

Kvalitativna analiza aminokiselina velevjetnog rošca (Cerastium grandiflorum Waldst. & Kit.) tankoslojnom kromatografijom

Maleš, Željani; Bilušić Vundać, Vjera; Plazibat, Miško

Source / Izvornik: *Farmaceutski glasnik*, 2003, 59, 373 - 379

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:952635>

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](#)



Kvalitativna analiza aminokiselina velevjetnog rošca (*Cerastium grandiflorum* Waldst. & Kit.) tankoslojnom kromatografijom

ŽELJAN MALEŠ¹, VJERA BILUŠIĆ VUNDAČ¹, MIŠKO PLAZIBAT²

¹Zavod za farmaceutsku botaniku Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb i ²Botanički zavod Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Qualitative analysis of amino acids in *Cerastium grandiflorum* Waldst. & Kit. by thin-layer chromatography

S u m m a r y – *Cerastium grandiflorum* Waldst. & Kit. (syn. *Cerastium nodosum* Buschm.) is endemic species of Dinaric Karst which usually grows in rocky places, ranging from montane to subalpine area.

Thin-layer chromatographic analysis of amino acids of aerial parts of *C. grandiflorum* collected in Croatia (Mt. Mosor) showed the presence of 9 amino acids: isoleucine, tryptophan, -aminobutyric acid, proline, alanine, threonine, glutamine, arginine and ornithine. The main amino acids were -aminobutyric acid, threonine, glutamine, arginine and ornithine.

(¹Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia, and ²Department of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia).

UVOD

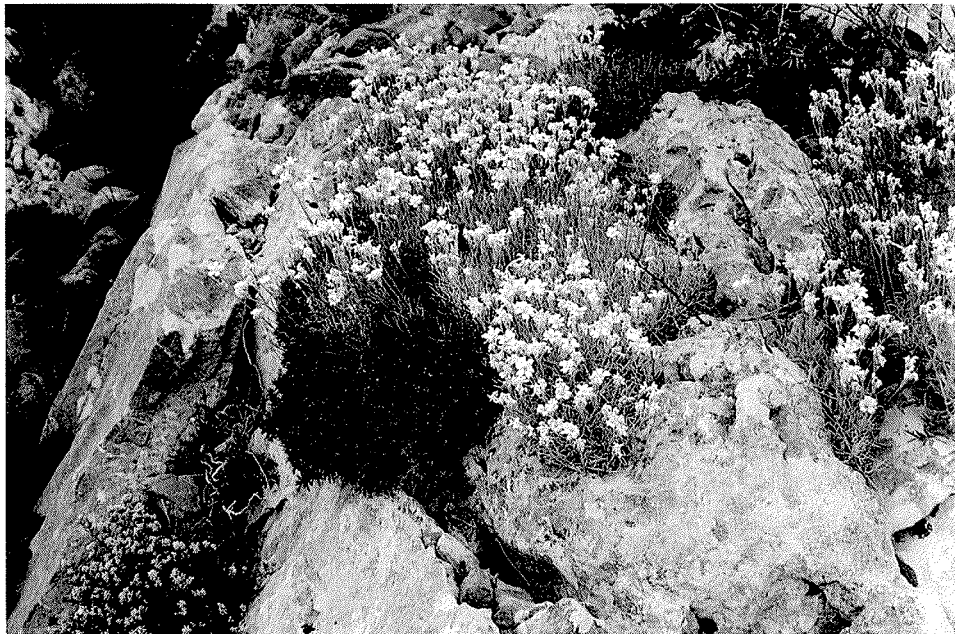
Cerastium grandiflorum Waldst. & Kit. (syn. *Cerastium nodosum* Buschm.) – velevjetni rožac endemična je vrsta Dinarskog područja iz porodice *Caryophyllaceae*, reda *Caryophyllales*, razreda *Magnoliatae* (1-3).

