

十字花科植物中的硫代葡萄糖苷及其降解产物

修丽丽, 钮昆亮

(浙江工商大学 食品生物与环境工程学院, 浙江 杭州 310035)

摘要: 硫代葡萄糖苷是一种含硫的阴离子亲水性植物次生代谢产物, 广泛分布于十字花科植物中。植物体中硫代葡萄糖苷和葡萄糖硫苷酶(俗称黑芥子酶)形成硫代葡萄糖苷-葡萄糖硫苷酶体系。在完整的植物中, 硫代葡萄糖苷存在于细胞的液泡中, 葡萄糖硫苷酶存在于特定的蛋白体中, 两者相互分离, 但当组织和细胞受到损伤时, 葡萄糖硫苷酶就会被释放出来, 葡萄糖硫苷酶将硫代葡萄糖苷水解, 产生异硫代氰酸盐等降解产物。近年来的研究发现, 异硫代氰酸盐以阻遏和抑制因子发挥抗癌作用。

关键词: 硫代葡萄糖苷; 葡萄糖硫苷酶; 异硫代氰酸盐; 抗癌

中图分类号: O658

文献标识码: A

文章编号: 1671-8798(2004)03-0187-03

许多研究表明, 常吃水果和蔬菜是一种很好的饮食习惯。植物中存在许多抗癌成分, 如纤维素、维生素C、维生素E、大豆异黄酮、胡萝卜素、植物雌激素等, 这些物质可以减少一些疾病的发生率, 如减少胃肠道肿瘤的发生率^[1~3]。早在19世纪80年代, 国际委员会(National Diets Nutrition and Cancer Committees)建议多吃十字花科蔬菜, 因为十字花科蔬菜可以预防癌症。流行病学数据已表明, 富含十字花科蔬菜的饮食, 如西兰花、花椰菜、甘蓝等能减小许多癌症的发病率。Kohlmeier和Su发现常吃花椰菜可以降低大肠癌和直肠癌发生的可能性, Michaud等人发现可以减少膀胱癌的发生, Cohen等人发现可以减少前列腺癌的发生。目前一致认为, 十字花科植物的重要抗癌活性成分前体是硫代葡萄糖苷。

1 硫代葡萄糖苷在植物中的分布

植物中的硫代葡萄糖苷已有大量的文献报道。在天然植物中已发现120多种不同的硫代葡萄糖苷, 它们存在于11个不同种属的双子叶被子植物中, 最重要的是十字花科, 所有的十字花科植物都能够合成硫代葡萄糖苷。硫代葡萄糖苷存在于这些植物的根、茎、叶和种子中, 但主要存在于种子中。另外, 许多非十字花科的双子叶被子植物中也同样含有一种或两种硫代葡萄糖苷。硫代葡萄糖苷在一些十字花科植物中的含量大约占干重的1%, 在一些植物种子中的含量达到10%。但是, 硫代葡萄糖苷在植物中的含量变化很大, 不同品种、不同生长环境以及同一植株的不同生长阶段、同一植株的不同部位含量都存在差别^[4], 如Glucoraphanine在西兰花嫩芽中的含量是成熟植株或花的10~100倍。我国的十字花科植物品种主要有花椰菜、西兰花、甘蓝、萝卜、芥菜。在十字花科植物中芸苔属是主要的食用蔬菜, 芸苔属植物包括西兰花、花椰菜、芜菁、焦青甘蓝、羽衣甘蓝、芥菜等。硫代葡萄糖苷在芸苔属蔬菜中的含量一般是500~2 000 $\mu\text{g/g}$, 西兰花、花椰菜、甘蓝分别含有5~6种以上的硫代葡萄糖苷, 其中包括吲哚族硫代葡萄糖苷和芳香族的硫代葡萄糖苷。

