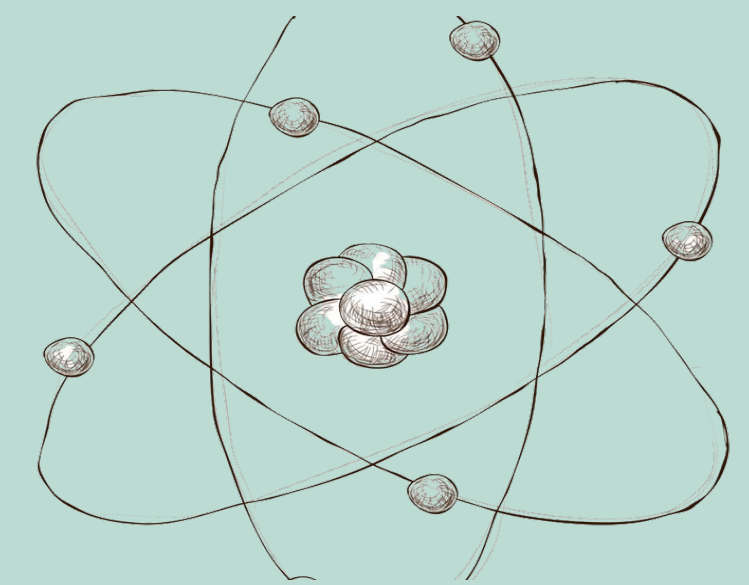
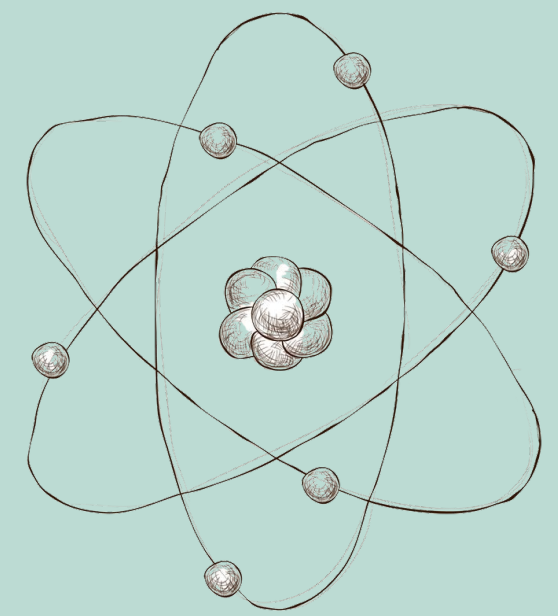


ФЛАВОНОИДЫ



PhD, асс. Профессор Тургумбаева
А.А.

