

Capsella bursa pastoris (L.) Medikus - ispitivanje antimikrobnog djelovanja saponina i flavonoida

Tarle, Đurđica; Dvoržak, Ivanka

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1988, 44, 111 - 116**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:056772>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-09**



Repository / Repozitorij:

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



DIGITALNI AKADEMSKI ARHIVI I REPOZITORIJ

FARMACEUTSKI GLASNIK

GLASILO FARMACEUTSKOG DRUŠTVA HRVATSKE

GOD. XLIV

TRAVANJ

BROJ 4

FAGLAI

Farm. Glas.

YU ISSN 0014-8202

ZNANSTVENI RADOVI

Đurđica Tarle i Ivanka Dvoržak (Zagreb)

Capsella bursa pastoris (L.) Medikus - ispitivanje antimikrobnog djelovanja saponina i flavonoida

(Primljeno 25. 09. 1987.)

UVOD

Capsella bursa pastoris (L.) Medikus ili u narodu poznata kao rusomača ili pastirska torbica (1), najuobičajenija su od četrdesetak različitih pučkih imena za ovu od davnine poznatu ljekovitu biljku. Još su stari Grci i Rimljani poznavali ljekovitu vrijednost rusomače, i to njenih sjemenki, koje su upotrebjavali kao drastik i afrodizijak. Kasnije se nadzemni dio ove biljke, poznat kao *Herba Bursae pastoris*, primjenjivao kao antidiakterik, diuretik i kao hemostatik kod hemoragija pluća, bubrega i, naročito, uterusa (2). Danas, kada su poremećaji krvotoka vrlo rašireni, pripravci ove droge mogli bi poslužiti u njihovu liječenju bilo da su poremećaji uzrokovani niskim ili visokim krvnim tlakom, jer droga djeluje na centre koji reguliraju sužavanje, odnosno širenje krvnih žila (3,4).

Prema Hageru (4) *Capsella bursa pastoris* (L.) Medikus sadrži 1% holina (ranije zvanog bursin), prolina, acetilholina, tiramina, histamina, diosmina (talište 275—277 °C), treslovina, eterskog ulja, smola, vitamina C, manita, sorbita, adonita, 0,03% inozita, a od kiselina oksalnu, vinsku, jabučnu, fumarnu, limunsку, protokatehu, sulfanilnu i p-aminobenzosulfonsku u obliku kalijskih, kalcijskih i natrijskih soli. Nadalje ova droga sadrži saponine, četiri fluoresciraajuća alkaloida i tri flavonoida, rutin, luteolin-7-rutinozid i luteolin-7-galaktozid (talište 228—230 °C).

U sjemenu rusomače ima 28% masnog ulja, koje kao glavne komponente sadrži linolnu i linolensku kiselinu. Nadalje je u sjemenci dokazana nazočnost malih količina supstancija kardenolidne strukture.

Kako je metanolni ekstrakt droge *Herba Bursae pastoris* u našim preliminarnim ispitivanjima pokazao pozitivnu antimikrobnu aktivnost na mikroorganizme *Escherichia coli* ATCC 10536 i *Staphylococcus aureus* ATCC 6538—P smatrali smo korisnim detaljnije ispitati antimikrobro djejanje ove droge. Naše ispitivanje usmjerili smo na saponine i flavonoide u okviru antimikrobnog istraživanja višeg bilja koje se provodi u Zavodu za farmakognosiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu.

EKSPERIMENTALNI DIO

Ispitivani materijal

Uzorak droge *Herba Bursae pastoris* upotrijebljen za ispitivanje nabavljen je iz prometa 1984. god. Ekstrakt je pripremljen metodom perkolacije po Ph. Jug. IV.

Ispitivanje nazočnosti supstancija — saponina i flavonoida

Uzorak droge ispitivan je na nazočnost saponina i flavonoida TS-kromatografijom. Ekstrakt je nanesen na ploču sa silikagelom G prema Stahlu. Za razdvajanje saponina upotrebljen je sistem otapala kloroform-metanol-voda 6,5 : 3,5 : 1,0 (5), a za detekciju supstancija klorsulfonska kiselina. Flavonoidi su razdvojeni sistemom otapala etilacetat-mravlja kiselina-voda 80 : 10 : 10. Detekcija supstancija provedena je reagensom za flavonoide (borna kiselina-oksalna kiselina 3 : 1). Nakon prskanja ploča je zagrijavana 5 — 10 minuta na 120 °C i promatrana u UV svjetlu od 366 nm (6).

