



*A kép illusztráció / The picture is illustration (Fotó/Photo: Radácsi Péter)*

Nádosi Márta<sup>1</sup>, Lelik László<sup>2</sup>, Bernáth Jenő<sup>1</sup>, Bányai László<sup>3</sup>

Érkezett/Received: 2014. december/December – Elfogadva/Accepted: 2015. március/March

# Gyógynövénydrogokból és teakeverékből készült tea flavonoid-tartalmának vizsgálata

## 1. Összefoglalás

A szerzők a „Pannonhalmi májvédő” (Ph. Májvédő) élelmiszernek minősülő teakeverék flavonoid-tartalmát kétféle eljárással vizsgálták. A kísérletek során a Magyar Gyógyszerkönyv Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833 (acetonos kivonás) és a Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432 (alkoholos extrakció) módszereit alkalmazták. Az acetonos, illetve etanolos extraktumok flavonoid tartalmát mindkét eljárásban fotometriás módszerrel határozták meg. Megállapították, hogy a vizsgált teakeverék májvédő hatását elsődlegesen a máriatövis (*Silybum marianum*) elsődleges hatóanyaga, egy flavonolignán-komplex, a szilimarín biztosítja. A vizsgálatok során a szerzők a teakeverék flavonoid-tartalmát hiperozid egyenértékben határozták meg.

## 2. Bevezetés

Az egészségügyi problémák megelőzésére, a kialakult betegségek kezelésére, vagy kiegészítő terápiaként az emberek szívesen fogyasztanak különböző gyógynövényekből készülő teákat. A gyógynövények hatásait a népgyógyászati tapasztalatok igazolják, viszonylag kevés gyógynövény drog esetén pedig klinikai, és egyéb tudományos vizsgálatok adatai szolgáltatnak bizonyítékot. Legtöbb esetben a különböző gyógynövények együttes alkalmazása kedvezőbb eredménnyel jár, mint egy-egy növény egyedüli használata, ezért népszerűbbek és hasznosabbak a különböző indikációra összeállított tea keverékek. Ezek összetétele általában valamilyen régi receptúrához, vagy a népgyógyászati hagyományhoz kötődik.

A teakeverékekben felhasznált drogokat a gyógyszerkönyvi előírat alapján minősítik. Viszonylag kevés információ van arról, hogy a gyógynövény drogból készült teában, azaz a vizes oldatban milyen hatóanyagok és milyen mennyiségben oldódnak ki. Munkánk során a „Pannonhalmi májvédő” teakeverék drogjainak külön-külön és a belőlük készített tea (vizes kivonat) flavonoid hatóanyag-tartalmát vizsgáltuk különböző gyógyszerkönyvi mérési módszerekkel.

Célunk volt ezen módszerek alkalmazhatóságának vizsgálata, valamint a komplex teakeverék flavonoid-tartalmának meghatározása, illetve a hagyományos (esetenként a tea dobozán feltüntetett) eljárással készített tea flavonoid mennyiségének mérése.

A flavonoidokat a növények széles spektruma szintetizálja, ezért szinte minden növény tartalmaz valamilyen flavonoid összetevőt. A flavonoidok a növényvilágban rendkívül elterjedt vegyületek, főleg a virágok színét adják, de szerepet tulajdonítanak a növények élettani funkcióiban is. A flavonoid csoportba tartozó molekulák felépítése rendkívül változatos, a kifejezés valójában egy gyűjtőfogalom, amely rendkívül sokszínű molekulacsaládot takar. Jelenleg több mint 400 féle különböző szerkezetű flavonoidot ismerünk. A flavonoidok szerkezete  $C_6-C_3-C_6$  difenilpropán alapszénvázból áll, a két benzolgyűrű (A és B) oxigén atomot tartalmazó pirán- vagy pirongyűrűn keresztül kapcsolódik. A flavonoidok változatosságát az OH- és a  $CH_3$ - csoportok eltérő száma, és elhelyezkedése, valamint a hozzájuk kapcsolódó cukrok biztosítják. Az O-glikozidok esetén a cukor molekula féla-cetál kötéssel kapcsolódik. A leggyakoribb kötőhely az „A” gyűrű 7-hidroxilcsoportja flavon, flavanon és

<sup>1</sup> Budapesti Corvinus Egyetem, Gyógy- és Arománövények Tanszék

<sup>2</sup> Budapesti Corvinus Egyetem, Élelmiszerkémia és Táplálkozástudományi Tanszék

<sup>3</sup> Corvinus-Fitolabor Kft.

<sup>1</sup> Corvinus University of Budapest, Department of Medicinal and Aromatic Plants

<sup>2</sup> Corvinus University of Budapest, Department of Food Chemistry and Nutrition

<sup>3</sup> Corvinus-Fitolabor Kft.

izoflavonok esetében, míg a flavonolok és flavanolok esetében a 3-as és a 7-es hely. A C-glikozidok kapcsolódása során egy sav rezisztens C-C kötés alakul ki, a leggyakoribb kötőhely az „A” gyűrű C-6-os illetve C-8-as helye. Mindkét esetben a legtöbbször glükóz kapcsolódik az alapvázhoz, de kapcsolódhat galaktóz, ramnóz, xilóz, arabinóz, ritkábban mannóz, fruktóz, glükuron- és galakturonsav is [1], [2].

A flavonoidok analitikai vizsgálatakor a különböző molekulák fizikai-kémiai tulajdonságait, különbségét figyelembe kell venni. Mennyiségi meghatározások során a mérés az „összes” flavonoid tartalmat határozzuk meg, a molekula csoport egyik közös tulajdonsága alapján. A flavonoid molekulák rendkívül sokrétű szerkezete miatt csak bizonyos molekulák adják az adott színreakciót. Az eredmény általában a csoportra legjellemzőbb flavonoidra vonatkoztatják.

A vizsgálatra kiválasztott teakeverékben a májvédő hatást elsősorban a máriatövisben található szilimarin biztosítja, amely flavonolignán-komplex. A fő hatóanyag májvédő hatását az adott teakeverékben az egyéb flavonoidok jótékony antioxidáns, gyulladáscsökkentő hatása valószínűleg erősíti. A flavonoidok élettani szerepét egyébként régóta vizsgálják. Az in vitro kísérletek alapján ezek főleg antioxidáns és gyulladáscsökkentő hatásuk, és az enzimek aktivitásának módosításával, a biokémiai folyamatokon keresztül hatnak. A flavonoidok antioxidáns tulajdonságainak mértéke alapvetően az adott molekula szerkezetétől függ. Erőssége a B-gyűrűn lévő o-difenol csoport, a 4-es szénatomon az oxo csoport jelenléte, valamint a 3-as és 5-ös szénatomon lévő oxocsoportok jelenlététől függ. Az antioxidáns hatás erősségét a hidroxiláció mértéke pozitívan, a cukor oldalláncok száma pedig negatívan hat [2], [3], [4], [5].

