

ПРИМЕНЕНИЕ СЕФАДЕКСА В АНАЛИЗЕ НЕКОТОРЫХ ФЛАВАНОИДОВ

Фарход Хамраевич Аллабердиев

Термезский государственный университет, доцент
f_allaberdiev@mail.ru

Мафтуна Фарходовна Хамраева

Термезский государственный университет, студент 3 курса

Мухиддин Фарходович Хамраев

Термезский государственный университет, студент 3 курса

АННОТАЦИЯ

Изучены условия гель-фильтрации через сефадекс 14 различных флавоноидов. Установлено, что на процесс фильтрации оказывает влияние строение флавоноидного соединения.

Ключевые слова: Флавоноид, гель-фильтрация, сефадекс, хроматография, агликон, моногликозид, дигликозид.

ВЫВЕДЕНИЕ

В 1960 г. Желот [1] отметил, что сефадекс обладает способностью адсорбировать ароматические соединения, особенно фенолы. Позже было установлено, что флавоноиды и таннин также могут адсорбироваться сефадексом, причем настолько прочно, что под влиянием щелочи некоторые из этих соединений самоокисляются [2]. В то же время Нильсон [3] при помощи сефадекса успешно разделил смесь изофлавонов без нарушения их структуры. В 1966 г. Сомерс [4], используя сефадекс марки G-25 и спирто - водную среду, устранил явление адсорбции и выделил фракции, содержащие таннин. Ванкрененброк [5] применил сефадекс для разделения антоцианов. В настоящее время сефадексы успешно применяются для разделения различных полифенольных соединений [5-8].

РЕЗУЛЬТАТЫ

Мы изучали условия разделения и очистки на колонке, заполненной гелем сефадекса, 14 флавонов, флавонолов и флавононов, а также исследовали возможность применения сефадекса в тонкослойной хроматографии (таблица).

При гель-фильтрации в сефадексе молекулы растворенного вещества с размерами большими, чем размеры пор гранул сефадекса, не задерживаются гелем и выходят первыми из колонки. Более мелкие проникают и задерживаются гелем; их элюирование соответственно замедляется. Следовательно, флавоноиды с более высоким молекулярным весом будут проходить через сефадекс, а с более низким задерживаться. Однако опыт показал, что величина молекулярного веса флавоноида не всегда оказывает существенное влияние на скорость прохождения флавоноида через сефадекс.

Таблица 1. Структура и молекулярный вес флавоноидов, подвергшихся гель-фильтрации

Флавоноиды	Строение	Брутто - формула	M
Агликоны			
Апигенин	5,7,4'-триоксифлавонон	C ₁₅ H ₁₀ O ₅	270
Лютеолин	5,7,3',4'-тетраоксифлавонон	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286
Кемпферол	5,7,4'-триоксифлавонол	C ₁₅ H ₁₀ O ₆	286
Кверцетин	5,7,3',4'-тетраоксифлавонол	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	302
Гесперетин	5,7,3'-триокси-4'-метоксифлаванон	C ₁₆ H ₁₄ O ₆	302
Моногликозиды			
Космозин	5,4'-диокси-7-О-β-D-глюкопиранозид флавонола	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₀	432
Лютеолин-7-глюкозид	5,3',4'-триокси-7-О-β-D-глюкопиранозид флавонола	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448
Астрагалин	5,7,4'-триокси-3-О-β-D-глюкозид флавонола	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₁	448
Изокверцитрин	5,7,3',4'-тетраокси-3-О-глюкопиранозид флавонола	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464
Кверцимеритрин	5,3',4'-триокси-3-О-β-D-глюкопиранозид флавонола	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	464
Дигликозиды			
Лютеолин-7-β-дигликозид	5,3',4'-триокси-7-О-β-D-глюкопиранозидо-1→3-β-D-глюкопиранозид флавонола	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610
Апигенин-7-β-D-глюкозидоксилосид	5,4'-диокси-7-О-β-D-глюкопиранозидо-1→2-β-ксилозид флавонола	C ₂₆ H ₂₉ O ₁₄	567
Рутин	5,7,3',4'-тетраокси-3-О-рутинозид флавонола	C ₂₇ H ₃₀ O ₁₆	610
Гесперетин	5,3'-диокси-4'-метокси-7-О-β-рутинозид флаванона	C ₂₈ H ₃₄ O ₁₅	590

