

Eleutherococcus senticosus Maxim. - istraživanje saponina i antimikrobnog djelovanja

Tarle, Đurđica; Kosi-Čulibrk, Emina

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1993, 49, 161 - 166**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:357472>

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. XLXI

LIPANJ 1993.

BROJ 6

FAGLAI

Farm.Glas.

ISSN 014-8202

NAUČNI RADOVI

Durđica Tarle i Emina Kosi-Čulibrk (Zagreb)

Eleutherococcus senticosus Maxim. – istraživanje saponina i antimikrobnog djelovanja

Primljeno 04. 03. 1993.

Eleutherococcus senticosus Maxim. – investigation of saponins and antimicrobial activity

S u m m a r y – From methanolic extract of Eleutherococcus senticosus Maxim. individual saponin »D« (Rf = 0,66) and mixture of substances »C« (Rf = 0,59) and »D« (Rf = 0,66) were isolated. Upon hydrolysis the aglycon portion of saponin glycosides corresponded chromatographically to authentic oleanolic acid. In sugar part glucose, rhamnose and arabinose by means of the TLC were established. Individual saponin substance »D« (Rf = 0,66) investigated on antimicrobial effect against the seven test microorganisms. Isolated substance did not show any antimicrobial activity.

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

UVOD

U traženju alternative za istočnoazijski ginseng, ruski su istraživači otkrili biljnu vrstu *Eleutherococcus senticosus Maxim.*, te tako pronašli još jedan prirodni lijek koji se može upotrebljavati za održavanje i aktiviranje obrambene sposobnosti organizma. Brekhman (1, 2), uvodeći 50-tih godina eleuterokok u terapiju, uveo je u klasifikaciju djelotvornih supstancija adaptogene. O tome je opširno u teoretskom radu literaturne podatke iznijela D. Kuštrak (3) u Farmaceutskom glasniku, 1/1993.

Eleutherococcus senticosus Maxim (sin. *Acanthopanax senticosus* [Rupr. et Maxim.] Harms) pripada porodici *Araliaceae* (bršljani). *Eleutherococcus senticosus Maxim* nalazi se u literaturi i pod imenom Tajga-korijen i vražji grm. To je lijepi grm 2–6 m visok, malih žućkastih cvjetova, koji stoje na dugoj stapci i sakupljeni su u cvat. Korijen raste dosta plitko i skoro horizontalno, cilindričnog je oblika s nekoliko pobočnih nastavaka (sl. 1).



Slika 1. *Eleutherococcus senticosus Maxim.*

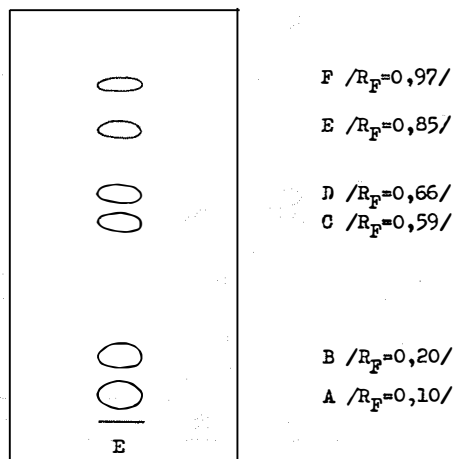
Wagner (4) je sistematizirajući droge i njihove djelatne supstancije prema farmakološko-terapijskom učinku razvrstao eleuterokok u grupu – roborancija, tonika i geriatrika. *Radix Eleutherococci*, prema Wagneru (4), uz lignane i kumarine sadrži saponinske heterozide – eleuterozide. Saponini su triterpenske strukture, s aglikonom oleanolskom kiselinom, a u šećernom dijelu zastupljeni su glukoza, ramnoza i arabinoza.

U novije vrijeme biljna vrsta *Eleutherococcus senticosus Maxim.* postaje veoma zanimljiva za europsku farmaceutsku industriju. Biljka već dugo nalazi svoje mjesto u ruskoj pučkoj i oficinalnoj medicini. Ekstrakt korijena je oficinalan u ruskoj farmakopeji. Primjenjuje se kao imunostimulator, antistresno sredstvo, profilaktik kod prehlade i gripe, kod nesanice, ateroskleroze, hipertenzije, reumatizma, kroničnog bronhitisa, tumorskih oboljenja te kod rekonvalescenata (2, 5). Danas već postoje mnogi oblici ljekovitih pripravaka eleuterokoka (npr. kapi, alkoholni ekstrakt, kapsule, dražeje i masti).