To je višegodišnja, 15–30 (-60) cm visoka, sivo pustenasta biljka koja raste u manjim ili većim rahlim busenima (*Slika 1.*). Listovi su usko linearni, neznatno mesnati, na rubu previnuti, šiljastog vrha. Jednogodišnje cvjetne stabljike su uspravne, nose na sebi više nasuprotnih listova i 7–15 cvjetova koji su pri vrhu skupljeni u sastavljene paštice. Peteljke cvjetova su 1–4 cm dugačke i nisu žljezdaste. Brakteje su jajaste do široko lancetaste, gole, s izrazitim suhokožičastim rubom. Čaška se sastoji od 6–8 mm dugih, gotovo tupih te po obodu kožastih lapova. Vjenčić se sastoji od 5 velikih, bijelih latica koje su gotovo trostruko duže od lapova što latinski pridjev *grandiflorum* u nazivu vrste jasno naglašava. Prašnika ima 10, njihovi filamenti su najčešće goli. Tučak je samo jedan s pet vratova i nadraslom plodnicom koja je bar pri dnu pustenasta. Plod je uspravni tobolac koji je dvostruko duži od čaške, a

otvara se prema natrag svinutim zupcima. Sjemenke su brojne, bubrežastog oblika, na rubu papilozne (1, 2, 4).

Biljka cvate od svibnja do srpnja, a raste u pukotinama stijena, na točili- ma te kamenjarskim pašnjacima, osobito na prisojnim i toplim obroncima, brdskog i pretplaninskog područja, od Slovenije do Albanije (1, 2, 5, 6).

U dostupnoj literaturi nisu pronađeni podaci o ispitivanju kemijskog sas- tava velevjetnog rošča, stoga je cilj ovog rada bio utvrđivanje nazočnosti aminokiselina u nadzemnim dijelovima navedene biljne vrste.



Slika 1. *Cerastium grandiflorum* Waldst. & Kit. – velevjetni rošac

EKSPERIMENTALNI DIO

Biljni materijal

Materijal za istraživanje sastojao se od nadzemnih dijelova velevjetnog rošča – *C. grandiflorum*, skupljenih 17. kolovoza 2002. godine na južnoj strani Mosora, iznad sela Sitna Gornjeg, na oko 800 m nadmorske visine.

1. Identifikacija biljnog materijala

Identitet istraživane biljne vrste izvršen je u Botaničkom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i potvrđen je ispitivanjem vanjske i unutarnje građe skupljenog uzorka.

2. Istraživanje prisutnosti aminokiselina tankoslojnom kromatografijom

Istraživanju je podvrgnut ekstrakt nadzemnih dijelova velevjetnog rošca, koji je pripremljen tako da je 1 g praškasto usitnjenog bilnog materijala ekstrahirano s 10 ml vode 1 sat na vodenoj kupelji uz povratno hladilo. Bistri filtrat, nakon hlađenja, služio je kao otopina za kromatografsko ispitivanje. Kao poredbene supstancije uporabljene su 0,00001%-tne vodene otopine leucina (Leu), lizina (Lys), valina (Val), histidina (His), fenilalanina (Phe), serina (Ser), tirozina (Tyr), treonina (Thr), alanina (Ala), triptofana (Trp), -aminomaslačne kiseline (Gaba), glutamina (Gln), metionina (Met), arginina (Arg), izoleucina (Ile), glicina (Gly), prolina (Pro), ornitina (Orn), asparaginske kiseline (Asp) i asparagina (Asn) (7).

Istraživanje prisutnosti aminokiselina provedeno je na tankom sloju celuloze F (»Merck«, Art. 15036) u tri smjese otapala: n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V) (7-12), n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V) (7-12) i n-butanol-ledena octena kiselina-voda (40:10:10 V/V/V) (13).

Detekcija odijeljenih aminokiselina provedena je nakon prskanja kromatograma ninhidrin reagensom i grijanja 5-10 minuta na 100 °C (14).

REZULTATI I RASPRAVA

Vodeni ekstrakt nadzemnih dijelova velevjetnog rošca ispitan je na prisutnost aminokiselina tankoslojnom kromatografijom.

Nakon prskanja kromatograma ninhidrin reagensom i grijanja na 100 °C u ekstraktu su uočene žutosmeđe i ljubičaste mrlje.

Odjeljivanjem pokretnom fazom n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V) u ispitivanom vodenom ekstraktu uočava se 9 mrlja, koje odgovaraju aminokiselinama (*Slika 2.*). Mrlje 3, 6, 7, 8 i 9 bile su

Tablica 1.

