

ISPITIVANJE SEZONSKOG VARIRANJA SADRŽAJA
ANTRANOIDA U KORENU ČAPLJANA, *ASPHODELUS*
ALBUS MILL., IZ CRNE GORE

POPOVIĆ JELENA, PETROVIĆ SILVANA*, MAKSIMOVIĆ ZORAN,
GORUNOVIĆ MOMČILO

Institut za farmakognoziju, Farmaceutski fakultet, Vojvode Stepe 450, 11221 Beograd

Kratak sadržaj

U korenu čapljana, *Asphodelus albus*, poreklom iz Crne Gore, sadržaj ukupnih antranoida i odnos pojedinih tipova kompleksa antranoida (slobodnih i glikozilovanih, oksidovanih i redukovanih), tokom vegetacionog perioda nisu konstantni, već pokazuju ciklične promene. Na osnovu konstatovane dinamike ovog sezonskog variranja, utvrđeni su optimalni periodi za eksploataciju korena u zavisnosti od njegove namene.

Ključne reči: *Asphodelus albus*, koren, sadržaj antranoida,
sezonsko variranje

* Autor za korespondenciju.

UVOD

Rod *Asphodelus* L. (Liliaceae) obuhvata 6-7 vrsta koje rastu u Sredozemlju, umerenom klimatskom pojasu Azije, istočnoj Indiji i na Mauricijusu. Iz Sredozemlja prodire na sever do južnih Alpa samo vrsta *Asphodelus albus* Mill., koja je jedini predstavnik ovog roda u flori Srbije.

Čapljan, *A. albus* je jednogodišnja, zeljasta biljka sa debelim rizomom i izduženo repasto zadebljalim korenovima, zbijenim u svežnjeve. Stabljika je visoka 50-120 cm. Listovi su prizemni, uzano linearog oblika, pri vrhu zašiljeni, dugi preko 60 cm i široki 1-2 cm. Cvetovi su beli, u vršnim, grozdastim cvastima. Biljka raste na pašnjacima, brdskim, planinskim i subalpijskim livadama i između žbunja. Rasprostranjena je u jugoistočnoj Srbiji (Stara planina) i na Kosovu (1). Često je prisutna i na teritoriji Crne Gore.

Dosadašnjim hemijskim ispitivanjima, u korenu *A. albus* identifikovani su šećeri (laktoza, saharoza, galaktoza, fruktoza i glukoza), steroli (stigmasterol, kampesterol, β -sitosterol i fukosterol), masne kiseline (linolna kao dominantna), triterpeni (β -amirin) i antrahinonski aglikoni (hrizofanol, aloe-emodin i dimeri asfodelin i mikrokarpin). Takođe je utvrđeno prisustvo malih količina saponina, tanina i antocijana (2-5).

Lekovita svojstva čapljana, *A. albus*, pominju se još u Hilandarskom medicinskom kodeksu, prema kome se sok ove biljke koristio „za mazanje belih pega po licu i telu, kod glaukoma i nekih drugih očnih bolesti“ (6). U prošlosti primenjivan je za lečenje sifiliških ulceracija i šuge. Zbog visokog sadržaja masnog ulja i šećera, podzemni organi koristili su se u ishrani (7).

Antimikrobna aktivnost korena može se objasniti prisustvom antrahinonskih sastojaka. Prisustvo antrahinona u korenu otvara i mogućnost njegove upotrebe kao laksantnog sredstva, uprkos činjenici da se ovakva primena ne spominje u narodnoj medicini (8).

U ovom radu ispitivano je sezonsko variranje sadržaja antranoida u korenu čapljana, kako bi se utvrdilo u kom periodu vegetacionog ciklusa treba eksplorativati koren koji bi se koristio kao izvor antranoida, odnosno kada treba vaditi koren koji bi se koristio u ishrani.

EKSPERIMENTALNI DEO

Biljni materijal

Koren čapljana, *A. albus* prikupljan je 16 km od Kolašina, na lokalitetu Pajkov Vir u dolini Tare, na 1030 m nadmorske visine, u periodu od kraja aprila do kraja novembra 1995. god., na svakih 15 dana; jedan uzorak sakupljen je sredinom januara naredne godine (Tabela I).

Izduženo repasto zadebljali korenovi, zbijeni u svežnjeve, posle vađenja su prani i sušeni na hladnom i promajnom mestu. Usitnjavanje biljnog materijala vršeno je neposredno pre analize.

