

Doprinos istraživanju glukozinolata (2005. – 2020.): Strukturna raznolikost, razgradnja i biološki potencijal

I. Blažević*

Ovo djelo je dano na korištenje pod
Creative Commons Attribution 4.0
International License



Zavod za organsku kemiju, Kemijsko-tehnološki fakultet, Sveučilište u Splitu,
Ruđera Boškovića 35, 21 000 Split

Sažetak

U radu je prikazan doprinos istraživanju glukozinolata u razdoblju 2005. – 2020. koji je ostvaren radom na Kemijsko-tehnološkom fakultetu, Sveučilišta u Splitu. Pregledom sveobuhvatne dokumentacije utvrđeno je da znatnom broju predloženih struktura nedostaju važne strukturne informacije koje bi osigurala NMR i MS spektroskopija, pa je danas broj glukozinolata još uvijek varijabilan. U najnovijem istraživanju, u rodu *Hesperis*, identificiran je 4-O-D-apiozilglukomatronalin, čime ukupni broj glukozinolata danas broji između 89 i 136 struktura. U svrhu identificiranja izvora specifičnih glukozinolata koji bi mogli djelovati kao prekursori biološki aktivnih izotiocijanata, istraživan je sadržaj glukozinolata u biljkama. Istraživanja uključuju i razgradnju glukozinolata (enzimska, termička i kemijska) kao i biološku aktivnost (citotoksična, antimikrobna, protuupalna i dr.).

Ključne riječi

Glukozinolati, razgradnja, izotiocijanati, biološka aktivnost

1. Uvod

Biljke su izuzetni kemičari. Sintetiziraju velik broj nevjerojatno raznolikih struktura od kojih su mnoge jedinstvene za vrstu ili rod. Unatoč intenzivnom istraživanju zemaljske flore, procjenjuje se da je od oko 300 000 vrsta viših biljaka samo 6 % farmakološki i oko 15 % fitokemijski sustavno istraženo.¹

Glukozinolati su sekundarni metaboliti čije su strukture raznolike te se neprestano otkrivaju nove.² Pronađeni su kod 16 različitih biljnih porodica reda Capparales, od kojih je najznačajnija porodica Brassicaceae. Postoji brojna literatura o glukozinolatima te biljne porodice. Ona sama obuhvaća više od 350 rodova i 3000 vrsta, od kojih je najznačajniji rod *Brassica* jer uključuje čitav niz biljaka svakodnevno upotrebljivanih u ljudskoj prehrani (uljana repica, gorušica, kupus, kelj, cvjetača, brokula, prokulica, raštika, hren).

Glukozinolati poznati pod imenima sinigrin (prop-2-en-1-il ili alil-glukozinolat) i sinalbin (4-hidroksibenzil-glukozinolat) izolirani su još 1830. godine iz sjemena crne (*Brassica nigra*) i bijele (*Sinapis alba*) gorušice.³ Otkriće velikog broja do danas poznatih glukozinolata može se zahvaliti danskim istraživačima Sveučilišta u Kopenhagenu čija su rana otkrića opisana u dva pregledna rada: *Kjær* (1960.)³ je naveo 30 okarakteriziranih prirodnih izotiocijanata koji odgovaraju 30 glukozinolata iz biljaka, a *Ettlinger i Kjær* (1968.)⁵ naveli su 50 glukozinolata koji su izravno ili neizravno okarakterizirani. U sljedeća tri desetljeća nisu objavljeni temeljiti, kritički pregledi struktura. Stoga je 2001. godine objavljivanje sveobuhvatnog, ali samo djelomično kritičkog pregleda glukozinolata *Fahey i sur.* (2001.) bila prekretnica, u kojem je dana detaljna tablica glukozinolata zabilježenih u svakoj biljnoj vrsti.³ Međutim, višestruke jasne pogreške, nedosta-

tak kritičke procjene citirane literature i sustavni problemi u interpretaciji podataka iz tablice ograničili su njezinu vrijednost. Od tada se broj prihvaćenih glukozinolatnih struktura povećao na oko 130 iako sve strukture još uvijek nisu rasvijetljene primjenom odgovarajućih tehnika identifikacije, kao što su masena spektrometrija (MS) i nuklearna magnetska rezonancija (NMR). Štoviše, *Clarke* (2010.) je u svojem pregledu sugerirao postojanje oko 200 glukozinolata. Svaka nova serija homolognih glukozinolatnih struktura predložena je primjenom ekstrapolacije, a predviđeno je da će se u prirodi pronaći dodatnih 180 glukozinolata; u istom su prikazane strukture, formule i točne mase za upotrebu u masenoj spektrometriji.⁶ Najnoviju prekretnicu predstavlja rad objavljen 2020. godine u suradnji znanstvenika s Kemijsko-tehnološkog fakulteta u Splitu (KTF-Split), Sveučilišta u Kopenhagenu (Danska), Sveučilišta u Orléansu (Francuska) i Sveučilišta Laurientien (Kanada), koji daje kritički pregled sveobuhvatne dokumentacije glukozinolata do sredine 2018. godine.⁷ U njemu je utvrđeno da broj glukozinolata pronađenih u biljkama, čije su strukture potvrđene modernim spektroskopskim metodama (NMR i MS), iznosi 88. Osim toga, skupina djelomično okarakteriziranih predloženih glukozinolatnih struktura s vrlo varijabilnim dokazima broji oko 47, uključujući nekoliko umjetno dobivenih (primjerice selenoglukozinolata dobivenih zalijevanjem biljke otopinom natrijeva selenata), što ukupno daje broj dokumentiranih glukozinolata iz biljaka negdje između 88 i 135.

Različite metode, primjerice analiza plinskom kromatografijom (GC) trimetilsililnih derivata glukozinolata i tekućinskom kromatografijom (LC) desulfoglukozinolata, primjenjivale su se za izravno i neizravno određivanje sadržaja ukupnih i pojedinačnih glukozinolata. U početku, većina istraživanja bila je usmjerena prema identifikaciji glukozinolata preko njihovih razgradnih produkata, koji mogu uključivati izotiocijanate, nitrile, tiocijanate, epitionitrile i oksazolidintione. Međutim, neki pokrajnji lanci glukozini-

*Izv. prof. dr. sc. Ivica Blažević
e-pošta: blazevic@ktf-split.hr

nolata su nehlapljivi ili su pak nastali razgradni produkti nestabilni u uvjetima u kojima se određuju. Stoga, pogodnija tehnika za određivanje i široko primijenjena metoda za kvalitativno i kvantitativno određivanje glukozinolata je LC analiza enzimski desulfatiziranih glukozinolata. Karakterizacija i kvantifikacija glukozinolata zasnovana na LC analizi desulfoglukozinolata opisana je u službenoj metodi ISO 9167-1. Nedostatak komercijalno dostupnih standarda predstavlja jednu od glavnih poteškoća u jednostavnom uvođenju ove tehnike u kvalitativne i kvantitativne svrhe. S druge strane, dobro okarakterizirane biljke predstavljaju pouzdani referentni materijal. Biljne vrste koje sadrže visoke koncentracije (najčešće sjeme) jednog ili ograničenog broja glukozinolata predstavljaju jedan od najprikladnijih izvora za izolaciju veće količine tih spojeva. S obzirom na važnost informacija o prirodnim izvorima glukozinolata, u suradnji s francuskim i kanadskim znanstvenicima, znanstvenici KTF-Split dali su jedinstven pregled njihovih sadržaja u svih 16 biljnih porodica dostupnih do 2016. godine.⁸ Međutim, često su prisutne poteškoće u interpretaciji pojedinačnih glukozinolata preko desulfo-oblika zbog utjecaja pH vrijednosti, koncentracije enzima i vremena u procesu desulfatacije. Stoga je potrebna izravna NMR analiza strukturno nepromijenjenih glukozinolata u svrhu preciznijeg određivanja i bolje interpretacije analitičkih rezultata. Također, NMR spektri su nezamjenjivi u strukturnom razjašnjavanju novih glukozinolata.

Danas se smatra da je konzumiranje kupusnjača usko povezano sa smanjenom pojavom karcinoma, najviše zbog izotiocijanata. Iako se takve korisne aktivnosti izotiocijanata ponajprije pripisuju funkcijskoj skupini $-N=C=S$, također se prepoznaje da tip bočnog lanca snažno utječe na njihova svojstva, kao što su lipofilnost spoja i elektrofilnost ugljika u funkcijskoj skupini izotiocijanata.⁸

U ovom radu prikazan je pregled istraživanja glukozinolata koja su provedena na KTF-Split. Istraživanja obuhvaćaju kvalitativno i kvantitativno određivanje kemijskog sastava glukozinolata, njihovu enzimsku i neenzimsku razgradnju prilikom čega nastaju bioaktivni spojevi te biološka istraživanja.

2. Glukozinolati

2.1. Kemijska struktura i izvori

Glukozinolati predstavljaju prirodne tioglukozide. Oni su vodotopljivi organski anioni koji dijele zajednička osnovna strukturna obilježja koja uključuju β -D-glukopirano jedinicu, O-sulfatiranu anomernu (Z)-tiohidroksimatnu funkcijsku skupinu te promjenjivi bočni lanac koji je, ovisno o biljnoj vrsti, jedina strukturna varijanta (slika 1).

U tablici 1 i na slici 1 prikazani su najčešći glukozinolati koji se pojavljuju u prirodi u većim količinama s pripadajućim dokazima strukture.^{7,8} Općenito, dobro dokumentirani glukozinolati pokazuju sličnost s C-skeletima aminokiselina Ala, Val, Leu, Trp, Ile, Phe / Tyr i Met, ili s homolozima Ile, Phe / Tyr ili Met. U nedovoljno okarakterizirane, još uvijek hipotetske glukozinolate, ubrajaju se ravnolančani alkilni glukozinolati (etil-, butil-, pentil-, heksil-glukozinolat) i glukozinolati izvedeni iz Leu produljenjem lanaca (3-metilbutil-, 3-metilbut-3-enil-, 4-metilpentil-glukozinolat).⁷ Biosinteza brojnih glukozinolata uključuje opsežne promjene u bočnim lancima aglikona, što je posljedica širokog spektra kemijskih promjena poput produljenja lanca, hidroksilacije, O-metilacije, desaturacije, daljnje glikozilacije, oksidacije i aciliranja.^{7,8}

Tablica 1 – Primjeri biljnih vrsta uspješnih u fitoremedijaciji onečišćujućih tvari

Table 1 – Glucosinolates whose structures are reliably determined and which plants can biosynthesize in fair quantities

