

allowed limits of pharmacopoea ($\pm 10\%$), and according to this the duration could be estimated to two years.

Based on the given results, we can conclude that the applied pharmaco-technological procedure has produced a preparation of required quality.

Key words: stability drugs, physostigmine salicylate, injection, antidotes

LITERATURA

1. J. TUCAKOV. Farmakognozija, Zavod za izdavanje udžbenika SRS, (1964), 104.
2. L. S. GOODMAN i A. GILMAN. The Pharmacological Basis of the Therapeutics, Macmillan Publishing Co., Inc. New York, (1975), 441-461.
3. Farmakopeja SFRJ, IV izdanje Savezni zavod za zdravstvenu zaštitu, Beograd, (1984), 840.
4. D. TROSE i A. KASMANN. Zur Stabilisierung von Physostigmin-salicylat-Injectionslösungen. Pharmazie, 45, (1990), 783-785.
5. The United States Pharmacopoeia XXII United States Pharmacopoeial Convention, Rockville (1990), 834.
6. F. EBEL i O. MASTILOVIĆ. Određivanje roka trajnosti farmaceutskih preparata ubrzanim starenjem. Hemijska industrija, 1, (1970), 21-24.
7. MARTINDALE. The Extra Pharmacopoeia 28th ed. The Pharmaceutical Press, London, (1982), 1042.
8. HUSSAIN, H. VAHNER, J. TRIPLET. Unusual Reversible Attack by sodium Bisulfite on physostigmine. J. Pharm. Sci., 67, (1978), 742-743.

POLIACETILENI PRIRODNOG POREKLA

KUNDAKOVIĆ TATJANA
KOVAČEVIĆ NADA

Farmaceutski fakultet, Univerzitet u Beogradu, Vojvode Stepe 450

APSTRAKT

Potvrđeno je da poliacetileni (ili polini) i njima srodna jedinjenja sa većim brojem nezasićenih funkcija, pokazuju citotoksičnu, fototoksičnu, antibakterijsku, antifungalnu, konvulzivnu i insekticidnu aktivnost. Neke supstance ovakve strukture inhibiraju enzime *ciklooksigenazu* i *5-lipooksigenazu*. Zbog takvih delovanja jedinjenja sa većim brojem nezasićenih funkcija, kao i njihovi prirodni izvori, postaju sve interesantniji kao potencijalni terapijski agensi.

Poliacetileni se nalaze u višim biljkama (najčešće u familijama Asteraceae, Araliaceae, Campanulaceae, Oleaceae, Pittosporaceae, Santalaceae i Apiaceae), gljivama, algama i nekim životinjama. Dužina lanaca poliacetilena pronađenih u gljivama kreće se između osam i četrnaest ugljenikovih atoma, dok kod viših biljaka iznosi od četrnaest do šesnaest ugljenikovih atoma. Distribucija ovih jedinjenja povezana je sa prisustvom i aktivnošću enzima dehidrogenaza i od velike je važnosti za hemotaksonomiju, biljnu sistematiku i filogenetiku. Najveća hemijska raznovrsnost ovakvih jedinjenja, uočena je u biljkama familija Asteraceae i Apiaceae. Poliacetileni su akumulirani u tkivu, a često predstavljaju i sastojke etarskih ulja.

