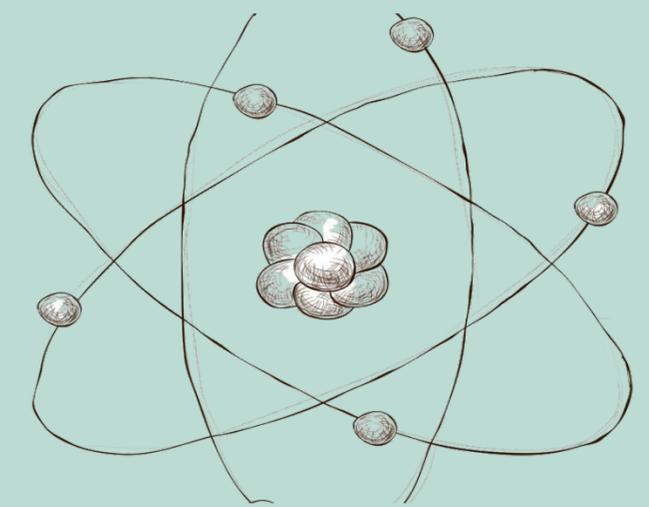
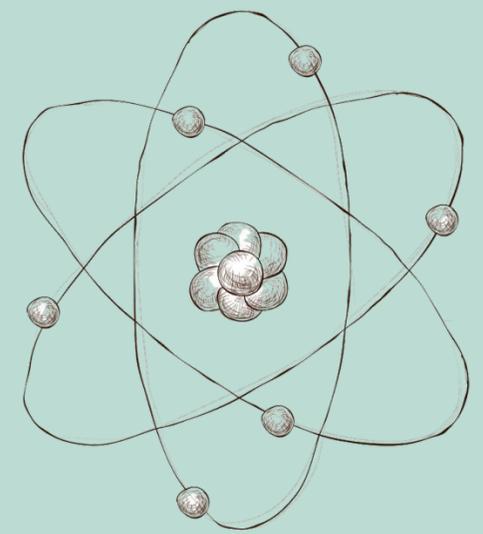


# ФЛАВОНОИДЫ



PhD, асс. Профессор Тургумбаева  
А.А.

# Содержание



- **Введение**



- **Выделение**



- **Классификация**

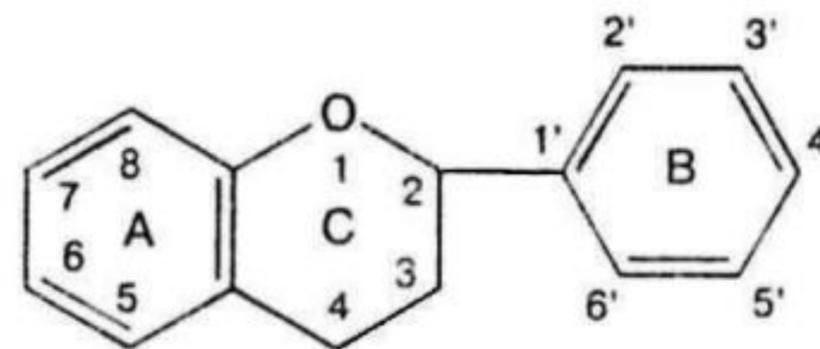


- **Качественное и  
количественное  
определение**

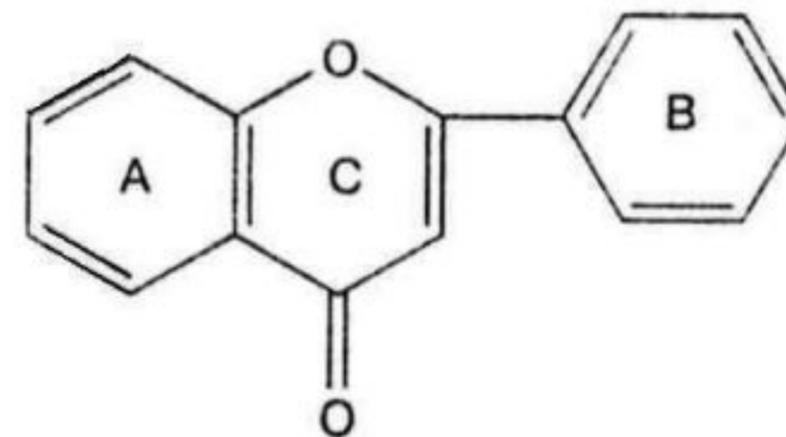
# Флавоноиды

## это?

Флавоноиды - многочисленная группа природных биологически активных соединений, в основе структуры которых лежит скелет, состоящий из двух бензольных колец (А и В), соединенных между собой трехуглеродной цепочкой (пропановый мостик) – С6 -С3 -С6 .



Флаван



Флаванон

# Краткая история

Изучение флавоноидов относится к началу XIX в., когда в 1814 г.

Шевроле выделил из коры дуба кристаллическое вещество, названное кверцитрином. Спустя 40 лет Риганд установил гликозидный характер

этого вещества и агликон назвал кверцетином. Поскольку первые

выделенные из растений вещества имели желтую окраску, они

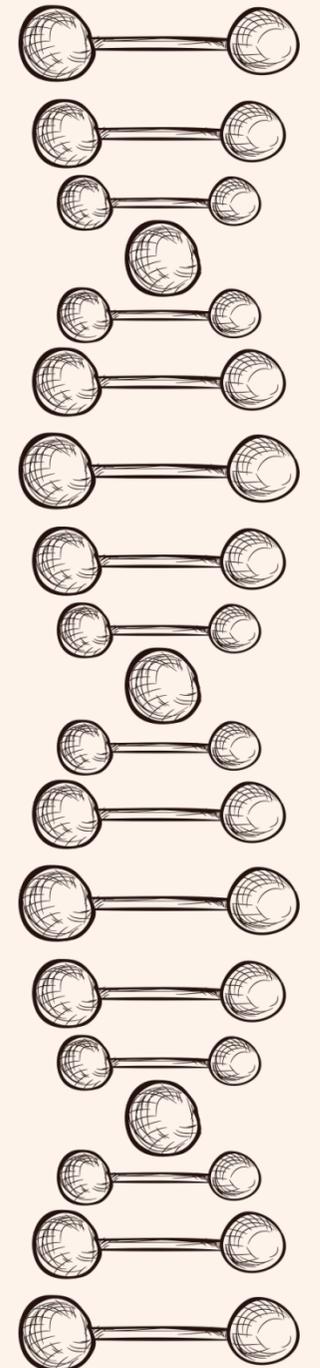
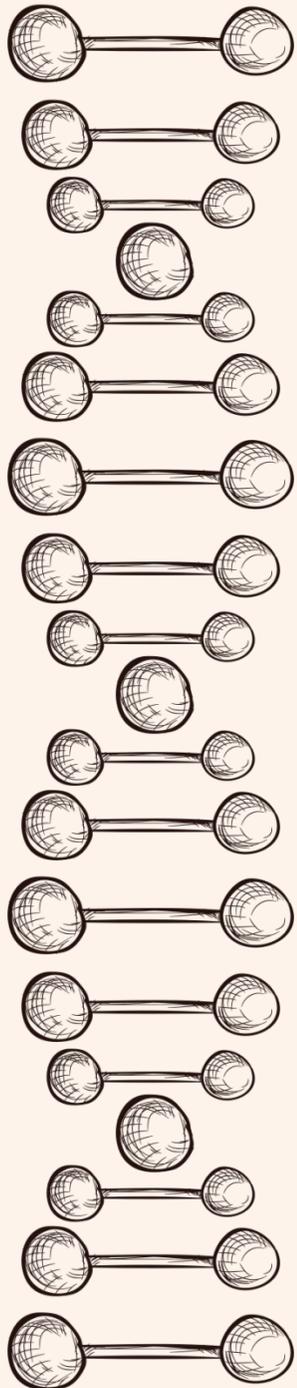
получили название «флавоноиды» (от лат. «flavus» – желтый). В 1903

г. Валяшко установил строение рутина.