Izolacija saponina i flavonoida

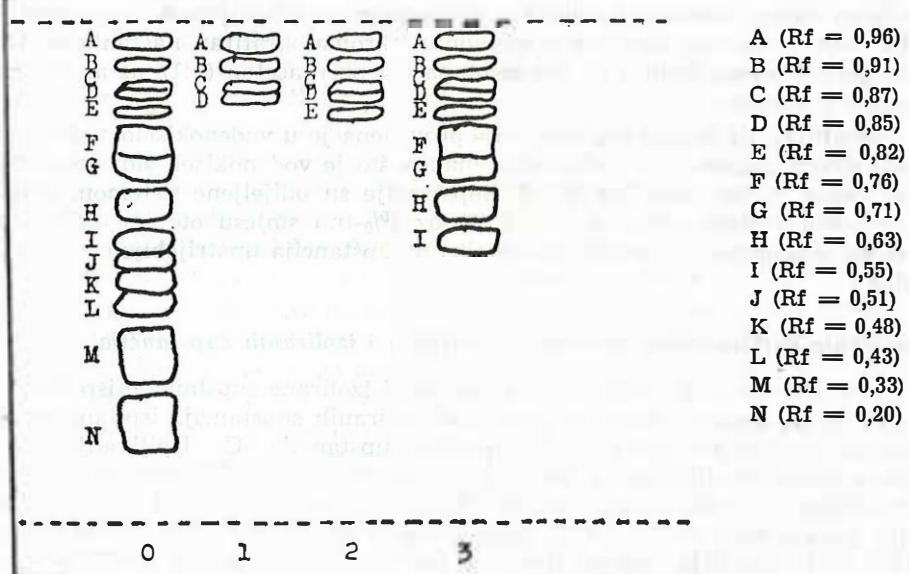
Saponini i flavonoidi izolirani su iz ekstrakta kromatografijom na stupcu. Saponinske supstancije odjeljivane su na stupcu SiO₂ uz sistem otapala kloroform-metanol-H₂O 6,5:3,5:1,0 (5). Dobivene su tri saponinske smjese iz kojih su višekratnim odvajanjem na stupcu SiO₂ ili preparativnom TS-kromatografijom izolirane četiri kromatografski jedinstvene supstancije koje pokazuju izrazito hemolitičko djelovanje (Sl. 1).

Flavonske supstancije izolirane su kromatografijom na stupcu sistemom otapala etilacetat-mravlja kiselina-voda (80:10:10) (6). Kromatografija na tankom sloju nakon odvajanja na stupcu izvedena je uz test supstancije autentični kempferol-3-arabinozid, rutin i viteksin-4-ramnozid. Dobivene su tri kromatografski jedinstvene supstancije i jedna smjesa sastavljena od dviju flavonskih supstancija (sl. 2).

Kisela hidroliza saponina »E«

Saponin »E«, koji je izoliran u najvećoj količini i koji se svojom nazočnošću isticao između ostalih saponinskih supstancija podvrgnut je kiselej hidrolizi. 0,5 g sirovog saponina suspendirano je u 20 ml 3M-HCl, dodano 40 ml benzena te zagrijavano uz povratno hladilo na vodenoj pari tijekom 2 sata.

Slika 1. Kromatografija izoliranih saponinskih frakcija sa stupca SiO_2 na tankom sloju silikagela G po Stahu

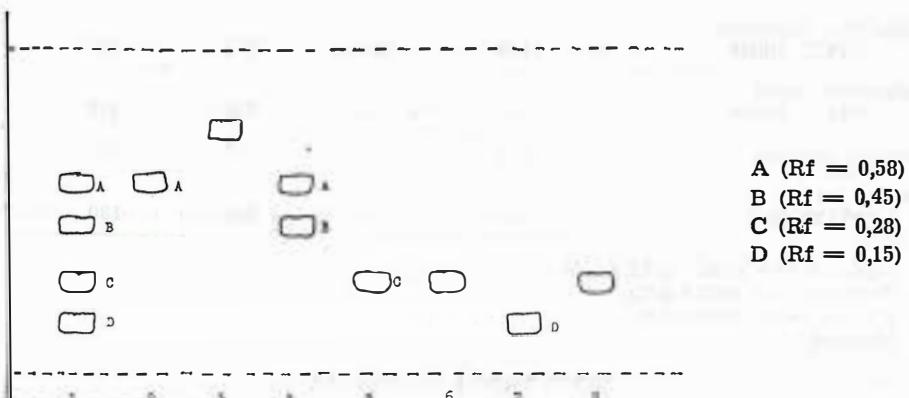


O — metanolni ekstrakt droge

Sistem: kloroform-metanol-voda 6,5:3,5:1,0

Reagens za detekciju: klorsulfonska kiselina

Slika 2. Kromatografija flavonskih supstancija na tankom sloju silikagela G po Stahu



