

# Flavonoidi i njihova antioksidativna, antimikrobna i antitumorna svojstva i kapacitet

## Flavonoids and their antioxidative, antimicrobial and anti-tumor properties and capacity

Slađana Pirić<sup>1</sup>, Violeta Ilić Todorović<sup>1</sup>, Bojana Miljković<sup>1</sup>, Nemanja Nenezić<sup>1</sup>, Momčilo Todorović<sup>1</sup>, Zorica Kaluđerović<sup>1</sup>

1-Akademija vaspitačko-medicinskih strukovnih studija, Odsek medicinskih studija Čuprija, Kruševac

PRIMLJEN 19.4.2023.

PRIHVAĆEN 4.5.2023.

Slađana Pirić<sup>1</sup>, Violeta Ilić Todorović<sup>1</sup>, Bojana Miljković<sup>1</sup>, Nemanja Nenezić<sup>1</sup>, Momčilo Todorović<sup>1</sup>, Zorica Kaludjerović<sup>1</sup>

1-The Academy of Applied Preschool Teaching and Health Studies, Department of Medical Studies Čuprija, Kruševac, Serbia

RECEIVED 19.04.2023.

ACCEPTED 04.05.2023.

### APSTRAKT

Cilj rad je da se kroz pregled dostupnih publikovanih radova analiziraju rezultati istaživanja i prikažu opšte karakteristike flavonoida, uključujući njihov biosintetski put i osobenosti sekundarnog metabolizma. Takođe, rad prati i antioksidativna, antimikrobna i antitumorna svojstva i kapacitet flavonoida.

Flavonoidi uključuju flavone, izoflavone i antocijanidine i formiraju se putem kondenzacije fenilpropanoida učešćem tri molekula malonil koenzima A. Sinteza flavonoida počinje od fenilalanina, pomoću enzima fenilalanin amonijum liaze (PAL) koja katalizuje oslobađanje fenilalanina, uz nastanak cimetne kiseline i izdvajanja amonijaka. Različitim eksperimentalnim studijama je dokazano da je fenilalanin prekursor velikog produkata sekundarnog metabolizma fenolnih jedinjenja. Stručna literatura ističe da o-dihidroksilacija B-prstena doprinosi antioksidativnoj aktivnosti flavonoida, dok antimikrobna svojstva određuje prisustvo (+)-katehina i kvercetina protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija. Kad je reč o antitumorskim svojstvima uticaj ima antioksidativna aktivnost, regulacija proteina p53, inhibicija aktivnosti protein kinaza i apoptoza.

Ključne reči: flavonoidi, fenolna jedinjenja, antioksidativna svojstva, antimikrobna svojstva, antitumorna svojstva

### ABSTRACT

The goal of the paper is to analyze the results of the research and present the general characteristics of flavonoids, including their biosynthetic pathway and peculiarities of secondary metabolism, through a review of available published works. Also, the work follows the antioxidant, antimicrobial and antitumor properties, and capacity of flavonoids.

Flavonoids including flavones, isoflavones and anthocyanidins are formed by the condensation of phenylpropanoids with the participation of three molecules of malonyl coenzyme A. Flavonoid synthesis begins with phenylalanine, using the enzyme phenylalanine ammonium lyase (PAL) which catalyzes the release of phenylalanine and phenylalanine. Various experimental studies have shown that phenylalanine is a precursor of a large product of the secondary metabolism of phenolic compounds. The professional literature points out that o-dihydroxylation of the B-ring contributes to the antioxidant activity of flavonoids, while its antimicrobial properties are determined by the presence of (+) - catechin and quercetin against gram-positive and gram-negative bacteria. When it comes to antitumor properties, antioxidant activity, regulation of p53 protein, inhibition of protein kinase activity and apoptosis have an impact.