Большую работу по изучению антоцианов провел Вильштеттер.

Исследованиями катехинов занимались А.Л. Курсанов, М.Н. Запрометов,

К. Фрейденберг и др.

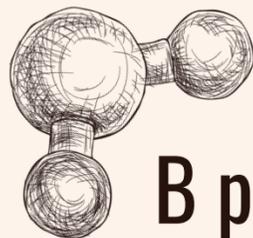


# Распространение

Особенно богаты флавоноидами цветковые растения, относящиеся к семействам:

- розоцветных (различные виды боярышника, арония (рябина) черноплодная),
  - бобовых (софора японская, стальник полевой, виды солодки),
  - гречишных (горцы перечный и почечуйный, спорыш птичий, гречиха посевная),
  - сложноцветных (бессмертник песчаный, сушеница топяная, пижма обыкновенная),
  - губоцветных (пустырники сердечный и пятилопастный) и др.
- споровые растения (мхи, папоротники, хвощи), реже встречаются в водорослях, грибах, а также в микроорганизмах и насекомых.





В растениях флавоноиды присутствуют в растворенном виде в клеточном соке, в основном в виде гликозидов, которые лучше растворяются в воде. Под влиянием ферментов гликозиды расщепляются на сахара и агликоны. В качестве сахарных остатков чаще встречаются: из гексоз - D-глюкоза, D-галактоза; из пентоз - D-ксилоза, L-арабиноза; из метилированных пентоз – L-рамноза; из уроновых кислот - D-глюкуроновая кислота. Основную группу составляют O-гликозиды; в меньшей степени распространены C-гликозиды. O-гликозиды, в зависимости от числа остатков сахара, положения и порядка их присоединения, делятся на монозиды, биозиды, триозиды и дигликозиды. В дигликозидах моносахара присоединяются в двух разных положениях флавоноидного ядра.

# Факторы влияющие на их накопление в ЛРС

**01**

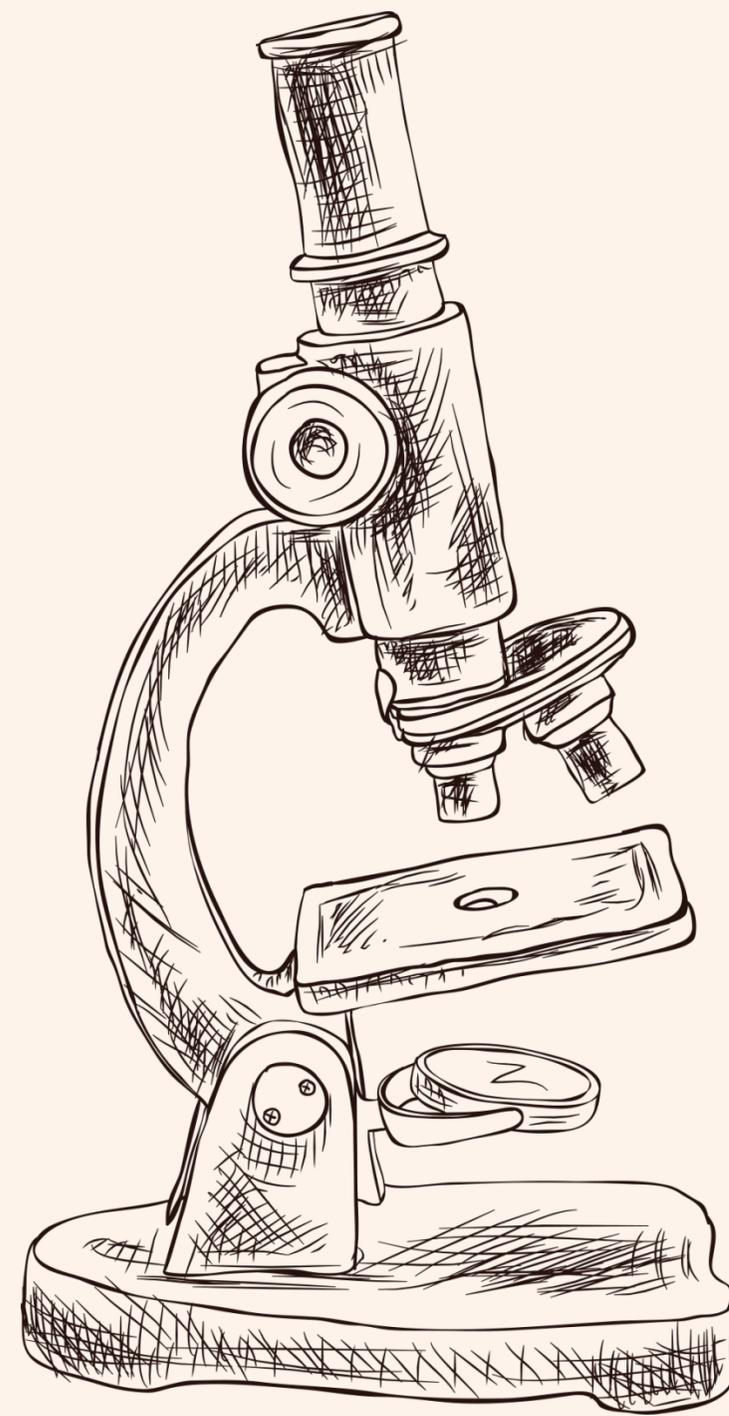
Возраст и фаза развития растений

**02**

Факторы окружающей среды (свет, почва, влага, высота над уровнем моря и др.) оказывают также значительное влияние на накопление флавоноидов

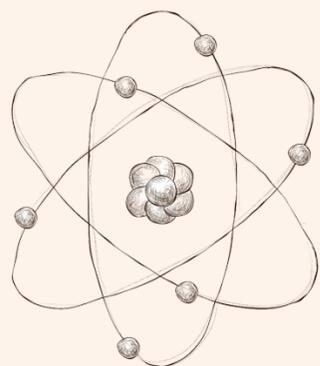
**03**

В южных и высокогорных районах, под влиянием света, и на почвах, богатых микроэлементами, содержание флавоноидов увеличивается

