

ΧΗΜΙΚΗ ΣΥΣΤΑΣΗ ΚΑΙ ΒΙΟΛΟΓΙΚΗ ΔΡΑΣΗ ΣΥΣΤΑΤΙΚΩΝ ΤΩΝ ΣΤΙΓΜΑΤΩΝ ΤΟΥ ΦΥΤΟΥ ΚΡΟΚΟΣ (*Crocus sativus* L.)

Μόσχος Γ. Πολυσίου, Χημικός, Καθηγητής Χημείας, Εργαστήριο Γενικής Χημείας, Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών

1. Η χημική σύσταση των στιγμάτων του κρόκου

Τα αποξηραμένα κόκκινα στίγματα του άνθους του φυτού κρόκος (*Crocus sativus* L.) έχουν φαρμακευτικές και αρτυματικές ιδιότητες καθώς και με μεγάλη χρωστική ικανότητα και για αυτά γίνεται η καλλιέργεια του κρόκου» .

Τα στίγματα του κρόκου περιέχουν σημαντικές ποσότητες χρωστικών, οι οποίες καλούνται κροκίνες και είναι ασυνήθιστα υδατοδιαλυτά καροτενοειδή, τα οποία είναι γλυκοζίτες της κροκετίνης Το βασικό συστατικό είναι ο διγεντιοβιοζυλεστέρας της κροκετίνης. Επιπλέον, απαντώνται και άλλοι γλυκοζίτες της κροκετίνης, και άλλα καροτενοειδή.

Η ελαφριά πικάντικη γεύση των στιγμάτων του κρόκου προέρχεται από την πικροκροκίνη, η οποία είναι ένα γλυκοζίτης της σαφρανάλης.

Η σαφρανάλη, είναι μια μονοτερπενική αλδεΐδη η οποία πιστεύεται ότι σχηματίζεται, κατά τη διάρκεια της ξηράνσεως των στιγμάτων, από την πικροκροκίνη με ενζυματική ή όξινη υδρόλυση και αποτελεί το κύριο συστατικό του αιθέριου ελαίου στο οποίο οφείλεται το χαρακτηριστικό άρωμα του κρόκου. Επιπλέον, στο αιθέριο έλαιο του κρόκου απαντώνται η ιζοφορόνη, από ένα ισομερές της σαφρανάλης και της ιζοφορόνης καθώς και άλλα τερπενοειδή.

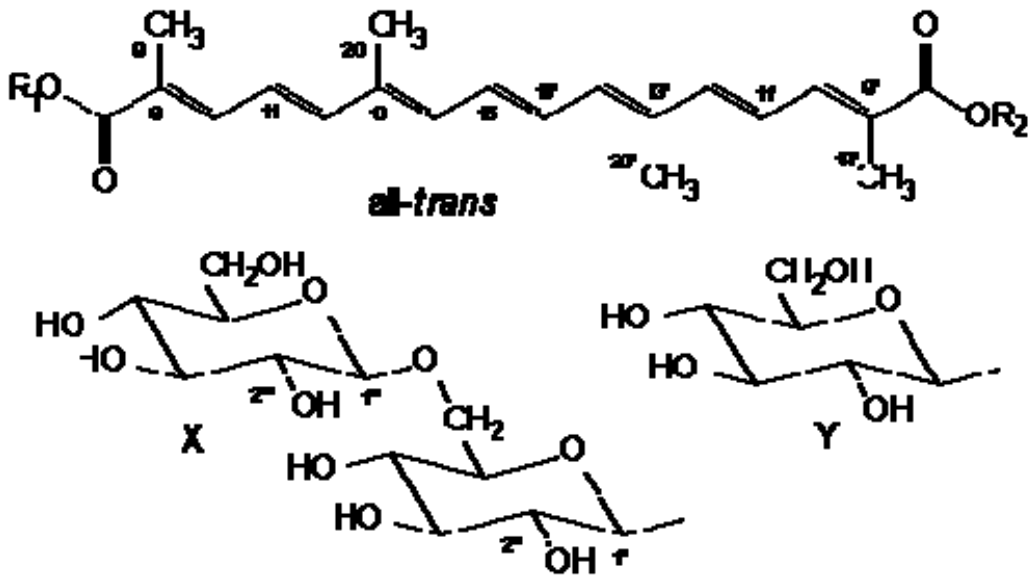
Τα στίγματα του κρόκου εκτός από τις κροκίνες την πικροκροκίνη και τη σαφρανάλη πιθανώς να περιέχουν και άλλα καροτενοειδή όπως α-, β- και γ-καροτένιο, ζεαξανθίνη, και λυκοπένιο καθώς και λιπαρές ουσίες σε πολύ μικρό ποσοστό.

