

ZBORNÍK PRÍSPEVKOV
3. KONFERENCIE
CENTRA EXCELENTNOSTI

**Aplikácia OMICS nástrojov v štúdiu vzniku chorôb a ich
prevencie**



Chemický ústav SAV, v. v. i., Dúbravská cesta 9, Bratislava

30. november 2022

Recenzent

RNDr. Jana Bellová, PhD.

chemjbel@savba.sk

Editor

Mgr. Mária Šedivá, PhD.

chemsedm@savba.sk

Ing. Mária Kopáčová

chemmari@savba.sk

ISBN 978 – 80 – 971665 – 4 - 0

Inozitoly identifikované v kvetoch *Magnolia soulangeana* hmotnostnou spektrometriou s trojitým kvadrupólom

Mária Kopáčová^{1,2}, Vladimír Pätoprstý¹

¹Chemický ústav SAV, v. v. i., Dúbravská cesta 9, 845 38 Bratislava

²Univerzita Komenského v Bratislave, Prírodovedecká fakulta, Katedra analytickej chémie, Mlynská dolina, Ilkovičova 6, 842 15 Bratislava, Slovenská republika

Úvod

Inozitoly sa podieľajú na prenose niekoľkých endokrinných signálov, vrátane inzulínu, hormónov štítnej žľazy, gonadotropínov, lipidov s aktivitou podobnou hormónom (ako prostaglandíny) a mnohých ďalších endokrinných systémov [1].

Je preukázané, že myo-inozitol, či už samotný, alebo v kombinácii s jeho izomérom D-chiro-inozitolom, má rôzny účinok na zlepšenie symptómov u pacientiek s PCOS (*Syndróm polycystických vaječníkov*) [2]. Avšak správny pomer - t. j. príslušné percento myo-inozitolu ku D-chiro-inozitolu - je stále predmetom diskusie. V niekoľkých prípadoch nie je možné získať presvedčivé poznatky z klinických štúdií založených na nejasnom racionálnom dizajne, obmedzenom počte prijatých pacientiek a variabilnom zložení receptúry a dávkovaní. Celkovo údaje naznačujú, že použitie príslušných koncentrácií oboch izomérov by sa malo starostlivo zvážiť a nemalo by sa ponechať na improvizáciu. Preto je dôležité poznať zastúpenie jednotlivých izomérov inozitolu v rastlinnom materiáli. V budúcich štúdiách bude treba okrem toho zistiť molekulárny základ aktivity inozitolov na ovariálnych bunkách a preskúmať priaznivé účinky vhodného pomeru myo-inozitolu a D-chiro-inozitolu [1].

Magnólia Soulangeova (*Magnolia soulangeana*) je asi najviac pestovaným druhom ako okrasná drevina spomedzi mnohých druhov magnólií. Napriek tomu, že najznámejšia *Magnolia officinalis* je využívaná v tradičnej čínskej medicíne pre svoje bioaktívne neolignany, našim cieľom bolo identifikovať iné prospešné fytochemikálie, inozitoly, vo viac dostupnom druhu, *Magnolia soulangeana*, čím by sa mohla stať ešte zaujímavejším druhom.

