

Sastav aminokiselina u zeleni kičice (Centaurii herba) i zeleni stolisnika (Millefolii herba)

Petlevski, Roberta; Hadžija, Mirko; Slijepčević, Milivoj; Juretić, Dubravka

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2002, 58, 119 - 125**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:599955>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-18**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Sastav aminokiselina u zeleni kičice (*Centaurii herba*) i zeleni stolisnika (*Millefolii herba*)

¹ROBERTA PETLEVSKI, ²MIRKO HADŽIJA, ²MILIVOJ SLIJEPCHEVIĆ, ¹DUBRAVKA JURETIĆ

¹Farmaceutsko-biokemijski fakultet Sveučilišta u Zagrebu,
Zavod za medicinsku-biokemiju i hematologiju, 10 000 Zagreb,

²Institut »Ruđer Bošković«, Zavod za molekularnu medicinu, 10 000 Zagreb

Amino acids in Lesser centaury (*Centaurii herba*) and Yarrow (*Millefolii herba*)

S u m m a r y – In the ethanolic extract of the Lesser centaury – *Centaurii herba* (*Centaurium erythraea* Rafn., *Gentianaceae*) following amino acids were identified: Lysine (Lys), Glutamine (Gln), Serine (Ser), Threonine (Thr), Valine (Val) and Leucine (Leu). In the ethanolic extract of the Yarrow-Millefolii herba (*Achillea millefolium* L., *Asteraceae*) following amino acids were identified: Glutamine (Gln), Glutamic acid (Glu), Serine (Ser), Threonine (Thr), Proline (Pro), Tyrosine (Tyr), Valine (Val), Phenylalanine (Phe) and Leucine (Leu).

Investigation of the composition amino acids was carried with thin layer chromatography method (TLC). R_f values of the identified amino acid were compared with the R_f values of amino acids in the standard solutions.

(¹Department of Medical Biochemistry and Haematology, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Croatia and ²Department of Molecular medicine, Institute »Rugjer Bošković«, Zagreb, Croatia).

UVOD

Kičica (*Centaurium erythraea* Rafn. *Gentianaceae*) (*Slika 1.*)

Botanički podaci:

Kičica je jednogodišnja ili dvogodišnja biljka. Formira fino, nježno korijenje koje se plitko ukorijenjuje. Stabljika je četverouglasta, u gornjem dijelu obilno razgranjena. Pri dnu formira rozetu krupnih, ovalnih listova, dok su vršni listovi užii malo ušiljeni. Ružičasti se cvjetovi razvijaju u cvat pri vrhu stabljike. Raste u gotovo cijeloj Evropi, sjevernoj Africi te zapadnom dijelu Azije (1a).

Kemijski sastav:

U zeleni kičice dokazane su gorke tvari (centapikrin, svertiamarin, sverozid gentiopikrozid). Droga sadrži 0.4% flavonoida, metoksiliranih derivata ksantona npr. metilbelidifolin, triterpene i sterole.



Slika 1.: Zeleni kičice (*Centaurii herba*)

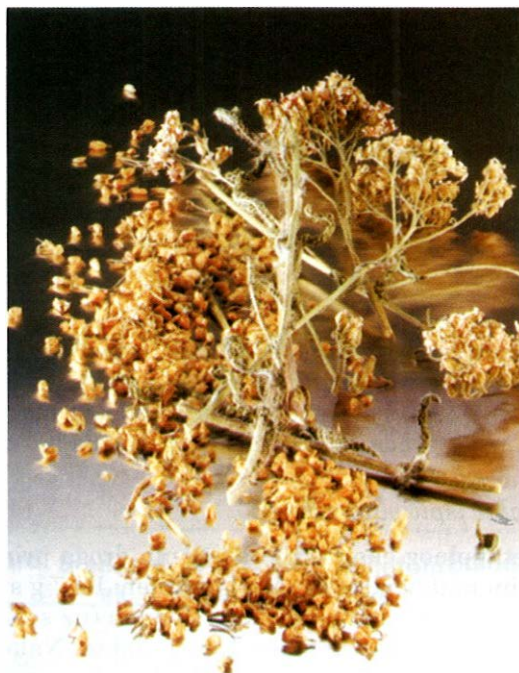
Djelovanje i primjena:

Zbog sadržaja gorkih tvari rabi se za stimulaciju apetita i sekreciju želučanog soka (kronična dispeptična stanja i ahilija). U narodnoj medicini upotrebljava se kao roborans i tonik (2a). U novije vrijeme na životinjskom modelu dokazano je da kičica ima protuupalni učinak (zbog visokog sadržaja fitosterola), a opisan je i njezin antioksidativni učinak te povoljno djelovanje pri povišenoj tjelesnoj temperaturi. Za taj pozitivan učinak odgovorne su polarne supstancije čiji identitet još nije u potpunosti poznat (3).