Br. a)	Klasa b)	Semisistematsko ime(na) (Trivijalno ime) c)	Izvorni i/ili odabrani kasniji presudni dokazi d)	Biljna porodica e)
ALIFATSKI				
1	Ala	Metil-GL (Glukokaparin)	GL: MS, NMR ⁹ ; dGL: MS, MS ² ¹⁰ ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹	b, d
2	Val	1-Metiletil-GL, Izopropil-GL (Glukoputranjivin)	GL: UV, IR, MS, NMR ¹² ; dGL: MS, MS ² , NMR ^{10,13} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹ ; ITC: MS ¹⁴	a
3	Ile	(1S)-1-Metilpropil-GL, sec-Butil-GL (Glukokohlearin)	GL: MS, NMR ¹⁵ ; dGL: MS, MS ² , NMR ^{10,13} ; [Biosintetizira se iz prirodne aminokiseline L-Ile i u C-2 ima apsolutnu konfiguraciju tipa S. ¹⁶]	a
4	Ile	(2S)-2-Hidroksi-2-metilbutil-GL (Glukokleomin)	dGL: NMR ¹⁷ ; OAT: UV, IR, MS, NMR ¹⁸ ; NIT: MS ¹⁹	d
5	Ile	3-(Hidroksimetil)pentil-GL	GL: NMR ⁷ ; dGL: MS, NMR ²⁰ ; [Apsolutna konfiguracija nije razriješena; vjeruje se da je kao i za Ile]	a
6	Met	Prop-2-enil-GL; Alil-GL (Sinigrin)	GL: MS ²¹ , NMR ¹⁷ ; X-Ray ^{22,23} ; dGL: UV, MS, MS ² , NMR ^{10,17,24} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹	a, b

Br. ^{a)}	Klasa ^{b)}	Semisistematsko ime(na) (Trivijalno ime) ^{c)}	Izvorni i/ili odabrani kasniji presudni dokazi ^{d)}	Biljna porodica ^{e)}
7	Met	But-3-enil-GL (Glukonapin)	GL: MS, MS ²⁵ , NMR ¹⁷ ; dGL: UV, MS, MS ² , NMR ^{10,17,26} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹ ; ITC: MS ²⁷	a, e
8	Met	Pent-4-enil-GL (Glukobrasikanapin)	GL: MS, MS ² , MS ³²⁸ ; dGL: MS, MS ² , NMR ^{10,26} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹ ; ITC: MS ²⁹ ; NIT: MS ²⁹	a
9R	Met	(2R)-2-Hidroksibut-3-enil-GL (Progoitrin)	GL: MS, MS ² , MS ³²⁵ ; NMR ¹⁷ ; dGL: UV, MS, MS ² , MS ³ , NMR ^{10,13,17,24} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹ ; NIT: MS ¹⁹ ; OAT: MS, OptRot ^{19,30}	a
9S	Met	(2S)-2-Hidroksibut-3-enil-GL (Epiprogoitrin)	GL: MS, MS ² , MS ³²⁸ ; NMR ¹⁷ ; dGL: UV, MS, MS ² , MS ³ , NMR ^{10,17,24} ; NIT: MS ¹⁹ ; OAT: MS, OptRot ¹⁹	a
10	Met	3-(Metilsulfanil)propil-GL, 3-(Metiltio)propil-GL (Glukoibervirin)	GL: MS, NMR ³¹ ; ITC: MS ^{27,32} ; NIT: MS ²⁷	a
11	Met	4-(Metilsulfanil)butil-GL, 4-(Metiltio)butil-GL (Glukoerucin)	GL: UV, IR, MS, MS ² , NMR ^{17,25,33} ; dGL: UV, MS, MS ² , NMR ^{10,13,17,24} ; ITC: MS ³² ; NIT: MS ¹⁹	a
12	Met	5-(Metilsulfanil)pentil-GL, 5-(Metiltio)pentil-GL (Glukoberteroin)	GL: UV, IR, MS, NMR ^{33,34} ; dGL: UV, MS, NMR ³⁵ ; ITC: MS ²⁹ ; NIT: MS ²⁹	a
13	Met	(R _S)-3-(Metilsulfinil)propil-GL (Glukoiberin)	GL: MS, MS ² , NMR, X-Ray ^{17,25,36} ; dGL: UV, MS, MS ² , NMR ^{17,24,26} ; ITC: MS, NMR ^{27,37} ; NIT: MS, NMR ^{27,37} [Određena je (R)-konfiguracija. ³⁸]	a
14	Met	(R _S)-4-(Metilsulfinil)butil-GL (Glukorafanin)	GL: MS, MS ² , NMR ^{17,25,39} ; dGL: UV, MS, MS ² ^{10,24,26} , NMR ^{17,40} ; ITC: MS, NMR ^{27,37} ; NIT: UV, IR, MS, NMR ^{27,41} [Određena je (R)-konfiguracija. ³⁸]	a
15	Met	(R _S)-5-(Metilsulfinil)pentil-GL (Glukoalisin)	GL: MS, MS ² , NMR ^{25,43} ; dGL: MS, MS ²⁶ ; ITC: MS, NMR ^{29,43} ; NIT: MS ²⁹ [Određena je (R)-konfiguracija. ³⁸]	a
16	Met	(R _S)-8-(Metilsulfinil)oktil-GL (Glukohirsutin)	GL: UV, IR, MS, NMR ³³ ; dGL: MS, MS ² , NMR ^{10,44} ; ITC: MS, OptRot ⁴⁴ ; NIT: MS ¹⁹ [Određena je (R)-konfiguracija. ³⁸]	a
17	Met	(R _S)-9-(Metilsulfinil)nonil-GL (Glukoarabin)	GL: UV, IR, MS, NMR ^{33,45} ; dGL: MS, MS ² , NMR ⁴⁴ ; ITC: UV, IR, MS, NMR, OptRot ⁴⁴ ; NIT: MS ¹⁹ [Određena je (R)-konfiguracija. ³⁸]	a
18	Met	(R _S)-10-(Metilsulfinil)decil-GL (Glukokamelinin)	GL: MS, NMR ⁴⁵ ; dGL: MS, MS ² ¹⁰ ; ITC: MS, OptRot ^{27,44} ; NIT: MS ¹⁹ [Određena je (R)-konfiguracija. ³⁸]	a
ARILALIFATSKI				
19	Phe	Benzil-GL (Glukotropeolin)	GL: MS, MS ²⁵ , NMR ¹⁷ ; dGL: UV, MS, MS ²⁴ , NMR ^{13,17} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹ ; ITC: MS ³²	a, c, g, l
20	Phe	2-Feniletal-GL, Fenetal-GL (Glukonasturcin)	GL: NMR ¹⁷ ; dGL: UV, MS, MS ² , NMR ^{13,17,24,26} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹ ; ITC: MS ³² ; NIT: MS ³²	a

Br. a)	Klasa b)	Semisistematsko ime(na) (Trivijalno ime) c)	Izvorni i/ili odabrani kasniji presudni dokazi d)	Biljna porodica e)
21	Phe/Tyr	4-Hidroksibenzil-GL (Sinalbin, Glukosinalbin)	GL: MS ²¹ , UV, IR, NMR ^{17,46} ; dGL: UV, MS, MS2, NMR ^{10,13,24,47} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹ ; ITC: MS ^{19,27} ; NIT: MS ^{19,27}	a, l
22	Phe	3-Hidroksibenzil-GL (Glukolepigramin)	GL: MS ²¹ ; dGL: MS, MS2, NMR ⁴⁸ ; NIT: MS ⁴⁸	f
23	Phe/Tyr	4-Metoksibenzil-GL (Glukoaubrietin)	GL: MS ²¹ ; dGL: UV, MS, MS2, NMR ^{10,13,49} ; ITC: MS ⁴⁹	a, h, l
24	Phe	3-Metoksibenzil-GL (Glukolimnantin)	GL: MS, NMR ¹⁷ ; dGL: UV, MS, NMR ^{17,49} ; ITC: MS ^{27,49} ; NIT: MS ²⁷	a, f, l
25S	Phe	(2S)-2-Hidroksi-2-feniletal-GL (Glukobarbarin)	GL: MS ²¹ , NMR ^{7,17,50} ; dGL: UV, MS, MS2, MS3, NMR ^{10,17,50-52} ; NIT: MS ¹⁹ ; OAT: UV, IR, MS, NMR ⁵³ [25S → OAT ima (R)-konfiguraciju]	a
25R	Phe	(2R)-2-Hidroksi-2-feniletal-GL (Epiglukobarbarin)	GL: MS ²¹ , NMR ⁵⁰ ; dGL: UV, MS, MS2, MS3, NMR ^{7,10,5-52} ; OAT: UV, IR, MS, NMR, OptRot ⁵⁴ [25R → OAT ima (S)-konfiguraciju]	a, i
O-GLIKOZILIRANI				
26	Phe/Tyr	4-(α -L-Ramnopiranoziloksi) benzil-GL (Glukomoringin)	GL: MS, MS2 ⁵⁵ , NMR ¹⁷ ; dGL: MS, NMR ^{17,47} ; ITC: UV, IR, MS, MS2, NMR ^{47,56,57}	a, g
27	Phe	2-(α -L-Ramnopiranoziloksi) benzil-GL	GL: MS ²¹ , UV, NMR ⁵⁸ dGL: MS ²⁹	i
INDOLNI				
28	Trp	Indol-3-ilmetil-GL (Glukobrasicin)	GL: UV, IR, MS, MS2, MS3, NMR ^{12,25} ; dGL: UV, MS, MS2, NMR ^{10,24,26,60} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹	a, i
29	Trp	1-Metoksiindol-3-ilmetil-GL, N-Metoksiindol-3-ilmetil-GL (Neoglukobrasicin)	GL: UV, IR, MS, NMR ^{12,61} ; dGL: MS, MS2, NMR ^{7,10,26,62} ; TMSi od dGL: EI-MS, CI-MS ¹¹	a, j, k
30	Trp	4-Hidroksiindol-3-ilmetil-GL (4-Hidroksiglukobrasicin)	GL: MS, MS2, MS3 ^{25,28} ; dGL: UV, MS, NMR ^{40,60} , MS2 ⁶²	a
31	Trp	4-Metoksiindol-3-ilmetil-GL (4-Metoksiglukobrasicin)	GL: UV, MS, NMR ¹² ; dGL: UV, MS, MS2, NMR ^{26,60}	a

