

Istraživanje kemijskog sastava bradavke - *Heliotropium europaeum* L.

Maleš, Željani; Trojanović, Ivica

Source / Izvornik: *Farmaceutski glasnik*, 1999, 55, 171 - 186

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:262959>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-10-08**



Repository / Repozitorij:

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



Istraživanje kemijskog sastava bradavke – *Heliotropium europaeum* L.

ŽELJAN MALEŠ¹ i IVICA TROJANOVIĆ²

¹Zavod za farmakognoziiju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta,
Sveučilišta u Zagrebu, 10000 Zagreb

²Ljekarnička stanica »Orebić«, 20250 Orebić

Investigation of Chemical Composition of *Heliotropium europaeum* L.

S u m m a r y – *Heliotropium europaeum* L. is a plant widely used in the traditional medicine against warts. Condensed (catechol) tannins were proved in the aqueous extracts of leaves, flowers and root of *Heliotropium europaeum* upon the colour obtained with vanilin and concentrated hydrochloric acid. Phytochemical screening of extracts proved the presence of flavonoids and alkaloids in all plant parts. Quantitative analysis of flavonoids gave a total content of 0.62% in leaves, 0.31% in flowers and 0.05% in root.

(¹Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia, ²Pharmacy »Orebić«, 20250 Orebić, Croatia)

UVOD

Heliotropium europaeum L. malena je zeljasta biljka s bijelim do svijetlotljubičastim cvjetićima, koja je poznata u narodu pod imenom bradavka ili sunčac. Ta je biljna vrsta u staroj Grčkoj bila oficinalna kao »*Herba heliotropii minoris*« i rabila se kao lijek protiv trakavice. Njeno ime također potječe od grčkih riječi, koje u prijevodu znače da biljka okreće svoje listove prema suncu.

Glavne su djelatne tvari bradavke alkaloidi pirolizidinske strukture, od kojih je većina kancerogena i hepatotoksična. Međutim, neki alkaloidi, npr. europin N-oksid, izoliran iz sjemenki, pokazali su antitumorsku aktivnost.

Cilj ovog našeg rada bio je detaljnije istražiti kemijski sastav navedene biljne vrste.

EUROPSKA BRADAVKA – *Heliotropium europaeum* L.

Europska bradavka, *Heliotropium europaeum* L. pripada rodu *Heliotropium* L. – bradavka, sunčac, i porodici *Boraginaceae* – oštrolisti (1, 2).

Naši su narodni nazivi za *Heliotropium europaeum* L: sunčac, podsolnac, podsunčanica, podsunčenjak, znojrad, razmet bradavicah, bradavka, vjetri-na trava, trava od vjetra, veća i divlja riga (3).

U Njemačkoj je bradavka poznata pod nazivima Weise Sonnenwende, Skorpionskraut, Krebsblume i Warzenkraut; u Francuskoj kao herbe aux verrues, herbe du cancer i tournesol; u Italiji kao porraja i porricela; u Danskoj i Poljskoj kao heliotrop; u Rusiji kao gieljotrop, a u Mađarskoj kao kuntrop. Drugi su poznati nazivi koji označavaju tu vrstu *Solsequium*, *Cauda scorpionis* i *herbacancri*.

Većina naziva opisuje oblik i položaj cvjetova (1, 2).

Naziv *Heliotropium* potječe od grčke riječi *Heliotropión*, koja je sastavljena iz dviju grčkih riječi: *hélios* = sunce, *trepéin* = okret, jer biljka prema Dioskuridu okreće svoje listove prema suncu (1).

BOTANIČKI PODACI

1. Morfološka obilježja porodice *Boraginaceae*

Vrste porodice *Boraginaceae* većinom su zeljaste ili drvenaste biljke, koje se kao jednogodišnje ili trajnice u prirodi javljaju kao grmovi, polugrmovi ili lijanе.

Listovi su im jednostavni i nerazdijeljeni, često cijelog ruba i bez pališća. Poredani su izmjenično, a rijetko djelomično nasuprotno.

Cvjetovi biljaka u te porodice su dvospolni i redovito pravilni (aktinomorfni), te samo ponešto zigomorfni. Skupljeni su najčešće u paštite cvatove koprčice (*cincinnus*) i imaju dvostruko ocvijeće, sastavljeno od čaške i vjenčića. Čaška se sastoji od pet lapova, koji su najčešće više ili manje srasli. Sulatični vjenčić sastavljen od pet latica ima cjevast, ljevkast ili tanjurast oblik te peterokrpast ili peterozupčast obod, dok se u njegovu ždrijelu često nalaze naročiti pokrovni zaklopci. Prašnika ima pet i oni su prirasli za cijev vjenčića. Tučak ima jedan vrat s jednom ili dvjema njuškama, te nadraslu plodnicu, koja je četverogradna ili je upravo razdijeljena na četiri dijela, a u svakom pretincu, odnosno dijelu, sadrži po jedan sjemeni zametak.

Plodovi su kalavci (pucavci), koji se raspadaju na četiri, rijetko samo na dva oraščića. Vrlo rijetko su plodovi u obliku koštunice.

Stabljika i listovi su najčešće obrasli čekinjastim dlakama, koje su većinom opore i oštre (4–6).