### 3. Anyag és módszer

Munkánk során a „Pannonhalmi májvédő” (Ph. Májvédő) élelmiszer teakeveréket vizsgáltuk. A filteres teakeverék kiszerezése 20×1,5 g. A tea kúraszerűen alkalmazható önállóan, vagy kiegészítő kezelésként különböző eredetű májbántalmak, a máj fokozott megterhelését okozó anyagok (pl. alkohol) miatt bekövetkező májkárosodások, gyomor és bélbántalmak, valamint epebetegségek megelőző, kiegészítő és utókezelésére.

A teakeverék összetétele:

- Máriatövis termés (Silybi mariani fructus)
- Borsosmenta-levél (Menthae piperitae folium)
- Citromfű leveles szár (Melissae herba)
- Közönséges párlófű virágos hajtás (Agrimoniae herba)
- Golgota virág (Passiflorae herba)
- Közönséges cickafark virágos hajtás (Millefolii herba)
- Gyermekláncfű gyökér (Taraxaci radix)

Méréseink során a flavonoid tartalmat a teakeverék összeállítására felhasznált drogokban külön-külön, majd a száraz keverékben együttesen is meghatároztuk. Ezt követően a termékleírás javallatát követve teát készítettünk, és az így kapott vizes kivonatból meghatároztuk a flavonoid tartalmat. A tea készítése során 1 g drogot vagy teakeveréket 100 ml forrásban lévő vízzel leöntöttünk, majd 10 perc után leszűrtük. A flavonoid-tartalom mennyiségi meghatározását két módon végeztük el: az acetonos kivonást a Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833 „LEONURI CARDIACAE HERBA Szúrós gyöngyajak virágos hajtás” cikkelye alapján, illetve az alkoholos extrakciós módszert a Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432, „CRATAEGI FOLIUM CUM FLORE Galagonya virágos hajtásvég” alapján. Minkét módszer esetében a kapott flavonoid-tartalmat hiperozidban fejezzük ki. A drogok estén 1 g minta mennyiségből, a vizes kivonatból 1 ml mintamennyiség volt a bemérés [6], [7].

### 3.1. Anyag és módszer

#### 3.1.1. Acetonos extrakciós módszer (01/2003:1833 Leonuri Cardiacae Herba) [6]

Az eljárás a szúrós gyöngyajak virágos hajtásának gyógyszerkönyvi vizsgálati módszere.

Törzsoldat:

1,00 g mintát 100 ml-es gömblombikban hexametiléntetramin 5 g/l töménységű oldatának 1 ml-ével, 20 ml acetonnal és 2 ml sósavval, visszafolyó hűtő alkalmazva, 30 percen át forraltunk. A folyadékot vattapamaton keresztül megszürtük. A vattapamaton a rajta lévő maradékkal visszatettük a gömblombikban lévő maradékhoz és a kivonást 20 ml acetonnal, visszafolyó hűtő alkalmazva, 10 perces forralással még kétszer megismételtük. A lehűtött kivonatokat vattapamaton keresztül megszürtük. A lehűtött, egyesített acetonos kivonatot szűrőpapíron mérőlombikba szűrtük, és a szüredéket acetonnal 100,0 ml-re hígítottuk. Az oldat 20,0 ml-ét választótölcsérben, 20 ml víz hozzáadása után, 1-szer 15 ml, majd 3-szor 10 ml etil-acetáttal kiráztuk. Az egyesített etil-acetátos kivonatot egy másik választótölcsérben 2-szer 50 ml desztillált vízzel mostuk, majd 10 g vízmentes nátrium-szulfáton keresztül mérőlombikba szűrtük, és etil-acetáttal 50,0 ml-re hígítottuk.

Vizsgálati oldat:

A törzsoldat 10,0 ml-éhez 1 ml alumínium-klorid-reagenst adtunk, és az elegyet tömény ecetsav metanollal készült, 5 % V/V-os oldatával 25,0 ml-re hígítottuk.

Kompenzáló oldat:

A törzsoldat 10,0 ml-ét tömény ecetsav metanollal készült, 5 % V/V-os oldatával 25,0 ml-re hígítottuk.

A vizsgálati oldat abszorbanciáját a kompenzáló oldattal szemben 30 perc elteltével 425 nm-en mértük

# Analysis of the flavonoid content of a tea made of herbal drugs and a tea blend

Márta Nádosí<sup>1</sup>, László Lelik<sup>2</sup>, Jenő Bernáth<sup>1</sup>, László Bányai<sup>2</sup>

## 1. Summary

Flavonoid content of a tea blend considered as food called „Pannonhalmi májvédő” (Hepatoprotective from Pannonhalma) was studied by the authors. Flavonoid-type compounds were analyzed using two procedures. During the experiments, methods of the Hungarian Pharmacopoeia Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833 (acetone extraction) and Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432 (alcohol extraction) were applied. Flavonoid content of the acetone or alcohol extracts were determined by a photometric method in both procedures. It was determined that the liver protecting effect of the tea blend studied is provided primarily by the main active ingredient of milk thistle, a flavonolignan complex called silymarin. During the study, flavonoid content of the tea blend was determined by the authors in hyperoside equivalent.

## 2. Introduction

To prevent health problems, treat diseases that developed, or as a supplemental therapy, people like to consume different herbal teas. The effects of herbs are confirmed by the experience of folk medicine and, in the case of relatively few herbal drugs, proofs are provided by clinical and other scientific studies. In most cases, combined application of different herbs provide better results, compared to when used individually, therefore, tea blends composed for different indications are more popular and more effective. The composition of these is usually linked to some old recipe or a tradition in folk medicine.

Drugs used in tea blends are classified according to pharmacopoeia prescriptions. We have relatively little information about the quality and quantity of active substances that are present in the tea made of herbal drugs, i.e., in the aqueous solution. During our study, flavonoid content of the drugs of the „Hepatoprotective from Pannonhalma” tea blend were analyzed individually, as well as that of the tea made from them (aqueous extract), using pharmacopoeia analytical methods. Our goal was to study the applicability of these methods, to determine the flavonoid content of the complex tea blend, and to measure the amount of flavonoids in the tea prepared using the traditional process (sometimes indicated on the packaging of the tea).