EKSPERIMENTALNI DIO

Ispitivani materijal

Za ispitivanje upotrijebljen je sadržaj kapsula preparata Bio-Taiga *Eleutherococcus* tvrtke »Hermes«. Svaka kapsula sadržavala je 100 mg ekstrakta kori-



Sistem otapala: kloroform-metanol-voda (17,5 : 7,5 : 1)

Reagens za detekciju: klorsulfonska kiselina

E = metanol ekstrakt korijena

Slika 2. Kromatografija tankog sloja metanolnog ekstrakta korijena biljne vrste *Eleutherococcus senticosus Maxim.*

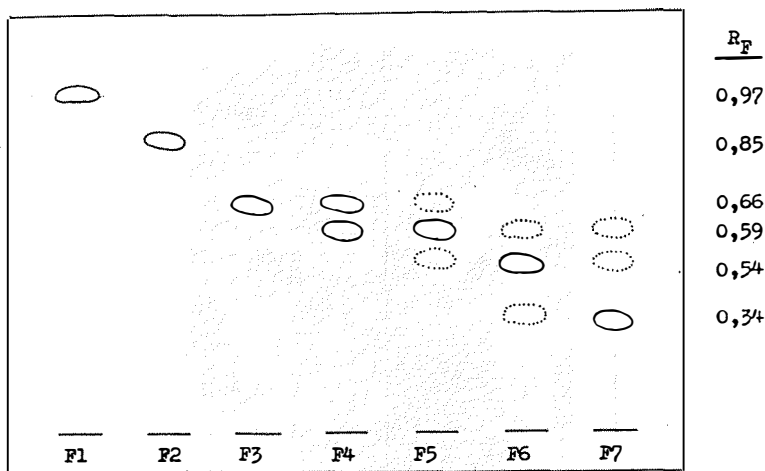
jena biljke *Eleutherococcus senticosus Maxim.*, a u postupak je uzeto 100 kapsula. Ekstrakt za ispitivanje pripremljen je ekstrakcijom suhog, zdrobljenog sadržaja kapsula s metanolom.

Ispitivanje nazočnosti saponina

Uzorak droge ispitivan je s obzirom na nazočnost saponina TS-kromatografijom. Ispitivanje je provedeno na originalnim staklenim pločama sa slojem Kieselgela 60 F 254 uz sistem otapala kloroform – metanol – voda u različitim volumnim omjerima. Kako se je pri odjeljivanju supstancija najboljim pokazao sistem otapala kloroform – metanol – voda 17,5 : 7,5 : 1,0, ovaj sistem otapala upotrijebljen je u našem daljnjem radu (slika 2). Za otkrivanje saponina na pločama upotrijebljena je klorsulfonska kiselina (6).

Izolacija saponina

Saponini su izolirani iz ekstrakta kromatografijom na stupcu. Saponinske supstancije odjeljivane su višekratno na stupcu SiO₂ (veličine čestice 0,06 – 0,20 mm), uz sistem otapala kloroform – metanol – voda 17,5 : 7,5 : 1,0. Dobivena je saponinska smjesa od dvije supstancije »C« i »D« i jedna kromatografski jedinstvena supstancija »D« koja nije pokazala hemolitičko djelovanje (slika 3).



Sistem otapala: kloroform-metanol-voda (17,5 : 7,5 : 1)
Reagens za detekciju: klorosulfonska kiselina
F1–F7 = frakcije dobivene odjeljivanjem saponinskih
komponenti na stupcu SiO₂

Slika 3. Kromatografija tankog sloja izoliranih saponinskih supstancija.

Ispitivanje antimikrobne aktivnosti izoliranih saponinskih supstancija

Izolirane saponinske supstancije ispitane su s obzirom na antimikrobnu aktivnost. Od izoliranih supstancija ispitana je kromatografski jedinstvena supstancija »D«. Ispitivanje je izvedeno na sedam test mikroorganizama mikrobiološkom metodom difuzije u agaru, postupkom bušenja rupa u krutoj hranjivoj podlozi (7, 8). Za ispitivanje su upotrijebljeni ovi mikroorganizmi: *Candida monosa* (osjetljiva na nistatin), *Escherichia coli* ATCC 10536, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538–P, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 10031, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 23382 i *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Kisela hidroliza izoliranih saponinskih supstancija

Izolirana saponinska frakcija F4 (supstancije »C« i »D«) (slika 3) podvrgnuta je kiseloj hidrolizi. Supstancija je suspendirana u 20 ml 3N–HCl. Suspenziji je dodano 40 ml benzena i sve zagrijavano uz povratno hladilo na temperaturi od 90 °C u trajanju od 1 sata. Nakon hlađenja u lijevku za odjeljivanje benzenska faza odijeljena je od vodenog sloja. Vodeno-kiseli sloj izmućkan je 3 puta s kloroformom, kloroformske su iscrpine sjedinjene s benzenskim slojem, osu-

šene sa suhim natrij-sulfatom i uparene do suha. Suhi ostatak služio je za identifikaciju aglikona TS-kromatografijom uz sistem otapala benzen – aceton 9 : 2 i reagens klorsulfonsku kiselinu.