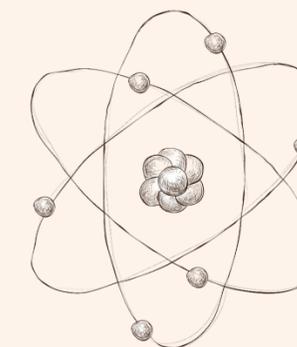


# Биологическая роль

1. Флавоноиды играют роль фильтров в растениях, защищая ткани от вредного воздействия УФ-лучей.
2. Согласно гипотезе русского биохимика В.И. Палладина именно флавоноиды являются переносчиками водорода в дыхательной цепи митохондрий растительной клетки.
3. Флавоноиды участвуют в процессе фотосинтеза и окислительного фосфорилирования. Совместно с аскорбиновой кислотой участвуют в ферментативных процессах окисления и восстановления, способствуют выработке иммунитета.
4. Являясь растительными пигментами, флавоноиды (в частности, антоцианы) придают яркую окраску цветкам и плодам, чем привлекают насекомых-опылителей, птиц и животных, и тем самым способствуют опылению и распространению растений.



# Классификация



Современная классификация флавоноидов основана на:

- положению бокового фенильного радикала;
- степени окисленности пропанового фрагмента;
- величине, наличии или отсутствии гетероцикла.

В зависимости от места присоединения бокового фенильного радикала флавоноиды делят на 4 группы:

- Собственно флавоноиды (эффлавоноиды). Боковой фенильный радикал присоединяется в положении 2. Наиболее многочисленная группа (известно около 400 агликонов).

- Изофлавоноиды. Боковой фенильный радикал присоединяется в положении 3. Известно около 60 соединений, характерных главным образом для представителей семейства бобовых.

- Неофлавоноиды. Боковой фенильный радикал присоединяется в положении 4. Малоизученная группа флавоноидов, обнаружены только в семействах зверобойных, мареновых и бобовых.

- Другие классы флавоноидов: ксантоны, флаволигнаны, кумарофлавоноиды, бифлавоноиды. Данные соединения широко изучаются и обладают высокой

биологической активностью

## **Заготовка ЛРС содержащего флавоноиды**

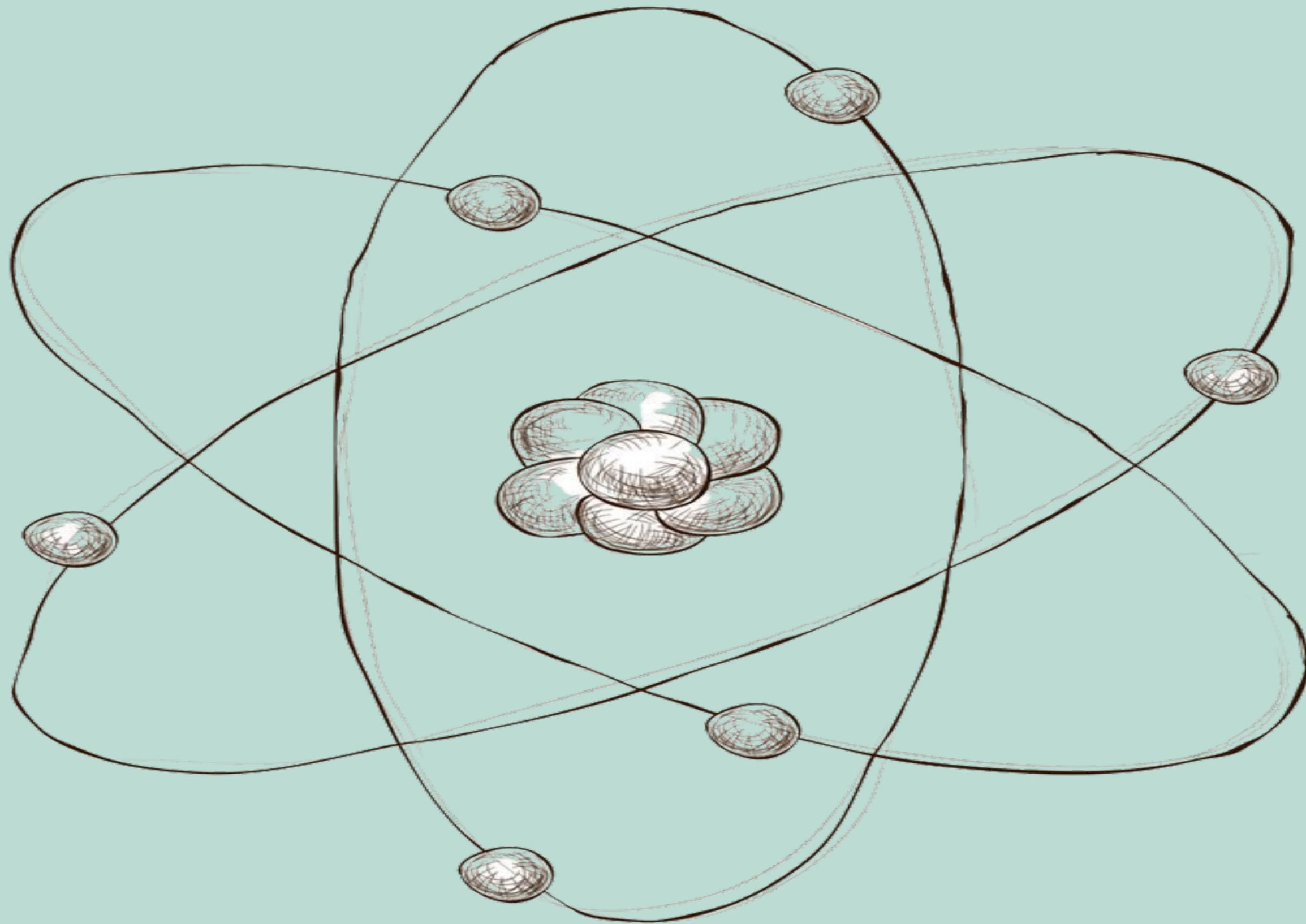
- Надземные части заготавливают в фазу бутонизации или начала цветения. Подземные части — в конце вегетации.

