



I. Blažević*

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

Znanstveni projekt “Biljke kao izvor bioaktivnih sumporovih spojeva te njihova sposobnost hiperakumulacije metala”

Uvod

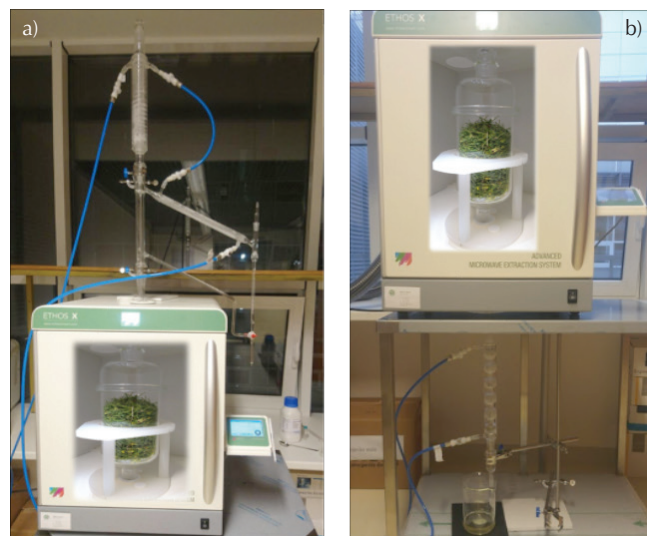
Znanstveni projekt “Biljke kao izvor bioaktivnih sumporovih spojeva te njihova sposobnost hiperakumulacije metala” (BioSMe; engl. “Plants as a source of bioactive sulphur compounds and their ability to hyperaccumulate metals”) istraživački je projekt (IP-2016-06-1316) financiran kroz program “Istraživački projekti” Hrvatske zaklade za znanost u razdoblju od četiri godine (1. ožujka 2017. – 28. veljače 2021.). Istraživanja uključuju biljne metabolite koji sadrže sumporove spojeve raznolike kemijske strukture, biološku aktivnost te hiperakumulaciju metala. U provedbu projekta uključene su četiri institucije od kojih tri djeluju u okviru Sveučilišta u Splitu (Kemijsko-tehnološki fakultet, KTF; Prirodoslovno-matematički fakultet, PMF; Medicinski fakultet, MF) te Klinički bolnički centar Split (KBC Split). S obzirom na interdisciplinarnost projekta, na projektu sudjeluje sedamnaest istraživača iz različitih znanstvenih područja i to: iz područja prirodnih znanosti (izv. prof. dr. sc. Ivica Blažević – voditelj projekta, doc. dr. sc. Franko Burčul, doc. dr. sc. Lea Kukoč Modun, doc. dr. sc. Maša Buljac, dr. sc. Maja Biočić, dr. sc. Marijana Popović, Azra Đulović, mag. chem. s KTF-a; prof. dr. sc. Nada Bezić, izv. prof. dr. sc. Ivica Ljubenković, izv. prof. dr. sc. Mirko Ruščić s PMF-a), iz područja tehničkih znanosti (izv. prof. dr. sc. Sandra Svilović, doc. dr. sc. Mario Nikola Mužek s KTF-a), iz područja biotehničkih znanosti (prof. dr. sc. Tea Bilušić, doc. dr. sc. Ivana Generalić Mekinić, Ivana Vrca mag. ing. chem. ing. s KTF-a) te iz područja biomedicine i zdravstva (izv. prof. dr. sc. Vedrana Čikeš Čulić, MF; doc. dr. sc. Joško Markić, MF i KBC Split) (slika 1). Kao konzultant na projektu sudjeluje i prof. emerit. Patrick Rollin s Instituta

organske kemije i analitike, Sveučilišta u Orléansu (Francuska). Ovim projektom omogućeno je zapošljavanje jedne doktorandice (I. Vrca) i jedne poslijedoktorandice (M. Popović).