Prema Hegnaueru (6), porodica *Boraginaceae* broji oko 1800 vrsta, koje su svrstane u 100 rodova, koji se mogu svrstati u 6 potporodica:

1. *Cordioideae*

2. *Ehretioideae*
3. *Cortesioidae*
4. *Heliotropioideae*
5. *Boraginoideae*
6. *Wellstedioideae*

Hegi (1) navodi da se rod *Heliotropium* sastoji od 220 vrsta.

2. Anatomska obilježja porodice *Boraginaceae*

Većina vrsta porodice *Boraginaceae* ima oštre i opore dlake. To su čekinjaste dlake s jako ovapnjenim i (ili) sa silicijevom kiselinom natopljenim stijenkama.

Kod mnogih vrsta se u korijenu dlake nalaze tvorevine slične cistolitima. Ti cistolitima slični vapnenasti talozi susreću se kod pojedinih vrsta i u stanicama pokraj dlaka. Kod vrsta potporodice *Cordioideae* u epidermi se listova nezavisno od dlaka nalaze stanice s cistolitima. Osim toga, oblik i raspodjela cistolita i cistolitima sličnih tvorevina su za vrste te potporodice sustavno važni.

Osim čekinjastih dlaka u porodici *Boraginaceae* česte su i žljezdane dlake s jednostaničnom glavicom.

Kristali kalcij-oksalata izostaju kod vrsta te porodice, ili se pojavljuju u obliku grozdova, te pojedinačnih kristala ili kristala pijeska. Samo kod potporodice *Cordioideae* i roda *Tournefortia* kalcij-oksalat je u obliku cjevastih kristala.

Trjeslovinski idioblasti su različito opisani. Tako idioblasti u žilama listova rodova *Cynoglossum*, *Lappula* i *Omphalodes* čine »smolaste ili obojene prateće cjevaste stanice«.

Za vrste potporodice *Cordioideae* karakteristična su masna tjelešca u palisadnom parenhimu listova.

Sluzi su u porodici dosta rasprostranjene, ali ipak većinom nedostaju posebne stanice sa sluzima ili dijelovi ispunjeni sluzima. Stanice parenhima korijena i podanka vrste *Symphytum officinale* L. ispunjene su kiselim sluzima, a uz to često sadrže i škrob. U korijenu vrste *Onosma echioides* L. nalaze se lizogene udubine također ispunjene kiselim sluzima (6).

3. Morfološka obilježja bradavke – *Heliotropium europaeum* L.

Heliotropium europaeum L. je jednogodišnja zelen s dosta jakim i malo razgranatim glavnim korijenom. Izdanak je svijetlozelen s gustim i kratkim prilegnutim dlakama. Stabljika je uspravna i duga 2–3 dm, dok su listovi jajoliko lancetasti i poredani izmjenično. Listovi su ravna ruba, sprijeda zaobljeni, plosnati i s obiju strana mekani zbog sloja dlaka, peraste nervature. Dugi su 3–4 cm, široki 1–2 cm i imaju 0.5–2.5 cm dugu peteljku.

Cvjetovi bradavke dugi su 3–4 mm, široki oko 3 mm i sjedeći. Skupljeni su u vršne ili bočne račvaste cvatove – koverčice. Ti su cvatovi djelomično uvi-



Slika 1. EUROPSKA BRADAVKA – *Heliotropium europaeum* L.

jeni, dugi 2–6 cm i gusti (Slika 1.). Čaška je gotovo do dna obrasla s bodljikavim, gustim čekinjastim dlakama, a njen se vršak zvjezdasto proširi za vrijeme dozrijevanja ploda. Vjenčić je bijel do plavkastobijel, dok je ždrijeb vjenčića žuto i cjevasto te slabo nadrasta čašku. Vjenčić je plitkičast, naborena ruba. Prašnici su prirasli za cijev vjenčića, a peludnice su zašiljene i gotovo sjedeće. Plodnica je četverogradna, sitno bradavičasta sa kratkim vratom i tučkom. Njuška tučka je sjedeća, stožasta, šiljasta i produžena, te sprijeda i nazad uscijepljena na dva dijela.

Plodovi te biljne vrste su oraščići jajasta do kruškasta oblika, dugi 2–3 mm, krupno bradavičasti bez dlaka ili slabo dlakavi, tamnosmeđi sa malim eliptičnim urezima (2, 6, 7).

4. Geografska rasprostranjenost bradavke

Heliotropium europaeum L. (bradavka) raste kao samonikla biljka na poljima, na zapuštenim i ruderalnim mjestima.

U Sredozemlju se bradavka pojavljuje naročito na ratarskim površinama (polja, vrtovi, vinogradi, nasadi maslina, kukuruzna polja), na zapuštenoj zemlji, šljunkovitom tlu te uz rubove cesta.

U području rijeka kao što su Dunav i Gornja Rajna biljka je prisutna kao arheofit, a drugdje je slabije rasprostranjena.

Općenito je rasprostranjena po cijelom Sredozemlju, od Portugala do Egipta, Sirije, pa preko Prednje do Srednje Azije, i u podunavskim zemljama. Udomaćena je u srednjoj Francuskoj, srednjoj Njemačkoj i Austriji.

Na pješćanim tlima bradavka se javlja u zajednici s drugim biljkama, kao što su *Eragrostis minor*, *Setaria viridis* i *S. verticillata*, *Portulaca oleracea*, *Lappula echinata*, *Lycopsis arvensis*, *Valerianella carinata* i dr., dok na Jadranu raste pojedinačno.

