

萝卜硫素研究进展

王见冬¹ 袁其朋¹ 钱忠明²

1(北京化工大学制药工程系, 北京, 100029) 2(香港理工大学应用生物与化学科技学系, 香港)

摘要 萝卜硫素(1-异硫氰酸-4-甲磺酰基 甾)是蔬菜中所发现的抗癌效果最好的植物活性物质,能够刺激人或动物细胞产生仅对身体有益的II型酶,同时抑制I型酶的产生,使细胞形成对抗外来致癌物侵蚀的膜,达到抗癌效果。本文主要对萝卜硫素的抗癌机制、生理功能、生产方法做了详细说明。

关键词 萝卜硫素, 抗癌机制, 生产方法

流行病学及药理学研究表明,癌症发病率低的地方,人们饮食中蔬菜、水果所占比例较大,究其原因,可能是蔬菜、水果中存在一种或多种阻止或减慢癌症发展的植物活性成分,如番茄中的番茄红素、大豆制品中的大豆异黄酮、浆果中的鞣化酸以及十字花科蔬菜中的萝卜硫素、吲哚类物质。它们均被证实具有良好的防癌抗癌作用。在众多含有抗癌活性成分的蔬菜中,十字花科(洋白菜、花茎甘蓝、球茎甘蓝青花椰菜、芥兰、莴苣、白萝卜和高丽菜等)富含多种芥子苷(glucosinolates, 简称GLs)。葡萄糖芥子苷(芥子苷的一种)经黑芥子硫酸苷酶酶解(myrosinase)或酸水解后,产生萝卜硫素(sulforaphen, 简称SF),它是迄今为止蔬菜中发现的最强的抗癌成分。

萝卜硫素又称“菜菔子素”,就其化学成分而言,为异硫代氰酸盐衍生物,易溶于水,相对分子质量177.3,分子式C₆H₁₁S₂NO,结构式如下:



它是一种多功能诱导物,可诱导机体^[1,2]产生II型解毒酶——谷胱甘肽转移酶和醌还原酶,此酶可对许多致癌物产生抗性,从而起到

抗癌作用。近年来,癌症的发病率有逐渐上升的趋势。萝卜硫素具有较强的抗癌作用且为植物活性物质,故具有广阔的研究价值及市场前景。下面将对萝卜硫素的抗癌机制、生产方法等进行详细说明。

1 萝卜硫素抗癌机理^[3,4]及其生理功能

1.1 萝卜硫素的抗癌机制

大量体外试验证实萝卜硫素具有优良的抗癌功能,但就其抗癌机理来说尚无定论。大多数研究者认为,萝卜硫素是通过致癌物的代谢调控机制起作用。美国翰斯霍普金斯大学和日本筑波大学的研究人员利用转基因鼠试验证明:许多动物体内普遍存在一种系统,用来抵抗食品和环境中有毒化学物质的致癌作用。这种作用的发挥,依赖于II型抗毒酶数量的显著增加。此酶可消除有害化学物质,抑制其损伤DNA,从而达到抗癌效果。萝卜硫素作用于机体过程如下:

(1)酶II基因的转录。转录仅产生对人体有益的II型酶,同时抑制酶I产生,而酶I可和致癌物产生协同效应,加速癌症发生。

(2)酶II作用于机体自身的抗癌系统。通过此系统,可对代谢实现如下调控:①阻断致癌物产生致癌效应所需的代谢途径,阻止

第一作者: 硕士研究生。

收稿时间: 2002-07-30, 改回时间: 2002-12-16

致癌物或其代谢物进入靶细胞, 同时起到清除致癌物作用; 抑制癌细胞的分裂与生长, 阻断循环途径; 促进其他可杀死癌细胞的蛋白质分泌, 阻断致癌物诱导癌症的作用。②芥子苷的水解产物可能对致癌物发挥作用的启动产生作用, 在癌症形成初期使基因发生突变, 另外还有一些抑制酶具有双重阻癌或抑癌功能, 对有毒物进行降解, 从而起到抗癌效果——称为抑癌途径。