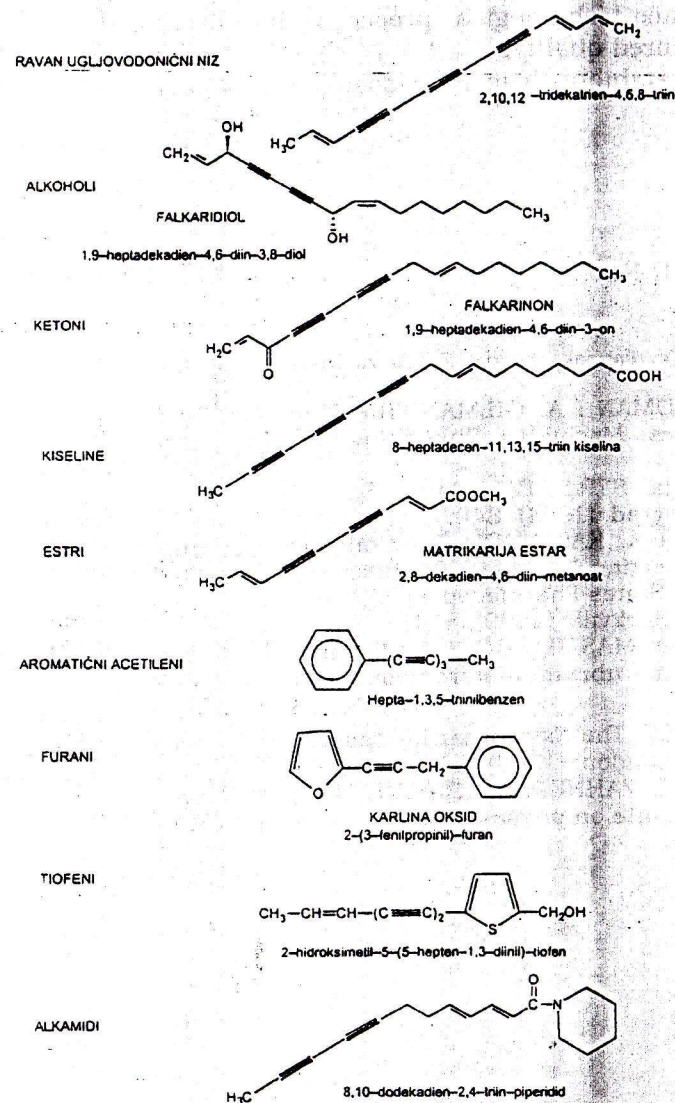
Rasprostranjenost poliacetilena

Biljke familija Asteraceae, Araliaceae, Campanulaceae, Oleaceae, Pittosporaceae, Santalaceae i Apiaceae, gljive, alge i neke životinje, akumuliraju u svom tkivu nezasićena jedinjenja različite strukture. Tu spadaju olefini, alkamidi i, kao najbrojniji i možda i najznačajniji, acetileni (poliacetileni ili poliini). Najveći broj jedinjenja ovakve strukture izolovan je iz biljaka familija Asteraceae (1100 vrsta iz 267 rodova) i Apiaceae (195 vrsta iz 89 rodova). Dužina lanaca poliacetilena pronađenih u gljivama (54 vrste iz 22 roda) je između osam i četrnaest ugljenikovih atoma. Kod viših biljaka lanci poliacetilena su duži; sadrže četrnaest do šesnaest ugljenikovi atoma. Distribucija ovih jedinjenja i sličnih sastojaka je od velike važnosti za hemotaksonomiju, a njihova biološka aktivnost značajna je za biljne patologe. Prisustvo poliacetilena je posebno značajno za biljnu sistematiku i filogenetiku. Moguće je tvrditi da je stvaranje određenih hemijskih sastojaka vezano za određeni stepen evolucionog razvoja odnosno, u slučaju acetilenskih grupa, da zavisi od razvoja enzimskog sistema koji vrši dehidrogenaciju olefinske veze (1,2,3,4).

Koncentracija poliacetilena je različita u različitim biljkama (od 10-6% do 1% u svežem materijalu), u različitim delovima biljke (ponekad seme sadrži komponente koje nisu prisutne u drugim delovima biljke). Takođe, varira u zavisnosti od faze vegetacionog razvoja. Isparljivi acetileni ulaze u sastav etarskih ulja (4,5,6).

Hemija poliacetilena

Poliacetileni su grupa prirodnih proizvoda koji u svojoj strukturi imaju jednu ili više acetilenskih grupa (-CC-), koje su nekada kombinovane sa etilenskim grupama (-CC-). Mogu biti jednostavni ugljovodonici, alkoholi, ketoni, kiseline, estri i aromatična jedinjenja. Takođe, molekul poliacetilena može sadržati furanil-, tiofenil- radikali ili ostvarenu spiro povezanost (tabela 1). Olefinski ili acetilenski alkamidi, rasprostranjeni su naročito u biljkama familije Asteraceae.



Slika 1. Primeri nekih klasa poliacetilena
Figure 1. Different structures of polyacetylenes

Biosinteza poliacetilena

Najverovatnije je da osnovni lanci poliacetilena nastaju iz odgovarajućih masnih kiselina. Upoređivanjem njihove strukture sa strukturom oleinske, linolenske, krepenske i dehidrokrepenske kiseline ustanovljeno je da su ove kiseline prekursori sinteze poliacetilena. Takođe, estri ovih kiselina učesvuju u biosintezi nezasićenih jedinjenja. Mnogim studijama je potvrđena ovakva pretpostavka, kao i to da masne kiseline i poliacetileni nastaju iz acetatnih i malonatnih jedinica poliketidnim biosintetskim putem. Potvrđeno je da je upravo oleinska kiselina značajna za sintezu najvećeg broja poliacetilena u mikroorganizmima i višim biljkama. Kiseline koje imaju manji broj ugljenikovih atoma (C_{17} , C_{15} , C_{16} , C_{14}), ređe predstavljaju osnovu lanaca poliacetilena. Odgovarajući poliacetileni se formiraju uglavnom reakcijama 1-oksidacije i daljom redukcijom i oksidacijom (1,2).

Na osnovu poznavanja biogeneze i strukture poliacetilena, može se izvršiti njihova podela u tri grupe:

1. Poliacetileni formirani jednostavnom dehidrogenacijom olefinskih komponenata
2. Komponente formirane iz stearinske kiseline
3. Komponente formirane iz linolne i krepenske kiseline

Potvrđeno je da amidni deo alkilamida nastaje iz aminokiselina. Do sada je identifikovano četrnaest različitih struktura amidnog dela ove grupe jedinjenja (4).