2. Βιολογική δράση συστατικών των στιγμάτων του κρόκου

2.1. Τα ρετινοειδή και τα καροτενοειδή στην πρόληψη και τη θεραπεία του καρκίνου

Επιδημιολογικές μελέτες από διάφορους ερευνητές έδειξαν ότι οι διαιτητικές συνήθειες παίζουν σημαντικό ρόλο στην πρόληψη του καρκίνου ... Η βιταμίνη Α και τα ρετινοειδή παράγωγά της, αν και υπάρχουν σε μικρές ποσότητες, στα φυσικά συστατικά της διατροφής μας, παρουσιάζουν μια ξεκάθαρη αντικαρκινική δράση. Σε πληθυσμούς όπου η βιταμίνη Α βρίσκεται κάτω από τα κοινώς αποδεκτά όρια (0,2μg/g στο αίμα και 4μg/g στο ήπαρ) η συχνότητα του καρκίνου είναι αυξημένη. Τα πειράματα με ινδοχοιρίδια έδειξαν ότι η προσθήκη της βιταμίνης Α στη διατροφή τους περιορίζει δραστικά τον καρκίνο του οισοφάγου του πνεύμονος και του δέρματος.

Ο μηχανισμός δράσεως της βιταμίνης Α ως αντικαρκινικής ενώσεως γίνεται με δύο τρόπους. Ο ένας αφορά τη συμμετοχή της βιταμίνης αυτής στη δομή της κυτταρικής μεμβράνης γι' αυτό και παρουσιάζεται ως ισχυρός ανταγωνιστής των καρκινογόνων ουσιών, που προκαλούν την επιθηλιακή μεταπλασία. Ο άλλος τρόπος, πιο σημαντικός είναι ο γνωστός αντιοξειδωτικός της ρόλος, που προλαμβάνει τον μεταβολισμό καρκινογόνων ενώσεων όπως το α-βενζοπυρένιο προς τα υδροξυλιωμένα δραστικά παράγωγά τους .



Κροκίνες (CRCs) : Γλυκοζυλεστέρες της της κροκετίνης

A-Κροκίνη = $R_1 = R_2 = \beta$ -D-γεντιοβιοζυλ (X)

B-Κροκίνη = $R_1 = \beta$ -D-γεντιοβιοζυλ (X), $R_2 = \beta$ -D-γλυκοζυλ (Y)

Γ-Κροκίνη = $R_1 = \beta$ -D-γεντιοβιοζυλ (X), $R_2 = H$

Δ-Κροκίνη = $R_1 = R_2 = \beta$ -D-γλυκοζυλ (Y)

Ε-κροκίνη = $R_1 = \beta$ -D-γλυκοζυλ (Y), $R_2 = H$

Κροκετίνη (CRT) = $R_1 = R_2 = H$

Διμεθυλκροκετίνη (DMCRT) = $R_1 = R_2 = CH_3$



Σχήμα 1. Δομές συστατικών των σιγμάτων του κρόκου.