Key words: flavonoids, phenolic compounds, antioxidant properties, antimicrobial properties, antitumor properties

### CORRESPONDENCE / KORESPONDENCIJA

Pirić Slađana, Akademija vaspitačko medicinskih strukovnih studija, Odsek medicinskih studija Čuprija, Lole Ribara 1/2, 35230 Čuprija, Srbija, Telefon: +381 64 2124533, e-mail: sladjapiric@gmail.com

Pirić Slađana, The Academy of Applied Preschool Teaching and Health Studies, Department of Medical Studies Čuprija, Bulevar vojske bb, 35230 Čuprija, Serbia, Telefon: +381 64 2124533, e-mail: sladjapiric@gmail.com

## UVOD

Derivati fenola su jedan od glavnih sekundarnih metabolita u biljkama i igraju važnu ulogu u zaštiti biljaka od različitih stresnih faktora, kao što su patogeni, abiotički stresovi, UV zračenje i herbivori. Osim toga, oni imaju značajnu ulogu u razvoju boje, mirisa i ukusa biljnih organa, što je važno za privlačenje polinatora i za zaštitu biljaka od herbivora.

Fenolni derivati se mogu definisati kao jedinjenja koja sadrže aromatično jezgro i jednu ili više hidroksilnih grupa. Njihova različita struktura i hemijske karakteristike omogućavaju različite biološke aktivnosti, kao što su antioksidativna, protivupalna, antimikrobna i antikancerogena svojstva<sup>1</sup>.

U animalnim tkivima, derivati fenola se najčešće dobijaju putem unosa hrane biljnog porekla. Mnoge biljne namirnice bogate su ovim svojstvima, uključujući voće, povrće, žitarice, čaj i začine. Takođe, derivati fenola se mogu pronaći u brojnim proizvodima od biljnog porekla, kao što su ulja, ekstrakti i dodaci prehrani<sup>2</sup>.

Sadržaj fenolnih derivata u biljkama je raznovrsan i uključuje jednostavne fenole, polipropanoide, derivate benzojeve kiseline, flavonoide, stilbene, tanine, lignine i lignane. Zajedno sa dugim lancima karboksilnih kiselina, fenoli ulaze u sastav suberina i kutina koji predstavljaju esencijalne komponente neophodne za rast i reprodukciju biljaka, ali pored toga imaju ulogu u odbijanju insekata i patogena. Uloga fenolnih derivata je prepoznata i u pigmentaciji biljaka, antibiotskim svojstvima, prirodnim pesticidima. Pored toga, signalne supstance koje omogućavaju simbiozu, protektivni agensi od UV zračenja, komponente koje ćelijski zid čine nepermeabilnim za gasove i vodu kao i strukturne komponente koje biljkama daju stabilnost<sup>3</sup>.

Mnoge karakteristike biljaka su definisane sadržajem i tipom fenolnih komponenti. Pozitivan efekat na zdravlje ili potencijalne antinutriciona svojstva kada su prisutni u velikim količinama predstavljaju bitnu karakteristiku za proizvođače i potrošače. Antocijani kao još jedna grupa fenolnih jedinjenja su zastupljeni preferentno u voću i cveću, njihovo prisustvo za posledicu ima crvenu, plavu, ljubičastu boju mnogih biljaka i njihovih voćnih plodova čije boje dalje mogu da se koriste u industriji hrane. Antocijani predstavljaju bitnu komponentu koja ima izražena antoksidativna svojstva čiji se efekat oglada u uklanjanju slobodnih radikala, koji tokom života nastaju u organizmu čoveka, a mogu dovesti do razvoja različitih patoloških stanja<sup>4</sup>.

## FLAVONOIDI – PODELA, SINTEZA I PRODUKTI SEKUNDARNOG METABOLIZMA

### Podela flavonoida

Flavonoidi uključujući flavone, izoflavone i antocijanidine formiraju se putem kondenzacije jedinjenja fenilpropanoide učestvom tri molekula malonil koenzima A, što dovodi do stvaranja halokona koji naknadno ciklizuje u kiselim uslovima. Flavonoidi imaju osnovni prsten difenilpropana sa različitim nivoom oksidacije piranskog prstena. To se takođe odnosi i na stilbene, ali u ovom slučaju nakon uvođenja drugog fenilnog dela, jedan atom ugljenika fenilpropana se odvoji. Stilbeni su moćan fungicid u biljkama, jedan od takvih primera je vinferin iz vinove loze. U slučaju flavonoida i izoflavonoida, u zavisnosti od supstituisanosti i zasićenosti mogu se formirati flavoni, flavononi, flavonoli, flavononoli kao i flavan-3-ol i srodna jedinjenja<sup>4</sup>.