R_F vrijednosti odijeljenih aminokiselina na tankom sloju celuloze F

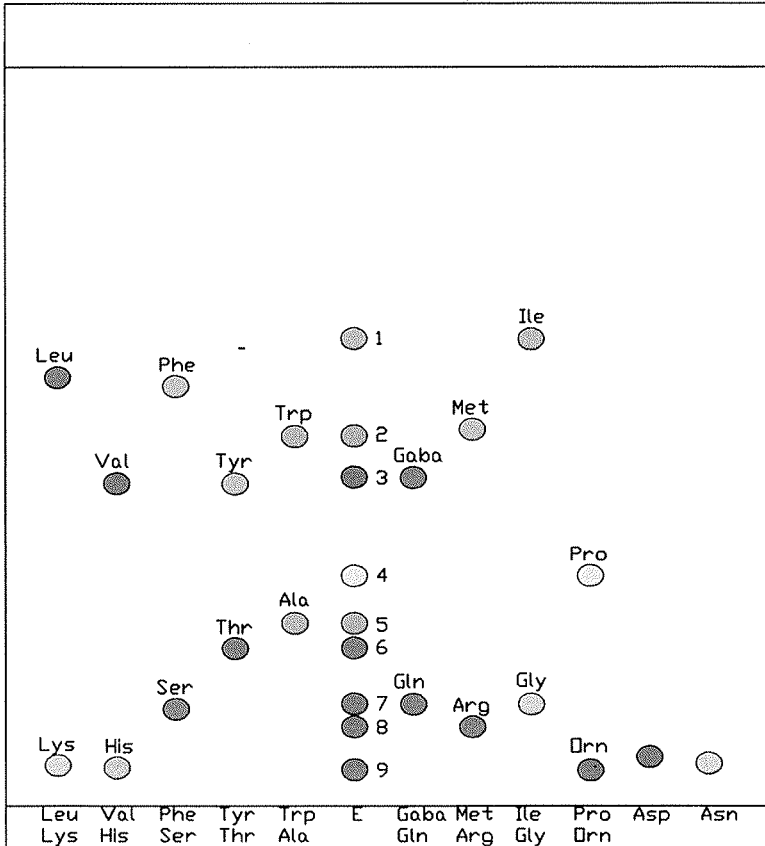
Aminokiselina		Pokretna faza		
		I	II	III
1 Izoleucin	(Ile)	0,54	0,50	0,52
2 Triptofan	(Trp)	0,41	0,35	0,34
3 -aminomaslačna kiselina	(Gaba)	0,37	0,33	0,36
4 Prolin	(Pro)	0,28	0,17	0,20
5 Alanin	(Ala)	0,21	0,16	0,16
6 Treonin	(Thr)	0,19	0,14	0,13
7 Glutamin	(Gln)	0,11	0,10	0,07
8 Arginin	(Arg)	0,08	0,10	0,07
9 Ornitin	(Orn)	0,06	0,04	0,04

I – n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V)

II – n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V)

III – n-butanol-ledena octena kiselina-voda (40:10:10 V/V/V)

tamnoljubičasto obojene, a usporedbom njihovih R_F vrijednosti s poredbenim supstancijama vidljivo je da odgovaraju α -aminomaslačnoj kiselini, treoninu, glutaminu, argininu i ornitinu. Svijetloljubičaste mrlje 1, 2 i 5 identificirane su kao izoleucin, triptofan i alanin. Mrlja 4 nakon prskanja ninhidrin reagensom obojila se žutosmeđe, a prema R_F vrijednosti odgovarala je prolinu (Tablica 1.).



Slika 2. Kromatogram aminokiselina nadzemnih dijelova velecvjetnog rošča
Nepokretna faza: celuloza F

Pokretna faza: *n*-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda
(35:35:10:20 V/V/V/V)