Farmakološka aktivnost poliacetilena

U interakcijama biljka-biljka i biljka-životinja, poliacetileni ispoljavaju uglavnom toksično delovanje i imaju zaštitnu funkciju za biljku u kojoj nastaju. Pored odbrambene uloge, poliacetileni su veoma značajni za biljke i zbog hormonske aktivnosti koja im se pripisuje. Moguće je da su poliacetileni prekursori nekih drugih metabolita biljnog tkiva.

Važno je napomenuti da neke biljke koje služe kao hrana ili začini, sadrže poliacetilen u veoma maloj koncentraciji i nisu toksične. U šargarepi, peršunu ili celeru toksičan falkarinol se pojavljuje u vrlo malim količinama. Takođe, termička obrada potpuno razara strukturu ovih jedinjenja.

Laboratorijski su potvrđena specifična i izrazita fiziološka delovanja poliacetilena i biljaka koje ih sadrže. Takođe, utvrđeno je da male promene u strukturi veoma toksičnih acetilena dovode do skoro netoksičnih proizvoda. Ovo otvara mogućnost za njihovu primenu u terapiji određenih oboljenja. Za sada je potvrđeno da se neke biljke koriste u medicini kao lekovite upravo zato što sadrže ovakva jedinjenja. Ipak, još uvek nije moguće utvrditi jasnu

korelaciju između prisustva poliacetilena i terapijskih efekata ovih biljaka (1).

Citotoksična aktivnost

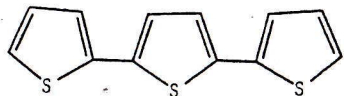
Poznato je da poliacetileni pokazuju citotoksičnu aktivnost. Svakodnevno se otkrivaju nova jedinjenja koja ispoljavaju delovanje na ćelije odgovarajućih eksperimentalnih tumornih sistema. Tako, devet novih poliacetilena iz morskog sundera *Pellina triangulata*, Oceanapiidae (triangulini i triangulinska kiselina) pokazuju citotoksičnu aktivnost (7). **Falkarinol** iz *Dendropanax arboreus*, Apiaceae je toksičan za neke linije tumorskih ćelija u *in vitro* ispitivanju (8). Alkoholi iz morskog sundera *Cribrochalina vasculum* pokazuju selektivnu antitumorsku aktivnost protiv H-522 nemalih linija ćelija pluća i IGROV-1 linija ćelija jajnika *in vitro* (9). **Gumiferol** iz listova *Adenia gummifera* pokazuje značajnu citotoksičnu aktivnost protiv KB humanih ćelija i drugih linija ćelija raka (10). Bioaktivni acetilen (beta-**D-glukopiranoziloksi-3-hidroksi-6(E)-tetradecen-8,10,12-triin**) izaziva povećan rast normalnih i transformisanih humanih ćelija u kulturi (11).

Iz korena vrste *Panax ginseng* izolovana je serija polia etilenskih alkohola osnovne strukture **panaksinola** i **panaksidola** sa antitumorskim delovanjem (12). Inhibitori proteina prenosio a holesteril-estra identifikovani kao polia etilenski analozi izolovani su iz korena iste biljke (13). Panaksitriol i **mitomicin C** (MMC) u kombinaciji ili kada se prvo daje mitomi in, imaju sinergističko itotoksično delovanje na ćelije humanog gastričnog karinoma. Izgleda da panaksitriol povećava ćelijsku akumulaciju mitomi ina tako što smanjuje fluiditet ćelijske membrane (14).

C17 Polia etileni iz *Panax quinquefolium* pokazuju jaku itotoksičnu aktivnost na ćelije leukemije (L1210) u kulturi (15).

Fototoksičnost

-**Tertienil** je fototoksičan za nematode, mikroorganizme, viruse, insekte, biljke i humane eritrocite. Za razliku od furanokumarina (8-metoksipsoralen i psoralen), mesto delovanja -Tertienila je membrana ćelije i verovatno membranski proteini, a ne DNK. Furanokumarini indukuju ikloadione reakcije na hetero iklične baze, verovatno pirimidinske u DNA, prouzrokujući formiranje ukrštenih veza između lanka a DNA. -Tertienil je fototoksičan za kožu čoveka i ne pokazuje mutagenost ili kanerogenu aktivnost, tako da može biti alternativa u fotohemoterapiji psorijaze i drugih kožnih bolesti. Pozitivno je i to što polia etileni formiraju manje slobodnih radikala od derivata tiofena koji su jaki generatori 1O_2 (3).



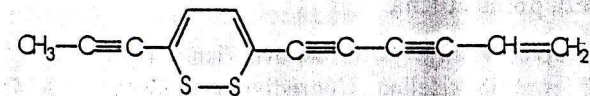
-Tertienil (Terthienil)

Antimikrobna i antifungalna aktivnost

Polia etileni gljiva i viših biljaka pokazuju izrazitu antibiotsku i anti-virusnu aktivnost. Nestabilnost i toksičnost ovih jedinjenja, za sada onemogućavaju bilo kakvu praktičnu primenu. Aktivnost protiv gljivi a i Gram-pozitivnih i Gram-negativnih bakterija zavisi od prisustva funkcionalnih grupa na ravnom lanu koje mogu učestvovati u metaboličkim reakcijama. Antibioti i dobijeni iz kulture nekih gljiva su po strukturi alenski polini (16). Potvrđeno je da je za njihovo delovanje neophodno prisustvo COOH ili OH grupa što ukazuje da su, najverovatnije, estri i ugljovodoni i neaktivni (2).

