خواص ضدسرطانی کلاله گیاه زعفران (کروکوس ساتیووس)

ریحانه هوشیار: استادیار بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران (*نویسنده مسئول). hooshyar@bums.ac.ir
سیده الهام مصطفوی نیا: دانشجوی کارشناسی ارشد بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی بیرجند، بیرجند، ایران.
سیده زهرا بطحایی: دانشیار بیوشیمی بالینی، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۴/۷/۲۱ تاریخ پذیرش: ۹۴/۹/۱۳

چکیده

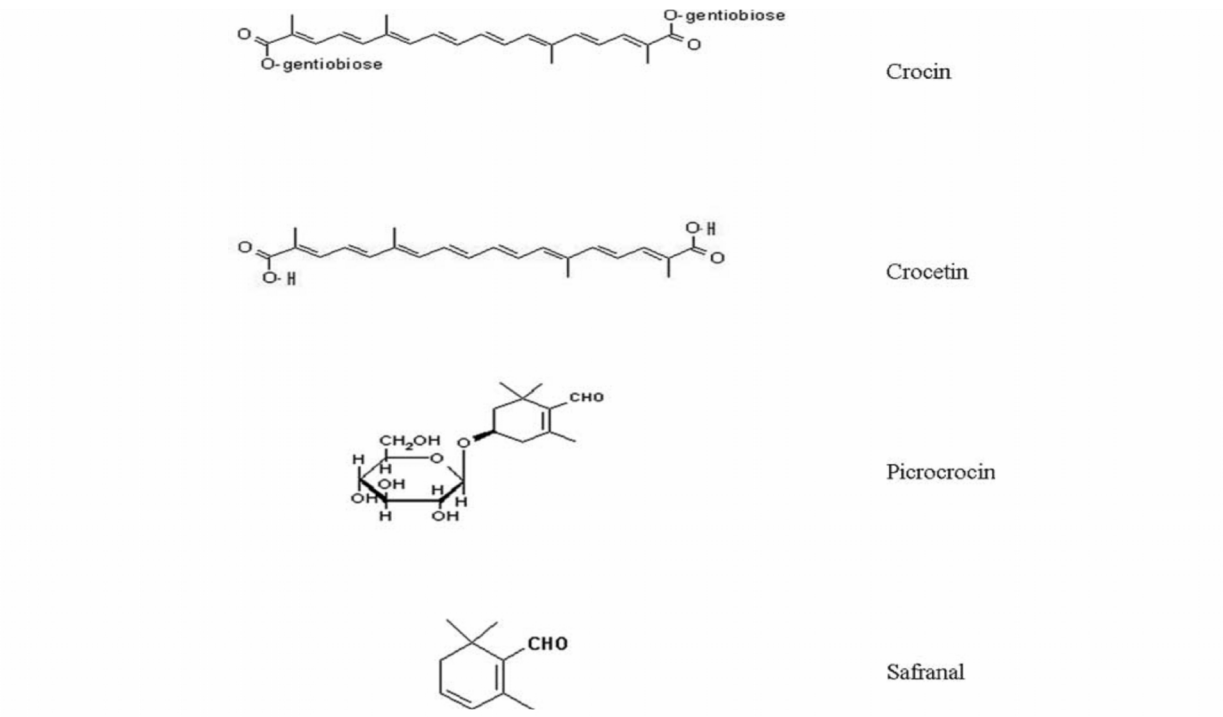
امروزه یکی از مهم‌ترین علل شایع مرگ در سطح جهان بیماری سرطان بوده که شیوع و میزان مرگ و میر آن در ایران، قابل‌توجه می‌باشد. از طرف دیگر، با توجه به بومی بودن گیاه زعفران در منطقه خراسان جنوبی، در مطالعه حاضر خواص ضد توموری کلاله زعفران و برخی از مکانیسم‌های عمل آن در مدل‌های مختلف ماکرومولکولی، سلولی و حیوانی مرور شده است. در طب سنتی از کلاله زعفران به‌عنوان ترکیب دارویی در درمان بسیاری از بیماری‌ها مانند دیابت، فشارخون و سرطان یاد شده است، نتایج تحقیقات طب جدید نیز نشان داده‌اند که می‌توان از کلاله زعفران و متابولیت‌های ثانویه آن در تولید داروهای مکمل مرتبط با درمان انواع سرطان‌های انسانی استفاده کرد. کلاله زعفران به شکل اختصاصی رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی را مهار کرده درحالی‌که بر رشد سلول‌های نرمال بی‌تأثیر بوده، همچنین منجر به کاهش عوارض جانبی درمان‌های رایج می‌شود. متابولیت‌های اصلی کلاله زعفران شامل مونوترپن آلدهیدها و کاروتنوئیدها می‌باشند که در این میان کاروتنوئیدهای کلاله مانند کروسین و کروستین دارای اثرات ضد اکسیدانی، ضد سرطانی و ضد جهش‌زایی بیشتری در مقایسه با سایر ترکیبات می‌باشند. مطالعه حاضر پیشنهاد می‌کند که داروهای ضد تومور مشتق از کلاله زعفران می‌توانند به‌عنوان درمان‌های مکمل، ایمن و امیدبخش برای انواع سرطان‌ها در آینده نزدیک به‌کاربرده شوند.

کلیدواژه‌ها: کلاله زعفران، سرطان، *In vivo ،In vitro*

مقدمه

امروزه یک راهکار امیدوارکننده برای مهار سرطان، شیمی-پیشگیری (chemoprevention) می‌باشد که به مصرف مواد غذایی یا دارویی که از بروز یا پیشرفت سرطان جلوگیری کرده، اشاره می‌کند. عوامل آنتی‌اکسیدانی مانند ویتامین‌ها، سلنیوم و عصاره برخی گیاهان، به‌عنوان منابع اصلی تولید و توسعه داروهای شیمی- پیشگیری در سرطان، مطرح شده‌اند (۱). از طرف دیگر، به دلیل افزایش مقاومت سلول‌های سرطانی به درمان‌های رایج، کشف و شناسایی عوامل ضدسرطانی گیاهی جدید موردتوجه قرار گرفته است (۲).

