

Рекомендована д.ф.н., професором А.Г.Сербіним

УДК 615.322:615.277.3:635.356:547.491.4

## ДОСЛІДЖЕННЯ СІРКОВМІСНИХ СПОЛУК *BRASSICA OLERACEA L. VAR. ITALICA PLENCK*

І.М.Владимирова, В.С.Кисличенко, С.М.Губарь

Національний фармацевтичний університет

**Висвітлена актуальність вивчення сірковмісних сполук капусти брокколі (*Brassica oleracea var. italica Plenck*) родини капустяних *Brassicaceae*, які мають протипухлинні властивості, перешкоджають розвитку ракових клітин, викликають індукцію апоптозу численних пухлинних клітин, навіть стійких до хіміотерапевтичних препаратів. Встановлено кількісний вміст сірковмісних сполук, а саме — ізотіоціанатів, тіоціанатів та сірковмісних глікозидів у суцвіттях та листі капусти брокколі сортів Тонус, Калабрайзе, Вітамінна, Романеска та Лінда.**

Для рослин представників роду капуста (*Brassica*) родини капустяних (*Brassicaceae*) характерна наявність у тканинах значного вмісту сірковмісних речовин — глюкозинолатів, складовою частиною яких є різноманітні сполуки, в тому числі ізотіоціанати — гірчичні олії, що обумовлюють специфічний смак капусти. До складу глюкозинолатів входять також прогойтрин та гойтрин; останній при недостатці йоду підвищує секреторну активність щитоподібної залози, тим самим перешкоджаючи розвитку зобної хвороби. Однак зобогенна речовина в капусті знаходиться переважно в неактивній формі (прогойтрин) і перетворюється на активну — гойтрин під дією ферментів глюкозидази та міросульфатази, які при тепловій обробці повністю інактивуються [1, 3, 11].

Найбільш поширеними глюкозинолатами є: синігрин, глюконапін, глюкорафанін, глюкобрасицин. При ферментативному гідролізі під дією ферменту тіоглюкозидази глюкозинолати розщеплюються на різні сполуки: ізотіоціанати (гірчичні олії), тіоціанати або органічні нітрили, глюкозу та бісульфат калію. Утворення цих речовин залежить від умов гідролізу цих речовин. Ізотіоціанати як і органічні нітрили є леткими сполуками, тому їх часто об'єднують під назвою "летких сполук капустяних". До їх складу входять різні групи речовин: спирти (метанол, етанол), ціаніди (аліліціанід, 4-метилтіобутил-ціанід), альдегіди та кетони (ацетальдегід, пропанал, гексанал, бутанон), сульфіді, ароматичні сполуки та ін. [5, 6, 7, 8].

Глюкозинолати ( $\beta$ -тіоглюкозид-N-гідроксисульфати) — хімічно стабільні молекули зі спільною структурою, яка містить молекули глюкози, сірковмісні групи та аглікони (рис. 1). Ці речовини є вторинними метаболітами багатьох представників родини капустяних (*Brassicaceae*) [5, 7, 12].

У водних розчинах глюкозинолатів фермент мірозіназа каталізує гідролітичне розщеплення тіоглюкозидного зв'язку, утворюючи D-глюкозу та тіогідроксимат-О-сульфонат (аглікон). Потім сполука перегрупується неферментативно з відщепленням сульфату та утворенням одного з декількох можливих продуктів. Домінуючий продукт залежить від структури бічного ланцюга глюкозинолату та можливості ко-фактора протеїну впливати на активність ферменту [7, 8, 10].

У представників родини *Brassicaceae* ідентифіковано понад 120 різноманітних глюкозинолатів, які відрізняються агліконом: алкіл-, алкеніл-, арил- або індолструктура. Аглікон у молекулі глюкозинолатів є вирішальним для сенсорної та фізіологічної дії. Так, наприклад, гострота хрому і гірчиці обумовлена алілізотіоціанатом, а синігрин та прогойтрин обумовлюють гіркий смак у брюсельській капусті та інших її видах [12].

Ізотіоціанати — група хімічних речовин, які представляють собою продукт заміщення атома кисню на сірку в молекулі ізоціанату з електрофільним центром — атомом вуглецю (рис. 2). Алілізоціанат є складовою частиною гірчичної олії, яка відповідає за специфічний запах та смак [7, 8, 11].

Ізотіоціанати, як наприклад, фенетил ізотіоціанат та сульфорафан (рис. 3) мають протипухлинні властивості, перешкоджають розвитку ракових клітин. Їх активність спостерігається на різних рівнях. Найбільший їх вплив на розвиток

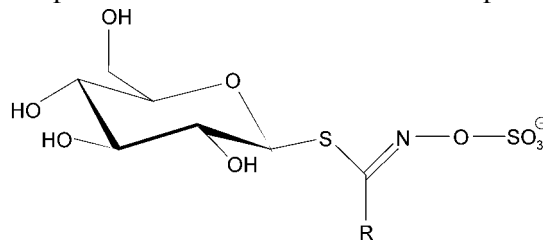


Рис. 1. Загальна структура глюкозинолатів.