Με δεδομένη την έμμεση αντικαρκινική δράση της βιταμίνης Α παρασκευάστηκαν τα τελευταία χρόνια πάρα πολλά παράγωγα ρετινοειδών. Ο βασικός κορμός των ρετινοειδών αποτελείται από μια κυκλοξενική ακραία ομάδα, μια ενδιάμεση αλυσίδα πολυενίου και μια άλλη πολική ακραία ομάδα.

Μεταβάλλοντας λοιπόν τη δομή και τους υποκαταστάτες σε οποιοδήποτε από τα τρία αυτά τμήματα του μορίου μπορεί να επιτευχθεί ένας μεγάλος αριθμός παραγώγων της βιταμίνης Α. Τα περισσότερα από τα 2.000 παράγωγα που παρασκευάστηκαν δοκιμάστηκαν και βιολογικά για τις θεραπευτικές τους

ιδιότητες. Μόνο το *all-trans* και το *13-cis* ρετινοϊκό οξύ παρουσίασαν ενδιαφέρον γιατί είχαν μικρότερη τοξικότητα από τη βιταμίνη Α.

Το μεγάλο πρόβλημα της βιταμίνης Α και των παραγώγων της, όταν χρησιμοποιούνται σε μεγάλες δόσεις είναι η τοξικότητα τους. Ως λιπόφιλες ενώσεις συσσωρεύονται κυρίως στο ήπαρ και προκαλούν παρενέργειες όπως ανορεξία, εμετό, ξήρανση του δέρματος, αναφυλαξία, αύξηση ενδοκρανιακής πίεσης, φλεγμονές στον οισοφάγο, απώλεια μαλλιών, δυσπλασία οστών και φυσικά βλάβες στο ήπαρ.

Το *all-trans* και το *13-cis* ρετινοϊκό οξύ, συνθετικά παράγωγα της βιταμίνης Α, δεσμεύονται κατά τρόπο μη ειδικό γι' αυτό η περίσσεια τους δεν δημιουργεί μεγάλα προβλήματα τοξικότητας.

Τα καροτενοειδή, γνωστά και ως προβιταμίνες Α, παρουσιάζουν τις ίδιες αντιοξειδωτικές ιδιότητες με τη βιταμίνη Α, έχοντας όμως παράλληλα και τα ίδια προβλήματα τοξικότητας Παρ' όλα αυτά επειδή περιέχονται σε μεγάλο αριθμό τροφίμων, τα τελευταία χρόνια, γίνεται έντονη προσπάθεια ποιοτικού και ποσοτικού προσδιορισμού τους . Η απομόνωση τους και η μελέτη τους έγινε αντικείμενο ευρυτάτων μελετών και ο αριθμός τους σήμερα μαζί με τα ισομερή της πολυενικής αλυσίδας ξεπερνά τα 500.

Αλλοιώνονται όμως, πάρα πολύ εύκολα κατά την κατεργασία των τροφίμων, κυρίως παρουσία οξυγόνου και φωτός. Επίσης τα καροτενοειδή μετατρέπονται εύκολα από *cis* σε *trans* ισομερή παρουσία φωτός, ιωδίου και οξέων.

Έτσι γίνεται κατανοητό γιατί τα τρόφιμα χάνουν σημαντικά ποσοστά των προϊόντων αυτών, κυρίως όταν υπόκεινται σε κατεργασίες θερμάνσεως, ξηράνσεως, αποθηκείσεως κ.λ.π. με αποτέλεσμα να μειώνεται ουσιαστικά ο προστατευτικός αντιοξειδωτικός ρόλος των ενώσεων αυτών, πάνω στους λειτουργικούς ιστούς, ενάντια σε ευαισθητοποιητές όπως η χλωροφύλλη, το ατομικό οξυγόνο και οι ελεύθερες ρίζες.

Για να καλυφθούν λοιπόν, αυτές οι απώλειες αλλά και για να αυξηθεί η πρόληψη κατά του καρκίνου επιβάλλεται η προσθήκη καροτενοειδών ή βιταμίνης Α στη διατροφή μας. Όμως υπάρχει το πρόβλημα της τοξικότητας, που αναφέρθηκε παραπάνω, το οποίο περιορίζει πάρα πολύ την δυνατότητα αυτή.