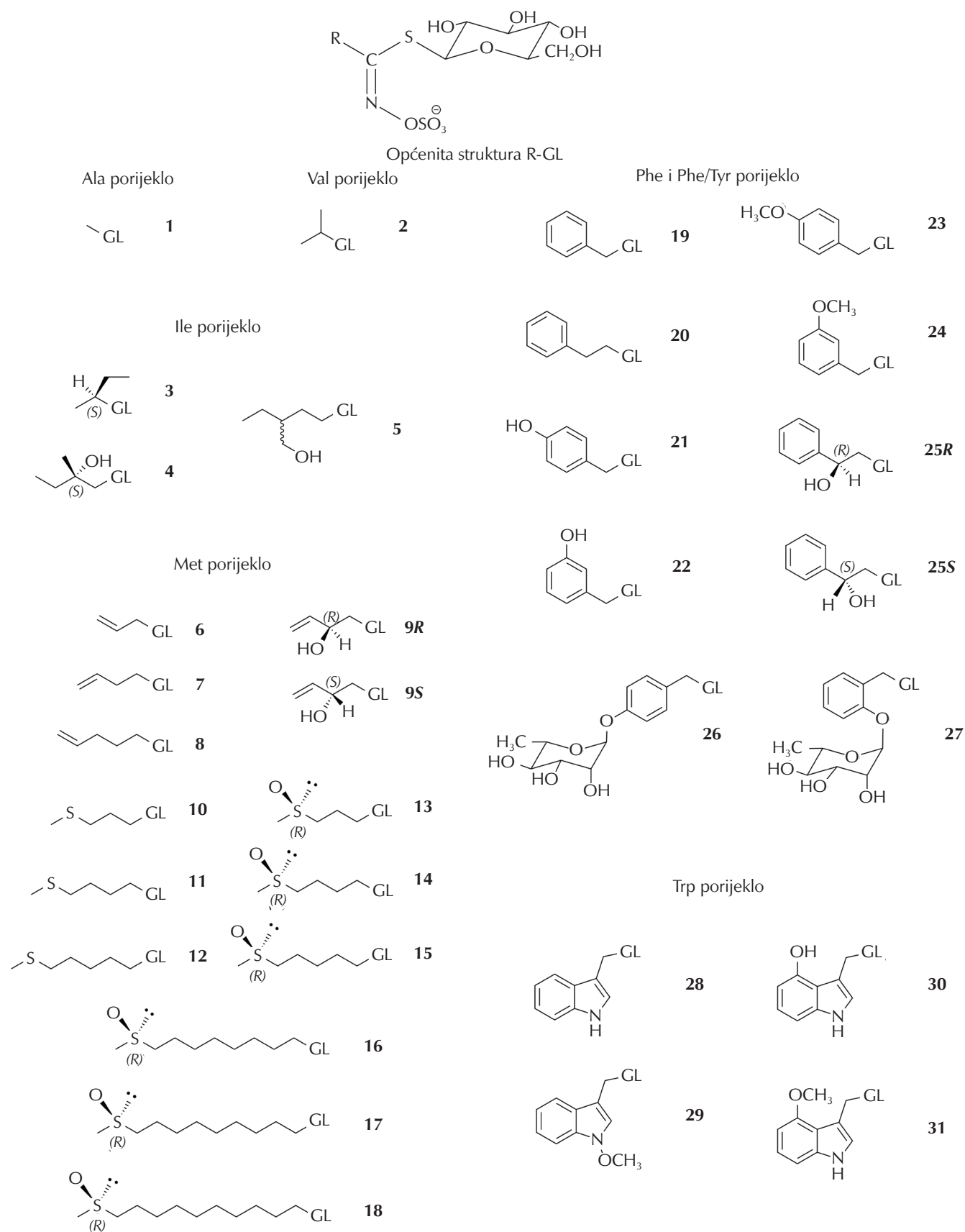
a) Broj odgovara strukturi prikazanoj na slici 1;

b) Poznate ili vjerojatne proteinogene aminokiseline kao biosintetski prekursori bočnog lanca, procijenjen eksperimentalnim dokazima najmanje jedne vrste, ekstrapolacijom takvih dokaza ili iz skeleta bočnog lanca;

c) Trivijalna imena koja su predložili izvorni pronalazači;

d) Dani su samo ključni dokazi o glukozinolatima koji postoji u prirodi, a ne opći spektroskopski podatci za odgovarajući sintetski spoj;

e) Biljna porodica: a – Brassicaceae, b – Capparidaceae, c – Caricaceae, d – Cleomaceae, e – Gyrostemonaceae, f – Limnathaceae, g – Moringaceae, h – Pentadiplandraceae, i – Resedaceae, j – Salvadoraceae, k – Tovariaceae, l – Tropaeolaceae.



Slika 1 – Strukture glukozinolata čije strukture su pouzdano određene i koji se mogu izolirati u većim količinama iz biljaka. Brojevi odgovaraju tablici 1.

Fig. 1 – Reliably determined structures of glucosinolates which can be found in fair amounts in plants. Numbers correspond to those in Table 1.

U tablici 2 prikazan je pregled odabranih biljnih vrsta koje su istraživane na KTF-Split.

Tablica 2 – Raspodjela glavnih glukozinolata među istraživanim biljnim vrstama

Table 2 – Distribution of the main glucosinolates among the investigated plant species

Biljna vrsta	Glavni glukozinolati ^{a)}					Biljni organ ^{b)}	Tehnika
	Alifatski			Aril-alifatski	Indolni		
	Sa sumporom	Razgranati	Olefinski				
<i>Alliaria petiolata</i> (M. Bieb.) Cavara et Grande ⁶³	–	–	6	19	–	nadz. dio	GC-MS
<i>Alyssoides utriculata</i> (L.) Medik ⁶⁴	11, 14	–	7	–	–	cv, l, kor, sj, st	GC-MS
<i>Arabis turrata</i> L. ⁶⁵	MSO₂GL-8 MSO₂GL-9	–	–	–	–	kor, l, sj	GC-MS, LC-DAD-MS
<i>Armoracia rusticana</i> P. Gaertn., B. Mey. et Scherb. ⁶⁶	–	–	6	20	–	kor, l	GC-MS, LC-DAD-MS/MS
<i>Aurinia leucadea</i> (Guss.) K. Koch ^{67,68}	12, 15	–	7, 8	–	–	cv, l, kor, sj, st	GC-MS, LC-DAD-MS
<i>Aurinia sinuata</i> (L.) Grieseb ^{29,67}	12, 15	–	8	–	–	kor, sj	GC-MS LC-DAD-MS
<i>Brassica botteri</i> Vis. ⁶⁹	–	–	6	–	31	sj	LC-DAD-MS
<i>Brassica cazzae</i> Ginzb. & Teyber ⁶⁹	–	–	6, 9R	–	30	sj	LC-DAD-MS
<i>Brassica elongata</i> Ehrh. ⁶⁹	–	–	–	–	30	sj	LC-DAD-MS
<i>Bunias erucago</i> L. ⁷⁰	GRE, GDER	–	–	21	–	cv, l+st, kor	GC-MS LC-DAD-MS/MS
<i>Capparis spinosa</i> L. ⁷¹	1	–	–	–	–	pl	GC-MS
<i>Capsella rubella</i> Reut. ⁷²	17, 18	–	6	–	–	nadz. dio	GC-MS
<i>Cardaria draba</i> (L.) Desv. ⁷²	11	–	–	–	–	nadz. dio	GC-MS
<i>Degenia velebitica</i> Degen Hayek ^{35,74}	12, 15	–	–	–	–	l, sj, st	GC-MS, LC-DAD-MS, NMR
<i>Eruca sativa</i> Mill. ^{75,76}	11	–	–	–	–	nadz. dio	GC-MS
<i>Fibigia triquetra</i> (DC.) Boiss. ex Prantl ⁷⁷	12, 14	–	7	–	–	cv+l, sj, st	GC-MS, LC-DAD-MS
<i>Hesperis laciniata</i> All. ⁷⁸	MSOGL-5	–	–	GLM, AGLM	–	cv, l, kor, st	LC-MS, NMR
<i>Hesperis matronalis</i> L. ⁷⁸	–	–	–	AGLM	–	cv, kor, l, st, pl	LC-MS, NMR
<i>Iberis sempervirens</i> L. ⁷⁹	10, 11	–	6, 7	–	–	l+st	GC-MS
<i>Lepidium graminifolium</i> L. ⁸⁰	–	–	–	19, 22, 24	–	cv, st, kor, pl	LC-MS, NMR

Biljna vrsta	Glavni glukozinolati ^{a)}				Biljni organ ^{b)}	Tehnika	
	Alifatski			Aril-alifatski			Indolni
	Sa sumporom	Razgranati	Olefinski				
<i>Lepidium latifolium</i> L. ⁸¹	–	–	6	–	–	cv, kor, l, st	GC-MS, LC-DAD-MS
<i>Lunaria annua</i> L. ^{82,83}	12, 15	2	–	–	–	sj, nadz. dio	GC-MS
<i>Matthiola incana</i> L. ⁸⁴	GRE, GDER	–	–	–	–	sj, kom, sj, l, cv	LC-MS/MS
<i>Raphanus sativus</i> L. ³²	11	–	–	–	–	l, kor	GC-MS
<i>Sisymbrium officinale</i> ⁸⁵	–	2, 3	–	–	–	cv+l	GC-MS

a) Brojevi odgovaraju tablici 1 i slici 1; **GRE** – (R_s, 3E)-4-(metilsulfanil)but-3-enil-GL (glukorafenin); **GDER** – (3E)-4-(metilsulfanil)but-3-enil-GL (glukodehidroerucin); **GLM** – 3,4-dihidroksibenzil-GL (glukomatronalin); **AGLM** – 4-O-D-apiozilglukomatronalin; **MSOGL-5** – (R_s)-6-(metilsulfanil)heksil-GL (glukohesperin); **MSO₂GL-8** – 8-(metilsulfonil)oktil-GL, **MSO₂GL-9** – 9-(metilsulfonil)nonil-GL

b) Korišteni biljni organ: cv – cvijet, st – stabljika, l – list, kom – komuška, kor – korijen, pl – plod, sj – sjeme

2.2. Izolacija razgradnih produkata i analiza

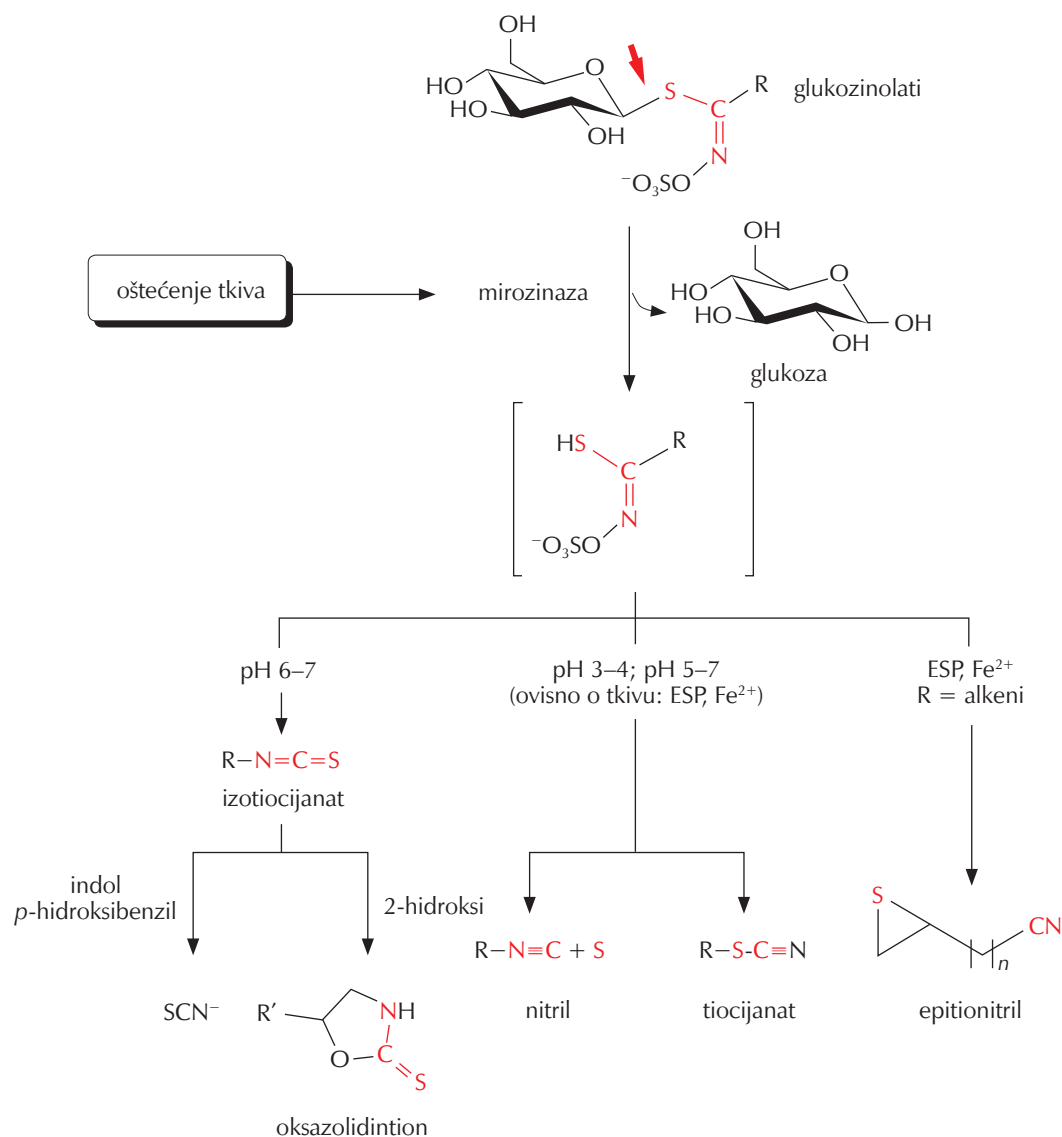
Kjær i sur. (1963.) su sustavno snimili 40 masenih spektara prirodnih i sintetskih izotiocijanata, uključujući alkil- (ravnolančane i razgranatog lanca), metilsulfanilalkil-, alkenil- i fenilalkil-izotiocijanate te je ista služila kao baza podataka u literaturi za identifikaciju glukozinolata u mnogim biljkama.¹⁴ Ostali hlapljivi sastojci, poput nitrila i/ili oksazolidin-2-tiona koji se mogu detektirati tijekom GC-MS analize mogu pomoći u neizravnoj identifikaciji i potvrdi glukozinolata. Tako su *Spencer i Daxenbichler* (1980.) izvijestili o dodatnoj “bazi podataka” spektra mase koja uključuje alkil- ili fenilalkil- izotiocijanate i nitrile s različitim funkcijskim skupinama (metilsulfanil, metilsulfonil, metilsulfonil, episulfid, hidroksil) i oksazolidin-2-tion.¹⁹ I danas se glukozinolati identificiraju upotrebom te literaturne baze podataka, ali s poteškoćama zbog činjenice da je broj njihovih masenih spektara još uvijek nizak u komercijalno dostupnim bazama podataka (“NIST 17” i “Wiley 11”).⁷ Međutim, identifikacija pomoću GC-MS u mnogim se slučajevima temelji na podacima o vremenu zadržavanja i interpretaciji snimljenih MS spektara, bez izravne usporedbe s komercijalno dostupnim ili sintetički dobivenim standardima. Nitril koji potječe od istog glukozinolata kao i izotiocijanat nalazi se pri nižim indeksima zadržavanja na najčešće upotrebljivim kolonama s niskom polarnošću te njihovi maseni spektri i indeksi zadržavanja potvrđuju neizravnu identifikaciju glukozinolata.