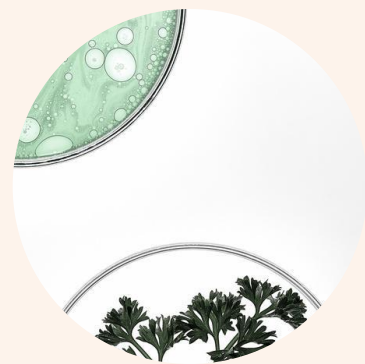
Содержание



- **Введение**



- **Выделение**



- **Классификация**

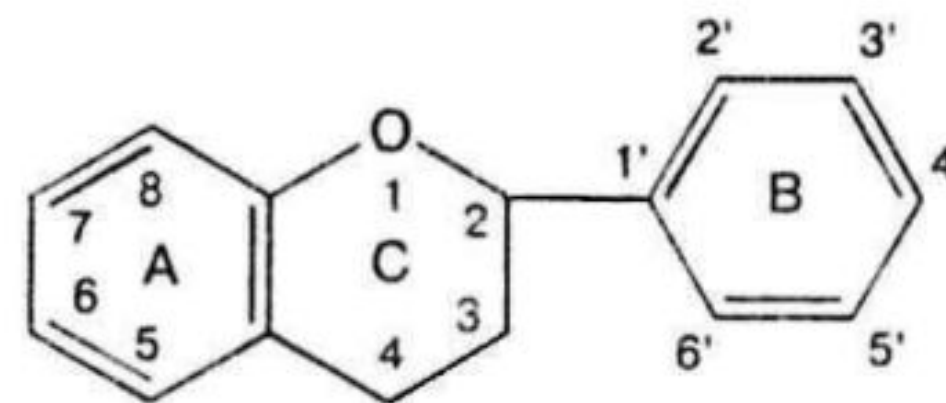


- **Качественное и
количественное
определение**

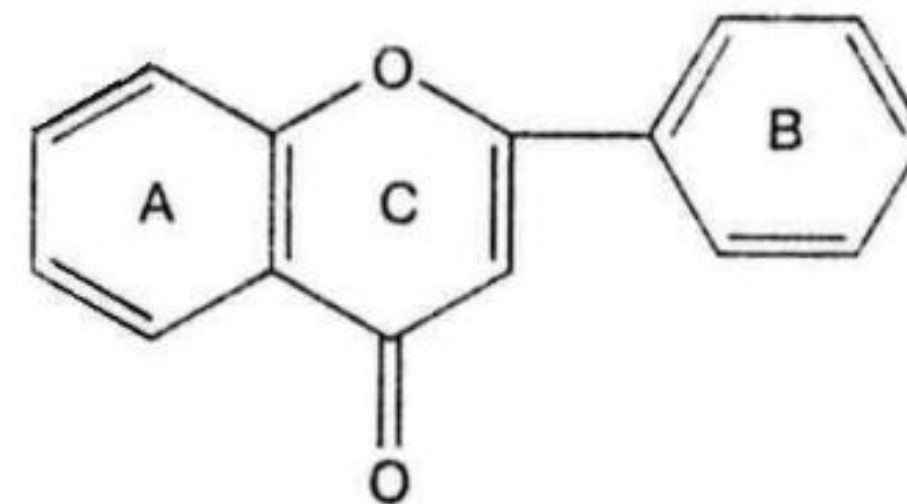
Флавоноиды

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



Флафон

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

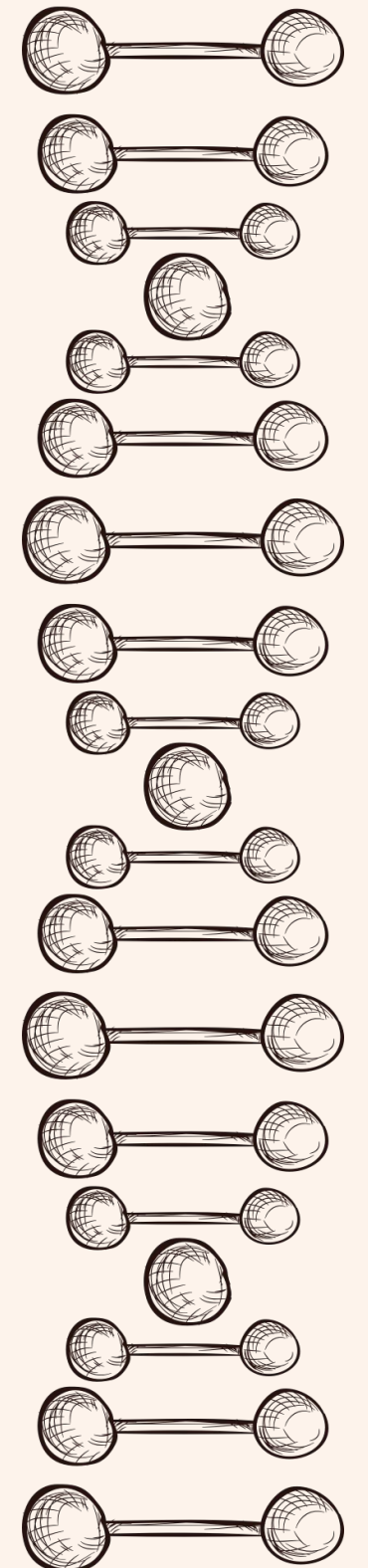
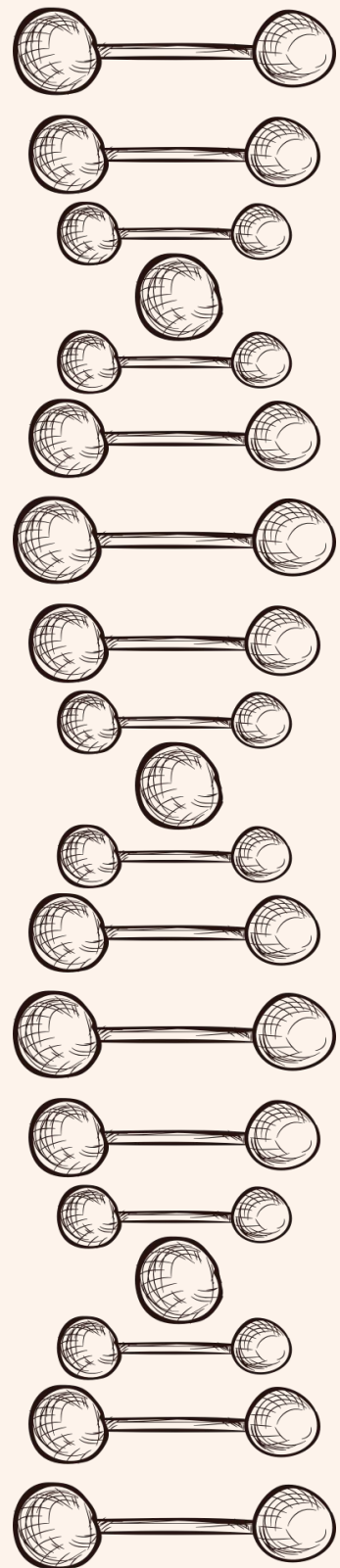
получили название «флавоноиды» (от лат. «flavus» – желтый). В 1903

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.

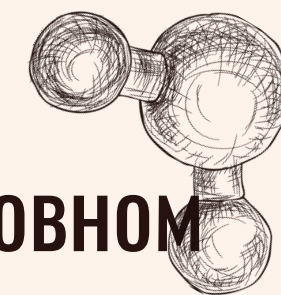
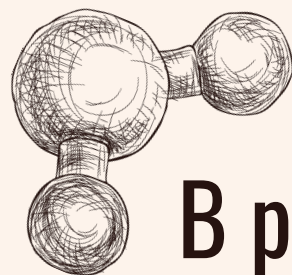


