

Methoden

Isolierung und Nachweis von Flavonoiden

I. Hesperidin aus Orangenschalen

Hesperidin kann durch Extraktion getrockneter Orangenschalen mit Methanol in roher Form erhalten werden. Zuvor müssen alle lipophilen Bestandteile der Orangenschale – vor allem das ätherische Öl – durch Extraktion mit Petroläther entfernt werden. Durch umkristallisieren kann Hesperidin in reiner Form erhalten werden Identität und Reinheit werden durch Schmelzpunkt und DC geprüft.

Material und Chemikalien

Scheidemischer (Starmix), Sieb Nr. 4, Reagenzglas, 500 ml Rundkoben mit Schliff, Soxhlet Apparatur, Heizpilz, Büchner Nutsche 7cm, Rundfilter 7cm, Rotations-verdampfer, Krisallisierschale, Messzylinder 100 ml, DC Wanne, Magnetrührer beheizt. Petroleumbenzin, Methanol, Eisessig, DMSO, Ethylacetat, Aluminium-chlorid, Siedesteinchen, Kieselgel 60 F254, Salzsäure (konz), Mg-Späne.

Durchführung

30 g getrocknete und im Mixer zerkleinerte Orangenschalen werden in einer Soxhlet Apparatur 2-3 Stunden mit 250 ml Petroleumbenzin (Kp. 40-60°C extrahiert und der erhaltene Extrakt verworfen. Das getrocknete Drogenpulver wird anschliessend weitere 2 Stunden mit Methanol extrahiert und die methano-lische Lösung am Rotationsverdampfer unter vermindertem Druck bis zur Sirupdicke eingedampft.

Anschließend wird der Rückstand in 6%-iger Essigsäure aufgenommen und der sich bildende gelbe Niederschlag aufgesaugt.

Zur Reinigung wird von dem Roh-Hesperidin eine 5 % Lösung in DMSO hergestellt, indem man das Hesperidin unter erwärmen auf einem Magnetrührer in Lö-sung bringt und dann langsam unter Rühren die gleiche Menge heißes Wasser zusetzt. Man lässt bei Raumtemperatur abkühlen und saugt die ausgefallenen Kristalle ab. Zuerst wird mit heißem Wasser, dann mit Isoproponol gewaschen.

Prüfung auf Identität durch Nachweis des Aglycons Hesperidin

Hydrolyse

50 mg Hesperidin werden in 10ml 12,5% Salzsäure 1 Stunde unter Rückfluss erhitzt. Nach dem Erkalten wird der Ansatz 3 mal mit je 10 ml Ethylacetat ausgeschüttelt. Die vereinigten Ethylacetatphasen werden auf 10 ml eingengt.

Dünnschichtchromatographie

Schicht: Kieselgel 60F₂₅₄ 10 x 20 cm

Fliessmittel: Toluol Essigester Ameisensäure 40+10+5

Auftragung: 10 und 20ul

Vergleichslösung: 0,1% Hesperidinlösung in Methanol 10 und 20ul

Nachweis: Besprühen mit 5% Aluminiumchloridlösung in Ethanol

Nachbehandlung: Erhitzen auf einer Heizplatte, anschließend betrachten unter UV

366 nm