

西红花等级标准与抗肿瘤药效的研究进展

陈莹¹, 张怡婷¹, 开国银^{1,*}, 赵德刚², 冯岳^{1,*}

¹浙江中医药大学药学院, 药用植物生物技术实验室, 杭州310053

²贵州大学生命科学学院, 农业生物工程研究院, 山地植物资源保护与种质创新教育部重点实验室, 贵阳550025

*共同通信作者: 冯岳(fengyue@zcmu.edu.cn)、开国银(kaiguoyin@163.com)

摘要: 西红花是鸢尾科植物番红花(*Crocus sativus*)的干燥柱头, 是浙江省特色名贵中药。现代药理学研究表明, 西红花及其提取物具有抗氧化、抗肿瘤等多种药理活性。此外, 在食品加工方面, 西红花被广泛制成茶饮及食用色素和调味剂。因此, 作为一种药食同源的中药材, 西红花具有广阔的市场前景。本文简要介绍西红花质量等级评价标准, 对西红花的生物活性成分及抗肿瘤药效作用的最新研究成果进行重点综述。同时, 初步探讨制定西红花质量评价标准的必要性与对番红花非药用部位的开发利用, 为番红花的后续深度开发提供参考。

关键词: 西红花; 等级标准; 生物活性成分; 抗肿瘤; 药理作用

Advances in the grade standard and anti-tumor efficacy of saffron

CHEN Ying¹, ZHANG Yiting¹, KAI Guoyin^{1,*}, ZHAO Degang², FENG Yue^{1,*}

¹Laboratory of Medicinal Plant Biotechnology, School of Pharmacy, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China

²The Key Laboratory of Plant Resources Conservation and Germplasm Innovation in Mountainous Region (Ministry of Education), Institute of Agro-bioengineering, College of Life Sciences, Guizhou University, Guiyang 550025, China

*Co-corresponding authors: Feng Y (fengyue@zcmu.edu.cn), Kai GY (kaiguoyin@163.com)

Abstract: Saffron is the dry stigma of *Crocus sativus*, which is a famous traditional Chinese medicine in Zhejiang province. Modern pharmacological researches indicate that the saffron extract and its bioactive compounds exhibit variety of pharmacological activities, including anti-oxidation and anti-tumor. In addition, saffron is extensively used for the preparation of herbal teas and serves as edible pigment for seasoning agent in food processing industries. According to traditional Chinese medicine theory, saffron is considered as the “Medicinal and Edible” medicine with extensive market prospect. In this review, the existing quality evaluation criteria for saffron was briefly introduced, and the latest research results on the bioactive components and their anti-tumor efficacy were summarized. At the same time, the necessity to determine the utilization of quality grade standards of non-medicinal parts of *C. sativus* was discussed, laying the foundation for the follow-up depth exploitation of saffron as food and medicine.

Key words: saffron; grade standards; bioactive ingredients; anti-tumor; pharmacological effects

收稿 2020-04-07 修定 2020-05-22

资助 国家自然科学基金(81522049、31571735、31270007)、上海市教委“曙光计划”项目(16SG38)、上海市科委项目(17JC1404300、15430502700)、浙江省科技创新领军人才“万人计划”项目和浙江省高层次创新型卫生人才培养计划。

西红花, 又称藏红花, 是鸢尾科植物番红花 (*Crocus sativus*) 的干燥柱头, 作为一种香料和食用着色剂应用广泛(国家药典委员会2015)。在古阿拉伯、印度和中国文化中, 被当作草药用于治疗各种疾病, 包括癌症(Asadi-Samani等2016)。番红花以雌蕊上部柱头入药, 具有活血化瘀、凉血解毒、解郁安神的疗效(Bhandari 2015; Moradzadeh等2019)。在传统医学中常被用于治疗忧思郁结、胸膈痞闷、月经不调、产后瘀血、跌打损伤等(国家药典委员会2015)。现代药理学研究表明, 西红花及其提取物具有抗氧化、抗焦虑、抗肿瘤、抗精神类疾病、利胆保肝以及治疗糖尿病、预防中老年疾病等多种药理活性(Milajerdi等2016; Rameshrad等2018)。此外, 西红花作为食用色素和调味剂被广泛应用于茶饮等方面(Alavizadeh和Hosseinzadeh 2014; Melnyk等2010)。2014年西红花等15种中药材被列入国家卫生计生委办公厅公布的《按照传统既是食品又是中药材物质目录管理办法(征求意见稿)》。作为一种药食同源的中药材, 西红花具有广阔的市场前景。

