

## FLAVONOIDY – HLAVNÉ OBSAHOVÉ LÁTKY LISTOV *HOLIDISCUS DISCOLOR* (PURSH) MAXIM.

HALADOVÁ M., EISENREICOVÁ E., MRIŽOVÁ M., GRANČAI D., UBIK K.<sup>1</sup>

Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky  
<sup>1</sup>Ústav organickej chémie a biochémie AV ČR, Praha

### SÚHRN

#### Flavonoidy – hlavné obsahové látky listov *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim.

Práca sa zaoberá izoláciou a identifikáciou flavonoidov prítomných v listoch *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. (*Rosaceae*). Z metanolového extraktu boli izolované tri flavonoidové glykozidy flavonolového typu: kempferol-3-O-rhamnosid, quercetin-3-O-glukozid (izokvercitrín) a quercetin-3-O-rhamnosid (kvercitrín), ktoré boli identifikované pomocou fyzikálno-chemických metód, porovnaním so štandardmi a literatúrou. Z rastlinného druhu *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. boli izolované prvýkrát.

K l ú č o v é s l o v á: *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. – *Rosaceae* – flavonoidové glykozidy

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 242–244

### SUMMARY

#### Flavonoids – Main Constituents of the Leaves of *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim.

The paper deals with the isolation and identification of constituents of the leaves of *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. (*Rosaceae*). Three flavonoid glycosides of flavonol type were isolated from the methanolic extract: kaempferol-3-O-rhamnoside, quercetin-3-O-glucoside (isoquercitrin) and quercetin-3-O-rhamnoside (quercitrin). Isolates were identified by physical-chemical data, by comparison with authentic samples and literature data. The above-mentioned compounds were isolated from *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. for the first time.

K e y w o r d s: *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. – *Rosaceae* – flavonoid glycosides

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 242–244

Má

*Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. (holodisk dvojfarebný, celoterčník rôznobarevný) z čelade *Rosaceae* sa u nás pre bohaté biele súkvetia pestuje ako okrasný ker, avšak vo svojej domovine (západné pobrežie Pacifiku) sa používa hlavne v terapii vírusových ochorení. U etanolových extraktov tohto rastlinného druhu bola zistená antimikrobiálna, antifungálna a cytotoxická aktivita<sup>1-3</sup>). Tieto účinky sú pripisované najmä látkam polyfenolového charakteru, ku ktorým patria aj flavonoidy, hlavné obsahové látky listov holodisku dvojfarebného. V predchádzajúcej práci<sup>4</sup>) sme opisali izoláciu a identifikáciu flavónového glykozidu luteolín-7-O-glukozidu a rastlinných sterolov.

Predložená práca prezentuje výsledky izolácie troch flavonoidových glykozidov flavonolového typu a ich identifikáciu na základe fyzikálno-chemických meraní, porovnaním so štandardmi a literatúrou.

### POKUSNÁ ČASŤ

#### *Materiál a metódy*

Listy *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. boli naberané v Arboréte v Tesárskych Mlyňanoch a usušené pri laboratórnej teplote. Na stĺpcovú chromatografiu sa použil silikagél (SILPEARL, Kavalier Votice, ČR) a MN-polyamid SC 6, d<0,07 mm (Nemecko); na tenkovrstvovú chromatografiu SILUFOL UV 254 a 366 nm (Kavalier Votice, ČR) a silikagélové platne Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck). Detekcia chromatogramov sa robila UF žiarením pri 254 a 366 nm, kyselinou sírovou v éteri (1:4) s následným zahriatím na 120 °C, metanolovým roztokom chloridu hlinitého, Neuovým skúmad-

lom a anilínfталátom <sup>5)</sup>. Teplota topenia sa merala na Koflerovom bloku (VEB Analytik Dresden, Nemecko), ultrafialové spektrá boli merané na prístroji SPECORD UV-VIS (Carl Zeiss, Jenna, Nemecko) v metanole a po pridaní špecifických diagnostických skúmadliel <sup>6)</sup>. Hmotnostné spektrum bolo merané na prístroji ZAB-EQ (Micromass, Manchester, Veľká Británia). Hmotnostné spektrum pri ionizácii nárazom elektrónom (EI) bolo merané pri teplote iónového zdroja a vstupného systému 300 °C a elektrónovej energie 70 eV. Kyslá hydrolyza sa robila 2%-nou kyselinou sírovou; vodná fáza sa potom neutralizovala na DOWEX-e (FLUKA AG CHEMISCHE FABRIK BUCHS SG) podľa literatúry <sup>7, 8)</sup>.

