

Komparativna fitokemijska istraživanja roda *Symphytum* - *Symphytum officinale* L. i *Symphytum tuberosum* L.

Tarle, Đurđica; Kosi-Čulibrk, Emina

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1994, 50, 213 - 218**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:800876>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-17**



Repository / Repozitorij:

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



FARMACEUTSKI GLASNIK

GLASILO HRVATSKOG FARMACEUTSKOG DRUŠTVA

GOD. 50

RUJAN 1994.

BROJ 9

FAGLAI

Farm.Glas.

ISSN 014-8202

ZNANSTVENI RADOVI

Durdica Tarle i Emina Kosi-Ćulibrk (Zagreb)

Komparativna fitokemijska istraživanja roda *Symphytum* – *Symphytum officinale* L. i *Symphytum tuberosum* L.

*Comparative phytochemistry investigation of genus
Symphytum – Symphytum officinale L. and Symphytum tuberosum L.*

S u m m a r y – It performed comparative phytochemistry investigation of genus *Symphytum* – *Symphytum officinale* L. and *Symphytum tuberosum* L. in view of saponins and triterpenoid – isobauerenol. From *Symphytum officinale* L. three individual saponins D (Rf = 0.79), G (Rf = 0.35) and H (Rf = 0.21) and two individual saponins from *Symphytum tuberosum* L. E (Rf = 0.58) and F (Rf = 0.50) were isolated. Individual saponins inhibited the growth of microorganisms *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Candida monosa* (nystatin-sensitive) and *Escherichia coli* ATCC 10536.

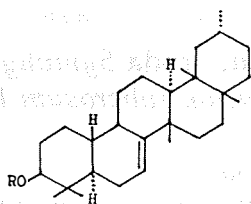
(Department of Pharmaceutical Botany and Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, and Institute for the Control of Drugs, Zagreb).

U V O D

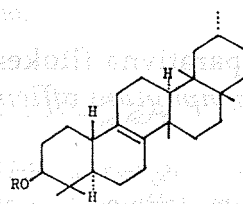
Rod *Symphytum* sa svojim vrstama *Symphytum officinale* L. – crni ili veliki gavez i *Symphytum tuberosum* L. – bijeli ili žuti gavez (Boraginaceae) od davnine su poznate ljekovite biljke. Najviše se upotrebljava korijen crnog gaveza poznati kao *Radix Consolidae*. Korijen je sličan mrkvi, jako razvijen i mesnat. Slatkastog je okusa, sluzav i steže. Bere se u jesen, siječe u kockice i suši (1,2). Korijen bijelog gaveza je svijetlo smeđe boje, dosta kratak, kos ili horizontalan, mesnat s rijetkim gomoljastim zadebljanjima (3). To su tipične sluzne i taninske droge, koje sadrže i veliku količinu alantoina, tvari koja pomaže rastu i razmnožavanju stanica i obnavljanju tkiva.

Biljke roda *Symphytum*, *Symphytum officinale* L. i *Symphytum tuberosum* L. sadrže purinski derivat alantoin, sluzi, tanine, smole, šećera, škrob, gume, inulin, asparagin i vrlo malo eteričnog ulja (2,4,5). Ove droge nadalje sadrže alkaloid simfido-cinoglosin (oko 0,002%), glukoalkaloid konsolidin (oko 0,0015%) i alkaloid konsolicin (2,4). G. Tittel i ostali (5) navode da su ovi alkaloidi pirolizidinske strukture, a inače su karakteristični za porodice Bo-

raginaceae, Fabaceae, Poaceae i *Asteraceae*. Iz lista *Symphytum officinale* L. izolirana su tri kromatografski jedinstvena saponina i tri saponinske frakcije (smjese saponina) (6). Izolirani saponini pokazuju antimikrobno djelovanje. Iz vrste *Symphytum officinale* L. izoliran je triterpen izobauerenol(II). Ovo je izomer triterpenskog alkohola bauerenola(I), C₃₀, H₅₀O, koji je izoliran iz australske biljke *Acronychia baueri* (7). Iako je poznato da bauerenol vrlo lako prelazi u izo-formu, izobauerenol je nađen kao genuini spoj u vrsti *Symphytum officinale* L., u čemu je njegova vrijednost kao kemotaksonomskog markera roda *Symphytum* (8).



