مجله علوم پزشکی مدرس: آسیب‌شناسی زیستی
دوره ۱۳، شماره ۲: از ۶۳-۷۱
تابستان ۱۳۸۹

Downloaded from mjms.modares.ac.ir at 16:21 IRDT on Saturday May 25th 2019

بررسی و مقایسه کمّی برخی متابولیت‌های عمده (کروسین، پیکروکروسین و سافرانال) در بسته‌بندی‌های مختلف زعفران ایران به روش HPLC

ریحانه هوشیار[۱]، سیده زهرا بطحایی[۲*]، بتول اعتمادی کیا[۳]

۱- دانشجوی دکتری، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۲- دانشیار، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران
۳- کارشناس، گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده علوم پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، ایران

دریافت مقاله: ۸۸/۱۰/۲۶ پذیرش مقاله: ۸۹/۰۲/۲۲

چکیده

هدف: زعفران خوراکی کلاله خشک گونه گیاهی کرکوس ساتیووس است که علاوه بر مصارف غذایی به‌عنوان ادویه، دارای خواص درمانی متفاوتی نیز هست. در حال حاضر بیش از ۸۰ درصد از ۱۹۰ تن تولید جهانی زعفران، متعلق به ایران است. به‌منظور بررسی کیفیت زعفران‌های مناطق مختلف دنیا توسط گروه‌های تحقیقاتی مختلف، زعفران‌های کشورهای مختلف از جمله ایران از نظر کمّی و کیفی مقایسه شده‌اند. ولی همواره، یک نمونه از زعفران هر کشور برای مطالعه انتخاب شده است. با توجه به این‌که مناطق وسیعی از ایران زیر کشت این محصول است، به‌نظر می‌رسد که استفاده از یک نمونه از نظر علمی و آماری نتایج صحیحی را به دنبال نداشته باشد. همچنین در صورت مشاهده تفاوت غلظت اجزاء، استفاده از عصاره در مطالعات دارویی نیز نتایج تکرارپذیری را به دنبال نخواهد داشت. به‌منظور اثبات این ادعا در تحقیق حاضر زعفران‌های بسته‌بندی شده توسط چند شرکت تجاری از لحاظ تشکیل دهنده‌های مهم آن، یعنی کروسین، پیکروکروسین و سافرانال مقایسه شد.

مواد و روش‌ها: پنج نمونه متفاوت از پنج بسته‌بندی متعلق به شرکت‌های تجاری با نام‌های (به‌ترتیب حروف الفبا): احتشامیه، تروند، عباس‌زاده، صباغ و نوین زعفران به روش HPLC UV/Vis مطالعه شد. برای این‌که در نتایج حاصل شبه‌ای از تبلیغ یا طرفداری از شرکت خاصی وجود نداشته باشد، نمونه‌های فوق به شکل تصادفی از ۱ تا ۵ شماره‌گذاری شد.

نتایج: نتایج نشان داد که تمام نمونه‌ها حاوی این اجزاء و از نظر کیفی ارزشمند بود. از نظر کمّی، بیشترین غلظت کارتنویید کروسین در نمونه ۳ و بالاترین مقدار منوترپن‌آلدیدهای پیکروکروسین و سافرانال به‌ترتیب در نمونه‌های ۱ و ۲ بودند.

نتیجه‌گیری: با توجه به نتایج این تحقیق و همچنین وجود مناطق وسیع زیر کشت زعفران و شرایط متنوع آب و هوایی ایران، تأکید می‌شود که یک نمونه زعفران معیاری از زعفران کل مناطق ایران نیست. تحقیقات توسط محققان حاضر در این‌باره ادامه دارد.

کلیدواژگان: کرکوس ساتیووس، کروسین، پیکروکروسین، سافرانال، HPLC

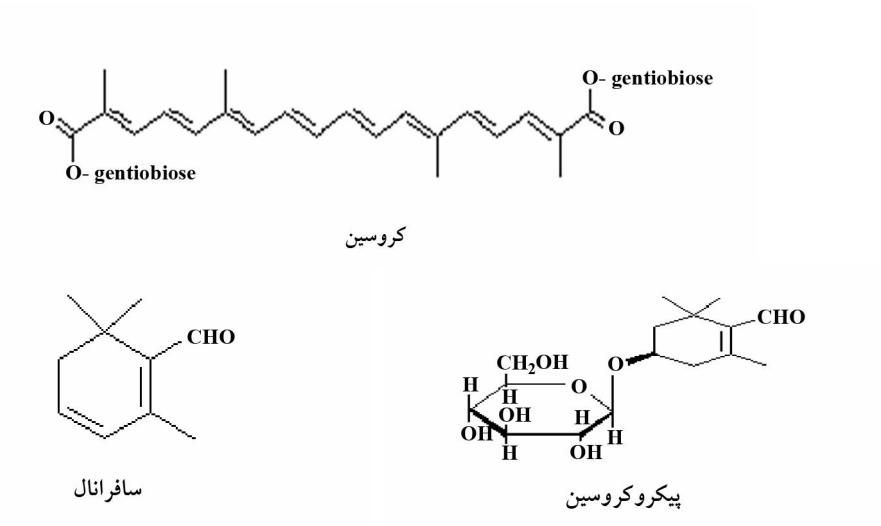
***نشانی مکاتبه:** تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پزشکی، گروه بیوشیمی بالینی ، کدپستی: ۱۴۱۱۷۱۳۱۱۶
Email: bathai_z@modares.ac.ir