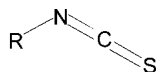


Рис. 2. Загальна структура ізотіоціанатів.

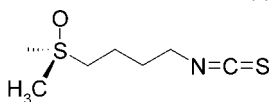


Рис. 3. Структурна формула сульфорафану.

ракового процесу в клітинах направлений на пригнічення цитохрому P450, який окиснює такі речовини як бензо- $\alpha$ -піран та інші поліциклічні ароматичні вуглеводні, які можуть викликати мутацію та розвиток ракового процесу. Фенетил ізотіоціанат та сульфорафан викликають індукцію апоптозу численних пухлинних клітин, навіть стійких до хіміотерапевтичних препаратів [4, 5, 6, 7].

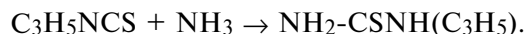
У зв'язку з цим ми вважали за доцільне провести вивчення сірковмісних сполук суцвіття та листя капусти брокколі сортів Тонус, Калабрайзе, Вітамінна, Романеска та Лінда з метою встановлення їх кількісного вмісту в різних частинах рослини, а також порівняльного аналізу щодо накопичення вказаних сполук у досліджуваних сортах капусти брокколі.

#### Матеріали та методи

Об'єктами дослідження були суцвіття та листя капусти брокколі сортів Тонус, Калабрайзе, Вітамінна, Романеска та Лінда, отримані нами при сприянні Науково-дослідного аграрного інституту овочівництва та баштанництва (м. Мерефа, Харківська обл.).

**Визначення ізотіоціанатів (гірчичних олій)** проводили з використанням 0,1 М розчину аргентуму нітрату. Метод заснований на перегонці з водяною парою продуктів розпаду глюкозинолатів після ферментативного гідролізу в концентрований розчин аміаку і 0,1 М розчин аргентуму нітрату та титруванні надлишку останнього.

Гірчична олія вступає в реакцію з аміаком:



Ця сполука при нагріванні з 0,1 М розчином аргентуму нітратом утворює аргентуму сульфід. До 50 мл дистилляту додавали 5 мл 10% розчину кислоти азотної і 5 мл розчину залізоамонієвих галунів. Надлишок 0,1 М розчину срібла нітрату титрували 0,1 М розчином амонію тіоціанату до появи червоного забарвлення.

Вміст гірчичних олій (X) у відсотках в перерахунку на абсолютно суху сировину проводили за формулою:

$$X = \frac{(a - a_1 \cdot 4) \cdot 0,004958 \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - w)},$$

де:  $a$  — об'єм 0,1 М розчину аргентуму нітрату, який міститься у колбі-приймачі, мл;  
 $a_1$  — об'єм 0,1 М розчину амонію тіоціанату, який витрачений на титрування надлишку 0,1 М розчину аргентуму нітрату, мл;  
 4 — коефіцієнт перерахунку на всю перегонку (загальний об'єм дистилляту складає 200 мл);  
 $m$  — маса наважки сировини, г;  
 $w$  — втрата в масі при висушуванні сировини, %.

Молекула алілової олії ( $C_3H_5NCS$ ) осаджує молекулу аргентуму сульфід, тому 215,4 г аргентуму відповідає 99,15 г алілової олії; 1 мл 0,1 М розчину срібла нітрату містить 0,01077 г срібла і відповідає 4,958 мг алілової олії [2].

Результати визначення вмісту ізотіоціанатів наведені в таблиці.

Принцип методу **визначення вмісту тіоціанатів** заснований на одержанні забарвлених продуктів при взаємодії іону  $SCN^-$  молекули тіоціанату заліза (III) нітратом з наступним визначенням отриманих забарвлених комплексів на спектрофотометрі.

Таблиця

Визначення кількісного вмісту сірковмісних сполук у суцвіттях та листі брокколі сортів Тонус, Калабрайзе, Вітамінна, Романеска та Лінда

Сировина капусти брокколі, сорт		Вміст груп біологічно активних речовин		
		ізотіоціанати, %	тіоціанати, мг/100г	сірковмісні глікозиди, мг/100г
Тонус	суцвіття	0,41±0,09	0,94±0,02	3,49±0,01
	листя	0,39±0,08	0,95±0,01	3,51±0,02
Калабрайзе	суцвіття	0,40±0,08	0,93±0,01	3,48±0,01
	листя	0,38±0,07	0,94±0,02	3,50±0,01
Вітамінна	суцвіття	0,40±0,09	0,91±0,02	3,47±0,02
	листя	0,39±0,07	0,93±0,01	3,49±0,02
Романеска	суцвіття	0,39±0,08	0,92±0,02	3,49±0,01
	листя	0,38±0,08	0,93±0,01	3,50±0,01
Лінда	суцвіття	0,40±0,09	0,91±0,01	3,48±0,01
	листя	0,39±0,07	0,92±0,02	3,50±0,02