Tabela I Vreme sakupljanja uzoraka i stadijumi u razvoju biljaka •

Table I Sampling time and stages in the development of plants •

Vreme sakupljanja	Stadijum u razvoju biljaka
25. 04. 1995.	Biljke su visoke oko 15 cm.
09. 05. 1995.	Biljke su visoke oko 18 cm. Korenovi su na dubini od 20 cm.
25. 05. 1995.	Biljke su visoke oko 30 cm i izbacile su cvetne stabljike.
11. 06. 1995.	
26. 06. 1995.	
11. 07. 1995.	Biljke su u cvetu. Cvetna stabljika je visoko 70-80 cm.
25. 07. 1995.	
14. 08. 1995.	Plodovi su sazreli i opali. U gomoljima ima i mlađih repasto zadebljalih korenova koji imaju svežu, žutozelenu boju.
27. 08. 1995.	Seme se osušilo i opalo. Pojedini stari korenovi su se osušili, a negde su se formirali novi.
13. 09. 1995.	Stabljike i listovi su potpuno opali.
28. 09. 1995.	
10. 10. 1995.	Sve biljke su izgubile nadzemne delove. Razvijenije biljke su pripremile podzemne pupoljke za proleće.
26. 10. 1995.	
10. 01. 1996.	Repasto zadebljali korenovi su jedri, a podzemni pupoljci dalje napredovali.

- april, maj – biljka je u vegetativnoj fazi razvića;
jun, jul, avgust – biljka je u reproduktivnoj fazi razvića;
septembar, oktobar – biljka je spremna da prezimi u obliku podzemnih organa

Analiza antranoida hromatografijom na tankom sloju silikagela

Metanolni ekstrakti ispitivanih uzoraka korena *A. albus* (po 0,2 g sprašene droge ekstrahovano je uz zagrevanje sa po 2 ml metanola), razdvajani su na tankom sloju silikagela (DC-Alufolien, Kieselgel G, Merck), u sistemu: etilacetat-metanol-voda (100:17:13 V/V/V). Kao poredbena supstanca korišćen je 1,8-dihidroksiantrahinon (isticin) (Fluka). Posthromatografska derivatizacija vršena je 2M etanolnim rastvorom kalijum-hidroksida. Hromatogrami su posmatrani na dnevnoj svetlosti i pod UV svetlošću. Antrahinoni se boje crveno i pod UV svetlošću fluoreskuju ljubičasto; antroni se boje žuto i fluoreskuju žuto (9).

Određivanje sadržaja antranoida

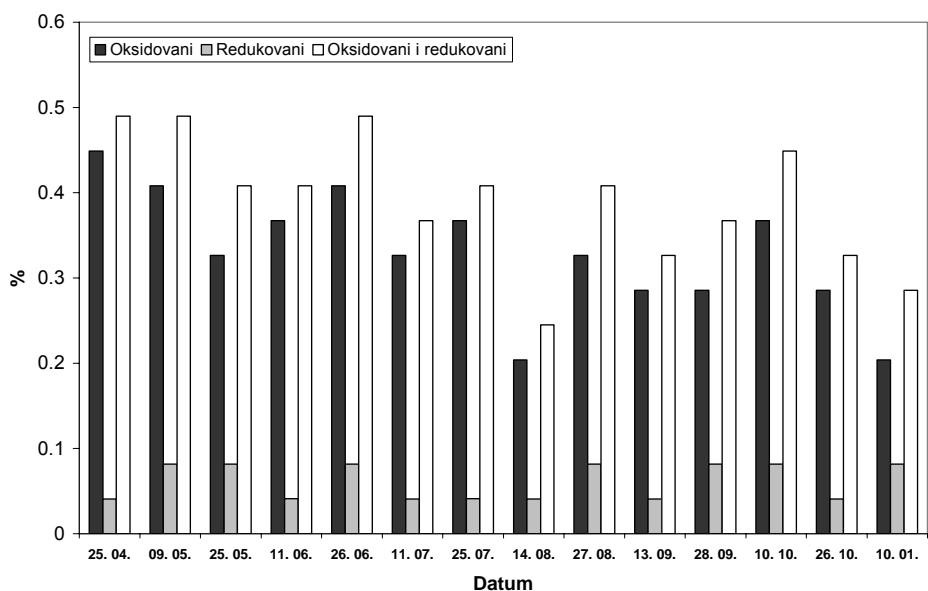
Sadržaj antrahinona u uzorcima korena *A. albus* određivan je kolorimetrijskim postupkom, na bazi Bornträger-ove reakcije, metodom po Schratz-Niewöhner-u (10). Apsorbancije rastvora merene su na kolorimetru Jenway 6030, na 540 nm, a koncentracije izračunavane na osnovu kalibracione krive za 1,8-dihidroksiantrahinon (isticin). Slobodni antrahinoni ekstrahovani su toluenom; ukupni su određivani nakon kisele hidrolize na povišenoj temperaturi. Količina slobodnih i ukupnih antrona (redukovani oblici), određivana je posle zagrevanja u vodenom kupatilu tokom 10 min (oksidacija antrona do antrahinona). Količina heterozida dobijana je iz razlike ukupnih i slobodnih antracenskih derivata.

