

Kvalitativna i kvantitativna analiza flavonoida primorskog omana - *Limbarda crithmoides* (L.) Dumort.

Maleš, Željani; Plazibat, Miško; Greiner, Marko

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 2004, 60, 453 - 459**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:125402>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-11-29**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Kvalitativna i kvantitativna analiza flavonoida primorskog omana – *Limbarda crithmoides* (L.) Dumort.

ŽELJAN MALEŠ¹, MIŠKO PLAZIBAT² i MARKO GREINER¹

¹Zavod za farmaceutsku botaniku Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb i ²Botanički zavod Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, Zagreb

Qualitative and quantitative analysis of flavonoids of Golden Samphire – *Limbarda crithmoides* (L.) Dumort.

S u m m a r y – *Limbarda crithmoides* (L.) Dumort. – Golden Samphire is a glabrous, rarely somewhat glandular subshrub which grows on coastal habitats, sandy and rocky, salt marshes and the margins of salt lakes, mainly along the coasts of Europe and W. Asia.

Thin-layer chromatographic analysis of flavonoids and phenolic acids of *L. crithmoides* collected from three separated geographic locations along the Adriatic coast of Croatia showed the presence of 6 (leaves) or 7 (flowers) flavonoids and three phenolic acids (leaves and flowers). Two flavonoids were identified as quercetin and rutin, while the one phenolic acid was proved as caffeic acid. The content of total flavonoids in leaves ranged from 0.20 to 0.43%, while the content in flowers varied from 0.15 to 0.39%.

(¹Department of Pharmaceutical Botany, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia, and ²Department of Botany, Faculty of Science, University of Zagreb, 10000 Zagreb, Croatia)

UVOD

Limbarda crithmoides (L.) Dumort. [= *Inula crithmoides* L., *I. crassifolia* Salisb., *I. crithmifolia* Willd., *I. acutifolia* Pasq., *I. crithmoides* L. subsp. *longifolia* Arcang., *I. crithmoides* L. subsp. *mediterranea* Kerguélen, *Limbarda tricupsis* Cass., *L. crithmoides* subsp. *longifolia* (Arcang.) Greuter] – primorski oman, halofilna je biljka koja pretežno raste uz morsku obalu, iz porodice Asteraceae, reda Asterales, razreda Magnoliatae (1, 2). Ova vrsta jedini je predstavnik roda *Limbarda* Adans., a poznatija je u literaturi kao jedna od brojnih svojiti veoma heterogenog i parafiletičkog roda *Inula* L. iz kojeg je suvremeni autori sasvim opravdano izdvajaju. Monotipski rod *Limbarda* uistinu je jedinstven unutar cijelog tribusa *Inuleae* Cass. po broju od 5 sekrecijskih kanalića u usplodu roške koji nisu homologni s onima što dolaze i kod

roda *Nauplius* Cass., a od ostalih svojti kompleksa *Inula* razlikuje se po mesnatim, sočnim listovima s tri režnja na vrhu koji su izgledom slični s onima kod nekih vrsta roda *Iphiona* Cass. (3–5). Kao što se vidi iz naprijed navedene sinonimike kod nekih autora nailazimo i na primjere intraspecifične podjele ove vrste koji su formalno usklađeni s Kodeksom botaničke nomenklature, iako u navedenim radovima nedostaju brojni egzaktni podaci koji bi se mogli dobiti modernim metodama biljne taksonomije te tako poslužiti za sigurno i nedvojbeno razlikovanje novih svojti (6).

Primorski oman je polugrm s drvenastim prizemnim dijelom iz kojeg izbijaju uspravne mesnate stabljike, sa smolnim kanalima, koje narastu i do jednog metra. Listovi su izmjenični, mesnati, goli, do 6 cm dugi i manje od 1 cm široki, linearni do linearno-suličasti, cjeloviti ili pri vrhu trostruko rascjepani. Cvjetovi koji se nalaze u gornjem dijelu stabljike, na vrhovima ograna, skupljeni su u glavice promjera oko 25 mm. Jezičasti cvjetovi su do 25 mm dugi, obično dva puta duži od unutrašnjih brakteja i zlatno-žute su boje, dok su pravilni, središnji, cjevasti cvjetovi narančasto-žuti (*Slika 1.*)



Slika 1. Limbarda crithmoides (L.) Dumort. – primorski oman

Roška je dlakava, valjkasta, sivkasto-smeđe boje do 3 mm dužine, a na njenom vrhu je kunadra s bjelkastim čekinjama koje dolaze u nekoliko redova. Broj kromosoma: $2n=18$.

