



Evaluation of the Effects of Aqueous Extract of Afghan Saffron on Morphine Withdrawal Symptoms in Rats

Elham Akbari^{1*}

1. Neuroscience research center, Kavosh institute, Kabul, Afghanistan

Email: Elhamakbai500@gmail.com Phone: 0701637645

Abstract

Introduction: Substance dependence is a global health concern with significant individual, economic, social, and medical consequences. Despite their efficacy, synthetic pharmacotherapies are often associated with undesirable adverse effects. Due to their lower cost, reduced side effects, and potential therapeutic role at various stages of addiction treatment, medicinal plants have drawn increasing attention from researchers in the field of health sciences. This study aimed to investigate the effects of the aqueous extract of *Crocus sativus* (Afghan saffron) on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in morphine-dependent rats.

Materials and Methods: Morphine dependence was induced through subcutaneous administration over seven days in 13 incremental doses. The extract-treated groups received the aqueous saffron extract intraperitoneally at doses of 100, 150, and 200 mg/kg concurrently with morphine. To precipitate withdrawal syndrome, naloxone (3 mg/kg, i.p.) was administered two hours after the final morphine injection, and withdrawal behaviors were observed and recorded for 30 minutes.

Results: The findings demonstrated that the aqueous extract of *Crocus sativus* at doses of 100 and 150 mg/kg significantly attenuated withdrawal symptoms in morphine-dependent rats ($P < 0.05$).

Conclusion: The beneficial effects may be attributed to the extract's modulatory influence on the GABAergic and dopaminergic neurotransmitter systems, as well as its anti-inflammatory and antioxidant properties.

Keywords: *Crocus sativus*, Afghanistan, Morphine Dependence, Withdrawal Syndrome, Rats.



بررسی اثرات عصاره آبی زعفران افغانستان بر علایم ترک مورفین در موش‌های صحرایی

الهام اکبری^{۱*}

^۱ مرکز تحقیقات علوم اعصاب، مؤسسه‌ی کاوش، کابل، افغانستان

*ایمیل: Elhamakbai500@gmail.com تماس: ۰۷۰۱۶۳۷۶۴۵

چکیده

مقدمه: وابستگی به مواد مخدر به عنوان مشکلی جهانی، پیامدهای ناگوار فردی، اقتصادی، اجتماعی و صحتی متعددی را به دنبال دارد. دواهای کیمیاوی با تمام کارایی خود، دارای عوارض جانبی ناگوار و نامطلوبی هستند. نباتات طبی به دلیل داشتن هزینه و عوارض جانبی کم‌تر و نیز تأثیرگذاری بر مراحل مختلف تداوی وابستگی، توجه محققان عرصه سلامت را به خود جلب کرده‌اند. در این مطالعه، اثر عصاره آبی زعفران افغانستان بر سندرم ترک در موش‌های وابسته به مورفین بررسی گردید.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق، وابستگی با تزریق زیرپوستی مورفین به مدت ۷ روز در ۱۳ نوبت در گروه‌های دریافت‌کننده مورفین و عصاره ایجاد شد. گروه‌های عصاره، هم‌زمان با مورفین، عصاره آبی زعفران را با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی دریافت کردند. به منظور ایجاد سندرم ترک در موش‌های وابسته به مورفین، نالوکسان (با دوز ۳ میلی گرم/کیلوگرم به صورت داخل صفاقی) دو ساعت پس از آخرین تزریق مورفین، تزریق گردید. سپس سندرم ترک به مدت ۳۰ دقیقه در موش‌ها مشاهده و ثبت شد.

نتایج: نتایج به دست آمده نشان دادند که عصاره آبی زعفران افغانستان در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی گرم/کیلوگرم سبب کاهش معنی‌دار سندرم ترک در موش‌های وابسته به مورفین می‌گردد ($P < 0.05$).

بحث: به نظر می‌رسد که اثرات مثبت عصاره آبی زعفران در کاهش سندرم ترک، ناشی از تأثیر آن بر سیستم‌های نیوروترانسمیتری گاباآرژیک و دوپامینرژیک و نیز اثرات ضد التهابی و ضد اکسیداتی آن باشد.

واژه‌های کلید: زعفران، افغانستان، مورفین، سندرم ترک، موش صحرایی.

۱. مقدمه

در گزارش‌های متعددی آمده که زعفران و سیستم اپیویدی دارای تأثیرات متقابل بر یکدیگر می‌باشند (۱، ۲). مطالعات نشان داده‌اند که زعفران و ترکیبات آن می‌تواند تغییر رفتار ناشی از مورفین را مهار نمایند. هم‌چنین، در مناطق مختلف جغرافیایی ثابت شده که عصاره زعفران، سندرم ترک را در موش‌های نروابسته به مورفین بهبود می‌بخشد (۲). با این حال، هیچ مطالعه‌ای در مورد تأثیر زعفران بومی افغانستان بر سندرم ترک موش‌های وابسته به مورفین صورت نگرفته است. هدف از مطالعه حاضر، بررسی اثر زعفران افغانستان بر سندرم ترک مورفین می‌باشد. این مطالعه، اثر عصاره آبی زعفران افغانستان را با استفاده از روش مطالعه رفتاری بر سندرم ترک در موش‌های ماده صحرایی وابسته به مورفین بررسی می‌نماید.

وابستگی به اپیویدها یک مشکل جهانی است که پیامدهای ناگوار فردی، اجتماعی، اقتصادی و صحتی متعددی را به دنبال دارد (۳). این مشکل، به صورت اختلال مزمنی تعریف می‌شود که ویژگی آن تظاهر علائم فیزیکی و روان‌شناختی نظیر میل شدید و مصرف نامحدود دوا می‌باشد (۱). اپیویدها دواهای مهم و ضروری در کنترل درد هستند که به طور گسترده‌ای برای کنترل درد حاد و شدید ناشی از تروما، سوختگی‌های وسیع یا جراحی و هم‌چنین درد مزمن استفاده می‌شوند (۳-۵).

مورفین، اپیویدی مهم و یکی از ۴۰ الکالوئید اصلی تریاک است که در سال ۱۸۰۵ میلادی از گیاه

تریاک به دست آمد. این ماده، به عنوان یکی از قویترین ترکیبات ضد درد تریاک شناخته شده و استفاده کلینیکی گسترده‌ای دارد (۴، ۶). با این حال، استفاده طولانی مدت یا مکرر مورفین منجر به کاهش اثر ضد درد و ایجاد مقاومت در برابر آن شده و نیاز به افزایش دوز دوا بیش تر می‌شود. این مقاومت، به تدریج افزایش یافته و سرانجام تحمل و وابستگی به دوا ایجاد خواهد شد (۵، ۷). سندرم ترک در انسان و حیوان وابسته به مورفین، به دنبال قطع مصرف دوا نمایان می‌گردد که به صورت علائمی نظیر کج خلقی، اضطراب و نگرانی، بیم و هراس، درد عضلانی و شکمی، ناامیدی و دل‌سردی، دل‌بدی، اسهال، یبوست، سرکوب سیستم تنفسی، خمیازه‌های مکرر، اشکریزی مکرر، تکرر عرق، بی‌خوابی، ضعف عمومی بدن، عطسه کردن، آبریزش بینی تظاهر می‌نماید (۸، ۹).