Eksperimentalno je identifikovano oko 200 flavonola i 100 flavona u biljkama. Ova jedinjenja poseduju dvostruku vezu između C2 i C3 atoma. Flavonoli se razlikuju od flavona po tome što sadrže hidroksilnu grupu u položaju 3 i mogu se smatrati 3-hidroksiflavonima. Sa druge strane mogu biti i flavoni koji se nazivaju 3-deoksiflavonoli. Unutar svake klase, pojedinačni flavonoidi mogu varirati u broju i distribuciji hidroksilnih grupa, kao i u stepenu alkilovanja ili glikozilacije. Stvaranje flavonola i flavonskih glikozida zavisi od dejstva svetla i zbog toga se nalaze najčešće u lišću i plodovima, dok se samo u tragovima nalaze ispod površine tla. Flavonoli su uglavnom prisutni kao mono-, di- i triglikozidi. Monoglikozidi se uglavnom javljaju kao 3-O-glikozidi. Glikozilacija u pozicijama 5,7,3' i 4' retko se sreće u flavonolima voća i povrća.

U slučaju diglikozida, dve šećerne komponente mogu biti zakačene na iste ili različite ugljenikove atome. Među diglikozidima najzastupljeniji su 3-O-diglikozidi i 3,7-di-O-glikozidi. 3-rutinozidi sa ramnozom i molekulom glikoze spojenim 1→6 glikozidnom vezom su najrasprostranjeniji flavonol-diglikozidi.

Triglikozidi su najmanje zastupljene forme flavonol glikozida. Šećerni deo glikozida se obično sastoji od D-glukoze, D-galaktoze, L-ramnoze, L-arabinoze, D-apoze i D-glikuronske kiseline ili njihove kombinacije.

Broj flavonolnih glikozida acetilovanih sa fenolnim kiselinama kao što su p-kumarinska kiselina, ferulinska kiselina, kofeinska kiselina, p-hidroksibenzojeva kiselina i galna kiselina se mogu naći u voću. Najzastupljeniji glikozid u biljkama je kamperol 3-(p-kumaril).

Flavonone i flavonole karakteriše prisustvo zasićene C2-C3 veze i atoma kiseonika u vidu karbonilne grupe u položaju 4. U vezi sa tim, flavononi se često nazivaju dihidroflavonima. Flavonoli se razlikuju od flavonona po tome što imaju hidroksilnu grupu u položaju 3 i često se nazivaju 3-hidroksiflavonoli. Fla-

vononi imaju jednu osu simetrije u položaju dva, dok flavononi poseduju osu simetrije u položaju 3. Ukoliko se fenilni prsten nalazi u položaju 3, umesto u položaju 2, tada govorimo o izoflavonima. Flavonoidi uključuju veliki broj fitoaleksina kao što je na primer izoflavonski medikarpin iz lucerke <sup>5</sup>.

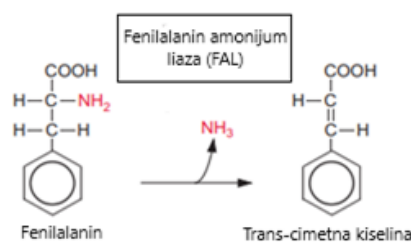
Flavonoidi su obično prisutni kao glikozidi sa ostatkom šećera koji su povezani preko OH grupe čineći O-glikozilflavonoid ili preko C-C veze čineći C-glikozilflavonoid. Flavononi u biljkama su često glikozilovani u položaju 7 sa disaharidima rutinoza i neohesperozid. Ova dva disaharida su izgrađena od ramnoze i glikoze i razlukuju se samo po vrsti veze: 1→6 za rutinoza i 1→2 za neohesperozid. Treba napomenuti da su flavononol glikozidi dobri fungistatičari i fungitoksične supstance <sup>5</sup>. Među flavonoidima poznati su i antocijanini i katehini, njihov zajednički naziv je flavani zbog nedostatka karbonilne grupe u položaju 3 <sup>6</sup>.