Flavonoids are synthesized by a broad range of plants, therefore, almost all plants contain some kind of flavonoid component. Flavonoids are very widespread compounds in plant life, mainly providing color to flowers, but they are thought to play a role in the physiological functions of plants as well. Structures of the molecules belonging to the flavonoid group are very diverse, the expression in fact being an umbrella term, containing a quite divergent family of molecules. Currently, there are more than 400 flavonoids of different structure are known. The structure of flavonoids consists of a C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub> diphenylpropane basic carbon skeleton, and the two benzene rings (A and B) are connected through a pyran or pyrone ring containing an oxygen atom. The diversity of flavonoids is ensured by the different numbers and locations of OH and CH<sub>3</sub> groups, as well as the sugars connected to them. In the case

of O-glycosides, the sugar molecule is connected via a hemiacetal bond. The most common binding site is the 7-hydroxyl group of the „A” ring in the case of flavones, flavanones and isoflavones, while it is positions 3 and 7 in the case of flavonols and flavanols. During the linking of C-glycosides, an acid-resistant C-C bond is formed, and the most common binding sites are positions C-6 and C-8 of ring „A”. In both cases, it is most often glucose that is linked to the basic skeleton, but it can also be galactose, rhamnose, xylose, arabinose and, less often, mannose, fructose, glucuronic acid or galacturonic acid [1], [2].

When analyzing flavonoids, physico-chemical properties of the different molecules, and their differences have to be taken into consideration. During quantitative determinations, „total” flavonoid content is determined by the measurement, based on a common property of the molecule group. Because of the very diverse structure of flavonoid molecules, the specific color reaction is only given by certain molecules. Results are usually provided in the equivalent of the flavonoid most characteristic of the group.

In the tea blend selected for study, the hepatoprotective effect is provided primarily by the silymarin found in milk thistle, a flavonolignan complex. The hepatoprotective effect of the main active ingredient in the given tea blend is probably enhanced by the antioxidant and anti-inflammatory effects of other flavonoids. Incidentally, the physiological role of flavonoids has been studied for a long time. Based on in vitro experiments, these are mainly antioxidant and anti-inflammatory effects, and they act through biochemical processes, by modifying enzyme activity. The extent of the antioxidant properties of flavonoids basically depends on the structure of the given molecule. Its strength depends on the o-dihydroxyl group in the B ring, the presence of an oxo group at C-4, and the presence of oxo groups at C-3 and C-5. The strength of the antioxidant effect is influenced positively by hydroxylation, while it is influenced negatively by increasing numbers of sugar side chains [2], [3], [4], [5].

## 3. Materials and methods

During our work, the tea blend considered as food called „Pannonhalmi májvédő” (Hepatoprotective from Pannonhalma) was studied. The product is available as 20x1.5 g tea bags. The tea can be applied as a regular independent or supplementary treatment, for the preventive, supplemental or follow-up treatment of various liver problems, liver damage due to substances (e.g., alcohol) that cause liver overload, stomach and intestinal diseases, and also gallbladder problems..

Composition of the tea blend:

- Milk thistle fruit (*Silybi mariani fructus*)
- Peppermint leaves (*Menthae piperitae folium*)
- Lemon balm stem (*Melissae herba*)
- Common agrimony flowering tops (*Agrimoniae herba*)
- Passionflower herb (*Passiflorae herba*)
- Yarrow flowering tops (*Millefolii herba*)
- Dandelion root (*Taraxaci radix*)

During our measurements, flavonoid content was determined in the drugs used for the creation of the tea blend individually, and then in the dry blend together. Subsequently, tea was prepared following the recommendation of the product description, and the

A hiperozidban megadott összes százalékos flavonoid tartalmat „A” (1 cm 1%) = 500 fajlagos abszorpciós koefficienst alapul véve, a következő összefüggés segítségével számoltuk ki:

$$1,25 \cdot A/m,$$

ahol:

A = a 425 nm-en mért abszorbancia,

m = a vizsgálandó anyag tömege, grammban,

Alkalmazott fotométer: GDP UV VIS 916.

### 3.1.2. Etanolos extrakciós módszer (01/2002:1432, Crataegi Folium cum flore) [7]

Az eljárás a galagonya virágos hajtásvég gyógyszerkönyvi vizsgálati módszere.

Törzsoldat:

1,00 g porított mintát 200 ml-es lombikban 40 ml alkohollal (60 %V/V-os) vízfürdőben 60 C-on, gyakori rázogatós közben, 10 percig melegítettünk. A lehűlt kivonatot vattapamaton keresztül 100 ml-es mérőlombikba szűrtük. A vattapamatot a drog maradékával visszatettük a 200 ml-es lombikba, 40 ml alkohollal (60 %V/V-os) öntöttünk rá, és vízfürdőben 60 C-on, gyakori rázogatós közben, 10 percig ismét melegítettük. Lehűlés után ugyanabba a 100 ml-es mérőlombikba szűrtük, mint az előbb. A 200 ml-es lombikot és a szűrőt alkohollal (60 %V/V-os) a 100 ml-es mérőlombikba öblítettük. Az elegyet alkohollal (60 %V/V-os) végtérfogatra hígítottuk, majd szűrtük.

Vizsgáló oldat:

Az alapoldat 5,0 ml-ét gömblombikba mérjük és csökkentett nyomáson szárazra párologtattuk. A maradékot 10 térfogatrész metanol és 100 térfogatrész tömény ecetsav elegyének 8 ml-ében oldottuk és az oldatot 25 ml-es mérőlombikba vittük át. A gömblombikot 10 térfogatrész metanol és 100 térfogatrész tömény ecetsav elegyének 3 ml-ében a 25 ml-es mé-

rőlombikba öblítettük, 10,0 ml bórsavat (25,0 g/l) és oxálsavat (20,0 g/l) koncentrációban tartalmazó vízmentes hangyasavat adtunk hozzá, és az oldatot vízmentes ecetsavval 25,0 ml-re hígítottuk.

Kompenzáló oldat:

Az alapoldat 5,0 ml-ét gömblombikba mérjük és csökkentett nyomáson szárazra párologtattuk. A maradékot 10 térfogatrész metanol és 100 térfogatrész tömény ecetsav elegyének 8 ml-ében oldottuk és 25 ml-es mérőlombikba vittük át. A gömblombikot 10 térfogatrész metanol és 100 térfogatrész tömény ecetsav elegyének 3 ml-ével ismét a 25 ml-es mérőlombikba öblítettük, 10,0 ml vízmentes hangyasavat adtunk hozzá és az oldatot vízmentes ecetsavval 25,0 ml-re hígítottuk. 30 perc elteltével 410 nm-en mértük a vizsgálati oldat abszorbanciáját a kompenzáló oldattal szemben.