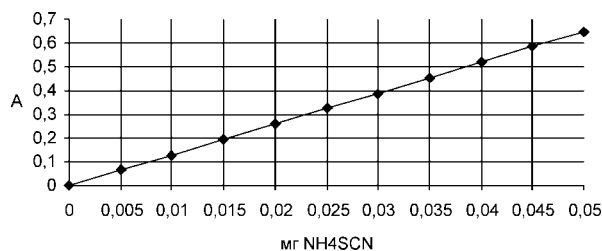


Рис. 4. Градувальний графік за 0,1 М розчином амонію роданіду.

Вміст SCN<sup>-</sup> (у вигляді NH<sub>4</sub>SCN) у пробі знаходили за градувальним графіком (рис. 4). Для побудови градувального графіка готували 0,1 М розчин амонію роданіду. Для визначення кожної точки градувального графіка проводили кілька паралельних вимірювань. Розраховували відсотковий вміст амонію роданіду в сировині. Для перерахунку на іон SCN<sup>-</sup> одержану величину (%) помножували на коефіцієнт 0,76 [2].

Результати визначення вмісту роданідів наведені в табл.

**Метод визначення сірковмісних глікозидів** заснований на реакції одержання комплексної сполуки натрію нітропрусиду з двовалентною сіркою, забарвленою в лужному середовищі від жовтого до червоно-бурого кольору (проба Легалья на двовалентний іон сірки). Цей колір аналогічний кольору розчину йоду від 0,05 до 0,1 М і зберігається протягом 1-2 хв, тому до одержаного розчину швидко додавали 1% розчин натрію нітропрусиду та вимірювали інтенсивність забарвлення на колориметрі фотоелектричному концентраційному КФК-2 (червона шкала фотоколориметра) з розчином порівняння 0,1 М розчином йоду. Кількість сірковмісних глікозидів визначали з розрахунку, що 1,48 мг йоду відповідає 0,006 мг сірки.

Для розрахунків будували градувальний графік за 0,1 М розчином йоду (рис. 5). Брали 20 пробірок; в 19 з них додавали від 9,5 до 0,5 мл розчину йоду з інтервалом 0,5 мл. В усі 20 пробірок в тому ж порядку додавали воду очищену від 0,5 до 10,0 мл з інтервалом 0,5 мл. Вимірювання проводили на КФК-2 з білим світлофільтром в кюветі з товщиною шару 3 см [2].

Результати визначення вмісту сірковмісних глікозидів наведені в табл.

#### Результати та їх обговорення

Визначення кількісного вмісту біологічно активних речовин (БАР) проводили в суцвіттях та

листі сортів брокколі, що досліджувались, з метою порівняльного вивчення вмісту БАР, обґрунтування вибору виду сировини для одержання фітозасобів, розробки аналітичної нормативної документації (АНД) на сировину брокколі та на отримані на її основі субстанції.

Отримані експериментальні дані вмісту ізотіоціанатів свідчать, що їх кількісний вміст практично однаковий в усіх сортах брокколі, що досліджувались. Вміст ізотіоціанатів у суцвіттях дещо більший і складає від 0,39% до 0,41% в порівнянні з листям — від 0,38 до 0,39%. Кількісний вміст тіоціанатів переважає в листі сортів брокколі, що досліджувались, і складає від 0,91% до 0,94% в суцвіттях та від 0,92% до 0,95% в листі капусти брокколі. Стосовно визначення кількісного вмісту сірковмісних глікозидів слід зазначити, що їх вміст у суцвіттях та листі складає від 3,47% до 3,49% та від 3,49% до 3,51% відповідно.

Відносно порівняльного вмісту в різних органах рослини слід зауважити, що вміст ізотіоціанатів дещо переважає в суцвіттях, а вміст тіоціанатів та сірковмісних глікозидів — у листі брокколі сортів Тонус, Калабрайзе, Вітамінна, Романеска та Лінда. Серед сортів брокколі, що вивчалися, найперспективнішим за кількісним вмістом наведених груп сірковмісних сполук виявився сорт Тонус.

#### ВИСНОВКИ

1. У суцвіттях та листі капусти брокколі сортів Тонус, Калабрайзе, Вітамінна, Романеска та Лінда встановлено кількісний вміст сірковмісних сполук, а саме — ізотіоціанатів, тіоціанатів та сірковмісних глікозидів.

