

بررسی اثر ضد افسردگی عصاره آبی و الکلی کلاله و گلبرگ زعفران در موش سفید کوچک

*دکتر غلامرضا کریمی، دکتر حسین حسین زاده دکتر پوران خالق پناه

*گروه فارماکودینامی و سم شناسی، دانشکده داروسازی مشهد و پژوهشکده بوعلی

خلاصه

زعفران از گیاهانی است که در طب سنتی از آن به عنوان نشاط آور و برطرف کننده غم و اندوه یاد شده است. در این مطالعه اثر ضد افسردگی عصاره آبی و الکلی کلاله و گلبرگ زعفران بر روی موش سفید کوچک به روش شنا کردن مورد ارزیابی قرار گرفت. عصاره آبی و الکلی کلاله و گلبرگ میزان بی حرکتی را نسبت به نرمال سالین به طور معنی داری ($P < 0/05$) کاهش دادند. اثر ضد افسردگی ایمی پرامین 30 mg/kg بیش از عصاره های آبی و الکلی کلاله و گلبرگ بود ($P < 0/05$) عصاره آبی کلاله در دوز $0/56 \text{ g/kg}$ و $0/64 \text{ g/kg}$ و عصاره الکلی کلاله در دوز $1/6 \text{ g/kg}$ اثری معادل ایمی پرامین 15 mg/kg نشان دادند. همچنین عصاره آبی گلبرگ در دوز $1/4 \text{ g/kg}$ و $3/6 \text{ g/kg}$ و عصاره الکلی آن در دوز $0/8 \text{ g/kg}$ و $3/6 \text{ g/kg}$ اثر ضد افسردگی معادل ایمی پرامین 15 mg/kg داشتند. با افزایش دوز عصاره ها اثر ضد افسردگی به طور معنی داری نسبت به دوزهای پایین تر افزایش نیافت. نتایج نشان می دهد عصاره های آبی و الکلی کلاله و گلبرگ زعفران دارای اثر ضد افسردگی هستند. کلمات کلیدی: اثر ضد افسردگی، زعفران، ایمی پرامین، عصاره آبی و الکلی کلاله و گلبرگ

مقدمه

رادیكالهای آزاد (۱۴)، کاهش دهنده مقدار چربی خون (۱۰) و افزایش حافظه و یادگیری از آن دیده شده است (۴). در کتب گیاه درمانی به عنوان يك گیاه نشاط آور و برطرف کننده غم، اندوه و تشویش از آن یاد شده است (۱، ۲، ۳).

مواد شیمیایی گوناگونی از دسته کاروتنوئیدها، آنتوسیانین ها و ترپنوئیدها در کلاله و گلبرگ زعفران شناسایی شده است که از میان آنها می توان کروسین، دلفینیدین و سافرانال را نام برد (۱۰).

هدف از این مطالعه بررسی اثر ضد افسردگی عصاره های آبی و الکلی زعفران و مقایسه آن با ایمی پرامین با استفاده از آزمایش شنا بود که يك روش بسیار خوب رفتاری در جوندگان برای غربالگری ترکیبات با اثر ضد افسردگی است. این روش ساده، قابل اعتماد بین آزمایشگاهها و حساس به

افسردگی یکی از مهمترین اختلالات روانپزشکی است. در هر مقطع زمانی حدود ۵ تا ۶ درصد افراد هر جامعه افسرده هستند و در حدود ۱۰ درصد مردم در طول زندگی افسرده می شوند (۱۳).