گرچه کارشیوه‌های مالیکولی وابستگی به مورفین و سندرم ترک تا هنوز به طور کامل شناخته نشده، ولی احتمال می‌رود که پیامدهای رفتاری و عصبی - کیمیاوی آن‌ها ناشی از سازگاری چندین سیستم نیوروترانسمیتری در نواحی متعدد مغز به دنبال تجویز مکرر باشند (۱۰). ارتباط نزدیکی بین این سیستم‌های نیوروترانسمیتری وجود داشته، تغییر در یکی از آن‌ها موجب تغییر در سایر سیستم‌ها نیز خواهد شد (۱۱). به خوبی دانسته شده که تجویز مورفین از طریق

نیورون‌های گابارژیک منشأ گرفته از هسته سرخ استریاترمینالیس تنظیم می‌گردد (۱۲-۱۷).

به‌علاوه سیستم‌های دوپامینرژیک و گابارژیک، سیستم‌های نیوروترانسمیتري متعدد دیگری نظیر سیستم‌های کولینرژیک، سروتونرژیک و نورادرینرژیک نیز نقش مهمی را در ایجاد سندرم ترک ایفا می‌نمایند (۱۰، ۱۱). از جمله، پیشنهاد شده که تغییر در نیوروبیولوژی نیورون‌های نورادرینرژیک در لوکوس سرولئوس^۷ در ایجاد علایم ترک دخیل هستند. به‌طوری که قطع اپیویدها سبب افزایش آزادسازی نوراپی نفرین به‌وسیله لوکوس سرولئوس می‌شود (۳). هم‌چنین، آزادسازی نوراپی نفرین در هسته اکمبنس به‌وسیله گیرنده‌های تحریکی و مهاري دوپامینرژیک تنظیم می‌گردد (۱۸).

تداوی وابستگی به مورفین از گذشته‌ها بدین‌سو به‌عنوان مشکلی جدی مطرح بوده است. تظاهر سندرم ترک و عدم تداوی کامل، یکی از مشکلات شایع می‌باشد. گرچه ادویه برای تداوی و پیشگیری از وابستگی و سندرم ترک استفاده می‌شوند، ولی مطالعات چند دهه اخیر نشان داده‌اند که دواهای صنعتی مورد استفاده برای تداوی این سندرم، عوارض جانبی ناگوار و نامطلوبی را به‌همراه داشته و مؤثریت چندانی ندارند. از سویی دیگر، خوشبختانه نباتات طبی دارای مواد مؤثره طبیعی می‌باشند که می‌توانند با

گیرنده‌های اپیویدی میو^۱ در نیورون‌های گابارژیک ماده‌ی سیاه^۲ و ناحیه‌ی تگمتال شکمی^۳، بر نیورون‌های دوپامینی تأثیر می‌گذارد. اگونیست‌های گیرنده‌های میو، آزادسازی گابا را مهار نموده و لذا سبب برداشت اثرات مهاري از نیورون‌های دوپامینرژیک می‌شوند، بدین‌وسیله فعالیت نیورون‌های دوپامینرژیک افزایش می‌یابد. شواهد نشان داده‌اند که اثرات تقویتی اپیویدها در اصل به‌وسیله گیرنده‌های گابا B در نیورون‌های دوپامینرژیک وساطت می‌شود. نیورون‌های دوپامینی ناحیه تگمتال شکمی، نقشی مرکزی را در بروز رفتارهای برانگیختگی، فرآیند ذاتی ترک و ایجاد وابستگی ایفا می‌نمایند. در مقابل، فعالیت حجرات دوپامینی ناحیه تگمتال شکمی طی ترک مورفین، به‌طور چشم‌گیری کم می‌شود. چنین پیشنهاد شده که افزایش آزادسازی و فعالیت گابا پس از ترک مورفین، سبب مهار فعالیت حجرات دوپامینی و کاهش دوپامین در هسته اکمبنس^۴ می‌گردد. این اعمال که در نیورون‌های بینابینی گابا رخ می‌دهند، در ایجاد علایم رفتاری ترک مورفین دخیل‌اند. به‌علاوه سیستم گابارژیک ناحیه تگمتال شکمی، سیستم گابارژیک کمپلکس امیگدالوئید^۵ نیز در ترک مورفین دخیل است، زیرا هسته مرکزی امیگدال^۶ که جنبه‌های برانگیختگی ترک مورفین را وساطت می‌کند، به‌وسیله

^۵ Amigdaloid complex

^۶ Central nucleus of amigdala

^۷ Locus coeruleus

^۱ μ -opioid receptor

^۲ Substantia nigra

^۳ Ventral tegmental area

^۴ Nucleus accumbens

هزینه و عوارض جانبی کمتر، بر فعالیت‌های بیوشیمیایی بدن، از جمله بر سندرم ترک و تداوی وابستگی تأثیر بگذارند (۱۹).

یکی از نباتات طبی مفید و معروف، گیاه زعفران با نام علمی *Crocus sativus L.* می‌باشد. این گیاه از خانواده Iridaceae بوده و جنس *Crocus*، حدود ۹۰ گونه دارد. این گیاه علفی و چند ساله که به‌عنوان پادشاه دواهای جهان نیز معروف است، بومی کشورهای جنوب غربی آسیا می‌باشد (۲۰-۲۲). امروزه، این گیاه به‌طور عمده در کشورهای افغانستان، ایران، یونان، اسپانیا، ایتالیا و هند یافت می‌شود (۲۲، ۲۳). زعفران دارای سه ترکیب کلیدی شناخته‌شده، از جمله کروسین^۱، پیکروکروسین^۲ و سافرانال^۳ می‌باشد. گزارش شده است که این سه جزء، به‌ترتیب مسوول رنگ، طعم و عطر زعفران هستند (۲۳). سایر ترکیبات کیمیای زعفران شامل بیش از ۱۵۰ نوع روغن فرار، روغن‌های غیرفرار از جمله کاروتنوئیدها، لکوپین و کاروتین‌های الفا و بیتا و ترکیبات معطر می‌باشند. همچنین، ویتامین‌هایی نظیر ریوفلاوین و تیامین نیز در ترکیب زعفران وجود دارند (۲۲).