Downloaded from mjms.modares.ac.ir at 16:21 IRDT on Saturday May 25th 2019

۱- مقدمه

زعفران یا طلای قرمز، کلاله خشک شده گیاه زعفران یا کرکوس ساتیووس (*Crocus sativus* L.) است که در پاییز گل می‌دهد. مطابق برخی از شواهد و مستندات موجود، مبدأ اولیه گیاه زعفران دامنه کوه‌های الوند و زاگرس در سرزمین ماد باستان، همدان، بروجرد، نهاوند، کرمانشاه تا نواحی اصفهان و قم بوده است که بعداً کشت آن به سایر مناطق نیز گسترش یافته است [۱]. از جمله مصارف زعفران، استفاده به‌عنوان یک افزودنی خوراکی برای رنگ و طعم دادن به غذا (گران‌بهاترین چاشنی گیاهی دنیا)، رنگ کردن منسوجات و همچنین کاربرد دارویی در طب سنتی را می‌توان نام برد [۲-٤].

زعفران دارای ۱۰ تا ۱۲ درصد آب، پنج تا هفت درصد مواد کانی، مقدار کمی گلوسید، پنج تا هشت درصد مواد چربی و موم ، ۱۲ تا ۱۳ درصد مواد پروتیدی و مقدار کمی اسانس، رنگیزه‌ها و فلاوونویید است [٤]. عمده‌ترین ترکیب ایجاد کننده رنگ در زعفران کاروتنوییدی به نام کروسین (Crocin) است. کروسین‌ها مشتقات گلوکوزیدی کروستین (Crocetin) هستند. بر این اساس کروسین‌ها انواع مختلفی دارند که بیشترین غلظت را استر دی‌جنتیوبیوزیل‌کروستین (Di-Gentiobiosyl Crocetin) با فرمول بسته $C_{40}H_{64}O_{26}$ داراست. طعم تلخ زعفران مربوط به گلیکوزیدی است به نام پیکروکروسین (Picrocrocin) ($C_{16}H_{26}O_6$) که یک منوترپن‌آلدیید فاقد رنگ است. سافرانال (Safranal) ($C_{10}H_{14}O$) اسانس فرار زعفران و مسئول بو و عطر آن است که در اثر جدا شدن قند از پیکروکروسین تولید می‌شود. غلظت این ترکیب پس از برداشت محصول و بسته به روش استفاده شده برای خشک کردن، تغییر می‌کند. در شکل ۱ ساختارهای شیمیایی این مواد نشان داده شده است.



شکل ۱ ساختارهای شیمیایی کروسین، پیکروکروسین و سافرانال

از سال‌ها پیش، خواص درمانی زعفران و تشکیل دهنده‌های آن مورد توجه برخی از محققین علوم زیستی قرارگرفته است [٤، ٥]. آثار درمانی که تاکنون برای زعفران و تشکیل دهنده‌های آن شناخته شده و یافته‌های مبتنی بر مکانیسم مولکولی عملکرد آن، در یک مقاله که به تازگی برای چاپ پذیرفته شده، توسط گروه تحقیقاتی حاضر مرور شده است [۳].

به‌عنوان مثال، تحقیقات نشان داده که عصاره زعفران باعث

Downloaded from mjms.modares.ac.ir at 16:21 IRDT on Saturday May 25th 2019

انبساط عروق و کاهش فشار خون می شود [۵]. کلاله خشک گیاه خاصیت آنتی‌اکسیدانی دارد [٦] و آثار ضد توموری و ضد جهش‌زایی نیز برای آن نشان داده شده است [۷-۹]. مطالعات محققان حاضر نیز این آثار را در سرطان پستان القا شده در رت تأیید کرد [۱۰]. از طرف دیگر، زعفران از آسیب‌های یادگیری القا شده به‌وسیله اتانول و متابولیت آن (استالدیید) جلوگیری می‌کند و بر حافظه مؤثر است [۱۱].