### Extrakcia a izolácia látok

Usušené a pomleté listy *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. (500 g) sa opakovane extrahovali petroléterom, chloroformom a metanolom. Látky prítomné v metanolovom extrakte (43,5 g) sa delili na stĺpci silikagélu elúciou zmesou chloroform – metanol v rôznom pomernom zastúpení. Zachytilo sa 241 frakcií s objemom cca 150 ml, ktoré sa analyzovali tenkovrstvovou chromatografiou. Rechromatografiou frakcií 25–45 a 49–55 na polyamide, silikagéli a kryštalizáciou z metanolu sa z frakcie 25–45 získala mikrokryštalická látka (I) žltej farby a z frakcie 49–55 dve žlté mikrokryštalické látky (II, III).

## VÝSLEDKY A DISKUSIA

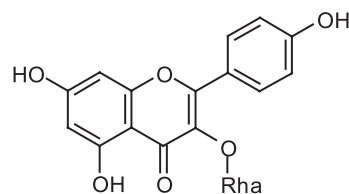
**Látka I** (5,6 mg) (obr. 1) bola izolovaná vo forme žltých mikrokryštálov s teplotou topenia 170–174 °C. V UF spektre vykazovala v metanole pásy s maximami 234, 269, 294, 348 nm. Po pridaní špecifických diagnostických skúmadliel sa zaznamenali nasledujúce posuny maxim:

$\lambda_{\text{NaOMe}}^{\text{max}}$	nm: 236 sh, 279, 331, 400
$\lambda_{\text{AlCl}_3}^{\text{max}}$	nm: 236 sh, 272, 302, 350, 418
$\lambda_{\text{AlCl}_3/\text{HCl}}^{\text{max}}$	nm: 236 sh, 275, 302, 342, 418
$\lambda_{\text{NaOAc}}^{\text{max}}$	nm: 278, 287 sh, 372
$\lambda_{\text{NaOAc/H}_2\text{BO}_3}^{\text{max}}$	nm: 268, 287 sh, 346

Kyslou hydrolyzou látky sa získal aglykón s  $R_F$  hodnotou 0,86 (chloroform – metanol – benzén 7:2:1), ktorý bol identický so štandardom kempferolu. Jeho totožnosť potvrdila aj nameraná teplota topenia (270–272 °C), ktorá je v súlade s literatúrou <sup>9)</sup>. Absorpčné maximá v UF spektre (272, 292 sh, 324 a 369 nm) zodpovedajú údajom uvedeným v literatúre <sup>6)</sup>. Cukorná zložka s  $R_F=0,52$  (octan etylový – kyselina mravčia – kyselina octová – voda 10:1,1:1,1:2,3) a teplotou topenia 151 °C bola identická so štandardom ramnózy.

Hmotnostné spektrum látky I poskytlo molekulový ión  $M^+$  432 a ďalšie fragmenty  $m/z$  286, 253, 238, 146.

Na základe získaných výsledkov sme izolovanú látku (I) identifikovali ako kempferol–3–O–ramnozid.