### **Сушка:**

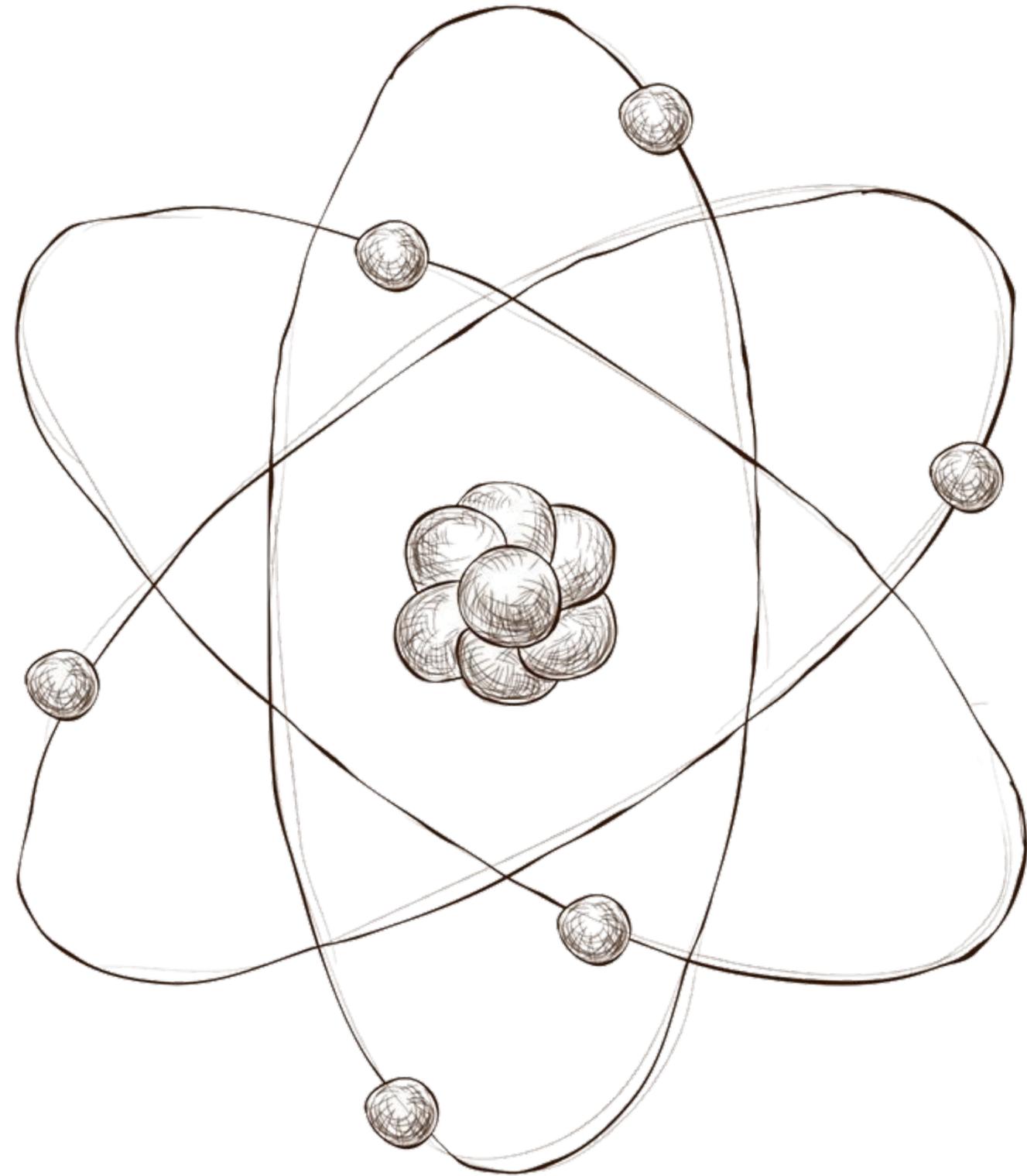
- Сырье необходимо сушить вскоре после сбора. Флавоноидные гликозиды под влиянием ферментов в присутствии влаги легко гидролизуются на сахар и агликон, а свободные агликоны могут окисляться. 1
- Сушить сырьё следует в тени или в сушилках при температуре 50–60 °С (не выше 90 °С). Медленная сушка, особенно на солнце, ведёт к разрушению флавоноидов. 1

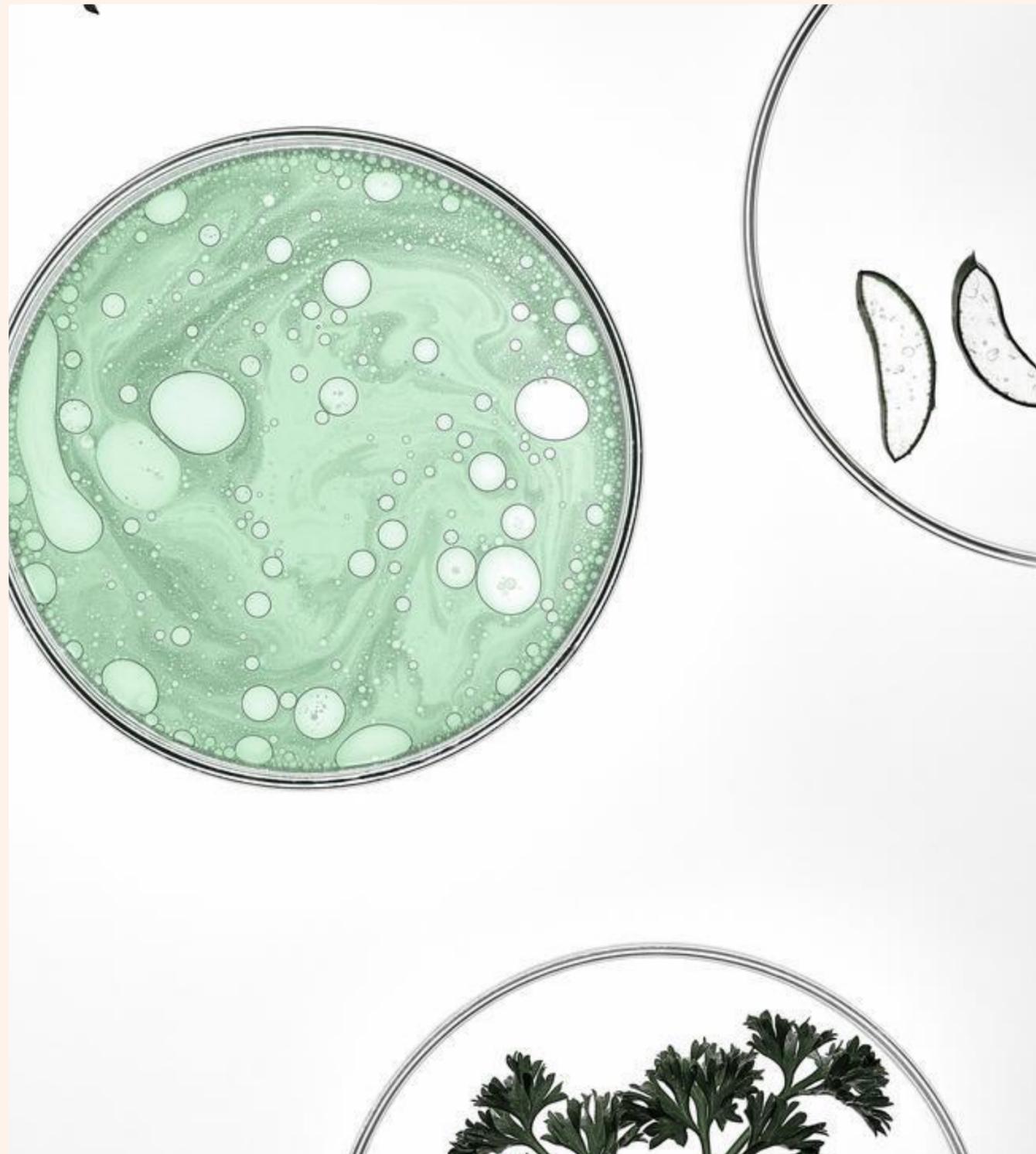
### **Хранение:**

- Сырьё необходимо хранить в упакованном виде в сухом проветриваемом помещении, без доступа прямых солнечных лучей.