کروسین و کروستین موجود در زعفران، مهم‌ترین کاروتنوییدهای آن و مسئول رنگ زعفران است. کروسین در بدن متابولیزه شده، به کروستین تبدیل می‌شود. کروستین چندین ویژگی درمانی دارد: از جمله این‌که یک آنتی‌اکسیدان قوی و عامل ضد التهاب در حیوانات آزمایشگاهی است [۱۲]. کروستین بازده آنتی‌بیوتیک‌ها را افزایش می‌دهد و باعث کاهش سطح کلسترول خون و سختی آترواسکلروز (Atherosclerosis) می‌شود. بنابراین احتمالاً حملات قلبی را کاهش می‌دهد [۱۳].

کروسین نیز اثر مهار کنندگی در سرطان‌زایی القا شده به‌وسیله ۱۲- آ- تترا دکانوئیل ۱۳- استات (12-o- tetra decanoyl- 13- acetate) را نشان داده و باعث تأخیر در تشکیل پاپیلوما (Papiloma) می‌شود. کنوشیما (Konoshima) در رابطه با اثر مهاری کروسین در تشکیل تومور این فرضیه را عنوان کرد، که: کروسین به‌عنوان یک فعال کننده برای آنزیم برشگر ترمیمی DNA عمل می‌کند و بدین طریق از بروز آسیب به DNA جلوگیری می‌نماید [۸، ١٤]. این فرضیه هنوز اثبات یا رد نشده است؛ هر چند که مکانیسم‌های دیگری برای اثر محافظتی آن بر DNA، از جمله میان‌کنش مستقیم آن نیز گزارش شده است [۳].

در مطالعات قبل به برخی از خصوصیات مهم زیستی منوترپن‌آلدیدهای زعفران در مقایسه با کارتنوییدهای آن اشاره شده است. در بررسی‌های انجام شده روی سلول‌های هلا مشخص شد که دوزهای القا کننده ۵۰ درصد مهار رشد سلولی (LD_{50}) برای عصاره اتانولی زعفران، کروسین، سافرانال و پیکروکروسین به‌ترتیب: ۲/۳ میلی‌مولار، ۳ میلی‌مولار، ۰/۸ میلی‌مولار، ۳ میلی‌مولار است. با به‌کار بردن غلظت‌های القا کننده ٦۰ درصد مهار رشد سلولی سافرانال در مقایسه با کروسین و پیکروکروسین، اثر سریع‌تری نشان داده است که این امر ممکن است به دلیل انتشار بهتر سافرانال، به علت کوچک بودن مولکول و طبیعت غیرقطبی آن، از خلال غشا سلولی باشد [۹]. همچنین سافرانال با اثر بر مجموعه گیرنده بنزودیازپین-گابا نوع آ ($GABA_A$–benzodiazepine)، خاصیت ضد تشنجی نشان داده است [۱۵]. از طرفی خاصیت هم-جهش‌زایی (Co-mutagenic) نیز برای این ترکیب در شرایط خاص گزارش شده است [١٦].

بنابراین در کنار ویژگی‌های مشترک برای همه ترکیبات استخراج شده از زعفران، برخی از این اجزاء خواص منحصر به فردی دارند، که این امر نشان می‌دهد که بیشتر از یک ساز و کار برای توجیه ویژگی‌های متفاوت زیستی هر یک از اجزاء مولکولی زعفران وجود دارد. یکی از مکانیسم‌های پیشنهادی برای این عملکرد، ممانعت از سنتز پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک است [۷]. محققان حاضر نیز به دنبال شناسایی مکانیسم مولکولی عملکرد زعفران و اجزای تشکیل دهنده آن، میان‌کنش بین این تشکیل‌دهنده‌های زعفران با DNA بررسی کردند [۱۷، ۱۸]. نتایج نشان داد که ترکیبات فوق به شیار باریک DNA متصل می‌شوند و در آن تغییرات ساختاری القا می‌کند [۱۹]. همچنین محققان حاضر تأثیر اجزای مولکولی زعفران بر ساختار توالی‌های خاص الیگونوکلوتیدی، هیستون H1 و کمپلکس H1-DNA بررسی کرده‌اند [۲۰-۲۲]. نتایج نشان داد که این اجزاء اثرهای متفاوتی بر ساختار توالی‌های مختلف الیگونوکلئوتیدی دارد که به مکانیسم‌های متفاوت عملکرد این تشکیل دهنده‌ها مرتبط است [۲۲]. تحقیقات در مورد آثار ضد سرطانی و ساز و کار مولکولی آثار هر یک از اجزای زعفران توسط محققان حاضر ادامه دارد.