Stolisnik (*Achillea millefolium* L., Asteraceae) (Slika 2.)

Botanički podaci:

Stolisnik je višegodišnja biljka. Stabljika izraste iz vodoravno položenog podanka. Listovi su višestruko perasto razdijeljeni. Na vrhu se stabljike nalaze u gustim nakupinama sitne glavice jezičastih, bijelih ili ružičastih cvjetova. Stolisnik raste gotovo po cijeloj Europi, u velikom dijelu Azije, u Sjevernoj Americi, Novom Zelandu i južnoj Australiji (1b).



Slika 2.: Zelen stolisnika (*Millefolii herba*)

Kemijski sastav:

Sadrži 0.2–1.0 % eteričnog ulja, koje može, ali i ne mora sadržavati kamazulen (ovisno o broju kromosoma – samo tetraploidne biljke sadrže kamazulen, a većina ostalih kariotipova ne). Kod biljaka koje ne sadrže kamazulen, sastav eteričnog ulja je sljedeći: monoterpeni (linalol), seskviterpeni, kamfor (18%), sabinen (12%), 1,8-cineol (10%), izoartemisia – keton (9%) i α – pinen (9%). Eterično ulje koje sadrži kamazulen ima sljedeći sastav: monoterpeni, seskviterpeni, kamazulen (25%), β -pinen (23%), kariofilen (10%) i α -pinen (5%). Kao jedan od proazulena identificiran je ahilicin (8-acetoksi-artabsin). Ostale prisutne tvari: guaianolidi 2,3-dehidrodezacetoksi – i 8-dezacetil-matricin i leukodin, 3-oksaguaianolidi 8-acetil i 8-angeloilegoid, gernakranolidi milefin, dihidro partenolidi, balhanolid-acetat, flavonoidi apigenin i glikozil-flavoni (svertizin, vicenin-2 i 3-), fenolna kiselina i steroli, *cis*- i *trans*-matrikaria ester.

Djelovanje i primjena:

Zelen stolisnika upotrebljava se kao antiflogistik, spazmolitik, karminativ i kolagog ponajviše zbog sadržaja kamazulena i flavonoida. Upotrebljava se i za poboljšanje apetita, a vodeni i eterski ekstrakti posjeduju antimikrob-

ni učinak. U narodnoj medicini upotrebljava se kao hemostiptik – pri krvarenju zbog hemeroida, menstrualnih poteškoća i slično (2b). Upotrebu stolisnika u zaraštavanju rana te spazmolitički i antiflogistički učinak opisali su Orth i suradnici, 1994. godine (4). U znanstvenoj literaturi opisan je hipoglikemijski učinak vrste *Achillea fragrantissima* (5).

MATERIJALI

A) Biljni materijal

Materijal za ispitivanje sastojao se od sasušene i usitnjene zeleni kičice (*Centaurei herba*) i zeleni stolisnika (*Millefolii herba*), sabranih u srpnju 1999. godine u okolici Zagreba, a identifikacija biljnog materijala provedena je ispitivanjem vanjske građe skupljenih uzoraka (6a,b).

B) Etanolni ekstrakti ispitivanih droga

Za pripremu etanolnog ekstrakta navedenih droga primjenjena je metoda maceracije. Biljni materijal je osušen i usitnjen. Po 7 g svake droge potopljeno je u 100 mL 60% etanola i ostavljeno 10 dana (uz svakodnevno mućkanje) u tamnoj boci na sobnoj temperaturi i tlaku. Nakon 10 dana tako dobiven ekstrakt je filtriran. Bistri filtrat služio je kao uzorak za kromatografsko ispitivanje.

C) Standardi aminokiselina

Standard aminokiselina 1. sadrži aminokiseline: histidin (His), glutamin (Gln), glicin (Gly), treonin (Thr), alanin (Ala), valin (Val), leucin (Leu).

Standard aminokiselina 2. sadrži aminokiseline: lizin (Lys), serin (Ser), glutaminsku kiselinu (Glu), tirozin (Tyr) i fenilalanin (Phe).

Standard aminokiselina 3. sadrži aminokiseline: cistein (Cis), lizin (Lys), treonin (Thr), prolin (Pro), fenilalanin (Phe).