1.2 生理功能

大量试验证明, 萝卜硫素对食道癌、肺癌、结肠癌、乳腺癌、肝癌及大肠癌等有很好的防治效果。通过给初生 6d 的小雌鼠喂食萝卜硫素证明^[1]: 萝卜硫素能够在动物机体的各个组织器官内诱导产生 II 型解毒酶——

谷胱甘肽转移酶(GST)和醌还原酶(QR), 并经过上述机制对机体产生作用, 从而消除化学致癌物的侵害。不仅萝卜硫素, 其结构类似物也具有这种功能。

2 萝卜硫素的制备方法

在十字花科蔬菜中萝卜硫素作为蔬菜中发现的最强的抗癌物质, 其制备方法极其重要。在已探索的生产工艺主要有化学法和酶法。

2.1 化学法生产萝卜硫素^[3]

萝卜硫素除了从十字花科蔬菜中直接提取外, 也可通过化学合成的方法得到。

2.1.1 全化学合成法

用立体化学中手性合成的方法合成, 途径如图 1 所示。

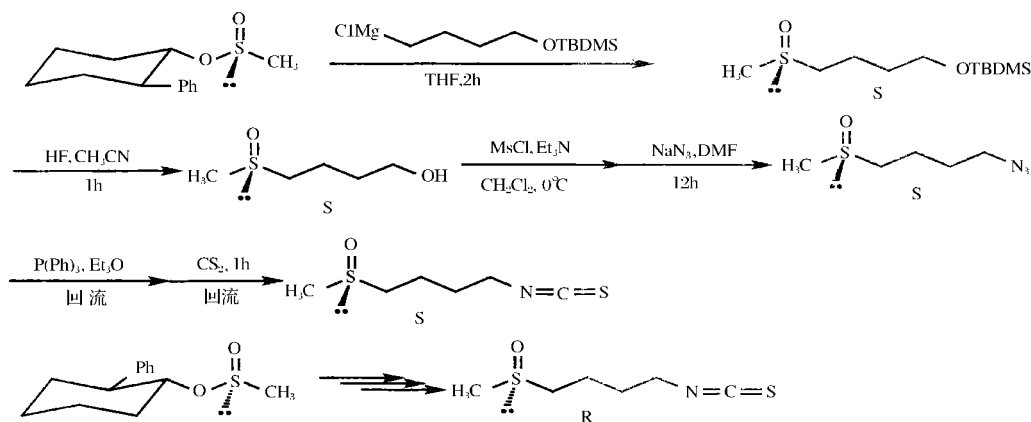


图 1 化学法合成萝卜硫素途径

此法从立体化学的角度来生产萝卜硫素, 过程简单但难以控制, 故一般很少用。

2.1.2 化学法与酶法结合生产萝卜硫素

十字花科蔬菜中, 甘蓝种子中所含葡萄糖菜菔子苷较多, 约占 1%~2%, 其他类型的葡萄糖异硫酸氰盐, 约占甘蓝中葡萄糖异硫酸氰盐总量的 40%~50%。虽然可以用 HPLC 从葡萄糖异硫酸氰盐混合物中分离出葡萄糖菜菔子苷, 但是工业放大仍待商榷。鉴于这些原因, Iori 和 Bernardi 等设计了从葡萄糖甘油三芥酸酯(从芝麻菜种子中得到, 其中葡萄糖甘油三芥酸酯约占 3%)出发制备萝卜

硫素的途径^[6](如图 2 所示)。在这种方法中, 从葡萄糖甘油三芥酸酯到葡萄糖菜菔子苷是选择氧化法反应, 反应效率高, 可望实现萝卜硫素的工业化。

2.2 酶法生产萝卜硫素

现有研究都是从十字花科蔬菜中提取萝卜硫素前体, 经水解获得萝卜硫素(如图 3 所示^[7])。各研究者采用的十字花科蔬菜可能不同, 所得结果可能略有出入; 另外, 水解条件对于葡萄糖异硫酸氰盐的水解至关重要, 因为就萝卜硫素的前体——葡萄糖菜菔子苷来说, 其水解产物有 4 种, 最常见的是萝卜硫素