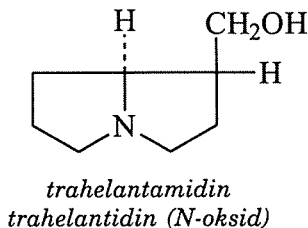
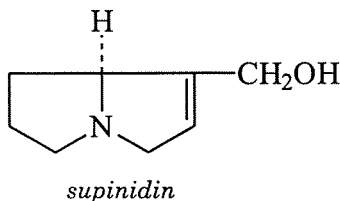
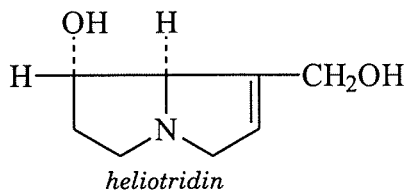
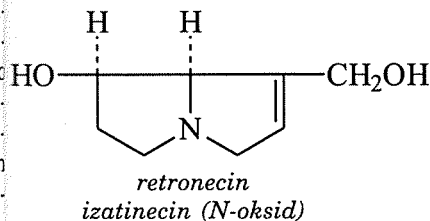
KEMIJSKI PODACI

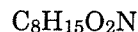
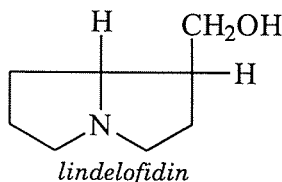
1. Kemijski sastav porodice *Boraginaceae*

U toj porodici zastupljeni su sljedeći spojevi: alkaloidi, alkanin i srodne tvari, ugljikohidrati, polifenoli, spojevi s dušikom, pričuvne tvari te ostale tvari (6).

Alkaloidi

Alkaloidi nazočni u vrstama te porodice pirolizidinske su strukture. Javljaju se u obliku estera građenih iz necina (=aminoalkohol pirolizidinske strukture) i necilne kiseline (izoprenoidno građena kiselina). Poznato je mnogo alkaloida porodice *Boraginaceae* i svi su esteri 6 necina: retronecina, heliotridina, supinidina, trahelantamidina, lindelofidina i tourneforcidina,





tourneforticin:
struktura nije poznata

te dušikovih oksida, od kojih dva imaju trivijalna imena: izatinecin i trahe lantidin.

Alkanin i srodne tvari

Mnoge vrste porodice *Boraginaceae* pri sušenju tvore u korijenju i (ili) listovima crvenu boju topljivu u mastima – alkanin. Uz alkanin izolirane su još dvije obojene supstancije nazvane shikonin i tinktorin.

Te se supstancije pojavljuju u obliku labilnih estera i pretpostavlja se da se oboje tek pri sušenju biljke. Karakteristične su za južnoeuropsku vrstu *Alkanna tinctoria* Tausch (= *Anchusa tinctoria* L.), iz čijeg su korijenja izolirani alkanin i tinktorin, te za japansku vrstu *Lithospermum erythrorhizon* Sieb. et Z. čije korijenje sadrži shikonin.

Alkaninima srodne obojene supstancije pronađene su i kod mnogih rodova u potporodici *Boraginoideae*.

Ugljikohidrati vegetativnih organa

Mnoge dvogodišnje biljke i trajnice iz porodice *Boraginaceae* sadrže u podancima, osim mnogo sluzi, i reducirane šećere, saharozu, te 5.15% fruktana (npr. u svježem podanku vrste *Symphytum officinale* L.). Neke vrste, kao što su *Anchusa sempervirens* i *Symphytum officinale*, istodobno uz fruktane sadrže i škrob.

Polifenoli

U ekstraktima listova mnogih vrsta porodica *Boraginaceae* dokazane su klorogenska i kavena kiselina.

Iz korijena vrste *Lithospermum ruderale* L. izolirana je litospermalna kiselina, koja je derivat kavene kiseline.

Kao česti sastavni dio listova mnogih vrsta dokazani su kamfor i flavonolski aglikon kvercetin.

Flavonoid rutin izoliran je iz zeleni vrsta *Lithospermum officinale* L. i *Lithospermum ruderale* L.

Trjeslovine su prisutne kod drvenastih biljaka potporodica *Cordioideae* i *Ehretioideae*.

Spojevi s dušikom

Od dušikovih spojeva najznačajnije su cijanogenetske tvari u obliku cijanovodika (*Borago officinalis* L.) i cijanogenetskih heterozida (*Lithospermum ruderale* L.), te alantoin.

Alantoin je dokazan kod mnogih vrsta porodice *Boraginaceae*, što znači da biljke akumuliraju i transportiraju dušik u vegetativne organe u obliku alantoina.

Pričuvne tvari sjemenaka

Mnoge biljke porodice *Boraginaceae* u sjemenkama sadrže masno ulje. Sadržaj masnog ulja različit je od vrste do vrste, a njegovi su glavni sastojci palmitinska, stearinska i linolenska kiselina.

U sjemenoj lupini srasloj sa stijenkom ploda prisutne su i neznatne količine bjelančevina, koje sadrže hidroksiprolin.

Ostale tvari

a) Lipoidi

Ti spojevi su karakteristični za pojedine vrste roda *Lithospermum*.

b) Saponini

Saponini slabog hemolitičkog djelovanja, koji se jako pjene i talože kolesterol, izolirani su iz vrste *Pulmonaria officinalis* L.

c) Otopljena silicijeva kiselina

Silicijeva kiselina je prisutna u listovima vrsta porodice *Boraginaceae* i to u otopljenom obliku.

d) Eterična ulja

Eterično ulje dobiveno je iz vrste *Cordia chacoensis*, a glavni su sastojci seskviterpeni i seskviterpenski alkoholi.

e) Mangan

Neke vrste porodice *Boraginaceae* sadrže u nadzemnom dijelu određene količine mangana (6).

