

Tiedekunta/Osaato — Fakultet/Sektion		Laitos — Institution	
Matemaattis-luonnontieteellinen		Farmasian laitos	
Tekijä — Författare Mäenpää Timo Pekka			
Työn nimi — Arbetets titel Puna-apilan (<i>Trifolium pratense</i> L.) sisältämien isoflavonien ja pterokarpaanien biologisesta vaihtelusta.			
Oppiaine — Läroämne Farmakognosia			
Työn laji — Arbetets art Kokeellinen pro gradu		Aika — Datum Huhtikuu 1992	Sivumäärä — Sidoantal 77
Tiivistelmä — Referat			
<p>Fabaceae-heimoon kuuluu useita taloudellisesti tärkeitä ravinto-, lääke-, rehu- ja koristekasveja. Useiden tämän heimon kasvien, kuten mm. puna-apilan (<i>Trifolium pratense</i> L.) on todettu sisältävän huomattavia määriä isoflavoneja sekä pterokarpaaneja. Yhdisteiden muodostumisen tiedetään tapahtuvan aryylisiirtymän kautta, mutta biosynteesireitti on osittain vielä tuntematon. Terveissä kasveissa isoflavonit esiintyvät sokereihin sitoutuneina glykosideina ja vapaina yhdisteinä. Kasvin infektoituessa jonkin mikrobin vaikutuksesta isoflavonien määrä lisääntyy ja muodostuu uusia antimikrobisia yhdisteitä, fytoaleksiineja. Pterokarpaanifytoaleksiineilla ja eräillä muilla isoflavoneilla on inhiboiva vaikutus kasvitauteja aiheuttavien bakteerien ja sienten kasvuun. Fytoaleksiinien muodostuminen on osa kasvin luonnollista suojautumista kasvitauteja vastaan. Eräät isoflavonit, kuten daidzeiini, genisteiini ja formononetiini muistuttavat rakenteeltaan luonnollisia estrogeeneja ja niillä on todettu olevan heikko, mutta silti merkittävä estrogeeninen vaikutus. Näiden nk. fytoestrogeenien ja niiden päämetaboliitin, equolin tiedetään aiheuttaneen hedelmättömyyttä lampaille, jotka ovat pitkäaikaisesti laiduntaneet fytoestrogeenipitoista ravintoa.</p> <p>Apilan isoflavoniglykosideja ja -aglykoneja on yleisimmin määritetty korkepainenesetekromatografian avulla. Kaasukromatografisia ja kaasukromatografia-massaspektrometrisia menetelmiä, jotka edellyttävät yhdisteiden derivatisointia ester- tai trimetyylisilylijohdannaisiksi on myös käytetty hyväksi apilan isoflavoneja analysoitaessa.</p> <p>Työssä tutkittiin sekä kvalitatiivisesti että kvantitatiivisesti 11 eri puna-apilakloonin lehti ja juuri- näytteiden etanoliuutosten isoflavoneja ja pterokarpaaneja kasvukauden aikana (kesäkuu-lokakuu). Jokaisesta kloonista oli neljä eri kerrannaista. Kasvinäytteiden isoflavoniglykosidit hydrolysoitiin vetykloridihapon avulla aglykoneiksi, jonka jälkeen yhdisteistä valmistettiin trimetyylisilylijohdannaiset silylointireagenssin avulla.</p> <p>Kaasukromatografiomassaspektrometrian avulla puna-apilanäytteistä identifioitiin seuraavat isoflavonit ja pterokarpaanit TMS-johdannaisinaan; formononetiini, biochaniini-A, daidzeiini, genisteiini, pratenseiini, pseudobaptigeniini, pisatiini, medikarpiini ja maackiaini. Yhdisteiden pitoisuudet laskettiin sisäisen standardin avulla. Kvantitatiivisissa kaasukromatografisissa analyyseissä lehtinäytteiden pääkomponenteiksi todettiin formononetiini (49%) ja biochaniini-A (28%). Juuri- näytteiden pääkomponentti oli maackiaini (45%). Isoflavonien kokonaismäärän toistettavuus GC-analyyseissä oli 16.7%. Puna-apilan isoflavonipitoisuus oli korkeimmillaan kasvukauden alussa, jonka jälkeen se väheni voimakkaasti syksyä kohti. Eri kloonien välillä isoflavonipitoisuuden vaihtelu oli erittäin merkitsevää. Isoflavonipitoisuus on ainakin osittain periytyvä ominaisuus, pitoisuuden korreloidessa positiivisesti sekä kerranteiden välillä että kasvukauden aikana. Tutkimuksen mukaan kaasukromatografisilla analyysimenetelmillä voidaan luotettavasti ja toistettavasti seurata puna-apilakloonien isoflavoniaglykonien vaihtelua, ja menetelmä soveltuu hyvin laajan jalostusmateriaalin seulontaan.</p>			
Avainsanat — Nyckelord <i>Trifolium pratense</i> L., puna-apila, isoflavonit, pterokarpaanit, GC-MS, GC			
Säilytyspaikka — Förvaringställe			
Muita tietoja — Övriga uppgifter			