A hiperozidban megadott összes százalékos flavonoid tartalmat „A” (1 cm 1%) = 405 fajlagos abszorpciós koefficienst alapul véve a következő egyenlet segítségével számoltuk ki:

$$(A \cdot 25 \cdot 100) / (405 \cdot 5 \cdot m) = 1,235 \cdot A/m,$$

ahol:

A = a 410 nm-en mért abszorbancia

m = a vizsgálandó anyag tömege grammban

Alkalmazott fotométer: GDP UV VIS 916

## 4. Eredmények és értékelésük

### 4.1. A teakeveréket alkotó drogok flavonoid-tartalmának összehasonlítása eltérő módszerek estén

A teakeverék és drogjainak az összes flavonoid-tartalmát két különböző gyógyszerkönyvi módszerrel mértük le. Az eredményeket az **1. táblázat** tartalmazza.



A kép illusztráció / The picture is illustration

flavonoid content of the aqueous extract obtained was also determined. When preparing the tea, 100 ml of boiling water was poured over 1 g of the drug or the tea blend, and it was filtered after 10 minutes. Quantitative determination of the flavonoid content was performed in two ways: acetone extraction according to article Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833 „LEONURI CARDIACAE HERBA Motherwort flowering tops”, and the alcohol extraction method according to Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432, „CRATAEGI FOLIUM CUM FLORE Hawthorn flower-bearing branches”. The flavonoid content obtained was expressed in hyperoside equivalent in both cases. The analytical sample was 1 g in the case of the drugs, and 1 ml in the case of the aqueous extract [6], [7].

### 3.1. Materials and methods

#### 3.1.1. Acetone extraction method (01/2003:1833 Leonuri Cardiacae Herba) [6]

This procedure is the pharmacopoeia analytical method of motherwort flowering tops.

Stock solution:

1.00 g of the sample was boiled for 30 minutes in a 100 ml round-bottom flask with 1 ml of hexamethylenetetramine solution (5 g/l), 20 ml of acetone and 2 ml of hydrochloric acid, using a reflux condenser. The liquid was filtered through a wad of cotton. The wad of cotton, with the residue on it, was returned to the residue in the round-bottom flask, and the extraction was repeated twice, using 20 ml of acetone and the reflux condenser, boiling for 10 minutes each. Cooled extracts were filtered through cotton wads. The cooled, combined acetone extract was filtered into a volumetric flask through filter paper, and the filtrate was diluted to 100.0 ml with acetone. After the addition of 20 ml of water, 20.0 ml of the solution was extracted in a separatory funnel once with 15 ml, then three times with 10 ml of ethyl acetate. The combined ethyl acetate extract was washed twice with 50 ml of distilled water in another separatory funnel, then it was filtered into a volumetric flask through 10 g of anhydrous sodium sulfate, and was diluted to 50.0 ml with ethyl acetate.

Analytical solution:

1 ml of aluminum chloride reagent was added to 10.0 ml of the stock solution, and the mixture was diluted to 25.0 ml with a 5 %V/V methanolic solution of glacial acetic acid.

Compensation solution:

10.0 ml of the stock solution was diluted to 25.0 ml with a 5 %V/V methanolic solution of glacial acetic acid.

Absorbance of the analytical solution against the compensation solution was measured at 425 nm after 30 minutes.

Total percentage flavonoid content, expressed in hyperoside, was calculated according to the following formula, using a specific absorption coefficient of „A” (1 cm 1%) = 500:

$$1.25 \cdot A/m,$$

where:

A is the absorbance measured at 425 nm,

m is the weight of the material analyzed, in grams,

Photometer used: GDP UV VIS 916.

#### 3.1.2. Ethanol extraction method (01/2002:1432, Crataegi Folium cum flore) [7]

This procedure is the pharmacopoeia analytical method of hawthorn flowering tops.

Stock solution:

1.00 g of the powdered sample was heated, with frequent shaking, on a water bath at 60 °C for 10 minutes in a 200 ml flask with 40 ml of alcohol (60 %V/V). The cooled extract was filtered into a 100 ml volumetric flask through a wad of cotton. The wad of cotton, with the residue of the drug, was returned to the 200 ml flask, 40 ml of alcohol was added (60 %V/V), and it was again heated, with frequent shaking, on a water bath at 60 °C. After cooling, it was filtered into the same 100 ml volumetric flask as before. The 200 ml flask and the filter was rinsed into the 100 ml volumetric flask with alcohol (60 %V/V). The mixture was filled to the mark with alcohol (60 %V/V), and then filtered.

Analytical solution:

5.0 ml of the stock solution was placed in a round-bottom flask, and evaporated to dryness under reduced pressure. The residue was dissolved in 8 ml of a mixture of 10 parts by volume methanol and 100 parts by volume glacial acetic acid, and the solution was transferred to a 25 ml volumetric flask. The volumetric flask was rinsed into the 25 ml volumetric flask with 3 ml of a mixture of 10 parts by volume methanol and 100 parts by volume glacial acetic acid, 10.0 ml of anhydrous formic acid containing boric acid (25.0 g/l) and oxalic acid (20.0 g/l) was added, and the solution was diluted to 25.0 ml with glacial acetic acid.

Compensation solution:

5.0 ml of the stock solution was placed in a round-bottom flask, and evaporated to dryness under reduced pressure. The residue was dissolved in 8 ml of a mixture of 10 parts by volume methanol and 100 parts by volume glacial acetic acid, and the solution was transferred to a 25 ml volumetric flask. The volumetric flask was rinsed into the 25 ml volumetric flask with 3 ml of a mixture of 10 parts by volume methanol and 100 parts by volume glacial acetic acid, 10.0 ml of anhydrous formic acid was added, and the solution was diluted to 25.0 ml with glacial acetic acid. Absorbance of the analytical solution against the compensation solution was measured at 410 nm after 30 minutes.

Total percentage flavonoid content, expressed in hyperoside, was calculated according to the following formula, using a specific absorption coefficient of „A” (1 cm 1%) = 405:

$$(A \cdot 25 \cdot 100) / (405 \cdot 5 \cdot m) = 1,235 \cdot A/m,$$

where:

A is the absorbance measured at 410 nm,

m is the weight of the material analyzed, in grams.