收稿日期: 2004-04-29

作者简介: 修丽丽(1978—), 女, 黑龙江尚志人, 硕士研究生, 从事植物中抗癌活性成分的研究。

2 硫代葡萄糖苷的结构

硫代葡萄糖苷是一种含硫的阴离子亲水性植物次生代谢产物。1970 年, Marsh 和 Waser 等对硫代葡萄糖苷晶体的 X 射线分析证明: 所有的硫代葡萄糖苷都具有相同的基本结构, 如图 1 所示。

所有的硫代葡萄糖苷都有一个核心结构是 β -D-葡萄糖连接一个磺酸盐醛基团和一个来源于氨基酸的侧链。根据侧链 R 的氨基酸来源不同, 可以将硫代葡萄糖苷分为脂肪族硫代葡萄糖苷(侧链来源于蛋氨酸、丙氨酸、缬氨酸、亮氨酸和异亮氨酸), 芳香族硫代葡萄糖苷(侧链来源于酪氨酸和苯丙氨酸)及吲哚族硫代葡萄糖苷(侧链来源于色氨酸)。不同的侧链决定了水解产物的不同, 抗癌活性也存在差别。硫代葡萄糖苷的分类主要依据侧链 R 的不同。

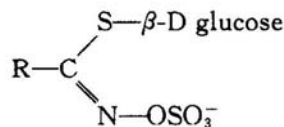


图 1 硫代葡萄糖苷的基本结构

3 硫代葡萄糖苷的降解产物

硫代葡萄糖苷在植物中不是单一存在的。植株中存在硫代葡萄糖苷-葡萄糖硫苷酶(Glucosinolate-Myrosinase)体系, 在完整的植物中, 葡萄糖硫苷酶存在于特定的蛋白体中, 硫代葡萄糖苷存在于液泡中, 两者是分离的, 但当植物细胞组织被破坏的时候, 比如在刀切或咀嚼的过程中, 葡萄糖硫苷酶(EC 3. 2. 3. 1)被释放出来, 并将硫代葡萄糖苷水解。硫代葡萄糖苷的最初酶解产物是 D-葡萄糖和不稳定的糖苷配基。根据侧链的不同, 这些物质随后重新排列生成异硫代氰酸盐、硫代氰酸盐和羟基腈等化合物。这些特殊水解产物的形成原因是很复杂的, 比如侧链不同、pH 值大小、金属离子和蛋白质的存在等等, 都是决定其产物的重要因素。硫代葡萄糖苷酶在人体肠道中也有存在。所以, 即使植物中的葡萄糖硫苷酶被破坏(例如蔬菜煮过后), 硫代葡萄糖苷在体内仍能分解。但是, 由于硫代葡萄糖苷和它们的一些降解产物是水溶性的, 有研究表明煮 10 min, 甘蓝中葡萄糖苷的含量可能降低 30%~50%^[5]。不同种类的植物, 葡萄糖硫苷酶的活性不同。柠檬酸会对硫代葡萄糖苷的酶解产生影响^[6]。

硫代葡萄糖苷在无酶(如加温、加压)的条件下也会发生降解, 其降解过程十分复杂, 主要产物是腈类化合物和异硫氰酸酯, 反应产物和反应速度与外界条件有关。温度高, 降解反应速度快, 生成腈的量。硫代葡萄糖苷的反应速度与体系的含水量有关, 体系的含水量低, 要在较高温度下发生反应, 且降解反应速度较慢。碱性化学试剂和过渡金属离子都可催化硫代葡萄糖苷的降解反应, 反应速度随碱性试剂的浓度增加而加快; 加压硫代葡萄糖苷的反应速度会加快。