Распространение

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

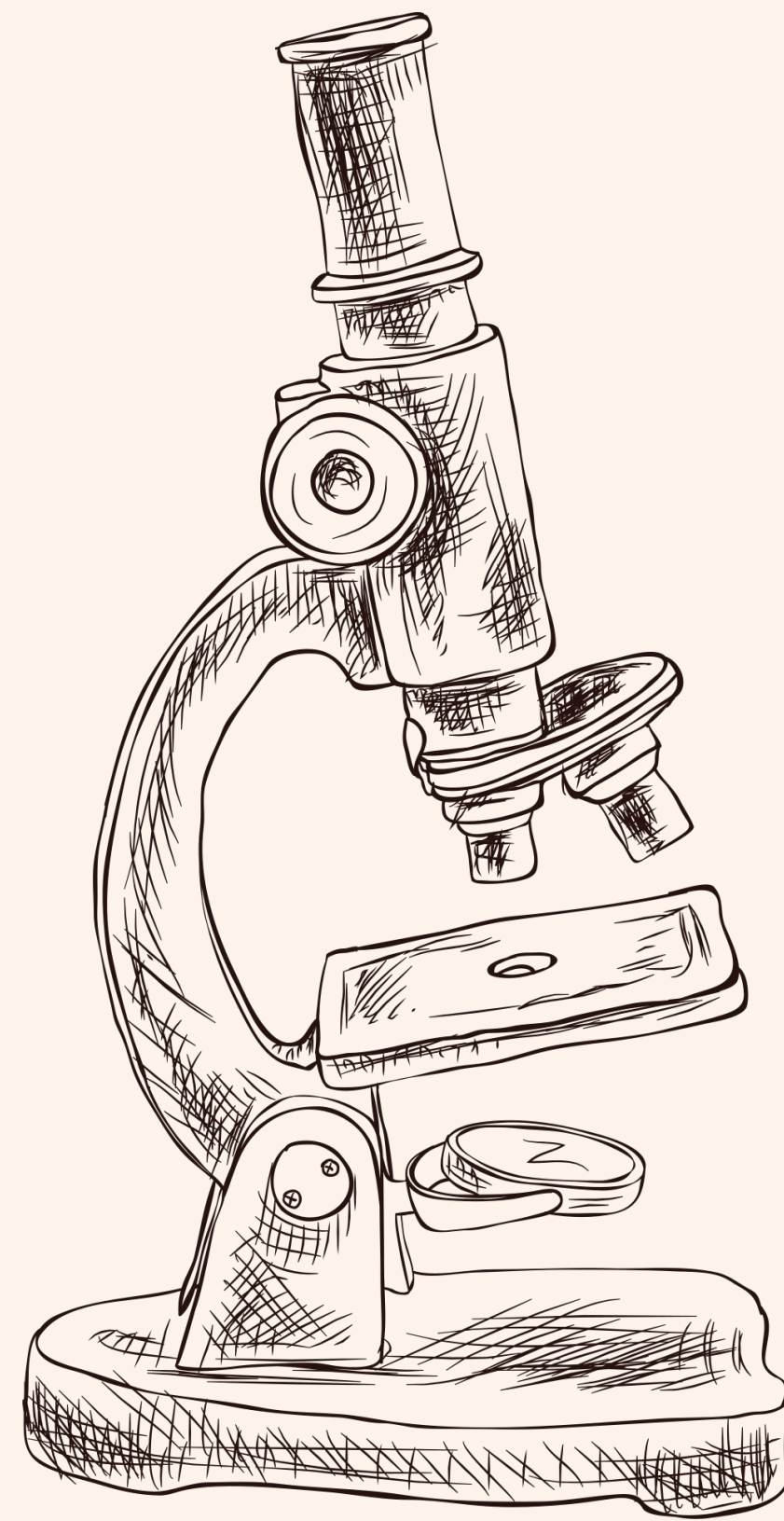
Возраст и фаза развития растений

02

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

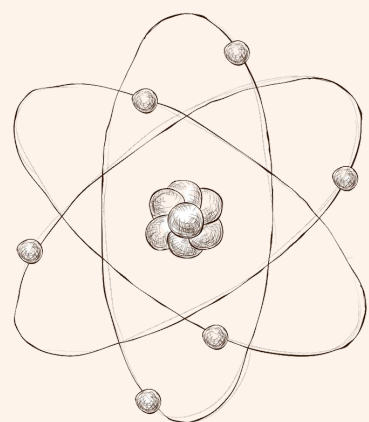
03

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

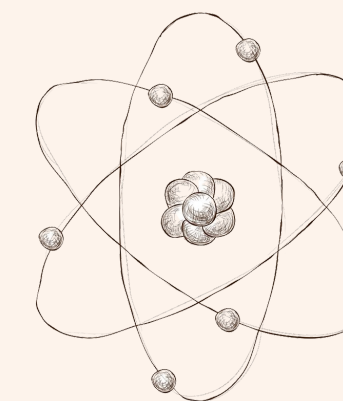


Биологическая роль

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

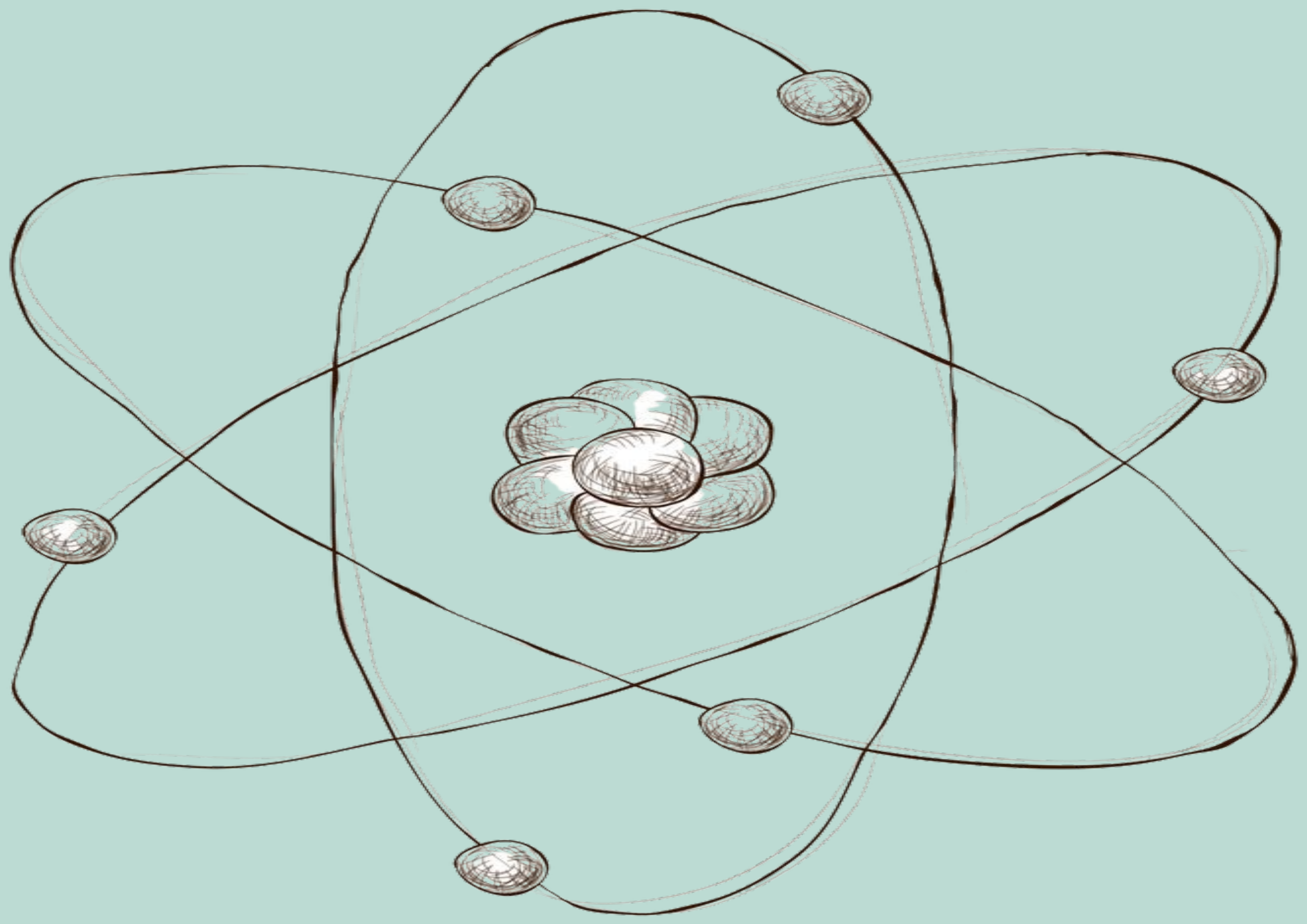
- Надземные части заготавливают в фазу бутонизации или начала цветения. Подземные части — в конце вегетации.

