

Kvalitativna analiza aminokiselina mekolisne majčine dušice - *Thymus bracteosus* Vis. ex Benth.

Maleš, Željani; Plazibat, Miško; Hazler-Pilepić, Kroata; Bilušić, Vjera

Source / Izvornik: *Farmaceutski glasnik*, 2002, 58, 155 - 160

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:251905>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-27**



Repository / Repozitorij:

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



Kvalitativna analiza aminokiselina mekolisne majčine dušice – *Thymus bracteosus* Vis. ex Benth.

ŽELJAN MALEŠ¹, MIŠKO PLAZIBAT², KROATA HAZLER-PILEPIĆ¹ i VJERA BILUŠIĆ¹

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 *Thymus bracteosus* Vis. ex Benth.

S u m m a r y – *Thymus bracteosus* Vis. ex Benth. is a small, aromatic semishrub which grows in different grasslands, scrubs and forest clearings on calcareous soils. This plant is endemic species of Dinaric Karst.

Thin-layer chromatographic analysis of amino acids of the leaves of T. bracteosus collected at two localities in Croatia showed the presence of 9 amino acids: phenylalanine, valine, tryptophan, tyrosine, proline, alanine, threonine, serine and lysine. Valine, alanine and lysine were the main amino acids.

(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

Thymus bracteosus Vis. ex Benth. – mekolisna majčina dušica, endemična je biljka dinarskoga područja iz porodice *Lamiaceae*, reda *Lamiales*, razreda *Magnoliatae* (1, 2). Vrste roda *Thymus* L. rasprostranjene su od obala Grenlanda preko Azora, Madeire i Kanarskog otočja, sjeverozapadne Afrike, planina Etiopije i jugozapadnog dijela Arabije, Sinajskog poluotoka, Irano-turanske regije i Himalaja sve do istočne Azije i Japana. Sjeverni dio areala obuhvaća Sibir i Europu, a zapadni dio Sredozemlja smatra se središtem diverziteta s najvećim brojem opisanih svojti. Unutar granica rasprostranjenja, biljke rijetko dolaze na ekstremnim staništima kao što su pustinje, te izrazito vlažna i hladna područja (3–8).

Zbog velikog polimorfizma rod *Thymus* je taksonomski vrlo težak, te je njegova sustavna problematika privukla pažnju mnogih botaničara što se vidi iz brojnih znanstvenih radova u kojima dolaze do izražaja dosta neujednačeni kriteriji i znatna razilaženja pri podjeli na sekcije i druge taksonomske kategorije (9–16).

Za razliku od većine vrsta ovog roda mekolisna majčina dušica je dobro definirana, lako prepoznatljiva te bez taksonomskih i nomenklaturnih problema. To je malena, aromatična trajnica s odrvenjelim polegnutim stabljika-



Slika 1. *Thymus bracteosus* Vis. ex Benth. – Mekolisna majčina dušica

ma koje na tlu izgledaju poput saga. Cvjetni ogranci su tanki, okrugli, pokri-
veni dlakama, a uzdižu se do visine od desetak centimetara. Listovi su
nasuprotni, duguljasti, tupog vrha, a prema bazi se klinasto suzuju u petelj-
ku. Gusto su pokriveni glavičastim dlakama jednostaničnog drška i štitastim
žlijezdanim dlakama, dok po rubu njihove donje polovice dolaze jednostavne,
višestanične, stršeće dlake. Cvatovi su glavičasti, oko 15 mm u promjeru, a
sastoje se od 7–15 i više cvjetova koji su na kratkom dršku (Slika 1.). Čaška
je 5–7 mm duga, sastavljena od sraslih lapova unutar kojih se nalazi snopić
gustih bijelih dlaka. Vjenčić je ružičast, sulatičan, oko 2 mm duži od čaške,
gornja mu je usna ravna i izrubljena dok je donja svinuta i trokrpasta. Plod
je cijepavac koji se u zrelom stanju raspada na četiri jednosjemena, polukug-
lasta oraščića. Pricvjetni listovi ili brakteje po kojima je vrsta i dobila la-
tinski dijagnostički pridjevnik *bracteosus* izrazito su širi od pravih listova te
se zbog njihova izgleda mekolisna majčina dušica lako razlikuje od ostalih
vrsta u području svog areala.

