

LJEKOVITO BILJE S KUMARINSKIM DERIVATIMA U HRVATSKOJ

H. Rukavina, I. Kolak, Z. Šatović

Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Zavod za sjemenarstvo

SAŽETAK

Zahvaljujući svom zemljopisnom položaju, kao i raznolikosti reljefa te klimatskih i edafskih čimbenika, Republika Hrvatska ima bogatu i raznoliku ljekovitu floru koja je do sada malo proučena i zbog toga slabo korištena, ukoliko zanemarimo njenu uporabu u narodnoj medicini.

Određeni radovi na proučavanju samonikle ljekovite flore Hrvatske ukazuju na bogata nalazišta bilja koje sadrži manje ili više kumarina, furokumarina i njihovih derivata. Postoji veliki broj biljaka bogatih ovim spojevima važnim u farmaciji i industriji na relativno malom zemljopisnom prostoru kakva je naša zemlja. Poznato antibrucelozno svojstvo umbeliferona nameće potrebu još većeg obraćanja pozornosti na samoniklu floru bogatu kumarinskim derivatima.

Ovim radom željeli smo ukazati na bogati fond ljekovitog (uglavnom samoniklog) bilja s kumarinskim i furokumarinskim derivatima u Hrvatskoj. Glavni cilj rada je potaknuti da se navedeno bilje racionalno i planski prikupi i prouči u okviru znanstveno-istraživačkog projekta Hrvatska banka biljnih gena, za domaće potrebe i za izvoz, a prema potrebi i za organiziranu širu proizvodnju u svrhu dobivanja dovoljnih količina kvalitetnih pripravaka.

Gljučne riječi: Ljekovito bilje, kumarini, furanokumarini

UVOD I CILJ RADA

Svjedoci smo svakodnevnog porasta značenja ljekovitog i aromatičnog bilja, kako sa stajališta njegove proizvodnje, tako i sa stajališta potražnje proizvoda na njegovoj osnovi. Ovaj trend, već odavno nazočan u svijetu, u posljednje vrijeme pojavio se i u našoj zemlji.

Otvaranje domaćih i međunarodnih kompanije za nove, alternativne pripravke - ljekovito i aromatično bilje tj. biljne droge u konačnom obliku, radi promjene socijalnih i gospodarskih tijekova svakoga dana poprima sve veće razmjere (Baričević et al. 1997.). Ovaj proces naglašava i potiče mogućnost uporabe domaćih sirovina, te otvara nova radna mjesta omogućujući time stabilnost, trajnost i prosperitet ukupne poljodjelske proizvodnje.

Činjenica da samo pravilan izbor biljne vrste, točno određivanje taksonomske i genotipske pripadnosti i odabir odgovarajuće agronomske prakse za specifično agroekološko područje omogućuju konkurentnost pripravaka od ljekovitog bilja na europskom i svjetskom tržištu (Baričević et al. 1998.), potakla nas je da ukažemo na moguću gospodarsku opravdanost prikupljanja i proučavanja bilja s kumarinskim i furanokumarinskim derivatima - značajnog dijela ljekovite i aromatične flore Hrvatske. Poznato antibrucelozno svojstvo umbeliferona (Greib i Duquenois, 1954., cit. Tucakov 1977.) uzrok je još većoj potrebi obraćanja pozornosti na samoniklu floru bogatu kumarinima obzirom da je stočarstvo vrlo važna grana agrarnog gospodarstva naše zemlje.

Razumljivo, krajnji cilj ovog rada je poticanje racionalnog i planskog prikupljanja, proučavanja, te krajnjeg korištenja bogatih nalazišta ovog bilja u Republici Hrvatskoj.

BIOSINTEZA KUMARINA

Kemijska struktura i mjesta formiranja u biljkama

Kumarini, furanokumarini i njihovi derivati spadaju u sekundarne biljne produkte. Sekundarni biljni produkti mogu se derivirati kao spojevi koji nemaju jasno prepoznatljivu ulogu u održavanju fundamentalnih životnih procesa u organizimima koji ih sintetiziraju. Ova definicija isključuje međuprodukte, kao i završne produkte primarnih metaboličkih puteva i spojeve kao što su fotosintetski pigmenti zelenih biljaka i pigmenti nosači kisika u krvi sisavaca (Bell, 1981.).

Prema kemijskoj strukturi kumarini su derivati 2*H*-1-benzopirana-2-1 ili benzopirona. Poznato je preko 500 kumarina koji se pojavljuju u prirodi (Murray, 1978., cit. Brown, 1981.), dok ih je više stotina dobiveno sintetskim putem u laboratoriju. Iako ovi spojevi imaju jako široku primjenu u medicini, farmaciji i industriji, biokemija većine kumarina je još uvijek prilično neistraženo područje.