U početku, većina istraživanja bila je usmjerena prema identifikaciji glukozinolata preko njihovih razgradnih produkata (izotiocijanata, nitrila, tiocijanata, epitionitrila i oksazolidin-2-tiona) primjenom GC-MS tehnike (slika 2). Razgradnja glukozinolata se, osim enzimskim putem djelovanjem enzima mirozinaze, najčešće provodila termički primjenom konvencionalnih tehnika, hidrodestilacijom u modificiranoj aparaturi po Clevengeru i/ili kemijskim putem u kiselim i bazičnim uvjetima. Na taj način, putem razgradnih produkata identificirani su mnogi glukozinolati u istraživanim biljkama: češnjača (*Alliaria petiolata*), kapara (*Capparis spinosa*), jednogodišnja mjesečnica (*Lunaria annua*), mješnasta gromotuljka (*Alyssoides utriculata*), rotkva (*Raphanus sativus*), rokula (*Eruca sativa*), snježak (*Iberis sempervirens*), sredozemna rusmača (*Capsella rubella*),

strižuška (*Sisymbrium officinale*) i streličasta grbica (*Cardaria draba*) (tablica 2).

Razvijena je i nova metoda hidrodestilacija – adsorpcija (HDA) na aktivnom ugljenu koja je uspoređena s hidrodestilacijom s otapalom kao “trapom” (slika 3).⁷⁶ HDA metoda izolacije pogodna je za uzorke s niskim sadržajem, naročito vodotopljive hlapljive spojeve i može se primijeniti za različite klase hlapljivih spojeva. HDA metoda izolacije primijenjena je kod istraživanja biljke *E. sativa* i najpoznatije hrvatske stenoendemične biljke *Degenia velebitica*.^{74,76} Destilacija, adsorpcija, ekstrakcija i koncentracija hlapljivih spojeva izvodi se u samo jednoj aparaturi. Tijekom hidrodestilacije dio spojeva (nepolarna frakcija) ostane plivati na površini vode – frakcija u vodi netopljivih spojeva (b), dio spojeva se adsorbira na donjem sloju ugljena – frakcija u vodi topljivih spojeva (a), dio spojeva se adsorbira na ugljenu na vrhu aparature – frakcija najhlapljivijih spojeva (c). Maseni odnos dobivenih frakcija ovisi o kemijskom sastavu, tj. topljivosti u vodi i hlapljivosti. Oporaba mnogih organskih spojeva je često povezana sa snagom višestrukog vezivanja na upotrijebljenom adsorbensu. Stoga, da bi se osigurala potpuna desorpcija, ekstrakcija adsorbiranih spojeva se izvodila s dietil-eterom oko 8 h, što je produjilo izolaciju hlapljivih spojeva. Međutim, glavne prednosti HDA metode u odnosu na metodu hidrodestilacije su veći prinos, fracioniranje hlapljivih spojeva u tri frakcije i izbjegavanje preklapanja pikova u kromatogramu ukupne ionske struje što je imalo kao posljedicu potpuniju analizu hlapljivih spojeva.

U novije vrijeme primjenjuje se metoda izolacije potpomožute mikrovalovima (slika 4). Izolacija mikrovalovima primjenjuje postulate “zelene tehnologije” čije se prednosti odnose na kraće vrijeme izolacije s otapalom ili bez njega. Riječ je o kombinaciji mikrovalnog zagrijavanja i suhe destilacije na atmosferskom tlaku bez dodatka otapala. Cilj istraživanja uključuje odabir optimalnih parametara (snagu mikrovalova, temperaturu i vrijeme ekstrakcije) za izolaciju hlapljivih spojeva kao produkata termičke razgradnje glukozinolata. Procesni parametri uključuju snagu mikrovalova od 1 W po gramu biljnog materijala, a temperatura je regulirana temperaturom vrenja unutarstanične vode. Zračenje učinkovito zagrijava reakcijsku smjesu prodira-



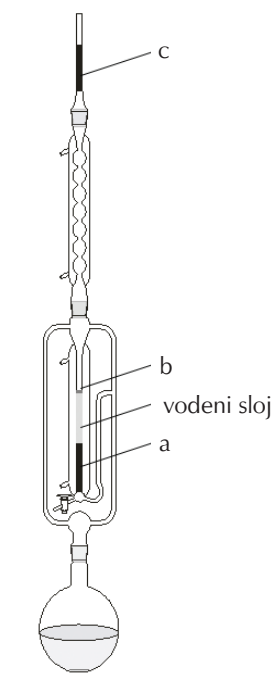
Slika 2 – Opća shema razgradnje glukozinolata
Fig. 2 – General scheme of glucosinolate degradation

njem kroz materijal i izravnom interakcijom s vodom, za razliku od hidrodestilacije (100 °C, ~3 h), gdje se smjesa zagrijava preko kalote, što dovodi do neravnomjerne raspodjele topline, a zbog dodane velike količine vode velika je mogućnost hidrolize pojedinih komponenata i nastanka artefakata. Za usporedbu konvencionalnih metoda izolacije i izolacije potpomognute mikrovalovima upotrijebljeni su biljni materijali *Lunaria annua* i *Armoracia rusticana*. Općenito, profil razgradnih produkata glavnih glukozinolata (tablica 2) dobivenih konvencionalnim tehnikama bio je sličan profilu dobivenim izolacijom primjenom mikrovalnog zračenja. Zaključeno je da je optimizacija uvjeta mikrovalnog zagrijavanja ključna u povećanju prinosa, budući da su hidrodestilacija i enzimska hidroliza rezultirale većim iskorištenjem, ali uz potrošnju velikih količina vode, enzimije, odnosno enzima.

Sjeme *L. annua* poslužilo je kao biljni materijal za ispitivanje prirode enzimske, termičke i kemijske razgradnje

glukozinolata.⁸³ Za enzimsku razgradnju upotrijebljen je komercijalno dostupan enzim mirozinaza. Termička razgradnja (pri 100 °C) provedena je hidrodestilacijom u modificiranoj aparaturi po Clevengeru. Kemijska razgradnja provedena je u vrlo kiselim (pH ~ 0), kiselim (pH ~ 2) i bazičnim uvjetima (pH ~ 10). Rezultati su pokazali da termička razgradnja i vrlo kiseli uvjeti nisu dobar pristup kada se primjenjuje neizravna metoda identifikacije glukozinolata putem razgradnih produkata. S druge strane, kiseli te izrazito bazični uvjeti pokazali su se pogodnim za razgradnju glukozinolata te mogu uspješno zamijeniti upotrebu skupog enzima.

Kritički aspekti koje bi trebalo uzeti u obzir u praktičnoj primjeni vezanog sustava GC-MS kod identifikacije glukozinolata uključuju reaktivnost i stabilnost izotiocijanata. Naime, izotiocijanati sadrže prilično elektrofilni ugljikov atom te imaju tendenciju reagiranja s biološkim nukleofilima (hidroksilna, amino- ili tiolna skupina), pri čemu nastaju



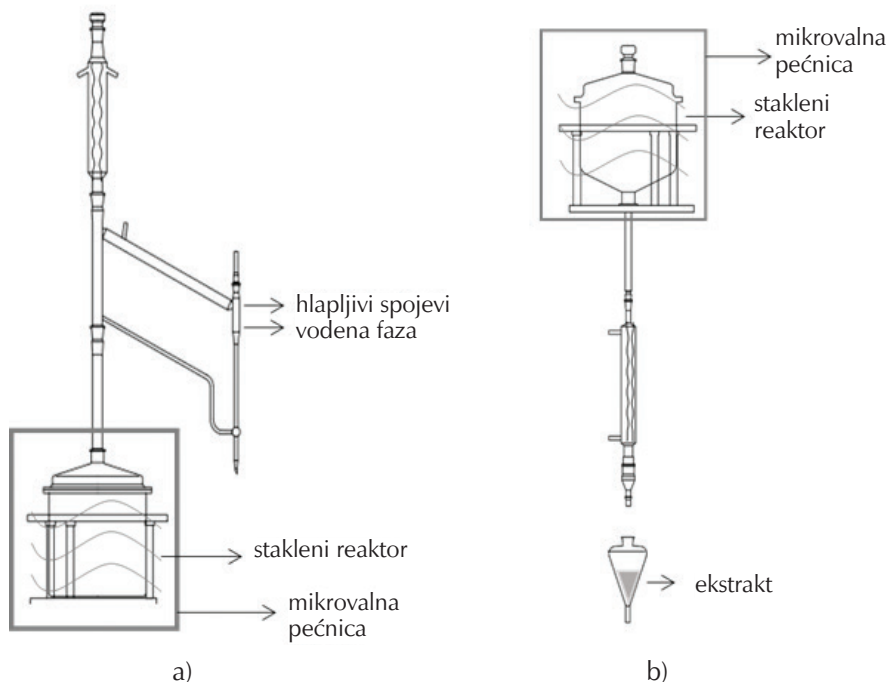
Slika 3 – Aparatura za simultanu hidrodestilaciju – adsorpciju: a, frakcija u vodi topljivih spojeva; b, frakcija u vodi netopljivih spojeva; c, frakcija najhlapljivijih spojeva