Flavan-3-ol i flavan-3,4-diol pripadaju ovoj kategoriji. Antocijanini su glikozidno vezani antocijanidini prisutni u mnogim cvetovima i plodovima. Dok su halkoni i flavoni žuti, antocijanini su u vodi rastvorljivi pigmenti jarko crvene, plave i ljubičaste boje koji su prisutni u voću i drugoj hrani. Jarko crvena kože rotkvice, crvena koža krompira i tamna koža patlidžana nastaju zbog prisustva antocijana. Kupine, crvene i crne maline, borovnice, trešnje, ribizle, crveno grožđe, šipak, zelena koprija, brusnica i šljive sadrže antocijane. Skoro 200 različitih antocijanina je identifikovano u biljkama. Antocijanin pelargonin sadrži pelargonidin kao hromoforu. Uvođenjem jedne ili više funkcionalnih grupa u 3' i 5' položaj fenilnog ostatka i njihova sukcesivna metilacija daje pet dodatnih antocijanidina koji se razlikuju po boji <sup>5</sup>.

Većina antocijana nastaje u obliku monoglikozida i diglikozida pelargonidina, cijanidina, peonidina, delphinidina, petunidin i malvidin. Antocijanini preuzimaju različite boje kada su izloženi promeni pH u rastvorima. Katehini i epikatehini, koji se nalaze u različitim biljkama i u velikim količinama u listovima zelenog čaja slični su po strukturama antocijanidinima, međutim, za razliku od antocijanidina oni su bezbojna jedinjenja. Katehini i epikatehini imaju različite biološke aktivnosti, uključujući antioksidativna, antikancerogena, protivupalna i neuroprotektivna svojstva. Katehini se obično nalaze u neoksidiranoj formi u zelenom čaju, dok se epikatehini nalaze u velikim količinama, na primer u kakau i tamnoj čokoladi. Ova dva flavonoida su pokazala različite zdravstvene koristi, uključujući smanjenje rizika od srčanih bolesti, dijabetesa, raka i neuroloških poremećaja <sup>7</sup>.

### Sinteza flavonoida

Put sinteze flavonoida počinje od fenilalanina od koga nastaju i mnogi drugi derivati fenola. Prvi enzim u ovom biosintetskom putu je fenilalanin amonijum liaza (PAL) koja katalizuje oslobađanje fenilalanina, vodeći ka formiranju C-C dvostruke veze pri čemu nastaje cimetna kiselina i izdvaja se amonijak (Slika 1) <sup>8</sup>.



Slika 1. Sinteza trans-cimetne kiseline

U nekim biljkama i travama tirozin se prevodi u 4-hidroksicimetnu kiselinu delovanjem enzima tirozin amonijum liaze (TAL). Uvođenje hidroksilne grupe u para položaj fenilnog prstena cimete kiseline ostvaruje se delovanjem monooksigenaze koja koristi citohrom P450 kao mesto vezivanja kiseonika. Nastala p- kumarinska kiselina može biti hidroksilovana na poziciji 3 i 5 delovanjem enzima iz grupe hidrolaza i metilovana delovanjem enzima O-metil transferaza sa S-adenozilmetionin kao donorom metil grupe. Ove transformacije vode ka nastanku kofeinske, furulinske i sinapinske kiseline <sup>8</sup>.

