

Sastav aminokiselina u listu koprive, korijenu odoljena i perikarpu graha (*Urticae folium, Valerianae radix et Phaseoli pericarpium*)

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

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2007, 63, 307 - 314**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:863674>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-09**



Repository / Repozitorij:

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



Sastav aminokiselina u listu koprive, korijenu odoljena i perikarpu graha (Urticae folium, Valerianae radix et Phaseoli pericarpium)

ROBERTA PETLEVSKI¹, MIRKO HADŽIJA², MILIVOJ SLIJEPEVIĆ², DUBRAVKA JURETIĆ¹

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 Nettle leaf, Valerian root and Kidney-bean pods (Urticae folium, Valerianae radix et Phaseoli pericarpium)

S u m m a r y – In the ethanol extract of the Nettle leaf *Urticae folium* (*Urtica dioica* L., *Urticaceae*) following amino acids were identified: Histidine (His), Cysteine (Cys), Lysine (Lys), Glutamine (Gln), Glutamic acid (Glu), Threonine (Thr), Proline (Pro), Valine (Val), Leucine (Leu). In the ethanol extract of the Valerian root – *Valerianae radix* (*Valeriana officinalis* L., *Valerianaceae*) following amino acids were identified: Histidine (His), Cysteine (Cys), Glutamine (Gln), Glutamic acid (Glu), Threonine (Thr), Valine (Val), Leucine (Leu) and in the ethanol extract of the Kidney-bean pod – *Phaseoli pericarpium* (*Phaseolus vulgaris* L., *Fabaceae*) following amino acids were identified: Serine (Ser), Glutamic acid (Glu), Threonine (Thr), Proline (Pro), Valine (Val) 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 »Ruđer Bošković«, Zagreb, Croatia).

UVOD

Kopriva (*Urtica dioica* L., *Urticaceae*)

Botanički podaci. Kopriva ima stabljiku sa zelenim, srcolikim i nazubljenim listovima. Stabljika i listovi gusto su pokriveni šupljim dlakama i sadrže tvar koja žari. Cvjetovi su

jednospolni, sitni i skupljeni u viseće rese. Korijen koprive je također oficinalan u mnogim farmakopejama.

Kemijski sastav. U listovima koprive (slika 1.) dokazani su flavonoidi (glikozidi kvercetina, ramnetina u cvjetovima), klorofil A i B, karotenoidi (uključujući β -karoten i ksantofile), vitamini (B i C skupine te vitamin K1), triterpeni i steroli (β -sitosterol), mineralne soli (nitrati, kalijeve soli) i kiseline: mravlja, octena, limunska i dr. (1).

Djelovanje i primjena. U narodnoj medicini rabi se na mnogo načina: interno kao diuretik, kod reumatizma i artritisa, kao komponenta »antidijabetičnog« čaja, za brže zacjeljivanje rana, za poticanje rasta kose te pri oboljenjima prostate. Znanstveno je potvrđen njen diuretični učinak (2), povoljan učinak na hiperplaziju prostate (3,4) te na prevenciju kardiovaskularnih bolesti, jer je dokazano da inhibira agregaciju trombocita (5). Novija znanstvena istraživanja utvrdila su da ekstrakt koprive inhibira proinflamatornu transkripciju faktora NF - kapa B u *in vitro* uvjetima i tako sprječava nastajanje mnogih proinflamatornih produkata gena (6).



Slika 1. List koprive (*Urticae folium*)

Odoljen (*Valeriana officinalis* L., Valerianaceae)

Botanički podaci. Korijen odoljena je kratak i valjkast sivo-crne boje s brojnim sukoričjem, debljine 2–3 mm i dužine nekoliko cm. (slika 2.)

Kemijski sastav. Korijen odoljena sadrži 0.3–0.7% eteričnog ulja; najzastupljeniji sastojak je bornil-acetat, ali su prisutni i ostali seskviterpeni: β -kariofilen, valeranal, valeranon.

Pažljivo osušeno korijenje (do 40 °C) sadrži 0.5–2% valepotriata (valeriana epoksi-triester), bicikličkih iridoid-monoterpena. Najviše ima valtrata i izovaltrata. Također su u malim količinama prisutni dihidrovaltrat i IVHDvaltrat (izovaleril oksihidroksididrovaltrat). Valerenska kiselina i acetoksivalerenska kiselina (0.08–0.3%) su karakteristični

sastojci oficinalne droge – ne nalaze se u ostalim vrstama *Valeriana*. Korijen sadrži vrlo mali postotak (0.01–0.05%) alkaloida, kao što su valerianin i α -metilpiril keton (1).

