Kvalitativna i kvantitativna analiza flavonoida listova masline - Olea europaea L.

Maleš, Željan; Tučkar, Dubravka

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1998, 54, 1 - 4**

Journal article, Published version
Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:956530

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-28**

Repository / Repozitorij:

Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb

ZNANSTVENI RADOVI

Željan Maleš[1] i Dubravka Tučkar[2] (Zagreb)

Kvalitativna i kvantitativna analiza flavonoida listova masline – *Olea europaea* L.

(Primljeno 11. XI. 1997.)

Qualitative and Quantitative Analysis of the Flavonoids of Olea europaea Leaves

S u m m a r y – Four flavonoids (quercitrin, luteolin-7-O-glucoside, rutin and luteolin), and chlorogenic acid were identified in the methanolic extract of the leaves of Olea europaea L. The content of flavonoids in the leaves collected from various parts of Croatia has been determined spectrophotometrically and ranged from 0,09% to 0,53%.

([1]Department of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia, [2]Galenic laboratory Pharmacy »Trešnjevka« Zagreb, from 1.5.1997 Pharmacy »Zagreb«, Zagreb, Croatia)

UVOD

List masline – *Olea europaea* L. (Oleaceae) nije oficinalna droga, tako da u literaturi nema puno podataka o njegovom kemijskom sastavu. Znanstvenim ispitivanjima utvrđeno je da listovi masline sadrže flavonoide, fenolne kiseline i sekoiridoide (1,2). Također je dokazano da listovi masline imaju značajan hipotenzivni učinak (2,3). Flavonoidi su uz ostale sastavnice listova masline odgovorni za taj učinak.

Zbog svega navedenog cilj ovog našeg rada bio je odrediti flavonoidni sastav listova masline te količinu ovih biološki aktivnih spojeva. Istraživanje je obuhvatilo i utvrđivanje mogućih razlika u sastavu i količini flavonoida, glede lokacije s koje su uzorci skupljeni te na razvojni stadij listova.

EKSPERIMENTALNI DIO

Biljni materijal

Materijal za ispitivanje sastojao se od listova masline – *Olea europaea* L. skupljenih na otocima Krku i Hvaru te u Poreču. Vrsta uzorka, mjesto i vrijeme skupljanja prikazani su u tablici 2.

1. Dokazivanje nazočnosti flavonoida u ekstraktima listova kromatografijom na tankom sloju.

Ekstrakti listova pripremljeni su tako da je 1 g praškasto usitnjenog lista ekstrahiran sa 10 mL metanola 30 minuta na vodenoj kupelji uz povratno

hladilo. Ohlađeni i filtrirani, bistri ekstrakti činili su otopine za ispitivanje. Kao poredbene supstancije uporabljene su 0,05%-tne metanolne otopine luteolina, kvercitrina, luteolin-7-O-glukozida, klorogenske kiseline i rutina (4).

Ispitivanje nazočnosti flavonoida provedeno je na tankom sloju Kieselgela 60 F_{254}, uz dvije smjese otapala: etilacetat-mravlja kiselina-ledena octena kiselina-voda (100:11:11:27 v/v) (4) i etilacetat-mravlja kiselina-voda (30:2:3 v/v) (5,6). Detekcija odijeljenih flavonoida i fenolnih kiselina provedena je promatranjem pod UV zračenjem kod 365 nm nakon prskanja kromatograma modificiranim Naturstoff reagensom (NST/PEG) (Tablica 1.). Reagens je pripremljen miješanjem 1%-tne metanolne otopine β-etilaminoestera difenilboratne kiseline (NST) i 5%-tne etanolne otopine polietilenglikola 4000 (PEG) (4).

Tablica 1. R_F vrijednosti odijeljenih sastavnica i poredbenih supstancija

Odijeljena sastavnica	Poredbena supstancija	Mobilne faze	
		I	II
Flavonoid 1	Luteolin	0,97	0,95
Fenolna kiselina 1		0,92	0,89
Flavonoid 2		0,90	0,64
Flavonoid 3	Kvercitrin	0,86	0,60
Flavonoid 4		0,78	0,44
Flavonoid 5	Luteolin-7-O-glukozid	0,74	0,40
Flavonoid 6		0,66	0,34
Fenolna kiselina 2	Klorogenska kiselina	0,58	0,31
Flavonoid 7	Rutin	0,53	0,13
Flavonoid 8		0,43	0,05

I – etilacetat – mravlja kiselina – ledena octena kiselina – voda (100:11:11:27 v/v)
II – etilacetat – mravlja kiselina – voda (30:2:3 v/v)

2. *Kvantitativna analiza flavonoida*

Za određivanje količine flavonoida uporabljena je spektrofotometrijska metoda prema Christu i Mülleru (7). Ova metoda temelji se na ekstrakciji biljnog materijala smjesom acetona i kloridne kiseline. Hidrolizom nastali aglikoni odrede se nakon tvorbe kompleksa s Al^{3+} u smjesi metanola, etilacetata i octene kiseline (425 nm). Rezultati kvantitativne analize flavonoida u ispitivanim uzorcima listova masline predočeni su u tablici 2. Sadržaj flavonoida računan kao kvercetin određen je u svim uzorcima četiri puta i izražen je masenim udjelom (%). Iz dobivenih rezultata izračunane su srednja vrijednost ($\bar{x}$) i standardna devijacija (SD).

REZULTATI I RASPRAVA

Metanolni ekstrakti listova masline ispitani su na nazočnost flavonoida kromatografijom na tankom sloju, koja je provedena uz dvije smjese otapala.