گیاهان دارویی مختلفی در درمان افسردگی استفاده شده اند که از میان آنها می توان به علف چای (*Hypericum perforatum*) (۸، ۹)، سنبل الطیب (*Valeriana fauriei*) (۱۵)، جینکگوبیوبا (*Ginkgo biloba*) (۱۷) و سیزامپلوس (*Cissampelos sympodialis*) (۵) اشاره نمود. زعفران یکی از محصولات مهم استان خراسان است که در فرهنگ عمومی اثراتی مانند افزایش دهنده قوای جنسی، ضد درد و تب، رفع جوش و خارش و مسکن سرفه را به آن نسبت می دهند (۲، ۳). در مطالعات جدیدتر اثر ضد توموری (۱۸)، گیرنده

حداکثر دوز قابل تحمل

دوزهای متفاوت عصاره به گروههای شش تایبی حیوانات به صورت (ip) تزریق گردید. بعد از ۴۸ ساعت بیشترین دوزی که در آن مرگ و میر دیده نشد، به عنوان حداکثر دوز قابل تحمل در نظر گرفته شد.

فعالیت ضد افسردگی**آزمون شنا کردن**

ابتدا ۲۴ ساعت قبل از آزمایش موشها در يك ظرف شیشه ای استوانه ای به قطر ۱۰ سانتی متر، ارتفاع ۲۵ سانتی متر، حاوی آب 2 ± 24 درجه سانتی گراد به ارتفاع ۸ سانتی متر قرار گرفتند. بعد از ۱۵ دقیقه آنها را برداشته و خشک نمودیم. روز بعد ۳۰ دقیقه قبل از آزمایش، عصاره های آبی و الکلی کلالة و گلبرگ و همچنین امبی پرامین (۳۰ و ۱۵ mg/kg)، به صورت (ip) تزریق شده و داخل همان ظرف شیشه ای به مدت ۶ دقیقه قرار داده شد. مدت زمان بی حرکتی در ۴ دقیقه آخر ثبت شد. کاهش زمان بی حرکتی بیانگر بروز اثر ضد افسردگی بود (۱۶).

آنالیز آماری

داده ها به صورت میانگین \pm خطای معیار گزارش شده است. در صورت لزوم از آنالیز واریانس و سپس آزمون Newman-kuels استفاده شده است. نتایج با $P < 0/05$ به عنوان معنی دار در نظر گرفته شد.

نتایج**حداکثر دوز قابل تحمل**

حداکثر دوز غیر کشنده عصاره آبی و الکلی کلالة به ترتیب $0/8$ g/kg و 2 g/kg تعیین شد. حداکثر دوز غیرکشنده عصاره آبی و الکلی گلبرگ $3/6$ g/kg و 8 g/kg محاسبه گردید.

فیتوشیمی

نتایج مربوط به فیتوشیمی در جدول ۱ و ۲ آمده است.

تمامی گروه های مختلف داروهای ضد افسردگی مانند سه حلقه ای ها، مهارکننده های مونوآمینواکسیداز و ضد افسردگی های آتیپیکال است (۱۱).

روش کار**حیوان**

موش سفید کوچک، جنس نر با محدوده وزنی ۲۵-۳۰ گرم که از شرکت سرم سازی رازی مشهد تهیه شده بود. این حیوانات در مرکز تکثیر و نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده داروسازی در چرخه روشنایی/تاریکی ۱۲ ساعته، در دمای 2 ± 23 درجه سانتی گراد و با دسترسی آزاد به آب و غذا نگهداری شدند.

تهیه گیاه

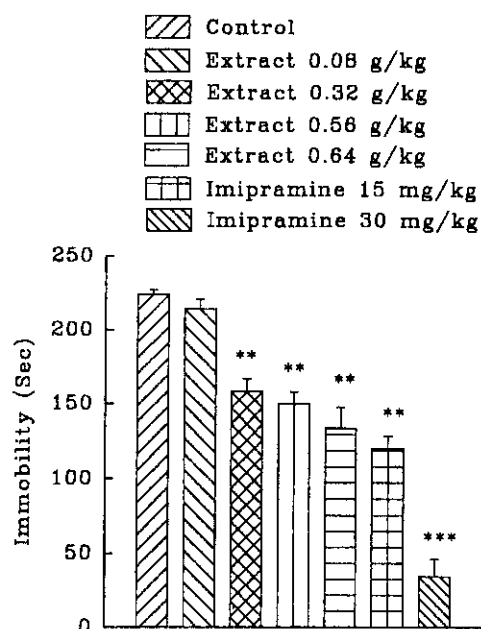
کلالة و گلبرگ گیاه در نزدیکی شهر تربت حیدریه در مهرماه ۱۳۷۹ جمع آوری و در سایه خشک شدند. این گیاه توسط خانم مولایی در دانشگاه فردوسی مشهد شناسایی و نمونه آن در هرباریوم دانشکده داروسازی مشهد با شماره ۱-۳۱۹-۱۴۳ نگهداری می شود.