(SF)与萝卜硫素腈(SFN), pH、温度、水化程度、金属离子(Fe^{2+} 、 Fe^{3+})、硫醇等对于两者的比例有很大影响。下面将从原料的选择、

黑芥子酶的制备、水解条件及其分离纯化方面对之作详细介绍。

2.2.1 原料的选择

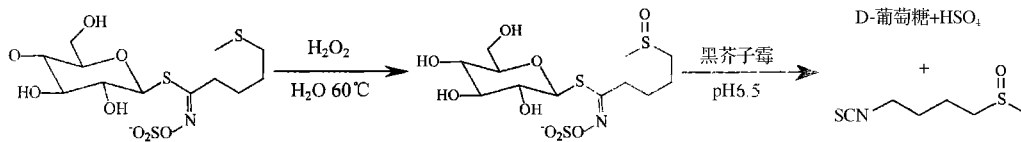


图2 酶法与化学法结合生产萝卜硫素过程

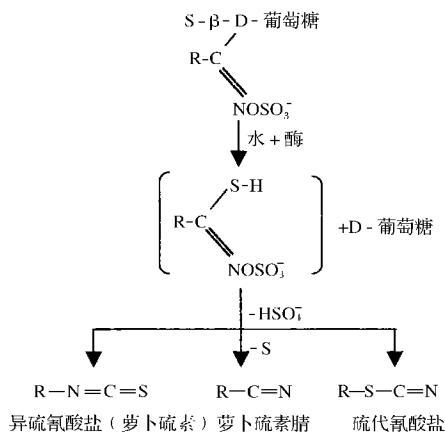


图3 黑芥子硫酸苷酶水解芥子苷生产萝卜硫素图

在原料选择时发现,花椰菜中萝卜硫素前体物——葡萄糖莱菔子苷含量最高,因此在萝卜硫素的研究过程中多以花椰菜为原料。粘土中生长的蔬菜,其葡萄糖异硫酸氰盐(GL_s)含量多于砂土中的;施用硫酸盐肥料的蔬菜, GL_s 含量多于施用硝酸盐肥料的;对茎、根、叶肉以及蔬菜种子的 GL_s 含量进行测量,发现其在脱脂种子中含量最高;幼小的十字花科蔬菜中 GL_s 含量较成熟蔬菜的要多,约为后者10~100倍。因此在萝卜硫素生产时,大多以粘土中生长的、施用硫酸盐肥料的花椰菜脱脂种子作为原料。另外,不同的提取方法、育种水平也会对蔬菜的抗促活性产生影响。以青花菜为例,经过对71种青花菜进行研究发现,其中所含葡萄糖莱菔子苷的含量差异达30倍之多,有些品种甚至不含这种营养素,因此英国有科学家利用自然

杂交方法,将原本的青花椰菜与西西里种杂交,得到一种超级花椰菜,这种新品种的花椰菜在口味上与一般花椰菜没什么不同,但其中萝卜硫素含量比原来提高100倍,抗癌力提高百倍。虽然尚处于初级阶段,但可以设想,如果用这种超级花椰菜作为原料,从中直接提取萝卜硫素,就可以获得高产量的产品。

2.2.2 酶的来源

在十字花科蔬菜中,各种葡萄糖异硫酸氰盐水解生成萝卜硫素等物质,主要是葡萄糖苷葡萄糖水解酶在起作用。这种酶首先是在植物细胞中发现,当植物细胞受损(如收割或嚼碎)时,由受伤组织释放。目前所用的酶,大多数都是从十字花科蔬菜中提取而得,粗酶提取流程如下:取1kg新鲜完整的甘蓝,用搅拌机搅碎,2层纱布过滤后,在5℃下将冷丙酮加到滤液中萃取所需酶,最后将离心所得沉淀,真空干燥得粗酶(在-20℃下密封保存)。

2.2.3 水解条件^[8,9]对萝卜硫素和萝卜硫素腈比例的影响

从油菜及甘蓝中得到半纯化的葡萄糖苷葡萄糖水解酶,使之分别作用于底物。结果表明:(1)高温、高pH值以及较高水化程度对葡萄糖异硫酸氰盐(萝卜硫素为其中一种)生成有利,最适pH为5~7,反之对萝卜硫素腈生成有利;(2)酸性条件下,铁离子对萝卜硫素生成不利;加入硫醇类化合物,则对于萝卜硫素腈的生成有利;(3)加入过量外源性酶时,对萝卜硫素生成有利。究其原因,可能是酶结构的特异性、酶的最适活性条件等使得反