در مطالعه‌ای عبداله‌اف و همکاران، انواع مختلف زعفران از

Downloaded from mjms.modares.ac.ir at 16:21 IRDT on Saturday May 25th 2019

۱۱ کشور از جمله ایران از نظر کمّیت و کیفیت با استفاده از روش کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (High Performance Liquid Chromatography: HPLC) بررسی و مقایسه شد. نتایج ایشان نشان دهنده کسب رتبه نهم زعفران ایران و کسب رتبه برتر زعفران اسپانیا بود [۲۳]. با توجه به این‌که منشاء اصلی زعفران اسپانیا از ایران است که پس از جنگ‌های مسلمانان، کشت زعفران به مردم این منطقه آموزش داده شده است و در حال حاضر نیز اسپانیا بزرگ‌ترین وارد کننده زعفران از ایران است، نتیجه به‌دست آمده محققان حاضر را بر آن داشت تا این داده‌ها را به طریق علمی تحلیل کنند. در مقاله مذکور از زعفران یکی از شرکت‌های تجاری استفاده شده بود. به دلیل وسعت مناطق زیر کشت زعفران و تنوع آب و هوایی در ایران، قضاوت در مورد زعفران کل ایران براساس محصول یک شرکت خاص صحیح به‌نظر نمی‌رسد. از این رو در تحقیق حاضر تلاش شد تا عصاره زعفران، با بالاترین میزان اجزای زیستی آن، از محصولات شرکت‌های تجاری متفاوت تهیه شود و با استفاده از روش HPLC UV/Vis که در مقاله مذکور از آن استفاده شده بود، به‌طور کمی و دقیق غلظت ترکیبات مورد بررسی در آن مقاله، در چند نمونه زعفران ایران اندازه‌گیری شود. بنابراین نمونه‌هایی از شرکت‌های احتشامیه، تروند، عباس‌زاده، صباغ و نوین زعفران تهیه و به شکل تصادفی از ۱ تا ۵ نام‌گذاری شد. پس از آماده‌سازی، بررسی کمّی و کیفی نمونه‌ها با HPLC و با همان روش عبداله اف، صورت گرفت [۲۳].

۲- مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد

کلاله خشک زعفران خوراکی معروف به زعفران پوشالی ازپنج شرکت متفاوت احتشامیه، تروند، عباس‌زاده، صباغ و نوین زعفران تهیه و به شکل تصادفی از ۱ تا ۵ شماره‌گذاری شد. تمامی نمونه‌های پودری به شکل خشک در ظروف جداگانه و تیره تا زمان عصاره‌گیری نگهداری شد. ماده ۲- نیتروآنیلین به‌عنوان استاندارد داخلی برای اندازه‌گیری HPLC استفاده شد. حلال‌های مورد استفاده در این روش جداسازی، متانول، آب مقطر دیونیزه و بدون گاز حاوی ۱۵ درصد استونیتریل بود [۲۳].

۲-۲- تهیه عصاره

۲۰ میلی‌گرم پودر کلاله خشک زعفران در تاریکی و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد (داخل یخچال)، با یک میلی‌لیتر آب- متانول (۵۰:۵۰، حجمی/حجمی) به‌مدت یک شبانه روز به کمک همزن مغناطیسی مخلوط و سپس عصاره حاصل در ۳۰۰۰۰ دور به‌مدت ۲۰ دقیقه سانتریفوژ شد.

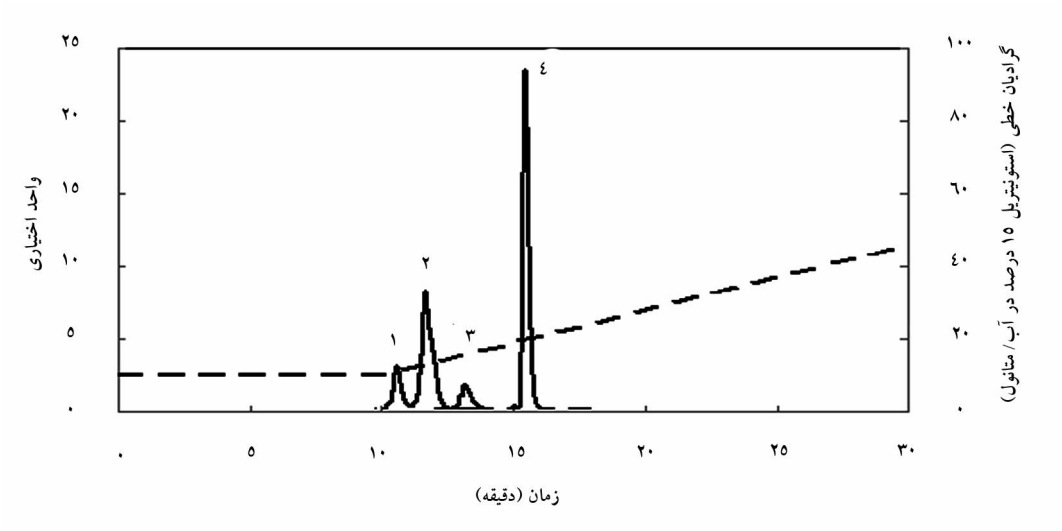
محلول رویی از صافی نایلونی نازکی با قطر ۱۳ میلی‌متر و اندازه منفذ ۰/۴۵ میکرومتر گذرانده شد. قبل از انجام HPLC، یک میلی‌لیتر ۲- نیتروآنیلین (با غلظت ۰/۵ میلی‌گرم بر میلی‌لیتر) به عصاره یک میلی‌لیتری زعفران اضافه شد. همچنین هوا و سایر گازهای حل شده در نمونه‌ها با استفاده از سونیکاتور (Sonicator) خارج شد.