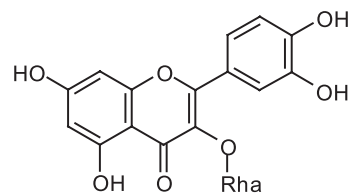


Obr. 1. Látka (I) kempferol–3–O–ramnozid

**Látka II** (6,2 mg) (obr. 2) tvorili žlté mikrokryštály s teplotou topenia 180 – 182 °C. UF spektrum v metanole vykazovalo maximá pri 257, 272, 290, 356 nm. Po pridaní špecifických diagnostických skúmadliel sa namerali nasledujúce posuny maxim:

$\lambda_{\text{NaOMe}}^{\text{max}}$	nm: 238, 278, 333, 418
$\lambda_{\text{AlCl}_3}^{\text{max}}$	nm: 278, 310 sh, 332, 440
$\lambda_{\text{AlCl}_3/\text{HCl}}^{\text{max}}$	nm: 272, 305 sh, 352, 410
$\lambda_{\text{NaOAc}}^{\text{max}}$	nm: 275, 333, 385
$\lambda_{\text{NaOAc/H}_2\text{BO}_3}^{\text{max}}$	nm: 260, 310, 375

Kyslou hydrolyzou sa získal aglykón, ktorého  $R_F$  hodnota (0,57) po tenkovrstvovej analýze v sústave chloroform – metanol – benzén (7:2:1) bola zhodná s  $R_F$  štandardom kvercetínu. Jeho totožnosť potvrdila teplota topenia (308–310 °C), ktorá je v súlade s literatúrou <sup>9)</sup>. V UF spektre vykazoval aglykón maximá pri 255, 270 sh, 300 sh, 370 nm, ktoré zodpovedajú maximám uvedeným v literatúre <sup>6)</sup>. Cukorná zložka s  $R_F=0,52$  (octan etylový – kyselina mravčia – kyselina octová – voda 10:1,1:1,1:2,3) a teplotou topenia 150–152 °C bola identická so štandardom ramnózy. Látku (II) sme na základe výsledkov identifikovali ako kvercetín–3–O–ramnozid (kvercitrín).

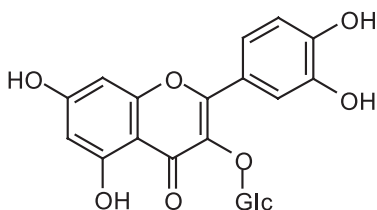


Obr. 2. Látka (II) kvercetín–3–O–ramnozid (kvercitrín)

**Látka III** (7,3 g) (obr. 3) sa získala vo forme žltých mikrokryštálikov s teplotou topenia 238–241 °C. V UF spektre v metanole vykazovala maximá 255, 260 sh, 293, 350 nm. Pridaním špecifických diagnostických skúmadliel došlo k posunom maxim:

$\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOMe}}$	nm: 270, 276, 325, 410
$\lambda_{\text{max}}^{\text{AlCl}_3}$	nm: 270, 276, 303, 438
$\lambda_{\text{max}}^{\text{AlCl}_3/\text{HCl}}$	nm: 270, 276, 303, 410
$\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOAc}}$	nm: 270, 276, 331, 393
$\lambda_{\text{max}}^{\text{NaOAc}/\text{H}_3\text{BO}_3}$	nm: 273, 280, 373

Aglykón získaný kyslou hydrolyzou bol v sústave chloroform – metanol – benzén (7:2:1) zhodný so štandardom kvercetínu ( $R_F=0,57$ ). Totožnosť kvercetínu potvrdila aj teplota topenia (308–310 °C), ktorá je v súlade s literatúrou<sup>9)</sup>. V UF spektre vykazuje maximá: 255, 270 sh, 300 sh, 370 nm, ktoré zodpovedajú maximám kvercetínu uvedeným v literatúre<sup>6)</sup>. Cukorná zložka sa konštantami (teplota topenia 147 °C;  $R_F=0,32$  v sústave octan etylový – kyselina mravčia – kyselina octová – voda 10:1,1:1,1:2,3) zhodovala so štandardom glukózy. Látku (III) sme identifikovali ako kvercetín–3–O–glukozid (izokvercitrín).



Obr. 3. Látka (III) kvercetín–3–O–glukozid (izokvercitrín)

## ZÁVER

Izolované flavonoidové glykozidy predstavujú zlúčeniny, ktorých prítomnosť v rode *Holodiscus* (K. Koch) Maxim. nebola doteraz v literatúre opísaná. Flavonoidy tohto typu boli získané z rodov *Agrimonia* L., *Malus* Mill., *Prunus* L., *Pyrus* L., *Rosa* L., *Rubus* L.,

*Sanguisorba* L. a *Spiraea* L., ktoré rovnako ako rod *Holodiscus* patria do čeľade *Rosaceae*<sup>10)</sup>.