番红花的主产区为地中海及伊朗周边地区, 占世界总产量的80%以上(Mykhailenko等2019)。我国1986年引种成功, 并被国家中医药管理局列为重点发展的中药材品种。番红花的染色体为三倍体, 只开花不结种子, 只能依靠球茎无性繁殖。该种植方法管理相对粗放, 柱头的产量和品质均难以保证。市场上一些不法商人向西红花提取物或含有西红花的产品中人为掺杂栀子或从栀子中分离出西红花苷, 以次充好(刘江弟等2017)。此外, 西红花等级与市场价格制订标准以其外观及产地为主, 缺乏客观的评价指标, 市场价格差异较大, 给消费者造成困扰(任红等2016)。目前, 不同产地的不同机构分别制定了各自相对独立的质量等级评价标准对西红花质量等级进行规范。

本文从西红花质量等级评价标准、生物活性成分、抗肿瘤药效作用等方面进行综述, 为番红花这一宝贵药用植物资源的后续深度开发提供参考。

1 西红花等级标准

1.1 西红花质量评价国家标准

中华人民共和国国家质量监督检验检疫总局

和中国国家标准化管理委员会于2017年共同发布了关于西红花规格以及相应试验方法的国家标准(GB/T 22324.1—2017/ISO 3632-1:2011、GB/T 22324.2—2017/ISO 3632-2:2010)。该标准基于番红花柱头的物理、化学指标将其划分为3个等级。同时, 以紫外分光光度法测定藏红花苦素、藏红花醛和藏红花素在各自最大吸收波长下的吸收度为依据, 对柱头的香味强度、芳香度和色度进行划分。然而该方法虽操作简便, 耗时较少, 检测成本低, 但其无法给出各成分的精确含量, 且紫外分光光度法不具有分离功能, 专一性与准确性较差, 会因其他成分在相应波长处存在吸收而干扰指标成分的测定。

1.2 西红花质量评价地方标准

浙江省质量技术监督局发布的关于西红花生产技术规程的地方标准(DB33/T 530—2014)规定了番红花的术语和定义、产地环境、球茎生产、室内培育、花丝采收与烘干、检验方法、标识、包装、贮运及档案管理等内容。该标准虽着重于番红花的生成与加工过程的标准与规范, 对于番红花柱头的质量等级, 仅根据花丝的色泽和形状将其划分为3个等级。但该标准首次对番红花的栽种方法和球茎进行了等级划分: 根据番红花种球的用种量、栽种行距、栽种株距及栽种深度将其划分为4个等级; 根据番红花球茎的净度、单球重和发芽率将其球茎划分为4个等级。根据标准, 低于三级标准的球茎一般当年不能开花, 但可作为繁育用种。

1.3 西红花质量评价团体标准

在2018年底, 中国中药协会发布的关于西红花质量等级的团体标准(T/CATCM 002—2018)。该标准以药用成分含量作为质量评定的指标, 基于西红花苷I和西红花苷II的总含量将番红花柱头分为3个等级(特级、一级和二级), 但该标准不关注柱头的形状、颜色、质地和气味等外观标准。随后, 中华中医药学会发布了关于中药材商品规格等级(西红花)的团体标准(T/CACM 1021.63—2018), 该标准主要关注番红花柱头外观表型指标, 主要依据柱头的药材规格(长度、断碎药材比例、残留黄色花柱长度)将进口西红花划分为4个等级、

国产西红花划分为3个等级。但其对西红花的药用成分含量没有要求。

1.4 西红花质量评价国际标准

国际上广泛使用食品添加剂标准(BS ISO 3632-1:2011及BS ISO 3632-2:2010)对西红花质量等级进行划分。该标准根据物理和化学特性将其分为3个等级,其主要评价指标包括外来物(质量分数)、水分和挥发物含量、总灰分、酸不溶性灰分、冷水可溶性提取物、香味强度(藏红花苦素在257 nm处的最大吸收度)、芳香度(藏红花醛在330 nm处的最大吸收度)、色价(藏红花素在440 nm处的最大吸收度)和人造色素。

2 西红花生物活性成分

通过化学成分分析,在西红花中发现了近150种挥发性和非挥发性化合物,其主要成分包括类胡萝卜素、糖苷、单萜、醛、花青素、类黄酮、维生素、氨基酸、蛋白质、淀粉及矿物质(Mykhalenko等2019)。其中,类胡萝卜素类的西红花酸、西红花苷、苦藏花素及藏红花醛被认为是西红花中最重要的生物活性成分(Rameshrad等2018)。