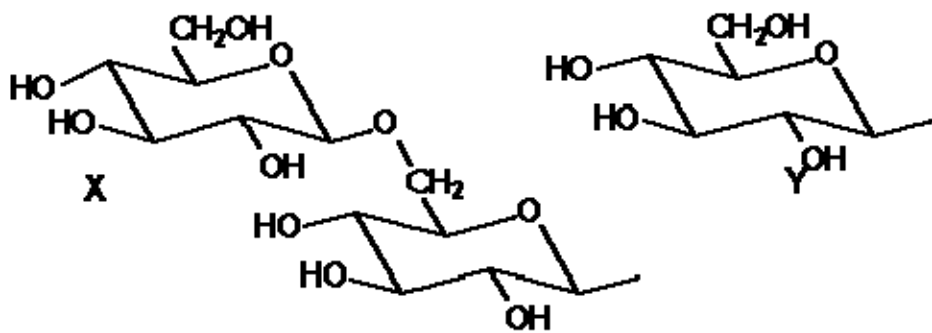
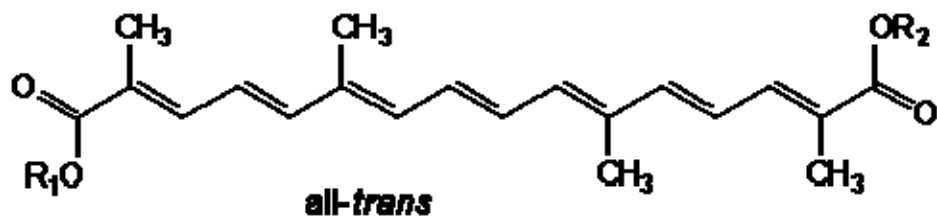
Στην Ελλάδα από πολύ παλιά καλλιεργείται ο κρόκος (*Crocus sativus L.*) που τα στίγματα του περιέχουν σημαντικές ποσότητες υδατοδιαλυτών καροτενοειδών των οποίων η δομή αποτελείται από μια πολυακόρεστη αλυσίδα έχοντας στα δύο άκρα γλυκοζυλεστέρες, συγχρόνως έχουν ένα χαρακτηριστικό άρωμα με ιδιαίτερη επίσης γεύση, γι' αυτό χρησιμοποιείται ως άρτυμα στα φαγητά.

Παρόλο που παράγεται στην περιοχή της Κοζάνης το προϊόν αυτό πολύ λίγο χρησιμοποιείται στην Ελληνική κουζίνα και βιομηχανία τροφίμων, ενώ είναι ευρύτατα γνωστό στον υπόλοιπο Ευρωπαϊκό χώρο ως saffron ή safran. Σχεδόν όλη η παραγωγή αυτού του προϊόντος εξάγεται αποκομίζοντας σημαντικό συνάλλαγμα για τη χώρα μας.