۲-۳- HPLC

قبل از نمونه‌گذاری، ستون با آب مقطر دیونیزه حاوی ۱۵ درصد استونیتریل شستشو شد. سپس ۵۰ میکرولیتر نمونه به آرامی به داخل ستون [Shimadzu Shim-pack C-18 VP-ODS column] تزریق شد و با شیب خطی ۱۰-۱۰۰ درصد از ۵۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر دیونیزه حاوی ۱۵ درصد استونیتریل و ۵۰۰ میلی‌لیتر متانول، به‌عنوان فاز متحرک با میزان جریان یک میلی‌لیتر بر دقیقه به‌مدت ۶۰ دقیقه در دمای اتاق، کروماتوگرافی HPLC ادامه یافت. این آزمایش برای هر نمونه حداقل سه بار تکرار شد و در صورت عدم تطابق داده‌ها، آزمایش تا حد حصول اطمینان به تکرارپذیری نتایج، تکرار شد. طول موج‌های مناسب برای بررسی هر یک از ترکیبات مورد بررسی در عصاره زعفران، عبارت بود از: پیکروکروسین،

Downloaded from mjms.modares.ac.ir at 16:21 IRDT on Saturday May 25th 2019

سافرانال و کروسین به‌ترتیب ۲۵۰، ۳۱۰ و ٤٤٠ نانومتر. با توجه به این‌که این مواد قبلاً توسط محققان حاضر استخراج و تخلیص شده بود [٢٤] از آن‌ها به‌عنوان نمونه‌های استاندارد (با غلظت ۲۰ میلی‌مولار) استفاده شد و براساس برنامه نرم‌افزار دستگاه (GC Solution)، درصد اجزاء در هر نمونه و سطح زیر منحنی در هر کروماتوگرام محاسبه شد. ۲-نیتروآنیلین نیز به‌عنوان استاندارد داخلی، همانند روش عبداله‌اف استفاده شد.



نمودار ۱ کروماتوگرام HPLC زعفران ایران در طول موج‌های مختلف؛ قله ۱) پیکروکروسین در ۲۵۰ نانومتر، قله ۲) کروسین در ٤٤٠ نانومتر، قله ۳) سافرانال در ۳۱۰ نانومتر، قله ٤) استاندارد داخلی (۲- نیتروآنیلین) است. خط شکسته، گرادیان غلظت شوینده را نشان می‌دهد.

۲-٤- تجزیه و تحلیل آماری

بررسی‌های آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ١٦ و تجزیه و تحلیل واریانس آنووای یک طرفه (One-way ANOVA) انجام شد.

۳- نتایج

۳-۱- بررسی کیفی تشکیل دهنده‌ها

در مرحله اول، حضور اجزای مورد نظر در پنج نمونه متفاوت زعفران به روش HPLC بررسی شد. نتایج نشان داد که تمام نمونه‌ها حاوی ترکیب‌های مورد نظر، یعنی کروسین، پیکروکروسین و سافرانال است. نمودار ۱ کروماتوگرام مربوط به یکی از نمونه‌ها است. در کروماتوگرام‌های نمونه‌های متفاوت، هر چند که باند و عرض قله‌های (Peaks) مختلف متفاوت بود، ولی کروسین بیشترین مقدار را در نمونه‌ها داشت.