西红花苷I(crocin I, $C_{44}H_{64}O_{24}$)是一种天然存在的水溶性类胡萝卜素,熔点为186°C,溶于水形成橙色溶液,其含量与番红花柱头的颜色密切相关。结构显示(图1-A),西红花苷I可由龙胆二糖和西红花酸脱水缩合而成。此外,依据其结构中糖基数量与种类可将西红花苷分为西红花苷I、II、V、VI及V(Hoshyar和Mollaei 2017)。大量的动物学实验及细胞实验结果表明,西红花苷I具有抗氧化、抗炎、抗肿瘤等药理作用(Moradzadeh等2019)。

西红花酸(crocetin, $C_{20}H_{24}O_4$)是一种天然的类胡萝卜素二羧酸。熔点为285°C,不溶于水与大部分的有机溶剂。结构显示(图1-B)其具有多不饱和和共轭烯酸结构,西红花酸的葡萄糖基酯由7个共轭双键和4个侧链甲基组成(Moradzadeh等2019)。大量药理研究表明,西红花酸具有改善结肠炎、保护心血管、抗肿瘤等药理作用(Bathaie等2014)。

苦藏花素(picrocrocin, $C_{16}H_{26}O_7$)是西红花苦味的物质基础,同时也是其主要活性成分(Melnyk等2010)。结构如图1-C所示,药效研究表明,其具有显著的抑菌作用,对枯草芽孢杆菌、金黄色葡萄球菌和大肠杆菌均有抑菌活性(陈天翱和陈封政

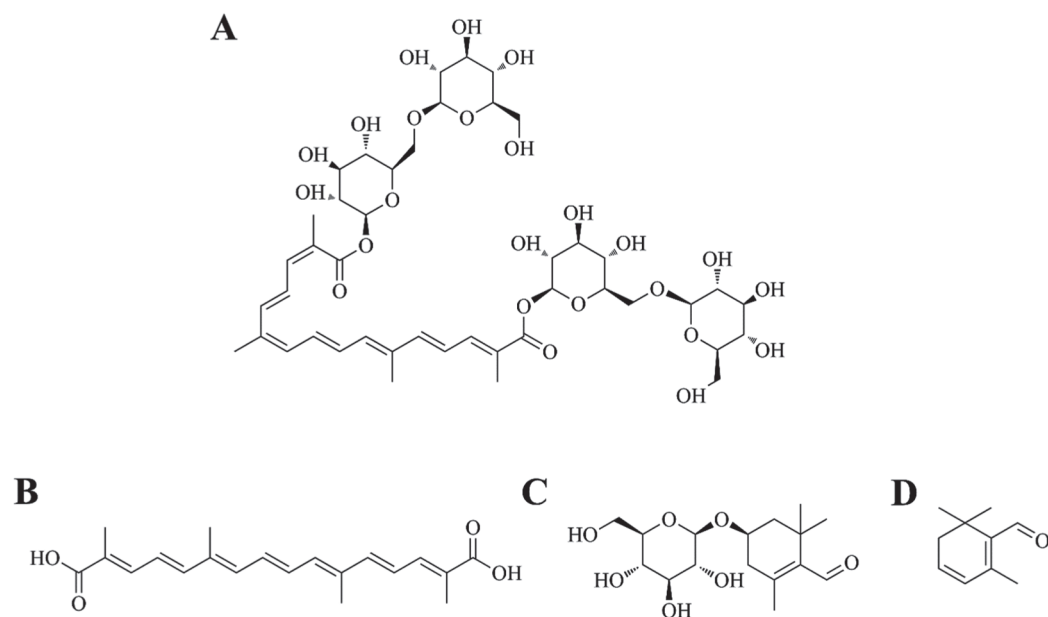


图1 西红花生物活性成分结构图

Fig. 1 Structure of bioactive components in saffron

A: 西红花苷I; B: 西红花酸; C: 苦藏花素; D: 藏红花醛。

2018)。此外, 药理学研究主要集中在其抗肿瘤活性方面(Kyriakoudi等2015), 苦藏花素具有抗能够显著抑制人结肠腺癌细胞(Caco-2)和肝癌细胞(HepG2)的增殖。

藏红花醛(safranal, $C_{10}H_{14}O_7$)既是番红花挥发油的主要成分(占挥发组分的60%~70%), 也是番红花干燥柱头独特香气的物质基础(Tamaddonfard等2019)。结构显示(图1-D), 它是一种环状萜烯醛。研究表明, 由于新鲜的柱头中不含藏红花醛, 藏红花醛可能是在柱头干燥和贮藏的过程中由苦藏花素及其苷元4-羟基-2,6,6-三甲基-1-环己酮-1-羧醛产生的(Mykhailenko等2019)。药理研究表明, 藏红花醛具有抗惊厥、预防老年痴呆、减轻抑郁和抗精神分裂等神经疾病作用(Rameshrad等2018)。