Materiál a metódy

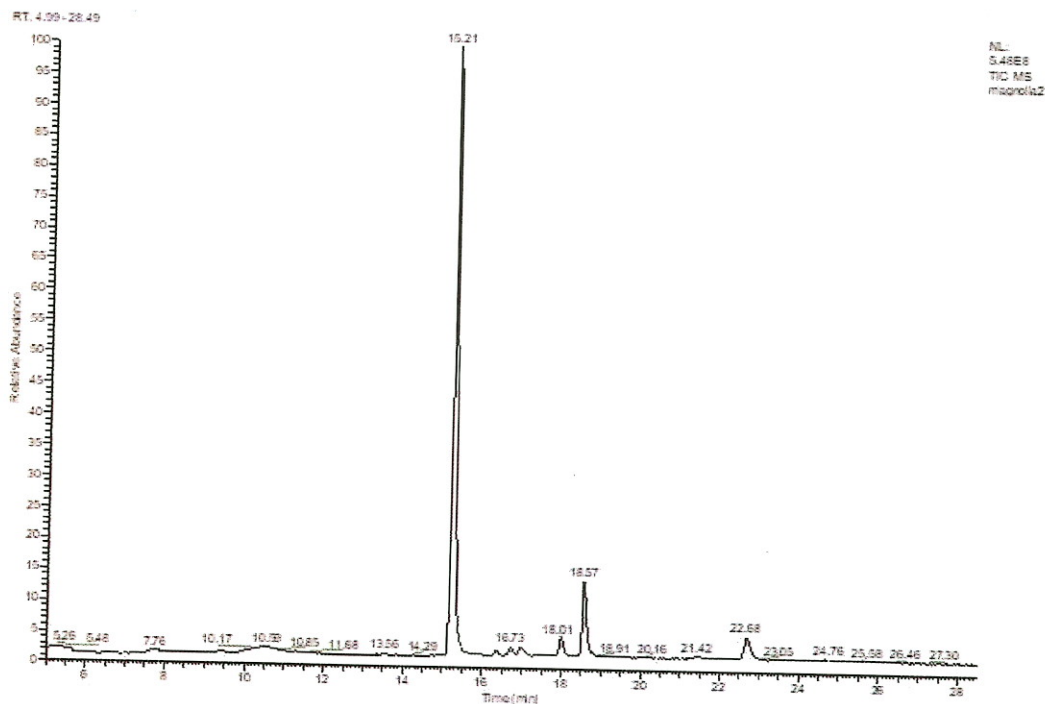
Kvety magnólie Soulangeova (*Magnolia soulangeana*) boli lyofilizované, aby sa zachoval obsah látok v nich. Následne boli podrvené a extrahované v metanole. Extrakt bol homogenizovaný 30 min pri laboratórnej teplote ultrazvukovým homogenizátorom s pulzom 10 s x 1 s (Bandelin Sonopuls HD 3100) pre lepší výt'azok. Po 5 min vortexovaní (IKA Vortex Genius 3) a 5 min centrifugácii (Heraeus PICO 17 Centrifuge) sa odobratý 1 ml nechal odpariť. Vzorka sa pred analýzou GC-MS derivatizovala zásaditou acetyláciou pridaním 50 µl pyridínu a 50 µl acetanhydridu v termobloku (Block heater SBH130D STUART) 1 hod pri 80°C. Po acetylácii sa nechala vzorka odpariť do sucha a rozpustila v ACN.

Vzorky boli analyzované plynovým chromatografom v spojení s hmotnostným detektorom

GC-MS (Trace GC Ultra Thermo Scientific - TSQ Quantum XLS) s použitím kremennej kapilárnej kolóny SP-2330 (30m x 0.25mm x 0.2um) a teplotným gradientom: 180 °C (4 min) – 20 °C/min – 230 °C – 2 °C/min – 250 °C (10 min). Tieto podmienky boli optimalizované a teplotný program dosahuje najlepšiu separáciu. Prietok hélia bol 0,6 ml/min, teplota iónového zdroja a dávkovača bola 200 °C a 240 °C. Použitá bola elektrónová ionizácia (70 eV) a kvadrupólový analyzátor operoval vo full scan móde v hmotnostnom rozsahu 40-450 m/z.