Сушка:

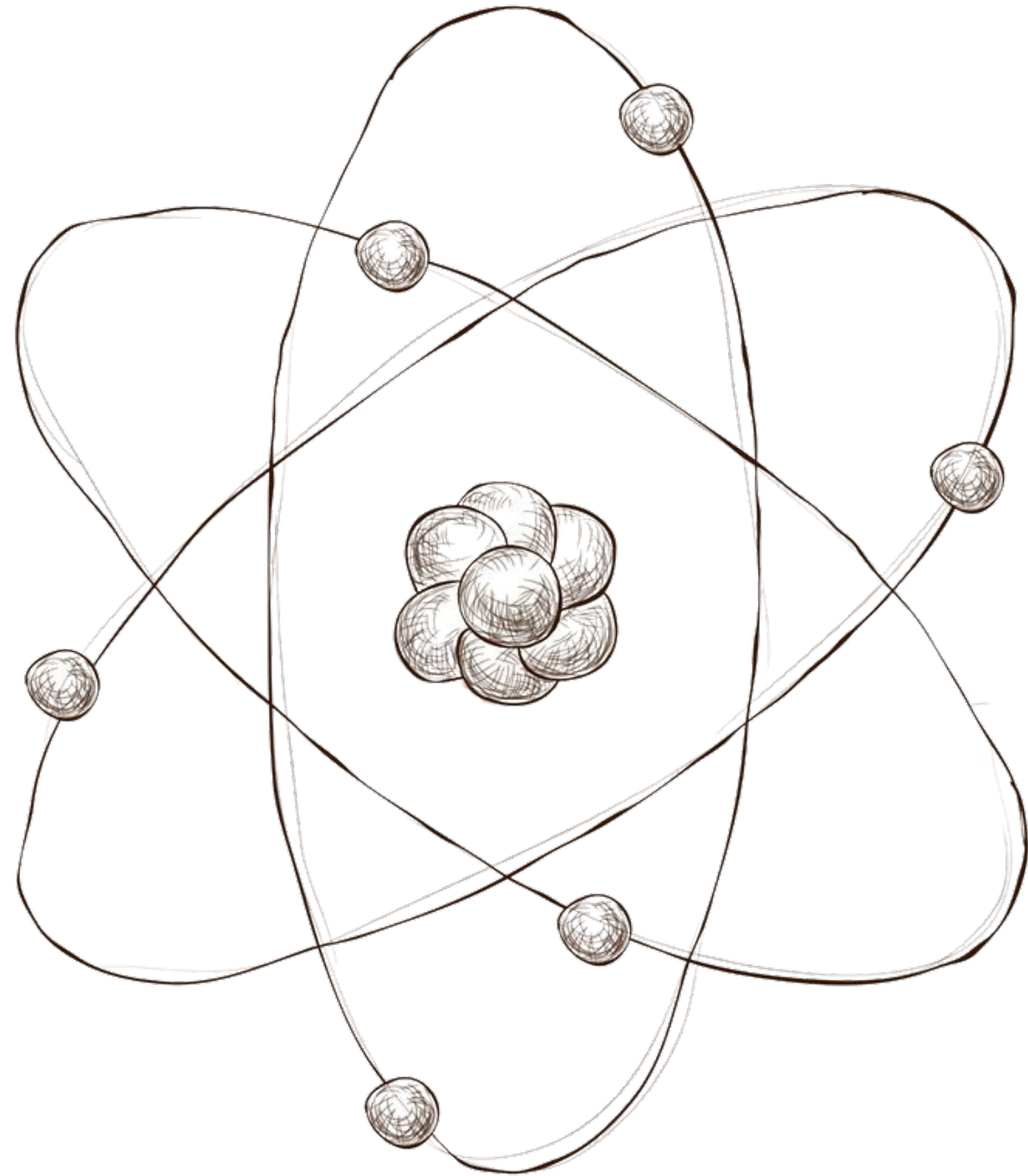
- Сырье необходимо сушить вскоре после сбора. Флавоноидные гликозиды под влиянием ферментов в присутствии влаги легко гидролизуются на сахар и агликон, а свободные агликоны могут окисляться. 1
- Сушить сырьё следует в тени или в сушилках при температуре 50–60 °С (не выше 90 °С). Медленная сушка, особенно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