Photometer used: GDP UV VIS 916

### 4. Results and their evaluation

#### 4.1. Comparison of the flavonoid contents of the drugs making up the tea blend in the case of different methods

Total flavonoid contents of the tea blend and its drugs were measured using two different pharmacopoeia methods. Results are shown in **Table 1**.

Results were almost the same for dandelion root using both methods, and in the case of milk thistle fruit and common agrimony, the difference between the two measurements was less than 25%. For peppermint leaf and lemon balm stem samples, the difference was less than 50%, while the largest difference was found during the measurement of the passionflower herb.

1. táblázat. „Pannonhalmi Májvédő teakeverék” drogjainak flavonoid-tartalma  
Table 1. Flavonoid content of the drugs in the „Hepatoprotective tea blend from Pannonhalma”

	Összetétel (%) Composition (%)	Száritási veszteség (%) Loss on drying (%)	Flavonoid-tartalom Ph. Hg. VIII 01/2003:1833 (g/100g) Flavonoid content Ph. Hg. VIII 01/2003:1833 (g/100g)	Flavonoid-tartalom Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432 (g/100g) Flavonoid content Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432 (g/100g)
Ph. Májvédő teakeverék Pannonhalma hepatoprotective tea blend		5,841	0,325	1,282
Komponensek:/ Component:				
Máriatövis termés Milk thistle fruit	20	3,866	0,049	0,037
Borsosmenta levél Peppermint leaves	20	5,326	0,848	0,454
Orvosi citromfű leveles szár Lemon balm stem	20	4,019	0,238	0,135
Közönséges párlófű leveles szár Common agrimony flowering tops	10	4,757	0,496	0,406
Golgota virág Passionflower herb	10	4,540	0,564	10,59
Közönséges cickafark virágos hajtásvég Yarrow flowering tops	10	4,482	0,092	0,556
Gyermekláncfű gyökér Dandelion root	10	8,769	0,018	0,019

A gyermekláncfű gyökér esetén mindkét módszerrel közel azonos eredményt kaptunk, a máriatövis termés és a közönséges párlófű esetén a két mérés közötti eltérés 25 % alatt volt. A borsosmenta-levél és orvosi citromfű leveles szár mintáknál az eltérés 50 % alatt volt, míg a legnagyobb eltérést a golgota virág mérése során tapasztaltunk.

Az értékek közötti különbség a két módszer során használt különböző típusú kivonás és az eltérő reagensek következménye. A Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833 szerinti mérés során az acetonos kivonás esetén a sósavas forralással történő hidrolízis csak az O-glikozidokat bontja. A kivonás aglikon formájában történik. A Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432 módszer esetén az alkoholos kivonás után az O- és C-glikozidok mérése is lehetővé válik. A kivonás glikozidos formában lehetséges. A mérés azonban nem megbízható, ha a mintában bórsavval más komplexet képező vegyületek is jelen vannak. Mérési módszereink közül ezért az alkoholos kivonás során vártunk nagyobb mennyiségben kinyerhető flavonoid-tartalmat. A teakeverék és a közönséges párlófű leveles szár, a golgota virág, a közönséges cickafark virágos hajtásvég és a gyermekláncfű gyökér drogok esetén feltevésünk be

is igazolódott, tehát ezekben a mintákban az O-glikozidok mellett C-glikozidok is megtalálhatók. A golgota virág drog esetén a két mérés során a jelentős eltérést az okozza, hogy a drogban jelentős mennyiségben csak C- flavonoidglikozidok fordulnak elő [8].

Az összes flavonoid-tartalom meghatározás során alkalmazott módszerek között jelentős eltérés van a hatóanyag kivonásában és a detektálásában is. A különböző mérési módszerekkel kapott eredmények nem minden esetben összehasonlíthatók. Az eltérő eredmények bebizonyították, hogy az összes flavonoid-tartalom mérésének metódusát a drog flavonoid komponenseihez kell igazítani.

#### 4.2. A száraz teakeverék komplexben és az egyes drogokban mért összes flavonoid-tartalom összehasonlítása

A teakeverék esetén feltételeztük, hogy a teakeverék flavonoid-tartalma a drogok flavonoid-tartalmából – az összetételt figyelembe véve – sztöchiometrikan adódik össze. A drogok lemért flavonoid-értékei, és a teakeverékben lévő drogtartalom mennyisége alapján kiszámoltuk a teakeverék várható flavonoid-tar-

The difference between the values is due to the different types of extraction and the different reagents used in the two methods. During the measurement according to Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833, in the case of acetone extraction, hydrolysis by boiling with hydrochloric acid only breaks down O-glycosides. Extraction takes place in the form of the aglycone. In the case of method Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432, the measurement of both O- and C-glycosides is made possible after the alcohol extraction. Extraction is possible in a glycosidic form. However, the measurement is not reliable, if other compounds that can form complexes with boric acid are present in the sample. Because of this, of our two measurement methods, higher extractable flavonoid contents were expected during alcohol extraction. Our assumption was confirmed in the case of the tea blend, the common agrimony flowering tops, the passionflower herb, the yarrow flowering tops and the dandelion root drugs, so in these cases C-glycosides can also be found, in addition to O-glycosides. The significant difference between the two measurements in the case of passionflower herb is caused by the fact that the drug contains significant amounts of only C-flavonoglycosides [8].

There is a significant difference between the methods used for the determination of total flavonoid content, both in terms of the extraction of the active substance and the detection. Results obtained using different measurement methods are not always comparable. The differing results proved that the method of total flavonoid content determination has to be tailored to the flavonoid components of the drug.

#### 4.2. Comparison of the total flavonoid contents measured in the dry tea blend and the individual drugs

In the case of the tea blend, it was assumed that the flavonoid content of the tea blend is the stoichiometric sum of the flavonoid contents of the drugs, taking the composition into consideration. Based on the measured flavonoid values of the drugs and the drug contents of the tea blend, the expected flavonoid content of the tea blend was calculated. This calculated value was compared to the measured flavonoid content of the tea blend. Calculated and measured values showed relatively good agreement in the case of both measurement methodologies, although measured values were lower in both cases. Data are shown in **Figure 1**. The assumption was proven right by the results: based on both analytical methods, flavonoid contents of the drugs can be added stoichiometrically, and so the flavonoid content of the blend can be obtained. So total flavonoid amounts of the tea blend can be calculated from the values if the individual components.