2. Встановлено, що вміст ізотіоціанатів переважає в суцвіттях, а вміст тіоціанатів та сірковмісних глікозидів — у листі брокколі сортів Тонус, Калабрайзе, Вітамінна, Романеска та Лінда. Серед сортів брокколі, що вивчалися, найперспективнішим за кількісним вмістом наведених груп сірковмісних сполук виявився сорт Тонус.

3. Отримані експериментальні дані будуть враховані нами при розробці відповідних розділів АНД на сировину капусти брокколі, а також отриманих на її основі субстанцій та при розрахунку терапевтичної дози при проведенні фармакологічних досліджень, а також при розробці лікарської форми.

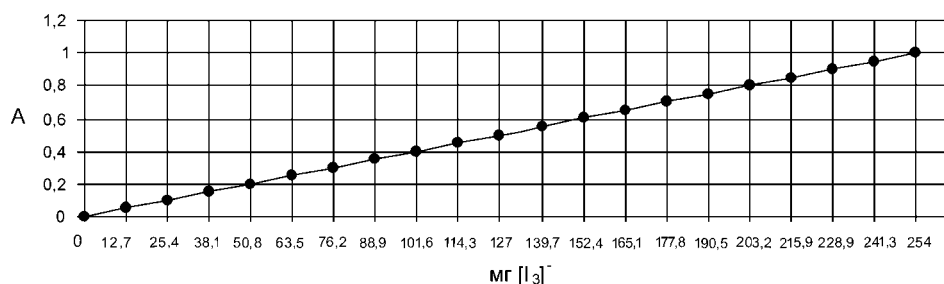


Рис. 5. Градувальний графік за 0,1 М розчином йоду.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Болотских А.С. Капуста. — Х.: ФОЛІО, 2002. — 318 с.
2. Ермаков А.П. Методы биохимического исследования растений. — Л.: Колос, 1987. — 430 с.
3. Лебедева А. // Сад и огород. — 2003. — №5. — С. 2-5.
4. Лівенцев В. // Сад, виноград і вино України. — 2002. — №3/4. — С. 43.
5. Ananieva O., Nilsson I., Vorobyova T. et al. // CVI. — 2002. — Vol. 52, №9. — P. 1160-1164.
6. Doorn H.E., Kruk G.C., Holst G.J. // Sci. Food Agric. — 1998. — №78. — P. 30-38.
7. Fahey J.W., Zalcmann A.T., Talalay P. // Phytochemistry. — 2001. — Vol. 56, №1. — P. 5-51.
8. Fieldsend J., Milford G.F.J. // Ann. Appl. Biol. — 1994. — Vol. 124, №6. — P. 543-555.
9. Murrey C.A. // Toxicology. — 2000. — Vol. 148, №1. — P. 66.
10. Rask L., Andreasson E., Ekbohm B. et al. // Plant Molecular Biology. — 2000. — Vol. 42, №1. — P. 93-113.
11. Rosa A.S., Heaney R.K., Fenwick G.R. // J. Sci. Food Agric. — 1996. — Vol. 71, №3. — P. 237-244.
12. Rosa A.S., Heaney R.K., Fenwick G.R. // Hort. Rev. — 1997. — Vol. 19, №2. — P. 99-215.

---

УДК 615.322:615.277.3:635.356:547.491.4

ИЗУЧЕНИЕ СЕРОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ *BRASSICA OLERACEA L. VAR. ITALICA PLENCK*

И.Н.Владимирова, В.С.Кисличенко, С.Н.Губарь

Известно, что серосодержащие соединения брокколи обладают противоопухолевыми свойствами, препятствуют развитию раковых клеток, вызывают индукцию апоптоза многочисленных опухолевых клеток, даже устойчивых к химиотерапевтическим препаратам. Поэтому с целью сравнительного изучения накопления данных соединений в соцветиях и листьях капусты брокколи сортов Тонус, Калабрайзе, Витаминная, Романеска и Линда было установлено количественное содержание серосодержащих соединений, а именно — изотиоцианатов, тиоцианатов и серосодержащих гликозидов.

---

UDC 615.322:615.277.3:635.356:547.491.4

THE STUDY OF SULFURIC COMPOUNDS OF *BRASSICA OLERACEA L. VAR. ITALICA PLENCK*

I.N.Vladimirova, V.S.Kislichenko, S.N.Gubar

Sulfuric compounds of broccoli is known to possess antitumour properties, inhibit development of cancer cells, cause the induction of apoptosis of numerous tumour cells even if they are stable to chemotherapeutics. Therefore, with the purpose of the comparative study of accumulation of the given compounds in inflorescence and leaves of broccoli cabbage of the Tonus, Kalabrayze, Vitaminic, Romaneska and Linda sorts the quantitative content of sulfuric compounds have been determined, namely — isothiocyanates, thiocyanates and sulfuric glycosides.