Za technickú spoluprácu autori ďakujú pani A. Krchňavej.

Práca bola realizovaná v rámci grantového projektu 1/1185/04 VEGA Ministerstva školstva SR a grantu UK 77/2006.

## LITERATÚRA

1. Jantová, S., Nagy, M., Ružeková, L., Grančai, D.: *Phytother. Res.*, 2000; 14, 601–603.
2. Jantová, S., Nagy, M., Ružeková, L., Grančai, D.: *Phytother. Res.*, 2001; 15, 22–25.
3. McCutcheon, A. R., Ellis, S. M., Hancock, R. E. W., Towers, G. H. N.: *J. Ethnopharmacol.*, 1994; 44, 157–169.
4. Haladová, M., Eisenreichová E., Buděšínský, M., Grančai, D.: *Čes. slov. Farm.*, 2001; 50, 280–282.
5. Šaršúňová, M. et al.: *Chromatografia na tenkých vrstvách vo farmácii a v klinickej biochémií*. Bratislava, Osveta, 1977, s. 520.
6. Mabry, T. J., Markham, K. R., Thomas, M. R.: *The systematic identification of flavonoids*, New York, Springer Verlag, 1970, s. 354.
7. Friedrich, H.: *Arch. Farm.*, 1962, 295, 59.
8. Friedrich, H.: *Arch. Farm.*, 1962, 295, 465.
9. Devon, T. K., Scott, A. I.: *Handbook of Naturally Occurring Compounds*, Academic Press, New York, Inc., 1975, s. 644.
10. Kaneta, N., Hikichi, M., Endo, S., Sugiyama, N.: *Agric. Biol. Chem.*, 1979; 43, 657– 661.

Došlo 18. 5. 2006.

Prijato ke zverejneniu 19. 6. 2006.

RNDr. Mária Haladová, CSc.  
Odbojárov 10, 832 32 Bratislava, SR  
e-mail: m.haladova@pobox.sk

## LABOREXPO 2006

V Kongresovom centre Praha sa ve dneh 4. a 5. ríjna 2006 uskuteční  
Výstava laboratorní techniky, vybavení, pomůček a služeb laboratoří – LABOREXPO 2006.

Představí se více jak 50 dodavatelů vyspělé přístrojové techniky a moderního laboratorního vybavení pro všechny oblasti průmyslu, vědy a výzkumu, školství a služeb. Bude prezentována nejnovější přístrojová a měřicí technika, procesní zařízení, chemikálie a další pomůcky a vybavení nezbytné pro činnost chemických, fyzikálních a biochemických laboratoří, lékáren, chemických a farmaceutických provozů. Najdeme zde i poradenské firmy a společnosti zabývající se legislativou zaměřenou na tyto činnosti.

Součástí LABOREXPO 2006 je **odborný doprovodný program**, tentokrát ve spolupráci s Českou společností chemickou a Českou společností pro biochemii a molekulární biologii.

Další součástí výstavy budou dva **jednodenní kurzy HPLC** německé společnosti NOVIA.

Letošní ročník výstavy obohatí tzv. **Fórum služeb laboratoří** s cílem přiblížit návštěvníkům výstavy nabídky laboratorních služeb, poradenství a nebo firem nabízejících servis laboratorní techniky.

Fórum bude organizováno formou posterů s možností vyložení letáků nebo tiskovin a bude určené pro firmy, které dají přednost této formě účasti na výstavě, před vlastním výstavním stánkem.

Návštěvníci budou mít vstup na výstavu i doprovodný program zcela zdarma. Již nyní se však mohou zaregistrovat k návštěvě výstavy a získat tak možnost zaslání noviniek z příprav výstavy, katalog výstavy před jejím začátkem a v neposlední řadě i poukaz na drobné občerstvení.

Organizátorem výstavy je redakce CHEMagazínu, časopisu zaměřeného na chemicko-technologickou a laboratorní praxi.