یکی از گیاهان بومی خراسان جنوبی زعفران (کروکوس ساتیووس) می‌باشد (۲) که از زمان‌های گذشته، کلاله خشک آن به‌عنوان یک ماده دارویی، ادویه، رنگ خوراکی و طعم‌دهنده استفاده می‌شده است (۱). این گیاه دارای اثرات درمانی متنوعی از جمله ضدافسردگی، ضد تشنج، اثرات ضد آسمی، ضد دیابت، ضدالتهاب، ضد اکسیدانت و ضد سرطان می‌باشد (۱-۳). در کلاله خشک زعفران، بیش از ۱۵۰ ترکیب مختلف از جمله قندها، مواد معدنی، چربی‌ها، ویتامین‌ها و متابولیت‌های ثانویه شامل ترپن‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین و کاروتنوئیدها شناسایی شده است (۱، ۴). متابولیت‌های ثانویه زعفران به دو دسته اصلی تقسیم می‌شوند، دسته اول کاروتنوئیدها مانند آلفا و بتاکاروتن، لیکوپن، زاگزانتین، کروستین و کروسین‌ها و دسته دوم مونوترپن آلدئیدها مثل پیکروکروسین و سافرانال می‌باشند که ساختمان بیوشیمی آن‌ها در شکل ۱ ارائه شده است. منبع غنی رنگ قرمز زعفران و یکی از محدود



شکل ۱- ساختمان متابولیت های اصلی کلاله زعفران (۲۵)

کاروتنوئیدهای محلول در آب موجود در طبیعت، کروسین (۳، ۵)، مسئول عطر و بوی زعفران، سافرانال (۲، ۳) و طعم تلخ آن ناشی از پیکروکروسین می‌باشد (۳، ۶).

یکی از خواص دارویی مهم کلاله‌های زعفران، اثرات ضدسرطانی آن است. اولین گزارش از خواص ضدسرطانی این گیاه توسط گاینر و همکارانش در سال ۱۹۷۶ میلادی ارائه شد (۴). از آن زمان تاکنون مطالعات زیادی مبنی بر اثرات آنتی توموری آن روی سرطان‌های مختلف دهانه رحم، کبد، ریه، کلون، پوست، پانکراس، مثانه و پستان در محیط آزمایشگاهی یا در موجود زنده انجام شده است (۲، ۴). این مطالعه اثرات ضد سرطانی کلاله زعفران و متابولیت‌های اصلی آن را در سه سطح ماکروملکولی، سلولی و حیوانی مرور می‌نماید.

الف- خواص ضد سرطانی کلاله زعفران در سطح ماکرومولکولی در لوله آزمایشگاه

در بیشتر موارد بروز سرطان، به علت صدمات ژنتیکی مکانیسم‌های کنترل‌کننده رشد و تکثیر سلولی دچار نقص شده، تنظیم چرخه سلولی از بین رفته و در نتیجه بدون توجه به نیاز بدن، رشد و تقسیم سلولی انجام می‌گیرد (۷). DNA به علت نقشی که در رونویسی و همانندسازی ماده ژنتیکی هر سلول در مرحله اصلی رشد و تکثیر سلولی دارد، هدف اصلی بسیاری از میانکنش‌های دارویی است (۸). اتصال لیگاند به DNA به سه طریق متفاوت صورت می‌گیرد. (الف) میانکنش با پروتئین‌هایی که از طریق اتصال به DNA، رونویسی را کنترل می‌کنند مانند میانکنش داروهای ضد سرطانی آدریامایسن با هیستون و میتوکسانترون با آنزیم توپوایزومراز (۱۲-۹) (ب) میانکنش با RNA متصل شونده به DNA دو رشته که ساختار سه رشته‌ای یا هیبرید DNA-RNA را تشکیل می‌دهد و از این طریق نواحی تک‌رشته‌ای DNA در معرض قرار گرفته و با فعالیت رونویسی تداخل می‌کند. (ج) لیگاندهای کوچکی که به‌صورت مستقیم به DNA دو رشته‌ای متصل می‌شوند. لیگاندهای کوچک ممکن است، بین دو رشته‌ی DNA فرو روند که در این صورت به آن‌ها فرو رونده گفته می‌شود، به شکاف کوچک یا بزرگ DNA متصل شوند، میانکنش