4 硫代葡萄糖苷的分离和确定

分离硫代葡萄糖苷的方法有气-液色谱(GLC)法, 离子交换法和高效液相色谱(HPLC)法, 硫代葡萄糖苷的分离最初通过气-液色谱法, 首先得到硫代葡萄糖苷的三甲基硅烷化衍生物, 并除去硫酸盐基团, 但一些硫代葡萄糖苷经过衍生化产生许多其他产物。这种方法后来经进一步改进, 用硫解酶将硫酸盐除去, 但由于酶的作用受 pH 值、时间、温度和酶浓度的影响, 所以, 产物也受到上述因素的影响。Betz, Fox 等在亲水性阴离子存在的情况下, 利用离子对高效液相色谱法、逆相高效液相色谱法分离完整的硫代葡萄糖苷。此方法可以回收完整的硫代葡萄糖苷, 但缺点是通过离子对高效液相色谱法分离得到的片断含有大量的高度亲水的相反离子, 这些离子对后来的质谱、核磁共振等分析会产生干扰。

5 流行病学研究及硫代葡萄糖苷抗癌机理初探

硫代葡萄糖苷的生物活性作用是经过水解之后的产物所表现出来的。完整的硫代葡萄糖苷无毒性也无生物活性, 目前的研究主要集中在几种硫代葡萄糖苷和它们的降解产物的抗癌活性上面。最近几十年, 更多的证据表明十字花科蔬菜中的硫代葡萄糖苷及降解产物确实具有抗癌特性^[7~9]。研究已表明, 某些硫代葡萄糖苷的降解产物对肺癌、大肠癌、肝癌和胃癌具有保护性预防作用。Wattenberg 发现异硫代氰酸盐能抑制由 7, 12-二甲基苯基[α]蒎(DMBA)诱导的老鼠乳腺肿瘤的发生, 后发现苯甲基异硫代氰酸盐和甘蓝粉末都对

DMBA-诱导的乳腺癌具有阻碍作用,同时也可以抑制乳腺癌肿瘤的形成^[10,11]。

十字花科植物的抗癌作用可能是许多机制的复杂交互作用,异硫代氰酸盐的抗癌机理也各不相同,丙烯基异硫代氰酸盐可抑制癌细胞原的形成;2-丙烯基异硫代氰酸盐能促进阶段Ⅱ酶如谷胱甘肽硫转移酶的体内脱毒, Sulphoraphane 的抗癌作用部分是由于对体内阶段Ⅱ酶的诱导作用。大量证据表明,十字花科植物的抗癌能力主要是由于它能调节生物转化酶的表达和活性。生物转化酶分为阶段Ⅰ酶和阶段Ⅱ酶。阶段Ⅰ酶包括细胞色素 P450 酶系统,涉及氧化、还原和水解反应,并且非常复杂。细胞色素 P450 使化合物亲水性更强,因此更容易解毒。阶段Ⅱ酶能使阶段Ⅰ酶产生的活化中间产物解毒,它们能促进亲电性的致癌剂与亲水基团的结合,产生高极性的易于分泌的分子,如谷胱甘肽转移酶,UDP-葡萄糖醛酸基转移酶;或者通过氧化还原反应破坏致癌剂高度活化的中央结构,如醌还原酶和环氧化物酶等。除了能代谢致癌物质外,生物转化酶也能代谢内生的化合物(如类固醇激素)。通过调节激素的分泌量,生物转化酶能够间接影响癌变前和已癌变组织的进一步恶化。

大部分关于硫代葡萄糖苷的水解产物和十字花科蔬菜抗癌作用的证据来自动物实验研究。在动物实验研究中,所使用抗癌化合物和致癌化合物剂量超过这些化合物人类饮食中的正常水平,因此,很难推断在饮食正常水平时这些化合物是否也有抗癌作用。因此,在正常水平,硫代葡萄糖苷水解产物和十字花科蔬菜是否也对人类具有抗癌特性影响还有待于进一步研究。近几年来,我国学者对十字花科植物中硫代葡萄糖苷的成分和含量进行了研究,对硫代葡萄糖苷的分离鉴定方法也做了相关研究^[12]。有关参与合成硫代葡萄糖苷的基因调控方面的研究正在展开,如其成功,便可在基因水平上人为操纵硫代葡萄糖苷的生物合成,提高蔬菜中抗癌的硫代葡萄糖苷的含量^[13]。但我国在这方面的研究只能说刚刚起步,采后各种因子对十字花科植物硫代葡萄糖苷含量和异硫代氰酸盐的影响的研究很少,抗癌机理需要进一步研究,硫代葡萄糖苷及异硫代氰酸盐作用于人体的抗癌剂量需要进一步研究。