<i>Класс флавоноидов</i>	<i>Основные представители</i>
Флавонолы	Кверцетин, кэмпферол, мирицетин, фицетин
Флаваны (флаван-3-олы)	Катехины: катехин, галлокатехин, эпигаллокатехин, галлокатехин галлат, эпигаллокатехин галлат, эпикатехин, эпикатехин галлат
Антоцианы	Пеларгонидин, цианидин, пеонидин, дельфинидин, петунидин, мальвидин
Проантоцианидины	Димеры катехинов
Флавононы	Гесперидин, нарингин, эриодиктиол и другие
Флавоны	Лютеолин, апигенин и другие
Флавонолы	Таксифолин





## **Физико-химические свойства**

В чистом виде флавоноиды представляют собой кристаллические соединения с определенной температурой плавления, имеющие светло-желтую, желтую или желтовато-зеленую (флавоны, флавонолы), оранжевую или оранжево-красную (ауроны), красную или синюю окраску (антоцианы). Довольно часто встречаются и бесцветные флавоноиды — изофлавоны, катехины, флаваноны, флаванололы.

Агликоны флавоноидов, как правило, растворяются в этиловом эфире, ацетоне, спиртах и практически нерастворимы в воде. Многие метоксилированные флавоноиды (например, пиностробин) растворяются в хлороформе. Гликозиды флавоноидов, содержащие в молекуле 1-2 сахара (моноциты, биоциды, гликозиды), как правило, хорошо растворимы в этиловом и метиловом спиртах, водных спиртах (особенно в 70% этиловом спирте), n-бутаноле, частично — в ацетоне, этилацетате, но не растворяются в хлороформе и диэтиловом эфире.

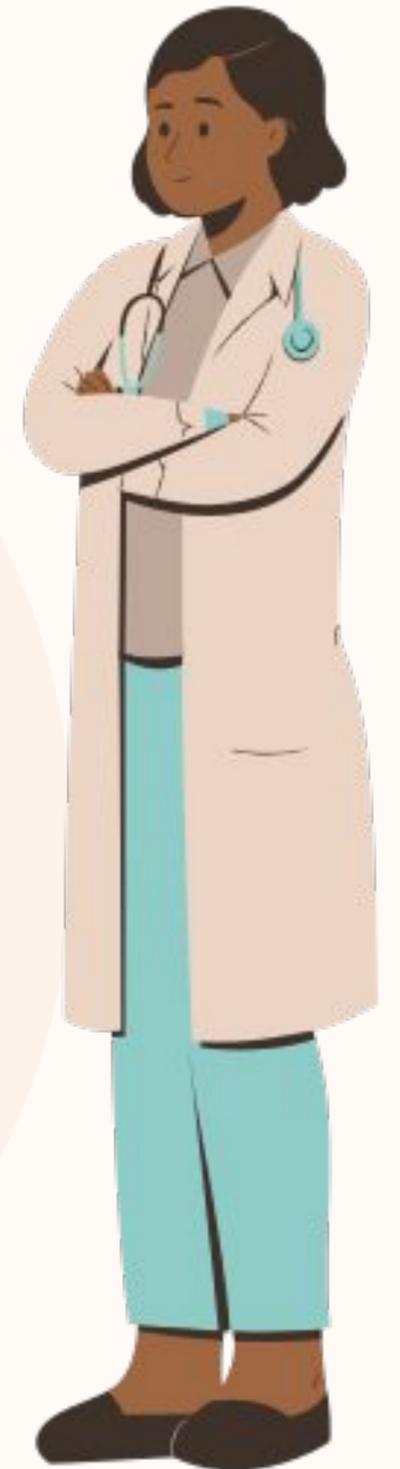
Флавоноидные гликозиды обладают оптической активностью, что используется для определения показателей качества некоторых стандартных образцов (датисцин, рутин, гиперозид и др.).

Агликоны флавоноидов, как правило, растворяются в этиловом эфире, ацетоне, спиртах и практически нерастворимы в воде. Многие метоксилированные флавоноиды (например, пиностробин) растворяются в хлороформе. Гликозиды флавоноидов, содержащие в молекуле 1-2 сахара (моноциты, биоциды, гликозиды), как правило, хорошо растворимы в этиловом и метиловом спиртах, водных спиртах (особенно в 70% этиловом спирте), n-бутаноле, частично — в ацетоне, этилацетате, но не растворяются в хлороформе и диэтиловом эфире.

Флавоноидные гликозиды обладают оптической активностью, что используется для определения показателей качества некоторых стандартных образцов (датисцин, рутин, гиперозид и др.).

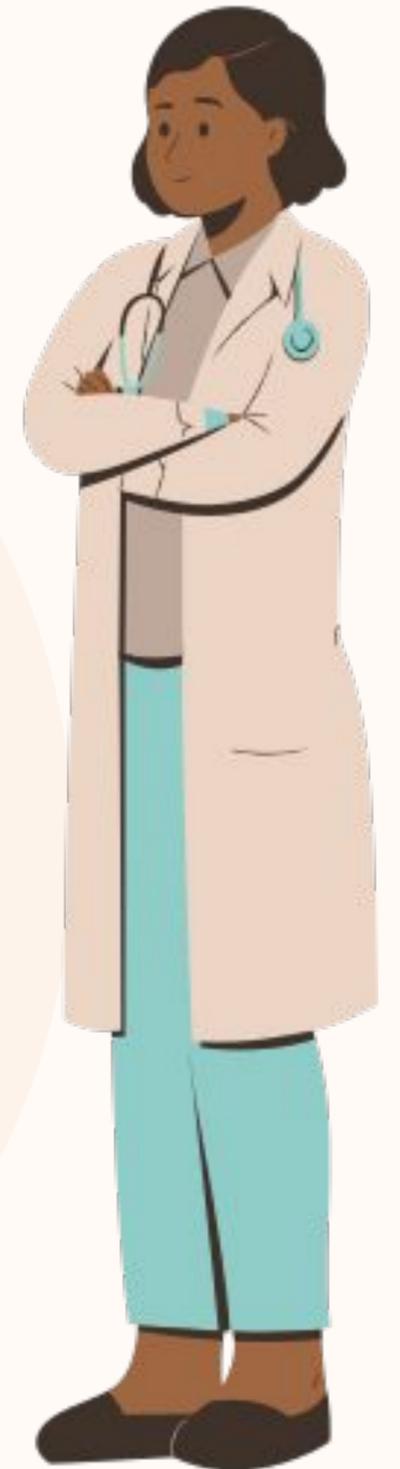
# Выделение флавоноидов

Для выделения флавоноидов проводят экстракцию растительного материала, как правило, этиловым, метиловым спиртом или водными спиртами (чаще всего, это 70% спирт как один из оптимальных экстрагентов). Спиртовое или водно спиртовое извлечение упаривают, к остатку добавляют горячую воду и после охлаждения удаляют неполярные соединения (хлорофилл, каротиноиды, эфирное масло, смолы, жиры, стерины и другие липофильные вещества) из водной фазы с помощью хлороформа или четыреххлористого углерода. Флавоноиды из водной фазы извлекают последовательно этиловым эфиром (агликоны), этилацетатом (в основном монозиды), н-бутанолом (биозиды, дигликозиды). При этом в водной фазе остаются более полярные флавоноиды (триозиды) и другие гидрофильные

