

عصاره گیری، فرمولاسیون و اثربخشی گیاه زعفران (*Crocus sativus* L.) به عنوان یک داروی ضد افسردگی در مقایسه با ایمی پرامین

شاهین آخوندزاده^{۱*}، محمدرضا محمدی^۲، موسی خانی^۳، امیرحسین جمشیدی^۴، علی دلیری همپا^۵، شهریار باستانی^۶

- ۱- دانشیار گروه روانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران (مرکز تحقیقات روانپزشکی) و محقق پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۲- استاد گروه روانپزشکی دانشگاه علوم پزشکی تهران، بیمارستان روزبه
 - ۳- مربی پژوهش، پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۴- دستیار فارماکولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تهران و عضو هیأت علمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۵- پزشک عمومی، محقق پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
 - ۶- داروساز، محقق پژوهشکده گیاهان دارویی جهاددانشگاهی
- * آدرس مکاتبه: تهران، صندوق پستی: ۱۴۴۶-۱۳۱۴۵، تلفن: ۶۴۶۲۱۷۹، نمابر: ۶۴۶۵۵۵۴
پست الکترونیکی: s.akhond@neda.net

چکیده

در طب سنتی ایران از زعفران به عنوان یک عامل بالابرنده خلق و نشاط آور یاد می شود. با توجه به بررسی کتابخانه ای صورت گرفته از سال ۲۰۰۳ - ۱۹۶۶ به جز ۲ مطالعه که به بررسی اثرات زعفران بر روی حافظه و به خصوص اثر آن در هیپوکامپ پرداخته است، مطالعه دیگری که اثرات آن را روی CNS و به ویژه افسردگی بررسی کرده باشد، موجود نمی باشد. با عنایت به مصرف کاملاً رایج زعفران یا چای زعفران در درمان افسردگی های خفیف در طب سنتی ایران و عدم بررسی علمی این خاصیت زعفران، در یک کارآزمایی بالینی دوسویه بی خبر با کنترل داروی ضد افسردگی کلاسیک (ایمی پرامین)، این اثر زعفران با ایمی پرامین مقایسه گردید. عصاره گیری با استفاده از اتانل ۸۰ درجه و با روش پرکولاسیون صورت پذیرفت، عصاره به دست آمده توسط دستگاه تقطیر در خلا تخلیظ شد و پس از انجام عمل گرانوولاسیون به صورت کپسول های حاوی ۱۰ میلی گرم عصاره زعفران درآمد. بررسی به صورت کارآزمایی بالینی دوسویه بی خبر انجام شد و دو داروی ایمی پرامین و کپسول زعفران با دوزهای به ترتیب ۱۰۰ و ۳۰ میلی گرم در روز در کپسول های مشابهی قرار گرفت. در طول مطالعه درمانگر و بیمار از نوع دارو اطلاعی نداشتند. ۳۰ بیمار در هفته های صفر، یک، دو، سه، چهار و شش از نظر مقیاس هامیلتون برای افسردگی و چک لیست عوارض جانبی بررسی شدند. مقایسه یافته های این مطالعه نشان داد که ایمی پرامین و زعفران دارای اثر یکسانی بر روی بیماران افسرده سرپایی با شدت خفیف تا متوسط می باشند. از نظر عوارض جانبی به جز عوارض آنتی کولینرژیک ایمی پرامین، اختلاف معنی داری مشاهده نگردید.



با توجه به این مطالعه بالینی و مطالعه preclinical انجام شده می‌توان عنوان نمود که زعفران با دوز ۳۰ mg/day اثرات ضدافسردگی قابل توجهی در بیماران افسرده سرپایی با شدت خفیف تا متوسط دارد.
کلواژگان: زعفران، افسردگی خفیف تا متوسط، ایمی‌پرامین، طب گیاهی

مقدمه

افسردگی نتیجه تغییرات بیوشیمیایی مغز می‌باشد و یکی از بیماری‌های شایع در بالغین است. این بیماری خلقی در ۵ درصد از افراد جامعه آمریکا گزارش شده و در طول دوران زندگی حدود ۳۰ درصد از بالغین با یک دوره افسردگی مواجه می‌شوند.