Infekcija biljaka povećava akumulaciju polia etilena sa antifungalnim delovanjem. *Carthamus tinctorius* inficiran *Phytophthora drechsleri* proizvodi dvadeset puta više **en-tri-in-en-diol**. *Vicia faba* proizvodi polia etilenski ketofuran **vijeron (wyerone)** nakon infekcije gljivom *Botrytis* (1). Polia etilen-karboksilne kiseline (**montiporna kiselina A i B**) iz opne jaja korala *Montipora digitata*, pokazuju antimikrobnu aktivnost protiv *Escherichia coli* i itoksičnost protiv P-388 ćelija leukemije glodara (18). Značajnu antibiotsku aktivnost na Gram-pozitivne bakterije *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis* pokazuje **8S-heptadeka-2(Z),9(Z)-dien-4,6-diin-1,8-diol** iz *Bupleurum salicifolium* i polia etileni iz *Bellis perennis* (2,19). **Falkalindiol** iz *Glehnia littoralis* inhibira rast nekih mikroorganizama i biljaka (*Escherichia coli*, metilinsenzitivan *Staphylococcus aureus*, metilinsenzitivan *Staphylococcus aureus* i *Bacillus subtilis*) (20,21). C₁₈-polia etilen (+)-**9(Z),17-oktadekadien-12,14-diin-1,11,16-triol** izolovan iz *Cussonia barteri*, *Aralia eae* deluje na *Bacillus subtilis* i *Pseudomonas fluorescens*. *Cladosporium cucumerinum* i pokazuje hemolitičko delovanje (22).

Tiarubrin-A deluje na itomegalo virus miševa, virus sa membranom koji sadrži DNA i *Sindbis virus*, virus sa membranom koji sadrži RNA u prisustvu dugotalasnih UV zraka (UV-A). Slabije delovanje na bakteriofage T4 i neinfektivnost na M13 koje ne sadrže membranu može se objasniti time da je mesto fototoksičnog delovanja polia etilena membrana ili specifične komponente u njoj (23).



Tiarubrin-A

U zavisnosti od svoje strukture, tiofeni pokazuju različitu biološku aktivnost. Prisustvo aetilgrupe može povećati penetraciju ovih jedinjenja kroz membranu ćelije eukariota i virusa, omogućavajući na taj način efikasniju interakciju sa potencijalnim mestom delovanja (24).

Insekticidna aktivnost

Neki polia etileni deluju kao insekticidi (-Tertienil i CN-derivati) (25). Mnogi polia etileni iz tribusa *Cynareae* zahtevaju UV svetlost za njihovu toksičnu ili terapijsku aktivnost. Dva polia etilena **vijeron kiseline** iz *Vicia faba* i **safinol** iz *Carthamus tinctorius* su prirodni fitoaleksini i toksični su za insekte koji napadaju ove biljke (26).

Dejstvo na enzime

Polia etileni iz vrste *Bidens campylotheca ssp campylotheca*, *Asteraceae*, kao i **falkarindiol** i **11(S),16(R)-dihidroksioktadeka-9Z,17-dien-12,14-diin-1-il-acetat** izolovan iz *Angelica pubescens f. biserrata*, *Asteraceae* pokazuju značajnu inhibiciju *ciklooksigenaze* i *5-lipooksigenaze in vitro* (27,28).

Konvulzivna aktivnost

Cikutoksin, izocikutoksin i slični polia etileni iz *Cicuta virosa*, *Apiaceae* mogu izazvati pojavu konvulzija. U zavisnosti od doze, cikutoksin proizvodi repolarizaciju ćelijske membrane i do šest puta. Efekat cikutoksina je slabiji i smanjuje se sa povećanjem doze. Prema najnovijim istraživanjima cikutoksin blokira kalijumske kanale, a smatra se da je za dejstvo potrebno prisustvo dve hidroksilne grupe koje su razdvojene lanom odgovarajuće dužine (29).

KVALITATIVNA I KVANTITATIVNA ANALIZA POLIACETILENA

Stabilnost aetilena zavisi od strukture, ali generalno posmatrano većinom su to foto- i termonestabilna jedinjenja. Prisustvo voluminoznih grupa, kao i rastojanje paralelno orijentisanih lanova, utiče na stabilnost polia etilena. Na dnevnoj svetlosti aetileni se raspadaju i tada nastaju crveni ili tamno plavo obojeni čvrsti proizvodi, strukture slične grafitu. Zbog izrazite

nestabilnosti, kvalitativna i kvantitativna analiza polia etilena u biljnom tkivu nije jednostavna.