اثرات فارماکولوژیکی زعفران شامل کاهش قند خون (۲۴، ۲۵)، کاهش چربی و کلسترول خون (۲۶)، ضد میکروب (۲۷، ۲۸)، دیورتیک (۲۹)، ضد افسردگی (۳۰)، جلوگیری از تخریب حافظه (۳۱)، ضد درد (۳۲)، ضد التهاب و ضد اکسیدانت (۳۳) و

کاهش سندرم ترک مورفین (۲) می‌باشند. مطالعات متعددی در مناطق مختلف جغرافیایی در مورد تأثیر عصاره زعفران و ترکیبات جداشده از آن بر جنبه‌های مختلف وابستگی به مورفین صورت گرفته است، این مطالعات نشان داده‌اند که عصاره‌ی گیاه زعفران و نیز ترکیب کروسین آن در پیش‌گیری از سندرم ترک در موش‌های وابسته به مورفین و کاهش درد مؤثراند (۲، ۳۴). با این حال، تحقیقات نشان داده‌اند که شرایط آب و هوایی و نیز موقعیت جغرافیایی نباتات بر مقدار ترکیبات و در نتیجه بر کیفیت تأثیر مؤثر است (۳۵، ۳۶)، لذا سوال پیش می‌آید که زعفران افغانستان با وجود تأثیرپذیری از شرایط آب و هوایی، چه تأثیری بر سندرم ترک در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین خواهد داشت. تحقیق حاضر به حل این پرسش می‌پردازد، به‌طوری‌که اثر عصاره آبی زعفران افغانستان را با استفاده از روش رفتاری شمارش علائم ترک ناشی از تزریق نالوکسان در موش‌های ماده‌ی صحرایی بررسی می‌نماید.

۲. مواد و روش‌ها

مواد مورد نیاز و روش انجام این مطالعه به شرح زیر است:

۲-۱. مواد

مواد و وسایل مورد نیاز برای این مطالعه شامل مورفین‌هایدروکلوراید (idol ilaç Dolum San. and

^۳ Safranal

^۱ Crucin

^۲ Picrocruin

وابستگی، پروتکل انجام آزمایش و تحلیل آماری پرداخته می‌شود.

۲-۲-۱. گروه‌های آزمایشی: موش‌ها به‌طور تصادفی به پنج گروه که هر گروه شامل شش سر موش بود، تقسیم شدند. گروه‌های اول و دوم به‌عنوان گروه‌های کنترل، به‌ترتیب نرمال‌سالین و مورفین دریافت نمودند. گروه‌های باقی‌مانده با دریافت دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره به‌صورت داخل‌صفافی، به‌ترتیب گروه‌های سوم تا پنجم را تشکیل دادند.

۲-۲-۲. روش عصاره‌گیری: گیاه زعفران به‌صورت تازه از منطقه خواجه سربر ولایت هرات جمع‌آوری گردید. سپس به دور از نور آفتاب در محیط لابراتوار خشک شده و پودر گردید. عصاره آبی گیاه زعفران با روش خیساندن آماده شد. به‌طوری که ۴ گرم از پودر کلاله زعفران در ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر خیسانده شده و به‌مدت ۷۲ ساعت در دمای اتاق نگهداری گردید. سپس قسمت سوپرناتانت با استفاده از سنتریفیوژ جدا شد. در این مرحله، محلول از فیلتر واتمن عبور داده شده و در ظرف‌های شیشه‌ساعت در آون با دمای ۵۰ درجه سانتی‌گرید گذاشته شد تا آب آن تبخیر گردد. عصاره‌ی به‌دست‌آمده، عصاره‌ی تام مورد استفاده در تحقیق بود (۲، ۳۸).

۲-۲-۳. ایجاد وابستگی به مورفین: مورفین-هایدروکلوراید به‌مدت هفت روز با

نالوکسان‌هیدرو- (Tic. A.S. Topkapı-iSTANBUL کلوراید (toliddaru Pharma. Co. Tehran-Iran)، زعفران (خواجه‌سربر هرات) و سلندر شیشه‌یی می‌باشند.

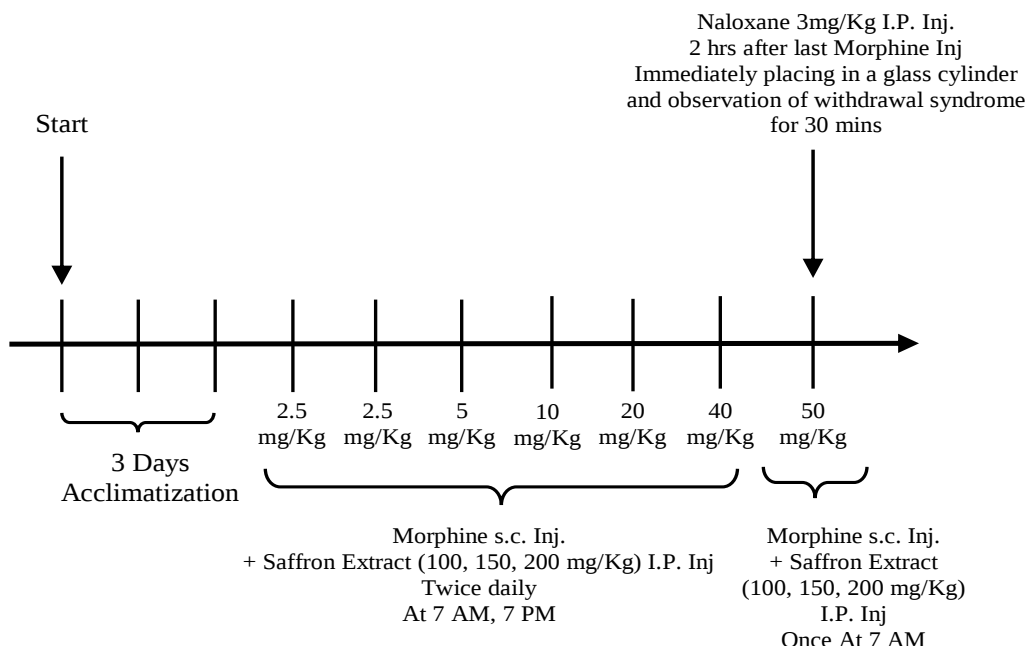
۲-۱-۱. حیوانات: در این مطالعه از موش‌های ماده صحرایی سفید نژاد اسپراگ با وزن تقریبی ۱۵۰-۲۰۰ گرم استفاده شد. ۳۰ سر موش از میان جمعیت موش‌های سالم موجود در حیوان‌خانه مرکز پژوهش و فن‌آوری دانشگاه خاتم‌النبین^(ص) انتخاب گردیدند. تمامی موش‌ها در قفسه‌های مخصوص پلاکسی‌گلاس با ابعاد ۳۰×۴۰×۱۵ سانتی‌متر و در محیطی با شرایط کنترل‌شده در دوره‌های تکراری ۱۲ ساعت روشنی و ۱۲ ساعت تاریکی (چرخه روشنی ساعت ۷ صبح شروع می‌شود)، با دمای تقریبی 23 ± 2 درجه سانتی-گرید نگهداری شده و از نظر دسترسی به آب و غذا محدودیتی نداشتند. نگهداری حیوانات و رفتار با آن‌ها مطابق با راهنمای اخلاقی ذکرشده در ویرایش هشتم کتاب راهنمای انستیتوت ملی سلامت^۱ (NIH) برای نگهداری و استفاده از حیوانات تجربی^۲ (۳۷) و زیر نظر کمیته اخلاق دانشگاه خاتم‌النبین^(ص) صورت گرفت. تمام حیوانات با احتیاط همدل گردیدند تا اعمال استرس ناخواسته به کم‌ترین حد برسد.