Ova grupa jedinjenja koja sadrže fenolni prsten i bočni niz od 3C atoma se jednim imenom nazivaju fenilpropanoidi. Služe kao prekursori za sintezu lignina i mnogih drugih komponenti. Derivati benzojeve kiseline nastaju gubitkom dela koji sadrži dva ugljenikova atoma fenilpropanoida. Salicilna kiselina je derivat benzojeve kiseline koji deluje kao signalna supstanca. Nakon infekcije ili oštećenja delovanjem UV zračenja, mnoge biljke povećavaju sadržaje salicilne kiseline koja kao signalni molekul učestvuje u izazivanju biosinteze odbrambenih supstanci. Aspirin- acetilstar salicilne kiseline, prvo je izolovan iz kore vrbe <sup>8</sup>.

Slično kao u fenilpropanoidnoj seriji, hidroksilacije i verovatno metilacije hidroksibenzojeve kiseline dovode do stvaranja dihidroksibenzojeve kiseline (protokatehinska kiselina), vanilinske kiseline, siringinske kiseline i galne kiseline. Hidroksibenzojeve kiseline su obično prisutne u vezanom obliku u hrani i često su sastavni deo kompleksnih struktura lignina i hidrolizujućih tanina <sup>8</sup>.

Fenilpropanoidi i derivati benzojeve kiseline se u naučnoj literaturi nazivaju zajednički „fenolne kiseline“. Ova nomenklatura nije nužno tačna sa hemijskog i strukturnog stanovišta. Bez obzira na to, takva jedinjenja se nazivaju fenolne kiseline i u ostatku rada.

Dekarboksilacija derivata benzojeve kiseline i fenilpropanoida dovodi do formiranja jednostavnih fenola. Termička razgradnja lignina ili mikrobn transformacija takođe mogu proizvesti jednostavne fenole u hrani. Tako se vinil-supstituisani fenoli mogu proizvesti dekarboksilacijom hidroksicimete kiseline. Međutim, izlaganje 4-vinilguaiakola kiseoniku dovodi do pojave stvaranja vanilina. Nekoliko jednostavnih fenola, na primer fenol, o-krezol, 4-etilfenol, guai-

kol, 4- vinilguaikol i eugenol, nalaze se u hrani biljnog porekla<sup>8</sup>.

Proizvodi redukcije fenilpropanoida takođe daju fenolna jedinjenja kao što su sinapil alkohol, koniferil alkohol i kumaril alkohol kao i mnoge druge.

### Flavonoidi kao sekundarni metaboliti

Sekundarni metaboliti imaju izuzetan ekološki značaj, što se pre svega ogleda kroz uticaj odeređenih mirisnih supstanci koje deluju kao atraktanti na reprodukciju. Takođe, sekundarni metaboliti imaju i zaštitnu ulogu u borbi protiv različitih oblika stresa. U tom kontekstu prvenstveno se misli na biotičke i abiotičke faktore, obuhvatajući i mikroorganizme, životinje, ali i svetlost, temperaturu, dostupnost vode i druge faktore u vazduhu, zemlji ili vodi<sup>10</sup>.

Sekundarni metabolizam jedinstven je za svaku biljku ponaosob. To znači da postoje specijalizovani procesi za datu biljku koji kao rezultat stvaraju sekundarne metabolite. Otuda se može reći da produkti sekundarnog metabolizma nisu esencijalni za rast i razvoj biljaka, već nastaju kao dodatni produkti u specijalizovanim ćelijama ili tkivima.

Ako se fokus stavi na flavonoide kao sekundarne metabolite biljaka, prvenstveno se fenilalanin smatra prekursorom velikog broja fenolnih jedinjenja. Značaj uticaj ima koenzim A, koji se nalazi u okviru hidroksicimetne kiseline koja je produkt fenilalanina, a koji čine strukturne elemente dosta fenolnih jedinjenja, kao što su: estri i amidi cimetne kiseline, lignin, benzoeve kiseline, flavonoidi i kondenzovani tanini. Značajno je istaći da su istraživanja pokazala da praćenje metabolizma fenolnih jedinjenja u plodu, kroz kombinaciju fenilalanina i cimetne kiseline praćene radioaktivnim <sup>14</sup>C, kao rezultat pokazuju produkte p-kumarinske kiseline ili njenih estara, derivate hidroksicimetne kiseline, i flavonoide. Fenilalanin/hidroksicinatni put je definisan kao opšti fenilpropanoidni metabolizam<sup>11</sup>.

