

Hozzájárulás a *Plantaginis lanceolatae folium* farmakognóziai vizsgálatához

Czirjék Gabriela, Varga Erzsébet

Marosvásárhelyi Orvosi és Gyógyszerészeti Egyetem, Gyógyszerészeti Kar, Farmakognózia és Fitoterápia Tanszék

Contribuții la studiul farmacognostic al *Plantaginis lanceolatae folium*

Pătlagina este răspândită în întreaga lume, se găsește în Europa și Asia, este o plantă perennă. De obicei această plantă este cultivată, dar se găsește și în flora spontană, în pășuni, în pajiști luxuriante. Este utilizată de cele mai vechi timpuri. Utilizarea terapeutică datează din antichitate și este menționată și de ierbarii medievale. Produsul vegetal, descris ca monografie a apărut prima dată în *Pharmacopora Hungarica* ediția a VI-a, urmată și de ediția a VIII-a sub denumirea de *Plantaginis lanceolatae folium*. Lucrarea de față are drept scop caracterizarea farmacognostică, studiul microscopic și analiza chimică al plantei din Tîrgu Mureș, utilizând produsul vegetal recoltat din Grădina de Plante Medicinale U.M.F. Tg. Mureș în anul 2012. Din frunze pulverizate am efectuat analize microscopice. Pentru analiza fitochimică am recurs la cromatografie în strat subțire pentru evaluarea polifenolilor și a iridoidelor și printr-o metodă spectrofotometrică am determinat concentrația materiilor tanante. La analiza cromatografică în strat subțire a flavonidelor s-au separat mai multe fracțiuni, s-a confirmat prezența rutinei, acidul cafeic și acidului clorogenic. În cazul iridoidelor s-a constatat prezența aucubinei. La determinarea concentrației materiilor tanante am găsit (valami mas szo kene) o concentrație de $2,98 \pm 0,17\%$. Rezultatele noastre arată că testele utilizate poate fi extinse în funcție de posibilitățile și nevoile, o metodă în sine nu oferă suficiente informații cu privire la substanța testată. În urma analizării a frunzei de *Plantago lanceolata* am confirmat prezența substanțelor active responsabile pentru efectele sale benefice în de medicina tradițională și în medicina modernă, acestea pot fi determinate în condițiile noastre de laborator, deci pot fi investigate prin metode de rutină.

Cuvinte cheie: *Plantaginis lanceolatae folium*, substanțe active: aucubina, flavonoide, materii tanante

Contributon to the pharmacognostical study of *Plantaginis lanceolatae folium*

Plantago lanceolata is spread worldwide, can be found in Europe and Asia, this is a perennial plant. This plant mainly is cultivated, but appears in spontaneous flora, in pastures and in luxuriant grassland. It is used by the ancient times. Therapeutic use dates back to ancient times and is mentioned by medieval ierbarii. The first monograph with this plant product appeared in the *Hungarian Pharmacopoeia* sixth edition followed by the VIIIth edition as the *Plantaginis lanceolatae folium*. This paper aims to the pharmacognostical characterization, microscopical study and chemical analysis using the plants leaf. This plant was harvested from the Medicinal Plant Garden UMF Tg. Mures in the year of 2012. Powdered leaves have performed for the microscopical analysis. For phytochemical analysis we used thin layer chromatography to assess the presence of polyphenols and iridoids and a spectrophotometric method for the tannins concentration determination. The thin-layer chromatographic analysis showed the separated flavonides fractions, such as routine, caffeic acid and chlorogenic acid. With TLC we showed the presence of iridoids, such as aucubin. The tannins concentration was $2.98 \pm 0.17\%$. Our results show that the tests used may be extended depending on the possibilities and needs, a method itself does not provide sufficient information on the test substance. After analyzing the leaf of *Plantago lanceolata* we confirmed the presence of active substances responsible for its beneficial effects in traditional medicine and modern medicine, they can be determined in our laboratory conditions, so it can be investigated by routine methods.