Formula I



Formula II

EKSPERIMENTALNI DIO

Ispitivani materijal

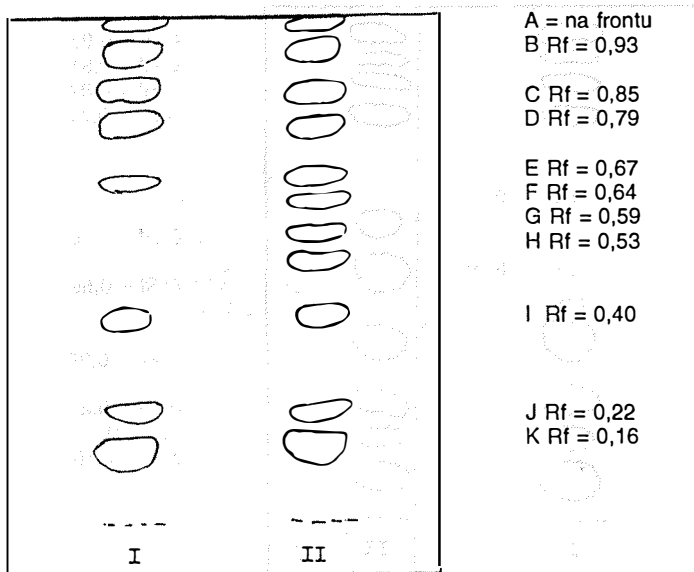
Za ispitivanje su upotrijebljeni uzorci lista i korijena biljaka *Symphytum officinale* L. i *Symphytum tuberosum* L. *Symphytum officinale* L. skupljen je u okolini Zagreba (Remetinec) a *Symphytum tuberosum* L. u botaničkom vrtu »Fran Kušan« Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu. Ekstrakt ispitivanih uzoraka pripremljen je metodom perkolacije po Ph.Jug.IV (9).

Ispitivanje nazočnosti saponina i triterpena – izobaeurenola

Uzorci droga ispitivani su s obzirom na nazočnost saponina i triterpena izobauerenola TS-kromatografijom. Ispitivanje je obavljeno na gotovim pločama (DC-alufolien, Kieselgel 60 F 254) ili na pripremljenim pločama sa silikagelom G prema Stahlu veličine 8 x 12 cm. Za odjeljivanje supstancija upotrebljavani su sustavi otapala kloroform-metanol-voda 6,5:3,5:1,0 (10) i benzen-aceton 9:1, a za detekciju klorosulfonska kiselina (11) (sl. 1, 2 i 3).

Izolacija saponina

Saponini su izolirani iz ekstrakta korijena kromatografijom na stupcu SiO₂, nakon što je ekstrakt droge propušten preko stupca sephadexa G-25. Saponinske supstancije odijeljene su višekratno na stupcu SiO₂ uz sustav otapala kloroform-metanol-voda 6,5:3,5:1,0 (10). Dobivene su saponinske smjese, odnosno saponinske kromatografski jedinstvene supstancije D, E, F, G i H koje pokazuju izrazito hemolitičko djelovanje (sl. 1 i 2).

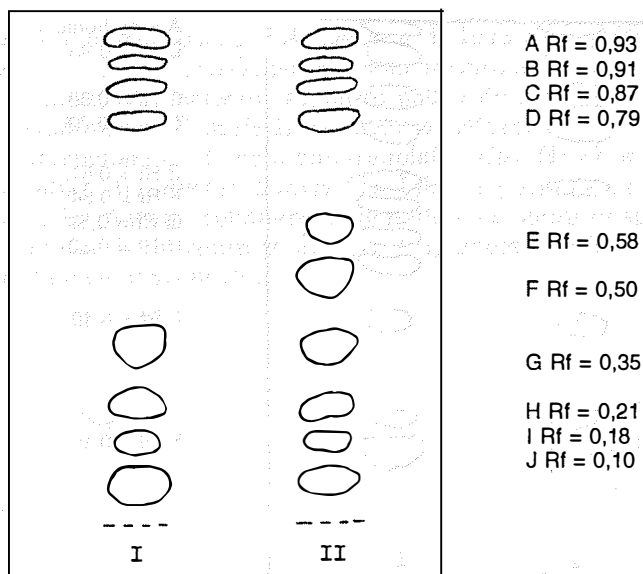


I = ekstrakt lista biljke *Symphytum officinale* L.
 II = ekstrakt lista biljke *Symphytum tuberosum* L.
 Sustav otapala = kloroform-metanol-voda
 6,5 : 3,5 : 1,0
 Reagens za detekciju = klorsulfonska kiselina

Slika 1. TS-kromatografija saponinskih supstancija metanolnih ekstrakata lista *Symphytum officinale* L. i *Symphytum tuberosum* .