علاوه بر این درصد خودکشی در بیماران خلقی از جمله افسردگی، بالا می‌باشد. میزان ابتلا به افسردگی در زنان حدود ۲ تا ۳ برابر بیشتر از مردان است.

حدود ۷۰ درصد از بیماران افسرده به داروهای ضدافسردگی پاسخ می‌دهند. شوک درمانی یک درمان جایگزین در افرادی که به دارو پاسخ نمی‌دهند می‌باشد.

مهمترین راه درمانی برای درمان افسردگی، دارو درمانی می‌باشد که می‌تواند همراه با سایکوتراپی صورت گیرد [۱].

برای درمان افسردگی خفیف سایکوتراپی می‌تواند به تنهایی مفید باشد اما در درمان افسردگی متوسط و شدید دارو درمانی انتخاب اول است [۱].

مهمترین ملاک برای انتخاب دارو، پاسخ بیمار یا خانواده‌اش به یک داروی خاص است. اگر این امر امکان‌پذیر نبود براساس عوارض دارویی برای بیمار تصمیم گرفته می‌شود.

داروهای موجود برای درمان این بیماری شامل MAOI, SSRI, TCA، میرتازپین، ونلافاکسین، بوپروپیون، نفازودون، ترازودون و سمپاتومیمیتیک‌ها می‌باشد [۲].

یک داروی ضدافسردگی باید چند خصوصیت داشته باشد تا به عنوان یک داروی ضدافسردگی ایده‌آل در نظر گرفته شود:

۱- شروع اثر سریع: تقریباً تمام داروهای رایج شروع اثر سریع ندارند و حداقل ۳-۲ هفته نیاز دارند تا اثرات اولیه خود را نشان دهند. لذا یکی از نکات منفی داروهای رایج شروع اثر تاخیری آنان می‌باشد.

۲- نیمه عمر متوسط: داروی ایده‌آل ضدافسردگی باید نیمه عمری حدود ۲۴ ساعت داشته باشد تا بتوان آن را به صورت یکبار در روز مصرف کرد.

۳- در سطح خونی معینی، اثرات درمانی خود را نشان دهد.

۴- اثرات جانبی نداشته باشد، داروهای رایج به دلیل اثر بر روی رسپتورهای H_1 ، موسکارینی و α_1 اثرات جانبی ناخواسته فراوانی دارند از جمله Sedation، افزایش وزن، کاهش فشار خون، افت فشار خون وضعیتی، تاری دید، خشکی دهان، یبوست، احتباس ادرار و فراموشی به‌خصوص در افراد مسن.

۵- تداخل دارویی حداقل.

۶- در صورت مصرف با دوز بالا، پتانسیل سمی پایینی داشته باشد.

۷- اثرات ضدافسردگی وسیع‌الطیف داشته باشد [۲].

زعفران در طب سنتی به عنوان ضداسپاسم، آرامش‌بخش، کمک‌کننده هضم غذا، ضدنفخ، معرق، خلط‌آور، محرک، محرک میل جنسی، قاعده‌آور و تسکین‌دهنده‌ی درد به‌کار می‌رود [۳،۴،۵،۶،۷،۸،۹].

در طب سنتی چین برای درمان ام‌نوره به‌کار می‌رود همچنین در طب سنتی هند برای درمان برونشیت، گلودرد و سردرد مورد استفاده قرار می‌گیرد [۹].

زعفران از گیاهانی است که در طب سنتی از آن به عنوان نشاط‌آور و برطرف‌کننده غم و اندوه یاد شده است. در مطالعه‌ای که دکتر حسین‌زاده و همکاران منتشر کرده‌اند عصاره آبی و الکی کلالة و گلبرگ زعفران بر روی موش سفید کوچک در آزمون



در این بررسی، روش استفاده شده برای عصاره‌گیری با اتانل ۸۰ درجه، پرکولاسیون می‌باشد. پرکولاسیون یک فرآیند جایگزینی است که به موجب آن پودر یا قطعه گیاه در ظرفی مناسب که یک خروجی در پایین آن وجود دارد با حلال مخلوط می‌شود اجزای حل شونده با سرازیر شدن یک حلال از آن جدا می‌شوند.