При элюировании водой с колонки легко вымываются дигликозиды флавононов (рутин, лютеолин-дигликозид, апигенин-глюкоксилозид) и моногликозиды. Дигликозид флаванона – гесперетин, а также агликоны кверцетин, лютеолин, гесперетин адсорбируются и водой не вымываются. Дигликозиды, как правило, передвигаются с большей скоростью, чем моногликозиды. При замене воды 0.15 м. раствором поваренной соли агликоны по-прежнему не вымываются. При элюировании 3%-ным раствором гидрата окиси аммония смеси флавоноидов, состоящей из агликонов, монозидов и дигликозидов, в первую очередь вымываются агликоны (кверцетин). Затем некоторые монозиды и дигликозиды, причем некоторые соединения могут изменяться. Так, например, лютеолин-7-β-дигликозид из лепестков *Colchicum speciosum* расщепляется.

Флавонолы адсорбируются более прочно, чем флавоны. Наличие орто-диоксигруппировки в боковом фенильном радикале при этом не оказывает существенного влияния.

Достоинство гель-фильтрации-быстрота анализа и возможность вновь использовать колонку для разделения новой порции смеси моно

или дигликозидов. Недостаток – невозможность применения больших концентраций веществ и спирта.

Гель-фильтрацию через колонку с сефадексом можно также использовать для разделения продуктов щелочной деструкции флавоноидов и фенолокислот растений. В этом случае адсорбционный эффект зависит от наличия ароматического ядра и фенольных гидроксиллов [1], а не от карбоксильной группы кислот.

При использовании сефадекса для тонкослойной хроматографии в водной среде наблюдается быстрое отделение рутина от других флавоноидов. Остальные флавоноиды разделяются медленно. Значительно быстрее происходит разделение монозидов в 10%-ном водном растворе хлористого натрия и 1%-ном водном растворе ацетата натрия.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Сефадексы марки G-25 и G-50, предварительно набухшие в дистилл. воде или в 0.05 м. Растворе хлористого натрия, переносили в колонку (50 см на 10-15 мм). Затем на поверхность геля осторожно наслаивали различные смеси флавоноидов в виде водных или спиртовых растворов (50-10 мг флавоноида в 1 мл). Элюировали дистилл. водой, спирта-водными смесями, раствором аммиака или слабым раствором поваренной соли. При разделении продуктов щелочной деструкции жидкость нейтрализовали до pH 7.

Для приготовления тонкослойных хроматограмм две части сефадекса смешивали с 8 или 10 в. ч. воды. Полученный гель равномерно наносили на пластинки размером 4x13 см. Хроматографировали 2-4 часа нисходящим методом в камерах высотой 8 см, подавая растворитель на пластинку по фитиллю, сделанному из хроматографической бумаги.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучены условия гель-фильтрации через сефадекс 14 различных флавоноидов. Установлено, что на процесс фильтрации оказывает влияние строение флавоноидного соединения.

REFERENCES

1. Gelotte B., (1960). J. Chromat. 3, p. 330.
2. Woof J.B., Pierce I.S., (1967). J. Chromat, 28, p. 94.
3. Nilson A. (1962). Acta chem Scand., 16, p. 31.
4. Somers T.C., (1966). Nature, 209, p. 368.
5. Vancraenenbroeck R., Debeer L., Lontie R., (1966). Soc. Belge de bioch., p. 716.
6. Obenaus R., Neumann H.I., Mucke D., (1966). Naturwissenschaft., 53, 1, p. 19.
7. Woof I.B., (1962). Nature, 195, p. 184.
8. Saner A., Leupin K., (1966). Pharm. acta helv., 41, p. 431.