Djelotvornost i primjena. Poznat je sedativni učinak korijena odoljena (eterično ulje, valepotriati), te spazmolitski učinak (valerenska kiselina). Valerenska kiselina i srodni seskviterpeni inhibiraju razgradnju neurotransmitera γ aminomaslačne kiseline. Čaj od korijena odoljena koristi se za smirenje, opuštanje, zatim kod nervne napetosti, poteškoća sa spavanjem i stresnih stanja. S druge strane, valepotriati ili ekstrakti standizirani prema zahtjevima valepotriata (obično 50 mg po dozi) koriste se kao trankvilizanti i timoleptici. Takvi pripravci koji uvijek sadrže miksturu valepotriata, uglavnom se pripremaju od drugih vrsta *Valeriana*: *Valeriana procera* Nutt. ssp. Meyer – meksička *Valeriana* ili *Valeriana wallichii* DC. – indijska *Valeriana*). Obično sadrže visok postotak dihidrovaltrata i izovaltrata i koriste se za liječenje psihomotornih i psihosomatskih poteškoća te u stresnim i anksioznim stanjima.

Znanstvenu potvrdu djelovanja *Valerianae officinalis* kao blagog sedativa i trankvilizera opisao je Houghton P.J. 1999. godine. On navodi da valerijanska kiselina inhibira enzimom inducirano smanjenje GABA-e u mozgu i rezultira sedativnim učinkom (7).



Slika 2. Korijen odoljena (*Valerianae radix*)

Grah (*Phaseolus vulgaris* L., *Fabaceae*)

Botanički podaci. Mahune graha (perikarp) su bijele do žućkaste, 10–20 cm duge i 1–2 cm široke.

Kemijski sastav. Sadrže soli kroma te silicijevu kiselinu i proteine (1).

Djelovanje i primjena. Perikarp graha (slika 3.) spominje se u narodnoj medicini kao blagi antidijabetik i diuretik. Donedavno se smatralo da su arginin i silicijeva kiselina odgovorni za antidijabetični učinak, no novija istraživanja ga pripisuju solima kroma (djelotvornost u šećernoj bolesti Tipa 2 (1)).

Roman – Ramos i sur. su 1995. godine opisali djelovanje *Phaseolus vulgaris* na zdravim kunićima. Nakon *per os* primjene ekstrakta droge, došlo je do signifikantnog pada krivulje oGTT-a (8). Sjemenke *Phaseolus vulgaris* sadrže dvije izoforme inhibitora alfa amilaze

(alfa AI i alfa AI* – dva izoformna oblika koji imaju različite izoelektrične točke, ali istu molekulsku masu od 43 kDa) koji inhibiraju amilazu iz sline i amilazu iz gušterače. Alfa AI inhibitor usporava razgradnju škroba i na taj način kontrolira postprandijalno oslobađanje glukoze u šećernoj bolesti Tipa 2 (9). Kristalnu strukturu tih alfa amilaznih inhibitora razriješili su Nahoum i sur., 2000. godine (10). Alfa amilaza u kompleksu sa svojim inhibitorima postoji u dvije različite konformacije ovisne o pH. Važna rezidua je Arg-74, koja prije nije bila opažena, a ključna je za promjenu konformacije.



Slika 3. Perikarp graha (*Phaseoli pericarpium*)

MATERIJALI

A) Biljni materijal

Materijal za ispitivanje sastojao se od sasušenog i usitnjenog lista koprive (*Urticae folium*), korijena odoljena (*Valerianae radix*) i perikarpa graha (*Phaseoli pericarpium*) sabranih u srpnju 1999. godine u okolici Zagreba, a identifikacija biljnog materijala provedena je ispitivanjem vanjske građe skupljenih uzoraka (1 i a,b,c).

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 dobiveni 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 su neposredno prije primjene razrijeđene u omjeru 1: 2 destiliranom vodom.