2. Kemijski sastav bradavke

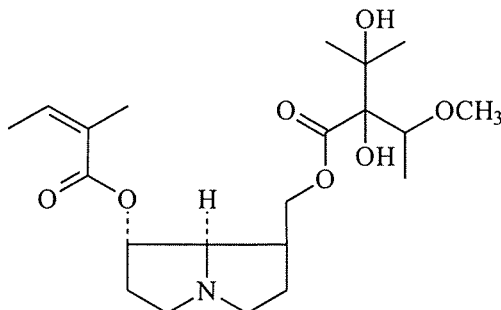
Alkaloidi su najznačajnije i najkarakterističnije kemijsko obilježje vrste *Heliotropium europaeum* L.

Iz zeleni bradavke izolirani su sljedeći alkaloidi pirolizidinske strukture: heliotrin, laziokarpin, baza C (= heleurin), baza G (=europin), supinin i N-oksidi navedenih baza.

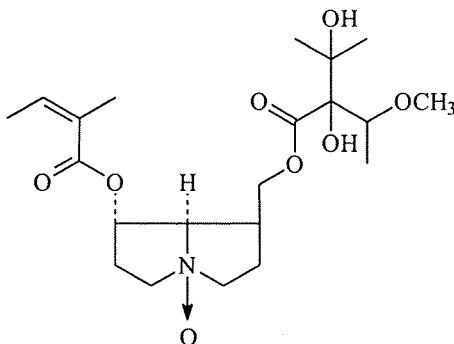
Sjemenke sadrže iste alkaloidne, ali najviše u obliku N-oksida, dok korijen i orašići sadrže alkaloid cinoglozin, koji se prije označavao kao heliotropin (6, 8, 9).

Heliotropin (cinoglozin) otrovan je alkaloid, a oslobađa se ekstrakcijom droge sa slabo kiselim vodom, taloženjem s amonijakom i izmučivanjem s

eterom. Izlučuje se u eteru, a zatim se iskristalizira. Gorkog je okusa i hladljiv (10).



Laziokarpin $C_{21}H_{33}O_7N$



Laziokarpin N-oksid $C_{21}H_{33}O_8N$

DJELOVANJE I UPORABA BRADAVKE

Heliotropium europaeum L. ima purgirajuće djelovanje, a primijenjena izvana, ta je vrsta djelotvorna protiv bradavica, oteklina od karcinoma i izjedajuće ulceracije.

Vrsta je bila oficinalna u staroj Grčkoj kao »*Herba Heliotropii minoris*« i tada se primjenjivala kao lijek protiv trakavice.

Osim toga, ta mala zeljasta biljka gorka okusa rabila se i protiv ujeda škorpiona ili zmije zbog oblika cvatova, zatim protiv bradavica zbog bradavičaste stijenke oraščića, te kao sredstvo za rane i za istjerivanje mrava (1).

Otkriveno je da alkaloid cinoglozin izoliran iz korijena i sjemenki ove biljke nakon kratkog nadraživanja pokazuje paralizirajuće djelovanje, te da alkaloidi izolirani iz svih vrsta roda *Heliotropium* djeluju kancerogeno (2, 8).

Europin N-oksidi izolirani iz sjemenki *Heliotropium europaeum* L. pokazao je aktivnost na P 388 tumor kod limfatičke leukemije (11). Dokazano je i da je većina pirolizidinskih alkaloida hepatotoksična, a samo su neki pokazali antitumorsku aktivnost (12).

EKSPERIMENTALNI DIO

Biljni materijal

Kao materijal za ispitivanje uporabljeni su listovi, cvjetovi i korijen bradavke, *Heliotropium europaeum* L., skupljeni 1. srpnja 1996. godine na području Orebića.

1. Identifikacija biljnog materijala

Identitet ispitivane biljne vrste potvrđen je ispitivanjem vanjske i unutarnje građe skupljenog uzorka. Ispitivanje je provedeno prema literaturnim podacima (1) i farmakopejskim propisima za »Ispitivanje droga«.

2. Dokazivanje trjeslovina reakcijama stvaranja taloga i reakcijama stvaranja obojenih produkata

Ispitivanju su podvrgnuti ekstrakti listova, cvjetova i korijena bradavke. Ekstrakt je pripremljen tako da je 1 g pulveriziranog biljnog materijala ekstrahirano sa 100 mL destilirane vode 15 minuta na vodenoj pari uz povratno hladilo. Bistri filtrat, nakon hlađenja služio je kao otopina za dokazivanje trjeslovina.

Opće reakcije za dokazivanje trjeslovina provedene su u četiri epruvete: u prve tri epruvete (a, b, c) sa 2 mL filtrata, a u četvrtoj (d) sa 5 mL filtrata. U epruvetu a) su dodane 2 kapi otopine željezo (III)- klorida, u epruvetu b) 2–3 kapi željezo (III)-amonij-sulfata, u epruvetu c) 2 mL otopine želatine, a u epruvetu d) 0.5 mL otopine olovo- subacetata. Zatim je promatran nastanak taloga ili obojenih produkata.