Reppel i Wagenbreth (1958.) cit. Brown (1981.), cijepjenjem *Melilotus alba* na *Trigonella foenum-graecum*, nalaze malo kumarina u izdancima *M. alba* te zaključuju da je za sintezu kumarina neophodan korijen, vjerojatno zbog toga što on osigurava esencijalne prekursore biosinteze.

S druge strane, Gorz i Haskins (1962.) cit. Brown (1981.) provode eksperiment cijepjenja s varijetetima *M. alba* sa i bez kumarina te izvode zaključak je primarno mjesto sinteze kumarina mlado, aktivno rastuće lišće, dok korijen u usporedbi s njim ima samo neznatnu ulogu u biosintezi.

Blaim (1960.) također dokazuje da se kumarin formirna jednako dobro iz ¹⁴CO₂ u otkinutim izdancima *M. albus* i u intaktnoj biljci, dok se herniarin kod *Lavandula officinalis* i skopoletin kod nekoliko vrsta formira iz fenilpropanoid prekursora u organima drugim nego korijen (prema Brown 1981.).

Beyrich (1967.) cit. Brown (1981.) recipročnim eksperimentom cijepjenja u koji je uključio pastirnjak (*Pastinica sativa*) dokazuje formiranje i akumulaciju

furanokumarina u plodovima ove vrste, dok ne pronalazi nikakav dokaz njihove translokacije.

Steck i Bailey (1969.) prema Brown (1981.) tijekom proučavanja razvoja vrste *Angelica archangelica* utvrđuju formiranje nekoliko furanokumarina u listovima, dok za jednostavni kumarin ostenol vjeruju da se formira u korijenu.

Shodno navedenom, evidentno je da jedna općenita tvrdnja ne može na odgovarajući način pokriti pitanje mjesta formiranja kumarina u biljkama. Izgleda da ne bi trebalo biti sumnje da se kumarini formiraju i u korijenu i u listovima vrste *M. alba* ali su prema težini dokaza dominantno mjesto njihove biosinteze ipak listovi. Situacija s drugim kumarinima i biljnim vrstama može se jako razlikovati, čak i za različite kumarinske spojeve formirane od iste biljke, te je svaki slučaj potrebno istražiti individualno.

Putevi biosinteze

Kod najvećeg broja biljnih vrsta benzenov prsten (aromatska jezgra) i ugljični lanac laktorskog prstena pojavljuje se kao cjelina preko šikimat deriviranog fenilpropanoida.

Sam kumarin potječe od šikimi kiseline preko fenilalanina i cinaminske kiseline. Eksperimentalno je potvrđeno da kumarin nastaje preko šikimat-korizmat metaboličkog puta prema fenilpiruvičnoj kiselini, od koje nastaje L-fenilalanin transaminacijom i trans-cinaminska kiselina djelovanjem enzima fenilalanin amonijaze. Ova rana reakcija do cinaminske kiseline uobičajena je kod biosinteze brojnih fenilpropanoidskih sekundarnih biljnih produkata (Brown, 1981.).

GOSPODARSKO ZNAČENJE BILJA S KUMARNSKIM DERIVATIMA

Svojstva mirisa/arome

Vogel 1820. godine iz tonco boba (*Dipterix odorata*) izdvaja mirisnu tvar koju naziva kumarin. Laktonski glikozid iz tonco boba od tada je našao svoju primjenu kao aromatični i mirisni dodatak u farmaceutskoj industriji. Ugodan miris osušene trave potječe od kumarina i "miris sjena" primljen je kao međunarodni tehnički termin u industriji različitih aromatičnih proizvoda, posebice kod proizvodnje parfema. U industriji parfema koriste se kumarin i sintetski spojevi sličnog mirisa, prije svega metil-etoksi-kumarin i metil-dihidro-kumarin.

Antisolarna svojstva

Umbeliferon i njegovi derivati služe kao filter za ultraljubičaste sunčeve zrake, propuštajući samo onaj dio sunčevog spektra koji izaziva pigmentaciju kože. Stoga su mnoge zaštitne kreme za sunčanje napravljene na bazi umbeliferona.

Bergapten, izoliran iz celera (*Apium graveolens*) također služi kao zaštitna tvar od sunčevih ultraljubičastih straka.

Fotosenzibilizacija kože

Smokva (*Ficus carica*) i ruta (*Ruta graveolens*) u dodiru sa kožom izazivaju iritaciju. Ova pojava se naročito ističe pri duljoj izloženosti suncu.