الکتروستاتیکی با گروه‌های فسفات DNA ایجاد و یا ترکیبی از این میانکنش‌ها را با DNA برقرار کنند (۹، ۱۰، ۱۳). در هر یک از سازوکارهای اتصال فوق، رجبندی مناسب بین بازها از بین رفته است. بسیاری از داروهای ضد سرطان مانند سیس پلاتین مستقیماً به DNA متصل شده و با اثر بر ساختار آن، فرآیندهای درون‌سلولی مرتبط، همچون همانندسازی یا رونویسی را، مهار یا کنترل می‌کنند (۶، ۸). میان کنش کاروتنوئیدها (کروسین و کروستین) و مونوترپن آلدئیدهای (سافرانال و پیکروکروسین) کلاله زعفران با DNA و الیگونوکلئوتیدهای غنی از گوانین-سیتوزین و آدنین-تیمین به‌وسیله روش‌های طیف‌سنجی مانند دورنگ نمایی دورانی و اسپکتروفلورومتری بررسی شده است. نتایج این مطالعات نشان داده که این اجزا به شکاف کوچک DNA متصل و در نتیجه تغییرات ساختاری و فضایی DNA، از آرایش B به C القا شده و سپس با به هم ریختن توالی بازها و کاهش پایداری DNA در غلظت های بالای اجزا همراه می‌باشد. پتانسیل و توانایی برقراری میان کنش مابین کاروتنوئید های زعفران و DNA یا الیگونوکلئوتیدها، بیشتر از منوترپن آلدهیدها است. در بین کاروتنوئیدها، میان کنش کروستین با DNA یا الیگونوکلئوتیدها بیشتر از کروسین و در بین منوترپن آلدهیدها، پیکروکروسین بیشتر از سافرانال است (۶، ۸، ۱۴). کاناکیس و همکاران در سال ۲۰۰۷ گزارش داده اند سافرانال، کروستین و دی متیل کروستین به دو صورت خارجی و فرورونده به DNA متصل می‌شوند و در غلظت های بالای کاروتنوئیدها و سافرانال تغییر فضایی DNA از B به A القا می‌شود (۱۵)؛ اما کاروتنوئیدها به دلیل نداشتن حلقه‌های آروماتیکی مسطح، نمی‌توانند به‌عنوان ترکیبات فرورونده بین جفت بازهای DNA مانند اتیدیوم بروماید، عمل کنند (۲). جالب توجه است برخی از داروهای ضد سرطانی که با DNA میانکنش می دهند به توالی های نوکلئوتیدی ویژه ای متصل می‌شوند؛ به‌عنوان مثال، نتروپسین و دیستامایسین آ، از طریق پیوندهای هیدروژنی و واندروالس تنها به نواحی غنی از آدنین-تیمین و برخی نیز مانند اکتینومایسین دی، به توالی هائی غنی از گوانین-سیتوزین متصل می‌شوند (۱۶، ۱۷). بررسی ارجحیت میان کنش کاروتنوئیدها و مونوترپن آلدئیدهای کلاله‌های زعفران با الیگونوکلئوتیدهای ویژه نشان داده است که در میزان میان کنش متابولیت ها به الیگونوکولئوتیدها هیچ گونه ارجحیت اتصال وجود ندارد (۸، ۱۴). مطالعه هوشیار و همکاران نشان داد که سافرانال پس از میان کنش با شکاف کوچک توالی دورشته‌ای الیگونوکلئوتید غنی از گوانین-سیتوزین آرایش سه رشته‌ای H-DNA را تشکیل می‌دهد (۱۴). فرم H-DNA در زمان تراکم، بازشدگی، همانندسازی، رونویسی و رشد سلولی، دیده می‌شود (۱۸)؛ بنابراین القای ساختارهای مختلف DNA مانند H-DNA توسط سافرانال و یا تغییر کنفورماسیون آن توسط سایر متابولیت‌های اصلی زعفران، روی بیان ژن های دخیل در فرآیند سرطان مانند ژن های سرطان زا یا سرکوبگر تومور تاثیر گذار می‌باشند (۱۴).

تلومر های کروموزوم یوکاریوتی در بقای سلول ها نقش بسیار مهمی دارند. تلومرها، تکرارهایی از یک موتیف کوتاه ۸-۵ جفت بازی و محتوی یک بلوک از ۴-۲ گوانین می‌باشند. آن‌ها در طی همانندسازی های پی در پی کوتاه می‌شوند؛ در واقع طول تلومر با بقای سلول ارتباط مستقیم دارد؛ جالب توجه است که همه سلولهای سرطانی طول تلومر را حفظ کرده و این در نامیرا شدن آن‌ها دخالت دارد. در تلومر توالی هایی چهاررشته‌ای با ساختار ثانویه خاص مانند I-motif (غنی از سیتوزین) و G-quadruplex (غنی از گوانین) وجود دارد. این ساختارها تلومرها را پایدار و در نامیرا شدن سلولی و سرطان زایی آن دخالت می‌کنند. ثابت شده است لیگاندهایی که به این دو ساختار متصل می‌شوند با نقش محافظتی تلومر در DNA و بقای سلول تداخل می نمایند برخی مطالعات نشان داده‌اند Sanguinarine، آلکالوئیدی از ریشه ی گیاه Sanguinaria canadendid، از طریق میان کنش با ساختار G-quadruplex در DNA اثرات ضد سرطانی در سلول‌های توموری القا می‌نماید (۱۹، ۲۰). بررسی ها نشان داده است

جدول ۱- مقایسه میزان میان کنش اجزا مهم زعفران با DNA و برخی الیگونوکلئوتیدها (۲)

مقایسه نهایی	لیگاند	تغییر ساختار
DNA	کروسین، پیکروکروسین و سافرانال	C-DNA
	کروستین	Ψ-DNA
توالی های دورشته ای غنی از گوانین-سیتوزین و آدنین-تیمین	کروسین، پیکروکروسین و سافرانال	C-DNA
	کروستین	Ψ-DNA و H-DNA
توالی های چهار رشته ای تلومری I-motif و G-quadruplex	کروسین، پیکروکروسین و سافرانال	حفظ ساختار
	کروستین	بهم ریختگی و ناپایداری

که کاروتنوئیدها و منوترپن آلدئیدهای کلاله زعفران نیز، قادر به اتصال و میان کنش با این ساختارها می‌باشند؛ کروسین، پیکروکروسین و سافرانال در اثر میان کنش با I-motif تغییر ساختاری در آن القا نکرده و سبب پایداری آن می‌شوند؛ از میان آن‌ها میزان میان کنش کروسین و پیکروکروسین بیشتر بوده اما کروستین منجر به تغییر ساختار مذکور می‌شود. هر چهار متابولیت نام برده، با G-quaruplex میان کنش دارند اما تغییر ساختاری در آن القا نمی‌کنند (۲۱، ۲۲)؛ بنابراین می توان یکی از مکانیسم‌های ضدسرطانی ترکیبات اصلی کلاله زعفران را اتصال آن‌ها با ساختارهای تلومری بیان کرد. میزان میان کنش متابولیت‌های مختلف زعفران با DNA و توالی‌های ویژه الیگونوکلئوتیدی در جدول ۱ خلاصه شده است.

بر اساس ساختار شیمیایی RNA که فقط از چهار باز مسطح ساخته شده و نوکلئوتیدها دارای بار منفی می‌باشند به نظر می رسد هدف دارویی نوید بخشی نباشد؛ با این وجود ملکولهای RNA می‌توانند با تشکیل حفره هایی با شکل خاص به ملکول‌های کوچک متصل شوند. اتصال لیگاندهای کوچک به RNA از طریق جلوگیری از اتصال ماکروملکول (پروتئین یا RNA)، تغییر کنفورماسیون فعال RNA، القای یک کنفورماسیون فرعی روی RNA و مهار فعالیت کاتالیزی RNA، بر فعالیت بیولوژیک آن تاثیر گذار می‌باشد (۲۰). برخی از ترکیبات گیاهی ضدسرطانی مانند کورکومین موجود در زردچوبه (۲۰) و سافرانال و کروستین موجود در کلاله زعفران با RNA میان کنش دارند (۲۳).