Keywords: *Plantaginis lanceolatae folium*, active substances: aucubine, flavonoids, tannins

Orvostudományi Értesítő, 2012, 85 (2): 106-110

www.orvtudert.ro

A lándzsás útifű (1. ábra) vagy hegyes levelű útifű [6] a Plantaginaceae családba tartozik. Európában és Ázsiában egyaránt előforduló növényfaj [1]. A növényt általában termesztik. A spontán flórában a sziklagyepektől kezdve a legelőkig, üde rétekig bezáróan mindenütt megtalálható, közönséges évelő növény [11, 14]. Gyógyászati célú alkalmazását már ősidők óta gyakorolják. Az írásos emlékek az orvoslásról az assziroktól maradtak fenn, Dioszkoridész, *Materia medica* című művében részletesen leírja a gyógyhatásukat különösen a lándzsás útifűvet bőrbetegségekre (pakolásként). A *Macer floridus* szerint „...harmadfokon hűsítő és szárító hatású. Mézzel keverve szárítja a nedvező, s tisztítja a gennyes sebet. Ecettel, sóval zöldségnek

megfőzve mérsékeli az erős hasmenést” [4].

A magyar gyógyszerkönyvek közül először a VI. Magyar Gyógyszerkönyvben szerepel, de a népi gyógyászat sokkal régebből ismeri [1]. A VIII. Magyar Gyógyszerkönyvben aprított, szárított levele, a *Plantaginis lanceolatae folium* a hivatalos drog, amelynek akteozidban kifejezett összes dihidroxi-fahéjsavszármazék-tartalma legalább 1,5% [13].

A népi gyógyászat a lándzsás útifűvet szinte mindenütt a legkitűnőbb szernek tartotta makacs sebek kezelésére és gyulladások gyógyítására, de sorvadás, köhögés, láz, hasmenés és vérszegénység ellen is javasolták. Később pedig asztma, aranyér kezelésére is alkalmazták [4].

Az évek során sok rokon név allatt fordult elő az irodalomban, ilyen például az *Arnoglossum lanceolatum* L., *Plantago flexuosa*, *Plantago lanceofolia*, *Plantago longistipites*, *Plantago sylvatica*, a levéldrogot még *Plantaginis folium*, *Folium plantaginis* név allatt is ismeretesek [3].

Varga Erzsébet

Marosvásárhely - Târgu Mureș
str. Gh. Marinescu 38
e-mail: verzsebet@yahoo.com



1. ábra. *Plantago lanceolata* L. [14]

Dolgozatunk célja a Marosvásárhelyen termesztett lándzsás útifű farmakognóziai jellemzése, mikroszkópiai és kémiai vizsgálata, hatóanyagainak értékelése.

Általános rész

A keskeny levelű vagy lándzsás útifű, élő növény, lándzsás levelei tölevélrózsát képeznek, hosszuk 20 cm, szélességük kb. 3,5 cm, élük ép vagy csak ritkán fogazott, a 3-5 hosszanti ér majdnem párhuzamos. A tölevélrózsa közepéből fejlődnek a virágzó szárak, magasságuk elérheti az 50 cm-t, ezeken levelek nincsenek, csúcsukon az apró virágok tömött, tojásdad vagy hengeres füzérvirágzatot képeznek [9]. A porzósálak és a bibeszál a pártából hosszan kinyúlnak. Termése tojásdad kupakkal nyíló, kétrészes tok. Április-júniusban virágzik, a levelét májustól szeptemberig gyűjthetjük [14].

Hatóanyagok, felhasználás, alkalmazás

A gyógyászatban kizárólag a lándzsás útifű levelét használják, *Plantaginis lanceolatae folium* néven. Legfontosabb hatóanyagai az iridoid-glikozidok: az aukubin és a katalpol [5]. Ugyanakkor fontos a nyálka és polifenolok: cserzőanyagok, flavonoidok, valamint kvasav [7, 4]. A nyálka anyagoknak ingercsillapító hatása van, míg a cserzőanyagnak összehúzó (adsztringens), az iridoidoknak pedig baktériumgátló hatása van [4]. A népi gyógyászat köhögés, asztma, aranyér, hasmenés ellen alkalmazza. A duzzadt, gyulladt sebekre, kezelésekre, rovarcsípésekre friss leveleket kötöznek. A száj és torok nyálkahártyájának gyulladásakor a teát öblögetésekre, gargalizálásra használják és aranyérben az érintett terület lemosására alkalmazzák [4]. Az újabb kutatások szerint hemolitikus és antimikrobiális hatású szaponin is található a *Plantaginis lanceolatae folium*ban [11]. A gyermekgyógyászatban ártalmatlan készítmény a légutak gyulladásában [7].