۲-۲. روش‌ها

زیر عنوان روش‌ها به گروه‌های آزمایشی، روش عصاره‌گیری، ایجاد وابستگی، سنجش سندرم ترک

^۲ National Institutes of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals, 8th edition, 2011

^۱ National Institutes of Health



صفاقی تزریق گردید. سپس هر موش بلافاصله به مدت ۳۰ دقیقه در سیلندر شیشه‌یی قرار داده شد و علائمی نظیر پرش، ایستادن روی دو پا، دندان‌قروچه، افتادگی پلک و نظایر آن در موش‌ها مشاهده گردیدند. علائم کمی (ایستادن روی دو پا و دندان قروچه) شمارش شده و علامت کیفی (افتادگی پلک) (نمره‌دهی شد (۴۰).

دوزهای افزایشی به موش‌ها تزریق شد. موش‌ها در روزهای اول تا ششم به ترتیب ۲/۵، ۲/۵، ۵، ۱۰، ۲۰ و ۴۰ میلی گرم/کیلوگرم روزانه دو بار و در روز هفتم تک دوز ۵۰ میلی گرم/کیلوگرم مورفین را به صورت زیرپوستی دریافت نمودند (۳۹).
۲-۲-۴. ایجاد و سنجش سندرم ترک مورفین: دو ساعت پس از تزریق آخرین دوز مورفین، به همه گروه‌ها (به جز گروه دریافت‌کننده نرمال‌سالین)، نالوکسان با دوز ۳ میلی گرم/کیلوگرم به صورت داخل

شکل ۱. تایم‌لاین آزمایش گروه‌های دریافت‌کننده عصاره‌ی آبی زعفران با دوزهای ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم

One-Way ANOVA استفاده گردید. در تمام آزمایشات انجام‌شده توسط این نرم‌افزار، سطح معنی‌داری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد.

۳. نتایج

۲-۲-۶. تحلیل آماری: تحلیل آماری اطلاعات به دست آمده توسط نرم‌افزار گراف‌پدپریزم^۱ (ورژن ۶/۰۷) انجام شد. برای مقایسه داده‌های به دست آمده از دو گروه، از آزمون آماری T-test و برای مقایسه داده‌های به دست آمده از چند گروه، از آزمون آماری

^۱ Graph pad Prism 6.07

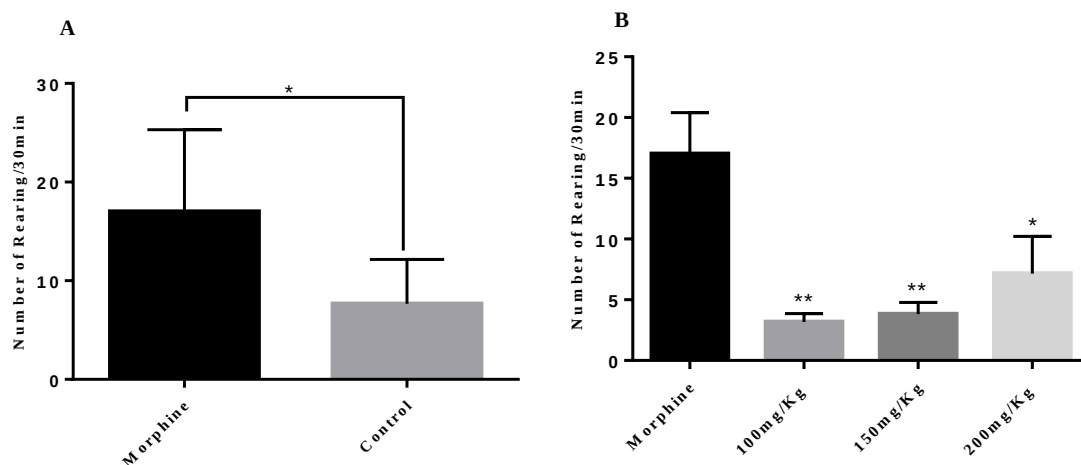
۳-۱. اثرات زعفران بر ایستادن روی دو پا: چنانچه در شکل ۲A نشان داده شده، در مقایسه داده‌های به‌دست آمده از گروه‌های کنترل و مورفین از نظر تعداد ایستادن روی دو پا، گروه مورفین نشان از افزایش تعداد این علامت به‌دنبال تزریق نالوکسان دارد. میانگین تعداد ایستادن روی دو پا در گروه کنترل و مورفین، به‌ترتیب ۷/۶۶۷ و ۱۷/۰۰ به‌دست آمد که از نگاه آماری معنی‌دار است. به‌همین ترتیب، چنانچه در شکل ۲B دیده می‌شود، تعداد ایستادن روی دو پا در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در مقایسه با گروه مورفین تا حد زیادی کاهش یافته است. میانگین تعداد این علامت در گروه مورفین، ۱۷/۰۰ و در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره به‌ترتیب ۰/۵۰۰۰، ۰/۳۳۳۳ و ۰/۶۶۶۷ می‌باشد. از نظر آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه، تفاوت بین داده‌های به‌دست‌آمده از گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره در مقایسه با گروه مورفین، اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P\text{-value} = ۰/۰۱۲۱$). دیده می‌شود که تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره، وجود دارد ($P < ۰/۰۵$). با این حال، دیده می‌شود که تفاوت بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره با وجود داشتن تفاوت ظاهری، از نظر آماری معنی‌داری نمی‌باشد ($P > ۰/۰۵$). تفاوت میان میانگین داده‌های به‌دست‌آمده از گروه مورفین و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره، به‌ترتیب ۱۳/۸۳، ۱۳/۱۷ و ۹/۸۳۳ می‌باشد.

۳-۲. اثرات زعفران بر تعداد دندان‌قروچه: چنانچه در شکل ۳A نشان داده شده، در مقایسه داده‌های به‌دست آمده از گروه‌های کنترل و مورفین از نظر تعداد دندان‌قروچه، گروه مورفین نشان از افزایش تعداد این علامت به‌دنبال تزریق نالوکسان دارد. میانگین تعداد