Biljka cvate od lipnja do kolovoza, a raste na kamenitim, prisojnim mjes-
tima, krškim ledinama, nižim obroncima i terasama, na dolomitnoj i vapnena-
čkoj podlozi mediteranskog i submediteranskog područja. Svojim rasprostra-
njenjem od istarsko-kvarnerskog primorja do južnih dijelova istočnojadrans-
ke obale svrstava se u skupinu ilirsko-jadranskih endemičnih biljaka (1, 17,
18).

U literaturi nema detaljnih podataka o istraživanju kemijskog sastava mekolisne majčine dušice, pa je cilj ovog rada bio utvrditi prisutnost amino-kiselina u listovima skupljenim na dva različita nalazišta u Hrvatskoj.

EKSPERIMENTALNI DIO

Biljni materijal

Materijal za istraživanje sastojao se od listova mekolisne majčine dušice – *Thymus bracteosus* Vis. ex Benth., skupljenih tijekom 2000. godine na Velebitu i Tjarici (srednja Dalmacija). Uzorak s velebitskog područja sabran je 21. lipnja 2000. u kamenjaru brda Trbušnjak, jugoistočno od Senja, na oko 350 m nadmorske visine, dok je uzorak s područja Tjarice skupljen 18. kolovoza 2000. po čistinama u kamenjaru obraslom drvećem i grmljem, na oko 800 m nadmorske visine.

1. Identifikacija biljnog materijala

Istraživana biljna vrsta identificirana je u Botaničkom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i potvrđena ispitivanjem vanjske i unutarnje građe skupljenih uzoraka.

2. Istraživanje prisutnosti aminokiselina tankoslojnom kromatografijom

Istraživanju su podvrgnuti ekstrakti listova mekolisne majčine dušice, koji su pripremljeni tako da je 1 g praškasto usitnjenog biljnog 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 fenilalanina (Phe), valina (Val), triptofana (Trp), tirozina (Tyr), prolina (Pro), alanina (Ala), treonina (Thr), serina (Ser) i lizina (Lys) (19–21).

Istraživanje prisutnosti aminokiselina provedeno je na tankom sloju celuloze F (»Merck«, Art. 15036) u dvije smjese otapala: n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V) i n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V) (19).