Alkalmazása: tea, szirup hatékonysága vizsgálatokkal igazolt hurutos légúti betegségekben, öblögetőként a száj és toroknyálkahártya gyulladásában. Gyulladásos bőrelváltozások esetén frissen sajtolt növényi nedv formájában alkalmazzák, borogatásra és gargalizálásra a száj- ill. toroknyálkahártya gyulladásnál. Ugyanakkor sebekre és rovarcsípésekre szétmorzsolva vagy összerágva közvetlenül a nehezen gyógyuló sebekre tehetjük (napi adag 6g/levél illetve 3 evőkanálnedv, szirup) [1, 4].

Preklinikai vizsgálatok

In vitro vizsgálatok szerint hideg vizes kivonata bakteriosztatikus és baktericid hatású. A hatásért felelős vegyületeknek az iridoid-glikozidokat, illetve ezek hidrolízis termékét tartják (utóbbi vegyületek a glikozidokból a bélflórában található mikroorganizmusok béta-glukozidáz enzimeinek hatására képződnek) [7]. A lándzsás útifű gyulladáscsökkentő hatása a drogban található poliszacharidokra, iridoidokra, flavonoidokra vezethető vissza *in vitro* bizonyítékok alapján. Az aukubin és a feniletanoidok közé tartozó akteozid gyulladáscsökkentő hatását számos *in vivo* tesztben is igazolták. A drog immunstimuláns hatása nyálkatartalmával hozható összefüggésbe. A poliszacharid frakciók kísérletes körülmények között fokozták a granulociták fagocitózis aktivitását [1].

Humán bizonyítékok

Az irodalomban csak néhány humán klinikai vizsgálatot találunk, amelyek többségében a *Plantaginis lanceolatae folium* légutakra kifejtett hatását tanulmányozza. Felső légúti fertőzés, akut bronchitis esetén a kezelő orvosok a kezelés pozitív hatásáról számoltak be. Gyermekek esetén kiemelkedő hatásosságot tapasztaltak, mindamellett a kezelés jól tolerálható [1].

Kísérletes rész Gyűjtés és szárítás

A kísérletek elvégzéséhez a növény levelét (*Plantaginis lanceolatae folium*) használtuk, amit Marosvásárhelyen a MOGYE Gyógynövénykertjéből gyűjtöttünk (2012). A leveleket akkor kell gyűjteni amikor már fejlettek, „érettek”, épek, egészségesek (2. ábra) [8]. A gyűjtés a virágzás előtt és után történt. A szárítás nagyon gyorsan történt forgatással [11] jól szellőztetett szobában, 20-25°C-on.

Magas (75%) relatív páratartalmú levegőben inkubált *Plantago lanceolata* levéldrog színe megváltozik, megbarnul (3. ábra) amit főleg a klorofill degradáció okoz,



2. ábra. *Plantago lanceolatae* folium

ugyanakkor a levéldrog hatóanyagai (aukubin, katalpol, akteozid) bomlást szenvednek, illetve alacsonyabb (45%) páratartalom biztosítja a növényi drog kémiai stabilitását [2], ezért papírzacskóban, alacsonyabb páratartalmú közegben tároltuk.

Mikroszkópia

Anyag és módszer

A kísérlet elvégzéséhez a szárított levelet először vízben maceráltuk, majd derítettük 80%-os klórál-hidrát oldatban. A preparátumok beágyazásához glicerines zselatint használtunk. A preparátumokat IOR Buc ML-4M-es típusú mikroszkóppal vizsgáltuk, 10x-es nagyításban.