Biljka cvate od lipnja do studenoga, a raste na različitim staništima uz Jadransko more po pješćanim kao i strmim kamenitim obalama, premda

posvuda dosta rijetko. Rasprostranjena je uglavnom uz morsku obalu Europe i zapadne Azije te uz neka slana jezera i močvare, a u istočnoj Španjolskoj raste ponegdje i dublje na kopnu (7–10).

Dosadašnjim istraživanjima dokazano je da primorski oman sadrži flavonoide, seskviterpenske laktone, derivate karotena i timola (11–14).

Cilj ovog rada bio je utvrditi prisutnost flavonoida i fenolnih kiselina, te odrediti količinu flavonoida u listovima i cvjetovima primorskog omana skupljenim na području Zadra, Umaga i Mostara.

EKSPERIMENTALNI DIO

Biljni materijal

Materijal za istraživanje sastojao se od listova i cvjetova primorskog omana skupljenih na tri različita nalazišta u Hrvatskoj. Vrsta uzorka, mjesto i vrijeme skupljanja prikazani su u tablici 2.

1. Identifikacija biljnog materijala

Biljni materijal identificiran je u Botaničkom zavodu Prirodoslovno-matematičkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu i potvrđen ispitivanjem vanjske i unutarnje građe skupljenih uzoraka.

2. Istraživanje prisutnosti flavonoida i fenolnih kiselina tankoslojnom kromatografijom

Istraživanju su podvrgnuti ekstrakti listova i cvjetova primorskog omana, koji su pripremljeni tako da je 1 g praškasto usitnjenog biljnog materijala ekstrahirano s 10 ml metanola 30 minuta na vodenoj kupelji uz povratno hladilo. Bistri filtrat, nakon hlađenja, služio je kao otopina za kromatografsko ispitivanje (15). Kao poredbene supstancije uporabljene su 0,05%-tne metanolne otopine kvercetina, kavene kiseline i rutina.

Istraživanje prisutnosti flavonoida i fenolnih kiselina provedeno je na tankom sloju Kieselgel 60 F₂₅₄ (»Merck«, Art. 5715) u smjesi otapala etilacetat-mravlja kiselina-ledena octena kiselina-voda (100:11:11:27 V/V/V/V). Detekcija odijeljenih flavonoida i fenolnih kiselina provedena je promatranjem pod UV zračenjem pri 365 nm nakon prskanja kromatograma modificiranim Naturstoff reagensom (NST/PEG) (15).