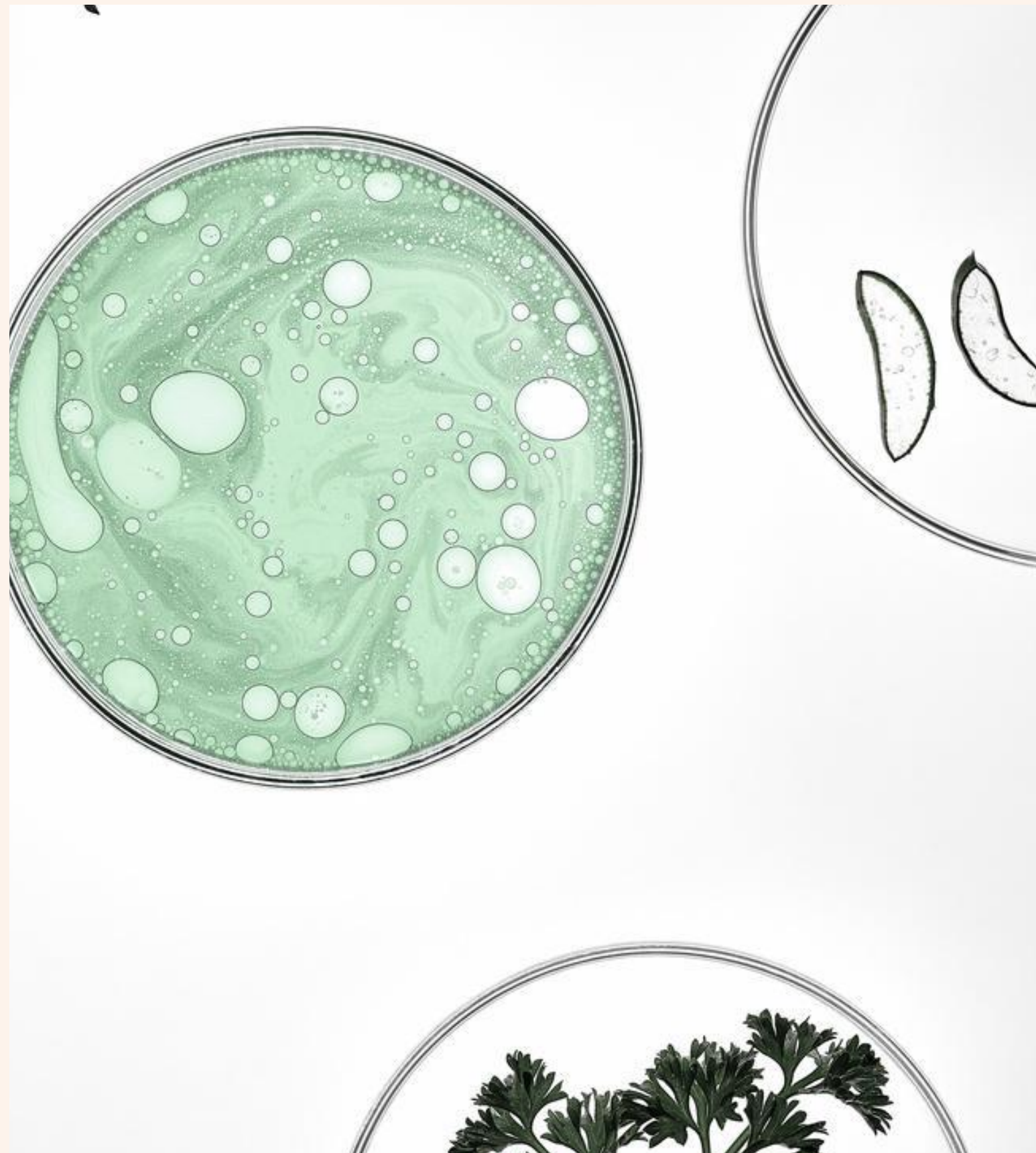
Хранение:

- 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.

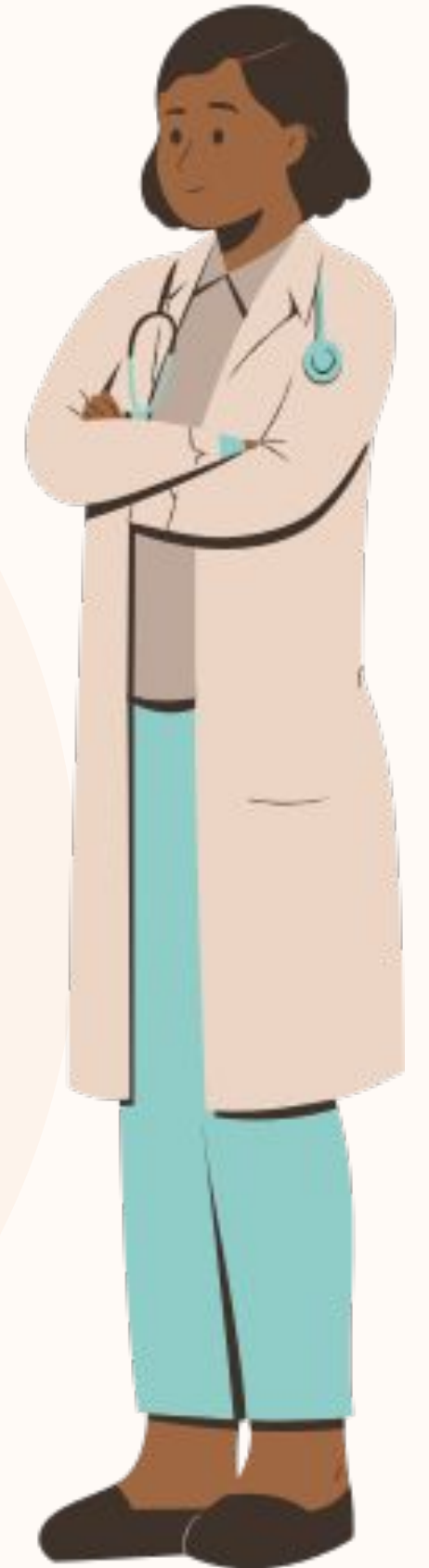
Флавоноидные гликозиды обладают оптической активностью, что используется для определения показателей качества некоторых стандартных образцов (датисцин, рутин, гиперозид и др.).

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.).