3 西红花抗肿瘤药理作用

癌症是世界范围内面临的主要公共卫生问题, 已成为全球疾病死亡的主要原因之一(Siegel等2016)。传统的治疗方法包括手术、放疗和化疗。手术切除肿瘤是极具侵入性的, 化疗和放疗伴随着疼痛、疲劳、骨质疏松、认知功能障碍、肺功能障碍和情绪困扰等副作用。因此, 开发新的、毒性更小的药物来改善预后、减少副作用和发病率对于癌症的治疗至关重要。服用合成或天然药物被认为在预防癌症方面潜力较大。已有研究发现, 药用植物和草药是合成药物的良好替代品, 并可作为一种潜在的癌症预防药物(Salehi等2018; Sharifi-Rad等2018)。番红花作为传统药食同源的药用植物, 大量的药理研究已证明其具有良好的抗肿瘤药效(Bhandari 2015; Hoshyar和Mollaei 2017; Mollaei等2017; Mykhailenko等2019)。以下将主要的探讨其抗肿瘤药效作用及其机理。

3.1 抗宫颈癌

宫颈癌是全球女性癌症相关死亡的重要原因(Liontos等2019)。大量研究表明西红花提取物对宫颈癌细胞有明显的抑制作用。如Mollaei等(2017)发现西红花苷对宫颈癌敏感细胞株(OV2008)和宫颈癌耐药细胞株(C13)均具有抗增殖和促凋亡活性, 且该药效作用呈现出时间与剂量的依赖性; Hoechst荧光染色法及流式细胞分析显示, 西红花

苷可通过诱导细胞凋亡实现其对宫颈癌细胞的抗增殖药效; 荧光定量聚合酶链式反应分析表明, 1.5和3 $g \cdot L^{-1}$ 的西红花苷可下调B淋巴细胞瘤-2 (B-cell lymphoma-2, Bcl-2)和microRNA-365的表达水平, 同时上调两种细胞系中Bax (Bcl-2 associated X)和p53的表达水平。上述研究认为西红花苷可作为宫颈癌治疗的辅助剂。Cheriyamundath等(2018)研究表明, 藏红花醛可通过干扰HeLa细胞中微管蛋白的二级结构, 抑制其在冷诱导解体后的恢复, 从而以浓度依赖的方式抑制HeLa细胞活力, 表明藏红花醛可将微管蛋白作为其抗宫颈癌细胞增殖的靶点。

此外, Bakshi等(2016)分别利用西红花乙醇提取物处理宫颈癌细胞HEp-2及正常白化病小鼠, 并评价其体外细胞毒性与体内临床前毒性。研究结果表明, 西红花乙醇提取物以剂量依赖方式对HEp-2产生致死效应, 同时, 其对正常白化病小鼠的心、肝、脾、肺、肾等组织器官没有影响。Jiang等(2018)也得到了类似的研究结果, 进一步证实西红花苷可能成为宫颈癌临床应用的潜在药物。

3.2 抗肝癌

肝癌仍然是全球癌症相关死亡的重要原因(Nakagawa等2019)。Liu等(2019)发现西红花对肝癌细胞QGY-7703有显著的抑制效果, 其将肝癌细胞阻滞于 G_0/G_1 期, 进而抑制细胞生长并诱导细胞凋亡。此外, 西红花还能明显降低QGY-7703细胞端粒酶活性及其水平。免疫印迹分析显示, 在西红花处理的细胞中, Bax/Bcl-2比值升高, p21表达增加; 同时衰老细胞数量显著增加, 细胞形态发生明显变化。Amin等(2016)证实了西红花苷对化学诱导的大鼠肝癌组织具有抗增殖和促凋亡作用。同时, 通过体外分析实验证实了西红花苷在S期和 G_2/M 期阻断HepG2细胞周期生长, 诱导细胞凋亡, 缓解炎症反应。

此外, 西红花提取物中各药效物质对肝癌细胞的药理作用各不相同。其中西红花苷可通过抑制蛋白激酶B (protein kinase B, Akt)-哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR)信号通路中p-Akt (S473)、p-mTOR (S2448)、p-p70核糖体蛋白S6激酶(ribosomal protein S6 kinase,

p70S6K) (T389)等关键蛋白的活性诱导肝癌细胞发生自噬性凋亡(Yao等2018)。Kim和Park (2018)研究表明, 西红花苷亦可通过抑制信号转导和转录激活因子3 (signal transducing activator of transcription 3, STAT3)信号通路中JAK激酶(Janus kinase, JAK) 1、JAK2的活性, 进而促进由白细胞介素-6激活的肝癌细胞程序性凋亡。而藏红花醛则通过诱导DNA双链断裂使肝癌细胞周期阻滞在G₂/M期, 同时, 可上调内质网信号传感蛋白半胱氨酸蛋白酶诱导其凋亡(Al-Hrouf等2018)。综上所述, 西红花可作为一种潜在的肝癌化疗药物。