Porvizsgálatot végeztünk, így elemeztük a növényi részt [12].

Eredmények

A preparátumoknál az *epidermisz* töredékeit láthatuk, melyeket szabálytalan, hullámos falú sejtek alkotnak. A *légzőnyílások* túlnyomórészt diacitikusak, néha anomocitikusak. A többsejtű, egysoros, kúp alakú *fedőszőrök* nagyon jellegzetesek: az alapi sejt nagyobb, mint az epidermiszsejt. A *mirigyszőrök* egysejtű és hengeres nyaki részből, valamint megnyúlt, kúp alakú, soksejtű fejből állnak ugyanakkor tömött *szállítószövetcsoportokat* figyeltünk meg.

Fitokémiai vizsgálatok

Polifenolok minőségi meghatározása vékonyréteg kromatográfiás módszerrel

Anyag és módszer

A vékonyréteg kromatográfia hivatalos módszer a X. Román és a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvekben, amelyekkel lehetővé válik a komponensek szétválásztása egy futató-elegy segítségével, szilikagéles vékony rétegen [12, 13]. 1 g finoman porított drogot 10 ml metanolban 24 órát áztattunk. Ezután a kivonatokat szűrtük, majd a minták 20-30 µl-es részleteit vittük fel a lemezre, vékonyréteg kromatográfiás módszerrel vizsgálva. Összehasonlító



3. ábra. Megbarnult *Plantago lanceolata*

anyagként a rutin-, klorogénsav-, kávéssav-, kvercetin (1:1:1:1) metanolos oldatait használtuk (0,05%). Ebből 20 µl-es részleteket vittünk fel a rétegre.

Kromatográfiás munkakörülmények:

- Álló fázis: *Kieselgel 60* (Merck, 0,2 mm), (100x200 mm).
- Futató-elegy: *etil-acetát: metil-etil-eton: hangysav: víz* – 5:3:1:1 arányú keveréke.
- Előhívó: *Neu reagens* (1 %-os etanolamin difenilborát metanolban).
- Detektálás: látható és ultraibolya fény (UV 365 nm) [10].
- *Mintafelvitel:* 20 µl *Plantaginis lanceolatae folium* metanolos kivonata, 20 µl tesztoldat: etalonok keveréke metanolos oldatban.

Eredmények

A lemezen több frakciót is láttunk (4. ábra). *Neu reagens*-sel permeteztük be, UV (365 nm) fényben a következőket azonosítottuk (az Rf-ek növekvő sorrendjében) a *Plantaginis lanceolatae folium* metanolos kivonatából.

Az adatokat táblázatban foglaltuk össze (1.táblázat).

Megbeszélés

A *Neu reagens*sel való előhívás után a *Plantaginis lanceolatae folium* metanolos kivonatának különböző polifenolos frakcióit találtuk UV fényben. Az Rf értékek alapján igazolható a rutin, a kávéssav és a klorogénsav jelenléte.

Iridoidok minőségi meghatározása vékonyréteg kromatográfiás módszerrel

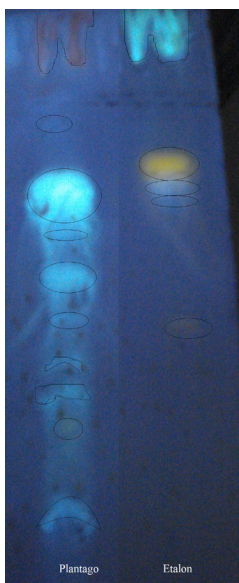
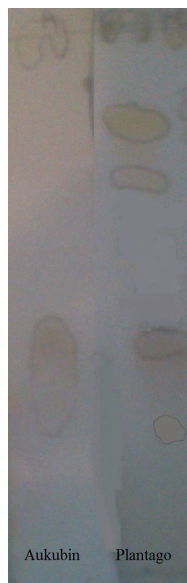
Anyag és módszer

1. táblázat. A kapott retenciók faktorok értékei a frakciók színeivel UV fényben való vizsgálat után