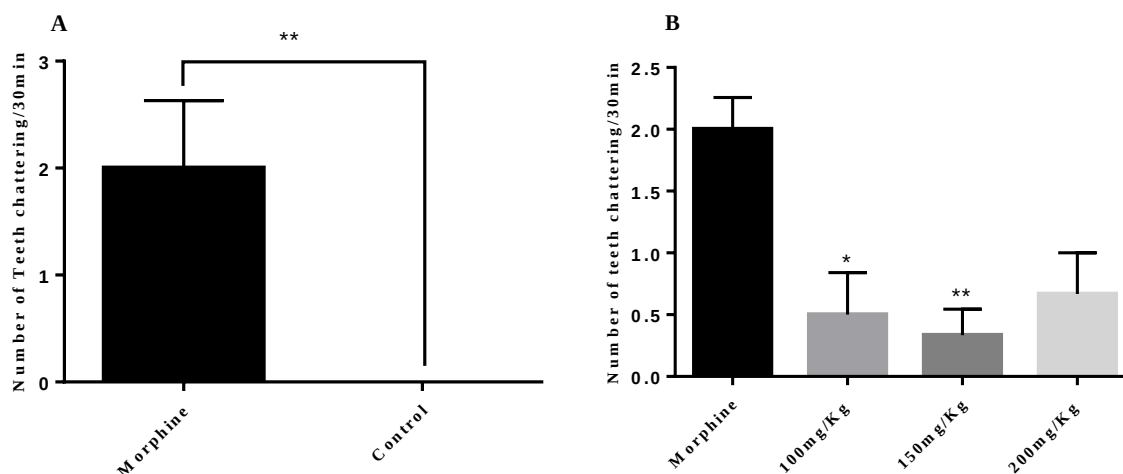
دندان‌قروچه در گروه کنترل و مورفین، به‌ترتیب ۰/۰ و ۲/۰۰۰ به‌دست آمد. تفاوت میان داده‌های به‌دست‌آمده از این دو گروه از نظر آزمون آماری T معنی‌دار است ($P\text{-value} = ۰/۰۰۲۲$). به‌همین ترتیب، چنانچه در شکل ۳B دیده می‌شود، تعداد دندان‌قروچه در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در مقایسه با گروه مورفین تا حد زیادی کاهش یافته است. میانگین تعداد این علامت در گروه مورفین، ۲/۰۰۰ و در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره به‌ترتیب ۰/۵۰۰۰، ۰/۳۳۳۳ و ۰/۶۶۶۷ می‌باشد. از نظر آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه، تفاوت بین داده‌های به‌دست‌آمده از گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره در مقایسه با گروه مورفین، اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P\text{-value} = ۰/۰۱۲۱$). دیده می‌شود که تفاوت معنی‌دار بین گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره، وجود دارد ($P < ۰/۰۵$). با این حال، دیده می‌شود که تفاوت بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره با وجود داشتن تفاوت ظاهری، از نظر آماری معنی‌داری نمی‌باشد ($P > ۰/۰۵$). تفاوت میان میانگین داده‌های به‌دست‌آمده از گروه مورفین و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره، به‌ترتیب ۱۰/۲۵، ۱۱/۲۵ و ۸/۸۳۳ به‌دست آمد.

افزایش وقوع این علامت به دنبال تزریق نالوکسان دارد. میانگین میزان وقوع افتادگی پلک

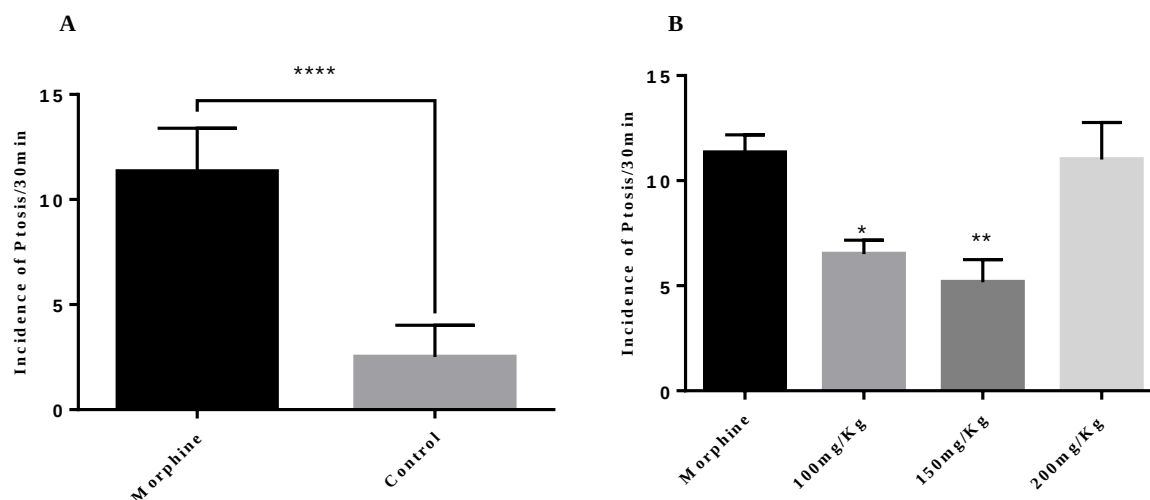
۳-۳. اثرات زعفران میزان وقوع افتادگی پلک: چنانچه در شکل ۴A نشان داده شده، در مقایسه داده-های به دست آمده از گروه های کنترل و مورفین از نظر میزان وقوع افتادگی پلک، گروه مورفین نشان از



شکل ۲. اثرات زعفران بر تعداد ایستادن روی دو پا A. در مقایسه داده های به دست آمده از گروه کنترل و گروه مورفین مشاهده می شود که تعداد ایستادن روی دو پا در گروه مورفین نسبت به گروه کنترل بیش تر است، به طوری که تفاوت بین آنها از نظر آماری معنی دار می باشد (P<۰/۰۵). A. مقایسه داده های به دست آمده از گروه کنترل و گروه های دریافت کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره نشان می دهد که تعداد ایستادن روی پا در گروه های دریافت کننده عصاره نسبت به گروه مورفین به طور معنی داری کاهش یافته است (P<۰/۰۵).



شکل ۳. اثرات زعفران بر تعداد دندان قروچه. A. در مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه مورفین مشاهده می‌شود که تعداد دندان قروچه در گروه مورفین نسبت به گروه کنترل بیش‌تر است، به‌طوری که تفاوت بین آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). A. مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره نشان می‌دهد که تعداد دندان قروچه در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه مورفین به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P < 0.05$).



شکل ۴. اثرات زعفران بر میزان وقوع افتادگی پلک. A. در مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه مورفین مشاهده می‌شود که میزان وقوع افتادگی پلک در گروه مورفین نسبت به گروه کنترل بیش‌تر است، به‌طوری که تفاوت بین آن‌ها از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). A. مقایسه داده‌های به‌دست‌آمده از گروه کنترل و گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره نشان می‌دهد که میزان افتادگی پلک در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره نسبت به گروه مورفین به‌طور معنی‌داری کاهش یافته است ($P < 0.05$).

نظر آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه، داده‌های به‌دست‌آمده از کل گروه‌های دریافت‌کننده عصاره به‌طور کلی تفاوت معنی‌داری با گروه مورفین دارند ($P\text{-value} = 0.0019$). تفاوت بین داده‌های به‌دست‌آمده از گروه مورفین و هر کدام از گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره، به‌ترتیب یک ستاره و دو ستاره از نظر آماری معنی‌دار می‌باشد ($P < 0.05$). با این‌حال، دیده می‌شود که تفاوت بین گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره به سطح معنی‌داری نرسیده

در گروه کنترل و مورفین، به‌ترتیب ۲/۵۰۰۰ و ۱۱/۳۳ به‌دست‌آمد. تفاوت میان داده‌های به‌دست‌آمده از این دو گروه از نظر آزمون آماری T معنی‌دار می‌باشد ($P\text{-value} = 0.0001$). به‌همین ترتیب، چنانچه در شکل ۴B دیده می‌شود، میزان وقوع افتادگی پلک در گروه‌های دریافت‌کننده عصاره در مقایسه با گروه مورفین تا حد زیادی کاهش یافته است. میانگین میزان وقوع این علامت در گروه مورفین، ۱۱/۳۳ و در گروه‌های دریافت‌کننده ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم عصاره به‌ترتیب ۶/۵۰۰، ۵/۱۶۷ و ۱۱/۰۰ می‌باشد. از

است ($P > 0/05$). تفاوت میان میانگین داده‌های به-
دست‌آمده از گروه مورفین و گروه‌های دریافت‌کننده
۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی گرم/کیلوگرم عصاره، به ترتیب
۴/۸۳۳، ۶/۱۶۷ و ۰/۳۳۳۳ می‌باشد.