Sistem: etilacetat — mravlja kiselina — voda 80:10:10

Reagens za detekciju: borna kiselina 15 ml i oksalna kiselina 5 ml

1 — metanolni ekstrakt droge

3 — kempferol-3-arabinozid ($R_f = 0,75$)

6 — rutin ($R_f = 0,28$)

8 — viteksin-4-ramnozid ($R_f = 0,28$)

Nakon hlađenja benzenska faza je odstranjena. Vodenokisela faza izmućkana je triput sa po 15 ml kloroforma, kloroformske iscrpine sjedinjene su s benzenskom fazom, osušene od vode s bezvodnim natrij-sulfatom i uparene do suha. Suhu je ostatak otopljen u metanolu i kromatografiran na tankom sloju silikagela G prema Stahlu uz sistem otapala benzen-aceton (9:1), uz autentičnu oleanolnu kiselinu.

Identifikacija šećera saponina »E« provedena je u vodenokiselim sloju pomoći silazne papirne kromatografije, nakon što je vodenokiseli sloj propušten kroz ionski izmjenjivač DOVEX-3. Supstancije su odijeljene sistemom otapala etilacetat-piridin-voda 3,6:1,0:1,5 (7) uz 1% -tnu smjesu otopine galaktoze, glukoze, arabinoze i ramnoze. Za detekciju supstancija upotrijebljen je anilinfatalat.

Ispitivanje antimikrobnе aktivnosti ekstrakta i izoliranih supstancija

Ekstrakt droge *Capsella bursae pastoris* i izolirane supstancije ispitane su s obzirom na antimikrobnu aktivnost. Od izoliranih supstancija ispitane su saponinske supstancije »B« i »E« i flavonska supstancija »C«. Ispitivanja su izvedena metodom difuzije na krutoj hranjivoj podlozi (8). Za ispitivanje su upotrijeljeni ovi mikroorganizmi: *Staphylococcus aureus* ATCC 6538—P, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Escherichia coli* ATCC 10536, *Sarcina lutea* ATCC 9341 i *Candida monosa*. Rezultati ispitivanja iznijeti su u tablici 1.

Tablica 1. Zone inhibicije u mm koje pokazuju supstancije izolirane iz Herba *Bursae pastoris*

Vrsta mikroorganizma	I	II	III	IV
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538—P	130	130	800	145
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	140	145	725	160
<i>Escherichia coli</i> ATCC 10536	—	—	760	170
<i>Candida monosa</i>	150	150	650	185
<i>Sarcina lutea</i> ATCC 9341	—	—	900	180

I Saponin »B« (0,025 g/12,5 ml)

II Saponin »E« (0,024 g/12,8 ml)

III Flavon »C« (0,018 g/9,1 ml)

IV Metanol

REZULTATI I DISKUSIJA

Nazočnost saponina i flavonoida utvrđena je TS-kromatografijom (5).

Na ploči je uočeno nekoliko izrazitih crvenoljubičastih mrlja, koje bi prema obojenju klorsulfonskom kiselinom odgovarale saponinskim supstancijama. To su supstancije »B« ($R_f = 0,91$), »E« ($R_f = 0,82$), »F« ($R_f = 0,76$), »G« ($R_f = 0,71$), »H« ($R_f = 0,63$) i »I« ($R_f = 0,55$) (sl. 1).

Odvajanjem ekstrakta na stupcu SiO_2 dobivene su tri smjese supstancija (sl. 1). Smjesa 1 sadrži supstancije od »A« do »D«, smjesa 2 — supstancije od »A« do »E« i smjesa 3 — supstancije od »A« do »I«. Iz ovih smjesa izolirane su četiri kromatografski jedinstvene supstancije »B« ($R_f = 0,91$), »E« ($R_f = 0,82$), »F« ($R_f = 0,76$) i »H« ($R_f = 0,63$). Sve četiri izolirane supstancije pokazuju izrazitu hemolitičku aktivnost.