REZULTATI I DISKUSIJA

TLC analizom metanolnih ekstrakata, u ispitivanim uzorcima korena čapljana *A. albus*, poreklom iz Crne Gore, utvrđeno je prisustvo većeg broja antrahinona i antrona. Hromatogrami svih uzoraka bili su međusobno veoma slični. Razlika je bila samo kvantitativna, odnosno u veličini pojedinih zona i intenzitetu njihove obojenosti. Na hromatogramima su dominirale dve zone antrahinona: zona na sredini hromatograma ($R_f=0,39$) koja odgovara heterozidima i zona na frontu koja odgovara aglikonima. Na hromatogramima je uočeno još pet slabije obojenih zona antrahinonskih heterozida. Antronski heterozidi formirali su dve zone: na donjem delu hromatograma ($R_f=0,21$) i zonu bliže frontu ($R_f=0,80$).

Na osnovu rezultata kolorimetrijskog određivanja utvrđeno je da sadržaj i odnos pojedinih tipova kompleksa antranoida u korenju čapljana tokom vegetacionog perioda nisu konstantni, već pokazuju ciklične promene.

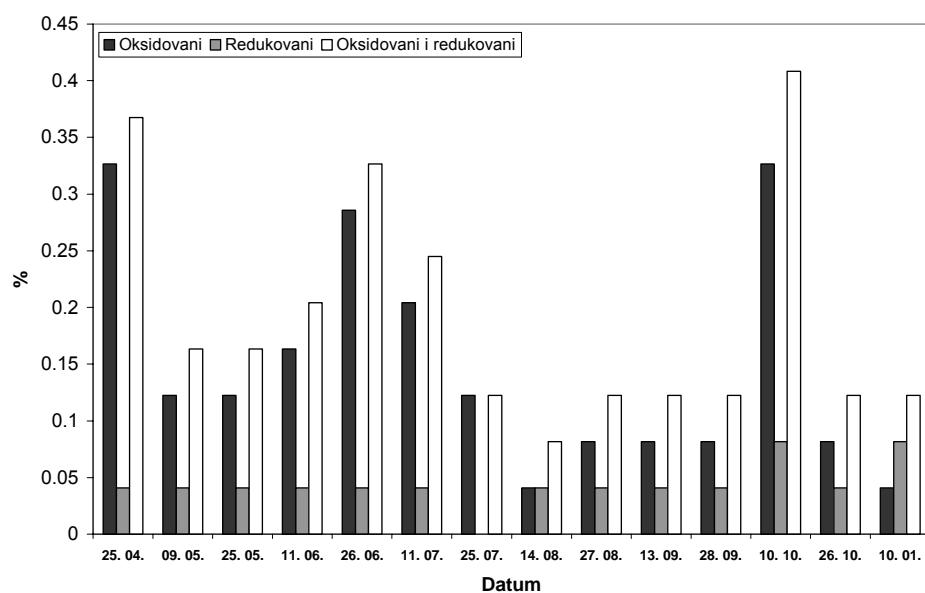
Sadržaj ukupnih derivata (slobodnih i glikozilovanih, oksidovanih i redukovanih), pokazao je tri maksimuma: u proleće - krajem aprila i početkom maja, u leto - krajem juna (0,49 %) i u jesen - sredinom oktobra (0,45 %). Količina ukupnih antranoida bila je najmanja sredinom avgusta (0,24 %). Sadržaj oksidovanih derivata bio je višestruko veći u odnosu na redukovane oblike tokom celog vegetacionog perioda (Slika 1).