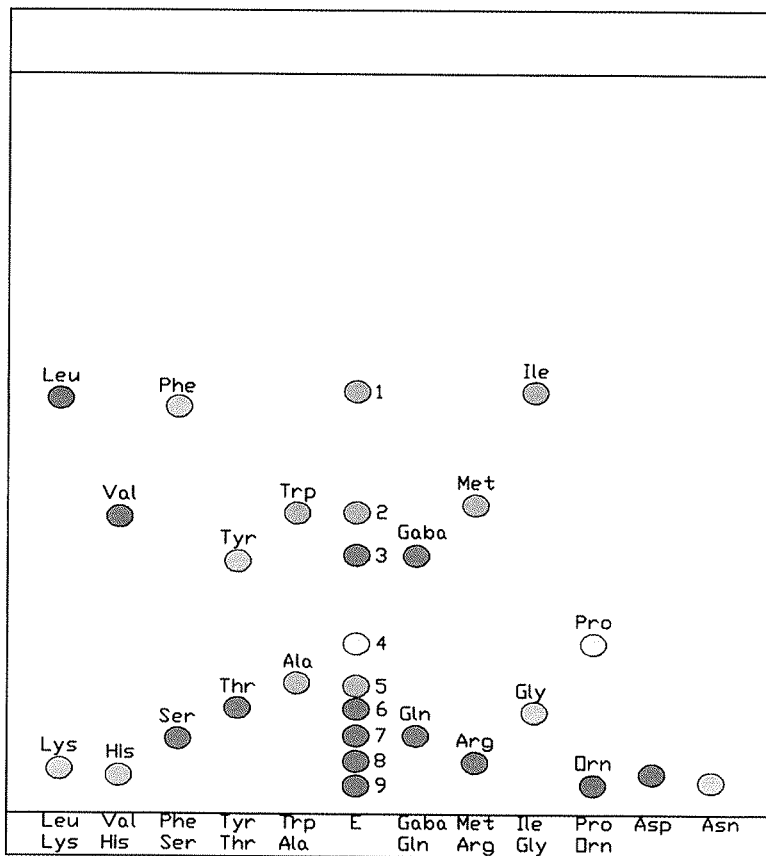
Detekcija: ninhidrin reagens

Leu = leucin, Lys = lizin, Val = valin, His = histidin, Phe = fenilalanin,
Ser = serin, Tyr = tirozin, Thr = treonin, Ala = alanin, Trp = triptofan,
Gaba = α -aminomaslačna kiselina, Gln = glutamin, Met = metionin,
Arg = arginin, Ile = izoleucin, Gly = glicin, Pro = prolin, Orn = ornitin,
Asp = asparaginska kiselina, Asn = asparagin

E = vodeni ekstrakt nadzemnih dijelova velecvjetnog rošča

Vrlo slične kromatografske slike, ali slabije odjeljivanje dobivene su u pokretnim fazama n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V) (Slika 3., Tablica 1.) i n-butanol-ledena octena kiselina-voda (40:10:10 V/V/V) (Slika 4., Tablica 1.).

Iz dobivenih kromatograma prema intenzitetu obojenja mrlja vidljivo je da su -aminomaslačna kiselina, treonin, glutamin, arginin i ornitin najzastupljenije aminokiseline u istraživanom ekstraktu.



Slika 3. Kromatogram aminokiselina nadzemnih dijelova velevjetnog rošca

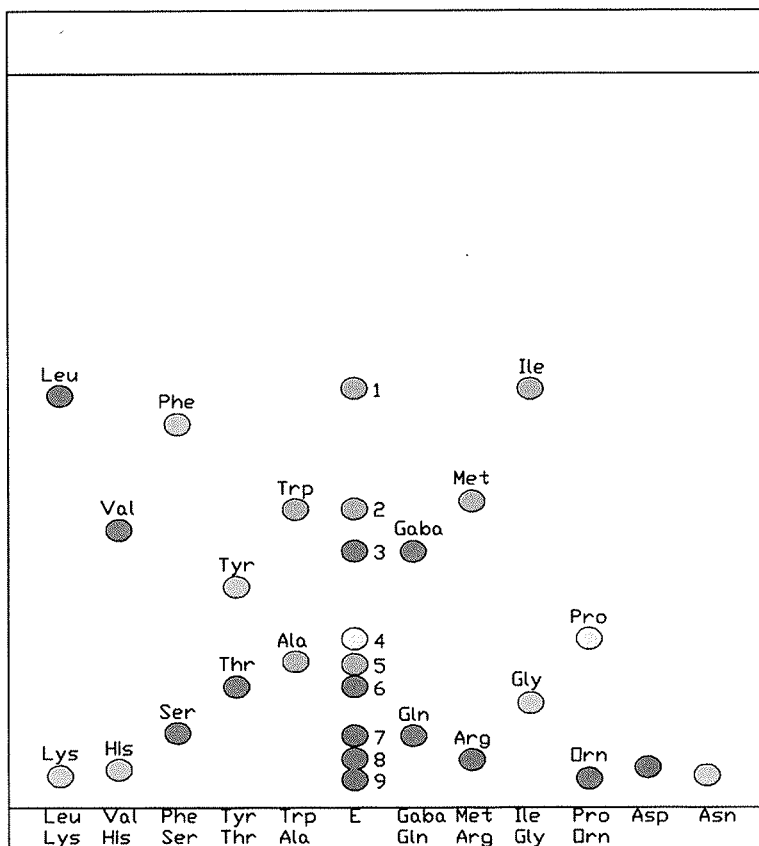
Nepokretna faza: celuloza F

Pokretna faza: n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V)