عصاره گیری

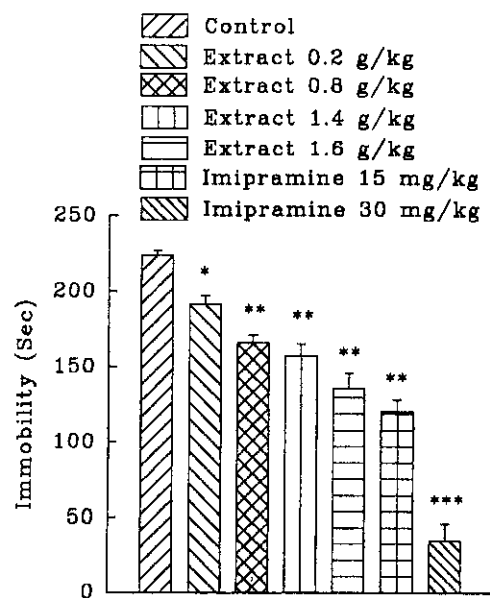
برای عصاره گیری از روش خیساندن استفاده شد. بدین ترتیب که ۴ گرم از کلالة و گلبرگ زعفران جداگانه پودر گردیده و سپس آنها را داخل ظروف شیشه ای تیره ریخته و به آن ۵۰۰ میلی لیتر اتانول ۸۰ درجه (v/v) یا آب مقطر افزوده شد. بعد از ۲۴ ساعت محتویات ظرف، سانتریفوژ و رسوبات جدا گردیدند. با کمک دستگاه حذف حلال در خلاء و در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد حلال اضافی تبخیر گردید. عصاره تغلیظ شده برای انجام آزمایش به پلیت های جداگانه انتقال یافتند.

فیتوشیمی

غریبالگری فیتوشیمی عصاره ها توسط مواد و واکنشگرهای زیر انجام پذیرفت:
آلکالوئید توسط واکنشگر مایر، فلاونوئید توسط اسید کلریدریک و منیزیم، تانن توسط کلروفریک و ساپونین بر مبنای ایجاد کف (۱۲).



نمودار ۱. اثر عصاره آبی کلالة زعفران بر روی مدت زمان بسی حرکتی موش سفید کوچک در تست شنا (n=8)، میانگین ± خطای معیار، (**P<0.01, ***P<0.001)



نمودار ۲. اثر عصاره الکلی کلالة زعفران بر روی مدت زمان بسی حرکتی موش سفید کوچک در تست شنا (n=8)، میانگین ± خطای معیار، (**P<0.01, ***P<0.001)

جدول ۱. نتایج بررسی فیتوشیمیایی کلالة زعفران

عصاره آبی	تانن (-)	آلکالوئید (+)	فلاونوئید (+)	آنتوسیانین (-)	سایونین (+)
عصاره الکلی	تانن (-)	آلکالوئید (+)	فلاونوئید (+)	آنتوسیانین (-)	سایونین (+)