3.3 抗胃癌

胃癌在所有癌症中占比约为20% (Williams 2013)。Hoshyar等(2013)研究了西红花苷在胃癌AGS细胞中的作用机制。结果表明, 西红花苷以剂量和时间依赖方式在胃癌AGS细胞中产生细胞毒作用。流式细胞分析和半胱氨酸蛋白酶活性评估进一步证实了西红花苷诱导的细胞凋亡。Luo等(2017)研究表明, 西红花苷与顺铂联用能显著增加胃癌BGC-823细胞中p53、Bax等与凋亡相关的蛋白的表达水平, 进而促进BGC-823凋亡并对其生长产生抑制作用, 这一结果也被其他的研究者证实(He等2014)。

Bathaie等(2013)探讨了西红花水提取物对由1-甲基-3-硝基-1-硝基胍诱导的大鼠胃癌的治疗作用。实验结果显示, 服用高剂量西红花水提取物的大鼠中有20%完全正常。流式细胞术与碘化丙啶染色分析显示, 经西红花水提取物治疗胃癌大鼠, 其细胞凋亡增加, 表明西红花水提取物对由1-甲基-3-硝基-1-硝基胍诱导的大鼠胃癌有抑制作用。总之, 西红花可作为一种潜在的胃癌化疗药物。

3.4 抗胰腺癌

胰腺癌是世界上最致命的癌症之一。大量研究证明, 西红花苷和西红花酸在体内与体外均具有抗胰腺癌活性(Bhandari 2015; Moradzadeh等2019)。在体外研究中, Bakshi等(2010)发现西红花苷能通过诱导人胰腺癌细胞系BxPC-3停止生长及促进凋亡产生抗癌作用。Dhar等(2009)研究表明西红花酸能通过增加与凋亡相关蛋白Bax/Bcl-2的比值促进细胞凋亡, 进而抑制患胰腺癌小鼠肿瘤

细胞的增殖和发展。Rangarajan等(2015)研究表明, 西红花酸以剂量依赖性和时间依赖性等形式抑制胰腺癌细胞株增殖与促进凋亡。进一步分析表明, 该化合物显著抑制表皮生长因子受体和Akt磷酸化。同时, 与对照组相比, 西红花酸以剂量依赖的方式降低肿瘤小鼠体内胰腺癌细胞的数量和大小。随后, 通过分析发现, 西红花酸抑制音猬因子信号通路中平滑受体蛋白的表达水平, 进而抑制了小鼠移植瘤的生长。上述结果表明, 西红花可以作为一种潜在的胰腺癌化疗药物。

3.5 抗前列腺癌

前列腺癌具有发病率高、发病年龄大、病程进展缓慢、治疗费用高等特征, 使得其诊断和治疗是泌尿科医师面临的特殊挑战。D'Alessandro等(2013)测定了西红花提取物及主要成分西红花苷对5种不同的恶性前列腺癌细胞株和2种非恶性前列腺癌细胞株的抗增殖活性。实验结果显示, 西红花提取物和西红花苷均以时间和浓度依赖性抑制所有恶性前列腺癌细胞系的增殖, 但对非恶性前列腺癌细胞没有影响。进一步通过流式细胞检测发现, 大量的恶性前列腺癌细胞均处于G₀/G₁期; Western blot检测显示, 与凋亡相关的Bax表达上调, Bcl-2表达下降。这些结果表明, 西红花提取物和西红花苷均可抑制前列腺癌细胞增殖, 抑制细胞周期发育, 诱导细胞凋亡。此外, Samarghandian和Shabestari (2013)的临床前研究也表明藏红花醛对前列腺癌细胞系的生长和凋亡有重要的影响。这些结果表明, 西红花可作为一种潜在的前列腺癌化疗药物。

3.6 抗乳腺癌

乳腺癌是全球女性最常见的恶性肿瘤, Siegel等(2016)指出2016年乳腺癌将占女性新诊断癌症病例的29%。Lu等(2015)研究则表明, 10~50 mg·L⁻¹的西红花素能抑制MCF-7细胞的增殖, 同时可通过激活caspase-8, 上调Bax, 破坏线粒体膜电位, 释放细胞色素C等多个线粒体信号通路促进乳腺癌细胞凋亡。Sajjadi和Bathaie (2017)研究表明, 采用灌胃给药西红花苷和西红花酸均可降低大鼠乳腺癌肿瘤细胞的生长, 然而西红花酸的抗肿瘤效果明显优于西红花苷。Ashrafi等(2015)发现, 西红花苷