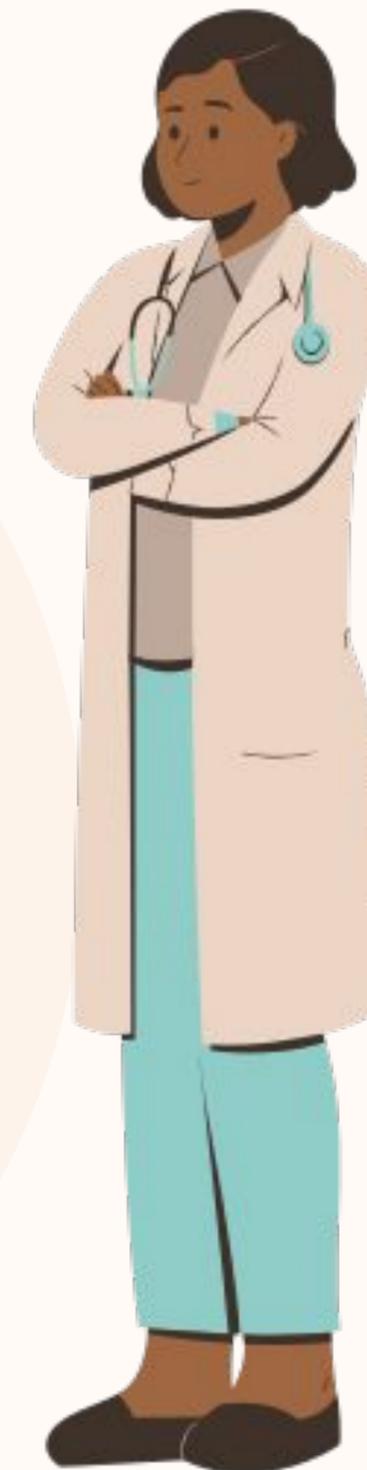


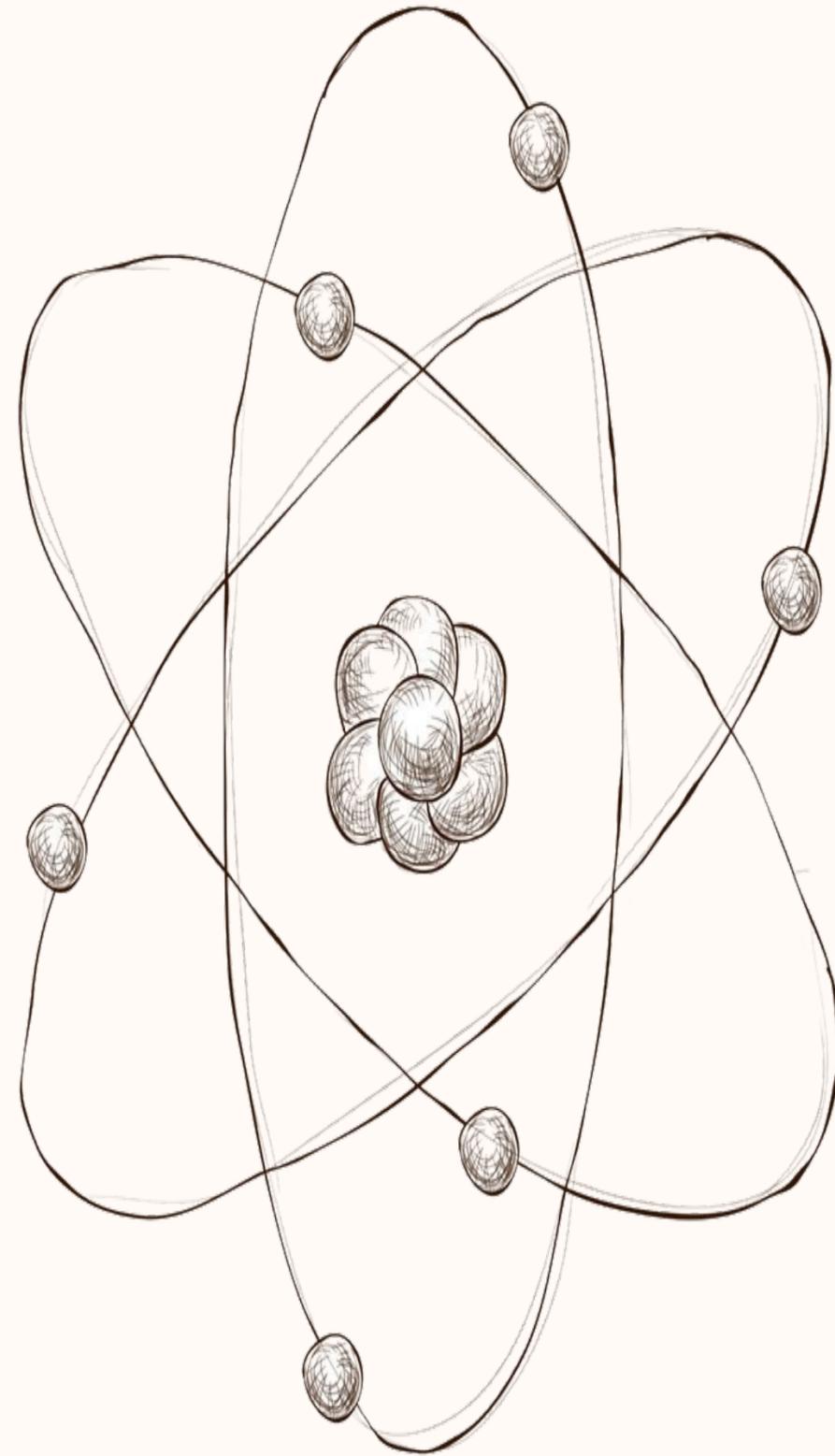
# Выделение флавоноидов

**Для разделения суммы флавоноидов обычно используют колоночную хроматографию на силикагеле, полиамидном сорбенте, сефадексе LH-20, целлюлозе. Важно подчеркнуть, что для разделения и очистки флавоноидов нельзя использовать оксид алюминия, с которым флавоноидные соединения образуют так называемые лаки — продукты необратимой реакции.**