بدین منظور ۱۲۰ گرم پودر نمونه را وارد دستگاه پرکولاتور نموده و توسط ۱۸۰۰ میلی‌لیتر اتانل ۸۰ درجه در ۳ مرحله عصاره‌گیری می‌نماییم. میزان فشردگی پودر در پرکولاتور مهم می‌باشد. اگر خیلی فشرده باشد محلول پرکوله نمی‌شود و اگر خیلی شل باشد حلال درون آن کانال زده و استخراج ضعیفی صورت می‌گیرد.

پس از ریخته شدن پودر و حلال به‌هنگامی که مایع شروع به خارج شدن می‌کند، دریچه پایینی پرکولاتور را می‌بندیم و روی پرکولاتور را پوشانده و ۴۸ ساعت به همین حالت باقی می‌گذاریم. سپس دریچه پایینی را می‌گشاییم و اجازه می‌دهیم که حلال به آهستگی و قطره قطره جریان یابد [۱۱].

عصاره جمع‌آوری شده از مرحله پرکولاسیون را جهت تغلیظ‌سازی وارد دستگاه تقطیر در خلاء نموده و تحت حرارت ۴۰-۳۵ درجه سانتی‌گراد تغلیظ می‌نماییم.

گرانولاسیون و تهیه کپسول

از آنجا که هدف تهیه کپسول‌های ۱۰ میلی‌گرمی عصاره زعفران بوده است، عصاره تغلیظ شده توسط پودر لاکتوز به صورت گرانول درآمد و توسط دستگاه کپسول پرکن، کپسول‌های حاوی ۱۰ mg عصاره زعفران تهیه شد.

انتخاب بیماران

جمعیت مورد مطالعه شامل کلیه بیمارانی بود که

Forced Swimming اثرات ضدافسردگی قابل ملاحظه‌ای در مقایسه با داروی ضدافسردگی از خود نشان داده است [۱۰].

علی‌رغم مستندات طب سنتی ایران که مؤید این مطلب است که زعفران‌داران اثرات ضدافسردگی می‌باشد و مطالعه Preclinical دکتر حسین‌زاده و همکاران، هیچ مطالعه بالینی درباره اثرات ضدافسردگی زعفران انجام نگرفته است. لذا در این مطالعه ما تصمیم داریم که برای اولین بار اثرات ضدافسردگی زعفران را در مقایسه با یک داروی ضدافسردگی کلاسیک (ایمی‌پرامین) در یک مطالعه دوسو بی‌خبر و تصادفی شده بررسی نماییم.

مواد و روش کار

زعفران مورد بررسی در این مطالعه از شرکت نوین زعفران (شهر مقدس مشهد) تهیه گردید.

جهت عصاره‌گیری ۱۲۰g کلالة زعفران را ابتدا آسیاب می‌کنیم. پیش از آسیاب‌کردن باید به این نکته توجه داشت که آسیاب کاملاً تمیز گردد و هنگام کار از داغ شدن آن به علت اثر تخریبی روی پودر جلوگیری شود.

برای تهیه محلول هیدروالکلی ۸۰ درجه، ۸۰۰ میلی‌لیتر اتانل ۹۶ درجه را در یک استوانه مدرج ۱۰۰۰ میلی‌لیتر ریخته و با آب مقطر به حجم ۹۶۰ میلی‌لیتر رسانده می‌شود.

عصاره‌گیری

به‌طورکلی عصاره‌گیری از گیاهان با روش‌های گوناگون و توسط دستگاه‌های مختلفی صورت می‌گیرد که به تناسب حجم نمونه، نوع ماده مؤثر، مورد مصرف عصاره و پارامترهای دیگر نوع دستگاه عصاره‌گیری تعیین می‌شود [۱۱].

واضح خودکشی یا پتانسیل آن را داشتند از مطالعه خارج می‌شدند.

به‌علاوه هر اختلال کلینیکی واضح در وضعیت فرد نسبت به وضعیت پایه منجر به حذف فرد می‌شد.