可通过下调乳腺癌肿瘤中细胞周期蛋白(cyclin D1)和p21Cip1的表达抑制乳腺癌细胞的周期发育。Arzi等(2018)研究表明西红花苷和西红花酸可通过细胞外因子(Wnt)/ β -连环蛋白途径信号通路抑制三阴性转移性乳腺癌细胞(4T1)的迁移和侵袭,也能减弱细胞外基质的黏附。这些结果表明,西红花可作为一种潜在的乳腺癌化疗药物。

4 讨论与展望

番红花是一种传统的中药材,在透疹凉解汤、藏药珍珠丸、虎骨熊油膏等多个方剂中被广泛应用,具有重要的药理价值与市场价值。在国际上西红花被誉为“红色金子”,为最昂贵的食用香料与调味剂。然而,番红花的传统种植模式管理相对粗放,柱头产量和品质均难以保证。同时,为提高西红花苷含量,市售番红花的产品常常掺杂栀子提取物,以次充好。此外,由于缺乏统一的行业公认的质量评价标准,西红花的质量层次不齐,极大影响着西红花的品质。因此,制定更为严格的西红花质量评价标准将规范西红花的生产加工、质量控制、等级评价,保护和发展药材优质资源,具有十分重要的意义。

在番红花柱头生成过程中,花瓣等非药用部位的产量非常大,这些部位常常被作为废弃物而抛弃。然而,这些废弃物是潜在的生物活性化合物的重要来源。这些生物活性物质往往具有多种药理作用,可作为食品、医药产品和食品补充剂的功能成分(陈娜和杨滨2018)。现代药理学研究表明,番红花花瓣提取物具有一定的镇痛、降血压、抗抑郁作用。在这些花瓣提取物中,山柰酚-3-*O*-槐糖苷、槲皮素-3-*O*-槐糖苷及异鼠李素-3-*O*-葡萄糖苷等的含量占比最大。Verjee等(2017)研究表明,番红花花瓣丙酮提取物以及山柰酚-3-*O*-槐糖苷局部应用于人体体表,具有促进体表伤口愈合和抗炎的作用。槲皮素-3-*O*-槐糖苷为槲皮素的双糖苷,具有显著的抗糖尿病药理作用, Lee等(2016)研究通过对3T3-L1脂肪细胞和大鼠原代肝细胞进行葡萄糖摄取测定,表明槲皮素-3-*O*-槐糖苷能够调控PI3K/AKT途径,从而起到降糖作用。因此,如何深度挖掘出番红花非药用部位中的药效物质,明确

其药效作用与药理机制,将有助于番红花整体市场价值的提升。

综上所述,制定西红花的质量评价标准将有利于规范西红花的品质,提升其品质资源,同时对非药用部位的深度开发将有助于提升番红花非药用部位的市场价值。

参考文献(References)

- Alavizadeh SH, Hosseinzadeh H (2014). Bioactivity assessment and toxicity of crocin: a comprehensive review. *Food Chem Toxicol*, 64: 65–80
- Al-Hrouf A, Chaiboonchoe A, Khraiweh B, et al (2018). Safranal induces DNA double-strand breakage and ER-stress-mediated cell death in hepatocellular carcinoma cells. *Sci Rep*, 8: 16951
- Amin A, Hamza AA, Daoud S, et al (2016). Saffron-based crocin prevents early lesions of liver cancer: *in vivo*, *in vitro* and network analyses. *Recent Pat Anticancer Drug Discov*, 11 (1): 121–133
- Arzi L, Riazi G, Sadeghizadeh M, et al (2018). A comparative study on anti-invasion, antimigration, and antiadhesion effects of the bioactive carotenoids of saffron on 4T1 breast cancer cells through their effects on Wnt/ β -catenin pathway genes. *DNA Cell Biol*, 37 (8): 697–707
- Asadi-Samani M, Kooti W, Aslani E, et al (2016). A systematic review of Iran's medicinal plants with anticancer effects. *J Evid Based Complementary Altern Med*, 21 (2): 143–153
- Ashrafi M, Bathaie SZ, Abroun S, et al (2015). Effect of crocin on cell cycle regulators in *N*-nitroso-*N*-methylurea-induced breast cancer in rats. *DNA Cell Biol*, 34 (11): 684–691
- Bakshi HA, Hakkim FL, Sam S, et al (2016). Assessment of *in vitro* cytotoxicity of saffron (*Crocus sativus* L.) on cervical cancer cells (HEp-2) and their *in vivo* pre-clinical toxicity in normal swiss albino mice. *Int J Herbal Med*, 4: 80–83
- Bakshi HA, Sam S, Rozati R, et al (2010). DNA fragmentation and cell cycle arrest: a hallmark of apoptosis induced by crocin from kashmiri saffron in a human pancreatic cancer cell line. *Asian Pac J Cancer Prev*, 11 (3): 675–679
- Bathaie SZ, Farajzade A, Hoshyar R (2014). A review of the chemistry and uses of crocins and crocetin, the carotenoid natural dyes in saffron, with particular emphasis on applications as colorants including their use as biological stains. *Biotech Histochem*, 89 (6): 401–411
- Bathaie SZ, Miri H, Mohagheghi MA, et al (2013). Saffron aqueous extract inhibits the chemically-induced gastric