Výsledky a diskusia

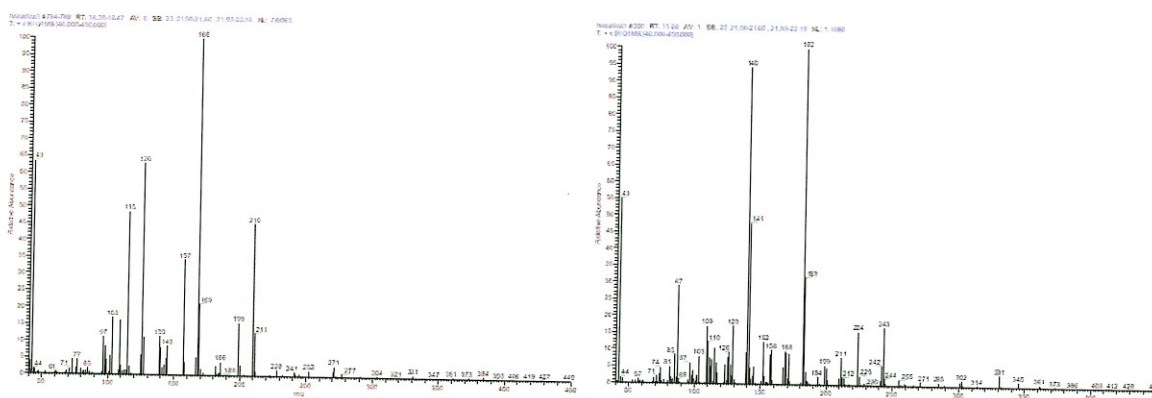
Separáciou extraktu *Magnolia soulangeana* plynovou chromatografiou sa získal chromatogram eluovaných inozitolov, ktoré boli potvrdené hmotnostnými spektrami a retenčnými časmi rovnako pripravených nameraných štandardov. V študovanej rastline boli identifikované 2 inozitoly a 2 metyléter inozitoly, ktoré sa pravdepodobne nachádzajú v rastline vo voľnej forme.



Obr.1: GC-MS chromatogram eluovaných inozitolov, metyl-éter derivátov z extraktu kvetov *Magnolia soulangeana* na kolóne SP-2330, identifikovaných hmotnostným spektrometrom s trojitým kvadrupólom v elučnom poradí: D-pinitol (15,21 min), chiro-inozitol (16,36 min), ononitol (18,01 min), myo-inozitol (18,57 min). V analyzovanom extrakte kvetov boli identifikované aj acetylované hexózy (16,73 min a 16,97 min).

Tab.1: Relatívne percentá [%] zastúpenia jednotlivých inozitolov v extraktoch listoch *Magnolia soulangeana*

	RT [min]	Plocha [%]
D-pinitol	15,21	84,33
chiro-inozitol	16,36	0,71
ononitol	18,01	2,73
myo-inozitol	18,57	12,22



Obr.2: MS spektrum acetylovaného inozitolu a metyléter inozitolu

V magnólii Soulangeova bol identifikovaný D-pinitol ako dominantný voči ďalším trom inozitolom, ononitolu, chiro- a myo-inozitolu. Ako druhý je najviac zastúpený myo-inozitol (12,22 %), ktorý sa v prírode najviac vyskytuje. Potom ononitol s 2,73 % a chiro-inozitol s 0,71 %-ným zastúpením v extrakte. Tak ako je využívaná *Magnolia officinalis* s obsahom neolignanov v tradičnej čínskej medicíne na zlepšenie gastrointestinálnej aktivity, regulácie respiračnej aktivity pri astme, kašli, ale aj pri liečení ochorenia COVID-19, možno predpokladať, že *Magnolia soulangeana* by mohla mať tiež potencióálne liečivé účinky vďaka inozitolom, ktoré majú antioxidačné, protizápalové a protirakovinové vlastnosti.

Pod'akovanie

Táto publikácia vznikla s podporou Operačného programu Integrovaná infraštruktúra pre projekt: Vývoj produktov modifikáciou prírodných látok a štúdiom ich multimodálnych účinkov na COVID-19, ITMS: 313011ATT2, spolufinancovaný z Európskeho fondu regionálneho rozvoja. Táto práca bola podporená Slovenskou grantovou agentúrou VEGA. (Grant č. 2/0096/20)

Literatúra

- [1] Monastra G, Vucenik I, Harrath AH, Alwasel SH, Kamenov ZA, Laganà AS, Monti N, Fedeli V and Bizzarri M (2021) Front. Endocrinol. 12, p. 660381
- [2] Lagana AS, Garzon S, Casarin J, Franchi M, Ghezzi F. (2018) Trends Endocrinol Metab 29, p.768