به افرادی که قبل از اتمام مطالعه، دست از همکاری می‌کشیدند، فوراً مراقبت کمکی و استاندارد توصیه می‌شد.

خانم‌های باردار یا خانم‌هایی که از روش‌های کلینیکی مورد قبول جهت کنترل موالید استفاده نمی‌کردند، از مطالعه خارج شدند.

در این کارآزمایی دوسو بی‌خبر، بیماران به طور تصادفی به دو گروه تقسیم شدند:

به گروه اول کپسول زعفران ۱۰ mg سه بار در روز و به گروه دوم ۱۰۰mg روزانه ایمی‌پرامین (سه بار در روز) در شکل دارویی یکسان با کپسول زعفران تجویز شد. این درمان به مدت ۶ هفته ادامه یافت.

گروه‌های مورد مطالعه از نظر سن و جنس یکسان شدند. بیماران در ابتدا و پس از ۶، ۴، ۲، ۱ هفته بعد از شروع درمان دارویی ارزیابی شدند.

ابزار اصلی اندازه‌گیری نتیجه اصلی پاسخ افسردگی به درمان در میانگین کاهش در نمره HAM-D هفده عنوانی بود. براساس دستورالعمل‌های استاندارد آزمون HAM-D نمره داده شد. برای اندازه‌گیری نتیجه اصلی پاسخ افسردگی به درمان از میانگین کاهش در نمره HAM-D نسبت به میزان پایه استفاده شد.

بیماران پس از انتخاب به روش Random Permuted Blocks در یکی از دو گروه قرار می‌گرفتند.

روش تجزیه و تحلیل داده‌ها

برای ارزیابی میانگین تغییرات مقیاس افسردگی

برای کارآزمایی بالینی تصادفی دو سوکور بین دی ماه ۱۳۸۱ تا تیر ماه ۱۳۸۲ به کلینیک خصوصی مراجعه کرده‌اند. تمامی بیماران قبل از ورود به مطالعه از مفاد این طرح تحقیقاتی مطلع و رضایت‌نامه آگاهانه را امضا نمودند. از بین این گروه ۳۰ بیمار سرپایی بزرگسال که بر اساس یک مصاحبه کلینیکی ساختار یافته، معیارهای DSM-IV (چهارمین ویرایش کتابچه تشخیصی و آماری اختلالات روانی) برای افسردگی ماژور را داشتند، وارد مطالعه شدند.

حداقل نمره پایه بیماران بر اساس مقیاس سنجش هامیلتون برای افسردگی (HAM-D) هفده عنوانی (۱۸) بود.

بیمارانی که بر اساس معیارهای DSM-IV یکی از تشخیص‌های زیر را داشتند، از مطالعه حذف شدند.

اختلال شناختی در طی سال گذشته، اختلال دو قطبی، اختلال شخصیتی از نوع اسکیزوتایپ یا سابقه ابتلا در گذشته و همچنین بیماران با سابقه اختلالات تیرویدی از مطالعه حذف شدند.

بیماران حداقل ۲ هفته قبل از ورود به مطالعه نباید هیچ‌گونه داروی سایکوتروپیک مصرف کرده باشند. محدوده سنی بیماران بین ۱۸ تا ۵۴ سال انتخاب شد.

از آنجایی که افسردگی یک وضعیت جدی و بالقوه تهدیدکننده حیات است و چون بیماران مورد مطالعه سرپایی بودند، به همین دلیل بیمارانی که در هر زمان از مطالعه، خطر واضح خودکشی را بروز می‌دادند از مطالعه حذف می‌شدند.

افرادی که بر اساس افکار خودکشی در مقیاس سنجش هامیلتون برای افسردگی (HAM-D)، نمره بالاتر از ۲ داشتند یا آنهایی که طبق نظر محقق تفکر

گروه زعفران (۹F و ۶M) و گروه ایمی پرامین (۸F و ۷M) ($P=1$).

اثر بخشی کیسول زعفران و ایمی پرامین

دو گروه در هفته صفر هیچ اختلاف معنی داری با هم نداشتند ($P = 0/43$). آنالیز واریانس یک طرفه نشان داد که هر دو گروه از هفته یک نسبت به هفته صفر دارای اثرات درمانی معنی داری بودند (شکل شماره ۱).