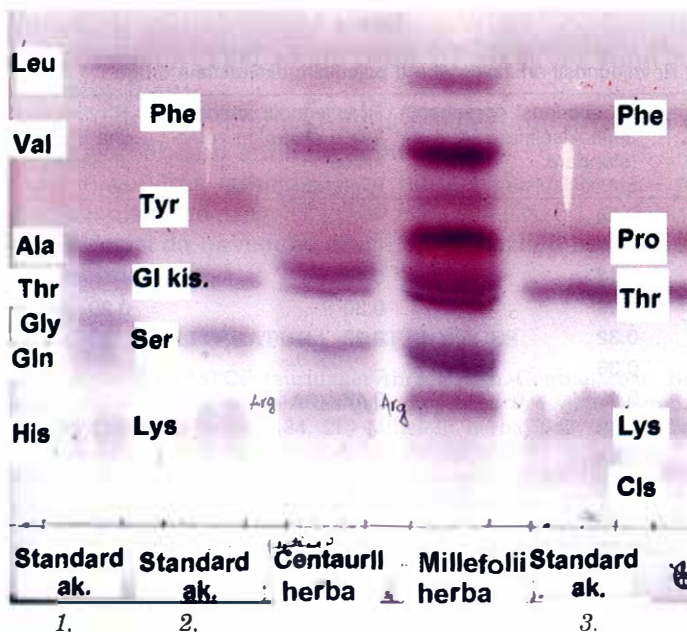
Standardi 1., 2. i 3. pripremljeni su tako da je po 10 µg svake aminokiseline odvagano i otopljeno u 100 mL destilirane vode. Tako dobivene radne otopine razrijeđene su neposredno prije primjene u omjeru 1:2 s destiliranom vodom.

D) 0.5%-tna otopina ninhidrina

0.5 g ninhidrina p.a. je odvagano i otopljeno u smjesi jednakih dijelova acetona i propanola.

METODE

Tankoslojnu kromatografiju (KTS) upotrijebili smo kao test za kvalitativno dokazivanje sastava aminokiselina u ispitivanim drogama.



Slika 3.: Kromatogram aminokiselina zeleni kičice (*Centaurii herba*) i zeleni stolisnika (*Millefolii herba*).

Kao stacionarna faza rabljene su staklene ploče s tankim slojem celuloze (Merck), kao mobilna faza upotrijebljena je smjesa otapala: n-butanol : acetone : octena kiselina : voda (35 : 35 : 10 : 20 V/V/V/V). Na staklenu ploču nanoseno je po 2 μ L svake otopine radnog standarda i 10 μ L etanolnog ekstrakta svake ispitivane droge.

Nakon završetka separacije aminokiselina na KTS, vizualizacija razdvojenih aminokiselina provedena je s otopinom ninhidrina i uspoređena sa standardima koji sadrže mješavinu aminokiselina. Nakon prskanja kromatograma otopinom ninhidrina ploča kromatograma zagrijana je na 80 °C tijekom 10 minuta nakon čega se pojavljuju ružičasto obojene vrpce. U reakciji aminokiselina s ninhidrinom bitno je naglasiti da obojeni produkt sadrži samo atom α -dušika iz originalne molekule aminokiselina (7). Slijed reakcija je niže naveden:

- ninhidrin + aminokiselina \rightarrow hidrindantin + aldehid + CO_2 + NH_3
- ninhidrin + NH_3 + hidrindatin \rightarrow obojeni produkt (ružičasta boja).

REZULTATI I RASPRAVA

Etanolni ekstrakt zeleni kičice (*Centaurii herba*) i zeleni stolisnika (*Millefolii herba*) ispitan je na sadržaj pojedinih aminokiselina tankoslojnom kromatografijom. Nakon vizualizacije kromatograma otopinom ninhidrina dobivene su ružičasto obojene vrpce aminokiselina.

Tablica 1.
R_F vrijednosti poredbenih aminokiselina (standard aminokiselina)
i R_F vrijednosti aminokiselina u pojedinim ekstraktima droga

Aminokiselina	R _F vrijednost poredbenih aminokiselina (standard aminokiselina)	R _F vrijednost aminokiselina u ekstraktu zeleni kičice (<i>Centaurii herba</i>)	R _F vrijednost aminokiselina u ekstraktu zeleni stolisnika (<i>Millefolii herba</i>)
Cistein (Cis)	0.08	—	—
Histidin (His)	0.15	—	—
Lizin (Lys)	0.17	0.17	—
Glutamin (Gln)	0.29	0.30	0.29
Serin (Ser)	0.32	0.33	0.33
Glicin (Gly)	0.36	—	—
Treonin (Thr)	0.42	0.42	0.40
Gl.kiselina (Glu)	0.43	—	0.43
Alanin (Ala)	0.48	—	—
Prolin (Pro)	0.51	—	0.51
Tirozin (Tyr)	0.56	—	0.57
Valin (Val)	0.67	0.67	0.64
Fenilalanin (Phe)	0.72	—	0.72
Leucin (Leu)	0.80	0.79	0.78