۳-۲- بررسی کمّی تشکیل دهنده‌ها

با استفاده از کروماتوگرام‌های رسم شده و مشاهده قله‌ها در طول موج‌های مربوط به هر جزء زعفران، سطح زیر منحنی هر قله توسط نرم‌افزار دستگاه HPLC (GC Solution) محاسبه شد و با استفاده از منحنی استاندارد که با ماده خالص رسم شده بود، غلظت هر جزء محاسبه شد و میانگین داده‌ها به‌دست آمد. جدول ۱ میانگین اطلاعات کمی که بیانگر میزان هر یک از اجزای مورد بررسی در هر گرم از نمونه‌های مختلف زعفران است را نشان می‌دهد. همان‌طور که مشاهده می‌شود،

Downloaded from mjms.modares.ac.ir at 16:21 IRDT on Saturday May 25th 2019

عصاره زعفران ۱ حاوی بیشترین مقدار پیکروکروسین و نمونه ۲ دارای غلظت بالاتری از سافرانال نسبت به سایر نمونه‌هاست. همچنین در میان این نمونه‌ها، عصاره زعفران ۳ بیشترین غلظت کارتنویید کروسین را داشت.

جدول ۱ مقادیر تشکیل دهنده‌های زعفران در پنج نمونه مختلف زعفران ایران برحسب وزن، بر مبنای انحراف معیار طی حداقل سه اندازه‌گیری؛ اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها در بخش نتایج شرح داده شده است.

نمونه	سافرانال (میلی‌گرم/گرم)	پیکروکروسین (میلی‌گرم/گرم)	کروسین (میلی‌گرم/گرم)
۱	۵/۱۵ ±۰/۱۳	۱۳/٤۹ ± ۰/۲۰	۱٤/٥٦ ±۰/۲۱
۲	٦/۳٥ ± ۱/۰۹	۱۲/٦۲ ± ۰/۰۸	۱۰/۹۰ ± ۰/٦۷
۳	٦/۳۳ ± ۰/٤۷	۱۲/۸٦ ± ۰/٥۷	۱۸/۳٤ ± ۰/٤۹
٤	٥/۸۳ ± ۰/٤۹	۱۳/۳٦ ± ۰/۰۱	۱۳/۹٥ ± ۰/۱۳
٥	٥/۰٦ ± ۰/۲۷	۱۲/۲٥ ± ۰/۳۹	٦/۰۱ ± ۰/۲٦

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها اختلاف معنی‌دار بین اکثر اجزاء در نمونه‌ها (جدول ۱) را نشان داد. اختلاف بین تمام گروه‌ها در مورد سافرانال در سطح P= ۰/۰۵، در مورد پیکروکروسین در سطح P<۰/۰۱ و در مورد کروسین در سطح P<۰/۰۰۱ معنی‌دار بود. مقایسه جزء به جزء نشان داد که در مورد سافرانال، بین نمونه‌های ۲ و ۳ به تفکیک با نمونه‌های ۱ و ۵ اختلاف معنی‌دار در سطح P<۰/۰۵ وجود داشت. در مورد پیکروکروسین، نمونه ۱ با نمونه‌های ۲، ۳ و ۵ و نمونه ۳ با نمونه ۵ در سطح P<۰/۰۱ و نمونه ٤ با نمونه‌های ۲ و ۵ در سطح P<۰/۰۵ اختلاف معنی‌دار وجود داشت. در مورد کروسین، بین تمام نمونه‌ها به جز ۱ با ٤، اختلاف معنی‌داری در سطح P <۰/۰۰۱ مشاهده شد.

٤- بحث

با توجه به مصارف غذایی و خواص طبی- دارویی زعفران [۳، ٤]، تحقیقات و پژوهش‌های گسترده‌ای در مراکز علمی و آزمایشگاهی مختلف دنیا روی این گیاه گران‌بها در حال انجام است. در اکثر مطالعات منتشر شده در خصوص استخراج اجزای زعفران و آثار درمانی این اجزاء، از زعفران‌های اسپانیا، یونان، هند و چین استفاده شده است. در سال ۲۰۰٦ عبداله‌اف و همکاران زعفران یازده کشور را مقایسه کرد. براساس این داده‌ها، زعفران ایران قبل از چین، آخرین رتبه را از لحاظ کمیت اجزاء کسب نموده است [۲۳]. در مقاله مذکور از نمونه زعفران مربوط به یک شرکت ایرانی استفاده شده است.

همان‌طور که در مقدمه نیز ذکر شد، زعفران در مناطق وسیعی از ایران کشت می‌شود که دارای شرایط آب و هوایی، ارتفاع از سطح دریا و درجه رطوبت متفاوتی هستند، همچنین می‌توان پیاز زعفران را نیز طی سال‌های متعددی کشت داد. بررسی‌های قبلی نشان داده که هر کدام از این عوامل به تنهایی نیز بر ویژگی‌های زعفران، از جمله طعم، عطر و رنگ زعفران اثر دارند. از طرف دیگر، از عصاره زعفران در طب سنتی استفاده‌های زیادی می‌شده است که امروزه نیز گروه‌های تحقیقاتی تلاش دارند تا در طب جدید نیز از این خواص بهره ببرند.