Reakcija na flobatanine izvedena je u epruveti sa 6 mL filtrata, kojem su dodane 3 kapi formaldehida i 6 kapi 10%- tne kloridne kiseline. Dobivena je otopina zatim zagrijana do vrenja i ohlađena. U slučaju stvaranja taloga otopina se filtrira, a filtrat ispere sa 1 mL tople vode i sjedini s prvim filtratom. Zaostali talog na filtru pokuša se otopiti u 10 mL tople 5%- tne otopine kalij-hidroksida.

Reakcija na pirogalolske trjeslovine izvedena je tako da je u 5 mL filtrata, dobivenog taloženjem flobatanina pomoću formaldehida i kloridne kiseline, dodan 1g natrij-acetata, bez potresivanja epruvete. Nakon toga je dodan 1 mL otopine željezo (III)-amonij-sulfata.

Za dokazivanje katehinskih trjeslovina 0.2 g pulveriziranog biljnog materijala pomiješano je sa 10 mL metanola, zagrijano do vrenja i filtrirano. Za-

tim je 1 mL filtrata pomiješan sa 0.5 mL otopine vanilina (1 g: 100 mL 96% etanola) i 1 mL koncentrirane kloridne kiseline (13).

3. Dokazivanje flavonoida tankoslojnom kromatografijom

Ispitivanju su podvrgnuti ekstrakti listova, cvjetova i korijena bradavke uz poredbenu supstanciju rutin. Ekstrakt je pripremljen tako da je 0.5 g pulveriziranog materijala ekstrahirano sa 10 mL metanola 30 minuta na vodenoj kupelji uz povratno hladilo. Bistri filtrat, nakon hlađenja, služio je kao otopina za kromatografsko ispitivanje.

Otopina poredbene supstancije pripremljena je otapanjem 5 mg rutina u 2 mL metanola.

Kromatografija flavonoida provedena je na tankom sloju Kieselgela 60 F₂₅₄ uz smjesu otapala: etilacetat – mravlja kiselina – ledena octena kiselina – voda (100:11:11:27 V/V) (14b). Ekstrakti listova i cvjetova nanoseni su u količini od 20 µL, korijena od 40 µL, a otopina poredbene supstancije u količini od 2 µL na stacionarnu fazu.

Detekcija odijeljenih flavonoida provedena je promatranjem pod UV zračenjem kod 365 nm nakon prskanja kromatograma modificiranim Naturstoff reagensom (NST/PEG). Reagens je pripremljen miješanjem 1%-tne metanolne otopine β-etil-aminoestera difenilboratne kiseline (NST) i 5%-tne etanolne otopine polietilenglikola 4000 (PEG).

Modificirani Naturstoff reagens specifičan je reagens za detekciju flavonoida. Nastale fluorescencije uvjetovane su samom strukturom flavonoidnih spojeva. Narančaste fluorescencije karakteristične su za derivate kvercetina miricetina (flavonoli) i luteolina (flavon), a žutozelene za derivate kemferola izoramnetina (flavonoli) i apigenina (flavon). Dodatkom PEG-a povisuje se granica detekcije (14b).

4. Određivanje količine flavonoida

Za određivanje količine ukupnih flavonoida rabljena je spektrofotometrijska metoda prema Christu i Mülleru (15). Navedena metoda temelji se na hidrolizi flavonoidnih heterozida i određivanju ukupnih aglikona nakon stvaranja kompleksa s Al³⁺ u smjesi metanola, etilacetata i octene kiseline.

Kvantitativna analiza flavonoida provedena je u uzorcima listova, cvjetova i korijena.

5. Dokazivanje alkaloida tankoslojnom kromatografijom

Ekstrakti ispitivanih uzoraka listova, cvjetova i korijena, pripremljeni su tako da je 1 g pulveriziranog biljnog materijala navlažen sa 1 mL 10% tnog amonij-hidroksida i 5 mL metanola, te ekstrahirano 5 minuta uz potresavanje na 60°C na vodenoj kupelji. Dobiveni ekstrakt filtriran je preko navlaženog filter-papira (14a).

U svrhu odstranjivanja klorofila 1 mL ekstrakta prenese se u kivetu za centrifugiranje, doda se 0.4 mL tetraklorugljika i 0.6 mL destilirane vode

96% Nakon centrifugiranja odijeli se vodeno-metanolni sloj (16). Dobivena otopina služi za kromatografsko ispitivanje.

Kromatografija alkaloida provedena je na tankom sloju Kieselgela 60 F₂₅₄ u dva različita razvijaa. Kao jedan razvijaa primijenjena je smjesa otapala toluen – etilacetat – dietilamin (70:20:10 V/V) (14a), a kao drugi smjesa otapala kloroform – metanol – koncentrirani amonij-hidroksid (90:10:1 V/V) (17). Ekstrakti listova i cvjetova nanoseni su u količini od 50 µL, a ekstrakt korijena u količini od 100 µL na stacionarnu fazu.

Detekcija odijeljenih alkaloida provedena je prskanjem Dragendorffovim reagensom (14a).