Tablica 1. Najmanje količine (g) izoliranih supstancija koje inhibiraju rast mikroorganizama

| Vrsta mikroorganizama | <i>Symphytum officinale</i> L. | | | <i>Symphytum tuberosum</i> L. | |
|---|--------------------------------|------------|------------|-------------------------------|------------|
| | Supst. »D« | Supst. »G« | Supst. »H« | Supst. »E« | Supst. »F« |
| <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 | 0,0038 | 0,0038 | 0,0150 | 0,0439 | 0,0378 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031 | 0,0300 | 0,0150 | 0,0150 | - | - |
| <i>Candida monosa</i> (osjetljiva na nistatin) | 0,0300 | 0,0300 | 0,0150 | - | - |
| <i>Escherichia coli</i> ATCC 10536 | - | - | - | 0,0439 | 0,0378 |



I = ekstrakt korijena biljke *Symphycum officinale* L.

II = ekstrakt korijena biljke *Symphycum tuberosum* L.

Sustav otapala = kloroform-metanol-voda
6,5 : 3,5 : 1,0

Reagens za detekciju = klorosulfonska kiselina

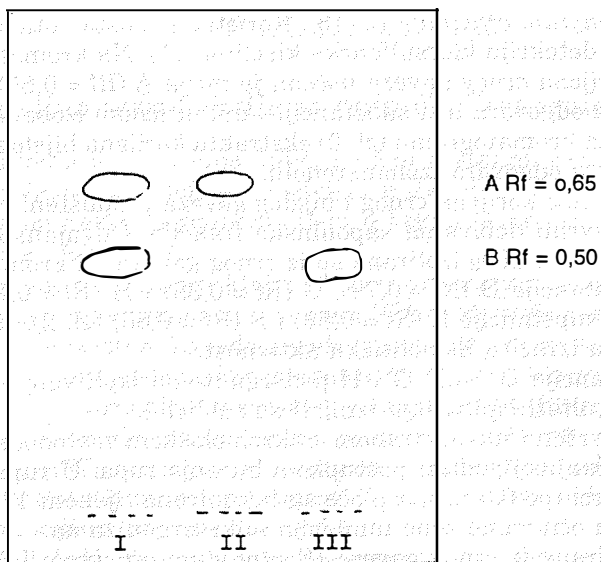
Slika 2. TS-kromatografija saponinskih supstancija metanolnih ekstrakata korijena *Symphycum officinale* L. i *Symphycum tuberosum* L.

Ispitivanje antimikrobnog učinka izoliranih saponinskih supstancija

Izolirane saponinske supstancije ispitane su s obzirom na antimikrobnu aktivnost. Ispitivanja su izvedena metodom difuzije u agaru, postupkom bušenja rupa u krutoj hranjivoj podlozi (9,12). Za ispitivanje su upotrijebljeni ovi mikroorganizmi: *Candida monosa* (osjetljiva na nistatin), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 23382, *Streptococcus faecalis* 8043, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Bacillus subtilis* 8236, *Escherichia coli* ATCC 10536, i *Sarcina lutea* 9341. Rezultati ispitivanja iznijeti su u tablici 1.

RASPRAVA REZULTATA

U pogledu saponina komparativno su ispitani metanolni ekstrakti lista i korijena *Symphycum officinale* L. i *Symphycum tuberosum* L.. Upotrijebljen je sustav otapala kloroform-metanol-voda 6,5:3,5:1,0 (10). Detekcija supstancija je izvedena klorosulfonskom kiselinom (11). Na kromatogramu (sl. 1) eks-



I = ekstrakt korijena biljke *Symphycum officinale* L.
II = test otopina autentičnog izobauerenola
III = ekstrakt korijena biljke *Symphycum tuberosum* L.
Sustav otapala = benzen-aceton 9:1
Reagens za detekciju = klorosulfonska kiselina

Slika 3. TS-kromatografija metanolnih ekstrakata korijena *Symphycum officinale* L. i *Symphycum tuberosum* L. u pogledu izobauerenola

trakta lista bijelog gaveza dobiveno je jedanaest mrlja koje odgovaraju supstancijama označenim od A do K. Mrlje B ($R_f = 0,93$), C ($R_f = 0,85$), D ($R_f = 0,79$), E ($R_f = 0,67$) i I ($R_f = 0,40$) crvenoljubičaste su boje i za njih pretpostavljamo da odgovaraju saponinima. Ekstrakt lista crnog gaveza nije pokazao da sadrži supstancije koje odgovaraju mrljama F ($R_f = 0,64$), G ($R_f = 0,59$), i H ($R_f = 0,53$) kromatograma ekstrakta lista bijelog gaveza.