**Для выделения индивидуальных флавоноидов используют рехроматографию, перекристаллизацию или специфические методы. Так, для выделения рутина из бутонов софоры японской экстракцию проводят горячей водой. При охлаждении водных извлечений рутин выпадает в осадок, его отфильтровывают и очищают перекристаллизацией из спирта. Получение датисцина из листьев датиски коноплевой осуществляют с использованием метанола с последующим упариванием до кубового остатка и обработкой последнего хлороформом.**

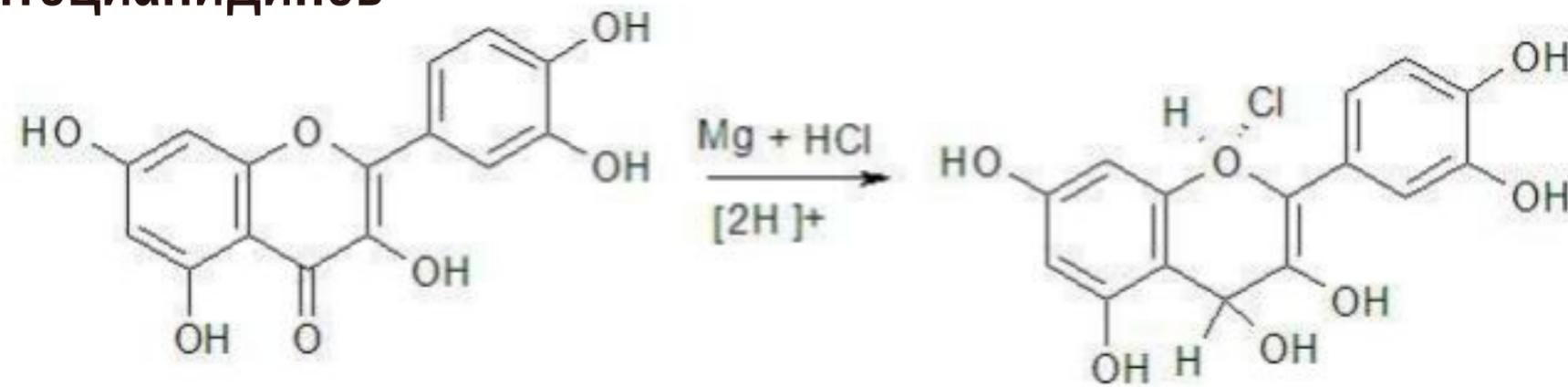




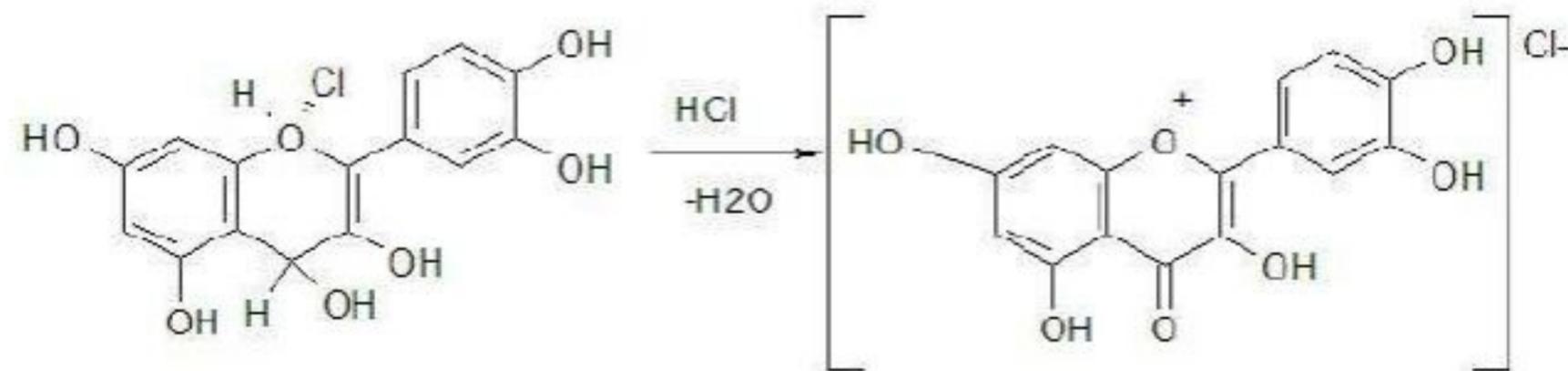


**КАЧЕСТВЕННЫЕ И  
КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ**

Цианидиновая проба или проба Шинода (Chinoda). Флавонолы, флаваноны и флавоны при восстановлении магнием в присутствии соляной кислоты (конц.) дают красное или оранжевое окрашивание, обусловленное образованием антоцианидинов:



*Кверцетин*



*Цианидин хлорид*

2. Цианидиновая проба по Брианту (продолжение первой реакции). При последующем разбавлении содержимого пробирки водой и добавлении октилового или бутилового спиртов малиновая окраска в случае агликоновой природы флавоноидов переходит в органическую (верхняя фаза), а при исследовании гликозидов флавоноидов остается в водной фазе (флавилиевые пигменты гликозидов растворяются в воде).

**3 Реакция с алюминием хлоридом. Флавоноиды с 1 - 2% спиртовым раствором алюминия хлорида образуют окрашенные соединения (желтая, зеленая окраска), имеющие желто-зеленую флуоресценцию при длине волны 366 нм (батохромный сдвиг). Следует отметить, что в образовании батохромного комплекса прежде всего принимают участие свободные 3- и 5-ОН - группы флавоноидов. Данная реакция довольно специфична и часто используется в методиках количественного определения.**

**4. Реакция с хлористым цирконием ( $ZnOCl_2$ ) (Реакция Хензеля-Хьерхаммера). В результате этой реакции появляется ярко-желтая окраска и желто-зеленая флуоресценция. По аналогии с реакцией Вильсона, при добавлении к содержимому пробирки нескольких кристаллов лимонной кислоты желтая окраска исчезает, если в качестве продукта реакции выступал неустойчивый шестичленный комплекс.**

**5. Реакция с треххлорным железом. Флавоноиды с 1% спиртовым раствором  $FeCl_3$  дают коричневую (3-ОН-группа) или зеленую (5-ОН-группа) или синюю (3 4 5 ОН-группы) окраски.**

## **Спектрофотометрия**

**Принцип:** Флавоноиды при взаимодействии с алюминиевым хлоридом ( $\text{AlCl}_3$ ) образуют окрашенные комплексы, которые поглощают свет при определённой длине волны (обычно 415 нм).

### **Процедура:**

- Экстракт флавоноидов смешивают с раствором  $\text{AlCl}_3$ .
- После образования комплекса измеряют поглощение при 415 нм с использованием спектрофотометра.
- Построение калибровочной кривой с использованием стандартного раствора кверцетина или рутина позволяет установить количественное содержание флавоноидов в образце.