۴. بحث

تداوی وابستگی به اپیویدها یک عمل برنامه‌ریزی‌شده است (۱۹). ایجاد استراتژی‌های درمانی، نقشی اساسی را در کاهش خطرات ناشی از افراد و جامعه‌ی وابسته به اپیوید ایفا می‌نماید (۴۱). رویکردهای متعددی از جمله رویکرد فارموکولوژیک، سایکولوژیک و اجتماعی برای درمان وابستگی ایجاد شده‌اند (۱۹). یکی از روش‌های پیشنهاد شده، تداوی فارموکولوژیک سندرم ترک است که برای ایجاد یک سیستم مؤثر و جامع ضروری می‌باشد (۴۱). نباتات زیادی وجود دارند که به دلیل داشتن ترکیبات مهم و مؤثر، دارای تأثیرات فارموکولوژیک در تداوی سندرم ترک وابسته به مورفین هستند (۱۹). زعفران، یکی از نباتاتی است که دارای خواص فراوان بوده و تأثیرات زیادی بر سیستم‌های مختلف بدن دارد. در این مطالعه، اثر تزریق داخل صفاقی عصاره آبی زعفران افغانستان بر سندرم ترک در موش‌های صحرایی وابسته به مورفین بررسی شد. نتایج حاکی از آن هستند که عصاره آبی زعفران، سندرم ترک را نسبت به گروه مورفین به‌طور معنی‌داری کاهش داده است. با این حال، این تأثیر با افزایش دوز عصاره افزایش نیافت. به‌طوری‌که عصاره آبی زعفران در دوزهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم/کیلوگرم سبب کاهش علایم ترک گردید، ولی این تأثیر کاهندگی در دوز ۲۰۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کم‌تر شد.

چنانچه حسین‌زاده و همکاران نیز نشان دادند که عصاره آبی زعفران و نیز ترکیب کروسین آن سبب کاهش سندرم ترک می‌گردد و مطالعه مذکور مؤید نتایج مطالعه حاضر است (۲). با این حال، تفاوتی در دوز مؤثر عصاره آبی زعفران ایران و زعفران افغانستان دیده می‌شود. عصاره آبی زعفران ایران، سندرم ترک را در موش‌های سوری وابسته به مورفین در دوزهای ۸۰، ۱۶۰ و ۳۲۰ میلی‌گرم/کیلوگرم کاهش داده و این تأثیر کاهندگی با افزایش دوز، بیش‌تر شد (۲). به‌نظر می‌رسد که این تفاوت در دوز مؤثر، ناشی از ترکیب متفاوت زعفران افغانستان باشد. از آن‌جا که ترکیب ساfranال زعفران سبب تشدید سندرم ترک در موش‌های وابسته به مورفین می‌گردد (۲)، احتمال می‌رود که مقدار این ترکیب در زعفران افغانستان بیش‌تر باشد و اثر آن در دوزهای بالاتر متباز شده، از اثر کاهندگی عصاره‌ی آبی زعفران بر سندرم ترک بکاهد.

مطالعاتی در مورد نقش سیستم‌های نیوروترانسسمیتری در کاهش سندرم ترک صورت گرفته است. چنانچه مطالعاتی نشان داده‌اند که آگونیست‌های گیرنده‌های گابا^۱ با فعال‌نمودن گیرنده‌های گابا A و گابا B در نیورون‌های بینایی پیش-ساینپسی گاباژژیک، آزادسازی گابا را کاهش می‌دهند، بدین وسیله نیورون‌های دوپامینرژیک از مهار گابا آزاد شده و آزادسازی دوپامین در هسته اکمبنس و نیز فعالیت نیورونی گاباژژیک افزایش می‌یابد. همچنین، فعال‌شدن گیرنده‌های گابا علایم ترک

^۱ GABA receptors agonists

مورفین را با افزایش سطح دوپامین مرکزی کم می‌کند. در نتیجه، چنین پیشنهاد می‌شود که فعال‌سازی گیرنده‌های گابا ممکن است علائم ترک مورفین را از طریق افزایش آزادسازی دوپامین در هسته‌ی اکمبنس کاهش دهد (۱۷).

به‌علاوه، در مطالعه الکتروفیزیولوژیک برش‌های مغزی موش‌های صحرایی، نشان داده شد که دوپامین از طریق تأثیر بر گیرنده‌های دوپامینی، در تعدیل آزادسازی نوراپی‌نفرین در هسته اکمبنس نقش دارد. استطلاات دوپامینی از ناحیه تگمنتال شکمی به هسته اکمبنس وارد شده‌اند. همچنین، بخش خارجی هسته اکمبنس، استطلاات متراکمی حاوی نوراپی‌نفرین را که عمدتاً از هسته مسیر منزوی^۱ منشأ می‌گیرند، دریافت می‌کند. گیرنده‌های دوپامینرژیک تعدیل‌کننده آزادسازی نوراپی‌نفرین، احتمالاً در پایانه‌های عصبی نیورون‌هایی که از هسته مسیر منزوی منشأ می‌گیرند، وجود دارند. بنابراین، دوپامین ممکن است به‌طور غیرمستقیم از طریق تعدیل انتقال عصبی تحریکی یا مهار بر آزادسازی نوراپی‌نفرین از هسته اکمبنس تأثیر بگذارد. چنانچه نشان داده شده که فعال‌شدن گیرنده‌ی D1 سبب تحریک آزادسازی نوراپی‌نفرین و فعال‌شدن گیرنده‌ی D2 موجب مهار آزادسازی آن می‌گردد. به‌همین دلیل، ارتباط بین سیستم‌های نوراپی‌نفرین و دوپامینرژیک هسته اکمبنس ممکن است در برخی پدیده‌ها نظیر سندرم ترک اپیوئیدها دخیل باشد. چنانچه نشان داده شده که تزریق

اگونیست‌های گیرنده‌ی D2 در بخش خارجی هسته اکمبنس، سندرم ترک ناشی از نالوکسان را مهار و تزریق اگونیست‌های گیرنده‌ی D1 سندرم ترک را تشدید می‌کند. با توجه به این‌که افزایش فعالیت نوراپی‌نفرین با ترک اپیوئیدها همراه است، احتمالاً اثرات ادویه دوپامینرژیک بر ترک اپیوئیدها به‌دلیل تعدیل آزادسازی نوراپی‌نفرین باشد (۱۸).