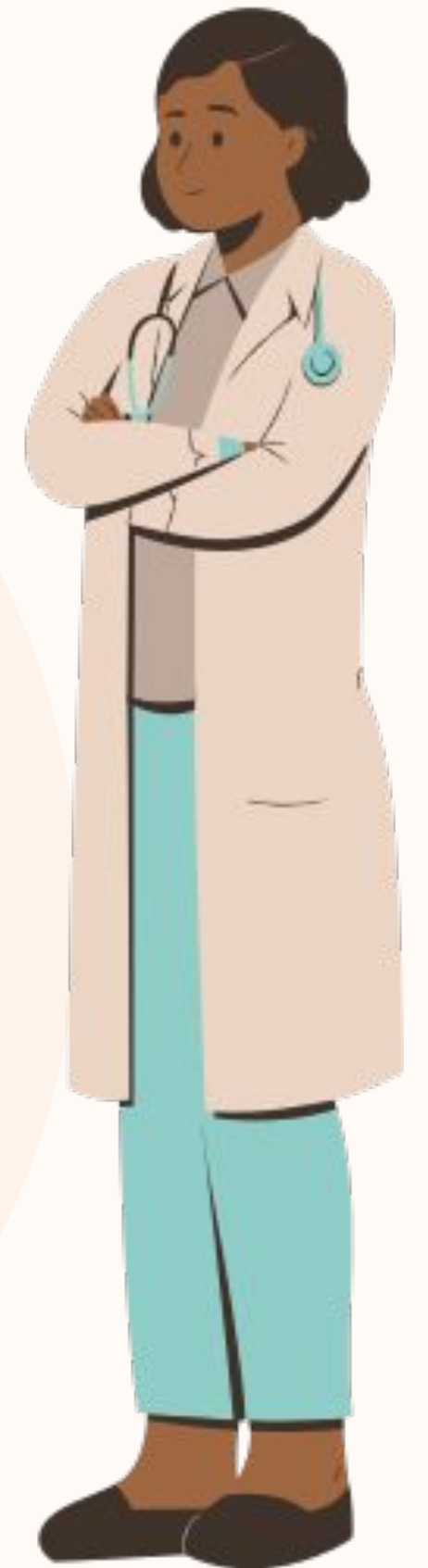
Выделение флавоноидов

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

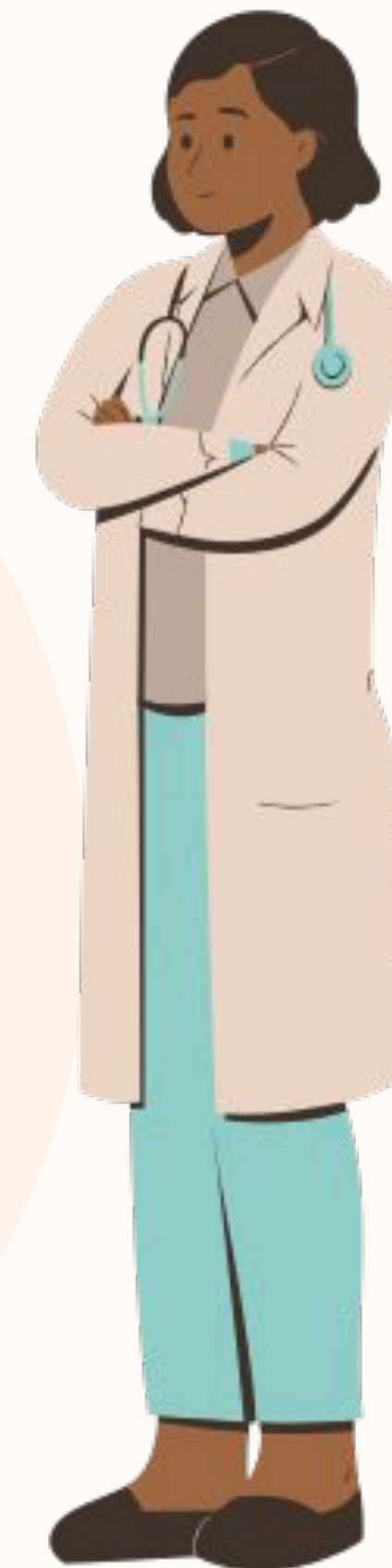


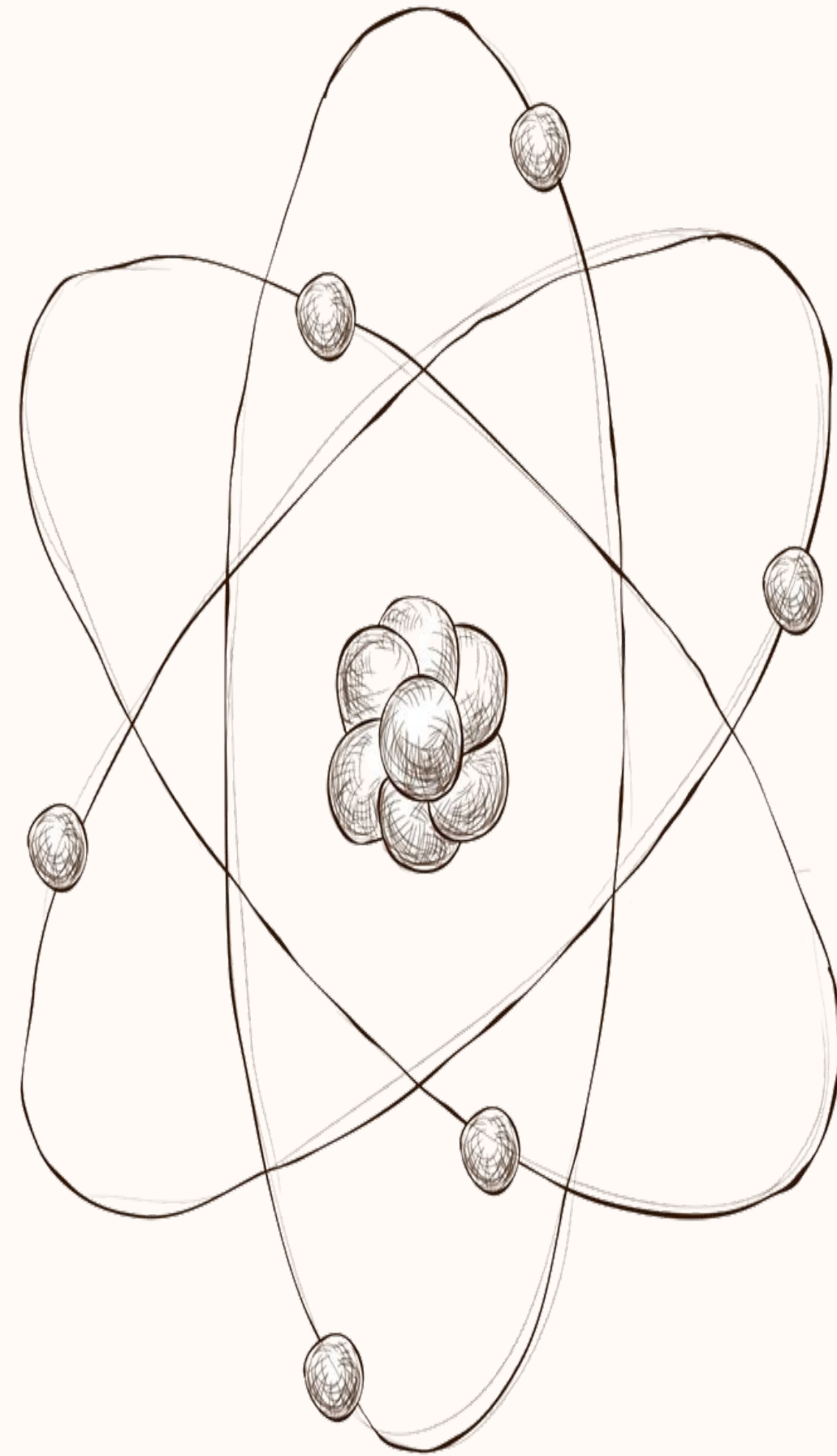
Выделение флавоноидов

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.