Sredstvima HRZZ-a nabavljen je uređaj za ekstrakciju primjenom napredne tehnologije mikrovalova kao moderan pristup izolaciji hlapljivih i nehlapljivih spojeva (slika 2). Upotrebom mikrovalova za ekstrakciju izbjegavaju se organska otapala te je isti pravi primjer “zelene tehnologije”.



Slika 1 – Voditelj i dio suradnika na projektu HRZZ IP-2016-06-1316; slijeva nadesno, prvi red: Franko Burčul, Mario Nikola Mužek, Ivica Blažević i Ivica Ljubenković; drugi red: Maja Biočić, Ivana Vrca, Marijana Popović, Ivana Generalić Mekinić, Maša Buljac, Sandra Svilović, Nada Bezić, Vedrana Čikeš Čulić i Azra Đulović



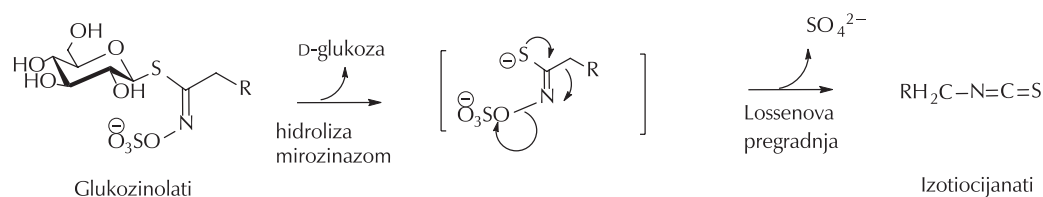
Slika 2 – Uređaj za izolaciju potpomognutu mikrovalovima: a) destilacija; b) ekstrakcija (hidrodifuzija i gravitacija)

U okviru projekta izrađuju se dva doktorata, dok je do sada izrađeno pedeset i sedam diplomskih i završnih radova, čime je omogućeno obrazovanje većeg broja mladih znanstvenika i studenata. Također se očekuje objavljivanje većeg broja znanstvenih radova (trenutačno je objavljeno dvanaest radova) u prestižnim časopisima prve i druge kvartile, čime se znatno doprinosi razvoju i modernizaciji znanosti u Hrvatskoj iz navedenih znanstvenih područja.

Pregled istraživanja na projektu

Sumporovi spojevi pronađeni su u 43 biljne porodice i 173 roda, i to Amaryllidaceae, Brassicaceae, Liliaceae, Capparaceae, Caricaceae, Rutaceae, Resedaceae, Phytolaccaceae, Solanaceae i Poaceae. Osim što predstavljaju kemotaksonomsku značajku određenih biljnih porodica, pripisana su im i važna biološka svojstva, i to antioksidacijska, antitumorska, antihiperlipidemijska, antibakterijska, neurozaštitna i imunomodulacijska, kao i proa-

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



Slika 3 – Shema razgradnje glukoziolata



Slika 4 – Dio istraživanja (sabiranje biljnog materijala, izolacija sumporovih spojeva, kromatografske analize, hiperakumulacija i analiza metala) koji provode istraživači zaposleni na Kemijsko-tehnološkom fakultetu

poptotska aktivnost. Tako se glukoziolati (tiosaharidne molekule) pojavljuju kao kemijske značajke u botaničkom redu Brassicales, od kojih je porodica Brassicaceae daleko najvažnija (350 rodova, oko 3200 vrsta). Mnoge od tih biljaka su u agronomskom i nutritivnom pogledu iznimno važne kulture (kupus, brokula, cvjetača, rotkva, hren, gorušica, uljana repica). Neprekidno zanimanje za glukoziolate, bilo zbog štetnih ili korisnih učinaka na ljudski organizam, potaknulo je programe nekoliko laboratorija u svijetu koji su usmjereni kvalitativnom i kvantitativnom određivanju sastava glukoziolata komercijalnih biljaka. Jedan od ciljeva istraživanja u okviru projekta predstavljaju kvalitativno i kvantitativno određivanje sastava glukoziolata u slabo istraženim i prethodno neistraženim samoniklim vrstama (endemskim i dr.) iz reda Brassicales. Sastav, raspodjela i sadržaj glukoziolata ovisi o vrsti biljke, varijetetu unutar iste vrste, biljnom tkivu (sjeme, korijen, stabljika, list, cvijet) i razvojnom statusu tkiva. Poseban naglasak dan je na određivanje potencijalnih izvora glukoziolata. Identifikacija glukoziolata provodi se preko njihovih razgradnih produkata (izotiocijanati, nitrili, tiocijanati, epitionitrili i oksazolidintioni) primjenom GC-MS tehnike, izravnom analizom nepromijenjenih glukoziolata ili odgovarajućih desulfo oblika s HPLC-DAD-MS/MS tehnikom i/ili NMR spektrometrijom.