(+) وجود ترکیب شیمیایی، (-) عدم وجود ترکیب شیمیایی

جدول ۲. نتایج بررسی فیتوشیمیایی گلبرگ زعفران

عصاره آبی	تانن (+)	آلکالوئید (+)	فلاونوئید (+)	آنتوسیانین (+)	سایونین (-)
عصاره الکلی	تانن (+) <td>آلکالوئید (+) <td>فلاونوئید (+) <td>آنتوسیانین (+) <td>سایونین (-)</td> </td></td></td>	آلکالوئید (+) <td>فلاونوئید (+) <td>آنتوسیانین (+) <td>سایونین (-)</td> </td></td>	فلاونوئید (+) <td>آنتوسیانین (+) <td>سایونین (-)</td> </td>	آنتوسیانین (+) <td>سایونین (-)</td>	سایونین (-)

(+) وجود ترکیب شیمیایی، (-) عدم وجود ترکیب شیمیایی

اثر ضد افسردگی

در عصاره آبی کلالة به غیر از دوز 0.08 g/kg که تفاوت معنی داری با گروه نرمال نداشت، سایر غلظتها تفاوت معنی داری را نشان دادند. عصاره آبی کلالة در دوز 0.56 g/kg و 0.64 g/kg اثری معادل ایمی پرامین 15 mg/kg نشان داد (نمودار ۱). در عصاره الکلی کلالة تمامی دوزها تفاوت معنی دار با گروه نرمال نداشتند. عصاره الکلی کلالة در دوز 1.6 g/kg اثری معادل ایمی پرامین 15 mg/kg نشان داد (نمودار ۲).

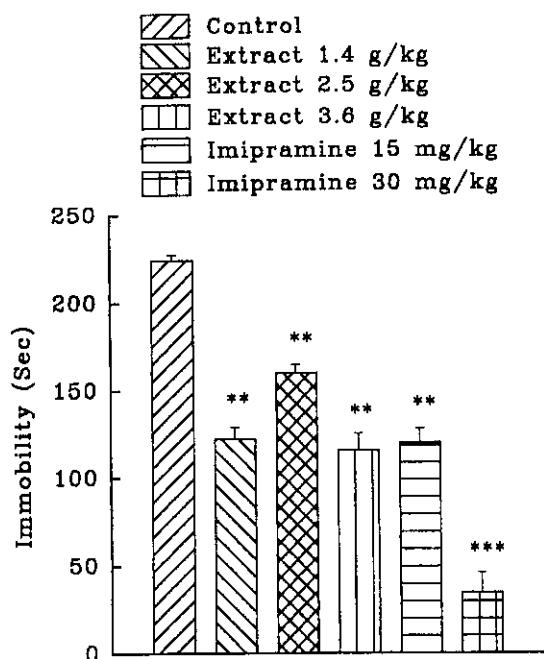
در عصاره آبی گلبرگ نیز همه دوزها نسبت به گروه نرمال سالیان تفاوت معنی دار نشان دادند. عصاره آبی گلبرگ در دوز 1.4 g/kg و 1.6 g/kg و عصاره الکلی آن در دوز 0.8 g/kg و 1.6 g/kg اثر ضد افسردگی معادل ایمی پرامین 15 mg/kg داشتند. اثر دوزهای مختلف عصاره آبی گلبرگ در کاهش بی حرکتی به طور معنی داری کمتر از ایمی پرامین 30 mg/kg بود (نمودار ۳). در عصاره الکلی گلبرگ همه دوزها بیش از نرمال سالیان بی حرکتی را کاهش دادند. هیچ يك از دوزها به اندازه ایمی پرامین 30 mg/kg در کاهش بی حرکتی موثر نبودند (نمودار ۴).