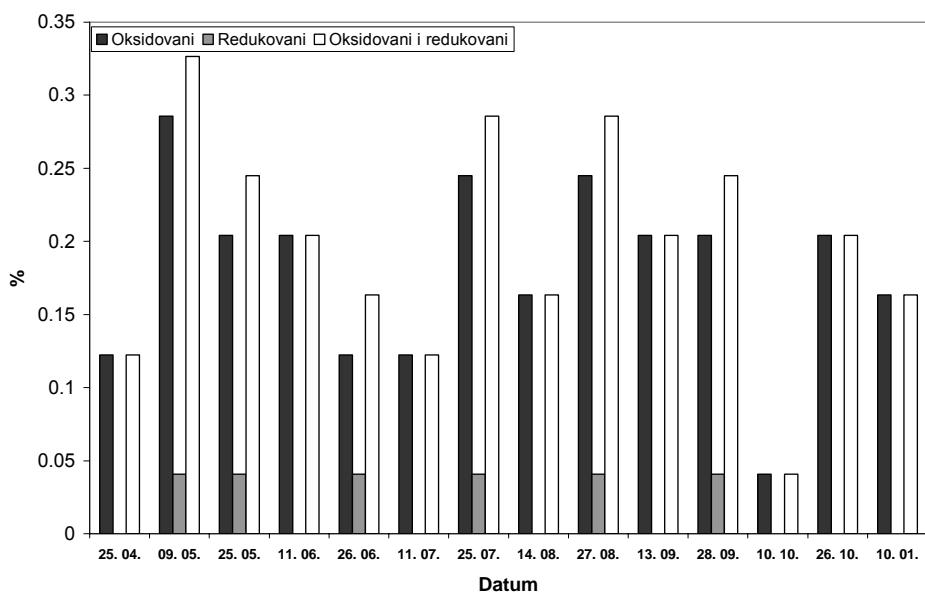
Slika 1. Sadržaj ukupnih antranoida u korenju čapljana, *A. albus*
Figure 1. Content of total anthranoids in the roots of *A. albus*

Heterozida je bilo najviše sredinom oktobra (0,41 %), krajem aprila (0,37 %) i krajem juna (0,33 %), dok je količina slobodnih aglikona bila povećana između navedenih perioda. Tokom vegetacionog ciklusa količina antronskih heterozida bila je niska i gotovo konstantna. Sadržaj antrahinonskih heterozida se međutim značajno menjao (najveći je bio

krajem aprila i sredinom oktobra - 0,33 %). U pogledu tipa aglikona, tokom celog vegetacionog ciklusa dominirali su oksidovani antrahinonski oblici, dok su antronски, zavisno od perioda, izostajali ili su bili neznatno zastupljeni (Slike 2 i 3).



Slika 2. Sadržaj glikozilovanih antranoida u korenju čapljana, *A. albus*
 Figure 2. Content of glycosilated anthranoids in the roots of *A. albus*



Slika 3. Sadržaj slobodnih antranoida u korenju čapljana, *A. albus*
Figure 3. Content of free anthranoids in the roots of *A. albus*

Utrilla i saradnici takođe su utvrdili veliko sezonsko variranje sadržaja antrahinona u vrsti *A. albus* Mill. ssp. *albus* poreklom iz Španije (Granada). Najmanji sadržaj (0,15–0,17 %) konstatovan je u martu i maju, dok je najveći utvrđen u oktobru (1,0 %). Razlike u količini i dinamici sezonskog variranja antranoida u vrsti poreklom iz Španije i u našoj ispitivanoj vrsti poreklom iz Crne Gore mogu se objasniti različitim klimatskim uslovima pod kojima su se biljke razvijale (11).

Slično ispitivanje izvršili su i Hammouda i saradnici na korenju *A. microcarpus*: slobodnih antrahinonskih aglikona bilo je najviše u martu (2,31 %), a najmanje u septembru (1,1 %); glikozilovanih derivata bilo je srazmerno više u julu i avgustu, u odnosu na ostale mesece (12).

Ciklične promene sadržaja ukupnih antranoida i odnosa pojedinih tipova kompleksa antranoida (glikozilovanih i slobodnih, oksidovanih i redukovanih), konstatovane su i u drugim biljnim vrstama i karakteristične su za ovu grupu sekundarnih biljnih metabolita (13).