مقایسه مقیاس هامیلتون هفته ۶ در دو گروه بیماران تحت درمان با زعفران و ایمی پرامین بر اساس unpaired Student t test انجام شد و با توجه به $P = 0/33$ تفاوت معنی داری بین دو گروه مشاهده نگردید.

آنالیز واریانس دو طرفه مکرر نشان می دهد که ۲ پروتکل درمانی در طول شش هفته اختلاف معنی داری با یکدیگر نداشتند [$P=0/09$ و $f=2/91$ و $df=1$].

همچنین آنالیز واریانس دو طرفه نشان داد که رفتار این ۲ پروتکل با زمان تغییر پیدا نمی کند. (تداخل زمان و دارو) [$P=0/49$ و $df=3/44$ و $f=0/83$].

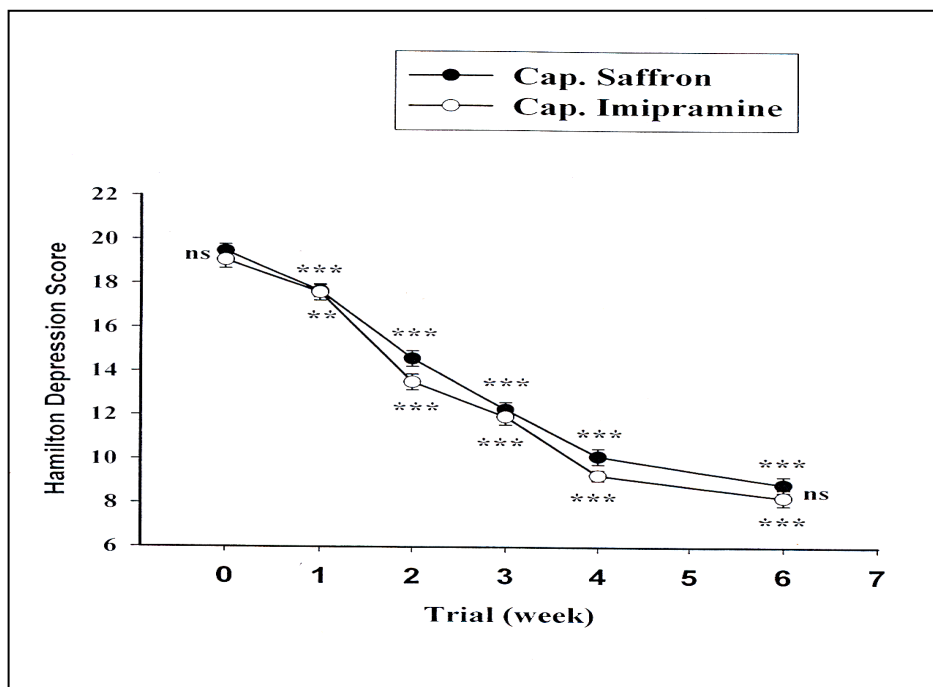
هامیلتون آزمون آنالیز واریانس دو طرفه مکرر برای زمان، دارو و تداخل دارو- زمان انجام گرفت. هم چنین در هر گروه آنالیز واریانس یک طرفه مکرر با یک Post hoc Tucky Test انجام پذیرفت. برای مقایسه دو گروه در شروع مطالعه و پایان آن از unpaired Student t test استفاده شد و برای مقایسه اطلاعات دموگرافیک و شیوع عوارض دارویی Fisher's Exact test انجام گرفت.

نتایج

در میانگین سنی دو گروه تحت درمان با زعفران و ایمی پرامین تفاوت معنی داری مشاهده نگردید ($P = 0/38$) ($35/53 \pm 10/28$ و $32/53 \pm 8/10$).

حداقل و حداکثر سن در گروه زعفران ۱۸ و ۵۰ سال و حداقل و حداکثر سن در گروه سنی ایمی پرامین ۱۹ و ۴۳ سال بود.

مقایسه دو گروه تحت درمان با زعفران و ایمی پرامین از نظر جنس در دو گروه اختلاف معنی داری نشان نداد.