Prema Harborne-u, za detekciju polia etilena preporučuje se hromatografija na tankom sloju Al_2O_3 ili silika-gela (26). Sveže biljno tkivo se ekstrahuje etrom, ma era ijom u prisustvu aktiviranog aluminijuma najmanje 24h na 4C i tamnom mestu. Dekantovan rastvor se suši bezvodnim Na_2SO_4 i uparava do suva na 15C. Uzor i rastvoreni u etru ispituju se tankoslojnom hromatografijom na Al_2O_3 ili silika-gelu u sistemima benzen-hloroform (10:1), pentan-etar (9:1) ili hloroform-metanol (9:1). Polia etileni se pojavljuju kao zelene ili braon mrlje nakon prskanja ploča 0.4% izatinom u kon. H_2SO_4 . Žute mrlje pojavljuju se nakon prskanja 1% $KMnO_4$ u 2% vodenom rastvoru Na_2CO_3 . Ako se upotrebi silika-gel sa fluoresentnim indikatorom, polia etileni daju fluoresentne mrlje.

Izolacija pojedinih jedinjenja iz grupe polia etilena je još komplikovanija. Zbog nestabilnosti, preporučuje se ekstrakcija ma era ijom odgovarajućim rastvaračem na sobnoj temperaturi tokom nekoliko dana. Izbor rastvarača za ekstrakciju zavisi od liposolubilnosti odnosno hidrosolubilnosti prisutnih struktura. Najčešće se koristi mešavina etar-petroletar, a jedino je za ekstrakciju nekih metabolita glijiva potrebni polarniji rastvarač.

Sirovi ekstrakti se grubo razdvajaju hromatografskim tehnikama (TLC i CC). Kao stacionarna faza koriste se Al_2O_3 i silika-gel. Na ovaj način se dobijaju frakcije različite polarosti (ugljevodoni i, karbonilna jedinjenja, alkoholi). Za izolaciju čistih supstanci i najčešće je dovoljno ponoviti još jednom razdvajanje na koloni i finalno prečistiti tankoslojnom hromatografijom u odgovarajućim sistemima mobilnih faza. Za razdvajanje i analizu često se koristi i tečna hromatografija (HPLC). Samo jednostavne nepolarne supstance mogu biti identifikovane pomoću GC. Nekada su parijalne hemijske reakcije (MnO_2 oksidacija, $NaBH_4$ redukcija) i parijalna saponifikacija neophodne za razdvajanje polia etilena od drugih komponenata biljnih ekstrakata (1). Zbog nestabilnosti kristalnih oblika jedinjenja sa nezasićenim funkcijama, frakcionisanje kristalizacionom metodom ima ograničenu upotrebu. Sve ovo ukazuje da je nemoguće dati jedinstven, opšti propis za izolaciju polia etilena; nekoliko primera iz literature predstavljeno je u tabeli 1 (2,11-30).

Tabela 1. Izbor rastvarača za ekstrakciju, metode izolacije i prečišćavanja i specifičnog reagensa za TLC-detekciju poliacetilena

Table 1: Some systems for extraction, separation and purification of polyacetylenes from natura sources

Ekstrakcija	Hromatografija	Testiranje frakcija	Reagensi za prskanje	
n-heksan MeOH; maceracija na sobnoj temperaturi (11)	TLC, silika-gel: $CHCl_3$: MeOH (98:2) (11)	HPLC, silika-gel, n-heksan EtOAc MeOH (11)	TLC, petroletar- Et_2O (9:1 i 7:3), $CHCl_3$: Et_2O različite polarosti (29)	fosfomolibdenska kiselina (5% u $EtOH$) (2) UV svetlost, 254 nm, gase fluorescenciju (2)
MeOH, petroletar (60-80C) - Et_2O (1:1); maceracija nekoliko dana na sobnoj temperaturi, (29)	CC, silika-gel; petroletar (60-80C) : Et_2O (100 ml 100:0, 19:1, 9:1, 4:1, 1:1, 0:100), Et_2O : MeOH (100 ml 97:3, 19:1, 9:1) (29)	HPLC, petroletar (60-80C)- $EtOAc$ (29)	benzen : $CHCl_3$ (10 : 1) pentan : etar (9:1) $CHCl_3$: MeOH (9:1) (26)	0,4% izatin u konc. H_2SO_4 zelene ili braon mrlje 1% $KMnO_4$ u 2% vodenom rastvoru Na_2CO_3 , žute mrlje (26)
petroletar MeOH; maceracija nekoliko dana na sobnoj temperaturi (30)	TLC, silika-gel: pentan : Et_2O (5%) PTLC, silika-gel: pentan : Et_2O (5%) CC, silika-gel: pentan : Et_2O (5-10%) (2)	HPLC, silika-gel, (Lichrosorb Si 60) $CHCl_3$: MeOH : heksan (90.25:0.25:9.5) (17)		anizalaldehid- H_2SO_4 (30)
n-heksan, maceracija na sobnoj temperaturi tokom 24h (11)	CC, silika-gel: petroletar petroletar : $EtOAc$ (1:1) Et_2O (30)			
petroletar : etar (1 : 1)	CC, silika-gel: petroletar petroletar : Et_2O (1:1) (30)			
	DCCC, heptan : $CHCl_3$: MeOH : H_2O (18:25:18:3) (17)			
	PTLC, CH_2Cl_2 preparativna GC (30)			