در هنگام شروع رونویسی از ژن ها، قبل از اتصال عوامل رونویسی به ژن، باید DNA از هیستون‌ها جدا شود و به این منظور دگرگونی‌های مختلفی در سطح هیستون ها صورت می‌گیرد. از جمله این دگرگونی‌ها می‌توان استیله شدن، فسفریله شدن و متیله شدن آن‌ها را نام برد. همچنین عوامل مختلف فیزیولوژیک، پاتولوژیک و دارویی در داخل سلول بر میانکنش DNA-هیستون تاثیر می گذارند. این میان کنش را سست و به این ترتیب شرایط را برای حمله عوامل رونویسی به DNA فراهم می نمایند. از میان پروتئین های هیستون، ساختار کروماتین به شدت تحت تاثیر ساختار هیستون رابط (H1) می‌باشد. کاروتنوئیدها و منوترپن آلدئیدهای کلاله زعفران با هیستون H1 میانکنش داده و منجر به باز شدن تاخوردگی های کروماتین در نواحی خاص مانند ژن های سرکوبگر تومور می‌شوند (۶، ۲۴). مقایسه تاثیر کاروتنوئیدها و منوترپن آلدئیدهای زعفران بر کاهش تشکیل کمپلکس هیستون H1 با DNA نشان داده که به ترتیب اثر کاهندگی کروستین و سافرانال در مقایسه با کروسین و پیکروکروسین بیشتر می‌باشد (۲۴، ۲۵).

ب- خواص ضد سرطانی کلاله زعفران در سطح سلولی در محیط آزمایشگاه *(in vitro)*

نتایج متعدد سلولی و مولکولی نشان داده اند که استفاده از کاروتنوئیدها و مونوترپن آلدئیدهای کلاله خشک زعفران در کاهش رشد و تکثیر سلول‌های سرطانی مثل پستان و معده موثر بوده و تاثیر این مواد وابسته به زمان و غلظت ترکیبات می‌باشد (۲). IC50 (غلظت القا کننده ۵۰٪ مرگ سلولی) عصاره زعفران روی رده های سلول سرطانی پستان (MCF-7)، کبدی (HepG2)، دهانه رحم (HeLa)، کلون (HT-29) و پانکراس

(TC1) بـه ترتیـب ۰/۴، ۰/۸، ۰/۹۵، ۰/۹۷ و ۱/۴ میلی گرم بر میلی لیتر بیان شده اسـت. در حـالی که اثر بازدارندگی معنی داری روی رشـد و تکثیـر سلولهای نرمـال فیبروبلاسـت مـوش L929 نشـان نداده است (۱، ۲۶، ۲۷). ۳ میلی گرم بر میلی لیتر عصاره زعفران محتوی ۰/۶ میلـی مـولار کروسـین می‌باشد، بنابراین، بسیاری از اثرات عصاره زعفـران مربوط به این جز است (۱). کروسین در یک رفتار انتخابی وابسته به غلظت و زمان، تکثیـر سـلولهای آدنوکارسینومای معـده (AGS) را مهـار کـرده، در حالی که اثر مهاری معنی داری بر رشـد سـلولهای نرمـال فیبروبلاسـت پوسـت (HFSF-PI3) نـدارد (۲۸).

داروهای ضدسرطان بطور معمول با القاء آپوپتوز (مرگ برنامه ریـزی شـده سـلول) و یـا توقـف در چرخه تقسیم سـلولی باعـث مهـار رشـد و تکثیـر سلولی می گردنـد (۲). مطالعـات متعـددی اشـاره کرده اند که کروسین با افزایش بیان پروتئین پیش آپوپتوزی Bax و کاسپازها و کاهش بیان پـروتئین ضـدآپوپتوزی Bcl-2، آپوپتـوز را در سـلولهای سرطانی القا کرده اند؛ از طرف دیگر توقـف چرخـه سـلولی در سـلولهای سـرطانی معـده، پسـتان، پانکراس، پروستات و مثانه توسط این جزء زعفران گزارش شـده اسـت (۲۶, ۲۸, ۳۵-۳۳). عـلاوه بـر این، ۰/۲ میلی گرم بر میلی لیترکروسین تکثیـر و سنتز اسید نوکلئیک را در سـلولهای کارسـینومای زبـان (Tca8113) مهـار کـرده و منجـر بـه القـای آپوپتوز می‌شود (۲۹). سلولهای سرطانی، بـرخلاف سلولهای نرمال به علت فعالیت زیاد آنـزیم DNA-پلیمراز وابسته به RNA (تلـومراز) و حفـظ تلـومر انتهای کروموزوم، نامیرا می‌باشند. مشـخص شـده که فعالیت آنزیم تلومراز سلولهای هپاتوکارسـینوما بعد از تیمار با کروسین کاهش می یابد (۳۰).