60 **REZULTATI I RASPRAVA**

ina u e 1. *Anatomska identifikacija listova*

List bradavke pokazuje dorziventralnu građu. Među poligonalnim stanicama epiderme lica i naličja lista nalaze se jednostanične dlake bradavičaste kutikule široke baze u čijem su lumenu cistoliti kalcij-karbonata kruškasta oblika i različite veličine. Osim čekinjastih dlaka među stanicama gornje epiderme mogu se vidjeti i žljezdaste glavičaste dlake, koje se sastoje od jednostaničnog drška i glavice. Puči se nalaze samo na donjoj epidermi. Mezofil je građen od jednog reda palisadnog parenhima i gustog spužvastog parenhima. U mezofilu nisu uočeni kristali kalcij-oksalata.

na ola 2. *Anatomska identifikacija korijena*

se Na smeđu peridermu i reducirani mezofloem naslanja se razvijeni endofloem u kojem se ističu srčikine zrake građene od tri reda stanica. Mnoge parenhimske stanice sadrže pijesak kalcij-oksalata. Srčikine zrake drveta građene su kao i srčikine zrake kore, samo što srčikine zrake drveta sadrže pijesak kalcij-oksalata. U osnovnom parenhimu drveta nalaze se traheje građene užim traheidama.

e. vje 3. *Dokazivanje trjeslovina*

Vodeni ekstrakti listova, cvjetova i korijena bradavke ispitani su na nazočnost trjeslovina reakcijama stvaranja taloga i reakcijama stvaranja obojenih produkata. Rezultati tih ispitivanja detaljno su prikazani u tablici 1.

eni 9% esi 4. *Dokazivanje nazočnosti flavonoida*

Metanolni ekstrakti listova, cvjetova i korijena bradavke ispitani su na nazočnost flavonoida tankoslojnom kromatografijom.

Odjeljivanjem flavonoida sa smjesom otapala etilacetat – mravlja kiselina – ledena octena kiselina – voda (100:11:11:27 V/V), ekstrakti listova i cvjetova pokazuju sličan flavonoidni sastav, jer se u oba ekstrakta uočava po 7

Tablica 1.
Dokazivanje trjeslovina u ekstraktima listova, cvjetova i korijena bradavke
– *Heliotropium europaeum* L.

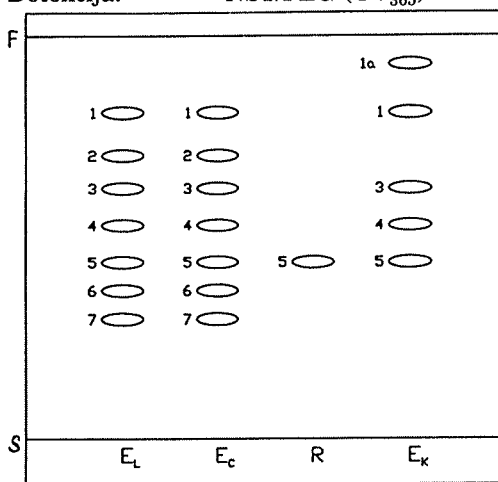
vodeni ekstrakt	listova	cvjetova	korijena
a) reakcija sa željezo (III)-kloridom	tamnosomeđi talog	tamnosomeđi talog	nema promjene
b) reakcija sa željezo (III)-amonij-sulfatom	tamnosomeđi talog	tamnosomeđi talog	nema promjene
c) reakcija s otopinom želatine	tamnosomeđe obojenje	tamnosomeđe obojenje	posvjetlio
d) reakcija s olovo-subacetatom	svijetlosmeđi talog	svijetlosmeđi talog	zamućenje
e) reakcija na flobatanine s formaldehidom i kloridnom kiselinom	nema promjene	nema promjene	nema promjene
f) reakcija na pirogalolske trjeslovine s natrij-acetatom i željezo (III)-amonij-sulfatom	nema promjene	nema promjene	nema promjene
g) reakcija na katehinske trjeslovine s otopinom vanilina i konc. kloridnom kiselinom	ružičasti prsten	ružičasti prsten	ružičasti prsten

Skica 1. Dokazivanje nazočnosti flavonoida tankoslojnom kromatografijom

Stacionarna faza: Kieselgel 60 F₂₅₄ (Alufolien)

Razvijatelj: etilacetat – mravlja kiselina – ledena octena kiselina – voda (100:11:11:27 V/V)

Detekcija: NST/PEG (UV₃₆₅)



Broj mrlje	R _F
1a	0.93
1	0.81
2	0.70
3	0.63
4	0.52
5	0.44
6	0.36
7	0.29

S = start, F = fronta, E_L = metanolni ekstrakt listova
E_C = metanolni ekstrakt cvjetova, R = rutin (poredbena supstancija)
E_K = metanolni ekstrakt korijena

mrlja narančaste, žutozelene i zelene fluorescencije. Ti ekstrakti sadrže četiri mrlje narančaste fluorescencije: mrlje pod brojevima 2 ($R_F = 0.70$); 3 ($R_F = 0.63$), 5 ($R_F = 0.44$) i 7 ($R_F = 0.29$); zatim dvije mrlje žutozelene fluorescencije: mrlje pod brojevima 4 ($R_F = 0.52$) i 6 ($R_F = 0.36$); te jednu zelenu mrlju – mrlja broj 1 ($R_F = 0.81$). Od narančastih mrlja najintenzivnije je obojena mrlja broj 5 ($R_F = 0.44$), koja i prema narančastoj fluorescenciji i prema R_F vrijednosti odgovara poredbenoj supstanciji rutinu ($R_F = 0.44$).

Mrlje narančaste fluorescencije pod brojevima 2 ($R_F = 0.70$) i 3 ($R_F = 0.63$) pripadale bi flavonoidima koji su nepolarniji od rutina.

Mrlja pod brojem 7 nalazi se u donjem R_F području ($R_F = 0.29$) i pripadala bi nekom polarnijem flavonoidu.

