

## Ispitivanje propolisa metodom tankoslojne kromatografije

Aleksandar KOSTIĆ i H. HAJDARAGIĆ-IBRIČEVIĆ

Stomatološki fakultet, Sarajevo — Dom zdravlja »5. april«, Hadžići

Primljeno za objavljivanje 25. siječnja 1982.

Ključne riječi: propolis, kromatografija

### S a ž e t a k

Solucija etanolnog ekstrakta propolisa miješana je sa prahom cink-oksida, prahom kalcijevog oksida i kalcijevog hlorida, u cilju pravljenja paste za prekrivanje zubne pulpe. Dobijene paste ispitivane su metodom tankoslojne hromatografije, u cilju otkrivanja eventualno novonastalih hemijskih spojeva između solucija propolisa i pomenutih supstanci. Naša ispitivanja su pokazala da propolis ne stupa u hemijsku reakciju sa testiranim supstancama. Izvođene su i brojne oksiaromatske kiseline, koje pored ostalih komponenata čine propolis farmakološki aktivnom supstancom.

### UVOD

Veliki doprinos rasvjetljavanju farmakološkog učinka propolisa dala su istraživanja hemičara, biologa, biohemičara, farmakologa i kliničara raznih specijalnosti. I pored provedenih opsežnih istraživanja o hemijskom sastavu propolisa, on ni do danas nije u potpunosti razjašnjen. Iz propolisa je izolirano 18 zasebnih jedinjenja, na osnovu čega se i objašnjava njegov terapijski učinak. Tako se smatra da flavoni, flavonoidi, oksiaromatske kiseline doprinose da propolis ima antimikrobna i anti-inflamatorna svojstva.

Na osnovu velikog broja eksperimentalnih radova sa propolisom, počinje i njegova klinička primjena. U kliničkoj primjeni se koristi u vidu etanolnog ekstrakta, vodenog ekstrakta, tableta, masti i drugim oblicima.

Scheller je dobio dobre rezultate reakcije pulpe na aplicirani etanolni ekstrakt propolisa. Upotreba ove solucije doprinosi brzom epitelizaciji erozija cerviksa uterusa.

Koristeći saznanje o pozitivnom djelovanju propolisa na oštećeno ili zapaljeno tkivo, pokušali smo napraviti pastu sa propolisom, kako bi iskoristili ta njegova pozitivna svojstva, prekrivajući oštećenu pulpu.

Cilj ovoga rada je da se ustanovi metodom tankoslojne hromatografije, da li etanolni rastvor propolisa stupa u hemijsku reakciju, ako se pomeša sa prahom kalcijevog oksida ili kalcijevog hlorida ili cink oksida.

### MATERIJAL I METODE

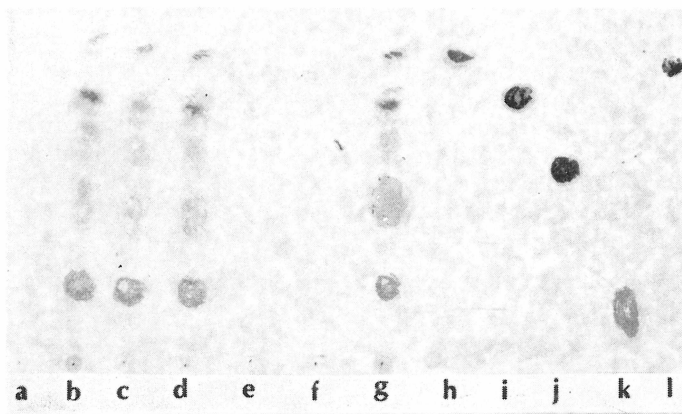
Primena savremenih hromatografskih metoda kao analitičkih metoda, daje velike mogućnosti identifikacija i najminimalnijih količina supstanci u jednoj smješi. Koristeći ovu mogućnost tankoslojne hromatografije preko silika-gel ploče, mogli smo izvršiti naše ispitivanje koristeći ovaj metod.

Ploča za hromatografiju je staklena, na nju je nanesen silika-gel u tačno određenoj debljinskom sloju i pripremljena je tačno određenim postupkom. Napravljena pasta smješe (etanolni ekstrakt propolisa pomiješan sa cink oksid prahom) razblaži se do tečnog oblika, jer se jedino u tečnom obliku može nanositi na adsorbens.

Na pripremljenu ploču kapaju se testirane supstance u tačno određenim količinama. Zatim se tako nakapana ploča stavlja u posudu za hromatografiranje i čeka da rastvarač stigne do željene visine. Kad rastvarač dostigne željenu visinu, ploča se vadi i stavlja na sušenje i potom se čitaju rezultati. Identifikacija se sprovodi na osnovu karakterističnih boja, koje nastaju testiranjem sa reagensom. Identifikacija se može izvesti i na osnovu Rf vrijednosti.