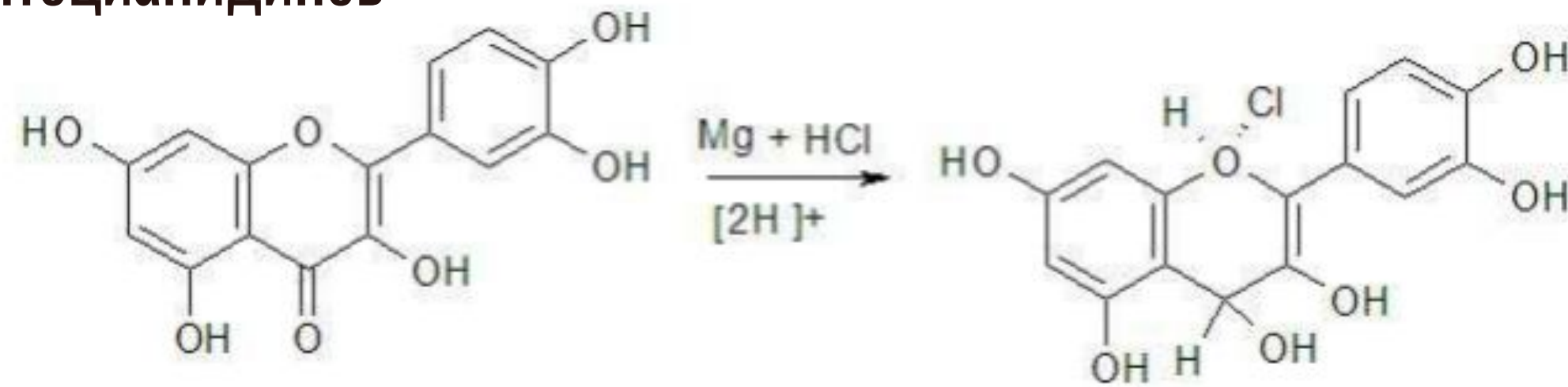




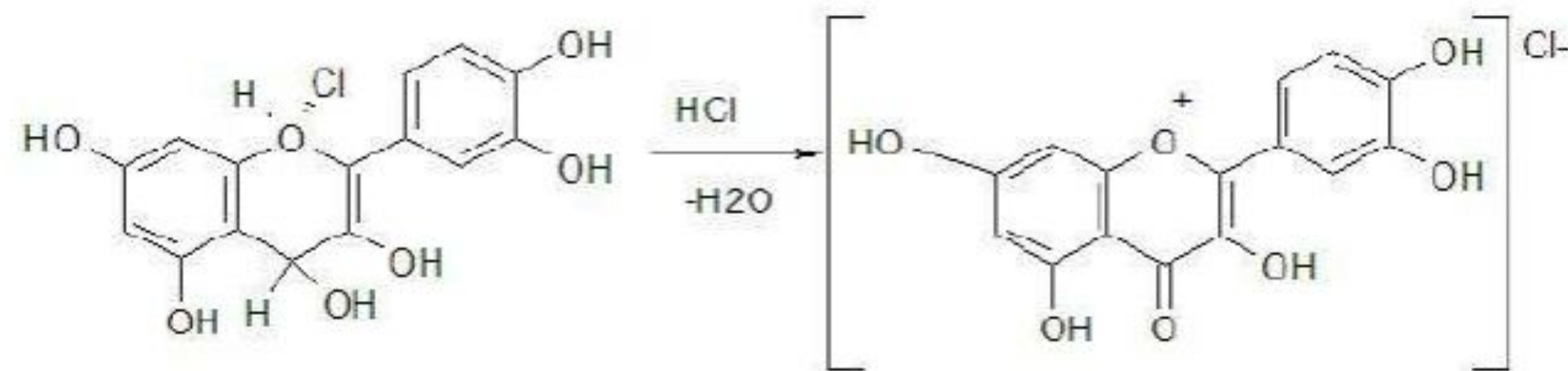


КАЧЕСТВЕННЫЕ И
КОЛИЧЕСТВЕННЫЕ РЕАКЦИИ

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 (AlCl_3) образуют окрашенные комплексы, которые поглощают свет при определённой длине волны (обычно 415 нм).

Процедура:

- Экстракт флавоноидов смешивают с раствором 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.