应动力学发生改变,使之朝着有利于萝卜硫素生成的方向进行。当然,以上结论也不是绝对的,主要与所用蔬菜品种有关,如有一种 *Brigadier broccoli* 椰菜的葡萄糖菜菔子苷水解物中,萝卜硫素的产量大于萝卜硫素腈;另外,萝卜硫素的性质不稳定,可能有一部分发生热降解,使得最终分析结果与实际含量事实不符。

2.2.4 萝卜硫素的分离纯化

研究表明,从葡萄糖菜菔子苷水解混合物中分离萝卜硫素,大都采用溶剂萃取法,然后用高效液相色谱(HPLC)、气相色谱与质谱结合(GC-MS)、FAB-MS、反向高效液相色

干种子 $\xrightarrow{\text{己烷脱脂,干燥}}$ 脱脂种子 $\xrightarrow{\text{酶解}}$ 水解物 $\xrightarrow{\text{亚甲基氧化物萃取}}$ 萝卜硫素 $\xrightarrow{\text{干燥后用质量分数5\%丙酮醇溶解,且用过量己烷洗涤}}$

移入制备型 HPLC \rightarrow 纯化的萝卜硫素与萝卜硫素腈

研究中所用的椰菜葡萄糖菜菔子苷含量较高,为 75.9 mmol/kg 干种子,即每 kg 干种子中含 33.2 g 葡萄糖菜菔子苷。试验证明,最后得到产量为 4.8 g 萝卜硫素/kg 干种子、3.83 g 萝卜硫素腈/kg 干种子。这个产量是比较高的,故对于实现萝卜硫素的工业化生产意义重大。

2.2.5 萝卜硫素分析方法比较

萝卜硫素的分析方法有:高效液相色谱(HPLC)、气相色谱(GC)^[9]、气相色谱与质子色谱的联用(GC/MS)^[11]。与其他方法相比,HPLC 灵敏度较低,无紫外吸收,使样品制备、分离复杂;GC/MS 避免了清洗工艺,但由于萝卜硫素性质不是很稳定,往往有一部分发生降解,结果不准确,如对之进行冷冻干燥后再测,就会提高准确度。

3 萝卜硫素的研究现状及其应用前景

日本营养学家福家洋子教授等通过试验验证:甘蓝菜和菜花等十字花科植物中所含异硫氰酸酯衍生物萝卜硫素有治疗癌症和杀死白血细胞的效用,这是第一次确认它有杀死白血细胞的作用;萝卜硫素存在于大量消费的十字花科蔬菜中,原料易得;是一种多

谱等分析方法对之进行纯度鉴定。Davide Bertelli^[10]等就是采用这种方法得到萝卜硫素,其过程为:

青花椰菜的葡萄糖菜菔子苷 $\xrightarrow{\text{有机溶剂萃取}}$ 粗制萝卜硫素 $\xrightarrow{\text{固相萃取}}$ 精制萝卜硫素

在实验过程中,研究者针对青花椰菜的不同部位进行试验,发现叶子中萝卜硫素含量最多,达 110 μ g/g。产量较高,但步骤繁琐,耗资大,不适合大规模生产。针对这种状况,Nathan^[8]等提出了利用色谱从花椰菜脱脂种子中同时分离纯化萝卜硫素和萝卜硫素腈的方法。其过程如下:

功能酶诱导物,可在没有明显改变细胞色素合成的情况下,提高酶 II 的相对含量。鉴于以上原因,从十字花科植物中提取或者用化学法合成萝卜硫素,研制和生产保健食品具有深远意义。美国、日本等国家从 20 世纪 50 年代就开始研究萝卜硫素的性质及其生产方法,而我国尚无相关报道,故对于这种天然的、具有很强防治癌症效果的物质,我国应该加强研究,使之实现工业化,更好地为癌症患者以及白血病患者提供辅助治疗的保健食品。