Detekcija: ninhidrin reagens

Leu = leucin, Lys = lizin, Val = valin, His = histidin, Phe = fenilalanin, Ser = serin, Tyr = tirozin, Thr = treonin, Ala = alanin, Trp = triptofan, Gaba = -aminomaslačna kiselina, Gln = glutamin, Met = metionin, Arg = arginin, Ile = izoleucin, Gly = glicin, Pro = prolin, Orn = ornitin, Asp = asparaginska kiselina, Asn = asparagin

E = vodeni ekstrakt nadzemnih dijelova velevjetnog rošca



Slika 4. Kromatogram aminokiselina nadzemnih dijelova velevjetnog rošca
Nepokretna faza: celuloza F

Pokretna faza: *n*-butanol-ledena octena kiselina-voda (40:10:10 V/V/V)

Detekcija: ninhidrin reagens

Leu = leucin, Lys = lizin, Val = valin, His = histidin, Phe = fenilalanin, Ser = serin, Tyr = tirozin, Thr = treonin, Ala = alanin, Trp = triptofan, Gaba = -aminomaslačna kiselina, Gln = glutamin, Met = metionin, Arg = arginin, Ile = izoleucin, Gly = glicin, Pro = prolin, Orn = ornitin, Asp = asparaginska kiselina, Asn = asparagin

E = vodeni ekstrakt nadzemnih dijelova velevjetnog rošca

ZAKLJUČAK

Metodom tankoslojne kromatografije dokazano je da nadzemni dijelovi velevjetnog rošca sadrže ove aminokiseline: izoleucin, triptofan, -aminomaslačnu kiselinu, prolin, alanin, treonin, glutamin, arginin i ornitin. Najzasupljenije aminokiseline bile su -aminomaslačna kiselina, treonin, glutamin, arginin i ornitin.

Literatura – References

1. Č. Šilić, *Endemične biljke*, 2. izd., Svjetlost, Sarajevo 1988, 114.
2. S. Forenbacher, *Velebit i njegov biljni svijet*, Školska knjiga, Zagreb 1990, 355.
3. R. F. Thorne, *Bot. Rev.* **66** (2000) 488.
4. T. G. Tutin, N. A. Burges, A. O. Chater, J. R. Edmondson, V. H. Heywood, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters, D. A. Webb Eds., *Flora Europaea*, Volume 1, Cambridge University Press, Cambridge 1993, 167.
5. R. Domac, *Flora Hrvatske*, Školska knjiga, Zagreb 1994, 80.
6. F. Kušan, *Biljni pokrov Biokova (flora i vegetacija)*, Jugoslavenska akademija znanosti i umjetnosti, Zagreb 1969, 115.
7. H. Wagner, S. Bladt, E. M. Zgainski, *Drogenanalyse*, Springer Verlag, Berlin 1983, 288.
8. Ž. Maleš, M. Plazibat, R. Petlevski, *Farm. Glas.* **57** (2001) 175.
9. Ž. Maleš, M. Plazibat, K. Hazler Pilepić, B. Cetina-Čižmek, *Farm. Glas.* **57** (2001) 257.
10. Ž. Maleš, M. Plazibat, K. Hazler Pilepić, V. Bilušić, *Farm. Glas.* **58** (2002) 155.
11. Ž. Maleš, M. Plazibat, V. Suban, *Farm. Glas.* **58** (2002) 287.
12. Ž. Maleš, M. Plazibat, A. Ujević Ivić, *Farm. Glas.* **58** (2002) 389.
13. E. Hahn-Deinstrop, *Dtsch. Apoth. Ztg.* **135** (1995) 31.
14. H. K. Berry, C. Leonard, H. Peters, M. Granger, N. Chunekahira, *Clin. Chem.* **14** (1968) 1033.

Primljeno: 10. IV. 2003.