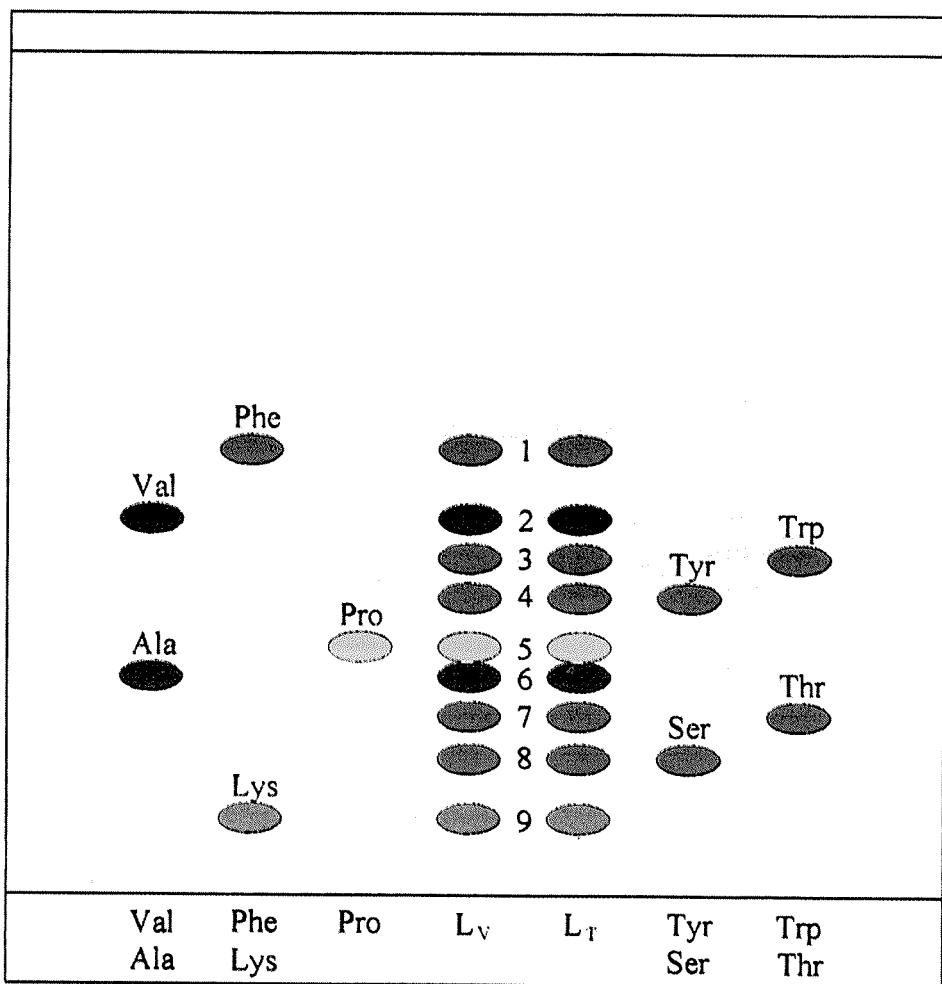
Detekcija odijeljenih aminokiselina provedena je nakon prskanja kromatograma ninhidrin reagensom i grijanja 5–10 minuta na 100° C (22).

REZULTATI I RASPRAVA

Vodeni ekstrakti listova mekolisne majčine dušice skupljeni na Velebitu (L_V) i Tjarici (L_T) ispitani su na prisutnost aminokiselina tankoslojnom kromatografijom.

Nakon prskanja kromatograma ninhidrin reagensom i grijanja na 100° C u ekstraktima su uočene ljubičaste, ružičaste i žute mrlje.

Odjeljivanjem pokretnom fazom n-butanol-aceton-ledena octena kiselina-voda (35:35:10:20 V/V/V/V) u ispitivanim vodenim ekstraktima uočava se



Slika 2. Kromatogram aminokiselina listova mekolisne majčine dušice

Nepokretna faza: celuloza F

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

Detekcija: ninhidrin reagens

Val = valin, Ala = alanin, Phe = fenilalanin, Lys = lizin, Pro = prolin,

Tyr = tirozin, Ser = serin, Trp = triptofan, Thr = treonin,

L_V = vodeni ekstrakt listova (uzorak Velebit),

L_T = vodeni ekstrakt listova (uzorak Tijarica)

9 mrlja, koje odgovaraju aminokiselinama (Slika 2.). Mrlje 1, 3, 4, 7 i 8 bile su svijetloljubičasto obojene, a usporedbom njihovih R_F vrijednosti s poredbenim supstancijama vidljivo je da odgovaraju fenilalaninu, triptofanu, tirozinu, treoninu i serinu. Tamnoljubičaste mrlje 2 i 6 identificirane su kao

Tablica 1.
R_F vrijednosti odijeljenih aminokiselina na tankom sloju celuloze F

Aminokiselina	Pokretna faza	
	I	II
1 Fenilalanin (Phe)	0,53	0,57
2 Valin (Val)	0,45	0,47
3 Triptofan (Trp)	0,40	0,42
4 Tirozin (Tyr)	0,35	0,37
5 Prolin (Pro)	0,29	0,30
6 Alanin (Ala)	0,26	0,27
7 Treonin (Thr)	0,21	0,23
8 Serin (Ser)	0,16	0,19
9 Lizin (Lys)	0,09	0,15

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)

valin i alanin, a ružičasta mrlja 9 kao lizin. Mrlja 5 nakon prskanja ninhidrin reagensom obojila se žuto, a prema R_F vrijednosti odgovarala je prolinu (Tablica 1.).