- TLC-Thin Layer Chromatography (tankoslojna hromatografija)
- PTLC-Preparative Thin Layer Chromatography (preparativna tankoslojna hromatografija)
- CC-Column Chromatography
- DCCC-Droplet Counter-Current Chromatography
- GC-Gas Chromatography
- HPLC-High Performance Liquid Chromatography

STRUKTURNA ANALIZA POLIACETILENA

Za određivanje strukture polia etilena, najviše se koriste metode spektralne analize (UV, IR, NMR, MS). Ultraljubičasta ili UV spektroskopija je veoma značajna za određivanje njihove strukture. Jednostavni polia etileni daju karakteristične UV spektre sa vrlo jasnom vibra ionom finom strukturom. UV spektar pokazuje dve grupe traka: dugotalasnu seriju manjeg intenziteta i kratkotalasnu seriju visokog intenziteta (=106).

Sve kombinacije konjuga i dvostruke i trostruke veze daju posebne tipove UV spektara. Podjednako su važni i talasna dužina posmatranog maksimuma i relativni intenziteti obe serije traka:

1. Dugotalasna serija pokazuje hiperhromni efekat ako je dvostruka veza u konjuga iji sa lan em poliina
2. U odnosu na karbonilnu, etilenska grupa ima jači hiperhromni efekat iako oba tipa nezasićenosti daju isti položaj maksimuma
3. Položaj trostruke i dvostruke veze (en-trin-en i trin-dien) utiče na tip spektra
4. Komplikovanije grupe na kraju niza u kombinaciji sa lan em poliina vode do manje karakterističnih UV spektara.

UV spektri predstavljaju siguran i osetljiv metod za detekciju polia etilena čak i u sirovom ekstraktu. Samo jednostavni a etileni, di- i tria etileni bez dalje konjuga ije, teško mogu biti detektovani ovom metodom. Čak je i intenzivan maksimum tria etilena često je sakriven drugim hromoforima zbog kratke talasne dužine (210 nm).

UV spektroskopija je takođe značajna metoda za određivanje koncentracije ije, jer je zbog nestabilnosti polia etilena nemoguće izvršiti kvantitativnu analizu na drugi način.

Infra crvena spektroskopija (IR) je značajna za utvrđivanje prisutnih funkcionalnih grupa. Traka valenione vibra ije trostruke veze je jako slaba, ali ako je u konjuga iji sa karbonilnom grupom, ova traka na 2200 m^{-1} je jakog intenziteta, a daje i širu traku od poliinskih hromofora ($1500\text{--}1600\text{ m}^{-1}$). Nekada je IR spektar vrlo važan za određivanje položaja trostruke veze u polia etilenskim karbonilnim jedinjenjima. Terminalne etenil-grupe se detektuju karakterističnim trakama na 3300 i 2050 m^{-1} . Aleni daju karakterističnu traku na 1950 m^{-1} , koja je pojačana ako postoji konjuga ija sa polarnim grupama. Dvostruka veza pokazuje IR apsorpciju oko 950 m^{-1} (E) i 720 m^{-1} (Z). Vinilne krajnje grupe daju karakterističnu traku na oko 920 m^{-1} , a položaj se pomera ka većim talasnim dužinama konjuga ijom ili zbog prisustva polarnih grupa.

Za potpunu strukturu identifikaciju najčešće se koriste nuklearna magnetna (NMR) i masena spektroskopija (MS). ^{13}C -NMR spektar je značajan za rasvetljavanje strukture polia etilena. EI-masena spektroskopija nije se pokazala korisnom zbog nestabilnosti molekulskog jona i potpune fragmentacije molekula. Značajne trake otkrivene UV diode array detekcijom posle HPLC razdvajanja sirovog ekstrakta pogodne su za identifikaciju različitih tipova polia etilena sa identičnim hromoforima. UV spektri triendijena i dien-dijena i IR spektroskopija (jedne ili dve trake između 2260 i 2120 m^{-1}) mogu da potvrde klasifikaciju izolovanih komponenata kao polia etilena.

Primena NMR spektroskopije u kombinaciji sa UV i IR spektrima i hemijskim metodama kao što su hidrogenizacija i degradacija molekula omogućava određivanje strukture polia etilena.

U NMR spektru položaj signala za proton sa trostruke veze se javlja na oko 2 i vrlo malo se pomera sa povećanjem broja trostrukih veza. Na položaj signala utiče prisustvo dvogube veze i različitih funkcionalnih grupa (-OH, -OR, tiofenil-, enoletri itd.). Značajna je i konstanta daljinskog sprežavanja a etilenskog protona sa protonom susednog ugljenikovog atoma J. Sa povećanjem broja trostrukih veza, njena vrednost se smanjuje jer postoji jako sprežanje između trostrukih veza. Magnetna anizotropija trostrukih veza je korisna za određivanje konfiguracije dvostrukih veza.