اثر سمیت کروسـتین، کاروتنوئیـد دیگـر کلالـه زعفـران، در سـلولهای سـرطانی کلـون (SW480، NIH3T3) و معده (AGS) مشاهده شده است؛ در حالی که مانند کروسین، اثر مهاری معنی داری بر رشد و تکثیر سلولهای نرمال فیبروبلاسـت پوسـت (HFSF-PI3) نداشـته اسـت (۳۶, ۳۷). مطالعـه همزمان اثر ضدسرطانی کروسین و کروستین روی پنج رده سلولی سرطان انسـانی (A549، HepG2، HCT-116، HeLa و SK-OV-3) نشان داده است که سمیت سلولی کروستین ۱۸-۵ برابـر بیشـتر از کروسین می‌باشد (۰/۲-۰/۰۵ میلی گرم بـر میلـی

جدول ۲- IC50 کلاله زعفران و متابولیت‌های آن در رده های مختلف سلول سرطانی

ترکیب گیاهی	رده سلول سرطانی	IC50 (میلی گرم بر میلی لیتر)	منبع
عصاره زعفران	MCF-7 (پستان)	۰/۴	(۲۶)
	HepG2 (کبد)	۰/۸	(۲۷)
	HeLa (دهانه رحم)	۰/۹۵	(۲۷)
	TC1 (پانکراس)	۴	(۱)
کروستین	AGS (معده)	۰/۳	(۳۷)
	SW480 (کلون)	۰/۲	(۳۶)
	A549 (ریه)، HepG2 (کبد)، HCT-116 (کلورکتال)، HeLa (دهانه رحم) و SK-OV-3 (تخمدان)	۰/۲-۰/۰۵	(۳۸)
کروسین	AGS (معده)	۲/۷	(۲۸)
	HepG2 (کبد)	۳	(۳۰)
	HL-60 (لوسمی)	۲/۵	(۲۹)
	HT-29 (کلون)	۰/۹۷	(۳۱)
	Tea8113 (زبان)	۰/۲	(۲۹)
	TC1 (پانکراس)	۱/۴	(۱)
سافرانال	HeLa (دهانه رحم)	۰/۱۲	(۴۲)
پیکروکروسین	HeLa(دهانه رحم)	۱	(۴۲)
	TC1 (پانکراس)	۱	(۱)

لیتر کروستین و ۵/۳-۱/۹ میلی گرم بر میلی لیتر کروسین). این مطالعه، افزایش سطح رادیکال‌های آزاد سلولی را به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های ضد سرطانی کروستین پیشنهاد می‌کند که مشابه عملکرد برخی از داروهای ضد سرطانی مانند ۵-فلوئواوراسیل می‌باشد (۳۸، ۳۹). یکی از مشکلاتی که در درمان سرطان مطرح است، تهاجم بافتی و گسترش سلولهای سرطانی از طریق سیستم لنفاوی و یا گردش خون به سایر نقاط بدن است (متاستاز)؛ و از عوامل تاثیرگذار بر این فرآیند، افزایش بیان آنزیم متالوپروتئیناز ماتریکس توسط سلولهای تومور یا استرومایی می‌باشد. مطالعه ای نشان داده است که کروستین تهاجم رده سلول سرطانی پستان MDA-MB-231 را با کاهش بیان آنزیم مسئول متاستاز (متالوپروتئیناز ماتریکس) مهار می‌کند (۴۰).

با وجود اینکه اثرات آنتی‌اکسیدانی سافرانال گزارش شده، اثرات ضد توموری آن مبهم می‌باشد. یک مطالعه پیش بالینی، حساسیت بالای سلولهای نوروبلاستوما (N2A) به مهار رشد و القای آپوپتوز به واسطه سافرانال را در یک رفتار وابسته به غلظت و زمان نشان داده است (۴۱). همچنین سمیت ۰/۱۲ میلی گرم بر میلی لیتر این جزء زعفران در رده ی سلولی سرطان دهانه رحم HeLa گزارش شده است (۴۲).

اثر سمیت سلولی یک میلی گرم بر میلی لیتر پیکروکروسین، مونوترپن آلدهید پیشساز سافرانال، روی سلولهای سرطانی دهانه رحم HeLa و TC1 نشان داده شده است (۱, ۴۲). با توجه به جدول ۲ در بین کاروتنوئیدها و مونوترپن آلدئیدهای کلاله زعفران، کروستین دارای IC50 کمتری روی سلولهای سرطانی مختلف بوده و بنابراین از سایر متابولیت‌های ثانویه ی زعفران موثرتر می‌باشد (۳۷).

ج- خواص ضد سرطانی زعفران در سطح موجود زنده *(in vivo)*

مطالعه اثرات ضد سرطانی زعفران و متابولیت‌های اصلی آن در مدل های حیوانی، تایید کننده اثر ضد توموری آن‌ها در مطالعات سلولی و ملکولی است. در چندین مطالعه اثر کلاله زعفران و اجزای مهم آن روی سرطان پستان القا شده توسط نیتروز آمین اوره در موش های صحرایی ماده در مراحل پیشگیری و درمان بررسی شده و نتیجه بیانگر مؤثر بودن آن‌ها در مهار رشد تومورها و کاهش تعداد تومورها می‌باشد (۴۳). عصاره آبی زعفران و کروستین، پیشرفت سرطان معده القا شده با متیل نیترو نیتروز گوانیدین در رت ها را در یک رفتار وابسته به غلظت، مهار می‌کند. جالب توجه است که در انتهای آزمایش ۲۰٪ از رت های سرطانی تیمار شده با غلظت های بالای عصاره آبی زعفران، به طور کامل نرمال بودند و هیچ توموری در گروه تیمار شده وجود نداشت (۳۷, ۴۴). به علاوه، کروستین، برخی شاخص های بیوشیمیایی شامل فعالیت آنتی اکسیدانتی و لاکتات دهیدروژناز را در سرم رت معکوس می‌کند (۳۷). اثرات ضد توموری عصاره زعفران روی سرطان پوست در موش ها به واسطه افزایش بقا، اثر روی سنتز DNA، جلوگیری از کاهش وزن، تأخیر در بروز تومور و کاهش تعداد آن‌ها بوده است (۴۵). همچنین تجویز خوراکی عصاره زعفران به میزان ۲۰۰ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، رشد تومورهای آسیت مشتق شده از سارکومای ۱۸۰ (S-180)، کارسینومای آسیت ارلیخ (EAC) و آسیت های لنفوم دالتون (DLA) را به‌صورت وابسته به غلظت مهار می‌کند و طول عمر موش‌های سرطانی درمان شده را افزایش می‌دهد (۴۶).

