and terms. *Trends Pharmacological Science.* 1992; 13: 170 - 6.
7. Zargari A. Medicinal Plants. 6<sup>th</sup> ed. Tehran University Press. IR IRAN. 1996, pp: 574 - 8.
8. Huang KCH. The Pharmacology of Chinase



- Herb. 2th ed. CRC Press. USA. 1999, pp: 172, 474 - 5.
- 9.** Duke JA. Handbook of Medicinal Herbs, 2th ed. CRC Press. USA. 2001, pp: 256 - 68.
- 10.** Akhondzadeh Sh, Fallah - Pour H, Afkham Kh, Jamshidi AH, Khalighi - Cigaroudi F. Comparison of *Crocus sativus L.* and imipramine in the treatment of mild to moderate depression: a pilot double-blind randomized trial. *BMC Complement Altern Med.* 2004; 4: 12 - 6.
- 11.** Noorbala AA, Akhondzadeh Sh, Tahmacebi - Pour N, Jamshidi AH. Hydro - alcoholic extract of *Crocus sativus L.* versus fluxetine in the treatment of mild to moderate depression: a double - blind, randomized pilot trial. *J. Ethnopharmacol.* 2005; 97: 281 - 4.
- 12.** Hosseinzadeh H, Younesi HM. Antinociceptive and anti - inflammatory effects of *Crocus sativus L.* stigma and petal extracts in mice. *BMC Pharmacol.* 2002; 2: 7 - 15.
- 13.** Shafique Ahmad A, Ahmad Ansari M, Ahmad M, Saleem S, Yousuf S, Nasrul Hoda M, Islam F. Neuroprotection by crocetin in a hemi-parkinsonism rat model. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2005; 81: 805 – 13.
- 14.** Abe K, Saito H. Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behavior and long-term potentiation. *Phytother Res.* 2002; 14: 149 - 52.
- 15.** Pitsikas N, Sakellaridis N. *Crocus sativus L.* extracts antagonize memory impairments in different behavioral tasks in the rat. *Behav. Brain. Res.* 2006; 173: 112 - 5.
- 16.** Mobasher M, Sahraei H, Sadeghi-Rad B, Kamalinejad M, Shams J. Effects of the *Crocus sativus* extract on the acquisition and expression of morphine-induced conditioned place preference in mice. *Scientific Journal of Rafsanjan University of Medical Sciences* 2006; 5: 143 - 50.
- 17.** Sahraei H, Shams J, Marjani S, Molavi S, Kamalinejad M. Effects of the *Crocus sativus L.* extract on the acquisition and expression of morphine-induced behavioral sensitization in female mice. *J. Med Plant* 2007; 6: 26 - 35.
- 18.** Cicero TJ, Ennis T, Ogden J, Meyer ER. Gender differences in the reinforcing properties of morphine. *Pharmacol. Biochem. Behav.* 2000; 65: 91 - 6.
- 19.** MacDonald TM. Treatment of depression: prescription for success? *Prim Care Psychiatry.* 1997; 3: 7 - 10.
- 20.** Nestler EJ. Molecular mechanisms of opiate and cocaine addiction. *Curr Opin Neurobiol.* 1997; 7: 713 – 19.