بحث

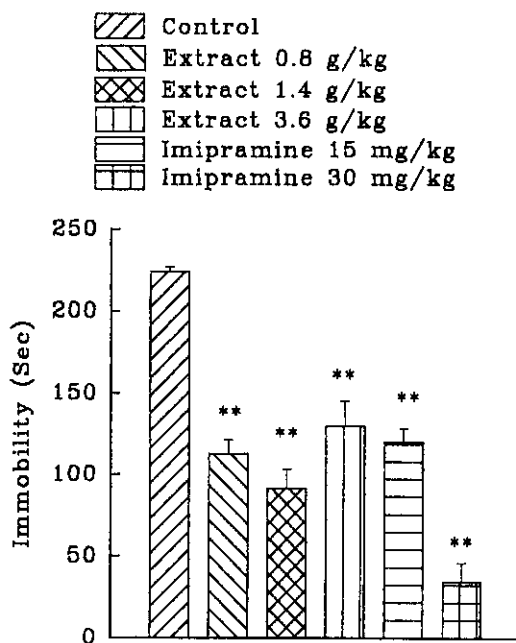
مطالعه حاضر نشان داد که عصاره آبی و الکلی گلبرگ نسبت به کلاله سمیت کمتری داشته و حیوانات دوزهای بالاتری از آن را تحمل می کنند. قسمت عمده گلبرگ زعفران را آنتوسیانین ها تشکیل می دهند (۱۰) که سمیت قابل ملاحظه ای از آن در حیوان و انسان دیده نشده است (۶، ۷).

عصاره آبی و الکلی کلاله و گلبرگ همگی دارای اثر ضد افسردگی بودند و نسبت به نرمال سالین تفاوت معنی داری نشان دادند. تحقیقات نشان داده که فلاونوئیدهای استخراج شده از گیاه *Hypericum perforatum* در تست شنا اثر ضد افسردگی بسیار خوبی دارند (۸، ۹). در آزمایشات فیتوشیمی انجام شده وجود فلاونوئیدها در کلاله و گلبرگ زعفران به اثبات رسید. بنابراین به نظر می رسد اثرات ضد افسردگی دیده شده ممکن است مربوط به ترکیبات فلاونوئیدی موجود در کلاله و گلبرگ باشد. در گزارش دیگری ترکیبات سزکویی ترین که از ریشه گیاه *Valeriana fauriei* به دست آمد، میزان بی حرکتی را در تست شنا به طور معنی داری کاهش داد (۱۵). با توجه به اینکه در کلاله زعفران مقداری ترکیبات ترپنوئیدی وجود دارد (۱۰)، می توان تصور کرد که اثرات دیده شده تا حدودی مربوط به این ترپنوئیدها نیز باشد. همچنین ترکیبات آنتوسیانین که به مقدار زیادی در گلبرگ زعفران وجود دارند (۱۰)، از لحاظ ساختمان شیمیایی جزء دسته فلاونوئیدها محسوب می شوند. بنابراین آنتوسیانین ها نیز ممکن است در بروز اثر ضد افسردگی دخیل باشند.

در هیچ یک از عصاره ها همراه با افزایش دوز، اثر ضد افسردگی به طور معنی داری افزایش نیافت. این نتیجه ممکن است به خاطر عدم یکنواختی بین زمان تهیه عصاره و بررسی اثر ضد افسردگی آن باشد. با توجه به اینکه اطلاعات قابل اعتماد درباره پایداری عصاره های گیاهی وجود ندارد، توصیه می شود عصاره ها تازه تهیه شده و فاصله زمانی یکسانی بین تهیه و بررسی اثر بخشی وجود داشته باشد. کارآبی اثر ضد افسردگی امپی پرامین با دوز ۳۰ mg/kg بیش از عصاره های



نمودار ۳. اثر عصاره آبی گلبرگ زعفران بر روی مدت زمان بی حرکتی موش سفید کوچک در تست شنا (n=۸)، میانگین \pm خطای معیار، (***) $P < 0.001$ ، (**) $P < 0.01$ ، (*) $P < 0.05$



نمودار ۴. اثر عصاره الکلی گلبرگ زعفران بر روی مدت زمان بی حرکتی موش سفید کوچک در تست شنا (n=۸)، میانگین \pm خطای معیار، (***) $P < 0.001$ ، (**) $P < 0.01$ ، (*) $P < 0.05$