اثر ضد توموری کروستین و کروسین در مدلهای حیوانی سرطان های ریه، پانکراس و مثانه نیز گزارش شده است (۳۵, ۴۷، ۴۸). در مطالعه ای نشان داده شده که درمان طولانی مدت آدنوکارسینومای کلون در موش صحرایی با کروسین منجر به افزایش بقا رت های ماده و کاهش رشد تومور می‌شود (۴۹). در برخی مطالعات حیوانی، LD50 (غلظتی که منجر به مرگ ۵۰٪ حیوانات می‌شود) عصاره کلاله خشک زعفران ۱/۶ و ۲۰/۷ گرم برکیلوگرم وزن موش (۵۰، ۵۱) و LD50 کروسین ۳ گرم برکیلوگرم وزن موش (۵۲) گزارش شده است. نتایج مطالعه‌ای دیگر حاکی از آن است که غلظت های

جدول ۳- مکانیسم‌های مولکولی برخی از اثرات ضد سرطانی کلاله زعفران و متابولیت‌های فعال آن

ترکیب گیاهی	مکانیسم پیشنهادی
کلاله زعفران	پایداری در مقابل پرتوافکنی
	مهار فرایند همانندسازی
کاروتنوئیدهای کلاله زغفران	تبدیل متابولیکی کاروتنوئیدها به رتنوئیدها
	واکنش با توپوایزومراز II
	مهار فعال‌سازی سیتو کروم C و کاسپاز – ۳
کلاله زعفران و کاروتنوئیدهای آن	افزایش ترکیبات تیولی داخل سلولی
	القاء آپوپتوز
	مهار فعالیت اختصاصی برخی از آنزیم‌های سلولی
	مهار واکنش‌های زنجیره‌ای رادیکالی
	مهار تکثیر سلولی

مورد استفاده کروسین در درمان بیماری‌های مختلف، هیچ اثر سمی روی کبد موش‌های نرمال ندارد (۵۳). همچنین، مطالعات بالینی، اثر محافظتی کروسین در افراد سالم و بیماران مبتلا به اسکیزوفرنی را نشان داده اند (۵۲، ۵۴). مطالعه مقایسه ای اثرات ضد توموری واکسن E7- DNA /NT (gp-96)، کروسین و و ترکیب این دو، نشان داده است که کروسین به تنهایی، اثر محافظتی بسیار بالاتری در مقایسه با واکسن DNA و ترکیب واکسن DNA-کروسین دارد؛ و این اطلاعات کروسین را به‌عنوان یک عامل شیمی-پیشگیری بسیار موثر معرفی می‌کند (۵۵). با توجه به تحقیقاتی که تا به امروز بر روی خواص ضدسرطانی کلاله زعفران انجام شده، مکانیسم‌های پیشنهادی برخی از اثرات ضد سرطانی زعفران و متابولیت‌های فعال آن در جدول ۳ آورده شده است. همان طور که بیان شده است عصاره کلاله زعفران و اجزا آن با مکانیسم‌های مختلفی رشد و تکثیر تومورها را کاهش می دهند. قابل ذکر است که تا کنون هیچ مطالعه بالینی در ارتباط با اثرات ضدتوموری کلاله زعفران در انسان‌های مبتلا به سرطان انجام نگردیده است.

نتیجه گیری

امروزه شیوع سرطان در کشورهای توسعه یافته و در حال توسعه به شکل قابل توجهی، افزایش یافته است. بسیاری از درمان های رایج سرطان مانند شیمی درمانی و پرتودرمانی به علت اثر بر سلول‌های نرمال، عوارض جانبی زیادی را به همراه داشته و ممکن است در بیماران مقاومت به درمان را ایجاد نمایند. لذا شناسایی داروهای گیاهی با بیشترین اثر ضدسرطانی و کمترین عوارض جانبی که منجر به افزایش طول عمر و کیفیت زندگی بیمار سرطانی می‌شوند از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است؛ بنابراین مطالعات در دهه‌های اخیر پیشنهاد می‌کنند که کلاله زعفران و متابولیت‌های ثانویه آن، به علت خاصیت ضد توموری موثر می‌توانند به‌عنوان عواملی طبیعی ایمن در پیشگیری و درمان انواع سرطان ها بسیار موردتوجه قرار بگیرند.

منابع

1. Bolhassani A, Khavari A, Bathaie SZ. Saffron and natural carotenoids: Biochemical activities and anti-tumor effects. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer 2014;1845(1):20-30.
2. Hoshyar R, Pouyan M. Anticancer properties of saffron herb: Fekrebekr; 2015.
3. Bathaie SZ, Tamanoi F. The enzymes: Natural products and cnacer signaling: isoprenoids, polyphenols and flavonoids: Academic Press; 2014.
4. Bathaie SZ, Mousavi SZ. New applications and mechanisms of action of saffron and its important ingredients. Critical reviews in food science and nutrition. 2010;50(8):761-786.
5. Hoshyar R, Bathaie SZ, Etemadikia B. Quantitative and comparative analysis of major metabolites (crocin, picrocrocin and safranal) in different packages of Iranian saffron by HPLC. Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology. 2010;13(2):63-71.
6. Bathaie S, Ashrafi M, Bolhasani A, Etemadi-Kia B, Moosavi-Movahedi A. Purification of carotenoids and monoterpen aldehydes from Iranian

2. Bhadoriya SS, Mangal A, Dixit P, Parihar M. Herbal drugs targeting DNA and RNA. Int. Res J Pharm. App Sci. 2012; 2(1): 75-84.

21. Hoshyar R, Bathaie SZ, Kyani A, Mousavi MF. Is there any interaction between telomeric DNA structures, G-quadruplex and I-motif, with saffron active metabolites? Nucleosides, Nucleotides and Nucleic Acids. 2012;31(11):801-812.

22. Houshyar R. The preference of interaction of saffron's molecular components for oligonucleotides and their effect on H1-oligonucleotide complexes in the in vitro studies Tehran: Tarbiat modares university; 2008.

23. Kanakis C, Tarantilis P, Pappas C, Bariyanga J, Tajmir-Riahi H, Polissiou M. An overview of structural features of DNA and RNA complexes with saffron compounds: Models and antioxidant activity. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2009;95(3):204-212.