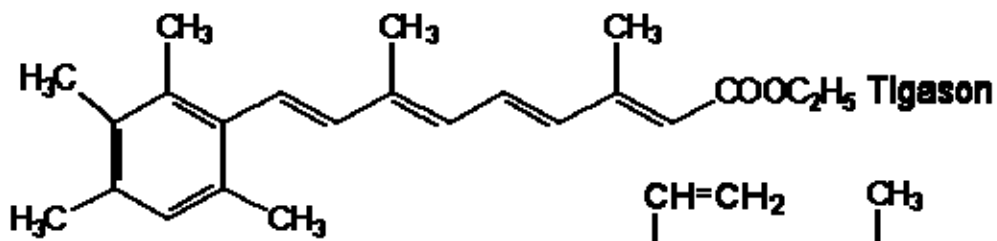
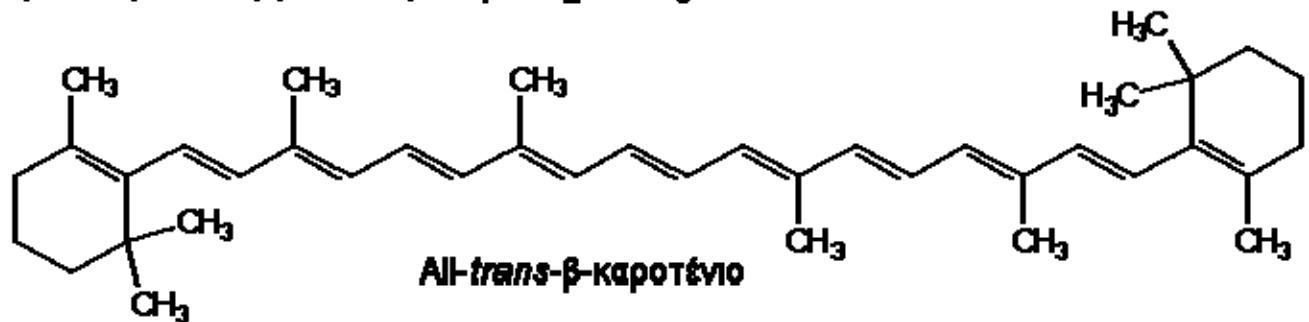
Αναμένεται όπως και στην περίπτωση του all-trans και 13-cis ρετινοϊκού οξέος, τα παράγωγα των γλυκοζυλεστέρων της κροκετίνης να εμφανίζουν μειωμένη τάση συσσώρευσης στο ήπαρ χωρίς να χάνουν τίποτα από τις αντικαρκινικές και διαφοροποιητικές τους ιδιότητες.

2.2. Αναστολή του πολλαπλασιασμού και προαγωγή της διαφοροποίησης καρκινικών κυττάρων της σειράς K562 από συστατικά του κρόκου και ημιφυσικών παραγώγων τους:

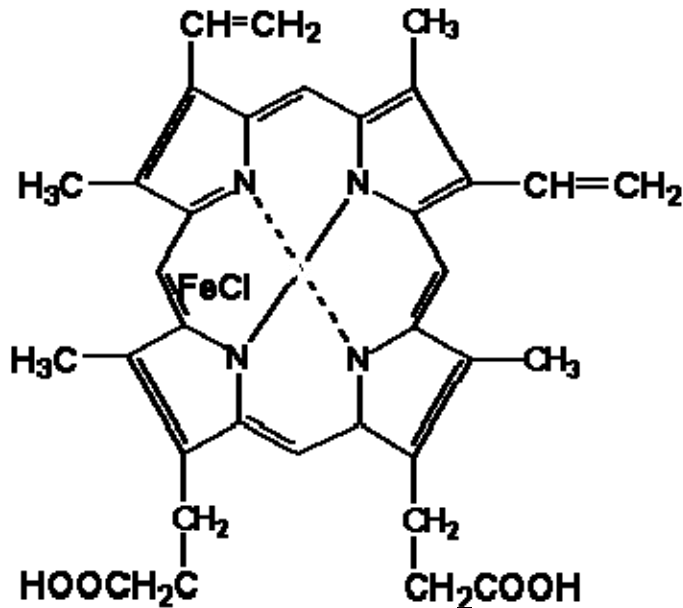
Μελετήθηκε *in vitro* η δράση των καροτενοειδών του κρόκου σε κύτταρα της σειράς K562 τα οποία ελήφθησαν από ασθενή με χρόνια μυελογενή ερυθρολευχαιμία. Η βιολογική μελέτη *in vitro* των φυσικών υδατοδιαλυτών καροτενοειδών του κρόκου (κροκίνες CRCs) και του παράγωγου αυτών διμεθυλκροκετίνης (DMCRT), έδειξε ότι αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό και αλλά προάγουν μερικώς την διαφοροποίηση καρκινικών κυττάρων της σειράς K562. Επιπλέον έγινε σύγκριση της δράσης των καροτενοειδών του κρόκου με τις παρακάτω ουσίες:



Κροκίνες (CRCs) : Γλυκοζυλεστέρες της της κροκετίνης $R_1, R_2 = X, Y$
 Κροκετίνη (CRT): $R_1 = R_2 = H$
 Διμεθυλκροκετίνη (DMCRT): $R_1 = R_2 = CH_3$



Αιμίνη



□ □ **Σχήμα 2.** Συντακτικοί τύποι των κροκινών-CRCs, της διμεθυλκροκετίνης (DMCRT), του *all-trans*-β-καροτενίου, του *tigason* και της αιμίνης.

1. *All-trans* β-καροτένιο (Aldrich Chemical Company).
2. *Tigason* ή *Etretinate*, αρωματικό ανάλογο του ρετινοϊκού οξέος συνθετικής προελεύσεως (Hoffman-La Roche).
3. Αιμίνη ή χλωριούχος σιδηροπρωτοπορφυρίνη είναι προϊόν της αιμοσφαιρίνης

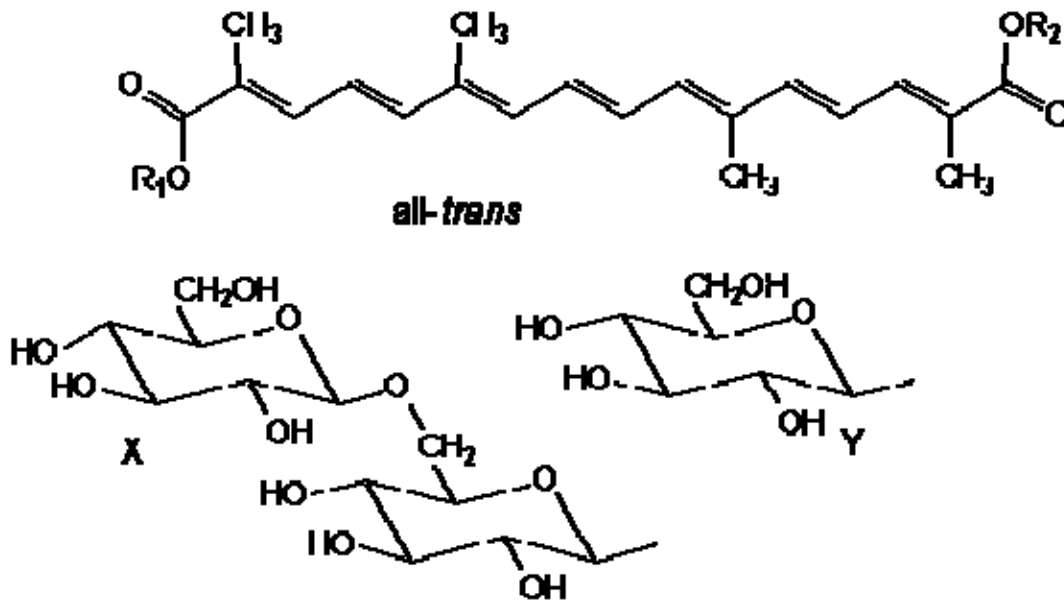
Η σύγκριση έδειξε ότι τα συστατικά του κρόκου πλεονεκτούν, ως προς το *all-trans*-β-καροτένιο, λαμβάνοντας υπόψη το γεγονός ότι δεν είναι πρόδρομες ενώσεις της βιταμίνης A. Στις άλλες περιπτώσεις το συνθετικό ανάλογο των ρετινοειδών *tigason* (*etretinate*) παρουσιάζει μόνο κυτταροστατική δράση στην σειρά K562, ενώ η αιμίνη αναπτύσσει την πιο έντονη διαφοροποιητική δράση, όπως αναμένονταν. Από τη σύγκριση της δομής των παραπάνω ενώσεων φαίνεται ότι η βιολογική τους δράση (αντικαρκινική και διαφοροποιητική) οφείλεται σε εντοπισμένο και ανάλογο τμήμα των μορίων αυτών.