Na kromatogramu (sl. 2) ekstrakta korijena bijelog gaveza dobiveno je deset mrlja koje odgovaraju supstancijama označenim od A do I. Mrlja A ($R_f = 0,93$), D ($R_f = 0,79$), E ($R_f = 0,58$), F ($R_f = 0,50$) i H ($R_f = 0,21$) crvenoljubičaste su boje i za njih pretpostavljamo da odgovaraju saponinskim supstancijama. Ekstrakt korijena crnog gaveza nije pokazao nazočnost supstancija koje odgovaraju mrljama E ($R_f = 0,58$) i F ($R_f = 0,50$) kromatograma ekstrakta bijelog gaveza.

Metanolni ekstrakti korijena crnog i bijelog gaveza ispitani su TS-kromatografijom u pogledu triterpena – izobauerenola uz test supstanciju – autentični izobauerenol. Autentični izobauerenol je izoliran u Zavodu za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta u Zagrebu iz podzemnih

dijelova biljke *Symphycum officinale* L. (13). Korišten je sustav otapala benzen-aceton 9:1, a za detekciju klorsulfonska kiselina (11). Na kromatogramu (sl. 3) ekstrakta korijena crnog gaveza uočena je mrlja A ($R_f = 0,65$) narančastosmeđe boje koja odgovara test supstanciji – autentičnom izobauerenolu. Za razliku od toga, na kromatogramu (sl. 3) ekstrakta korijena bijelog gaveza nije uočena mrlja koja odgovara izobauerenolu.

Metanolni ekstrakti korijena crnog i bijelog gaveza propušteni su preko sephadexa G-25 u svrhu dobivanja saponinske frakcije. Odvajanjem saponinske frakcije na stupcu SiO_2 izolirane su iz crnog gaveza tri kromatografski jedinstvene supstancije D ($R_f = 0,79$), G ($R_f = 0,35$) i H ($R_f = 0,21$), a iz bijelog gaveza dvije supstancije E ($R_f = 0,58$) i F ($R_f = 0,50$) (sl. 2). Izolirane supstancije pokazuju izrazitu hemolitičku aktivnost.

Izolirane supstancije D, E, F, G i H podvrgnute su ispitivanju antimikrobnog učinka. Rezultati ispitivanja iznijeti su tablici 1.

Ispitivanje je izvršeno modificiranom mikrobiološkom metodom (9, 12) difuzije na krutoj hranjivoj podlozi postupkom bušenja rupa. U rupe su nanošeni otopljeni uzorci (po 0,3 ml), a ploče su inkubirane tijekom 17 sati na 35 °C nakon čega su očitavane zone inhibicija mikroorganizama.

Supstancije izolirane iz crnog gaveza (*Symphycum officinale* L.) D, G i H pokazale su pozitivan antimikrobni učinak na mikroorganizme *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031 i *Candida monosa* (osjetljiva na nistatin). Supstancije izolirane iz bijelog gaveza (*Symphycum tuberosum* L.) E i F pokazale su pozitivan antimikrobni učinak na mikroorganizme *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 i *Escherichia coli* ATCC 10536.

(Zavod za farmaceutsku botaniku i farmakognoziju, Farmaceutsko-biochemijski fakultet, Zagreb i Zavod za ispitivanje i kontrolu lijekova RH, Zagreb)

Literatura – References

- (1) F. Kušan, Ljekovito i drugo korisno bilje, Poljoprivredni nakladni zavod, Zagreb, 1956, 435.
- (2) R. Hegnauer, Chemotaxonomie der Pflanzen, Band 3, 1. Teil, Birkhäuser Verlag, Basel und Stuttgart, 1964, 297, 647.
- (3) Č. Šilić, Šumske zeljaste biljke, Svjetlost OOURZavod za udžbenike i nastavna sredstva, Sarajevo, 1983, 116.
- (4) O. Gessner, Die Gift- und Arzneipflanzen von Mitteleuropa, Carl. Winter Universitätsverlag, Heidelberg, 1953, 139.
- (5) G. Tittel, H. Heinz, i H. Wagner, Planta Med. **37** (1979) 1.
- (6) D. Tarle, J. Petričić i M. Kupinić, Acta Pharm. Jugosl. **32**(3) (1982) 235.
- (7) F. N. Lahey i Thomas Austral. J. Sci. Res. **2** (1949) 423.
- (8) T. Furuya i M. Hikichi, Phytochemistry **10** (1971) 2217.
- (9) Ph. Jug. IV., Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, Beograd, 1984. Vol. 1, 8-020, 9-100.
- (10) T. Kawasaki i K. Miyahara, Chem. Pharm. Bull. Tokio **11** (1963) 1546.
- (11) E. Merck, Dyeing Reagents for Thin Layer and Paper Chromatography, Darmstadt, Germany, 1976.
- (12) M. Kupinić, Arh farm. **29** (1979) 411.
- (13) D. Tarle i J. Petričić, Farm. Glas. **6** (1986) 161.