Povezani s atipičnom endogenom glukohidrolazom-mirozinazom (E.C.3.2.1.147) djeluju kao bioprekursori biološki aktivnim izotiocijanatima (slika 3) te im je, u posljednjih 20 godina, posvećena posebna pozornost zbog korisnih učinaka na zdravlje.

Stoga je jedan od ciljeva projekta i izolacija hlapljivih spojeva primjenom konvencionalnih metoda, koja uključuje ekstrakciju CH_2Cl_2 nakon hidrolize mirozinazom u trajanju od 24 sata, hidrodestilaciju u modificiranoj aparaturi po Clevengeru, kao i mikrovalnu destilaciju te hidrodifuziju i gravitaciju u mikrovalnoj pećnici (slike 2 i 4). Osim izolacije, u okviru projekta provodi se i sinteza čistih izotiocijanata. Tiosulfinati i tiosulfonati su druga klasa sumporovih spojeva čiji su hlapljivi spojevi također prepoznati po naznačenim biološkim svojstvima. S obzirom na navedeno, jedan od važnih ciljeva projekta predstavlja i ispitivanje biološkog potencijala ekstrakata obogaćenih sumporovim spojevima te čistih spojeva i to citotoksičnog djelovanja (MTT test), antimikrobne aktivnosti (određivanjem zone inhibicije disk-difuzijom i minimalne inhibitorne koncentracije), antioksidacijske aktivnosti (primjenom DPPH, FRAP, ORAC, Rancimat i dr. metoda) i dr. Rezultati tih istraživanja omogućit će: a) razumijevanje odnosa između strukture isparljivih sumporovih spojeva i ispitane biološke aktivnosti (engl. *structure-activity relationship*, SAR) i b) razumije-

BioSMe Istraživački projekt

Naslovnica O BioSMe Istraživački tim Istraživanja/Aktivnosti Galerija

Novosti

Projekt BioSMe "Biljke kao izvor bioaktivnih sumporovih spojeva te njihova sposobnost hiperakumulacije metala" je financiran od strane Hrvatske zaklade za znanost pod brojem IP-2016-06-1316.

CILJEVI ISTRAŽIVAČKOG PROJEKTA:

- pronalazak biljaka koje su dobar izvor organskih sumporovih spojeva (posebno glukozinolata, izotiocijanata, tiosulfina, disulfida i dr.) korištenjem različitih metoda izolacije;
- sinteza sumporovih spojeva (posebno izotiocijanata) pronalazanjem najbolje metodologije s najvišim iskorištenjem za ciljanu strukturu;
- daljnje istraživanje raznolikosti biološkog potencijala ekstrakata obogaćenih organskim sumporovim spojevima te čistih spojeva, kao i odnos njihove strukture i aktivnosti;
- istraživanje stabilnosti i biodostupnosti odabranih ekstrakata obogaćenih sumporovim spojevima, kao i čistih spojeva (nepromijenjeni GLI, ITCovi i dr.) u uvjetima simuliranog probavnog procesa korištenjem ljudskih probavnih enzima i crijevne mikroflore;
- identifikiranje biljaka kao potencijalnih hiperakumulatora (ne)metala (posebno Se, Ni, Pb, itd.) te razumijevanje mehanizama u njihovoj biosintezi.