با توجه به موارد فوق، در مطالعه حاضر تلاش شد تا غلظت اجزای مهم زعفران در نمونه‌های متفاوت بسته‌بندی شده توسط شرکت‌های گوناگون ایرانی، که به‌طور تصادفی از ۱ تا ۵ نام‌گذاری شد، اندازه‌گیری شود. از آن‌جایی که HPLC یکی از دقیق‌ترین و بهترین روش‌های جداسازی و شناسایی ترکیبات زیستی است و امروزه از این روش برای اندازه گیری‌های کیفی و کمّی مواد شیمیایی، زیستی، دارویی و صنعتی حتی با غلظت‌های بسیار ناچیز هم استفاده می‌شود، در این تحقیق نیز این روش، دقیقاً با شرایطی مشابه آنچه عبداله‌اف به‌کار برده بود، استفاده شد.

نتایج نشان داد که اگر چه زعفران‌های بسته‌بندی شده توسط تمام شرکت‌های مورد بررسی، کیفیت خوبی دارد و در حد استانداردهای معمول است (نمودار ۱)، ولی کیفیت نمونه از نظر حضور تشکیل دهنده‌ها و غلظت اجزاء، در بعضی از آن‌ها بهتر است؛ به‌طوری که براساس داده‌های جدول ۱ عصاره زعفران در نمونه‌های ۱، ۲ و ۳ به‌ترتیب حاوی بیشترین مقدار منوترپن‌آلدیدها و کارتنویید بوده، ولی عصاره زعفران مربوط

Downloaded from mjms.modares.ac.ir at 16:21 IRDT on Saturday May 25th 2019

به نمونه ۵ کمترین غلظت متابولیت‌های نامبرده را داشت. پس برای بررسی و مقایسه کمّی نمونه‌های زعفران، مطالعه روی یک نمونه کافی نیست و باید نمونه‌برداری آماری انجام شود. به این ترتیب پیشنهاد می‌شود که براساس قواعد آماری، نمونه‌هایی از مناطق مختلف جغرافیایی، طی سال‌های متفاوت (با میزان بارش متفاوت) و محصولات مربوط به پیازهایی با سنین متفاوت، تهیه و بررسی روی آنها انجام شود.

با توجه به نتایج فوق و متفاوت بودن درصد ترکیبات و تشکیل دهنده‌ها در زعفران‌های مختلف از یک سو، و از آنجایی که مطالعات قبلی نشان داده که برخی مواد مسئول بروز خاصیت ویژه‌ای هستند و حتی خواص ضد و نقیضی نیز برای آنها گزارش شده است [۳]، استفاده از عصاره تام زعفران با ترکیب اجزای متفاوت، ممکن است نتایج متفاوت و تکرارناپذیری را به دنبال داشته باشد. پس برای بررسی خواص درمانی و مطالعات دارویی، استفاده از عصاره زعفران کافی و علمی به‌نظر نمی‌رسد و اگر قرار است دارویی مؤثر، ولو به‌صورت داروی مکمل از این گیاه تهیه شود، بهتر است از اجزای خالص شده استفاده شود تا هم غلظت جزء مورد نظر دقیقاً معلوم باشد و هم از آثار جانبی سایر اجزاء جلوگیری شود.

مطالعات محققان حاضر در این‌باره و به‌منظور ارزیابی و مقایسه زعفران‌های مناطق مختلف ایران و حتی سال‌های متفاوت ادامه دارد.

۵- تشکر و قدردانی

وظیفه خود می‌دانیم که از جناب آقای دکتر محمدرضا بهنیا، استاد محترم دانشگاه تهران که در تهیه و پرداخت هزینه زعفران‌ها از شرکت‌های مورد نظر، ما را یاری نمودند، تشکر نماییم.

٦- منابع

[1] Abrishami MH. Saffron: from yesterday till today. An encyclopedia of its production, trade and use. Tehran: Amir Kabir 2004.

[2] Sampathu SR, Shivashankar S, Lewis YS, Wood AB. Saffron (*Crocus Sativus* Linn.) Cultivation, processing, chemistry and standardization. Crit Rev Food Sci Nutr 1984; 20(2): 123-57.

[3] Mousavi SZ, Bathaie SZ. New Applications of saffron and molecular mechanism of its constituents action. Crit Rev Food Sci Nutr 2009; Accpted for Publication

[4] Nair SC, Kurumboor SK, Hasegawa JH. Saffron chemoprevention in biology and medicine: a review. Cancer Biother 1995; 10(4): 257-64.

[5] Xuan B, Zhou YH, Li N, Min ZD, Chiou GC. Effects of crocin analogs on ocular blood flow and retinal function. J Ocul Pharmacol Ther 1999; 15(2): 143-51.