ZAKLJUČAK

U korenu čapljana, *Asphodelus albus*, poreklom iz Crne Gore, sadržaj ukupnih antranoida i odnos pojedinih tipova kompleksa antranoida, tokom vegetacionog perioda pokazuju ciklične promene. Na osnovu konstatovane dinamike ovog sezonskog variranja, može se zaključiti da koren čapljana koji bi se koristio kao izvor antranoida, treba prikupljati u proleće (krajem aprila) - u slučaju samoniklih biljaka, odnosno u jesen (sredinom oktobra) - u slučaju gajenih biljaka (sredinom oktobra biljke više nemaju razvijene nadzemne organe). Za oba ova perioda karakteristično je da je sadržaj ukupnih antranoida maksimalan, antronski aglikoni izostaju, a količina heterozida je višestruko veća od količine slobodnih antrahinonskih aglikona. Ukoliko bi se, međutim, koren koristio u ishrani (zbog masnog ulja i šećera), trebalo bi ga prikupljati u leto, sredinom avgusta, kada je sadržaj ukupnih antranoida najniži.

Zahvalnica

Ovaj rad delom je finansiran sredstvima sa projekta br. 1568 Ministarstva za nauku, tehnologiju i razvoj Republike Srbije. Autori izražavaju veliku zahvalnost gospodinu Danielu Vinceku na predanom sakupljanju uzoraka biljnog materijala.

INVESTIGATION OF SEASONAL VARIATION OF THE
ANTHRANOID CONTENT IN THE ROOTS OF
ASPHODELUS ALBUS MILL., FROM MONTENEGRO

POPOVIĆ JELENA, PETROVIĆ SILVANA, MAKSIMOVIĆ ZORAN,
GORUNOVIĆ MOMČILO

Institute of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Vojvode Stepe 450, 11221 Belgrade

Abstract

In the roots of *Asphodelus albus*, originating from Montenegro, the quantity of total anthranoids and relationship between specific types of anthranoid complex (free and glycosilated, oxidized and hydrogenated) during the vegetative cycle are not constant, but show cyclic changes. Based upon the dynamics of observed seasonal variation and modes of usage, optimal periods for exploitation of roots were established.

Key words: *Asphodelus albus*, root, content of anthranoids,
seasonal variation

Literatura

1. Diklić N. *Asphodelus* L. U: Josifović M (ed.): Flora SR Srbije VII. Srpska akademija nauka i umetnosti. Odeljenje prirodno-matematičkih nauka. Beograd, 1975: 504-505.
2. Abdel-Gawad M, Raynaud J, Nétien G. Free anthraquinones of *Asphodelus albus* var. *delphinensis* and *Asphodelus cerasifer*. *Planta Med* 1976; 30: 232-236.
3. Utrilla MP, Cabo J, Jiménez J, Miró M. Anthraquinones in *Asphodelus albus* Miller ssp. *albus*. *Pharmazie* 1989; 44: 358-359.
4. Cabo J, Jiménez J, Miró M, Utrilla MP. Micromorphological and phytochemical studies of the root of *Asphodelus albus* Miller. *Plant Méd Phytothérapie* 1983; 17: 40-46.
5. Abdel-Gawad M, Hasan A, Raynaud J. Study of the unsaponifiable fraction and fatty acids of *Asphodelus albus* tubers. *Fitoterapia* 1976; 47: 111-112.
6. Hilendarski medicinski kodeks. Beograd: Narodna biblioteka Srbije, Dečje Novine, Republički zavod za međunarodnu naučnu, prosvetnu, kulturnu i tehničku saradnju SR Srbije, 1989: 104.
7. Dorvault FLM. L'officine ou Rèpertoire général de Pharmacie pratique. Dix-septième édition. Paris: Vigot Frères éditeurs, 1928.
8. Hänsel R, Sticher O, Steinegger E. Pharmakognosie-Phytopharmazie. Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1999: 897-904.
9. Gorunović MS, Lukić PB. Praktikum iz farmakognozije - Hemijsko ispitivanje droga. Beograd: Zlatni presek, 1995: 80.
10. Krstić NR. Prilog farmakognosijskom proučavanju kineskog reuma *Rheum palmatum* L. gajenog u okolini Beograda. Magistarska teza. Beograd: Farmaceutski fakultet Univerziteta u Beogradu; 1960.
11. Utrilla MP, Cabo J, Jiménez J, Miró M. Antraquinones in *Asphodelus albus* Miller ssp. *albus*. *Pharmazie* 1989; 44: 358-359.
12. Hammouda FM, Rizk AM, Seif El-Nasr MM. Quantitative determination and seasonal variation of the anthraquinones of certain Egyptian *Asphodelus* species. *Pharmazie* 1974; 29: 609-160.
13. Verhaeren EHC, Dreessen M, Lemli J. Studies in the field of drugs containing anthracene derivatives. XXXIII. Variation of the ratio of reduced and oxidized forms of anthranoids in the roots of *Rheum officinale* during a year cycle. *Planta Med* 1982; 45: 15-19.