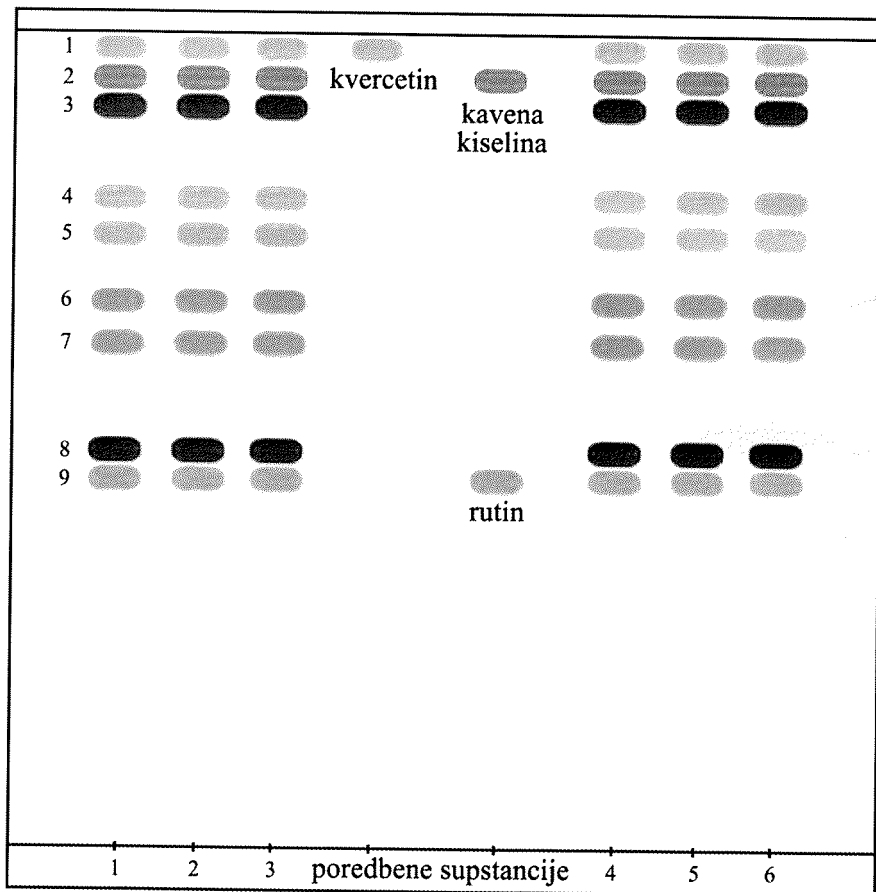
3. Određivanje količine flavonoida

Kvantitativna analiza flavonoida u listovima i cvjetovima primorskog omana provedena je spektrofotometrijskom metodom prema Christu i Mülleru (16), koja se temelji na određivanju ukupnih flavonoidnih aglikona nakon stvaranja kompleksa s Al³⁺ u smjesi metanola, etilacetata i octene kiseline. Količina flavonoida u svim uzorcima određena je tri puta, a iz dobivenih rezultata izračunate su srednje vrijednosti i standardne devijacije.

REZULTATI I RASPRAVA

Metanolni ekstrakti listova i cvjetova primorskog omana skupljenih na tri nalazišta ispitani su na prisutnost flavonoida i fenolnih kiselina tankoslojnom kromatografijom.

Nakon prskanja kromatograma NST/PEG reagensom i i promatranjem pod UV zračenjem na 365 nm, u ekstraktima su uočene mrlje narančaste, zelenožute, zelene te plave fluorescencije.



Slika 2. Kromatogram flavonoida listova primorskog omana

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254}

Pokretna faza: etilacetat-mravlja kiselina-ledena octena kiselina-voda
(100:11:11:27 V/V/V/V)

Detekcija: NST/PEG (UV_{365nm})

1-6 = metanolni ekstrakti listova primorskog omana (nalazišta označena brojevima 1-6 prikazana su u tablici 2.)

Tablica 1. R_f vrijednosti odijeljenih flavonoida i fenolnih kiselina listova i cvjetova primorskog omana