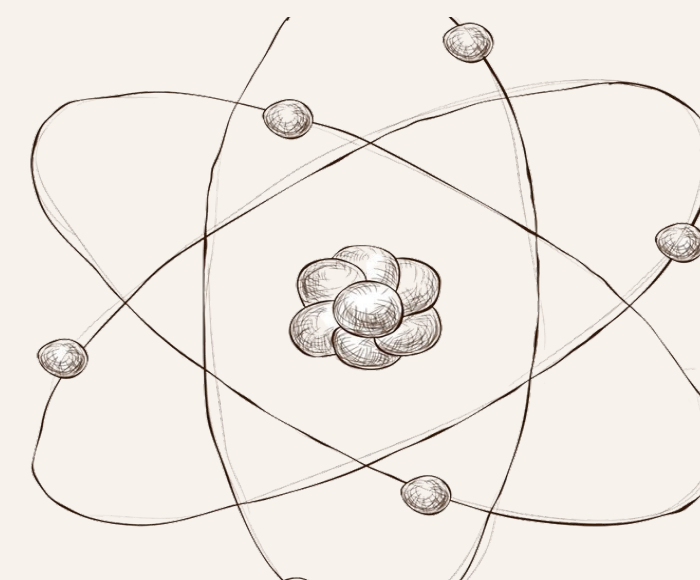
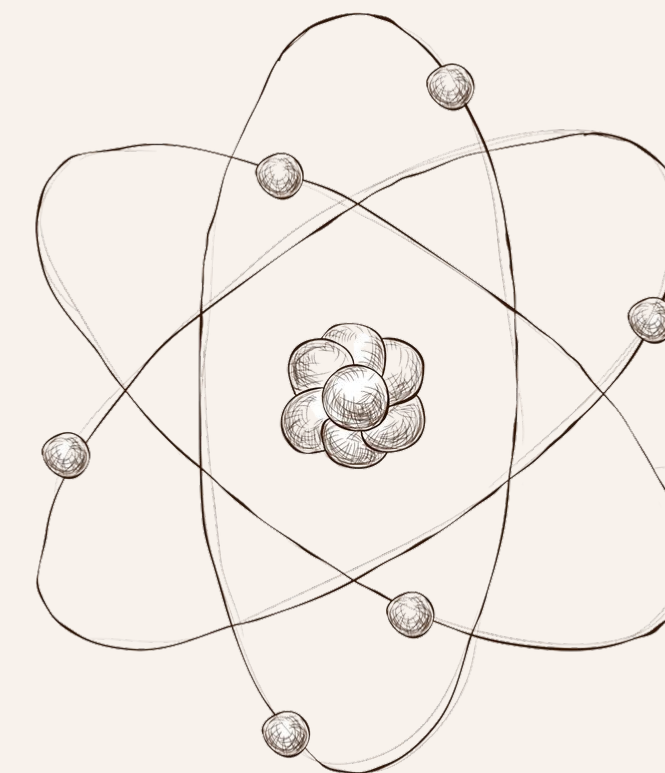
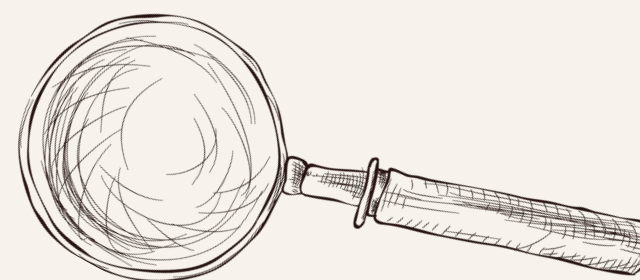
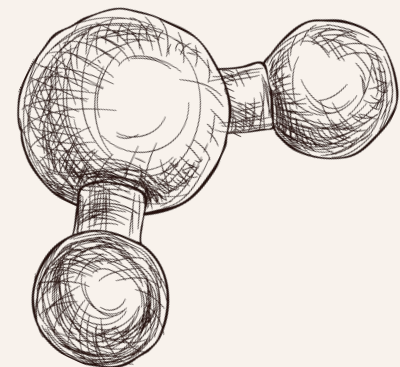
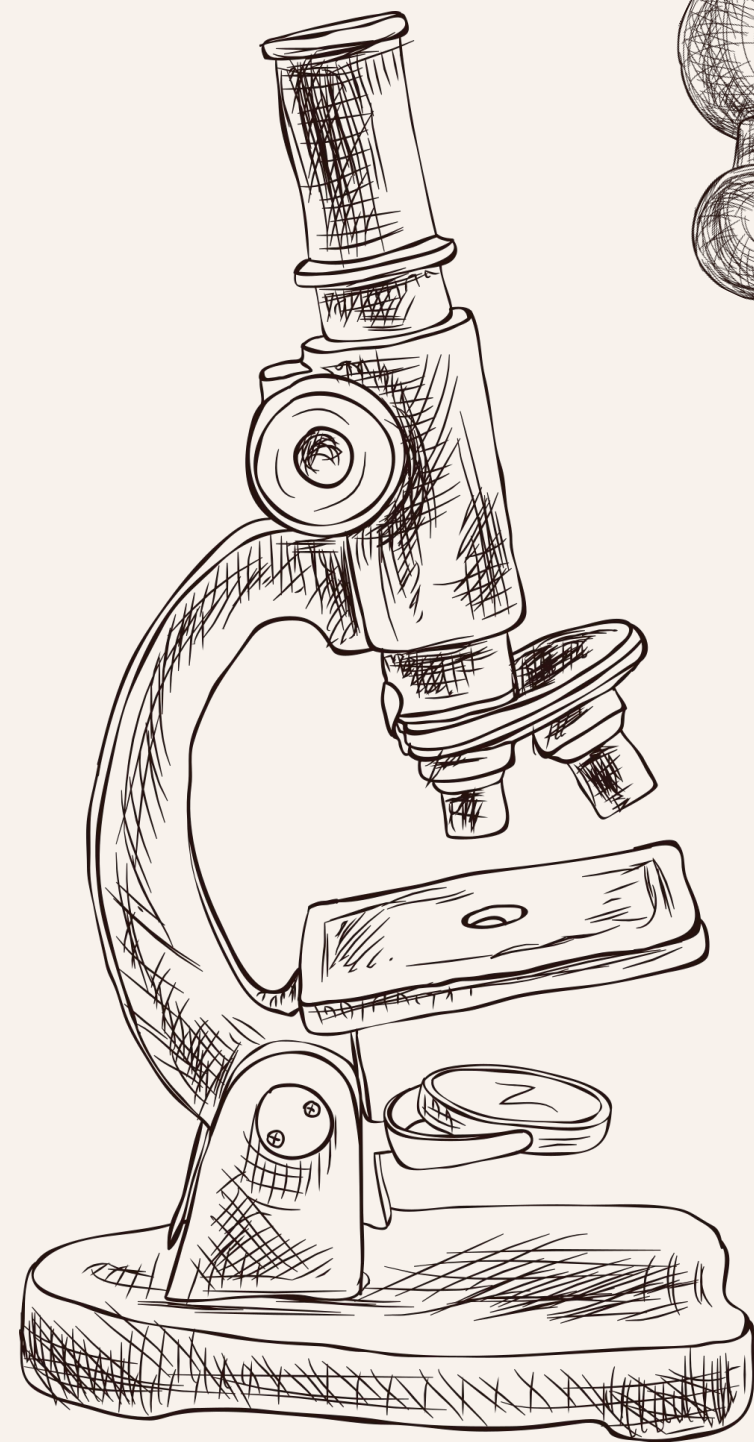
Колориметрия с алюминиевым хлоридом

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!**