شکل شماره ۱- مقایسه مقیاس هامپلتون در طول ۶ هفته در دو گروه بیماران افسرده که مطالعه را کامل کردند.**عوارض جانبی**

به طور معنی‌داری بیشتر از گروه زعفران بود اختلاف معنی‌داری در سایر عوارض دیده نشد. با این وجود آشفتگی (Agitation)، اضطراب (Anxiety)، سرخوشی (Hypomania)، سردرد و تهوع در گروه زعفران بیشتر مشاهده گردید و به طور کلی عوارض آنتی‌کولینرژیک در گروه ایمی‌پرامین بیشتر دیده شد. با توجه به پروفایل عوارض دارویی زعفران می‌توان ادعا نمود که عوارض دارویی ناشی از مصرف این دارو قابل تحمل می‌باشد.

همچنین هیچ بیماری به دلیل عوارض جانبی از مطالعه خارج نگردید. این مطالعه بالینی که براساس جستجو در Medline از سال ۱۹۶۶ تا آگوست ۲۰۰۳، اولین مطالعه بالینی درباره اثر بخشی زعفران در درمان افسردگی می‌باشد و موافق با نتایج به‌دست آمده در یک مطالعه preclinical است که در این مطالعه دکتر حسین‌زاده و همکاران نشان دادند عصاره آبی و الکلی کلالة زعفران، اثرات ضدافسردگی قابل توجهی در مدل حیوانی Forced Swimming Test داشته است [۱۰].

عوارض جانبی در دو گروه تحت درمان با زعفران و ایمی‌پرامین با توجه به بروز عوارض بر اساس Fisher's Exact test با هم مقایسه شد (جدول شماره ۱). تفاوت معنی‌داری بین دو گروه از نظر بروز عوارض خشکی دهان و خواب‌آلودگی وجود داشت به طوری که این عوارض در گروه ایمی‌پرامین شایع‌تر بود. در سایر عوارض تفاوت معنی‌داری بین دو گروه وجود نداشت.

بحث

این مطالعه نشان داد که اثربخشی زعفران و ایمی‌پرامین در بیماران افسرده سرپایی با شدت خفیف تا متوسط در طول ۶ هفته درمان تفاوتی با هم نداشته است و هر دو پروتکل از هفته اول به بعد اثرات خود را نسبت به هفته صفر به صورت معنی‌داری نشان داده‌اند.

همچنین از نظر مقایسه عوارض جانبی به غیر از خواب‌آلودگی و خشکی دهان که در گروه ایمی‌پرامین

جدول شماره ۱ - مقایسه عوارض جانبی در دو گروه از بیماران افسرده سرپایی با شدت ففیف تا متوسط که تحت درمان با زعفران و ایمی‌پرامین بودند

P	گروه ایمی‌پرامین	گروه زعفران	عوارض جانبی
۰/۵۹	۱	۳	آشفتگی و تحریک‌پذیری (Agitation)
۰/۳۲	۱	۴	اضطراب (Anxiety)

۰/۱۶	۵	۱	گیجی (Dizziness)
۱	۱	۲	سرخوشی (Hypomania)
۰/۰۱	۶	۰	آرام‌بخشی (Sedation)
۱	۲	۳	سررد (Headache)
۰/۴۸	۰	۲	کم‌خوری (Hypophagia)
۰/۱۶	۵	۱	پر‌خوری (Hyperphagia)
۰/۰۳	۷	۱	خشکی دهان (Dry mouth)
۰/۳۸	۵	۲	یبوست (Constipation)
۰/۱۶	۵	۱	احتباس ادرار (Urinary retention)
۱	۱	۲	تهوع (Nausea)

بهرتر دربارهٔ اثرات ضدافسردگی زعفران لازم می‌باشد.

در پایان باید ذکر نمود با توجه به مشاهدهٔ اثرات ضدافسردگی یکسان با ۱۰۰mg ایمی‌پرامین و همچنین عوارض جانبی قابل تحمل زعفران، این مطالعه می‌تواند گامی نخست برای مستند کردن اثرات ضدافسردگی زعفران در طب سنتی ایران باشد.