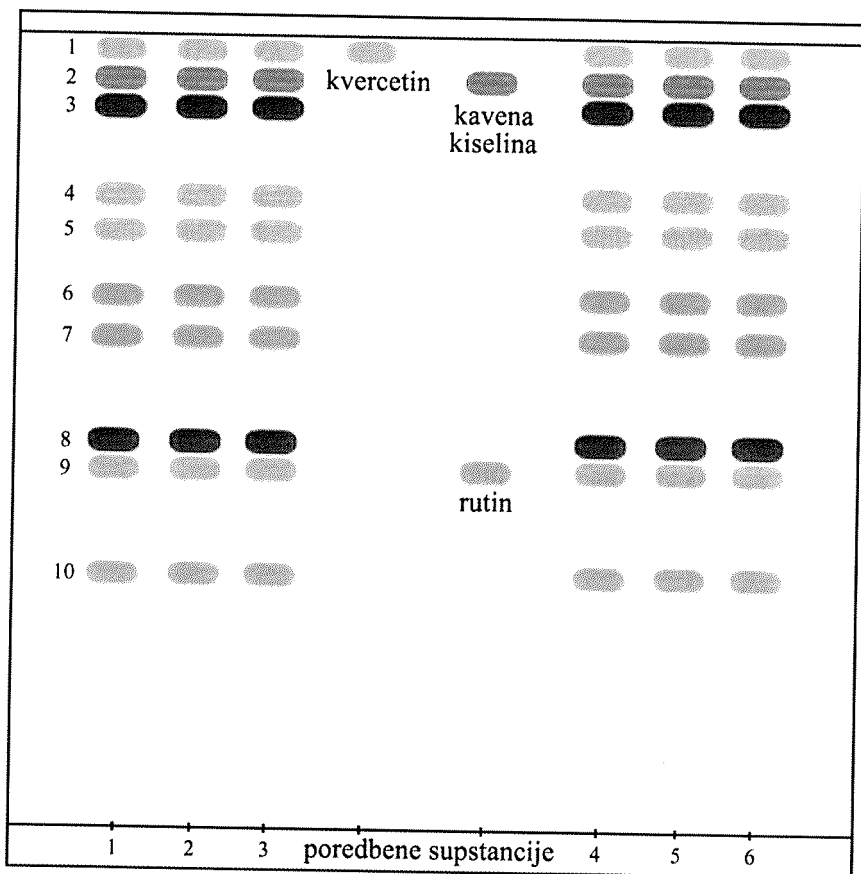
Broj	Sastavnica	Listovi	Cvjetovi
1	flavonoid A = kvercetin	0,98	0,98
2	fenolna kiselina A = kavena kiselina	0,95	0,95
3	fenolna kiselina B	0,92	0,92
4	flavonoid B	0,78	0,78
5	flavonoid C	0,75	0,75
6	flavonoid D	0,66	0,66
7	flavonoid E	0,61	0,61
8	fenolna kiselina C	0,49	0,49
9	flavonoid F = rutin	0,45	0,45
10	flavonoid G	–	0,31

Odjeljivanjem pokretnom fazom etilacetat-mravlja kiselina-ledena octena kiselina-voda (100:11:11:27 V/V/V/V) u ekstraktima listova primorskog omana uočava se 9 mrlja (*Slika 2.*, Tablica 1.). Usporedbom fluorescencija mrlja i R_f vrijednosti sastavnica ekstrakta i poredbenih supstancija vidljivo je da sastavnica 1 narančaste fluorescencije ($R_f = 0,98$) odgovara flavonolskom aglikonu kvercetinu, sastavnica 2 plave fluorescencije ($R_f = 0,95$) kavenoj kiselini, a sastavnica 9 narančaste fluorescencije ($R_f = 0,45$) flavonolskom heterozidu rutinu. Pored toga u ekstraktima listova pojavljuju se dvije mrlje zelenožute fluorescencije (sastavnice 4 i 5), kao i dvije mrlje narančaste fluorescencije (sastavnice 6 i 7), koje bi mogle pripadati flavonoidima. Sastavnice 3 i 8 intenzivne zelene fluorescencije predstavljaju fenolne kiseline.

Vrlo slična kromatografska slika dobivena je odjeljivanjem metanolnih ekstrakata cvjetova primorskog omana (*Slika 3.*, Tablica 1.). Sastavnice 1–9 identične su sastavnicama dokazanim u listovima. Jedina razlika je prisutnost sastavnice 10 narančaste fluorescencije ($R_f = 0,31$), koja predstavlja flavonoidni heterozid polarniji od rutina.

Ekstrakti uzoraka listova i cvjetova skupljenih na različitim nalazištima pokazali su identičnu kromatografsku sliku.

Rezultati određivanja količine flavonoida pokazali su veliku raznolikost u sadržaju (Tablica 2.). Listovi primorskog omana sadržavali su 0,20–0,43% flavonoida. Najveća količina flavonoida (0,43%) nađena je u uzorku skupljenom u Zadru u lipnju 1999. Uspoređujući količinu flavonoida u listovima skupljenim tijekom tri mjeseca u Zadru, vidljivo je da opada od lipnja do kolovoza. Cvjetovi primorskog omana sadržavali su 0,15–0,39% flavonoida.