S obzirom na intenzitet obojenja mrlja, čini se da list sadrži veću količinu flavonoida u odnosu na cvijet.

Najmanji broj mrlja i najslabiji intenzitet obojenja mrlja pokazao je ekstrakt korijena. U tom ekstraktu mogu se uočiti dvije mrlje narančaste fluorescencije, jedna mrlja žutozelene, jedna mrlja zelene, te jedna mrlja plave fluorescencije. Narančaste fluorescencije su mrlje pod brojevima 3 ($R_F = 0.63$) i 5 ($R_F = 0.44$), žutozelene fluorescencije je mrlja broj 4 ($R_F = 0.52$), zelene fluorescencije mrlja broj 1 ($R_F = 0.81$), a plave fluorescencije mrlja broj 1a ($R_F = 0.93$). Mrlja broj 5 prema narančastoj fluorescenciji i prema R_F vrijednosti odgovara poredbenoj supstanciji rutinu ($R_F = 0.44$); mrlja 1a intenzivne plave fluorescencije, mogla bi prema literaturnim podacima pripadati kavenoj kiselini (14b), dok bi mrlje pod brojevima 3 i 4 mogle pripadati flavonoidima, koji su nepolarniji od rutina.

5. Određivanje količine flavonoida

Nakon što je tankoslojnom kromatografijom u listovima, cvjetovima i korijenu bradavke utvrđena nazočnost flavonoida, provedena je kvantitativna analiza flavonoida.

Tablica 2.
Količina ukupnih flavonoida u listovima, cvjetovima i korijenu bradavke

Uzorak	% *flavonolskih derivata računatih kao kvercetin
listovi	0.62 ± 0.03
cvjetovi	0.31 ± 0.01
korijen	0.05 ± 0.01

* $\bar{x} \pm SD$ (n=4)

6. Dokazivanje nazočnosti alkaloida

Nazočnost alkaloida u ekstraktima listova, cvjetova i korijena ispitana je tankoslojnom kromatografijom u dva razvijača (Skica 2. i 3.).

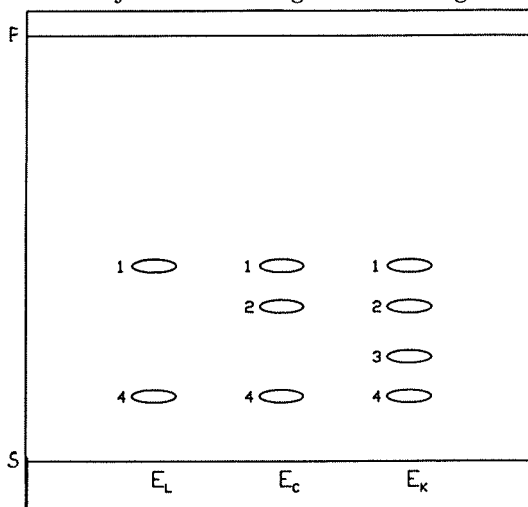
Odjeljivanjem alkaloida smjesom otapala toluen – etilacetat – dietilamin (70:20:10 V/V), te prskanjem Dragendorffovim reagensom, u ekstraktu listova bradavke mogu se uočiti dvije, u ekstraktu cvjetova tri, a u ekstraktu korijenja četiri narančaste mrlje (Skica 2.).

Skica 2. Dokazivanje nazočnosti alkaloida tankoslojnom kromatografijom

Stacionarna faza: Kieselgel 60 F₂₅₄ (Alufolien)

Razvijatelj: toluen – etilacetat – dietilamin (70:20:10 V/V)

Detekcija: Dragendorffov reagens



Broj mrlje	R _F
1	0,46
2	0,36
3	0,25
4	0,15

S = start, F = fronta, E_L = ekstrakt listova
E_C = ekstrakt cvjetova, E_K = ekstrakt korijenja

Najmanji broj mrlja i najslabiji intenzitet obojenja pokazao je ekstrakt listova: mrlje pod brojevima 1 (R_F = 0.46) i 4 (R_F = 0.15).

U ekstraktu cvjetova mrlje su nešto jačeg intenziteta: mrlje pod brojevima 1 (R_F = 0.46), 2 (R_F = 0.36) i 4 (R_F = 0.15), dok ekstrakt korijenja sadrži najviše mrlja i najjačeg intenziteta obojenja: mrlje pod brojevima 1 (R_F = 0.46), 2 (R_F = 0.36), 3 (R_F = 0.25) i 4 (R_F = 0.15).

U ekstraktu korijenja najviše se ističe mrlja broj 4, koja je najintenzivnije obojena (R_F = 0.15).