### REZULTATI

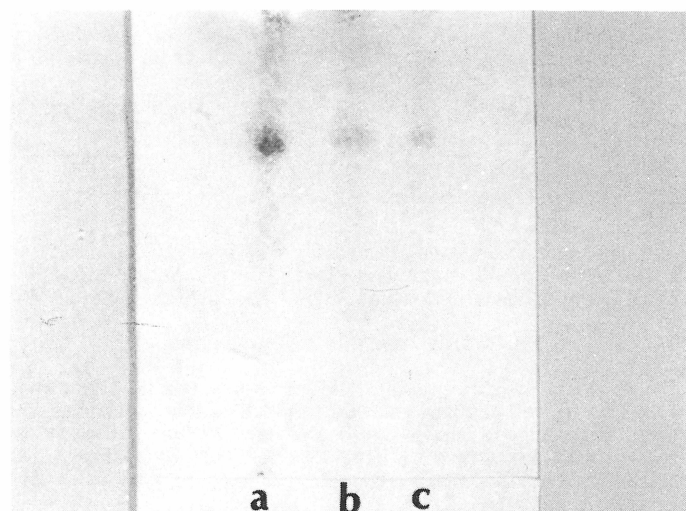
Rezultati istraživanja pokazuju da propolis ne stupa ni u kakvu hemijsku reakciju sa CaO, ZnO i sa CaCl, što se može videti na sl. 1.



Sl. 1. Hromatografija propolisa a) čisti etanol, b) etanolni ekstrakt propolisa, c) razblaženi propolisni rastvor, d) propolis sa kalcijevim oksidom, e) CaO, f) CaCl, g) propolis pomiješan sa CaO, h) vanilinska kiselina, i) ferule, j) kafena kiselina, k) benzojeva kiselina i l) pe-kumarinska kiselina.

Na mjestu slova a, nakapan je čisti etanol, koji ostaje na startu, ne putuje. Pod slovom b, nakapan je etanolni ekstrakt propolisa, koji je otputovao od starta do fronta razvijajući jasno vidljiv spektar mrlja svojih sastavnih komponenata oksiaromatskih kiselina. Oksiaromatske kiseline su nakapavane, da bi mogle biti upoređene sa onima, koje se izdvajaju iz propolisa, po sledećem redosledu: benzoeva kiselina (K), kafena kiselina (J), pe-kumarinska (L), ferula (I) i vanilinska kiselina (H).

Na mjestu slova c, nakapana je razblažena propolisna otopina i slika je identična onoj pod slovom b, gde je nakapan razblaženi etanolni ekstrakt. Na mjestu slova d, nakapan je spoj propolisa sa kalcijevim hloridom. Slika je identična prethodnim dvema pod slovima b i c. Propolis i iz ove smeše putuje od starta do fronta, razvijajući isti spektar komponenata kao i kada se sam nakapa. Na mjestu slova e nakapan je sam CaO, koji ostaje na startu i ne vidi se nikakvo putovanje kroz podlogu. Na mjestu slova f dodat je CaCl, koji takode ostaje na startu i ne putuje kroz podlogu. Sledeću kolonu mrlja daje nakapani propolis pomešan sa CaO. Slika je identična kao i kolone pod slovima b, c i d.



Sl. 2. Hromatografija etanolnog rastvora propolisa pomiješanog sa ZnO prahom. Kao standardni su korišćeni a) vanilinska kiselina, b) ferule i c) kafena kiselina.

Na sl. 2, predstavljena je hromatografija etanolnog rastvora propolisa pomešanog sa ZnO prahom. I ovde su kao standardi korištene: vanilinska kiselina, ferula i kafena kiselina. Primetno je da ZnO ne stupa u hemijsku reakciju sa propolisom. Kada bi propolis stupao u hemijsku reakciju s pomenutim supstancama, na silika-gel ploči pojavile bi se nove mrlje, a izostalo bi pojavljivanje karakterističnih mrlja sastavnih komponenata propolisa, u ovom slučaju oksikiselina.

## DISKUSIJA

Do sada opisani preparati propolisa mogli bi biti nadopunjeni sa ovim istraživanjem. Ovako pripremljena pasta u kojoj ne dolazi ni do kakvih kemijskih izmjena propolisa, mogla bi biti jako blagotvorna za oštećenu zubnu pulpu. Primenjena pasta bi omogućila djelovanje propolisa na pulpu i istovremeno bi služila kao zavoj koji štiti pulpu od nepoželjnih efekata materijala za podlaganje kaviteta. Oksiaromatske kiseline iz propolisa, koje je opisao u svojim radovima P o p r a v k a, nađene su i u našem propolisu.

## ZAKLJUČAK

Na osnovu iznetih rezultata, mogu se izvesti slijedeći zaključci:

1. propolis pomješan sa CaO ili ZnO ili CaCl, ne stupa u hemisku reakciju
2. propolis apliciran u vidu neke od ovih pasta ne bi izgubio od svog farmakološkog učinka.

## LITERATURA

1. SCHNEIDEWIND, E. M. i sur.: Identification of an Antimicrobially Active Constituent Isolated from Propolis, *Pharmazie*, 34:103, 1979
2. VANHAELEN, M. i sur.: Propolis Origin, Microscopical Investigation, Chemical Constituents and Therapeutical Activity, *J. Pharm. Belg.*, 34:253, 1979

## Summary

## A STUDY ON PROPOLIS BY THIN-LAYER CHROMATOGRAPHIC METHOD

Key words: propolis, chromatography

The solution of ethanol propolis extract was mixed with zinc oxide dust, calcium oxide dust and calcium chloride to produce the paste for covering the dental pulp. The obtained pastes were analyzed by the method of thin-layer chromatography to discover eventual new chemical compounds between the propolis solution and the mentioned substances.

The analysis showed no chemical reactions between propolis and tested substances. A number of oxiaromatic acids, which in addition to other components make propolis a pharmacologically active substance, were also produced.