D) 0.5%tna otopina ninhidrina

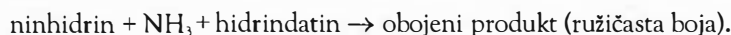
0.5 g ninhidrina *p.a.* je odvagano i otopljeno u smjesi jednakih dijelova acetona i propanola.

METODE

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

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

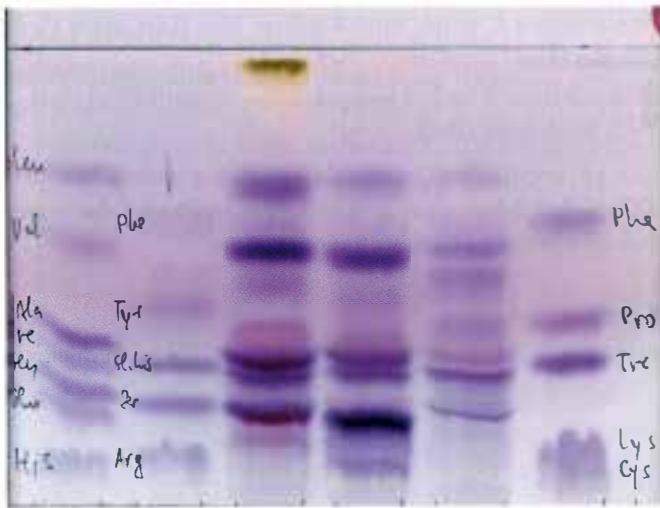
Nakon završetka separacije aminokiselina na TLK, vizualizacija razdvojenih aminokiselina provedena je s otopinom ninhidrina i uspoređena sa standardima koji sadrže mješavinu aminokiselina. Nakon prskanja kromatograma otopinom ninhidrina ploča kromatograma zagrijana je na 80 °C tijekom 10 minuta nakon čega se pojavljuju ružičasto obojene vrpce. U reakciji aminokiseline s ninhidrinom bitno je naglasiti da obojeni produkt sadrži samo atom α-dušika iz originalne molekule aminokiselina (12). Slijed reakcija je niže naveden:



REZULTATI I RASPRAVA

Etanolni ekstrakt lista koprive (*Urticae folium*), korijena odoljena (*Valerianae radix*) i perikarpa graha (*Phaseoli pericarpium*) ispitan je na sadržaj pojedinih aminokiselina tankoslojnom kromatografijom. Nakon vizualizacije kromatograma otopinom ninhidrina dobivene su ružičasto obojene vrpce aminokiselina.

Odjeljivanjem mobilnom fazom n-butanol:aceton:octena kiselina:voda (35:35:10:20 V/V/V/V) u etanolnom ekstraktu lista koprive (*Urticae folium*) uočeno je 9 vrpca, etanolnom ekstraktu korijena odoljena (*Valerianae radix*) 7 vrpca, a u etanolnom ekstraktu perikarpa graha (*Phaseoli pericarpium*) 6 vrpca (slika 4.). Pojedine R_f vrijednosti sastavnica ekstrakta i R_f vrijednosti poredbenih aminokiselina prikazane su u tablici 1.



Standard Standard Urticae Valerianae Phaseoli Standard
ak. ak. folium radix pericarpium ak.

Slika 4. Kromatogram aminokiselina lista koprive (Urticae folium), korijena odoljena (Valerianae radix) i perikarpa graha (Phaseoli pericarpium)

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 lista koprive (Urticae folium)	R _f vrijednost aminokiselina u ekstraktu korijena odoljena (Valerianae radix)	R _f vrijednost aminokiselina u ekstraktu perikarpa graha (Phaseoli pericarpium)
Cistein (Cis)	0.060	0.058	0.058	-
Histidin (His)	0.089	0.088	0.089	-
Lizin (Lys)	0.119	0.119	-	-
Glutamin (Gln)	0.194	0.179	0.179	-
Serin (Ser)	0.209	-	-	0.209
Glicin (Gly)	0.254	-	-	-
Treonin (Thr)	0.298	0.298	0.283	0.283
Gl.kiselina (Glu)	0.313	0.313	0.313	0.313
Alanin (Ala)	0.358	-	-	-
Prolin (Pro)	0.403	0.388	-	0.403
Tirozin (Tyr)	0.433	-	-	-
Valin (Val)	0.552	0.552	0.552	0.552
Fenilalanin (Phe)	0.612	-	-	-
Leucin (Leu)	0.716	0.701	0.701	0.716