□ □ **2.3. Αναστολή του πολλαπλασιασμού και προαγωγή της διαφοροποίησης καρκινικών κυττάρων της σειράς HL60 από συστατικά του κρόκου και ημιφυσικών παραγώγων τους.**

Η μελέτη της αναστολής του πολλαπλασιασμού και της προαγωγής της διαφοροποίησης καρκινικών κυττάρων της σειράς HL60, τα οποία ελήφθησαν από ασθενή με χρόνια προμυελογενή λευχαιμία έδειξε ότι τα καροτενοειδή του κρόκου, σαν μείγμα κροκινών (CRCs) αλλά κυρίως σαν καθαρά ανάλογα τους, CRT και DMCRT, είναι πολύ αποτελεσματικά. Παρατηρήθηκε μείωση του ρυθμού πολλαπλασιασμού, και προαγωγή της διαφοροποίησης των λευχαιμικών κυττάρων HL-60.

Από τη σύγκριση της βιολογικής δράσης τους με το *All-trans* ρετινοϊκό οξύ (ATRA), (Sigma, St Louis, MO, USA), θα μπορούσε να υποστηριχθεί ότι αυτός ο τύπος των φυσικών καροτενοειδών του *Crocus sativus* L. και ειδικά τα καθαρά παράγωγα τους έχουν μια συγκρίσιμη βιολογική δραστηριότητα με αυτή του ATRA και θα μπορούσαν να χρησιμοποιηθούν σαν εναλλακτικοί αντικαρκινικοί παράγοντες στην χημειοθεραπεία του καρκίνου, από μόνα τους ή σε συνδυασμό με άλλες χημικές ουσίες των οποίων είναι γνωστή η αντικαρκινική τους δράση, με στόχο τη μείωση της τοξικότητάς τους.

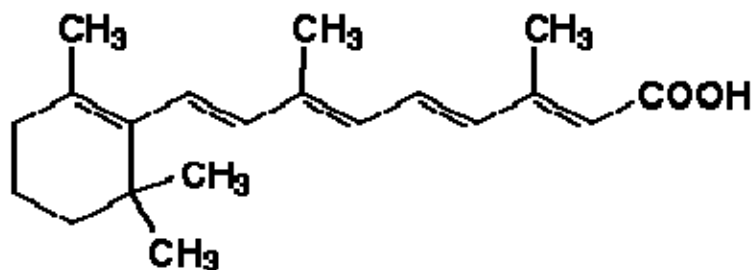
Συμπερασματικά η *in vitro* μελέτη της βιολογικής δραστηριότητας των καροτενοειδών του κρόκου έδειξε ότι αναστέλλουν τον πολλαπλασιασμό αλλά ταυτόχρονα διαφοροποιούν τα καρκινικά κύτταρα των σειρών K562 και HL60. Τα αποτελέσματα ήταν ανάλογα με αυτά εμπορικών σκευασμάτων της ίδιας χημικής οικογένειας (Etretinate, ATRA).



Κροκίνες (CRCs) : Γλυκοζυλεστέρες της της κροκετίνης
 $R_1, R_2 = X, Y$

Κροκετίνη (CRT): $R_1 = R_2 = H$

Διμεθυλκροκετίνη (DMCRT): $R_1 = R_2 = CH_3$



All-trans-ρετινοϊκό οξύ

Σχήμα 3. Οι χημικές δομές των ημιφυσικών (DMCRT, CRT) και φυσικών (CRCs) καροτενοειδών του *Crocus sativus* L. και του all-trans ρετινοϊκού οξέος (ATRA).

Τα αποτελέσματα των παραπάνω ερευνών μπορούν να ανοίξουν νέους δρόμους για την καλύτερη αξιοποίηση του φυσικού αυτού προϊόντος.