- cancer progression in the wistar albino rat. Iran J Basic Med Sci, 16 (1): 27–38
- Bhandari PR (2015). *Crocus sativus* L. (saffron) for cancer chemoprevention: a mini review. J Tradit Complement Med, 5 (2): 81–87
- Chen N, Yang B (2018). Research progress of chemical components and pharmacological effects of non-medicinal parts of *Crocus sativus*. China J Chin Mater Med, 43 (14): 2884–2891 (in Chinese with English abstract) [陈娜, 杨滨(2018). 西红花非药用部位化学成分和药理作用研究进展. 中国中药杂志, 43 (14): 2884–2891]
- Chen TA, Chen FZ (2018). Structural identification and antimicrobial activity of picrocrocin from the stigmas of *Crocus sativus*. Biol Chem Eng, 4 (5): 8–10, 14 (in Chinese with English abstract) [陈天翱, 陈封政(2018). 西红花中苦藏花素的分离及抑菌研究. 生物化工, 4 (5): 8–10, 14]
- Cheriyamundath S, Choudhary S, Lopus M (2018). Safranal inhibits HeLa cell viability by perturbing the reassembly potential of microtubules. Phytother Res, 32 (1): 170–173
- Chinese Pharmacopoeia Commission (2015). Chinese Pharmacopoeia: Vol.1. Beijing: Chinese Medical Science and Technology Press, 129–130 (in Chinese) [国家药典委员会(2015). 中国药典: 一部. 北京: 中国医药科技出版社, 129–130]
- D'Alessandro AM, Mancini A, Lizzi AR, et al (2013). *Crocus sativus* stigma extract and its major constituent crocin possess significant antiproliferative properties against human prostate cancer. Nutr Cancer, 65 (6): 930–942
- Dhar A, Mehta S, Dhar G, et al (2009). Crocetin inhibits pancreatic cancer cell proliferation and tumor progression in a xenograft mouse model. Mol Cancer Ther, 8 (2): 315–323
- He K, Si PC, Wang HN, et al (2014). Crocetin induces apoptosis of BGC-823 human gastric cancer cells. Mol Med Rep, 9 (2): 521–526
- Hoshyar R, Bathaie SZ, Sadeghizadeh M (2013). Crocin triggers the apoptosis through increasing the Bax/Bcl-2 ratio and caspase activation in human gastric adenocarcinoma, AGS, cells. DNA Cell Biol, 32 (2): 50–57
- Hoshyar R, Mollaei H (2017). A comprehensive review on anticancer mechanisms of the main carotenoid of saffron, crocin. J Pharm Pharmacol, 69 (11): 1419–1427
- Jiang ZM, Gu M, Liu JQ, et al (2018). Anticancer activity of crocin against cervical carcinoma (HeLa cells): bioassessment and toxicity evaluation of crocin in male albino rats. J Photochem Photobiol B-Biol, 180: 118–124
- Kim B, Park B (2018). Saffron carotenoids inhibit STAT3 activation and promote apoptotic progression in IL-6-stimulated liver cancer cells. Oncol Rep, 39 (4): 1883–1891
- Kyriakoudi A, O'Callaghan YC, Galvin K, et al (2015). Cellular transport and bioactivity of a major saffron apocarotenoid, picrocrocin (4-(β -D-glucopyranosyloxy)-2,6,6-trimethyl-1-cyclohexene-1-carboxaldehyde). J Agric Food Chem, 63 (39): 8662–8668
- Lee CL, Lee SL, Chen CJ, et al (2016). Characterization of secondary metabolites from purple *Ipomoea batatas* leaves and their effects on glucose uptake. Molecules, 21 (6): 745
- Liontos M, Kyriazoglou A, Dimitriadis I, et al (2019). Systemic therapy in cervical cancer: 30 years in review. Crit Rev Oncol Hematol, 137: 9–17
- Liu JD, Ouyang Z, Yang B (2017). Research progress on quality evaluation of saffron. China J Chin Mater Med, 42 (3): 405–412 (in Chinese with English abstract) [刘江弟, 欧阳臻, 杨滨(2017). 西红花品质评价研究进展. 中国中药杂志, 42 (3): 405–412]
- Liu T, Tian L, Fu X, et al (2019). Saffron inhibits the proliferation of hepatocellular carcinoma via inducing cell apoptosis. Panminerva Med, 62 (1): 7–12
- Lu PW, Lin H, Gu YT, et al (2015). Antitumor effects of crocin on human breast cancer cells. Int J Clin Exp Med, 8 (11): 20316–20322
- Luo YS, Cui S, Tang F, et al (2017). The combination of crocin with cisplatin suppresses growth of gastric carcinoma cell line BGC-823 and promotes cell apoptosis. Pak J Pharm Sci, 30 (5): 1629–1634
- Melnyk JP, Wang S, Marcone MF (2010). Chemical and biological properties of the world's most expensive spice saffron. Food Res Int, 43 (8): 1981–1989
- Milajerdi A, Djafarian K, Hosseini B (2016). The toxicity of saffron (*Crocus sativus* L.) and its constituents against normal and cancer cells. J Nutr Intermed Metab, 3: 23–32
- Mollaei H, Safaralizadeh R, Babaei E, et al (2017). The anti-proliferative and apoptotic effects of crocin on chemosensitive and chemoresistant cervical cancer cells. Biomed Pharmacother, 94: 307–316
- Moradzadeh M, Kalani MR, Avan A (2019). The antileukemic effects of saffron (*Crocus sativus* L.) and its related molecular targets: a mini review. J Cell Biochem, 120 (4): 4732–4738
- Mykhailenko O, Kovalyov V, Goryacha O, et al (2019). Biologically active compounds and pharmacological activities of species of the genus *Crocus*: a review. Phytochemistry, 162: 56–89
- Nakagawa H, Fujita M, Fujimoto A (2019). Genome sequencing analysis of liver cancer for precision medicine. Semin Cancer Biol, 55: 120–127
- Rameshrad M, Razavi BM, Hosseinzadeh H (2018). Saffron and its derivatives, crocin, crocetin and safranal: a patent