#### 4.3. Amounts and proportions of flavonoid components dissolved into the tea

During the analysis of herbs, quality parameters are always measured in the dry drug, although in most cases they are consumed as tea. Only dissolved active substances in the aqueous extract enter our bodies during the consumption of tea, and only these can exert their effects. Measured values of flavonoid contents in the case of tea prepared from the tea blend and its drugs the traditional way are shown in **Table 2**.

Of the dry matter contents of the aqueous extracts, that of milk thistle fruit was the lowest (0.073 m/m %) and of dandelion root was the highest (0.592 m/m %). Dry matter content of the aqueous extract of the tea blend (0.278 m/m%) was also equal to the value calculated from those

of the dry matter contents of the drugs (0.273 m/m%). Therefore, in the case of dry matter content, the result of the tea blend can be calculated from the values measured in the drugs.

When measuring the flavonoid content according to method Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833, the detected value in the tea prepared from the tea blend was 0.57 mg/100 ml, while measurement results of teas prepared from the drugs were between 0.26 and 2.71 mg/100 ml. When applying method Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432, a much higher value was obtained for the tea prepared from the tea blend (178.4 mg/100 ml), and measurement results of teas prepared from the drugs were also higher, between 10 and 474.7 mg/100 ml. For dandelion root, values of <0.01 mg/100 ml were obtained in both cases, which is justified by the high saponin and low flavonoid contents [9].

Results obtained for teas by the two measurement methods differed considerably, proving that different flavonoid molecules dissolved into the tea to a different extent. So the flavonoid content of the aqueous extract depends on what kind of flavonoids the given drug contains. Depending on their physico-chemical properties, flavonoids dissolve into the tea to a different extent, therefore, the flavonoid content and composition of the drug will not necessarily be represented in the tea prepared in the traditional way. In the case of the extracts, no stoichiometric relationship could be found between the flavonoid content of the complex tea blend and that of the drugs.

By calculating the flavonoid content of the tea on the basis of the flavonoid content of the raw material drug, the dissolution percentages were determined (**Figure 2**).

Dissolution of flavonoids from the different drugs into the teas differed considerably. According to method Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432, higher active ingredient contents were measured, so dissolution percentages were also higher. Based on this method, dissolution was between 0.00 and 72.65%, with an average value of 27.40%. According to method Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833, the values were between 0.00 and 6.09%, with an average value of 3.38%. So different flavonoids dissolve from the drugs to a different extent during the preparation of the tea.

#### 5. Conclusions

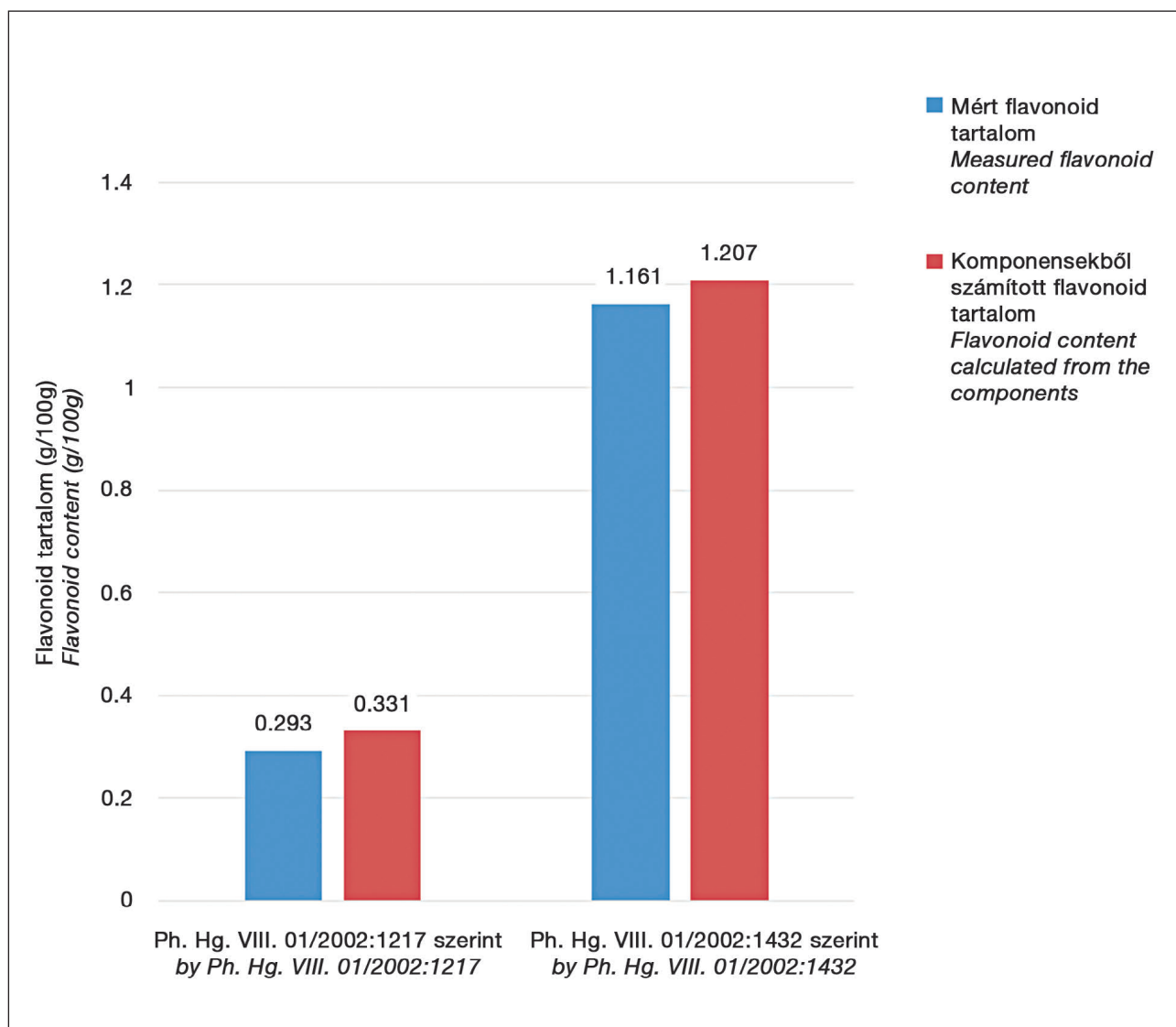
Using different methods, different results were obtained for the flavonoid contents of herbal drugs and the teas prepared from them. The reason for the differences lies in the specificities of the two methods and in the fact that the physico-chemical properties of the different flavonoid molecules differ significantly. This difference makes it hard to determine the total flavonoid content of the samples. During measurements performed by the two methods, certain groups were included in both results, while other specific flavonoids were only included in one or the other of the results. To select the proper flavonoid content measurement method, one has to know the flavonoid components of the given drug.