Egipatski farmakognost Fami 1947. godine iz biljke *Ammi majus* izolirao je furanokumarine ksantoksin i bergapten, koji se danas lokalno i oralno koriste za liječenje vitilaga, dok se kelin iz vrste *Ammi visnaga* koristi kao izvrstan relaksant glatkih mišića.

Antibiotska svojstva

Greib i Duquenois 1954. godine (cit. Tucakov 1977.) dokazuju antibruce- lozna svojstva zečje lobode (*Hieracium pilosella*) na kravama, kozama i ovcama. Poslije duže nepoznanice (izoliranu aktivnu tvar nazvali su pilozelin, misleći da su otkrili novi spoj, dotada sasvim nepoznat u bilju) uspjeli su eksperimentalno dokazati da antibruce- lozno svojstvo ove male, ali široko rasprostranjene biljke potječe od umbeliferona, spoja izoliranog još davne 1880. godine. Bruce- loza je široko rasprostranjena zarazna bolest domaćih životinja. Zaražene domaće životinje pored ostalog pobacuju što za nacionalnu ekonomiju predstavlja ogromne gubitke, osobito za mediteranske zemlje, što je i Hrvatska. Filipini et al. (1998.) dokazuju da stanična suspenzija i kultura kalusa vrste *Haplophyllum patavinum* proizvodi umbeliferon i još sedam drugih determiniranih kumarina.

Bravo et al. (1999.) dokazuju antimalarijska, antibakterijska i druga antibiotska svojstva kumarina izoliranog iz vrste *Amburana cearensis*.

Spino et al. (1998.) navode da sjeme vrsta *Calophyllum cerasiferum* i *Calophyllum inophyllum* (fam. *Clusiaceae*) sadrži nekoliko poznatih kumarina između kojih kostatolid i inofilum mogu imati ulogu potencijalnih inhibitora HIV povratne transkriptaze.

Oliva et al. (1999.) dokazuju antibiotsko djelovanje 4-hidroksikumarina iz ekstrakta *Ruta graveolens* na patogene gljive *Fusarium solani*, *Pyrenochaeta lycopersici*, i *Trichoderma viride*.

Kang et al. (1998.) dokazuju zaštitnu ulogu 7-hidroksi-6metoksikumarina izoliranog iz vrste *Solanum lyratum* protiv hepatitisa.

Mock et al. (1999.) potvrđuju inhibitorni učinak skopolina na virus mozaika duhana.

Djelovanje na krv i krvne žile

U kanadi i SAD-u zabilježeni su 1931. godine slučajevi teških i masovnih trovanja, čak i smrtnih hemoragija stoke koje je izazvao dikumarol iz *Melilotus*

albus - kokotac (Campbell i Link 1941., cit Tucakov 1977.) Dikumarol je antagonist vitaminu K, ima svojstva suprotavljanja antihemoragijskom djelovanju ovog vitamina, jer sprečava stvaranje protromboze u krvi.

Antikoagulans je i eskulin - derivat umbeliferona u velikoj količini izoliran iz divljeg kestena (*Aesculus hippocastanum*), tvar koja ima povoljno djelovanje na vaskularnu permeabilnost, posebice kapilara, te te kumarini iz vrste *Melilotus officinalis*.

Antispazmodijska svojstva ima i skopoletin iz vrste *Vibronum pruniflorum*.

VAŽNIJE KUMARINSKO BILJE HRVATSKE

Aesculus hippocastanum - Hippocastanaceae

Ammi majus - Apiaceae

Anglica silvestris - Umbeliferone

Anthoxanthum odoratum - Gramineae

Apium graveolens - Apiaceae

Artemisia abrotanum - Asteraceae

Atropa belladonna - Solanaceae

Avena sativa - Gramineae

Cichorium intybus - Asteraceae

Citrus spp. - Rutaceae

Coronilla glauca - Fabaceae

Crataegus spp. - Rosaceae

Eucaliptus spp. - Myrtaceae

Ficus carica - Moraceae

Foeniculum vulgare - Apiaceae

Fraxinus spp. - Oleaceae

Helianthus annuus - Asteraceae

Heracleum sphondylium - Apiaceae

Herniaria spp. - Caryophyllaceae

Hieracium pilosella - Asteraceae

Lavandula spp. - Lamiaceae

Livistium officinale - Apiaceae

Matricaria chamomilla - Asteraceae

Medicago sativa - Fabaceae

Melilotus spp. - Fabaceae

Nicotiana tabacum - Solanaceae

Orchis spp. - Orchidaceae

Postinaca sativa - Apiaceae

Petroselinum sativum - Apiaceae

Peucedanum spp. Apiaceae

Pimpinella spp. Apiaceae

Prunus spinosa - Rosaceae

Raphanus sativus - Brassicaceae

Ruta graveolens - Rutaceae

Siler trilobum - Apiaceae

Tamarix gallica - Tamaricaceae

Trifolium repens - Fabaceae

Triticum vulgare - Gramineae

Zea mays - Gramineae

Vidljivo je da gotovo trećina bilja priroda familiji *Apiaceae*.