Vrlo slična kromatografska slika, s nešto višim R_F vrijednostima odijeljenih aminokiselina dobivena je u pokretnoj fazi n-butanol-ledena octena kiselina-voda (50:10:40 V/V/V) (Tablica 1.).

Iz dobivenih kromatograma prema intenzitetu obojenja mrlja vidljivo je da su valin, alanin i lizin najzastupljenije aminokiseline u istraživanim ekstraktima. Ekstrakti uzoraka skupljeni na različitim nalazištima imali su identičnu kromatografsku sliku.

ZAKLJUČAK

Metodom tankoslojne kromatografije dokazano je da listovi mekolisne majčine dušice sadrže ove aminokiseline: fenilalanin, valin, triptofan, tirozin, prolin, alanin, treonin, serin i lizin. Najzastupljenije aminokiseline bile su valin, alanin i lizin. Rezultati kvalitativne analize upućuju na to da ne postoje razlike u aminokiselinskom sastavu listova koji su skupljeni na dva različita i dosta udaljena nalazišta.

Literatura – References

1. Č. Šilić, Endemične biljke, 2. izd., Svjetlost, Sarajevo 1988, 114.
2. R. F. Thorne, Bot. Rev. **66** (2000) 524, 527.
3. J. Briquet, *Thymus* L. In A. Engler et K. Prantl Eds., Die natürlichen Pflanzenfamilien, Vol. 4 (3a), Verlag von Wilhelm Engelmann, Leipzig 1896, 311–313.

4. J. Jalas, Ann. Bot. Fenn. **10** (1973) 104.
5. R. Morales, Anales Jard. Bot. Madrid **51** (1994) 205.
6. R. Morales, Lagasalia **19** (1997) 249.
7. K. H. Rechinger, Phytol. (Austria) **5** (1954) 280.
8. K. Ronniger, Feddes Repert. **20** (1924) 334, 385.
9. P. Hartvig, Pl. Syst. Evol. **155** (1987) 197.
10. J. Jalas, Bot. J. Linn. Soc. **64** (1971) 199, 247.
11. J. Jalas, K. Kaleva, Feddes Repert. **81** (1970) 93.
12. M. Machule, Ber. Bayer. Bot. Ges. **35** (1962) 57.
13. R. Morales, Ruizia **3** (1986) 1-324.
14. C. D. Pigott, New Phytol. **53** (1954) 470.
15. P. Schmidt, Feddes Repert. **83** (1973) 663.
16. J. Velenovský, Beih. Bot. Centralbl. **19** (2) (1906) 271.
17. K. Hruška, Florističko-sistematska istraživanja roda *Thymus* na području Hrvatske, Magistarski rad, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Zagreb 1969.
18. B. Lakušić, R. Jančić, P. Živanović, V. Slavkowska, Fl. Medit. **9** (1999) 269.
19. H. Wagner, S. Bladt, E. M. Zgainski, Drogenanalyse, Springer Verlag, Berlin 1983, 288.
20. Ž. Maleš, M. Plazibat, R. Petlevski, Farm. Glas. **57** (2001) 175.
21. Ž. Maleš, M. Plazibat, K. Hazler-Pilepić, B. Cetina-Čižmek, Farm. Glas. **57** (2001) 257.
22. H. K. Berry, C. Leonard, H. Peters, M. Granger, N. Chunekahira, Clin. Chem. **14** (1968) 1033.