参考文献:

- [1] Steinmetz K A, Potter J D. Vegetable, fruit and cancer mechanisms[J]. *Cancer Causes Control*, 1991, (2):427-444.
- [2] Dragsted L O, Strube M, Larsen J C. Cancer-protective factors in fruits and vegetables; bio-chemical and biological background[J]. *Pharmacol Toxicol*, 1993, 72(Suppl):116-135.
- [3] Wattenberg L W. Inhibition of carcinogenesis by minor dietary constituents[J]. *Cancer Res*, 1992, 52:2085-2091.
- [4] Farnham M W, Stephenson K K, Fahey J W. The capacity of broccoli to induce a mammalian chemoprotective enzyme varies among inbred lines[J]. *Journal of American Society of Horticultural Science*, 2000, 125:482-488.
- [5] Rose E A S, Heaney R K. The effect of cooking and processing on the glucosinolate content; studies on four varieties of Portuguese cabbage and hybrid white cabbage[J]. *Sci Food Agric*, 1993, 62:259-265.
- [6] Wilkinson A P, Rhodes M J C, Fenwick G R. Myrosinase activity of cruciferous vegetables[J]. *Sci Food Agric*, 1985, 35:543-552.
- [7] Boyd J N, Babish J G, Stoewsand G S. Modification by beet and cabbage diets of aflatoxin B1 induced rat plasma α -foeto-protein elevation, hepatic tumorigenesis, and mutagenicity of urine[J]. *Food and Chemical Toxicology* 1982, 20:47-52.
- [8] Bresnick E, Birt D F, Wheeler M, et al. Reduction in mammary tumorigenesis in the rat by cabbage and cabbage residue[J]. *Carcinogenesis*, 1990, 11:1159-1164.
- [9] Stoewsand G S, Anderson J L, Munson L. Protective effect of dietary Brussels sprouts against mammary carcinogenesis in Sprague-Dawley rats[J]. *Cancer Letters*, 1988, 39:199-207.
- [10] Stoewsand G S, Rabish J B, Wimberly H C. Inhibition of hepatic toxicities from polybrominated biphenyls and aflatoxin in Blin rats fed cauliflower[J]. *Journal of Environmental Pathology and Toxicology*, 1978, (2):399-406.
- [11] Wattenberg L W. Inhibition of neoplasia by minor dietary constituents[J]. *Cancer Research*, 1983, 43(Suppl):2448-2453.
- [12] 袁丽凤, 张志刚, 郭伟强. 硫代葡萄糖苷的 HPLC-MS 分离鉴定研究[J]. *浙江科技学院学报*, 2003, 15(S0):87-89.
- [13] 汪俏梅, Steffen Abel. 异硫代氰酸盐的抗癌机理及其相关研究[J]. *细胞生物学杂志*, 2002, 24:171-175.

(下转第 211 页)

(上接第 189 页)

Glucosinolates and its degraded products in cruciferous plants

XIU Li-li, NIU Kun-liang

(Dept. of Food Science, Zhejiang Gongshang University, Hangzhou 310035, China)

Abstract: Glucosinolates are anionic, hydrophilic and sulfur-containing secondary metabolites which are mainly found in cruciferous plants. Glucosinolates and thioglucoside glucohydrolase (myrosinase) form glucosinolate-myrosinase system in plant. Glucosinolates and myrosinase are present in the vacuoles and in the definite protosome in intact cell and tissues respectively. But when tissues and cells are damaged, myrosinase will release and hydrolyze glucosinolates to generate degraded products, such as isothiocyanates and so on. Furthermore, recent researches have found out that isothiocyanates have the anti-cancer effects by using the inhibiting and repressing factors.

Key words: glucosinolate; myrosinase; isothiocyanate; anti-cancer