Voditelj projekta i glavni istraživač (PI): **Izv. prof. dr. sc. Ivica Blažević**
Email: blazevic@ktf-split.hr

BioSMe | Istraživački projekt/Research Project
Izv. prof. dr. sc. Ivica Blažević (PI)
Ruđara Boškovića 35
21 000 Split, Hrvatska
biosme2017@gmail.com

© 2017 by Maky. Proudly created with Wix.com

0 0 0 3 2 3 7

Webmaster Login

Slika 5 – Naslovnica službene mrežne stranice projekta "BioSMe" (<https://biosme.wixsite.com/biosme>)

vanje mehanizama odgovornih za ciljane biološke aktivnosti, što je osnova za primjenu daljnjih znanstvenih studija.

Korisni biološki učinci biljaka koje sadrže sumporove derivate očituju se njihovom svakodnevnom upotrebom u prehrani. S ciljem razumijevanja njihova utjecaja na zdravlje čovjeka, u okviru projekta provodi se i ispitivanje metabolizma sumporovih spojeva. Podatci o stabilnosti u želučanoj i crijevnoj fazi, biodostupnost i bioraspoloživost predstavljaju ključni faktor koji definira fiziološki učinkovitu dozu isparljivih sumporovih spojeva. Stoga je potrebno procijeniti stabilnost i biodostupnost odabranih sumporovih spojeva u uvjetima simuliranog probavnog procesa uporabom humanih probavnih enzima želuca i ljudske crijevne mikroflore nakon simuliranog dvofaznog probavnog procesa.

Do danas je poznato preko 500 biljnih vrsta koje hiperakumuliraju metale, od kojih je najveći broj vrsta iz Brassicaceae porodice. Hiperakumulacija biljaka je zadobila veliku pozornost zbog uočene sposobnosti biljaka koje rastu na tlima bogatim metalima da akumuliraju teške metale u koncentracijama nekoliko stotina puta višim od ostalih biljaka. Cilj istraživanja vrsta koje hiperakumuliraju (ne)metale je: a) rasvjetljavanje fizioloških i molekularnih mehanizama na kojima se temelji sposobnost hiperakumulacije, b) otkrivanje funkcije prilagodbe koje se događaju uslijed hiperakumulacije u biljkama i c) istraživanje mogućnosti njihove upotrebe kao alata za uklanjanje metala iz kontaminiranog ili prirodno metalima obogaćenog tla.

Na mrežnoj stranici projekta istraživači aktivno objavljuju sve aktivnosti vezane za projekt, te tako nastoje približiti dobivene rezultate široj javnosti (slika 5).

Zaključak

Istraživanje glukozinolata i drugih biljaka koje sadrže biološki aktivne sumporove spojeve može potaknuti razvoj novih hortikulturalnih usjeva. Nadalje, dobiveni rezultati potaknut će daljnja istraživanja različitih tehnika enkapsulacije/imobilizacije za odbrane biološki aktivne tvari, s ciljem razvoja sustava produženog/kontroliranog dostavljanja, kao i dobivanja nove funkcionalne hrane/pića i proizvoda dodane vrijednosti. Unatoč napretku koji je postignut posljednjih godina, složenost hiperakumulacije daleko je od potpunog razumijevanja i ta začuđujuća sposobnost i dalje čeka precizno znanstveno objašnjenje. Vrste koje akumuliraju metale mogu se upotrebljavati za fitoremedijaciju (uklanjanje zagađivača iz tla) ili fitorudarenje (uzgoj biljaka za žetvu metala). U konačnici, kako su mnogi metali koji se hiperakumuliraju i esencijalni nutrijenti, obogaćivanje hrane i fitoremedijacija mogu se smatrati dvjema stranama istog novčića, čime je naglašena važnost tog dijela istraživanja.

ZAHVALA

Ovaj je rad financirala Hrvatska zaklada za znanost projektom IP-2016-06-1316.