24. Ashrafi M, Bathaie S, Taghikhani M, Moosavi-Movahedi A. The effect of carotenoids obtained from saffron on histone HI structure and H1-DNA interaction. International Journal of Biological Macromolecules. 2005;36:246–252.

25. Houshyar R. The preference of interaction of saffron's molecular components for oligonucleotides and their effect on H1-oligonucleotide complexes in the in vitrostudies. Tehran: Tarbiat Modares University; 2008.

26. Mousavi SH, Tavakkol-Afshari J, Brook A, Jafari-Anarkooli I. Role of caspases and Bax protein in saffron-induced apoptosis in MCF-7 cells. Food and Chemical Toxicology. 2009;47(8):1909-1913.

27. Tavakkol-Afshari J, Brook A, Mousavi SH. Study of cytotoxic and apoptogenic properties of saffron extract in human cancer cell lines. Food and Chemical Toxicology. 2008;46(11):3443-3447.

28. Hoshyar R, Bathaie SZ, Sadeghizadeh M. Crocin triggers the apoptosis throughincreasing the Bax/Bcl-2 ratio and caspase activation in human gastric adenocarcinoma, AGS, cells. DNA and cell biology. 2013;32(2):50-57.

29. Sun J, Xu X, Ni C, Zhang H, Li X, Zhang C, et al. Crocin inhibits proliferation and nucleic acid synthesis and induces apoptosis in the human tongue squamous cell carcinoma cell line Tca8113. Asian Pac J Cancer Prev. 2011;12(10):2679-2683.

30. Noureini SK, Wink M. Antiproliferative effects of crocin in HepG2 cells by telomerase inhibition and hTERT down-regulation .Asian Pac J Cancer Prev. 2012;13(5):2305-9.

31. Sun Y, Xu HJ, Zhao YX, Wang LZ, Sun LR, Wang Z, et al. Crocin exhibits antitumor effects on human leukemia HL-60 cells in vitro and in vivo. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine. 2013;2013.

32. Martin G, Goh E, Neff A. Evaluation of the developmental toxicity of crocetin on Xenopus. saffron and investigation of their effect on the structure of DNA, Histone H1 and H1–DNA complex. Med Plants Iran. 2006;22(2):85-97.

7. Lodish H, Berk A, Zipursky L, Matsudaira P, Baltimore D, Darnell J. Mol Cell Bio. New York: W.H.Freeman Company 2004.

8. Bathaie SZ, Bolhasani A, Hoshyar R, Ranjbar B, Sabouni F, Moosavi-Movahedi AA. Interaction of saffron carotenoids as anticancer compounds with ctDNA, Oligo (dG. dC) 15, and Oligo (dA. dT) 15. DNA and cell biology. 2007;26(8):533-540.

9. Chaires JB. Drug-DNA interactions. Current opinion in structural biology. 1998;8(3):314-320.

10. Geierstanger BH, Wemmer DE. Complexes of the minor groove of DNA. Annual review of biophysics andbiomolecular structure. 1995;24(1):463-493.

11. Rabbani A, Hagsharifia Tagavi M, Goliaei B. Binding of the antitumor drug adriamycin to DNA-histone complexes. MJIRI. 1993;6(4):275-279.

12. Pommier Y, Leo E, Zhang H, Marchand C. DNA topoisomerases and their poisoning by anticancer and antibacterial drugs. Chemistry & biology. 2010;17(5):421-433.

13. Sirajuddin M, Ali S, Badshah A. Drug–DNA interactions and their study by UV–Visible, fluorescence spectroscopiesand cyclic voltametry. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology. 2013;124:1-19.

14. Hoshyar R, Bathaie SZ, Ashrafi M. Interaction of safranal and picrocrocin with ctDNA and their preferential mechanisms of binding to GC-and AT-rich oligonucleotides. DNA and cell biology. 2008;27(12):665-673.

15. Kanakis CD, Tarantilis PA, Tajmir-Riahi HA, Polissiou MG. DNA interaction with saffron's secondary metabolites safranal, crocetin, and dimethylcrocetin. DNA and cell biology. 2007;26(1):63-70.

16. Kolchinsky A, Mirzabekov A, Zasedatelev A, Gursky G, Zhuze A, Grokhovsky S, et al. On the structure of distamycin-type antibiotics and actinomycin D complexes with DNA: New experimental data on antibiotic localization in the minor DNA groove. Mol. Biol. 1975;9:19-27.

17. Liu X, Chen H, Patel DJ. Solution structure of actinomycin-DNA complexes: drug intercalation at isolated GC sites. Journal of biomolecular NMR. 1991;1(4):323-347.

18. Agazie Y, Burkholder G, Lee J. Triplex DNA in the nucleus: direct binding oftriplex-specific antibodies and their effect on transcription, replication and cell growth. Biochem. J. 1996;316:461-466.

19. Ahmad N, Gupta S, Husain MM, Heiskanen KM, Mukhtar H. Differential antiproliferative and apoptotic response of sanguinarine for cancer cells versus normal cells. Clinical Cancer Research. 2000;6(4):1524-1528.

Food and Chemical Toxicology. 2002;40(7):959-964.

33. Bakshi H, Sam S, Rozati R, Sultan P, Islam T, Rathore B, et al. DNA fragmentation and cell cycle arrest: ahallmark of apoptosis induced by crocin from kashmiri saffron in a human pancreatic cancer cell line. Asian Pac J Cancer Prev. 2010;11(3):675-679.

34. D'Alessandro AM, Mancini A, Lizzi AR, De Simone A, Marroccella CE, Gravina GL, et al. Crocus sativus stigma extract and its major constituent crocin possess significant antiproliferative properties against human prostate cancer. Nutrition and cancer. 2013;65(6):930-942.

35. Zhao P, Luo C, Wu X, Hu H, Lv C, Ji H. Proliferation apoptotic influence of crocin on human bladder cancer T24 cell line. China journal of Chinese materia medica. 2008;33(15):1869-1873.

36. Li CY, Huang WF, Wang QL, Wang F, Cai E, Hu B, et al. Crocetin induces cytotoxicity in colon cancer cells via p53-independent mechanisms. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention. 2012;13(8):3757-3761.