- review. *Expert Opin Ther Pat*, 28 (2): 147–165
- Rangarajan P, Subramaniam D, Paul S, et al (2015). Crocetin-ic acid inhibits hedgehog signaling to inhibit pancreatic cancer stem cells. *Oncotarget*, 6 (29): 27661–27673
- Ren H, Yao JB, Jin HH, et al (2016). Quality study on croci stigma collected in different years and different places. *Chin J Mod Appl Pharm*, 33 (11): 1405–1408 (in Chinese with English abstract) [任红, 姚建标, 金辉辉等(2016). 不同年份、不同产地西红花药材的质量研究. *中国现代应用药学*, 33 (11): 1405–1408]
- Sajjadi M, Bathaie Z (2017). Comparative study on the preventive effect of saffron carotenoids, crocin and crocetin, in NMU-induced breast cancer in rats. *Cell J*, 19 (1): 94–101
- Salehi B, Zucca P, Sharifi-Rad M, et al (2018). Phytotherapeutics in cancer invasion and metastasis. *Phytother Res*, 32 (8): 1425–1449
- Samarghandian S, Shabestari MM (2013). DNA fragmentation and apoptosis induced by safranal in human prostate cancer cell line. *Indian J Urol*, 29 (3): 177–183
- Sharifi-Rad M, Varoni EM, Iriti M, et al (2018). Carvacrol and human health: a comprehensive review. *Phytother Res*, 32 (9): 1675–1687
- Siegel RL, Miller KD, Jemal A (2016). Cancer statistics, 2016. *CA Cancer J Clin*, 66 (1): 7–30
- Tamaddonfard E, Erfanparast A, Farshid AA, et al (2019). Safranal, a constituent of saffron, exerts gastro-protective effects against indomethacin-induced gastric ulcer. *Life Sci*, 224: 88–94
- Verjee S, Garo E, Pelaez S, et al (2017). Saffron flower extract promotes scratch wound closure of keratinocytes and enhances vegf production. *Planta Med*, 83 (14–15): 1176–1183
- Williams CD (2013). Antioxidants and prevention of gastrointestinal cancers. *Curr Opin Gastroenterol*, 29 (2): 195–200
- Yao C, Liu BB, Qian XD, et al (2018). Crocin induces autophagic apoptosis in hepatocellular carcinoma by inhibiting Akt/mTOR activity. *Onco Targets Ther*, 11: 2017–2028