Navedeni metabolizam je poznat i kao „opšti fenilpropanoidni metabolizam”, i opisuje u širem kontekstu kako proces promena od fenilalanina do p-kumarinske kiseline, tako i niz enzima koji podstiču biosintezu skoro svih fenolnih jedinjenja. Zadatak evidentiranih enzima je da katalizuju fenilalanin amonijum liaza (PAL), cinamat 4-hidroksilaza (C4H) i hidroksicinat CoA ligaza (CoAL). Važno je napomenuti da se u stručnoj literaturi nalazi sve više potvrda da je fenilpropanoidni i flavonoidni put katalizovan navedenim multienzimskim kompleksom<sup>12</sup>.

Fenilpropanoidni put biosinteze je ključan za proizvodnju sekundarnih metabolita u biljkama, uključujući flavonoide, kumarine, lignine, tanine i alkaloidne. Ovaj put počinje aminokiselinom fenilalaninom, koja se pretvara u cimetnu kiselinu uz pomoć enzima fenilalanin amonijum liaza (PAL). Cimetna kiselina zatim se pretvara u kumarinsku kiselinu, flavonoide, lignin, tanine i druge fenilpropanoide, u zavisnosti

od prisutnosti i aktivnosti specifičnih enzima u određenim tkivima i fiziološkim aktivnostima u biljkama.

Postoji nekoliko enzima koji su uključeni u fenilpropanoidni put, uključujući fenilalanin amonijum liazu (PAL), cimetat 4-hidroksilazu (C4H), 4-kumaril-CoA-ligazu (4CL), kvercetin-3-O-glukoziltransferazu (UFGT), katehin hidroksilazu (CHS) i drugi. Neki od ovih enzima katalizuju ključne reakcije u procesu biosinteze sekundarnih metabolita dok drugi moduliraju količinu ili vrstu metabolita koji se proizvode<sup>13</sup>.

PAL je prvi enzim u fenilpropanoidnom putu i katalizira reakciju kojom se fenilalanin pretvara u trans-cimetnu kiselinu. C4H je drugi enzim u ovom putu i katalizira reakciju kojom se cimetna kiselina pretvara u p-hidroksicimetnu kiselinu, koja je intermedijet za sintezu lignina i flavonoida. 4CL je treći enzim u ovom putu i katalizira reakciju kojom se kumarinska kiselina pretvara u 4-kumaril-CoA, koji je intermedijet u sintezi flavonoida, lignina i tanina<sup>14</sup>.

CHS je enzim koji katalizira prvu reakciju u biosintezi flavonoida. On katalizira kondenzacijsku reakciju između tri molekule malonske kiseline i jednog molekula cimetne kiseline, stvarajući dihidroflavanon, koji se potom pretvara u flavanone, što je prekursor za različite vrste flavonoida. UFGT je enzim koji katalizira reakciju između glukoze i flavonoida, stvarajući glikozide flavonoida. Katehin hidroksilaza katalizira reakciju kojom se katehin pretvara u epikatehin, koji je važan za biosintezu tanina.

Važno je napomenuti da postoji složena regulacija fenilpropanoidnog puta, koja je povezana sa različitim signalnim putevima i faktorima regulacije. Na primer, regulacija biosinteze lignina povezana je s transkripcijskim faktorima poput MYB i NAC, dok je regulacija biosinteze flavonoida povezana s transkripcijskim faktorima kao što su MYB, bHLH i WD40. Navedeno upravo potvrđuje da je fenilpropanoidni put vrlo dinamičan i podložan promenama zavisno od fizioloških faktora biljaka i spoljnih faktora. Otuda, povećana ekspresija PAL-a povezana je s odgovorom biljaka na stres, dok se ekspresija CHS-a povećava tokom cvetanja i plodonošenja<sup>15</sup>.