U primorju je najrasprostranjenije ovo bilje: *Foeniculum vulgare*, *Ficus carica*, *Fraxinus ornus*, *Ruta graveolens*, *Citrus spp.*, *Melilotus spp.*, *Lavandula spp.*, *Eucalyptus spp.*

U kontinentalnoj Hrvatskoj i planinskim predjelima: *Siler trilobum*, *Orchis spp.*, *Peucedanum spp.*, *Angelica silvestris*, *Atropa belladonna*, *Fraxinus spp.*, *Pimpinella spp.*, *Prunus spinosa*, *Levisticum spp.*, *Herniaria spp.*, *Hieracium spp.*

RASPROSTRANJENOST POJEDINIH KUMARINA I FURANOKUMARINA U VAŽNIJEM BILJU

Kumarini

Kumarin: *Fabaceae* - (*Melilotus spp.*), *Orchidaceae* - (*Orchis spp.*), *Gramineae* - (*Anthoxanthum spp.*, *Hierochloa spp.*), *Asteraceae*, *Rosaceae* (*Prunus spp.*), *Lamiaceae* (*Lavandula spp.*).

Umbeliferon: *Apiaceae* (*Angelica spp.*, *Heracleum spp.*, *Pimpinella spp.*, *Peucedanum spp.*), *Asteraceae* (*Hieracium spp.*).

Dihidro-kumarin (melilotin): *Apiaceae* (*Angelica spp.*, *Pimpinella spp.*, *Peucedanum spp.*, *Heracleum spp.*).

Limetin: *Citrus spp.*

Eskuletin: *Aesculus hippocastanum*, *tamarix spp.*, *Prunus spinosa*.

Fraksetin: *Fraxinus spp.*, *Aesculus spp.*

Furanokumarini

Bergapten: *Rutaceae* (*Citrus spp.*), *Apiaceae* (*Levisticum spp.*, *Angelica spp.*, *Ammi majus*, *Pimpinella spp.*, *Pastinica spp.*, *Petroselinium spp.*, *Heracleum spp.*).

Psoralen: *Moraceae* (*Ficus carica*), *Fabaceae* (*Coronilla*).

Ksantotoksin: *Rutaceae* (*Ruta spp.*), *Apiaceae* (*Angelica spp.*, *Ammi spp.*, *Heracleum spp.*, *Pastinica spp.*).

ZAKLJUČAK I PREPORUKE

Zahvaljujući svom zemljopisnom položaju i raznovrsnosti klime, reljafa i tla, Republika Hrvatska ima raznovrsnu ljekovitu floru bogatu kumarinskim i furanokumarinskim derivatima, koja je dosada malo proučena i stoga slabo korištena.

Najviše kumarina i furanokumarina sadrži bilje iz familija *Apiaceae*, *Fabaceae*, *Rutaceae* i *Asteraceae*. Za ekstrakciju medicinski i farmakološki važnih furanokumarina kao što su psoralen, ksantotoksin i bergapten, od osobitog je značenja mediteransko bilje naše zemlje (razni agrumi, ruta, smokva).

Ovaj rad predstavlja samo pokušaj ukazivanja na bogati fond bilja s kumarinskim i furanokumarinskim derivatima, spojevima važnim u fitoterapiji. Navedeno bilje će se pokušati racionalno i planski prikupiti i proučiti u okviru znanstvenog projekta Hrvatska banka biljnih gena.

Iz svih navedenih razloga preporučuje se istraživanje ljekovite i srodne flore Hrvatske, jer za to postoji znanstvena i gospodarska opravdanost.

CROATIAN MEDICINAL PLANTS CONTAINING COUMARINE DERIVATIVES

SUMMARY

Due to its geographical position and diverse climate, soil, and topography, Republic of Croatia has an equally diverse and extremely rich medicinal flora, which has not been fully investigated and utilised, except in folk medicine.

Some studies of medicinal and related flora in Croatia, that have been recorded, indicate many plant species containing coumarin, furocoumarin, and their derivatives. Well-known antibruellous property of umbelliferone has focused even greater attention on coumarin derivatives containing flora.

