

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

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

Univerzita Komenského v Bratislave, Farmaceutická fakulta, Katedra farmakognózie a botaniky

¹Ústav organické chemie a biochemie AV ČR, Praha

SÚHRN

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

Práca sa zaobráva 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-ramnozid, kvercetín-3-O-glukozid (izokvercitrín) a kvercetín-3-O-ramnozid (kvercitrín), ktoré boli identifikované pomocou fyzikálno-chemických metód, porovnaním so štandardmi a literatúrou. Z rastlinného druhu *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. boli izolované prvýkrát.

Kľúčové slová: *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.

Keywords: *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. – Rosaceae – flavonoid glycosides

Čes. slov. Farm., 2006; 55, 242–244

Má

Holodiscus discolor (Pursh) Maxim. (holodisk dvojfarebný, celoterčník rôznobarevný) z čeľade 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^{1–3)}. Tieto účinky sú pripisované najmä látкам polyfenolového charakteru, ku ktorým patria aj flavonoidy, hlavné obsahové látky listov holodisku dvojfarebného. V predchádzajúcej práci⁴⁾ sme opísali 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 nazbierané v Arboréte v Tesárskych Mlyňanoch a usušené pri laboratórnej teplote. Na stípcovú 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 žiareniom 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 anilíntalátom⁵⁾. 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 skúmadiel⁶⁾. 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 hydrolýza sa robila 2%-ou kyselinou sírovou; vodná fáza sa potom neutralizovala na DOWEX-e (FLUKA AG CHEMISCHE FABRIK BUCHS SG) podľa literatúry^{7,8)}.

Extrakcia a izolácia látok

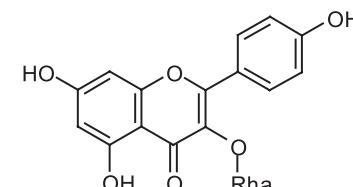
Usušené a pomleté listy *Holodiscus discolor* (Pursh) Maxim. (500 g) sa opakovane extrahovali petroleterom, chloroformom a metanolom. Látky prítomné v metanolovom extrakte (43,5 g) sa delili na stĺpce silikagélu elúciou zmesou chloroform – metanol v rôznom pomernom zastúpení. Zachytilo sa 241 frakcií 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 mikrokryštallická látka (I) žltej farby a z frakcie 49–55 dve žlté mikrokryštallické 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 skúmadiel sa zaznamenali nasledujúce posuny maxím:

$\lambda_{\text{NaOMe}}^{\text{max}}$	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
$\lambda_{\text{NaOAc/H BO}_3}^{\text{max}}$	nm: 268, 287 sh, 346

Kyslou hydrolýzou 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 literatúrou⁹⁾. Absorpčné maximá v UF spektre (272, 292 sh, 324 a 369 nm) zodpovedajú údajom uvedeným v literatúre⁶⁾. 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).

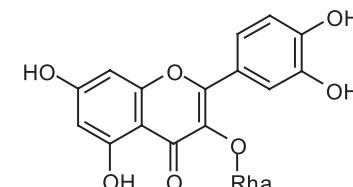


Obr. 1. Látka (I) kempferol-3-O-ramnozid

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 skúmadiel sa namerali nasledujúce posuny maxím:

$\lambda_{\text{NaOMe}}^{\text{max}}$	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
$\lambda_{\text{NaOAc/H BO}_3}^{\text{max}}$	nm: 260, 310, 375

Kyslou hydrolýzou 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 literatúrou⁹⁾. V UF spektre vykazoval aglykón maximá pri 255, 270 sh, 300 sh, 370 nm, ktoré zodpovedajú maximám uvedeným v literatúre⁶⁾. 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).

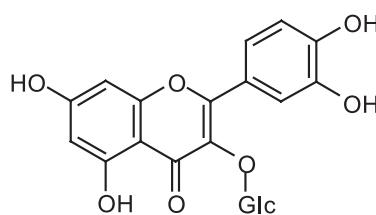


Obr. 2. Látka (II) kvercetín-3-O-ramnozid (kvercitrín)

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 skúmadiel došlo k posunom maxím:

$\lambda_{\text{NaOMe}}^{\text{max}}$	nm: 270, 276, 325, 410
$\lambda_{\text{AlCl}_3 \text{ max}}$	nm: 270, 276, 303, 438
$\lambda_{\text{AlCl}_3 / \text{HCl} \text{ max}}$	nm: 270, 276, 303, 410
$\lambda_{\text{NaOAc}}^{\text{max}}$	nm: 270, 276, 331, 393
$\lambda_{\text{NaOAc/H BO}_3 \text{ max}}$	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 mrvacia – kyselina octová – voda 10:1,1:1,1:2,3) zhodovala so štandardom glukózy. Látka (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 Rosaceae¹⁰⁾.

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 biochémii. 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.

Přijato ke zveřejnění 19. 6. 2006.

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

LABOREXPO 2006

V Kongresovém centru Praha se ve dnech 4. a 5. října 2006 uskuteční
Výstava laboratorní techniky, vybavení, pomůcek 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 zasílání 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.