Slika 3. Kromatogram flavonoida cvjetova primorskog omana

Nepokretna faza: Kieselgel 60 F_{254}

Pokretna faza: etilacetat-mravlja kiselina-ledena octena kiselina-voda
(100:11:11:27 V/V/V/V)

Detekcija: NST/PEG (UV_{365nm})

1–6 = metanolni ekstrakti cvjetova primorskog omana (nalazišta označena brojevima 1–6 prikazana su u tablici 2.)

ZAKLJUČAK

Metodom tankoslojne kromatografije dokazano je da listovi i cvjetovi primorskog omana sadrže flavonoide i fenolne kiseline. U ekstraktima listova dokazano je 6 flavonoida i 3 fenolne kiseline, a u ekstraktima cvjetova 7 flavonoida i 3 fenolne kiseline. Svi uzorci sadržavali su flavonolski aglikon kvercetin, flavonolski heterozid rutin te kavenu kiselinu.

Rezultati kvantitativne analize pokazali su da je u listovima prisutno 0,20–0,43%, a u cvjetovima 0,15–0,39% flavonoida.

Tablica 2. Količina flavonoida u listovima i cvjetovima primorskog omana

Nalazište	Datum skupljanja	Listovi % ($\bar{x} \pm SD$)	Cvjetovi % ($\bar{x} \pm SD$)
Zadar	21. 7. 1998.	0.20 \pm 0.01	0.23 \pm 0.01
Umag	15. 8. 1998.	0.26 \pm 0.01	0.28 \pm 0.01
Zadar	21. 6. 1999.	0.43 \pm 0.03	0.23 \pm 0.01
Zadar	21. 7. 1999.	0.30 \pm 0.07	0.39 \pm 0.01
Zadar	21. 8. 1999.	0.28 \pm 0.02	0.15 \pm 0.01
Murter	05. 8. 1999.	0.30 \pm 0.02	0.38 \pm 0.02

Literatura – References

1. R. Domac, Flora Hrvatske – priručnik za određivanje bilja, Školska knjiga, Zagreb 1994, 345.
2. R. F. Thorne, Bot. Rev. **66** (2000) 441, 519.
3. A. A. Anderberg, Canad. J. Bot. **67** (1989) 2277.
4. A. A. Anderberg, Pl. Syst. Evol. **176** (1991) 75.
5. A. A. Anderberg, Tribes *Inuleae*, *Plucheeae*, *Gnaphalieae*. In K. Bremer Ed., *Asteraceae*, Cladistics and Classification, Timber Press, Portland, Oregon 1994, 273–364.
6. W. Greuter, Willdenowia **33** (2003) 239.
7. G. Beck von Mannagetta, Denkschr. Kaiserl. Akad. Wiss., Wien. Math.-Naturwiss. Kl. **44** (1882) 283.
8. Z. Bauer, Acta Biol. Cracov., Ser. Bot. **14** (1964) 159.
9. P. W. Ball, T. G. Tutin, *Inula* L. In T. G. Tutin, V. H. Heywood, N. A. Burges, D. M. Moore, D. H. Valentine, S. M. Walters, D. A. Webb Eds., Flora Europaea, Volume 4, Cambridge University Press, Cambridge 1976, 133.
10. I. Camarda, F. Valsecchi, Piccoli arbusti liane e suffrutici spontanei della Sardegna, Carlo Delfino editore, Sassari 1990, 302.
11. A. M. El-Lakany, M. A. Aboul Ela, H. M. Hammuda, N. M. Ghazy, Z. F. Mahmoud, Phytochemistry **51** (1996) 435.
12. Z. F. Mahmoud, N. A. Abdem Salam, T. M. Sarg, F. Bohlman, Phytochemistry **20** (1981) 735.
13. M. J. Alberto, J. F. Sanz-Cervera, M. Enrique, Phytochemistry **33** (1993) 875.
14. M. A. Metwally, A. M. Dawidar, Phytochemistry **24** (1985) 1377.
15. H. Wagner, S. Blatt, E. M. Zgainski, Drogenanalyse, Springer Verlag, Berlin 1983, 163.
16. B. Christ, K. H. Müller, Arch. Pharm. **293** (1960) 1033.

Primljeno 2.VII.2004.