<i>Etalonok</i>			<i>Plantaginis lanceolatae folium</i>		
<i>Referencia anyagok</i>	<i>R_f</i>	<i>Szín 365 nm</i>	<i>Frakciók</i>	<i>R_f</i>	<i>Szín 365 nm</i>
rutin	0,486	sárgászöld	első	0,216	kék
klorogénsav	0,664	kék	második	0,336	világos barna
kávésav	0,686	kék	harmadik	0,383	világos kék
kvercetin	0,735	sárga	negyedik	0,432	világos kék
			ötödik	0,491	világos kék
			hatodik	0,567	világos kék
			hetedik	0,632	világos kék
			nyolcadik	0,691	fehéres kék
			kilencedik	0,805	halvány kék
			tizedik	0,972	narancssárga

2. táblázat. Az iridoidok retenciók faktorai a frakciók színei látható fényben

<i>Etalonok</i>			<i>Plantaginis lanceolatae folium</i>		
<i>Referencia anyagok</i>	<i>R_f</i>	<i>Szín</i>	<i>Frakciók</i>	<i>R_f</i>	<i>Szín</i>
aukubin	0,389	barna	első	0,337	fehéres barna
			második	0,395	barna
			harmadik	0,709	fehéres sárga
			negyedik	0,813	mustársárga

**4. ábra.** Vékonyréteg kromatográfiás lemez, Neu reagenssel bepermetezve, UV fényben vizsgálva (365 nm)**5. ábra.** Vékonyréteg kromatográfiás lemez, 1 %-os p-dimetilaminobenzaldehid kénsavas oldatával bepermetezve, VIS-ben vizsgálva

oldat a tiszta aukubin 20 µl-es részletét sávok formájában vittünk fel a lemezre.

Kromatográfiás munkakörülmények:

- Álló fázis: *Kieselgel 60*.
- Futtató-elegy: *etil-acetát: víz: hangysav: jégecet – 100:27:11:11 arányú keveréke*.
- Kifejlesztés: a lemezt 5-10 percig 120 C°-on melegítjük.
- Előhívás: nappali fényben és később bepermetezzük az 1 %-os p-dimetilaminobenzaldehid kénsavas oldatával [13].

Eredmény

A *Plantaginis lanceolatae folium*ból a kromatográfiás lemezen négy frakciót figyelhettünk meg (5. ábra).

Az eredményeket a 2. táblázatban fogaltuk össze.

Megbeszélés

Kimutattuk az aukubint, mint domináló iridoid komponens a *Plantaginis lanceolatae folium* metanolos kivonatóból.

Vékonyréteg kromatográfiás módszerrel mutattuk ki az iridoidok jelenlétét. 1 g finoman porított drogot 10 ml metanolban 24 órát áztattuk. A kivonatokat megszűr-tük, majd a minták 20-30 µl-es részleteit vékonyréteg kromatográfiás módszerrel vizsgáltuk. Az összehasonlító

3.táblázat. A vizsgált növényi részek cserzőanyag tartalma és abszorpciós értékük

A próba tömege (g)	Leolvasott abszorbanciák			Koncentráció (%)
	A1	A2	A3	
0,75	0,089	0,018	0,42	2,95±0,17%
0,78	0,088	0,019	0,42	2,83±0,17%
0,72	0,090	0,017	0,42	3,16±0,17%

A₁= az összpolfenol oldat abszorbanciája

A₂= a bőrporral nem adszorbeálódott polifenol oldat abszorbanciája

A₃= a pirogallol abszorbanciája

Tanninok (csersavak) mennyiségi meghatározása

Anyag és módszer

Ez a módszer hivatalos a X. Román és a VIII. Magyar Gyógyszerkönyvekben.