Usporedbom R_f vrijednosti sastavnica ekstrakta s R_f vrijednostima poredbenih supstancija u listu koprive (*Urticae folium*) vidljivo je da sadrži slijedeće aminokiseline: histidin (His), cistein (Cis), lizin (Lys), glutamin (Gln), glutaminsku kiselinu (Glu), treonin (Thr), prolin (Pro), valin (Val) i leucin (Leu). Usporedbom R_f vrijednosti sastavnica ekstrakta s R_f vrijednostima poredbenih supstancija u korijenu odoljena (*Valerianae radix*) kako se vidi iz slike 4. i tablice 1. prisutne su slijedom odozdo prema gore slijedeće aminokiseline: histidin (His), cistein (Cys), glutamin (Gln), glutaminsku kiselinu (Glu), treonin (Thr), valin (Val), leucin (Leu). Usporedbom R_f vrijednosti sastavnica ekstrakta s R_f vrijednostima poredbenih supstancija u perikarpu graha (*Phaseoli pericarpium*) vidljivo je da sadrži slijedeće aminokiseline: serin (Ser), glutaminsku kiselinu (Gln. kis.), treonin (Thr), prolin (Pro), valin (Val), leucin (Leu). Dobiveni rezultati pokazuju da se u listu, korijenu i mahuni različitih biljaka nalaze različite aminokiseline.

ZAKLJUČAK

Metodom tankoslojne kromatografije dokazano je da etanolni ekstrakt lista koprive (*Urticae folium*) sadrži slijedeće aminokiseline: histidin (His), cistein (Cis), lizin (Lys), glutamin (Gln), glutaminsku kiselinu (Glu), treonin (Thr), prolin (Pro), valin (Val) i leucin (Leu), u etanolnom ekstraktu korijena odoljena (*Valerianae radix*) tom je metodom dokazana prisutnost slijedećih aminokiselina: histidin (His), cistein (Cys), glutamin (Gln), glutaminska kiselina (Glu), treonin (Thr), valin (Val), leucin (Leu), a u etanolnom ekstraktu perikarpa graha (*Phaseoli pericarpium*) prisutne su aminokiseline: serin (Ser), glutaminska kiselina (Glu), treonin (Thr), prolin (Pro), valin (Val), 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 jednaka za sve tri 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. M. Wichtl, *Urticae folium*, *Valerianae radix* et *Phaseoli pericarpium*. In: *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals*, Medpharm Scientific Publishers Stuttgart, 1994, 373, 505.
2. A. Tahri, S. Yamani, A. Legssyer M. Aziz, H. et.al. *Mekhf.*, *J Ethnopharm.* 73 (1-2) (2000) 95.
3. M. Ganzera, D. Pierender, S. Sturm, C. Erdelmeier, H. Stuppner, *Electrophoresis.* 26 (9) (2005) 1724.
4. L. Dvorkin, K.Y. Song, *Ann Pharmacother.* 36 (9) (2002) 1443.
5. M. Haouari, M. Bnauham, M. Bendahou, M. Aziz, A.et.al. *Ziyat*, *Phytother Res.* 20 (7) (2006) 568.
6. K. Riehemann, B. Behnke, K. Schulze – Sthoff, *Febs Lett.* 442 (1999) 89.
7. P.J. Houghton, *J Pharm Pharmacol.* 51 (5) (1999) 505.

8. R. Roman-Ramos, J.L. FloresSaenz, F.J. AlarconAguilar, *J Ethnopharm.* **48** (1) (1995) 25.
9. V. Le Berre-Anton, V. Nahoum, A. Barre, G. Marchis-Mouren, F. Payan, P. Rouge, *Rec Adv Res Antinut Fact in Legume Seeds and Rapeseed.* **93** (1998) 131.
10. V. Nahoum, G. Roux, V. Anton, P. Rouge, A. Puigserver, H et al Bischoff, *Biochem J.* **346** (21) (2000) 201.
11. 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) 71.
11. 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) 58.
11. c) 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) 67.
12. E. Vivian, M. D. Shih, Thinlayer chromatography. In: *Laboratory Techniques for the Detection of Hereditary Metabolic Disorders*, CRC Press, 1979; 25.

Primljeno: 3. listopada 2006.