با توجه به این امر که ایران ۷۵ درصد از تولید جهانی زعفران را دارا می‌باشد معرفی اثرات درمانی زعفران از جمله، اثرات ضدافسردگی آن می‌تواند تاثیر به‌سزایی در صادرات بین‌المللی این محصول ایرانی داشته باشد.

تشکر و قدردانی

محققین این مطالعه از مدیریت شرکت نوین‌زعفران به‌خاطر اهدای رایگان زعفران مورد نیاز تشکر می‌نمایند. همچنین از مرکز ملی تحقیقات علوم پزشکی کشور و هلال احمر جمهوری اسلامی ایران به‌خاطر تامین منابع مالی قدردانی می‌گردد.

در حال حاضر به‌دلیل اینکه مطالعهٔ دیگری تا به حال انجام نشده است، ما قادر به مقایسهٔ نتایج این مطالعه با مطالعات دیگران نمی‌باشیم.

با این وجود مصرف زعفران وچای آن در طب سنتی به عنوان بالابرندهٔ خلق، نشاط‌آور و ضدافسردگی، در راستای نتایج به‌دست آمده از این مطالعه می‌باشد.

یکی از مهمترین عوارض جانبی و علایم مسمومیت با زعفران، خونریزی‌های غیرطبیعی می‌باشد که با دوز مصرفی در این مطالعه مشاهده نگردید.

در این مطالعه تنها گروهی از بیماران افسردهٔ سرپایی که برای آنها تشخیص MDD (Major Depressive Disorder) گذاشته شده و شدت بیماری آنها خفیف تا متوسط بود، وارد مطالعه گردیدند. لذا برای تعمیم نتایج این مطالعه بررسی بر روی انواع دیگر افسردگی به‌خصوص از نوع Bipolar قابل توجه خواهد بود.

یکی از محدودیت‌های این مطالعه تعداد نسبتاً اندک بیماران بود. لذا مطالعات دیگری با حجم نمونهٔ بیشتر و زمان پیگیری طولانی‌تر برای تصمیم‌گیری

منابع

1. Kaplan H, Sadock B. *Comprehensive Text Book of Psychiatry*. 7th ed. Williams and Wilkins company. USA. 2000, pp:1284-441.
2. Richelson E. Pharmacology of antidepressant- Characteristics of the ideal drug. *Mayo. Clin. Proc.* 1994; 69: 1069- 81.



3. Evans WC. *Trease and Evans Pharmacognosy*. 15th ed. WB Saunders. USA. 2002, pp: 437-38.
4. Flming T. *Physicians Desk Reference (PDR) for Herbal Medicines*. 2th ed. medicinal Economics company. 2000, pp: 653-54.
5. Huang KCH. *The Phamacology of Chinese Herbs*. 2th ed. CRC press. 1999, pp: 172, 474- 75.
6. Duke JA, Bogenschutz GM, du CJ, Duke peggy- Ann k. *Handbook of Medicinal Herbs*. 2th ed. CRC press. 2002, pp:640-41.
7. Sweetman SC. *Martindale the Complete Drug Reference*. 33th ed. Pharmaceutical Press. 2002, Vol 1, p:1029.
8. Abe K, Saito H. Effects of saffron extract and its constituent crocin on learning behaviour and long-term potentiation. *Phytother Res*. 2000; 14: 149-52.
9. D Amelio F, Frank S. *Botanicals a Phytocosmetic Desk Reference*. CRC Press. 1999, pp: 39-40.
10. کریمی غلامرضا، حسینزاده حسین، خالقپناه پوران. بررسی اثر ضدافسردگی عصاره آبی و الکلی کلاله و گلبرگ زعفران در موش سفید کوچک. *مجله علوم پایه پزشکی ایران*. ۱۳۸۰، جلد ۴، صفحات ۵۷-۱۵۳.
11. صمصام شریعت هادی. *عصاره گیری و استخراج مواد موثر گیاهان دارویی و روش های شناسایی و ارزشیابی آنها*. چاپ اول، انتشارات مانی اصفهان. ۱۳۷۱، صفحات ۱۶-۱۴.