**Результат:** Значение оптической плотности (A) сопоставляется с калибровочной кривой, позволяя вычислить концентрацию флавоноидов в мг/г сухого вещества образца.

## **Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ)**

**Принцип: Разделение флавоноидов в колонке ВЭЖХ, с последующим количественным определением каждого соединения на основании их удерживающих времён и поглощения при заданных длинах волн.**

### **Процедура:**

- Образец вводится в ВЭЖХ-систему, где флавоноиды разделяются в колонке.**
- Детектор фиксирует пик каждого флавоноида при специфических длинах волн (например, 254, 280 или 360 нм).**
- Концентрацию каждого флавоноида можно определить на основании пиковых значений, сопоставленных с калибровочными стандартами, такими как кверцетин или апигенин.**

**Результат: Данные о площади пиков позволяют определить концентрацию флавоноидов в мг/мл или мкг/мл. Этот метод обеспечивает высокую точность, позволяя анализировать сложные смеси.**

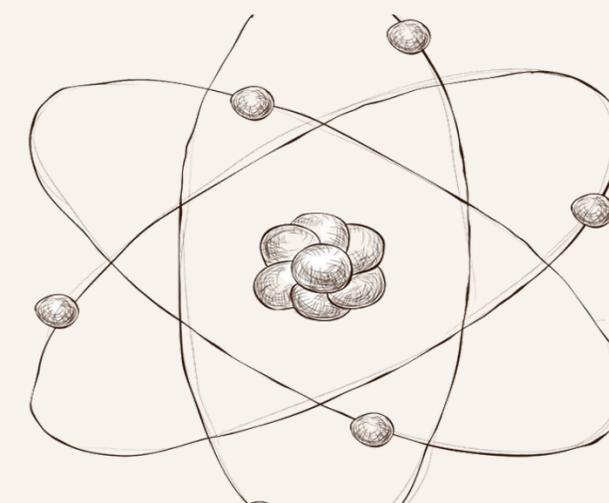
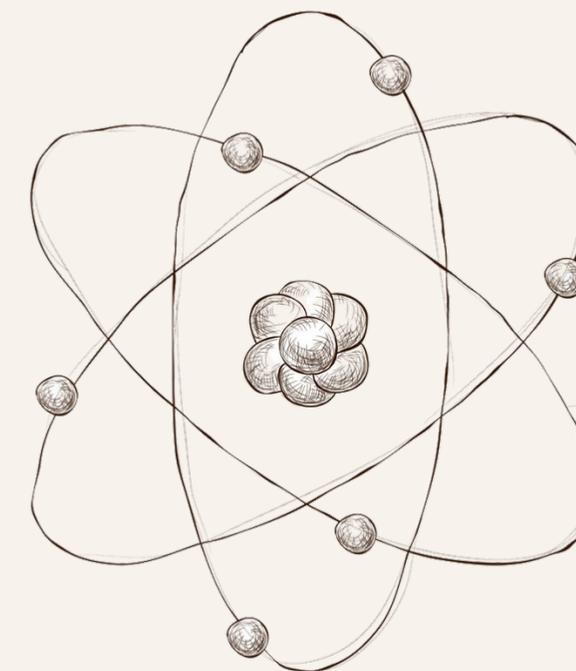
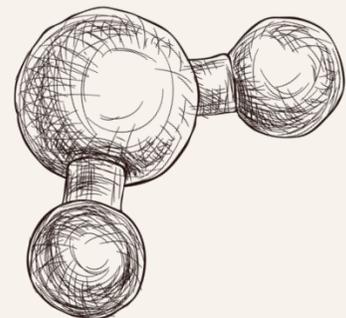
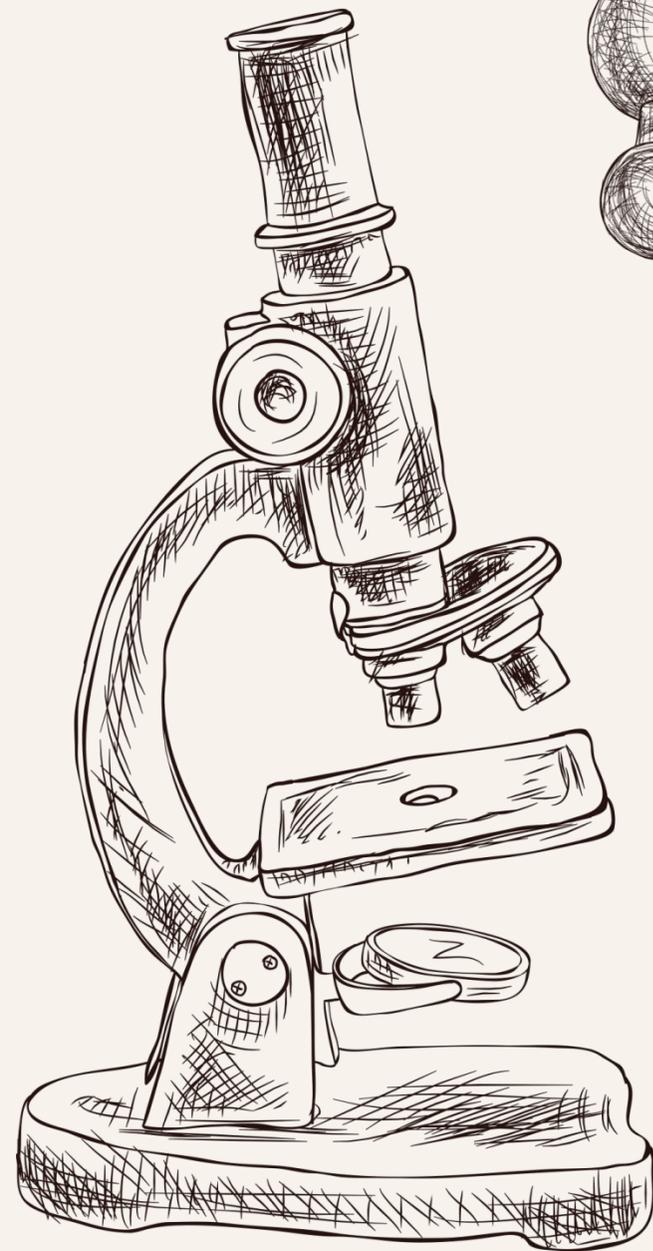
## **Колориметрия с алюминиевым хлоридом**

**Принцип:** Алюминиевый хлорид образует комплексы с флавоноидами, что вызывает окрашивание, измеряемое с использованием колориметра.

### **Процедура:**

- К раствору флавоноидов добавляют  $AlCl_3$  и другие реагенты для усиления реакции.
- Поглощение полученной окраски измеряется на колориметре при определённой длине волны (обычно 420–430 нм).
- Содержание флавоноидов рассчитывается на основе калибровочной кривой.

**Результат:** Значение поглощения указывает на концентрацию флавоноидов в образце, особенно эффективно для определения общего содержания флавоноидов в растительных экстрактах.



**Спасибо за  
внимание!**