Mi a X. Román Gyógyszerkönyv munkamenetét követtük, ez említése szerint a csersavak mennyiségi meghatározása a mintában jelenlevő polifenolok meghatározását jelenti. Meghatározásra került az összpolfenol, a bőrporra nem adszorbeálódott polifenol és a pirogallol koncentrációk meghatározása. Ez egy spektrofotometriás módszer, 715 nm-en [12, 13]. A mérés a polifenolok redukálóképességén alapul. Foszfor-molibdén-wolfrám-sav reagenssel kék színeződést adnak lúgos közegben, a szín intenzitása arányos a polifenol koncentrációjával. vizsgálat során három párhuzamos mintával dolgoztunk.

Eredmények

A cserzőanyagok koncentrációját a X. Román Gyógyszerkönyv segítségével számoltuk ki, és az adatokat a 3. táblázatban foglaltuk össze.

$$C = \frac{3,125 \cdot (A_1 - A_2)}{A_3 \cdot m}$$

Magyarázat

A cserzőanyag-tartalmat indirekt módon, az összpolfenol-tartalom és a bőrporra nem adszorbeálódott, azaz nem cserzőanyag típusú polifenol-tartalom különbségéből határozzuk meg.

Megbeszélés

A cserzőanyagok koncentrációja a *Plantaginis lanceolatae* foliumban (átlag érték): 2,98±0,17%.

Következtetések

Eredményeink igazolják, hogy az alkalmazott kísérletek a lehetőségektől és szükségletektől függően bővíthetnek, egy-egy módszer önmagában nem ad kellő felvilágo-

sítást a vizsgált anyagról. Az általunk vizsgált *Plantago lanceolatae* foliumban a népgyógyászati és a modern fitoterápiás felhasználásért felelős hatóanyagok jelenléte kimutatható, a mi laboratóriumi körülményeink között rutin módszerekkel vizsgálhatók.

Irodalom

1. Csupor D., Szendrei K. - *Gyógynövénytár*, Medicina Könyvkiadó ZRT, Budapest, 2012, 310-311.
2. Gonda S., Tóth L., Gyémánt G. et al. - *Effect of high relative humidity on dried Plantago lanceolata L. leaves during long-term storage: effect on chemical composition, color and microbiological quality*- Journal of Phytochemical Analysis, 2012: 6-7.
3. Hansel R., Keller K., Rimpler H. et al. - *Hagers handbuch der Pharmazeutischen Praxis, 6 drogen P-Z*, Springer-Verlag, New York, 1994, 224-228.
4. Johannes G. M., Bernhard U., Pater K. S. - *Kolostori gyógyászat: Régi és új ismeretek a gyógynövények hatásáról: megelőzés, kezelés, gyógyítás*, Magyar Könyvklub, Budapest, 2004, 146-349.
5. Karolyn D., M. Deane B. - *Phenological and population variation in iridoid glycosides of Plantago lanceolata (Plantaginaceae)* - Journal of biochemical system and ecology, 1997: 1-11.
6. Melius P. - *Herbárium*, Kriterion Könyvkiadó, Bukarest, 1978, 429-430.
7. Rácz G., Rácz-Kotilla E., Laza A. - *Gyógynövényismeret*, Ceres Könyvkiadó, Bukarest, 1984: 22, 196-197.
8. Rápóti J., Romváry V. - *Gyógyító növények*, Medicina Könyvkiadó, Budapest, 1987: 129.
9. Varga E. - *Farmakognózia*, Marosvásárhely, University Press Könyvkiadó, 2009: 58, 135-136, 138-144, 168-171.
10. Wagner H., Bladt S. - *Plant drug analysis - A thin layer chromatography Atlas*, Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York, 1996, 196.
11. Wichtl M. - *Herbal Drugs and Phytopharmaceuticals - A handbook for practice on a scientific basis* - 2nd Edition, Medpharm Scientific, Stuttgart, 1994, 378-381.
12. ***Farmacopeea Română X- *Dozarea taninurilor din produse vegetale*, Editura Medicală, București, 1993, 1063-1064, 1197, 1202, 1218.
13. ****Pharmacopea Hungarica VIII*, 2004, II. Kötet, Medicina Könyvkiadó, Budapest, 2292-2293.
14. <http://www.oficinadeervas.com.br/informativo.php?id=145&t=conheca-a-tanchagem-e-seus-efeitos-medicinais>.