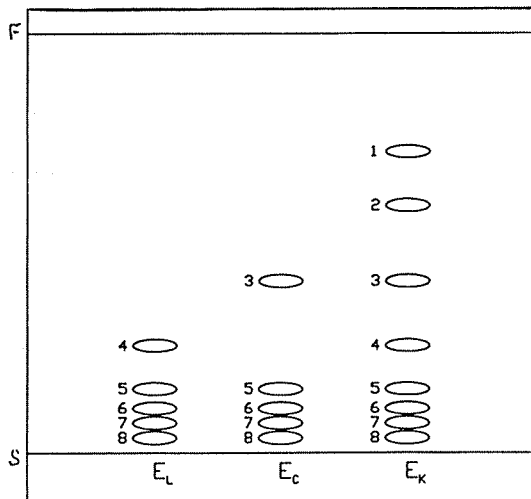
Nešto drugačija kromatografska slika (Skica 3.) dobivena je odjeljivanjem alkaloida smjesom otapala kloroform – metanol – koncentrirani amonij-hidroksid (90:10:1 V/V). U ekstraktu listova uočava se pet mrlja: mrlje broj 4 (R_F = 0.24), 5 (R_F = 0.14), 6 (R_F = 0.11), 7 (R_F = 0.07) i 8 (R_F = 0.04), u ekstraktu cvjetova također pet mrlja: mrlje broj 3 (R_F = 0.41), 5 (R_F = 0.14),

Skica 3. Dokazivanje nazočnosti alkaloida tankoslojnom kromatografijom

Stacionarna faza: Kieselgel 60 F₂₅₄ (Alufolien)

Razvijajući: kloroform – metanol – konc. NH₄OH
(90:10:1 V/V)

Detekcija: Dragendorffov reagens



Broj mrlje	R _F
1	0.71
2	0.59
3	0.41
4	0.24
5	0.14
6	0.11
7	0.07
8	0.04

S = start, F = fronta, E_L = ekstrakt listova
E_C = ekstrakt cvjetova, E_K = ekstrakt korijena

R_F= 0.11), 7 (R_F= 0.07) i 8 (R_F= 0.04), dok se u ekstraktu korijena uočava osam mrlja: mrlje broj 1 (R_F= 0.71), 2 (R_F= 0.59), 3 (R_F= 0.41), 4 (R_F= 0.24), 5 (R_F= 0.14), 6 (R_F= 0.11), 7 (R_F= 0.07) i 8 (R_F= 0.04).

Sva tri ekstrakta sadrže mrlje pod brojevima 5, 6, 7 i 8 od kojih je najintenzivnija mrlja broj 6 (R_F= 0.11). Ekstrakt korijena sadrži najviše mrlja i najjačeg intenziteta narančastog obojenja. Osobito intenzivno, u ekstraktu korijena obojena je mrlja broj 3 (R_F= 0.41).

ZAKLJUČAK

U vodenim ekstraktima listova, cvjetova i korijena bradavke – *Heliotropium europaeum* L. utvrđena je nazočnost katehinskih trjeslovina reakcijama stvaranja taloga i reakcijama stvaranja obojenih produkata.

Metodom tankoslojne kromatografije utvrđena je nazočnost flavonoida u metanolnim ekstraktima listova, cvjetova i korijena.

Ekstrakti listova i cvjetova pokazali su sličan flavonoidni sastav. Dokazano je da sva tri ekstrakta sadrže flavonolski heterozid rutin.

Iz količine flavonoida koja je određena spektrometrijskom metodom prema Christu i Mülleru može se zaključiti da listovi sadrže najveću količinu flavonoida, cvjetovi dvostruko manje, a korijen sadrži najmanje flavonoida.

Metodom tankoslojne kromatografije utvrđena je i nazočnost alkaloida u svim tri ekstrakta. Najveći broj alkaloida dokazan je u ekstraktu korijena bradavke.

Literatura-References

1. G. *Hegi*, Illustrierte Flora von Mittel-Europa, Band V/3, Carl Hanser Verlag, München 1965, 2130.
2. G. *Madaus*, Lehrbuch der biologischen Heilmittel, Georg Thieme Verlag, Leipzig 1938, 1523.
3. B. *Šulek*, Jugoslavenski imenik bilja, Tisak dioničke tiskare, Zagreb 1879, 522.
4. S. *Horvatić*, Ilustrirani bilinar, Školska knjiga, Zagreb 1954, 508.
5. J. *Radić*, Bilje Biokova, Institut »Planina i more«, Makarska 1976, 130.
6. R. *Hegnauer*, Chemotaxonomie der Pflanzen, Band 3, Birkhäuser Verlag, Basel-Stuttgart 1964, 288.
7. R. *Domac*, Mala flora Hrvatske i susjednih područja, Školska knjiga, Zagreb 1989, 290.
8. H. A. *Hoppe*, Drogenkunde, Walter de Gruyter, Berlin-New York 1975, 571.
9. J. S. *Glasby*, Encyclopedia of the alkaloids, Volume 2, Plenum press, New York- London 1975, 824.
10. H. *Thomps*, Handbuch der praktischen und wissenschaftlichen Pharmazie, Urban Schwarzenberg, Berlin-Wien 1928, 990.
11. L. H. *Zalkow*, S. *Bonetti*, L. *Gelbaum*, M. M. *Gordon*, B. B. *Patil*, A. *Shani*, D. V. *Derveer*, Nat. Prod. **42** (1979) 603.
12. N. *Yassa*, H. *Farsam*, A. *Shafiee*, A. *Rustaiyan*, Planta Med. **62** (1996) 583.
13. M. *Luckner*, Prüfung von Drogen, VEB Gustav Fischer Verlag, Jena 1966, 225.
14. H. *Wagner*, S. *Bladt*, E. M. *Zgainski*, Drogenanalyse, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg-New York 1983, a) 51,54, b) 163.
15. B. *Christ*, K. H. *Müller*, Arch. Pharm. **293** (1960) 1033.
16. H. *Römisch*, Pharmazie **15** (1960) 33.
17. R. *Tschesche*, H. *Last*, H. W. *Fehlhaber*, Chem. Ber. **100** (1967) 3937.

(Primljeno 24. XI. 1998)