From the measurement results of the dry drugs, the flavonoid content of the complex tea blend could be determined. However, the flavonoid content of the dry drugs does not provide complete information about the amount of flavonoids present in the tea prepared in the traditional way. This was proven by the fact that results obtained using different pharmacopoeia methods differed, and that different dissolution percentages were measured in the case of different drugs. To determine



talmát. A számolt értéket összehasonlítottuk a teakeverékben mért flavonoid-tartalommal. A két különböző metodikájú mérés során a számolt és a mért értékek viszonylag jól egyeztek, bár mindkét esetben a mért értékek kisebbek voltak. Az adatokat az **1. ábra** szemlélteti. Az eredmények bebizonyították a feltéte-

lezést: mindkét vizsgálati módszer alapján a drogok flavonoid-tartalma sztöchiometrikanál összeadódik, és így megkaptuk a keverékben lévő flavonoid mennyiségét. A komplex teakeverékek összes-flavonoid mennyiségi értékei tehát kiszámolhatóak az egyes komponens értékeiből.



1. ábra. Pannonhalmi Májvédő teakeverék komponenseiből számolt és mért flavonoid tartalma  
Figure 1 Flavonoid content of the Hepatoprotective tea blend from Pannonhalma, measured and calculated from its components

#### 4.3. A teába kioldódó flavonoid komponensek mennyisége és arányai

A gyógynövények vizsgálata során a minőségi paramétereket minden esetben a száraz drogban vizsgáljuk, bár legtöbb esetben teaként fogyasztjuk. A tea fogyasztása során csak a vizes kivonatban lévő

kioldódott hatóanyagok jutnak be a szervezetünkbe, és csak ezek tudják a hatásukat kifejteni. Méréseink során a teakeverékből, illetve a drogaiból hagyományosan készült tea esetén kapott flavonoid-tartalmat a **2. táblázat** tartalmazza.

active ingredient content, it would be preferable to analyze the active ingredient contents of the aqueous extracts (that dissolve during the preparation of the tea), instead of those of the drugs. Based on the active ingredient contents of the aqueous extracts, a more accurate picture could be obtained about the composition and, thus, the effect of the herbal tea.

During our further work, dissolutions of the individual flavonoid compounds will be investigated in a targeted way, using coupled analytical methods (e.g., HPLC/MS).



A kép illusztráció. The picture is illustration (Fotó/Photo: MTA ÖK Nemzeti Botanikus Kert, Vácra) (A)

2. táblázat. Pannonhalmi Májvédő teakeverék és drogaiból készült tea flavonoid-tartalma  
Table 2 Flavonoid contents of tea prepared from Hepatoprotective tea blend from Pannonhalma and its drugs

	Vizes kivonat szárazanyag-tartalom (m/m %) <i>Dry matter content of aqueous extract (m/m %)</i>	Tea Flavonoid-tartalom Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833 (mg/100 ml) <i>Flavonoid content of tea Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833 (mg/100 ml)</i>	Tea Flavonoid-tartalom Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432 (mg/100 ml) <i>Flavonoid content of tea Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432 (mg/100 ml)</i>
Ph. Májvédő teakeverék <i>Pannonhalma hepatoprotective tea blend</i>	0,278	0,57	178,4
Komponensek / <i>Component:</i>			
Máriatövis termés <i>Milk thistle fruit</i>	0,073	0,26	13,33
Borsosmenta levél <i>Peppermint leaves</i>	0,360	1,93	311,6
Orvosi citromfű leveles szár <i>Lemon balm stem</i>	0,284	1,20	39,76
Köz. Párlófű leveles szár <i>Common agrimony flowering tops</i>	0,161	2,71	10,00
Golgota virág <i>Passionflower herb</i>	0,245	0,60	474,7
Köz. Cickafark virágos hajtásvég <i>Yarrow flowering tops</i>	0,195	0,53	155,2
Gyermekláncfű gyökér <i>Dandelion root</i>	0,592	<0,01	<0,01

A teák vizes kivonatanyag tartalma a máriatövis termésben volt a legalacsonyabb (0,073 m/m %) és a gyermekláncfű gyökérben a legmagasabb (0,592 m/m %). A teakeverék mért vizes kivonatanyag tartalma (0,278 m/m %) szintén megegyezet a drogok kivonatanyagaiból számított 0,273 m/m % értékkel. A kivonatanyag tartalom esetén tehát szintén kiszámolható a komplex teakeverék eredménye a drogokból mért értékből.

A flavonoid-tartalom mérése során a Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833 módszer szerint, a teakeverékből készült teában 0,57 mg/100 ml-t detektáltunk, míg a drogokból készült tea mérési eredményei 0,26-2,71 mg/100 ml között voltak. A Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432 módszer alapján, a teakeverékből készített teában jóval magasabb értéket kaptunk (178,4 mg/100 ml), és a drogokból készített teák mérési eredményei is magasabbak voltak, 474,7 és 10 mg/100 ml közötti értékeket mértünk. A gyermekláncfű gyökér mérése során mindkét esetben <0,01 mg/100 ml értéket