37. Bathaie SZ, Hoshyar R, Miri H, Sadeghizadeh M. Anticancer effects of crocetin in both human adenocarcinoma gastric cancer cells and rat modelof gastric cancer. Biochemistry and Cell Biology. 2013;91(6):397-403.

38. Kim S, Lee J, Kim S, Park C, Lee P. Proposed cytotoxic mechanisms of the saffron carotenoids crocin and crocetin on cancer cell lines. Biochem. Cell Biol. 2014;92:105-111.

39. GorriniC, Harris IS, Mak TW. Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. Nature reviews Drug discovery. 2013;12(12):931-947.

40. Chryssanthi DG, Dedes PG, Karamanos NK, Cordopatis P, Lamari FN. Crocetin Inhibits Invasiveness of MDA-MB-231 Breast Cancer Cells via Downregulation of Matrix Metalloproteinases. Planta medica. 2011;77(2):146.

41. Shoshtari ME, Sargolzaei J, Hossinimoghadam H, Farahzad JA, Samarghandian S. Anti-tumor activity of safranal against neuroblastoma cells. 2012.

42. Escribano J, Alonso G, Coca-Prados M, Fernhdeza J. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (Crocus sativus L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. 1996;100:23-30.

43. Sajjadi M, Bathaei S. The effects of crocin and crocetin on prevention of NMU induced breast cancer infemale rats: M.SC. Thesis, Tehran: Tarbiat Modares University 2011.

44. Bathaie SZ, Miri H, Mohagheghi M-A, Mokhtari-Dizaji M, Shahbazfar A-A, Hasanzadeh H. Saffron aqueous extract inhibits the chemically-induced gastric cancer progression in the Wistar albino rat. Iranian journal of basic medical sciences. 2013;16(1):27.

45. Salomi M, Nair SC, Panikkar K. Inhibitory effects of Nigella sativa and saffron (Crocus sativus) on chemical carcinogenesis in mice. 1991.

46. Correa P. Chronic gastritis :a clinico-pathological classification. The American journal of gastroenterology. 1988;83(5):504-509.

47. Dhar A, Mehta S, Dhar G, Dhar K, Banerjee S, Van Veldhuizen P, et al. Crocetin inhibits pancreatic cancer cell proliferation and tumor progression in a xenograft mouse model. Molecular cancer therapeutics. 2009;8(2):315-323.

48. Magesh V, Singh JPV, Selvendiran K, Ekambaram G, Sakthisekaran D. Antitumour activity of crocetin in accordance to tumor incidence, antioxidant status, drug metabolizing enzymes and histopathological studies. Molecular and cellular biochemistry. 2006;287(1-2):127-135.

49. Garc-Olmo DC, Riese HH, Escribano J, Onta˜´ n J, Fernandez JA, Atiénzar M, et al. Effects of long-term treatment of colon adenocarcinoma with crocin, a carotenoid from saffron (Crocus sativus L :(.an experimental study in the rat. Nutrition and cancer. 1999;35(2):120-126.

50. Modaghegh M-H, Shahabian M, Esmaeili H-A, Rajbai O, Hosseinzadeh H. Safety evaluation of saffron (Crocus sativus) tablets in healthy volunteers. Phytomedicine. 2008;15(12):1032-1037.

51. Abdullaev F, Espinosa-Aguirre J. Biomedical properties of saffron and its potential use in cancer therapy and chemoprevention trials. Cancer Detection and Prevention. 2004;28(6):426-432.

52. Mohamadpour AH, Ayati Z, Parizadeh MR, Rajbai O, Hosseinzadeh H. Safety Evaluation of Crocin (a constituent of saffron) Tablets in Healthy Volunteers. Iranian journal of basic medical sciences. 2013;16(1):39.

53. Taheri F, Bathaie SZ, Ashrafi M, Ghasemi E. Assessment of Crocin Toxicity on the Rat Liver. Modares Journal of Medical Sciences: Pathobiology. 2014;17(3):67-79.

54. Mousavi B, Bathaie SZ, Fadai F, Ashtari Z, Alibeigi N, Farhang S, et al. Safety evaluation of saffron stigma (Crocus sativus L.) aqueous extract and crocin in patients with schizophernia. Avicenna Journal of Phytomedicine 2015.

55. Khavari A, Bolhassani A, Alizadeh F, Bathaie SZ, Balaram P, Agi E, et al. Chemo-immunotherapy using saffron and its ingredients followed by E7-NT (gp96) DNA vaccine generates different anti-tumor effects against tumors expressing the E7 protein of human papillomavirus. Archives of virology. 2014:1-10.

Anticancer effects of saffron stigma (*Crocus Sativus*): a review study

***Reyhane Hoshyar**, Assistant Professor, Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran (*Corresponding author). hooshyar@bums.ac.ir
Seyedeh Elham Mostafavinia, MSc student of Clinical Biochemistry, Faculty of Medicine, Birjand University of Medical Sciences, Birjand, Iran.
Seyedeh Zahra Bathaie, Associate professor, Department of Clinical Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, Tarbiat Modares University, Tehran, Iran.

Abstract

Background: Nowadays one of the most common causes of death is cancer worldwide, which its incidence and mortality rate dramatically increasing in Iran. Saffron herb is locally grown in South Khorasan. The present study reviewed the anticancer properties of saffron stigma on various macromolecule, cell, and animal models. In traditional medicine saffron herb treated many diseases including diabetes, blood pressure and cancer. The modern medical findings indicate that this herb and its active metabolites can be used to produce alternative antitumor drugs. Saffron selectively suppressed growth and proliferation of cancer cells while did not show any inhibitory effect on growth of normal cells. In addition, it reduced the side effects of common therapies. The main components of saffron stigma are monoterpene aldehydes and carotenoides. Its carotenoids, for instance crocin and crocetin, illustrated antioxidant, anticancer and antimutagenic properties more than other metabolites. This review suggested that anti-tumor drugs from saffron stigma can be applied as alternative, safe and promising agents.

Keywords: Saffron Stigma, Cancer, *In vitro*, *In vivo*