Tablica 2. Sadržaj flavonoida (računan kao kvercetin) u ispitivanim uzorcima listova masline

Broj uzorka	Lokacija skupljanja	Mjesec i godina skupljanja	Sadržaj flavonoida $\bar{x} \pm SD$ (%)
1.	Vrbnik (Krk)	kolovoz 1994.	0,32 ± 0,02
2.	Vrbnik (Krk)	kolovoz 1994,	0,09 ± 0,01
3.	Poreč	kolovoz 1994.	0,53 ± 0,02
4.	Hvar	kolovoz 1994.	0,25 ± 0,02
5.	Hvar	rujan 1994.	0,36 ± 0,01

Uzorci 1, 4 i 5 – listovi skupljeni sa stabala sa zelenim plodovima
Uzorak 2 – listovi skupljeni sa stabla s crnim plodovima
Uzorak 3 – listovi skupljeni sa stabla bez plodova

Nakon prskanja kromatograma NST/PEG reagensom i promatranjem pod UV zračenjem kod 365 nm utvrđeno je postojanje narančastih, žutozelenih i plavih mrlja (fluorescenija), koje pripadaju flavonoidima i fenolnim kiselinama.

Odjeljivanjem flavonoida i fenolnih kiselina sa smjesom otapala etilacetat-mravlja kiselina-ledena octena kiselina-voda (100:11:11:27 v/v), utvrđeno je da ekstrakti svih uzoraka listova masline sadrže osam flavonoida i dvije fenolne kiseline. Mrlja flavonoida 1 narančaste fluorescencije, odgovarala je i prema fluorescenciji, i prema R_F vrijednosti (R_F = 0,97) poredbenoj supstanciji – flavonskom aglikonu luteolinu. Mrlja s R_F = 0,92 bila je plave fluorescencije i mogla bi pripadati nekoj fenolnoj kiselini. Mrlje flavonoida 2 (R_F = 0,90) i flavonoida 4 (R_F = 0,78) fluorescirale su pod UV zračenjem žutozeleno. Flavonoid 3 je identificiran usporedbom s poredbenom supstancijom kao kvercitrin (R_F = 0,86). Najveći intenzitet fluorescencije pokazala je mrlja flavonoida 5, koji je u potpunosti odgovarao poredbenoj supstanciji luteolin-7-O-glukozida (R_F = 0,74). Mrlja flavonoida 6 (R_F = 0,66) fluorescirala je žutonarančasto, a mrlja najpolarnijeg flavonoida 8 (R_F = 0,43) narančasto. U R_F području od 0,58 pojavila se mrlja plave fluorescencije, koja je identificirana kao klorogenska kiselina. Odmah ispod te mrlje, pojavila se mrlja flavonoida 7 narančaste fluorescencije, koja je odgovarala flavonolskom heterozidu rutinu (R_F = 0,53). Slični rezultati dobiveni su odjeljivanjem smjesom otapala etilacetat-mravlja kiselina-voda (30:2:3 v/v). Razlika u odnosu na prethodnu mobilnu fazu su niže R_F vrijednosti odijeljenih sastavnica (Tablica 1.). Dakle, metodom kromatografije na tankom sloju u ekstraktima svih uzoraka listova masline identificirana su tri flavonoidna heterozida (kvercitrin, luteolin-7-O-glukozid i rutin), flavonski aglikon luteolin i klorogenska kiselina kao fenolna kiselina.

Za kvantitativnu analizu flavonoida metodom prema Christu i Müller, uzorci listova masline skupljeni su u kolovozu (rujnu) 1994. godine na lokacijama Vrbnik (Krk), Poreč i Hvar (Tablica 2.). Najveći sadržaj flavonoida (0,53%, pokazao je uzorak listova skupljen u Poreču s mladog stabla masline

(bez plodova), dok je najmanje flavonoida (0,09%) nađeno u uzorku listova skupljenom u Vrbniku sa stabla s crnim plodovima. Sličan sadržaj flavonoida (0,25%–0,36%), pokazali su uzorci listova masline skupljeni sa stabala sa zelenim plodovima.

([1]Zavod za farmakognoziju Farmaceutsko-biokemijskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu, [2]Galenski laboratorij ljekarne »Trešnjevka« od 1.5.1997. »Gradska ljekarna Zagreb«)

Literatura – References

(1) D. *Heimler*, A. *Pieroni*, M. *Tattini*, A. *Cimato*, Chromatographia **33** (1992) 369.
(2) P. *Ficarra*, R. *Ficarra*, A. de *Pasquale*, M. T. *Monforte*, M. L. *Calabro*, Il Farmaco **46** (1991) 803.
(3) A. *Zarzuelo*, J. *Duarte*, J. *Jimenez*, M. *Gonzales*, M. P. *Utrilla*, Planta Med. **57** (1991) 417.
(4) H. *Wagner*, S. *Bladt*, E. M. *Zgainski*, Drogenanalyse, Springer Verlag, Berlin-Heidelberg, New York 1983, 163.
(5) R. *Hänsel*, K. *Keller*, H. *Rimpler*, G. *Schneider* (Eds.), Hagers Handbuch der Pharmazeutischen Praxis, Vol. 5, Springer Verlag, Berlin-New York 1994, 474.
(6) M. *Medić-Šarić*, A. *Brantner*, Ž. *Maleš*, Acta Pharm. **46** (1996) 115.
(7) M. *Christ*, K. H. *Müller*, Arch Pharm. **293** (1960) 1033.