6. Becci P. J., Hess F. G. and Gallo M. A., 1983, Subchronic feeding study of grape colour extract in dogs, Food. Chem. Toxicol., 21: 75-77.
7. Becci P. J., Hess F. G. and Gallo M. A., 1983, Reproduction study of grape colour extract in rats, Food. Chem. Toxicol., 71: 79-83.
8. Butterweck V., Jurgenliemk G. and Nahrstedt A., 2000, Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in swimming test, Planta. Med., 66: 3-6.
9. Daudt R., Von poser G. L. and Rates S. M., 2000, Screening for antidepressant activity of some species of *Hypericum* from south Brazil, Phytother. Res., 14: 344-346.
10. DerMarderosian A., Review of Natural Product, Facts and Comparison, Missouri., 2001, 520.
11. Detke M. C., Johnson J. and Lucki I., 1997, Acute and chronic antidepressant drug treatment in the rat forced swimming test model of depression, Exp. Clin. Psychopharmacol., 5: 107-112.
12. Evans W. C., Pharmacognosy, Bailliere Tindall Press, London, 1996, 161-462.
13. Katzung B. G., Basic and Clinical Pharmacology, Appleton and Lange, Toronto, 1998, 483-490.
14. Nair S. C., Kurumboor S. K. and Hasegawa J. H., 1995, Saffron chemoprevention in biology and medicine, Cancer Biother., 10: 257-264.
15. Oshima Y., Matsuko S. and Ohizami Y., 1995, Antidepressant principles of *Valeriana fauriei* roots, Chem. Pharm. Bull., 43: 169-170.
16. Porsolt D.R., Anton G., Blavet N. and Jalfre M., 1978, Behavioral despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments, Eur. J. Pharmacol., 47: 379-391.
17. Porsolt D. R., Martin P. and Drieu K., 1990, Effects of an extract of *Ginkgo biloba* on learned helplessness and other models of stress in rodents, Pharmacol. Biochem. Behavior., 36: 963-971.
18. Salomi M. J., Nair S. C. and Panikkar K. R., 1991, Inhibitory effects of *Nigella sativa* and *Crocus sativus* on chemical carcinogenesis in mice, Nutr. Cancer., 16: 67-72.

آبی و الکلی کلالة و گلبرگ بود. با توجه به اینکه در بعضی دوزها اثر ضد افسردگی معادل آبی پرامین ۱۵ mg/kg دیده شد احتمالاً با خالص سازی بیشتر و جدا کردن فراکسیون های شامل مقادیر بالاتری از فلاونوئید و آنتوسیانین به توان اثراقی معادل آبی پرامین ۳۰ mg/kg به دست آورد. مکانیسم اثر ضد افسردگی زعفران و ارتباط بین ترکیبات شیمیایی و بروز چنین اثری دقیق مشخص نشده است و نیاز به تحقیقات بیشتری در آینده دارد.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از سرکار خانم شیرعلی جهت تسایپ اولیه این مقاله تشکر می شود.

منابع

۱. رجحان، محمدصادق. دارو و درمان گیاهی، چاپ دوم، انتشارات علوی، تهران، ۱۳۷۴، ۸۷.
۲. زرگری، علی. گیاهان دارویی، جلد چهارم، چاپ پنجم، انتشارات دانشگاه تهران، تهران، ۱۳۷۰، ۵۷۴-۵۷۸
۳. میر حیدر، حسین. معارف گیاهی، جلد دوم، چاپ سوم، دفتر نشر فرهنگ اسلامی، تهران، ۱۳۷۴، ۳۴۱-۳۴۵
4. Abe K. and Saito H., 2000, Effects of saffron extract on learning behavior and long term potentiation, Phytothe. Res., 14: 149-152.
5. Almedia R. N., Navarro D. S. and Thomas G., 1998, Antidepressant effect of an ethanolic extract of the leaves of *Cissampelos sympodialis* in rats and mice, J. Ethnopharmacol., 63: 247-252.