参 考 文 献

- 1 Zhang Yuesheng, Paul Talalay, Cheon-gyu Cho et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1992, 89 (3): 2399~2403
- 2 Fahey W, Zhang Yuesheng, Paul Talalay. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1997, 94(9): 10367~10372
- 3 Zhang Yuesheng, Thomas W K, Cheon-gyu Cho et al. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, 91 (8): 3147~3150
- 4 Laurence Gamet-payrastré, Li Pengfei, Solange L et al. Cancer Research, 2000, 60(3): 1426~

- 1433
- 5 James W, Man-shing Wong. Journal of Organic Chemistry American Chemical Society, 1994, 59: 597~601
- 6 Ioro R, Bernardi R, Gueyraud D et al. Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters, 1999, 10: 1047~1048
- 7 Manuela Visentin, Aldo Tava, Renato Lori et al. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1992, 40(9): 1687~1691
- 8 Nathan V M, Matthew A W, John A J et al. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2001, 49(4): 1867~1872
- 9 Lenora A H, Elizabeth H E, Matthew A et al. Journal of Food Science, 1997, 62(6): 1098~1104
- 10 William C K C, Donald J P. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1998, 46(3): 1018~1021
- 11 Mosbah M Kushad, Allan F B, Anne C K et al. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 1999, 47(4): 1541~1548

The New Advances in Sulforaphen

Wang Jiandong¹ Yuan Qipeng¹ Qian Zhongming²

1(Department of Pharmaceutical Engineering, Beijing University of Chemical Technology, Beijing, 100029)

2(Department of Chemistry Science and Applied Biology, Hong Kong Polytechnic University, HK)

ABSTRACT Sulforaphen[1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl)-butane] can be obtained in cruciferous vegetables as one of the products of enzymatic or acid hydrolysis of glucoraphanin, which has been indentified the best anticarcinogenic activity. The chemoprotective effect of sulforaphen is thought to be related to its ability as a monofunctional inducer which can induce the production of beneficial phase II enzyme to human organism selectively without the induction of phase I enzyme, and the former can urge cells to form the membrane to act against those external chemical carcinogenesis. In this paper, a review was presented on the anticarcinogenic mechanisms, physiological function and the methods in detail as well as the isolation and purification roughly.

Key words sulforaphen, anticarcinogenic mechanisms, production method

行业动态

我国绿色食品持续快速发展

我国绿色食品的持续快速发展中,区域优势开始显现,部分地方已形成绿色食品集中产区。在全国同类产品中,黑龙江、吉林、江苏3省绿色大米占48.0%;内蒙古、黑龙江的绿色乳制品占全国的41.4%;湖南、福建、江西的绿色茶叶占全国的52.2%;山东、福建、河北、北京的绿色蔬菜占全国的30.6%。

2002年,我国绿色食品总量规模进一步扩大,产业水平逐步提升,品牌效应不断增强。2002年,全国共有749家企业的1239个产品获得绿色食品标志使用权。到2002年底,绿色食品企业总数达到1756个,产品总数达到3046个,其中A级产品2978个,AA级产品68个,产品实物总量2500万吨,产品销售额达到597亿元,出口额达8.4亿美元,出口率为11.6%。

统计数据显示,我国绿色食品发展呈现出一些突出特点:继续保持高速增长,产品开发加快。与2001年相比,2002年获得绿色食品标志使用权的企业增长39.7%,产品增长25.7%,分别提高25.9%和5.3%。企业总数和产品总数分别增长44.4%和26.9%。产品实物总量增长25%,销售额增长19.4%,出口额增长1.1倍,产地环境监测面积扩大15%。

产业整体水平显著提升,产品结构不断优化。深加工产品的比重占42.1%,初加工产品占26.4%,初级产品占31.5%。企业实力增强,年产值超过5000万元的企业超过400家,约占绿色食品生产企业的1/5;首批151家国家级农业产业化经营重点龙头企业中,绿色食品企业有56家,占37.1%。主要产品产量占我国同类产品的比重逐步提高,初步测算,大米占1.42%,面粉占0.61%,食用植物油占0.86%,水果占1.1%,茶叶占6.6%,液体乳及乳制品占35.7%。