It is striking to find in a relatively small area like Croatia such a large number of plants abounding in those important active constituents.

This article is an attempt to point out a wealth of plants containing coumarin and furocoumarin derivatives that can be found in Croatia. The main aim of this article has been to develop methods for a planned and rational use of these plants within scientific, Croatian Bank of Plant Genes, in order to cover domestic demands, to offer them to foreign markets, and also to cultivate these plants for the preparation of adequate amount of quality products.

Key words: medicinal plants, coumarines, furanocoumarines

Literatura:

1. Baričević, D., A. Zupančić, M., M. Eržen-Vodenik, A. Seliškar. 1997. In situ in ex situ ohranjanje naravnih izvora zdravilnih in aromatičnih rastlin v Sloveniji. *Sjemenarstvo*. 14(1-2):23-29.
2. Baričević, D., A. Zupančić, T. Bartol. 1998. Značilnosti razmnoževanja zdravilnih in aromatičnih rastlin. *Sjemenarstvo*. 15(3-4):189-194.
3. Bravo, J. A., M. Sauvain, A. Gimenez, V. Munoz, J. Callapa, L. LeMen-Oliver, G. Massiot, C. Lavaud. 1999. Bioactive phenolic glycosides from *Amburana cerensis*. *Phytochemistry*. 50(1):71-74.
4. Brown, S. A. 1981. Coumarins. In: *The Biochemistry of Plants*. Academic Press, New York.
5. Chevallier, A. 1996. *The Encyclopedia of Medicinal Plants*. Dorling Kindersley Limited, London.
6. Dubravec, K. 1993. *Botanika. Udžbenik Sveučilišta u Zagrebu*.
7. Fillipini, R., A. Piovon, G. Innocenti, R. Caniato, E. M. Cappalletti. 1998. Production of coumarin compounds by *Haplophyllum patavinum*. *Phytochemistry*. 49(8):2337-2340.
8. Kang, S. Y., S. H., Sung, J. H. Park, Y. C. Kim. 1998. Hepatoprotective activity of scopoletin, a constituent of *Solanum lyratum*. *Archives of Pharmacal Research*. 21(6):718-722.
9. Linčir, I. 1993. *Farmakologija za stomatologe. Udžbenik Sveučilišta u Zagrebu*.
10. Mock, H. P., W. Heller, A. Molina, B. Neubohn, H. Sandermann, B. Grimm. 1999. Expression of uroporphyrinogen decarboxylase of coproporphyrinogen oxidase antisense RNA in tobacco induces pathogen defense responses conferring increased resistance to tobacco mosaic virus. *Journal of Biological Chemistry*. 274(7):4231-4238.
11. Moore, M. *Herbal/Medical Dictionary*. Southwest School of Botanical Medicine. Albuquerque, NM, USA.
12. Oliva, A., E. Lahoz, R. Contillo, G. Aliotta. Fungistatic activity of *Ruta graveolens* extract and its allelochemicals. 1999. *Journal of Chemical Ecology*. 25(3): 519-526.
13. Sharef, S.R., and U. Blum. 1991. Influence of phenolic acids on microbial populations in the rhizosphere of cucumber. *Journal of Chemical Ecology*. 17(2):369-389.
14. Siegrist, J., S. Muhlenbeck, H. Buchenauer. 1998. Cultured parsley cells, a model system for the rapid testing of abiotic and natural substances as inducers of systemic acquired resistance. *Physiological & Molecular Plant Pathology*. 53(4):223-238.
15. Spino, C., M. Dodier, S. Sotheeswari. 1998. Anti-HIV coumarins from *Calophyllum* seed oil. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 8(24):3475-3478.
16. Stumpf, P. K. and E. E. Conn. 1981. *The Biochemistry of Plants*. Academic press, New York.
17. Šugar, I. 1990. *Botanički leksikon. Globus, Zagreb*.
18. Tucakov, J. 1977. Farmako-medicinska važnost proučavanja bilja s kumarinskim i furokumarinskim derivatima u Crnoj Gori. Prvi simpozijum međukademijskog koordinacionog odbora medicinskih odjeljenja jugoslovenskih akademija, Titograd. Zbornik radova, str. 21-27.

Adresa autora - Authors' address:
mr. sc. Hrvoje Rukavina
prof. dr. sc. Ivan Kolak
dr. sc. Zlatko Šatović
Agronomski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
Zavod za sjemenarstvo
Svetošimunska 25
HR-10 000 Zagreb

Primljeno – Received:
15. 10. 1999.