Izolirani saponin »E« ($R_f = 0,82$) podvrgnut kiseloj hidrolizi pokazuje na tankom sloju u sistemu otapala benzen-aceton 9:1 četiri mrlje crvenoljubičaste boje od kojih se intenzitetom ističe supstancija Rf vrijednosti 0,77 za koju pretpostavljamo da odgovara aglukonu. Najpolarnija supstancija dobivena prilikom kisele hidrolize $R_f = 0,30$ odgovara autentičnoj oleanolskoj kiselini. Od šećera kod saponina »E« dokazana je nazočnost galaktoze, glukoze i ramnoze.

Od flavonoidnih supstancija dokazane su i izolirane četiri supstancije »A« ($R_f = 0,58$), »B« ($R_f = 0,45$), »C« ($R_f = 0,28$) i »D« ($R_f = 0,15$) od kojih je sa sigurnošću identificirana, uz nama dostupne autentične supstancije, supstancija »C« ($R_f = 0,28$) koja odgovara rutinu.

Kako je u preliminarnim ispitivanjima ekstrakt droge *Capsella bursae pastoris* pokazao pozitivnu antimikrobnu aktivnost na mikroorganizme *Staphylococcus aureus* ATCC 6538—P i *Escherichia coli* ATCC 10536, ispitivanju antimikrobnog učinka podvrgnute su neke od izoliranih supstancija. To su saponinske supstancije »B« ($R_f = 0,91$), »E« ($R_f = 0,82$) i flavonska supstancija »C« ($R_f = 0,28$). Rezultati ispitivanja izneseni su u tablici 1.

Navedene količine izoliranih supstancija nanošene su na ploču na krutu hranjivu podlogu otopljene u metanolu po 0,3 ml.

Iz tablice 1 je vidljivo da izolirani saponini »B« i »E« ne pokazuju antimikrobnu aktivnost, dok izolirani flavonoid »C«, koji odgovara rutinu pokazuje izrazitu antimikrobnu aktivnost. U zaključku, s obzirom na naša ispitivanja, može se reći da droga, odnosno ekstrakt droge Herba Bursae pastoris pokazuje antimikrobnu aktivnost zahvaljujući nazočnosti flavonskih supstancija, što opravdava upotrebu ove droge i njenih pripravaka u terapiji.

(Zavod za farmakognosiju, Farmaceutsko-biokemijski fakultet, Zagreb i Zavod za ispitivanje i kontrolu lijekova SRH, Zagreb).

***Capsella bursa pastoris* (L.) Medikus — investigation of antibiotic effect saponin and flavonoid substances**

By Đ. Tarle and I. Dvoržak

Summary

The herb of shepherd's purse — *Capsella bursa pastoris* (L.) Medikus was investigated in view of saponin and flavonoid substances. Four individual saponins and three flavonoid glycosides were isolated. Some of them were investigated on antibiotic effect. Saponin substances didn't show antibiotic activity, whereas flavonoid glycosides exhibited strong antibiotic effect on *Staphylococcus aureus* ATCC 6538-P, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Escherichia coli* 10536, *Candida monosa* and *Sarcina lutea* ATCC 9341.

(Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb and Institute for the Control of Drugs, Zagreb).

Literatura—References

- (1) B. Šulek, Jugoslavenski imenik bilja, Zagreb, 1879, 342.
- (2) F. Kušan, Ljekovito i drugo korisno bilje, Zagreb 1956, 238.
- (3) R. Willfort, Ljekovito bilje i njegova upotreba, Mladost, Zagreb 1974, 115.
- (4) Hager, Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Band III, Springer Verlag Berlin—Heidelberg—New York 1972, 666.
- (5) T. Kawasaki i K. Miahara, Chem. Pharm. Bull. (Tokyo), **11**, 1546 (1963).
- (6) M. Luckner, Prüfung von Drogen, VEB G. Fischer Verlag, Jena, 1966, 214.
- (7) P. Colombo, D. Corbetta, A. Pitotta, G. Ruffini i A. Sartory, J. Chromatogr. **3**, 343 (1960).
- (8) R. S. Varma i W. L. Nobles, J. Pharm. Sci. **61**, 112 (1972).