Zbog nestabilnosti polia etilena i nemogućnosti da se dobiju potpuno čisti uzorci, signali u oblasti zasićenih protonskih signala nisu pouzdano tačni kao ni dužina lanka. Zato je određivanje molekulske mase masenom spektroskopijom vrlo značajno. U poslednje vreme su razvijene tehnike kod kojih su metode generisanja jona znatno blaže i koje su naročito pogodne za određivanje molekulske mase jedinjenja kao što su polia etileni. Najpoznatije su tehnike hemijske jonizacije (CI), jonizacije indukovane jakim pozitivnim električnim poljem (FI), desorpcija poljem (FD), bombardovanje brzim atomima (FAB), elektro sprej jonizacije (ESI) i termo sprej jonizacije (TSP) (31). Primenom metode jonizacije elektronskim udarom (EI), dolazi do fragmentacije i tada nastaju nezasićeni ugljovodonični joni ($\text{C}_{10}\text{H}_9^+$, $\text{C}_{10}\text{H}_8^+$, C_9H_9^+ , H_9H_7^+ , C_8H_7^+ , C_8H_5^+ i C_7H_7^+) eliminiacijom vodonika. Najčešće, fragmentacija koja počinje jonizacijom hetero-atoma je manje izražena zbog lakše jonizacije poliin-en sistema.

Vrlo retko je potrebno izvršiti neke hemijske promene na molekulu polia etilena da bi se konačno razjasnila njihova struktura. Ponekad, komponenta koja ne pokazuje molekulski jon u masenom spektru mora biti hidrogenizovana, a produkti hidrogenizacije identifikovani gasnom hromatografijom ili masenom spektroskopijom. Hidrogenizacijom mogu biti uklonjeni

alilni hidoksili, polien-epoksidi izomerizovani do alkohola ili ketona. Par-ijalna hidrogenizacija u prisustvu odgovarajućeg katalizatora može pokazati broj konjugovanih nezasićenih veza. Oksidativna degradacija poliniena može se izvršiti ozonizacijom ili epoksidacijom a zatim hidrolizom do diola i periodatnog epanja. Identifikacija i dobijenih proizvoda je moguća tankoslojnom hromatografijom ili masenom spektrometrijom. Oksidacija permanganatom je korisna ako su prisutne duge zasićene ili fenil-grupe ili ako je prisutan dien. Formiranje adukta anhidrida maleinske kiseline (ili malein-N-fenil-imida) vodi ka izolovanju kristalnih derivata ili prepoznavanju hromofornog sistema.

Korisne informacije se mogu dobiti izomerizacijom protonskim akceptorima, nukleofilnom adicijom, par-ijalnom adicijom mangan-dioksidom ili redukcijom natrijum-borhidridom (1).

POLYACETYLENES OF NATURAL ORIGIN

Kundaković Tatjana, Kovačević Nada

Department of Pharmaognosy, Faculty of Pharmacy, Vojvode Stepe
450 11000 Belgrade, Yugoslavia

Many of linear or partially cyclized substances which contain one or several triple bonds, alone or in combination with double bonds, furan, dihydrofuran, thiophene or thietanone heterocycles, have been found in higher plants, some fungi and algae. Mainly, they are distributed in the plants Asteraceae, Campanulaceae, Oleaceae, Pittosporaceae, Santalaceae and Apiales. Their limited distribution and variability of the structure make them a good chemotaxonomic markers especially for the tribes within Asteraceae family.

Polyacetylenes are biosynthetically related to fatty acids and mainly arise from linoleic or oleic acids through a series of desaturation reactions which lead to a C18 triene acid. For the host plant, polyacetylenes represent a high potent defense substance against nematodes, insects, fungi, some bacteria and some viruses. Besides antimicrobial function, herbal drugs with polyacetylenes could be used for the treatment of eczema, wounds and ulcers. Some of these substances show a significant cytotoxic activities against some experimental tumor systems.