[6] Verma SK, Bordia A. Antioxidant property of Saffron in man. Indian J Med Sci 1998; 52(5): 205-7.

[7] Abdullaev FI. Inhibitory effect of crocetin on intracellular nucleic acid and protein synthesis in malignant cells. Toxicol Lett 1994; 70(22): 243-51.

[8] Molnár J, Szabó D, Pusztai R, Mucsi I, Berek L, Ocsovszki I, Kawata E, Shoyama Y. Membrane associated antitumor effects of crocine-, ginsenoside- and cannabinoid derivates. Anticancer Res 2000; 20(2A): 861-7.

[9] Escribano J, Alonso GL, Coca-Prados M, Fernandez JA. Crocin, safranal and picrocrocin from saffron (*Crocus sativus* L.) inhibit the growth of human cancer cells in vitro. Cancer Lett 1996; 100(1-2): 23-30.

Downloaded from mjms.modares.ac.ir at 16:21 IRDT on Saturday May 25th 2019

[10] Chitsazan A, Bathaie SZ, Mohagheghi MA, Banasadegh S. Rat mammary tumor induced by NMU and the effect of natural carotenoids. XXXIst Symposium on Hormones and Regulation: Cancer Cell Signalling, 14-17 Sep, 2006; Hostellerie du Mont Sainte-Odile, France. (Persian)

[11] Abe K, Sugiura M, Yamaguchi S, Shoyama Y, Saito H. Saffron extract prevents acetaldehyde-induced inhibition of long-term potentiation in the rat dentate gyrus in vivo. Brain Res 1999; 851(1-2): 287-9.

[12] Martin G, Goh E, Neff AW. Evaluation of the developmental toxicity of crocetin on Xenopus. Food Chem. Toxicol 2002; 40(7): 956-64.

[13] Baker D, Negbi M. Uses of saffron. Eco Biol 1983; 37(2): 228-36.

[14] Konoshima T, Takasaki M, Tokuda H, Morimoto S, Tanaka H, Kawata E, Xuan LJ, Saito H, Sugiura M, Molnar J. Crocin and crocetin derivatives inhibit skin tumour promotion in mice. Phytother Res 1998; 12(6): 400-4.

[15] Hosseinzadeh H, Sadeghnia HR. Protective effect of safranal on pentylenetetrazol-induced seizures in the rat: involvement of GABAergic and opioids systems. Phytomedicine 2007; 14(4): 256-62.

[16] Abdullaev FI, Riverón-Negrete L, Caballero-Ortega H, Manuel Hernández J, Pérez-López I, Pereda-Miranda R, Espinosa-Aguirre JJ. Use of in vitro assays to assess the potential antigenotoxic and cytotoxic effects of saffron (*Crocus sativus* L.). Toxicol in Vitro 2003; 17(5-6): 731-6.

[17] Bolhasani A, Bathaie SZ, Moosavi-Movahedi AA, Ghaffari MM. Interaction of picrocrocin and safranal from iranian saffron with DNA. Modares J Med Sci 2003; 6(2): 33-42. (Persian)

[18] Bathaie SZ, Ashrafi M, Bolhasani A, Etemadi-Kia B, Moosavi-Movahedi AA. Purification of carotenoids and monoterpenaldehydes from Iranian saffron and investigation of their effect on the structure of DNA, Histone H1 and H1-DNA complex. Iran J Med Arom Plants 2006; 22(2): 85-97. (Persian)

[19] 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 Cell Biol 2007; 26(8): 533-40.

[20] Ashrafi M, Bathaie SZ, Taghikhani M, Moosavi-Movahedi AA. The effect of carotenoids obtained from saffron on histone H1 structure and H1-DNA interaction. Int J Biol Macromol 2005; 36(4): 246-52.

[21] Hoshyar R. The preference of interaction of saffron's molecular components for oligonucleotides and their effect on H1-oligonucleotide complexes in the in vitro studies. Presented for the M.Sc. Thesis, Tehran: Tarbiat Modares University, 2008. (Persian)

[22] 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 Cell Biol 2008; 27(12): 665-73.

[23] Caballero-Ortega H, Pereda-Miranda R, Abdullaev FI. HPLC quantification of major active components from 11 different saffron

(*Crocus sativus* L.) sources. Food Chem 2007; 100(3): 1126-31.

[24] Bolhasani A, Bathaie SZ, Yavari I, Moosavi-Movahedi AA, Ghaffari MM. Separation and purification of some components of Iranian saffron. Asian J Chem 2005; 17(2): 725-9.

Downloaded from mjms.modares.ac.ir at 16:21 IRDT on Saturday May 25th 2019