از آن‌جا که مطالعه مالیکولی در مورد اثر زعفران بر سندرم ترک موش‌های وابسته به مورفین صورت نگرفته، نمی‌توان دلیل قطعی برای این اثر ارایه نمود. با این‌حال، در مطالعه مروری خزدیر و همکاران در مورد اثرات زعفران و اجزای آن بر سیستم عصبی، چنین نتیجه‌گیری شده که کاهش علائم ترک بر اثر زعفران احتمالاً ناشی از ارتباط متقابل بین سیستم گابا، زعفران و سیستم اپیوئیدی باشد (۴۲). به‌عبارتی، چنین احتمال می‌رود که زعفران از طریق تأثیرگذاری بر سیستم گابارژیک و گیرنده‌های گابا سبب کاهش سندرم ترک شده باشد. با قرارداد مطالب فوق در کنار یکدیگر، می‌توان چنین برداشت نمود که عصاره آبی زعفران به‌طور غیرمستقیم از طریق سیستم گابارژیک عمل نموده، آزادسازی گابا را کاهش می‌دهد. در نتیجه، از طریق سیستم گابارژیک موجب افزایش آزادسازی دوپامین در هسته اکمبنس می‌گردد. به‌علاوه، چنانچه اتحادی و همکاران در مطالعه‌ای نشان دادند، عصاره آبی زعفران خود همچنین می‌تواند مستقیماً سبب افزایش غلظت دوپامین در مغز گردد

^۱ Nucleus tractus solitarius

تأثیرگذاری عصاره و ترکیبات آن بر فرآیندهای التهاب و استرس اکسیداتیو باشد.

۵. نتیجه گیری

به طور خلاصه، می توان چنین برداشت نمود که عصاره آبی زعفران افغانستان در دوزهای پایین تر موجب کاهش سندرم ترک در موش های صحرایی وابسته به مورفین می شود. کاهش اثر آن در دوزهای بالاتر ممکن است به دلیل بیش تر بودن ترکیب ساfranال در زعفران این منطقه باشد. به نظر می رسد که اثرات مثبت عصاره آبی زعفران در کاهش سندرم ترک، ناشی از تأثیر آن بر سیستم های نیوروترانسمیتری گاباژریک و دوپامینرژیک و نیز اثرات ضد التهابی و ضد اکسیدانتی آن باشد.

۶. پیشنهادات

با توجه به نتیجه به دست آمده از این مطالعه، پیشنهاد می گردد میزان و نوع ترکیبات زعفران بومی افغانستان مشخص شده، مطالعات رفتاری بیش تری روی ترکیبات جدا شده از زعفران افغانستان بر سندرم ترک و نیز مطالعات الکتروفیزیولوژیک در مورد کارشیوه های تأثیر این گیاه بر سندرم ترک صورت گیرد.

(۴۳). لذا غلظت بالای دوپامین در هسته اکمبنس چه به طور مستقیم یا چه از طریق سیستم نیوروترانسمیتری گابا، توسط گیرنده دوپامینی این ناحیه بر آزادسازی نوراپی نفرین تأثیر می گذارد. با توجه به این که دوپامین آزاد شده از نیورون های هسته اکمبنس ترجیحا به علت موقعیت متفاوت گیرنده ها در پایانه های عصبی، با گیرنده های D2 واکنش می دهد (۱۸)، احتمال می رود که دوپامین از طریق گیرنده های D2 آزادسازی نوراپی نفرین را کاهش داده و لذا موجب کاهش سندرم ترک گردد.

به علاوه، مطالعات نشان داده اند که فرآیندهای التهابی و استرس اکسیداتیو تا حد زیادی طی ترک مورفین تشدید می یابند. هم چنین، نباتات طبی زیادی به دلیل داشتن نقش ضد التهابی و یا ضد اکسیدانتی و با تأثیرگذاری روی فرآیندهای التهاب و استرس اکسیداتیو موجب کاهش سندرم ترک می گردند (۵، ۱۹). از سویی دیگر، نشان داده شده که عصاره زعفران و ترکیبات آن دارای اثرات ضد التهابی و نیز ضد اکسیدانتی می باشند (۲۵، ۳۳، ۴۴). بنابراین، احتمال می رود که تأثیر کاهندگی عصاره آبی زعفران بر سندرم ترک در موش های صحرایی وابسته به مورفین، هم چنین ناشی از

References:

1. Yaribeygi H, Sahraei H, Mohammadi AR, Meftahi GH. Saffron (*Crocus sativus* L.) and morphine dependence: A systematic review article. *Am J Biol Life Sci.* 2014; 2(2): 41-45.
2. Hosseinzadeh H, Jahanian Z. Effect of *Crocus sativus* L.(saffron) stigma and its constituents, crocin and safranal, on morphine withdrawal syndrome in mice. *Phytotherapy Research: An International Journal Devoted to Pharmacological and Toxicological Evaluation of Natural Product Derivatives.* 2010; 24(5): 726-730.
3. Motaghinejad M, Fatima S, Banifazl S, Bangash MY, Karimian M. Study of the effects of controlled morphine administration for treatment of anxiety, depression and cognition impairment in morphine-addicted rats. *Adv Biomed Res.* 2016; 5.
4. Ghafari S, Roshandel D, Golalipour MJ. Effect of intrauterine morphine sulfate exposure on cerebellar histomorphological changes in neonatal mice. *Folia Neuropathol.* 2011; 49(4): 328-334.
5. De Guglielmo G, Kallupi M, Scuppa G, Stopponi S, Demopulos G, Gaitanaris G, et al. Analgesic tolerance to morphine is regulated by PPAR γ . *Br J Pharmacol.* 2014; 171(23): 5407-5416.
6. Pacifici GM. Metabolism and pharmacokinetics of morphine in neonates: A review. *Clinics.* 2016; 71(8): 474-480.
7. Wu XP, She RX, Yang YP, Xing ZM, Chen HW, Zhang YW. MicroRNA-365 alleviates morphine analgesic tolerance via the inactivation of the ERK/CREB signaling pathway by negatively targeting β -arrestin2. *J Biomed sci.* 2018; 25(1): 10.
8. Ujcikova H, Brejchova J, Vosahlikova M, Kagan D, Dlouha K, Sýkora J, et al. Opioid-receptor (OR) signaling cascades in rat cerebral cortex and model cell lines: the role of plasma membrane structure. *Physiol Res.* 2014; 63: S165.
9. Gowing L, Ali R, White JM. Opioid antagonists with minimal sedation for opioid withdrawal. *Cochrane Database Syst Rev.* 2009(4).
10. Neugebauer NM, Einstein EB, Lopez MB, McClure-Belgey TD, Mineur YS, Picciotto MR. Morphine dependence and withdrawal induced changes in cholinergic signaling. *Pharmacol Biochem Behav.* 2013; 109: 77-83.
11. Lelevich SV, Lelevich VV, Novokshonov AA. Neurotransmitter mechanisms of morphine withdrawal syndrome. *Bull Exp Biol Med.* 2009; 148(2): 184.
12. Vihavainen T, Relander TR, Leivisika R, Airavaara M, Tuominen RK, Ahtee L, et al. Chronic nicotine modifies the effects of morphine on extracellular striatal dopamine and ventral tegmental GABA. *J Neurochem.* 2008; 107(3): 844-854.
13. Jalabert M, Bourdy R, Courtin J, Veinante P, Manzoni OJ, Barrot M, et al. Neuronal circuits underlying acute morphine action on dopamine neurons. *Proc Natl Acad Sci.* 2011; 108(39): 16446-16450.
14. Madhavan A, He L, Stuber GD, Bonci A, Whistler JL. μ -opioid receptor endocytosis prevents adaptations in