LITERATURA

1. Bohlmann F., Burkhardt T., Zdero C., *Naturally Occurring Acetylenes*, Academic Press, London and New York, p. 340, 499-508, 1973
2. Avato P., Vitali C., Mongelli P., Tava A., *Planta Medica*, 63, p. 503-507, 1997
3. Christensen L. P., Lam J., *Phytochemistry*, 29(9), p. 2753-2785, 1990
4. Kovačević, N., Arhiv za farmaciju, 45, p.183-198, 1995
5. Utrilla M. P., Navarro M. C., Jimenez J., Montilla M. P., Martin A., *J. Natural Products (Lloydia)*, 58(11), p. 1749-1752, 1995
6. Takeda O., Miki E., Terabayashi S., Okada M., Lu Y., He H. S., He S. A., *Planta Medica*, 62(5), p. 444-449, 1996
7. Dai J. R., Hallock Y. F., Cardellina J. H., Gray G. N., Boyd M. R., *J. Natural Products*, 59(9), p. 860-865, 1996
8. Bernart M. W., Cardellina J. H., Balaschak M. S., Alexander M. R., Shoemaker R. H., Boyd M. R., *J. Natural Products*, 59(8), p. 748-753, 1996
9. Hallock Y. F., Cardellina J. H., Balaschak M. S., Alexander M. R., Prather T. R., Schoemaker R. H., Boyd M. R., *J. Natural Products (Lloydia)*, 58(12), p. 1801-1807, 1995
10. Fullas F., Brown D. M., Wani M. C., Wall M. E., Chagwedera T. E., Farnsworth N. R., Pezzuto J. M., Kinghorn A. D., *J. Natural Products (Lloydia)*, 58(10), p. 1625-1628, 1995
11. Alvarez L., Marquina S., Villarreal M. L., Alonso D., Aranda E., Delgado G., *Planta Medica*, 62(4), p. 355-357, 1996
12. Saita T., Matsunaga H., Yamamoto H., Naguno F., Fujito H., Mori M., Katano M., *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 17(6), p. 798-802, 1994
13. Kwon B. M., Nam Y. Y., Lee S. H., Jeong T. S., Kim Y. K., Bok S. H., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 44(2), p. 444-445, 1996
14. Matsunaga H., Katano M., Saita T., Yamamoto H., Mori M., *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 33(4), p. 291-297, 1994
15. Fujimoto Y., Wang H. C., Satoh M., Takeuchi N., *Phytochemistry*, 35(5), p. 1255-1257, 1994
16. Schlingmann G., Milne L., Pearce C. J., Borders D. B., Greenstein M., Maiese W. M., Carter G. T., *J. Antibiotics*, 48(5), p. 375-379, 1995
17. Kuroopka, G., Glombitza, K.W., *Planta Medica*, 53, p. 440-442, 1987
18. Fusetani N., Toyoda T., Asai N., Matsunaga S., Maruyama T., *J. Natural Products*, 59(8), p. 796-797, 1996
19. Estavezbraun A., Estavezreyes R., Moujir L. M., Ravelo A. G., Gonzales A. G., *J. Natural Products*, 57(8), p. 1178-1182, 1994
20. Satoh A., Narita Y., Endo N., Nishimura H., *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 60(1), p. 152-153, 1996
21. Metsuura H., Saxena G., Former S. W., Hancock R. E. W., Towers G. H. N., *Planta medica*, 62, p. 256-259, 1996
22. Papajewski S., Guse J. H., Klaiber I., Roos G., Sumuth R., Vogler B., Walter C. U., Kraus W., *Planta Medica*, 64, p. 479-481, 1998

23. Hudson J. B., Graham E. A., Fong R., Finlayson A. J., Towers G. H. N., *Planta Medica*, p. 51-54, 1986
24. Hudson J. B., Graham E. A., Lam J., Towers G. H. N., *Planta Medica*, 57, p. 69-73, 1991
25. Helston B., Kaupp W., Ceccarelli A., Arnason J. T., *J. Economic Entomology*, 39(4), p. 820-825, 1996
26. Harborne J. B., *Phytochemical Methods*, p. 156, 1973
27. Redl K., Breu W., Davis B., Bauer R., *Planta Medica*, 60(1), p. 58-62, 1994
28. Liu J. H., Zschocke S., Reininger E., Bauer R., *Planta Medica*, 64, p. 525-529, 1998
29. Wittstock U., Hadaček F., Wurz G., Teuscher E., Greger H., *Planta Medica*, 61, p. 439-445, 1995
30. Vincieri F., Coran S., Giannellini V., Alberti M., *Planta Medica*, 51, p. 107-110, 1985
31. Vajs. V., *Arhiv za farma iju*, 47, p. 423-430, 1997

MASNO ULJE NOĆURKA: SASTAV, DELOVANJE I PRIMENA

NADA KOVAČEVIĆ

Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, 11000 Beograd

Botaničke karakteristike

Noćurak ili pupoljka, *Oenothera biennis* L., *Oenotheraceae*, je dvogodišnja zeljasta biljka. Prve godine razvija rozetu prizemnih listova, a sledeće godine cvetonosnu stabljiku visoku i preko 1 m. Cvetovi su raspoređeni u rastresite cvasti u gornjem delu; žuti, mirisni cvetovi se otvaraju predveče, a zatvaraju u jutarnjim satima (evening primrose). Plod je izdužena, uspravna čaura. Seme je mnogobrojno, sjajno, poljedarno, pljosnato, dugo do 2 mm, široko do 1 mm.

Noćurak vodi poreklo iz severne Amerike. Biljka je sada odomaćena u mediteranskim i atlanskim zemljama. Radi dobijanja droge (*Oenotherae semen*), gaji se u Engleskoj (1,2).

Inače, noćurak i neke druge vrste ovog roda gaje se i kao povrtarske biljke; mlado lišće rozete se u Nemačkoj koristi kao salata ili varivo (bogato je vitaminom C i karotenima), a krtolasto korenje, oguljeno ili neoguljeno, se takođe koristi kao salata i povrće presno ili prokuvano (zbog crvene boje zovu ga salata od šunke ili vrtlarska šunka). Dugi niz godina masno ulje semena noćurka se koristi kao dodatak ishrani zbog sadržaja esencijalnih masnih kiselina (3,4).