Fig. 3 – Apparatus for hydrodistillation–adsorption (HDA): a, column of activated carbon for the adsorption of water-soluble components; b, fraction of water insoluble compounds; c, column of activated carbon for the adsorption of highly volatile compounds

O-tiokarbamati, derivati tiouree ili ditiokarbamati. Dobro istražen slučaj je alil-izotiocijanata koji u vodenoj fazi kao glavni produkt razgradnje toplinske reakcije daje *N,N'*-dialiltioureu.⁷ Istraživanje biljke *A. turrita* i *L. annua* koje je uključivalo identifikaciju primjenom GC-MS tehnike pokazalo je postojanje olefinskih i ω -(metilsulfil)alkil-izotiocijanata na temelju čega je pretpostavljeno postojanje odgovarajućih glukozinolata. Međutim, analiza intaktnih glukozinolata LC-MS tehnikom tih istih biljaka pokazala je da one sadrže isključivo ω -(metilsulfil)alkil-glukozinolate. Na osnovu tih istraživanja zaključeno je da su ω -(metilsulfil)alkil-izotiocijanati koji nastaju iz odgovarajućih glukozinolata termički nestabilni pri radnoj temperaturi tijekom GC-MS analize, pri čemu su nastali odgovarajući olefinski izotiocijanati (slika 5a).^{65,82} Postojanje odgovarajućih dugolančanih olefinskih glukozinolata u prirodi do danas još nije potvrđeno.⁷ Neki su izotiocijanati sa supstituentima koji aktiviraju benzenu jezgru skloni brzom hidrolizi kao što je to slučaj kod primjerice 4-hidroksibenzil-izotiocijanata (slika 5b).⁷⁰ Međutim, nitrili koji nastaju iz tih glukozinolata pokazuju veću stabilnost. Taj problem uključuje indol-3-ilmetil-glukozinolot, čiji izotiocijanot nije moguće otkriti GC-MS tehnikom.

2.3. Izolacija i analiza desulfoglukozinolata i glukozinolata

S obzirom na prethodno opisane probleme u analizi razgradnih produkata, u istraživanju glukozinolata tekućinska kromatografija u kombinaciji s DAD i MS detektorom

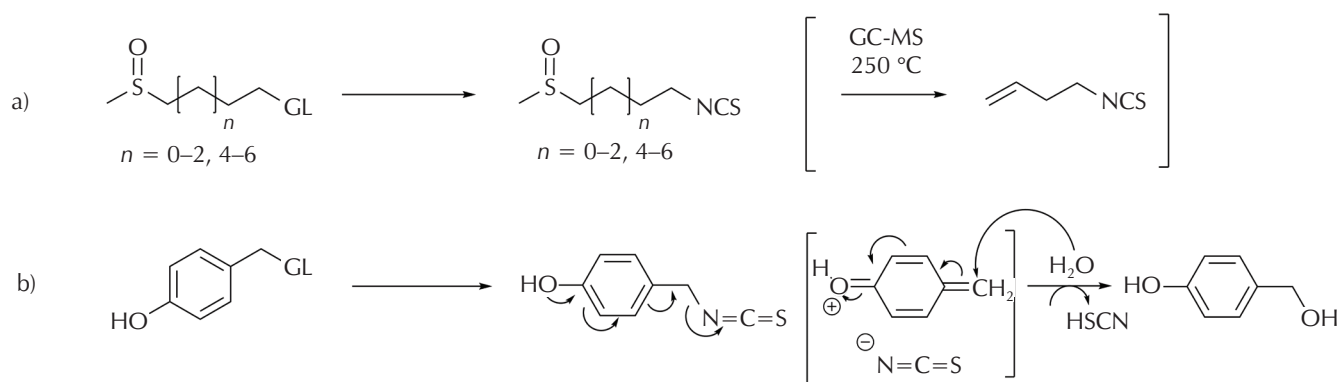


Slika 4 – Sustav za izolaciju potpomognutu mikrovalovima:

a) mikrovalovita potpomognuta destilacija; b) mikrovalna hidrodifuzija i gravitacija

Fig. 4 – Scheme of the apparatus for microwave-assisted isolation:

a) microwave-assisted distillation; b) microwave hydrodiffusion and gravity



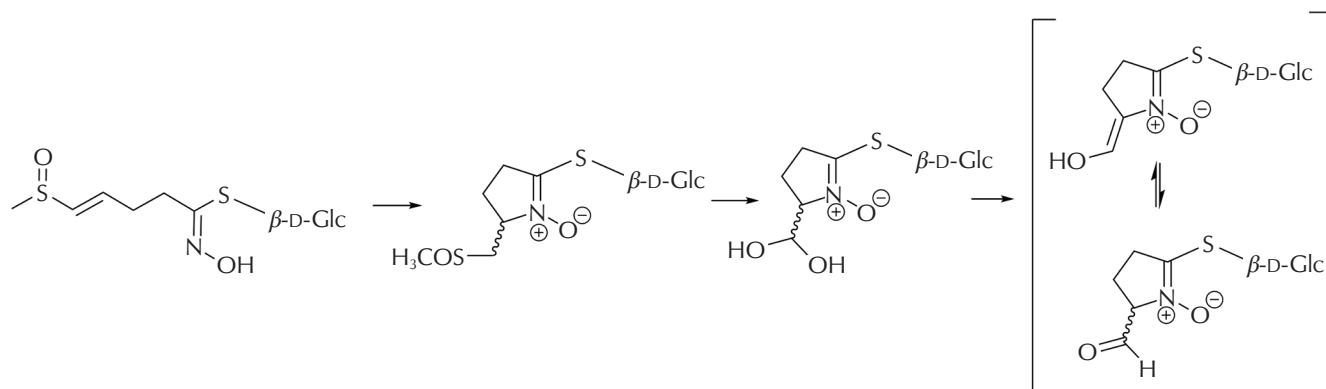
Slika 5 – Razgradnja glukozinolata (GL) u odgovarajuće izotiocijanate koji pokazuju nestabilnost: a) u uvjetima GC-MS analize zbog visoke temperature; b) zbog hidrolize

Fig. 5 – Degradation of glucosinolates into the corresponding isothiocyanates which show instability: a) under conditions of GC-MS analysis due to high temperature; b) due to hydrolysis

pokazala se neizostavnom. Izolacija nepromijenjenih glukozinolata iz biljnog materijala gdje dominira samo jedan glukozinolat optimiziran je do savršenstva.⁷ Međutim, razdvajanje više glukozinolata u složenim uzorcima predstavlja izazov. Stoga se glukozinolati često određuju preko svojih desulfo-oblika. Analiza se sastoji od izolacije glukozinolata u uvjetima koji mirozinazu održavaju inaktivnom. Ekstrakt zatim prolazi kroz anionsku izmjenu na koloni koja veže sve anione uz dodatak enzima sulfataza kako bi se omogućila enzimaska hidroliza sulfatnih estera u glukozinolatima, pri čemu nastaju nenabijeni desulfoglukozinolati koji se eluiraju s kolone. Tehnika omogućuje semikvantitativnu analizu velike većine glukozinolata. Osim nedostajuće sulfatne skupine, odgovarajući glukozinolati i desulfoglukozinolati su identični, što omogućuje razjašnjenje struktura. Na taj način po prvi put je istražen kvalitativni i/ili kvantitativni sastav endemskih biljaka koje rastu u Hrvatskoj (*A. sinuata*, *A. leucadia*, *D. velebitica* i *F. triquetra*).^{35,67,77} Utvrđeno je da one sadržavaju glukozinolatu u rasponu od 9,9 do 135,4 $\mu\text{mol g}^{-1}$ sušenog biljnog materijala u različitim dijelovima biljaka. Posebno visok sadržaj je bio u sjemenu (preko 4,0 % w/w, s najvišim, 6,1 % w/w, u *F. triquetra*), što te *Alyseae* vrste čini dobrim novim izvorom glukozinolata. Glavni glukozinolati pronađeni u

sjemenu *A. sinuata* i *A. leucadea* su: **15** (38,2 $\mu\text{mol g}^{-1}$) i **7** (39,1 $\mu\text{mol g}^{-1}$) u *A. leucadea*, dok je **15** (62,3 $\mu\text{mol g}^{-1}$) i **8** (17,2 $\mu\text{mol g}^{-1}$) u *A. sinuata*. *D. velebitica* i *F. triquetra* predstavljaju rijetke hrvatske paleostenoenemske vrste. Prirodno stanište *D. velebitica*, jedine vrste iz roda *Dezenia*, ograničen je na samo nekoliko lokaliteta na južnom i srednjem Velebitu. Istraživanje je pokazalo da sjeme *D. velebitica* sadrži 88,0 $\mu\text{mol g}^{-1}$ **12** (oko 90 % ukupnih glukozinolata), uvrštavajući je u važne izvore tog spoja. *F. triquetra*, koja se nerijetko zamijeni s *D. velebitica*, samonikla je biljka prisutna jedino na stjenovitom području Dalmacije. Za razliku od *D. velebitica*, glavni glukozinolati koji se nalaze u *F. triquetra* su **11** (76,7 $\mu\text{mol g}^{-1}$), **7** (66,7 $\mu\text{mol g}^{-1}$) i **14** (23,4 $\mu\text{mol g}^{-1}$).

Međutim, određivanje glukozinolata preko desulfo-oblika nije uvijek najbolje rješenje. To je pokazalo istraživanje glukozinolata biljke *Matthiola incana*, koji su istraživani kao intaktni i desulfoglukozinolati. Kao glavni glukozinolat pronađen je 4-(metilsulfinil)but-3-enil-glukozinolat (glukorafenin). Tijekom duljeg skladištenja u vodenoj otopini pokazalo se da desulfoglukozinolat nije stabilan te da dolazi do spontane pretvorbe u ciklički tioimidat *N*-oksid (slika 6). U istom radu, kako bi se utvrdila biodostupnost tog spoja u

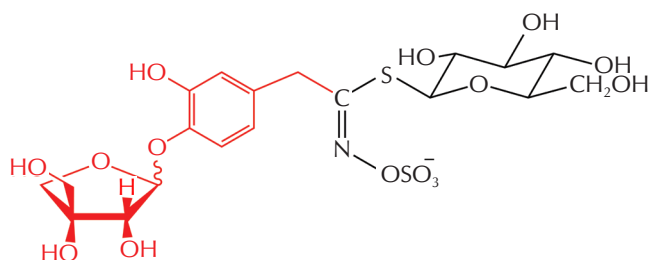


Slika 6 – Desulfoglukorafenin i nastanak tioimidat *N*-oksida tijekom duljeg vremena skladištenja i/ili desulfatacije

Fig. 6 – Desulfoglucoraphenin and formation of thioimidate *N*-oxides during prolonged storage and/or desulfatation

uvjetima simulirane probave, primijenjen je *ex vivo* model probave koji je pokazao značajnu transformaciju glukorafenina u crijevnoj fazi pri pH ~ 7,0 uz dodane humane duodenalne sokove, dok je u želučanoj fazi pri pH ~ 2,5 uz dodane humane želučane sokove ostao stabilan.⁸⁴

U najnovijem rad u objavljenom 2020. godine u hrvatsko-francusko-kanadskoj suradnji primjenom LC-MS tehnike istražen je glukozinolatan profil roda *Hesperis*, tj. *lacinata* koja raste u Hrvatskoj i *H. matronalis* koja raste u Kanadi. Novi glukozinolat, 4-O-D-apiozilglukomatronalin izoliran je i okarakteriziran je MS i NMR spektroskopskim tehnikama (slika 7),⁷⁸ čime je ukupni broj pouzdano dokazanih glukozinolata u biljkama porastao na 89.