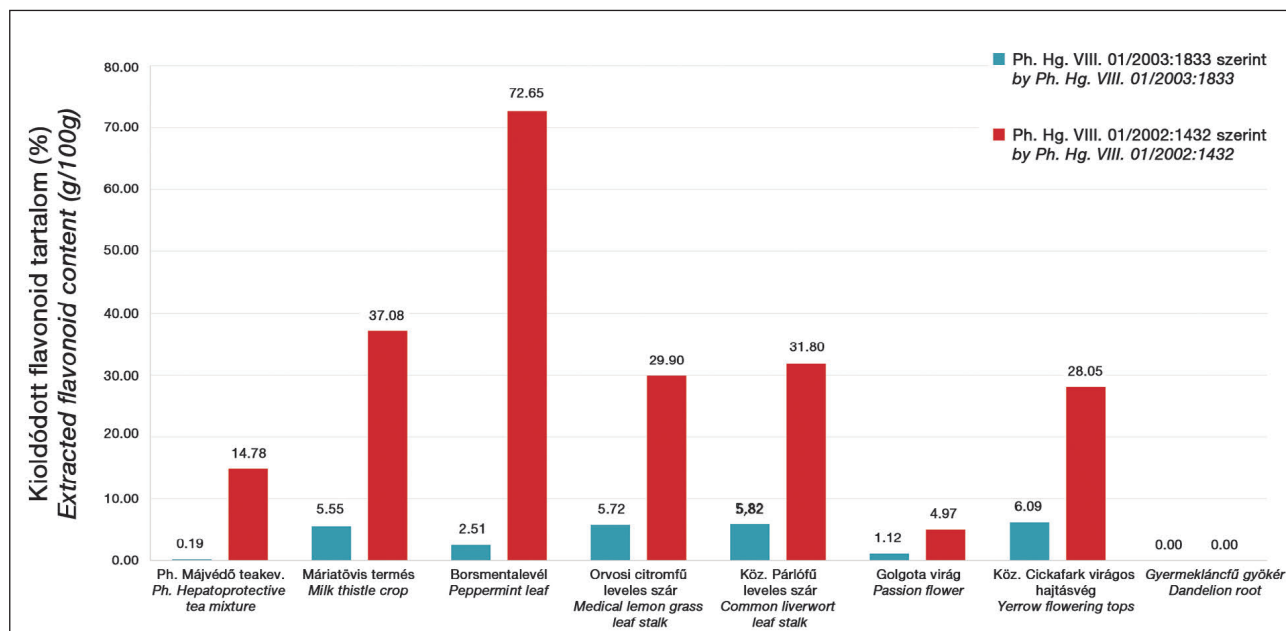
kaptunk, amelyet a magas szaponin-tartalom és alacsony flavonoid-tartalom indokol [9].

A két mérési módszer által kapott eredmények a teák estében jelentősen eltértek, amely bizonyítja, hogy a különböző flavonoid molekulák eltérő mértékben oldódtak ki a teába. A vizes kivonat flavonoid tartalma tehát függ attól, hogy milyen típusú flavonoidokat tartalmaz az adott drog. A flavonoidok fizikai-kémiai tulajdonságuktól függően különböző mértékbe oldódnak ki a teában, tehát a drog flavonoid-tartalma és összetétele nem biztos, hogy a hagyományosan elkészített teában is megtalálható. A kivonatok esetén nem találtunk sztöchiometrikus összefüggést a komplex teakeverék és a drogok flavonoid-tartalma között.

A teában lévő flavonoid mennyiségét az alapanyag drog flavonoid-tartalmára vonatkoztatva meghatároztuk a kioldódási százalékot (2. ábra).



A kép illusztráció / The picture is illustration



2 ábra. A flavonoidok kioldódási százaléka a teakészítés során  
Figure 2 Dissolution percentages of flavonoids during the preparation of tea

A teákból a flavonoidok kioldódása a különböző drogokban jelentősen eltért. A Ph. Hg. VIII. 01/2002:1432 módszer alapján magasabb hatóanyag-tartalmat mértünk, így a kioldódási százalék is magasabb volt. E módszer alapján a kioldódási 0,00-72,65 % között volt, átlaguk 27,40 % . A Ph. Hg. VIII. 01/2003:1833 módszer alapján 0,00-6,09 % közötti értékeket kaptunk, az átlag 3,38 % . A tea főzés során tehát a drogokból a különböző flavonoidok különböző mennyiségben oldódnak ki.

## 5. Következtetések

A gyógynövény drogokban és az abból készült teában a flavonoid-tartalom a különböző módszerekkel mérve eltérő eredményeket adott. Az eltérés oka a mérési módszer specifikuságából adódott, illetve abból, hogy a különböző flavonoid molekulák fizikai-kémiai tulajdonságai jelentősen eltérnek. Ez a különbség megnehezíti a minták összes flavonoid-tartalmának meghatározását. A két módszer során egyes csoportokat mindkét eredmény tartalmazta, míg más specifikus flavonoidok mennyiségét csak az egyik vagy a másik eredménybe tudtuk belemérni. A flavonoid-tartalom mérési módszerének kiválasztásához tehát ismerni kell az adott drog flavonoid összetevőit.

Száraz drog mérési eredményeiből meg tudtuk határozni a komplex keverék tea flavonoid tartalmát. A száraz drogok flavonoid-tartalma azonban nem ad teljes információt a hagyományosan készített teában lévő flavonoid mennyiségéről. Ezt bizonyította, hogy a különböző gyógyszerkönyvi metódusok által kapott eredmények eltértek, illetve, hogy a különböző drogok esetén különböző kioldódási százalékokat mértünk. A hatóanyag tartalom meghatározásához a drogok vizsgálata helyett célszerűbb lenne a vizes kivonatok (a tea készítése során kioldódó) hatóanyag tartalmát vizsgálni. A vizes kivonatok hatóanyagtar-

talma alapján pontosabb képet kapunk a gyógynövény tea összetételéről és ezáltal a hatásáról.

A továbbiakban munkánk folytatása során, céltizan az egyes flavonoid-vegyületek kioldódását fogjuk vizsgálni kapcsolt analitikai módszerekkel (pl. HPLC/MS).

## Irodalom/ Literature:

- [1] Andersen O. M., Markham K. R. (2006): Flavonoids Chemistry, Biochemistry and Applications, CRC Press Taylor & Francis Group.
- [2] Lugasi A. (2000): Az élelmiszer eredetű flavonoidok potenciális egészségvédő hatása Orvosi Hetilap 141. p. 32.
- [3] Bernáth J. (2000): Gyógy- és Arománövények. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- [4] Bors W., at al. (1990): Flavonoids as antioxidants: Determination of radical scavenging efficiencies. Meth. Enzymol. 186. p. 343-355.
- [5] Manach C., at al. (1995): Quercetin metabolites in plasma of rats fed diets containing rutin and quercetin. J. Nutr. 125. p. 1911-1922.
- [6] MAGYAR GYÓGYSZERKÖNYV (2004): VIII. kiadás. 2. Medicina Könyvkiadó, Budapest
- [7] Kéri Á, Szőke É. (2003): Farmakognózia. SOTE Farmakognózia Intézet
- [8] Rehwald A., Meier B., Sticher O. (1994): Qualitative and quantitative reversed-phase high-performance liquid chromatography of flavonoids in *Pasiflora incarnata* L. Pharmaceutica Acta Helveticae 69. p. 153-158
- [9] Schutz K., Carle R., Schieber A. (2006): Taraxacum—A review on its phytochemical and pharmacological profile, Journal of Ethnopharmacology 107. p. 313-323.