- ventral tegmental area gaba transmission induced naloxone-precipitated morphine withdrawal. *J Neurosci.* 2010; 30(9): 3276-3286.
15. Bonci A, Williams JT. Increased probability of GABA release during withdrawal from morphine. *J Neurosci.* 1997; 17(2): 796-803.
 16. Dian sl, Kemmling AK, Balerio GN. Baclofen reestablishes striatal and cortical dopamine concentrations during naloxone-precipitated withdrawal. *Neurochemist int.* 2003; 42(4): 293-298.
 17. Lee JH, Kim HY, Jang EY, Choi SH, Han CH, Lee NH, et al. Effect of acupuncture on naloxone-precipitated withdrawal syndrome in morphine-experienced rats: the mediation of GABA receptors. *Neurosci lett.* 2011; 504(3): 301-305.
 18. Vanderschuren LJ, Wardeh G, De Vries TJ, Mulder AH, Schoffemeer AN. Opposing role of dopamine D1 and D2 receptors in modulation of rat nucleus accumbens noradrenaline release. *J Neurosci.* 1999; 19(10): 4123-4131.
 19. Ebrahimie M, Bahmani M, Shirzad H, Rafieian-Kopaei M, Saki K. A review study on the effect of Iranian herbal medicines on opioid withdrawal syndrome. *J Evid Based Complement Alternat Med.* 2015; 20(4): 302-309.
 20. Moshiri M, Vahabzadeh M, Hosseinzadeh H. Clinical applications of saffron (*Crocus sativus*) and its constituents: a review. *Drug Res.* 2015; 65(6): 287-295.
 21. Cusano E, Consonni R, Petrakis EA, Astraka K, Cagliani LR, Polissiou MG. Integrated analytical methodology to investigate bioactive compounds in *Crocus sativus* L. flowers. *Phytochem Anal.* 2018.
 22. Dar RA, Shahnawaz M, Malik SB, Sangale MK, Ade AB, Qazi PH. Cultivation, taxonomy, chemical composition and medical importance of *Crocus sativus*. *J Phytopharmacol* 2017; 6(6): 256-358.
 23. Baba SA, Malik AH, Wani ZA, Mohiuddin T, Shah Z, Abbas N, et al. Phytochemical analysis and antioxidant activity of different tissue types of *Crocus sativus* and oxidative stress alleviating potential of saffron extract in plants, bacteria, and yeast. *S Afr J Bot.* 2015; 99: 80-87.
 24. Christodoulou E, Kadoglou NP, Stasinopoulou M, Konstandi OA, Kenoutis C, Kakazanis ZI, et al. *Crocus sativus* L. aqueous extract reduces atherogenesis, increases atherosclerotic plaque stability and improves glucose control in diabetic atherosclerotic animals. *Atheroscler.* 2018; 268: 207-214.
 25. Samarghandian S, Azimi-Nezhad M, Farkhondeh T. Immunomodulatory and antioxidant effects of saffron aqueous extract (*Crocus sativus* L.) on streptozotocin-induced diabetes in rats. *Indian Heart J.* 2017; 69(2): 151-159.
 26. Vakili S, Savardashtaki A, Moghaddam MA, Nowrouzi P, Shirazi MK, Ebrahimi G. The effects of saffron consumption on lipid profile, liver enzymes, and oxidative stress in male hamsters with high fat diet. *Trends Pharm Sci.* 2017; 3(3): 201-208.
 27. Carradori S, Chimenti P, Fazzari M, Granese A, Angiolella L. Antimicrobial activity, synergism and inhibition of germ

- tube formation by *Crocus sativus*-derived compounds against *Candida* spp. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2016; 31(sup2): 189-193.
28. De Monte C, Bizzarri B, Gidaro MC, Carradori S, Mollica A, Luisi G, et al. Bioactive compounds of *Crocus sativus* L. and their semi-synthetic derivatives as promising anti-*Helicobacter pylori*, anti-malarial and anti-leishmanial agents. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 2015; 30(6): 1027-1033.
 29. Shariatifar N, Shoeibi S, Sani MJ, Jamshidi AH, Zarei A, Mehdizade A, et al. Study on diuretic activity of saffron (stigma of *Crocus sativus* L.) Aqueous extract in rat. *J Adv Pharm technol Res*. 2014; 5(1): 17.
 30. Amin B, Nakhsaz A, Hosseinzadeh H. Evaluation of the antidepressant-like effects of acute and sub-acute administration of crocin and crocetin in mice. *Avicenna J phytomed*. 2015; 5(5): 458.
 31. [31] Pitsikas N. The effect of *Crocus sativus* L. and its constituents on memory: basic studies and clinical applications. *Evi Based Complement Alternat Med*. 2015; 2015.
 32. Amin B, Hosseini S, Hosseinzadeh H. Enhancement of antinociceptive effect by co-administration of Amitriptyline and *Crocus Sativus* in a rat model of neuropathic pain. *Iran J Pharm Res: IJPR*. 2017; 16(1): 187.
 33. Boskabady MH, Farkhondeh T. Antiinflammatory, antioxidant, and immunomodulatory effects of *Crocus sativus* L. and its main constituents. *Phytother Res*. 2016; 30(7): 1072-1094.
 34. Al-Snafi AE. The pharmacology of *Crocus sativus*-A review. *IOSR J Pharm*. 2016; 6(6): 8-38.
 35. Kumar R, Kaur M, Silakari O. Chemistry and biological activities of thioacridines/thioacridones. *Mini-rev med chem*. 2013; 13(8):1220-1230.
 36. Jaime AY, Remsberg CM, Takemoto JK, Vega-Villa KR, Andrews PK, Sayre CL, et al. Polyphenols and flavonoids: an overview.
 37. National Research council. Guide for the care and use of Laboratory animals. Washington DC: National Academies press; 2010.
 38. Khorasani G, Hosseinimehr SJ, Zamani P, Ghasemi M, Ahmadi A. The effect of saffron (*Crocus sativus*) extract for healing of second-degree burn wounds in rats. *Keio J Med*. 2008; 57(4): 190-195.
 39. Gomaa A, Hashem T, Mohamed M, Ashry E. *Matricaria chamomilla* extract inhibits both development of morphine dependence and expression of abstinence syndrome in rats. *J Pharmacol sci*. 2003; 92(1): 50-55.
 40. Rubrino T, Massi P, Vigano D, Fuzio D, Parolaro D. Long-term treatment with SR141716A, the CB1 receptor antagonist, influences morphine withdrawal syndrome. *Life sci*. 200; 66(22): 2213-2219.
 41. Cain SM, Ahn S, Garcia E, Zhang Y, Waheed Z, Tyson JR, et al. Heantos-4, a natural plant extract used in the treatment of drug addiction, modulates T-type calcium channels and thalamocortical burst-firing. *Mol Brain*. 2016; 9(1): 94.
 42. Khazdair MR, Boskabady MH, Hosseini M, Rezaee R, Tsatsakis AM. The effects