Slika 7 – Struktura 4-O-D-apiozilglukomatronalina
Fig. 7 – Structure of 4-O-D-apiosylglucomatronalin

3. Biološki potencijal

S obzirom na istaknutu biološku aktivnost izotiocijanata, istraživanja su usmjerena na ispitivanje citotoksične, antimikrobne, antioksidacijske, protuupalne aktivnosti kao i inhibicije kolinesteraza hlapljivim izolatima i čistim izotiocijanatima.

Ispitana je citotoksična aktivnost hlapljivih izolata te komercijalno dostupnih izotiocijanata koji su bili među glavnim spojevima u istim i to: *L. latifolium*, koji sadrži alil-izotiocijanatan testirani su na stanice raka mjehura UM-UC-3 i glioblastoma LN229;⁸¹ *L. annua* koja sadrži 5-(metilsulfinil)pentil- i 6-(metilsulfinil)heksil-izotiocijanatan na humane stanice raka pluća A549 i raka dojke MDA-MB-231;⁸² *A. rusticana* koja sadrži alil-izotiocijanatan i 2-feniletil-izotiocijanatan i 3-fenilpropanonitril na humane stanice raka pluća A549 i raka mjehura T24.⁶⁶ Izrazito jaku aktivnost na testirane stanice raka nakon 72 h inkubacije pokazali su hlapljivi izolati *A. rusticana* ($IC_{50} = 2,62 \mu\text{g ml}^{-1}$ za A549 te $IC_{50} = 0,57 \mu\text{g ml}^{-1}$ za T24). Testiranja čistih izotiocijanata pokazala su da najveći doprinos aktivnosti potječe od prisutnog 2-feniletil-izotiocijanata, dok je 3-fenilpropanonitril, kao drugi razgradni produkt istog glukozinolata **20**, pokazao slabu aktivnost, što ukazuje na opravdanost istraživanja različitih utjecaja na razgradnju glukozinolata.

Antimikrobna istraživanja provedena su na izolatima dobivenim iz biljaka *A. rusticana*,⁶⁶ *A. leucadea*,⁶⁸ *A. sinuata*,²⁹ *C. draba*,⁷³ *D. velebitica*,⁷⁴ *L. latifolium*⁸¹ i *S. officinale*.⁸⁵ Hlapljivi ekstrakti koji sadrže izotiocijanate dobivene od tih biljaka koje sadrže glukozinolatan, kao i čisti izotiocija-

nati, pokazali su širok spektar antimikrobne aktivnosti. U istraživanju inhibicije kolinesteraza 11 testiranih komercijalnih izotiocijanata, fenil-izotiocijanatan i njegovi derivati pokazali su najperspektivnije inhibitorno djelovanje.⁸⁶ 2-Metoksifenil-izotiocijanatan pokazao je najbolju inhibiciju acetilkolinesteraze, dok je 3-metoksifenil-izotiocijanatan pokazao najbolju inhibiciju butirilkolinesteraze. Procjena učinkovitosti antioksidansa primjenom različitih metoda dovela je do sličnog zaključka. Ispitano je i protuupalno djelovanje upotrebom humanog enzima COX-2, gdje su fenil-izotiocijanatan i 3-metoksifenil-izotiocijanatan pokazali ~99 % inhibicije za 50 μM .⁸⁶

4. Zaključak

S obzirom na to da ove biljke pripadaju agronomski važnim usjevima i ljekovitim biljkama, opisana istraživanja pronalaze svoju vrijednost u industrijama kao što su prehrambena i farmaceutska. Velikom broju pretpostavljenih struktura glukozinolata nedostaju dokazi o postojanju u prirodi te ih je potrebno izolirati i okarakterizirati spektroskopskim tehnikama, naročito NMR-om. Kvantizacija glukozinolata u biljkama važan je aspekt istraživanja u svrhu pronalaska njihova izvora. Biološki potencijal izotiocijanata prepoznat je s različitih aspekata. Međutim, razgradnjom glukozinolata nastaju i pojedini manje aktivni, ali i neaktivni spojevi. Stoga uvjeti razgradnje predstavljaju bitan aspekt istraživanja s ciljem dobivanja izolata obogaćenih bioaktivnim izotiocijanatima.

ZAHVALA

Zahvaljujem dr. sc. Josipu Masteliću, red. prof. u mirovini kao mentoru doktorske disertacije, MZO-u na potpori u sklopu projekata 011-0982929-1329 (J. Mastelić, voditelj), kao i hrvatsko-francuskog COGITO projekta (I. Blažević, voditelj) te Hrvatskoj zakladi za znanost, koja je u okviru projekta "Biljke kao izvor bioaktivnih sumporovih spojeva te njihova sposobnost hiperakumulacije metala" IP-06-2016-1316 (I. Blažević, voditelj) financirala znanstveno-istraživački rad. Također, zahvaljujem svim suradnicima koji su izravno i neizravno doprinijeli navedenim istraživanjima.

Popis kratica List of abbreviations

GL	– glucosinolate – glukozinolat
dGL	– desulfoglucosinolate – desulfoglukozinolat
ITC	– isothiocyanate – izotiocijanatan
LC	– liquid chromatography – tekućinska kromatografija
NIT	– nitrile – nitril

- OAT – oxazolidin-2-thione
– oksazolidin-2-tion
- GC – gas chromatography
– plinska kromatografija
- MS – mass spectrometry
– spektrometrija masa
- NMR – nuclear magnetic resonance
– nuklearna magnetska rezonancija

Literatura References

- G. M. Cragg, D. J. Newman, Natural products: A continuing source of novel drug leads, *Biochim. Biophys. Acta* **1830** (2013) 3670–3695, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2013.02.008>.
- N. Agerbirk, C. E. Olsen, Glucosinolate structures in evolution, *Phytochemistry* **77** (2012) 16–45, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2012.02.005>.
- J. W. Fahey, A. T. Zalcmann, P. Talalay, The chemical diversity and distribution of glucosinolates and isothiocyanates among plants, *Phytochemistry* **56** (2001) 5–51, doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)00316-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)00316-2).
- A. Kjær, Naturally derived isothiocyanates (mustard oils) and their parent glucosides, *Fortschr. Chem. Org. Naturstoffe* **18** (1960) 122–176, doi: https://doi.org/10.1007/978-3-7091-7159-2_4.
- M. G. Ettlinger, A. Kjær, Sulfur compounds in plants, *Recent Adv. Phytochemistry* **1** (1968) 59–144.
- D. B. Clarke, Glucosinolates, structures and analysis in food, *Anal. Method.* **2** (2010) 310–325, doi: <https://doi.org/10.1039/b9ay00280d>.
- I. Blažević, S. Montaut, F. Burčul, C. E. Olsen, M. Burow, P. Rollin, N. Agerbirk, Glucosinolate structural diversity, identification, chemical synthesis and metabolism in plants, *Phytochemistry* **169** (2020) 112100, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2019.112100>.
- I. Blažević, S. Montaut, F. Burčul, P. Rollin, Glucosinolates: Novel sources and biological potential, u J.-M. Mérillon, G. K. Ramawat (ur), *Glucosinolates*, Springer International Publishing, Cham, Switzerland, 2016., str. 3–60, doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-25462-3_1.
- M. N. A. Sakine, Y. Mahmoud, M. G. Dijoux-Franca, J. M. M. Cbenou, *In vitro* antihyperglycaemic effect of glucocapparin isolated from the seeds of *Boscia senegalensis* (Pers.) Lam. ex Poir. *Afr. J. Biotechnol.* **11** (2012) 6345–6349, doi: <https://doi.org/10.5897/AJB11.3445>.
- C. E. Olsen, X.-C. Huang, C. I. C. Hansen, D. Cipollini, M. Ørgaard, A. Matthes, F. Geu-Flores, M. A. Koch, N. Agerbirk, Glucosinolate diversity within a phylogenetic framework of the tribe *Cardamineae* (Brassicaceae) unravelled with HPLC-MS/MS and NMR-based analytical distinction of 70 desulfoglucosinolates. *Phytochemistry* **132** (2016) 33–56, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2016.09.013>.
- B. W. Christensen, A. Kjær, J. Øgaard Madsen, C. E. Olsen, O. Olsen, H. Sørensen, Mass-spectrometric characteristics of some pertrimethyl-silylated desulfoglucosinolates, *Tetrahedron* **38** (1982) 353–357, doi: [https://doi.org/10.1016/0040-4020\(82\)80172-5](https://doi.org/10.1016/0040-4020(82)80172-5).
- S. Montaut, R. S. Bleeker, C. Jacques, Phytochemical constituents of *Cardamine diphylla*. *Can. J. Chem.* **88** (2010) 50–55, doi: <https://doi.org/10.1139/V09-153>.
- N. Agerbirk, S. I. Warwick, P. R. Hansen, C. E. Olsen, Sinapis phylogeny and evolution of glucosinolates and specific nitrile degrading enzymes, *Phytochemistry* **69** (2008) 2937–2949, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.08.014>.
- A. Kjær, M. Ohashi, J. M. Wilson, C. Djerassi, Mass spectra of isothiocyanates, *Acta Chem. Scand.* **17** (1963) 2143–2154, doi: <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.17-2143>.
- X. Dauvergne, S. Cérantola, S. Salaün, C. Magné, N. Kervarec, M.-A. Bessières, E. Deslandes, General occurrence of the glucosinolate glucocochlearin within the *Cochlearia* genus, *Carbohydr. Res.* **341** (2006) 2166–2169, doi: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2006.05.014>.
- A. Kjær, S. E. Hansen, isoThiocyanates XXVII. The absolute configuration of optically active 2-butylamine and 2-butyl isothiocyanate. *Acta Chem. Scand.* **11** (1957) 898–899, doi: <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.11-0898>.
- N. Ibrahim, I. Allart-Simon, G. R. De Nicola, R. Iori, J.-H. Renault, P. Rollin, J.-M. Nuzillard, Advanced NMR-based structural investigation of glucosinolates and desulfoglucosinolates, *J. Nat. Prod.* **81** (2018) 323–334, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.7b00776>.
- B. W. Christensen, A. Kjær, The absolute configuration of cleomin, *Acta Chem. Scand.* **17** (1963) 279–280, doi: <https://doi.org/10.3891/acta.chem.scand.17-0279>.
- G. F. Spencer, M. E. Daxenbichler, Gas chromatography-mass spectrometry of nitriles, isothiocyanates and oxazolidinethiones derived from cruciferous glucosinolates, *J. Sci. Food Agric.* **31** (1980) 359–367, doi: <https://doi.org/10.1002/jf.2740310406>.
- N. Agerbirk, C. E. Olsen, F. S. Chew, M. Ørgaard, Variable glucosinolate profiles of *Cardamine pratensis* (Brassicaceae) with equal chromosome numbers, *J. Agric. Food Chem.* **58** (2010) 4693–4700, doi: <https://doi.org/10.1021/jf904362m>.
- R. N. Bennett, F. A. Mellon, P. A. Kroon, Screening crucifer seeds as sources of specific intact glucosinolates using ion-pair high-performance liquid chromatography negative ion electrospray mass spectrometry, *J. Agric. Food Chem.* **52** (2004) 428–438, doi: <https://doi.org/10.1021/jf030530p>.
- J. Waser, W. H. Watson, Crystal structure of sinigrin, *Nature* **198** (1963) 1297–1298, doi: <https://doi.org/10.1038/1981297b0>.
- R. E. Marsh, J. Waser, Refinement of the crystal structure of sinigrin, *Acta Crystallogr.* **26** (1970) 1030–1037, doi: <https://doi.org/10.1107/S0567740870003539>.
- B. Kusznierevicz, R. Iori, A. Piekarska, J. Namieśnik, A. Bartoszek, Convenient identification of desulfoglucosinolates on the basis of mass spectra obtained during liquid chromatography–diode array–electrospray ionisation mass spectrometry analysis: method verification for sprouts of different Brassicaceae species extracts, *J. Chromatogr. A*, **1278** (2013) 108–115, doi: <https://doi.org/10.1107/S0567740870003539>.
- M. Maldini, M. Foddai, F. Natella, G. L. Petretto, J. P. Rourke, M. Chessa, G. Pintore, Identification and quantification of glucosinolates in different tissues of *Raphanus raphanistrum* by liquid chromatography tandem-mass spectrometry, *J. Food Compos. Anal.* **61** (2017) 20–27, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.06.002>.
- N. S. Zimmermann, J. Gerendás, A. Krumbein, Identification of desulphoglucosinolates in Brassicaceae by LC/MS/MS: comparison of ESI and atmospheric pressure chemical ionisation-MS, *Mol. Nutr. Food Res.* **51** (2007) 1537–1546, doi: <https://doi.org/10.1002/mnfr.200700103>.
- S. F. Vaughn, M. A. Berhow, Glucosinolate hydrolysis products from various plant sources: pH effects, isolation, and purification, *Ind. Crops Prod.* **21** (2005) 193–202.

