

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

HALADOVÁ M., EISENREICOVÁ E., MRIŽOVÁ M., GRANČAI D., UBIK K.¹

Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky
¹Ústav organickej chemie a biochemie 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 aktivita¹⁻³). Tieto účinky sú pripisované najmä látkam polyfenolového charakteru, ku ktorým patria aj flavonoidy, hlavné obsahové látky listov holodisku dvojfarebného. V predchádzajúcej práci⁴) 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 F₂₅₄ (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 ⁵⁾. 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 ⁶⁾. 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 ^{7, 8)}.

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

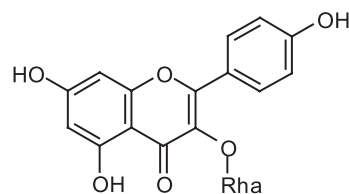
Látka I (5,6 mg) (obr. 1) bola izolovaná vo forme žltých mikrokryštálov s teplotou topenia 170–174 °C. V UF spektre vykazovala v metanole pásy s maximami 234, 269, 294, 348 nm. Po pridaní špecifických diagnostických skúmadliel sa zaznamenali nasledujúce posuny maxim:

$\lambda_{\text{NaOMe}}^{\text{max}}$	nm: 236 sh, 279, 331, 400
$\lambda_{\text{AlCl}_3}^{\text{AlCl}_3 \text{ max}}$	nm: 236 sh, 272, 302, 350, 418
$\lambda_{\text{AlCl}_3/\text{HCl}}^{\text{AlCl}_3/\text{HCl} \text{ max}}$	nm: 236 sh, 275, 302, 342, 418
$\lambda_{\text{NaOAc}}^{\text{NaOAc} \text{ max}}$	nm: 278, 287 sh, 372
$\lambda_{\text{NaOAc}/\text{H}_2\text{BO}_3}^{\text{NaOAc}/\text{H}_2\text{BO}_3 \text{ max}}$	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 ⁹⁾. Absorpčné maximá v UF spektre (272, 292 sh, 324 a 369 nm) zodpovedajú údajom uvedeným v literatúre ⁶⁾. 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.

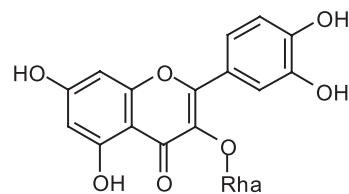


Obr. 1. Látka (I) kempferol–3–O–ramnozid

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:

$\lambda_{\text{NaOMe}}^{\text{NaOMe} \text{ max}}$	nm: 238, 278, 333, 418
$\lambda_{\text{AlCl}_3}^{\text{AlCl}_3 \text{ max}}$	nm: 278, 310 sh, 332, 440
$\lambda_{\text{AlCl}_3/\text{HCl}}^{\text{AlCl}_3/\text{HCl} \text{ max}}$	nm: 272, 305 sh, 352, 410
$\lambda_{\text{NaOAc}}^{\text{NaOAc} \text{ max}}$	nm: 275, 333, 385
$\lambda_{\text{NaOAc}/\text{H}_2\text{BO}_3}^{\text{NaOAc}/\text{H}_2\text{BO}_3 \text{ max}}$	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 ⁹⁾. V UF spektre vykazoval aglykón maximá pri 255, 270 sh, 300 sh, 370 nm, ktoré zodpovedajú maximám uvedeným v literatúre ⁶⁾. 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).

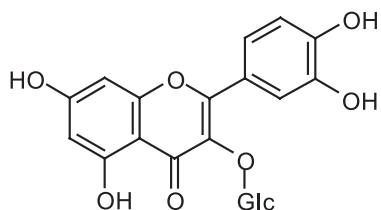


Obr. 2. Látka (II) kvercetín–3–O–ramnozid (kvercitrín)

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 literatúrou⁹⁾. V UF spektre vykazuje maximá: 255, 270 sh, 300 sh, 370 nm, ktoré zodpovedajú maximám kvercetínu uvedeným v literatúre⁶⁾. 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*¹⁰⁾.

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. Šaršúnová, 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 novinek 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.