Odjeljivanjem mobilnom fazom n-butanol:aceton:octena kiselina:voda (35:35:10:20 V/V/V/V) u etanolnom ekstraktu zeleni kičice (*Centaurii herba*) uočeno je 6 vrpci, a u etanolnom ekstraktu zeleni stolisnika (*Millefolii herba*) 9 vrpci (Slika 3.). Pojedine R_F vrijednosti sastavnica ekstrakta i R_F vrijednosti poredbenih aminokiselina prikazane su u Tablici 1.

Usporedbom R_F vrijednosti sastavnica ekstrakta s R_F vrijednostima poredbenih supstancija u zeleni kičice (*Centaurii herba*) vidljivo je da sadrži sljedeće aminokiseline: lizin (Lys), glutamin (Gln), serin (Ser), treonin (Tre), valin (Val) i leucin (Leu). Usporedbom R_F vrijednosti sastavnica ekstrakta s R_F vrijednostima poredbenih supstancija u zeleni stolisnika (*Millefolii herba*) kako se vidi iz Slike 3. i Tablice 1. prisutne su slijedom odozdo prema gore sljedeće aminokiseline: glutamin (Gln), serin (Ser), treonin (Thr), glutaminska kiselina (Glu), prolin (Pro), tirozin (Tyr), valin (Val), fenilalanin (Phe) i leucin (Leu).

Dobiveni rezultati pokazuju da se u zeleni različitih biljaka nalaze različite aminokiseline.

ZAKLJUČAK

Metodom tankoslojne kromatografije dokazano je da etanolni ekstrakt zeleni kičice (*Centaurii herba*) sadrži sljedeće aminokiseline: lizin (Lys), glutamin (Gln), serin (Ser), treonin (Tre), valin (Val) i leucin (Leu), a u etanolnom ekstraktu zeleni stolisnika (*Millefolii herba*) tom je metodom dokazana

prisutnost slijedećih aminokiselina: glutamin (Gln), glutaminska kiselina (Glu), serin (Ser), treonin (Thr), prolin (Pro), tirozin (Tyr), valin (Val), fenilalanin (Phe) i leucin (Leu).

R_f vrijednosti dobivenih aminokiselina u pojedinim drogama odgovaraju R_f vrijednostima poredbenih aminokiselina

Dakle, iako je količina suhog biljnog materijala u početku pokusa bila identična za obje ispitivane droge (7 g/100 mL 60% EtOH), iz dobivenih se rezultata može zaključiti da navedene droge imaju različit sastav i količinu pojedinih aminokiselina.

LITERATURA – REFERENCES

1. J. Gelenčir et J. Gelenčir, 1a) *Centaurium erythraea* Rafn.-Gentianaceae. 19, 1b) *Achillea millefolium* L.-Asteraceae. 100. In: Atlas ljekovitog bilja, Prosvjeta Zagreb, 1991.
2. M. Wichtl, 2a) *Centaurei herba*. 134, 2b) *Millefolii herba*. 342. In: Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals, Medpharm Scientific Publishers Stuttgart, 1994.
3. O. Schimmer et H. Mauthner; *Zeitschrift für Phytotherapie*. 15, 1994; 297.
4. M. Orth, T. Berg et FC Czygan, *Zeitschrift für Phytotherapie*. 15, 1994; 176
5. Z. Yaniv, A. Dafni, J. Friedman et D. Palevitch, *J Etnopharmacol*: 19, 1987; 145
6. a) T. G. Tutin, N. A. Burges, A. C. Chater, J. R. Edmondson V. H. Heywood, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters, D. A. Webb Eds., *Flora Europea*, Volume 1, 2nd ed., Cambridge University Press, Cambridge 1993; 73.
- 6 b) T. G. Tutin, N. A. Burges, V. H. Heywood, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters, D. A. Webb Eds., *Flora Europea*, Volume 4, Cambridge University Press, Cambridge 1976; 52.
7. E. Vivian, M. D. Shih, Thin-layer chromatography. In: *Laboratory Techniques for the Detection of Hereditary Metabolic Disorders*, CRC Press, 1979; 25.

Primljeno 1. III. 2002.