28. S. Millán, M. C. Sampedro, P. Gallejones, A. Castellón, M. L. Ibargoitia, M. A. Goicolea, R. J. Barrion, Identification and quantification of glucosinolates in rapeseed using liquid chromatography-ion trap mass spectrometry Anal. Bioanal. Chem. **394** (2009) 1661–1669, doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2004.03.004>.
29. I. Blažević, A. Radonić, J. Mastelić, M. Zekić, M. Skočibušić, A. Maravić, Glucosinolates, glycosidically bound volatiles and antimicrobial activity of *Aurinia sinuata* (Brassicaceae), Food Chem. **121** (2010) 1020–1028, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.01.041>.
30. M. E. Daxenbichler, C. H. VanEtten, I.A. Wolff, A new thioglucoside, (R)-2-hydroxy-3-butenylglucosinolate from *Crambe abyssinica* seed, Biochem. **4** (1965) 318–323, doi: <https://doi.org/10.1021/bi00878a021>.
31. C. Chidewe, U. F. Castillo, D. S. Sem, Structural analysis and antimicrobial activity of chromatographically separated fractions of leaves of *Sesamum angustifolium* (Oliv.) Engl., J. Biol. Active Prod. Nat. **7** (2017) 463–474, doi: <https://doi.org/10.1080/22311866.2017.1417057>.
32. I. Blažević, J. Mastelić, Glucosinolate degradation products and other bound and free volatiles in the leaves and roots of radish (*Raphanus sativus* L.), Food Chem. **113** (2009) 96–102, doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.07.029>.
33. S. Montaut, A. Montagut-Romans, L. Chiari, H. J. Benson, Glucosinolates in *Draba borealis* DC. (Brassicaceae) in a taxonomic perspective, Biochem. Syst. Ecol. **78** (2018) 31–34, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bse.2018.03.003>.
34. S. Montaut, J. Grandbois, L. Righetti, J. Barillari, R. Iori, P. Rollin, Updated glucosinolate profile of *Dithyrea wislizenii*, J. Nat. Prod. **72** (2009) 889–893, doi: <https://doi.org/10.1021/np800738w>.
35. G. R. De Nicola, I. Blažević, S. Montaut, P. Rollin, J. Mastelić, R. Iori, A. Tatibouët, Glucosinolate distribution in aerial parts of *Degenia velebitica*, Chem. Biodivers. **8** (2011) 2090–2096, doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201100114>.
36. B. Jaki, O. Sticher, M. Veit, R. Fröhlich, G. F. Pauli, Evaluation of glucoiberin reference material from *Iberis amara* by spectroscopic fingerprinting, J. Nat. Prod. **65** (2002) 517–522, doi: <https://doi.org/10.1021/np0100800>.
37. A. M. Kore, G. F. Spencer, M. A. Wallig, Purification of the ω -(methylsulfinyl)alkyl glucosinolate hydrolysis products: 1-isothiocyanato-3-(methylsulfinyl)propane, 1-isothiocyanato-4-(methylsulfinyl)butane, 4-(methylsulfinyl)butanenitrile, and 5-(methylsulfinyl)pentanenitrile from broccoli and *Lesquerella fendleri*, J. Agric. Food Chem. **41** (1993) 89–95, doi: <https://doi.org/10.1021/jf00025a019>.
38. K. K. Cheung, A. Kjær, G. A. Sim, The absolute configuration of sulphoxide mustard oils, Chem. Commun. (1965) 100–102, doi: <https://doi.org/10.1039/C19650000100>.
39. A. Fréchar, N. Fabre, S. Hannedouche, I. Fourasté, Glucosinolates from *Cardaria draba*, Fitoterapia **73** (2002) 177–178, doi: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00010-2](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00010-2).
40. G. Kiddle, R. N. Bennett, N. P. Botting, N. E. Davidson, A. A. B. Robertson, R. M. Wallsgrove, High-performance liquid chromatographic separation of natural and synthetic desulphoglucosinolates and their chemical validation by UV, NMR and chemical ionization-MS methods, Phytochemistry Anal. **12** (2001) 226–242, doi: <https://doi.org/10.1002/pca.589>.
41. K. H. Kim, E. Moon, S. Y. Kim, S. U. Choi, J. H. Lee, K. R. Lee, 4-Methylthio-butanyl derivatives from the seeds of *Raphanus sativus* and their biological evaluation on anti-inflammatory and antitumor activities, J. Ethnopharmacol. **151** (2014) 503–508, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.11.003>.
42. F. Vergara, M. Wenzler, B. G. Hansen, D. J. Kliebenstein, B. A. Halkier, J. Gershenzon, B. Schneider, Determination of the absolute configuration of the glucosinolate methyl sulfoxide group reveals a stereospecific biosynthesis of the side chain, Phytochemistry **69** (2008) 2737–2742, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2008.09.008>.
43. L. Song, R. Iori, P. J. Thornalley, Purification of major glucosinolates from Brassicaceae seeds and preparation of isothiocyanate and amine metabolites, J. Sci. Food Agric. **86** (2006) 1271–1280.
44. A. Yamane, J. Fujikura, H. Ogawa, J. Mizutani, Isothiocyanates as alleopathic compounds from *Rorippa indica* Hiern. (Cruciferae) roots, J. Chem. Ecol. **18** (1992) 1941–1954, doi: <https://doi.org/10.1007/BF00981918>.
45. M. A. Berhow, U. Polat, J. A. Glinski, M. Glensk, S. F. Vaughn, T. Isbell, I. Ayala-Diaz, L. Marek, C. Gardner, Optimized analysis and quantification of glucosinolates from *Camelina sativa* seeds by reverse-phase liquid chromatography, Ind. Crops Prod. **43** (2013) 119–125, doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2012.07.018>.
46. N. Fabre, V. Poinso, L. Debrauwer, C. Vigor, J. Tulliez, I. Fourasté, C. Moulis, Characterisation of glucosinolates using electrospray ion trap and electrospray quadrupole time-of-flight mass spectrometry, Phytochem. Anal. **18** (2007) 306–319, doi: <https://doi.org/10.1002/pca.983>.
47. R. M. de Graaf, S. Krosse, A. E. M. Swolfs, E. te Brinke, N. Prill, R. Leimu, P. M. van Galen, Y. Wang, M. G. M. Aarts, N. M. van Dam, Isolation and identification of 4- α -rhamnosyloxy benzyl glucosinolate in *Noccaea caerulea* showing intraspecific variation, Phytochemistry **110** (2015) 166–171, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.11.016>.
48. E. Pagnotta, N. Agerbirk, C. E. Olsen, L. Ugolini, S. Cinti, L. Lazzari, Hydroxyl and methoxyl derivatives of benzylglucosinolate in *Lepidium densiflorum* with hydrolysis to isothiocyanates and non-isothiocyanate products: substitution governs product type and mass spectral fragmentation, J. Agric. Food Chem. **65** (2017) 3167–3178, doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b00529>.
49. G. R. De Nicola, M. Nyegue, S. Montaut, R. Iori, C. Menut, A. Tatibouët, P. Rollin, C. Ndoyé, P.-H. Amvam Zollo, Profile and quantification of glucosinolates in *Pentadiplandra brazzeana* Baillon, Phytochemistry **73** (2012) 51–56, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2011.09.006>.
50. N. Agerbirk, C. E. Olsen, J. K. Nielsen, Seasonal variation in leaf glucosinolates and insect resistance in two types of *Barbarea vulgaris* ssp. *Arcuate*, Phytochemistry **58** (2001) 91–100, doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(01\)00151-0](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(01)00151-0).
51. X. Huang, J. A. A. Renwick, K. Sachdev-Gupta, Oviposition stimulants in *Barbarea vulgaris* for *Pieris rapae* and *P. napi oleracea*: isolation, identification and differential activity, J. Chem. Ecol. **20** (1994) 423–438, doi: <https://doi.org/10.1007/BF02064448>.
52. N. Agerbirk, C. E. Olsen, C. Heimes, S. Christensen, S. Bak, T. P. Hauser, Multiple hydroxyphenethyl glucosinolate isomers and their tandem mass spectrometric distinction in a geographically structured polymorphism in the crucifer *Barbarea vulgaris*, Phytochemistry **115** (2015) 130–142, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.09.003>.
53. N. S. Radulović, M. M. Todorovska, D. B. Zlatković, N. M. Stojanović, P. J. Randjelović, Two goitrogenic 1,3-oxazolidine-2-thione derivatives from *Brassicales* taxa: challenging identification, occurrence and immunomodulatory effects, Food Chem. Toxicol. **110** (2017) 94–108, doi: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.10.005>.
54. N. Agerbirk, C. E. Olsen, Glucosinolate hydrolysis products in the crucifer *Barbarea vulgaris* include a thiazolidine-2-one from a specific phenolic isomer as well as oxazolidine-2-thiones, Phytochemistry **115** (2015) 143–151, doi:

- <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2014.11.002>.
55. M. Maldini, S.A. Maksoud, F. Natella, P. Montoro, G. L. Pretetto, M. Foddai, G. R. De Nicola, M. Chessa, G. Pintore, *Moringa oleifera*: study of phenolics and glucosinolates by mass spectrometry, *J. Mass Spectrom.* **49** (2014) 900–910, doi: <https://doi.org/10.1002/jms.3437>.
 56. A. Kjær, O. Malver, B. El-Menshawi, J. Reisch, Isothiocyanates in myrosinase-treated seed extracts of *Moringa peregrina*, *Phytochemistry* **18** (1979) 1485–1487, doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)98480-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)98480-2).
 57. C. Müller, J. van Loon, S. Ruschioni, G. R. De Nicola, C. E. Olsen, R. Iori, N. Agerbirk, Taste detection of the non-volatile isothiocyanate moringin results in deterrence to glucosinolate-adapted insect larvae, *Phytochemistry* **118** (2015) 139–148, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2015.08.007>.
 58. O. Olsen, H. Sørensen, Isolation of glucosinolates and the identification of o-(α -L-rhamnopyranosyloxy)benzylglucosinolate from *Reseda odorata*, *Phytochemistry* **18** (1979) 1547–1552, doi: [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)98494-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)98494-2).
 59. N. Agerbirk, A. Matthes, P. Ø. Erthmann, L. Ugolini, S. Cinti, E. Lazaridi, J.-M. Nuzillard, C. Müller, S. Bak, P. Rollin, L. Lazerri, Glucosinolate turnover in Brassicales species to an oxazolidin-2-one, formed via the 2-thione and without formation of thioamide, *Phytochemistry* **153** (2018) 79–83, doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytochem.2018.05.006>.
 60. N. Agerbirk, B. L. Petersen, C. E. Olsen, B. A. Halkier, J. K. Nielsen, 1,4-Dimethoxyglucobrassicin in *Barbarea* and 4-hydroxyglucobrassicin in *Arabidopsis* and *Brassica*, *J. Agric. Food Chem.* **49** (2001) 1502–1507, doi: <https://doi.org/10.1021/jf001256r>.
 61. N. Agerbirk, C. E. Olsen, H. Sørensen, Initial and final products, nitriles, and ascorbigens produced in myrosinase-catalyzed hydrolysis of indole glucosinolates, *J. Agric. Food Chem.* **46** (1998) 1563–1571, doi: <https://doi.org/10.1021/jf9708498>.
 62. M. Pfalz, M. Mukhaimar, F. Perreau, J. Kirk, C. I. C. Hansen, C. E. Olsen, N. Agerbirk, J. Kroymann, Methyl transfer in glucosinolate biosynthesis mediated by indole glucosinolate O-methyltransferase 5, *Plant Physiol. (Wash. D C)* **172** (2016) 2190–2203, doi: <https://doi.org/10.1104/pp.16.01402>.
 63. I. Blažević, J. Mastelić, Free and Bound Volatiles of Garlic Mustard (*Alliaria petiolata*), *Croat. Chem. Acta* **81** (2008) 607–613.
 64. I. Blažević, F. Burčul, M. Ruščić, J. Mastelić, Glucosinolates, volatile constituents, and acetylcholinesterase inhibitory activity of *Alyssoides utriculata*, *Chem. Nat. Compd.* **49** (2013) 374–378, doi: <https://doi.org/10.1007/s10600-013-0613-1>.
 65. I. Blažević, S. Montaut, G. R. De Nicola, P. Rollin, Long-chain Glucosinolates from *Arabis turrata*: Enzymatic and non-enzymatic degradations, *Nat. Prod. Commun.* **10** (2015) 1043–1046, doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X1501000662>.
 66. M. Popović, A. Maravić, V. Čikeš Čulić, A. Đulović, F. Burčul, I. Blažević, Biological effects of glucosinolate degradation products from horseradish: A horse that wins the race, *Biomolecules* **10** (2020) 343–358, doi: <https://doi.org/10.3390/biom10020343>.
 67. I. Blažević, G. R. De Nicola, S. Montaut, P. Rollin, Glucosinolates in two endemic plants of the *Aurinia* genus and their chemotaxonomic significance, *Nat. Prod. Commun.* **8** (2013) 1463–1466, doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X1300801032>.
 68. I. Blažević, A. Radonić, M. Skočibušić, G. R. De Nicola, S. Montaut, R. Iori, P. Rollin, J. Mastelić, M. Zekić, A. Maravić, Glucosinolate profiling and antimicrobial screening of *Aurinia leucadea* (Brassicaceae), *Chem. Biodivers.* **8** (2011) 2310–2321, doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201100169>.
 69. S. Montaut, I. Blažević, M. Ruščić, P. Rollin, LC-MS profiling of glucosinolates in the seeds of *Brassica elongata* Ehrh., and of the two stenoendemic *B. botteri* Vis and *B. cazzae* Ginzb. & Teyber, *Nat. Prod. Res.* **31** (2017) 58–62, doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2016.1212032>.
 70. I. Blažević, A. Đulović, V. Čikeš Čulić, F. Burčul, I. Ljubenkov, M. Ruščić, I. Generalić Mekinić, *Bunias erucago* L.: Glucosinolate profile and in vitro biological potential, *Molecules* **24** (2019) 741–752, doi: <https://doi.org/10.3390/molecules24040741>.
 71. T. Kulišić-Bilušić, I. Blažević, B. Dejanović, M. Miloš, G. Pifat, Evaluation of the antioxidant activity of essential oils from caper (*Capparis spinosa*) and sea fennel (*Crithmum maritimum*) by different methods, *J. Food Biochem.* **34** (2010) 286–302, doi: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2009.00330.x>.
 72. M. Zekić, A. Radonić, I. Blažević, J. Mastelić, S. Bilić, Glucosinolate hydrolysis products from Brassicaceae plants, u D. Šubarić (ur.), 13th Ružička days “Today science – tomorrow industry”, Croatian Society of Chemical Engineers, Faculty of Food Technology Osijek, Osijek, 2010., str. 107–114.
 73. A. Radonić, I. Blažević, J. Mastelić, M. Zekić, M. Skočibušić, A. Maravić, Phytochemical analysis and antimicrobial activity of *Cardaria draba* L. Desv. Volatiles, *Chem. Biodivers.* **8** (2011) 1170–1181, doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201000370>.
 74. J. Mastelić, I. Blažević, I. Kosalec, Chemical composition and antimicrobial activity of volatiles from *Degenia velebica*, European stenoendemic plant of the Brassicaceae family, *Chem. Biodivers.* **7** (2010) 2755–2765, doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201000053>.
 75. I. Blažević, J. Mastelić, Free and bound volatiles of rocket (*Eruca sativa* Mill.), *Flav. Fragr. J.* **23** (2008) 278–285, doi: <https://doi.org/10.1002/fffj.1883>.
 76. J. Mastelić, I. Jerković, I. Blažević, A. Radonić, L. Krstulović, Hydrodistillation – adsorption method for the isolation of water soluble, non-soluble and high volatile compounds from plant materials, *Talanta* **76** (2008) 885–891, doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2008.04.051>.
 77. I. Blažević, G. R. De Nicola, S. Montaut, P. Rollin, M. Ruščić, Glucosinolate profile of Croatian stenoendemic plant *Fibigia triquetra* (DC.) Boiss. ex Prantl. *Croat. Chem. Acta* **88** (2015) 307–314, doi: <https://doi.org/10.5562/cca2687>.
 78. S. Montaut, S. Read, I. Blažević, J.-M. Nuzillard, M. Roje, D. Harakat, P. Rollin, Investigation of the glucosinolates in *Hesperis matronalis* L. and *Hesperis laciniata* All.: Unveiling 4'-O- β -D-apiofuranosylglucomatronalin, *Carbohydr. Res.* **488** (2020) 107898 doi: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2019.107898>.
 79. J. Mastelić, I. Blažević, I. Jerković, Free and bound sulphur containing and other volatile compounds from evergreen candytuft (*Iberis sempervirens* L.), *Croat. Chem. Acta* **79** (2006) 591–597.
 80. S. Montaut, S. Read, I. Blažević, J.-M. Nuzillard, D. Harakat, P. Rollin, Glucosinolates of *Lepidium graminifolium* L. (Brassicaceae) from Croatia, *Nat. Prod. Res.* **33** (2019) 1–5, doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2019.1633643>.
 81. I. Blažević, A. Đulović, A. Maravić, V. Čikeš Čulić, S. Montaut, P. Rollin, Antimicrobial and cytotoxic activities of *Lepidium latifolium* L. hydrodistillate, extract and its major sulfur volatile allyl isothiocyanate, *Chem. Biodivers.* **16** (2019) e1800661, doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201800661>.
 82. I. Blažević, A. Đulović, V. Čikeš Čulić, M. Popović, X. Guillot, F. Burčul, P. Rollin, Microwave-assisted versus conventional isolation of glucosinolate degradation products from *Lunaria annua* L. and their cytotoxic activity, *Biomolecules* **10** (2020)

- 215 1–11, doi: <https://doi.org/10.3390/biom10020215>.
83. I. Blažević, T. Maleš, M. Ruščić, Glucosinolates of *Lunaria annua* (L.): thermal, enzymatic and chemical degradation, *Chem. Nat. Compd.* **49** (2014) 1154–1157.
84. I. Blažević, A. Đulović, F. Burčul, M. Popović, S. Montaut, T. Bilušić, I. Vrca, J. Markić, I. Ljubenković, M. Ruščić, P. Rollin, Stability and bioaccessibility during *ex vivo* digestion of glucoraphenin and glucoraphasatin from *Matthiola incana* (L.) R. Br., *J. Food Comp. Analysis* **90** (2020) 103483, doi: <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103483>.
85. I. Blažević, A. Radonić, J. Mastelić, M. Zekić, M. Skočibušić, A. Maravić, Hedge Mustard (*Sisymbrium officinale*): Chemical diversity of volatiles and their antimicrobial activity, *Chem. Biodivers.* **7** (2010) 2023–2034, doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.200900234>.
86. F. Burčul, I. Generalić Mekinić, M. Radan, P. Rollin, I. Blažević, Isothiocyanates: cholinesterase inhibiting, antioxidant, and anti-inflammatory activity, *J. Enzyme. Inhib. Med. Chem.* **33** (2018) 577–582, doi: <https://doi.org/10.1080/14756366.2018.1442832>.

SUMMARY

Contribution to the Research of Glucosinolates (2005–2020): Structural Diversity, Degradation, and Biological Potential

Ivica Blažević

This review paper presents a contribution to the research of glucosinolates over the period 2005–2020, which was obtained during work at the Faculty of Chemical Technology, University of Split. After review of the comprehensive documentation, it was determined that a significant number of proposed structures lack important structural information that would be provided by NMR and MS spectroscopy, and today the number of glucosinolates is still variable. In the recent study of *Hesperis* genus, 4-*O*-*D*-apiosylglucomatralin was identified, which gives the total number of glucosinolates today ranging from 89 to 136 structures. In order to identify the sources of specific glucosinolates that could act as precursors of biologically active isothiocyanates, the content of glucosinolates in plants was investigated. The study also includes the degradation of glucosinolates (enzymatic, thermal, and chemical), as well as biological activity (cytotoxic, antimicrobial, anti-inflammatory, etc.).

Keywords

Glucosinolates, degradation, isothiocyanates, biological activity

*Department of Organic Chemistry
Faculty of Chemistry and Technology
University of Split
Ruđera Boškovića 35
21 000 Split*

Review
Received June 5, 2020
Accepted July 12, 2020