Zaostali vodeno-kiseli sloj upotrijebljen je za identifikaciju šećera TS-kromatografijom uz sistem otapala kloroform – metanol – voda 64 : 36 : 8 i reagens za detekciju šećera timol-sulfatnu kiselinu (9).

REZULTATI I DISKUSIJA

Nazočnost saponinskih supstancija utvrđena je TS-kromatografijom. Na kromatogramu je dobiveno šest mrlja of kojih su uočene dvije crvenoljubičaste mrlje, koje bi prema obojenju s klorsulfonskom kiselinom odgovarale saponinskim supstancijama (slika 2). To su prema redoslijedu obilježavanja supstancije »C« (Rf = 0,59) i »D« (Rf = 0,66).

Metanolni ekstrakt *Eleutherococci radix* podvrgnut je odjeljivanju na stupcu SiO₂. Dobiveno je sedam frakcija F₁ – F₇ (slika 3). Odjeljivanjem saponinskih supstancija na stupcu SiO₂ izolirana je jedna kromatografski jedinstvena supstancija »D« (Rf = 0,66) i jedna smjesa od dviju saponinskih supstancija »C« (Rf = 0,59) i »D« (Rf = 0,66).

Izolirana supstancija »D« (Rf = 0,66) u količini od 0,0321 g podvrgnuta je ispitivanju antimikrobnog učinka.

Ispitivanje je izvršeno modificiranom mikrobiološkom metodom (7, 8) difuzije na krutoj hranjivoj podlozi postupkom bušenja rupa. Uzorak je otopljen u 96%-tnom etanolu do 10 mg/ml, a zatim razrijeđen pufer-otopinom pH 7 do 1 mg/ml. Ispitivanju su podvrgnute koncentracije od 5 mg/ml i 1 mg/ml uz odgovarajuće slijepe probe otapala na već prije spomenutim mikroorganizmima. Ploče su inkubirane tijekom 17 sati na 35 °C nakon čega su očitavane zone inhibicije mikroorganizama.

Uzorak nije pokazao antimikrobnu aktivnost na ispitivane mikroorganizme.

Frakcija F₄ (supstancije »C« i »D«) (slika 3) podvrnuta je kiseloj hidrolizi zbog identifikacije aglikona i šećera. Identifikacija aglikona provedena je postupkom TS-kromatografije uz sistem otapala benzen – aceton 9 : 2 i klorsulfonsku kiselinu kao reagens za detekciju. Na kromatogramu su uočene dvije crvenoljubičaste mrlje od kojih jedna mrlja (Rf = 0,21) odgovara autentičnoj oleanolskoj kiselini. Šećerni dio identificiran je u vodeno-kiselom sloju nakon hidrolize postupkom TS-kromatografije uz sistem otapala kloroform – metanol – voda 64 : 36 : 8 i timol-sulfatnu kiselinu kao reagens (9). Na kromatogramu su identificirane tri mrlje Š₁ (Rf = 0,68), Š₂ (Rf = 0,78) i Š₃ (Rf = 0,86) koje odgovaraju autentičnim supstancijama glukozi, ramnozi i arabinozi.

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

Literatura – References

- (1) I. I. Brekhman, *Biochem. Pharmacol.* **50**, 12 (1963).
- (2) I. I. Brekhman, in: *An Introduction to valeology, the science of health*, p. 91–97, *Eleutherococcus*. Leningrad 1987,
- (3) D. Kuštrak, *Farm. Glas.* **49**, 1 (1993).
- (4) H. Wagner, *Pharmazeutische Biologie (2. Drogen und ihre Inhaltsstoffe)*, Gustav Fischer Verlag, Stuttgart-New York 1980, 32, 123, 136.
- (5) S. Bladt, H. Wagner, W. S. Woo, *Deutsche Apotheker Zeitung*, **130**, 1499 (1990).
- (6) R. Tschesche, G. Wulff, *Chem. Ber.* **94**, 2019 (1961).
- (7) Ph. Jug, IV, *Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu*, Beograd, 1984, Vol. 1, 9–100.
- (8) M. Kupinić, *Arh. farm.* **29**, 411 (1979).
- (9) Th. Kartnig, O. Wegscaider, *J. Chromatogr.* **61**, 375 (1971).