Uz to, fenilpropanoidni put je važan za sintezu lignina, koji se nalazi u semenkama biljaka i pruža im strukturnu potporu. Lignin takođe ima važnu ulogu u zaštiti biljaka od patogenih mikroorganizama i oksidativnog stresa<sup>12</sup>.

## ANTIOKSIDATIVNI KAPACITET FLAVONOIDA

Flavonoidi se obično nalaze u ćelijama u obliku glikozida, i mogu se razgraditi do odgovarajućih aglikona i šećera enzimima ili termičkim-kiselim tretmanima. Mnogi flavonoidi i srodne fenolne kiseline pokazali su izrazite antioksidativne, antitumorske i antiinflamatorne karakteristike (Slika 2). Flavonoidi i cimetne kiseline poznati su kao primarni antioksidansi i deluju kao akceptorci slobodnih radikala i prekidači



lanca. Flavonoli su poznati po tome što heliraju metale jona u 3-hidroksi-4-keto grupi i/ili 5-hidroksi-4-keto grupi (kada je A prsten hidroksilovan na petoj poziciji). o-kinolna grupa na B-prstenu takodje pokazuje mogućnost heliranja <sup>8</sup>.

Komponente	Vreme da se dostigne vrednost peroksida od 50 (h) <sup>a</sup>	Period indukcije po rancimatu (h) <sup>b</sup>
Kontrola		-
Očišćeno kukuruzno ulje	105	1.4
Salo	-	
Aglikoni		
Kvercetin (3,5,7,3',4'-pentahidroksi)	475	7.1
Fisetin (3,7,3',4'-tetrahidroksi)	450	8.5
Lueteolin (5,7,3',4'-tetrahidroksi)	-	4.3
Miricetin (3,5,7,3',4',5',-heksahidroksi)	552	-
Robinetin (3,7,3',4',5'-pentahidroksi)	750	-
Ramnetein (3,5,3',4'-tetrahidroksi-7-metoksi)	375	-
Glikozidi		
Kvercetrin (3-ramnozid)	475	1.9
Rutin (3-ramnoglukozid)	195	-
<sup>a</sup> 5*10 <sup>-4</sup> M u očišćenom kukuruznom ulju		
<sup>b</sup> 2.3*10 <sup>-4</sup> M u masti		

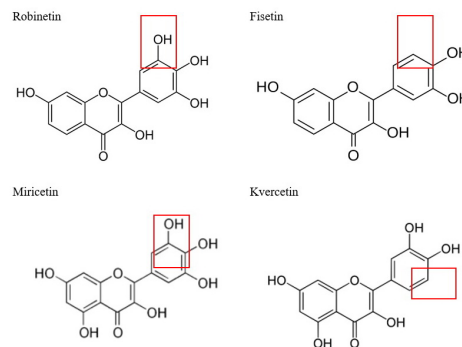
Slika 2. Antioksidativna aktivnost flavonida

Utvrđeno je da položaj i stepen hidroksilacije imaju primarni značaj u određivanju antioksidativne aktivnosti flavonoida, o-dihidroksilacija B prstena doprinosi antioksidativnoj aktivnosti. Prema istraživanjima p-kvinolna struktura B prstena daje veću aktivnost od o-kinola, dok je utvrđeno da se para i meta hidoksilacija B prstena ne odvija prirodnim putem. Svi flavonoidi sa 3', 4'- dihidroksi konfiguracijom poseduju antoksidativnu aktivnost.

Robinetin i miricetin imaju dodatnu hidroksilnu grupu na svom 5' položaju što dovodi do pojačanih antioksidativnih aktivnosti naspram flavonoida koji ne poseduju 5' hidroksilnu grupu poput fisetina i kvercetina (Slika 3) <sup>8</sup>.

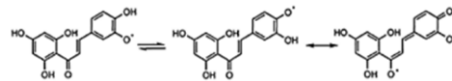
UV sprektalnim studijama pokazano je da flavonoidi imaju mogućnost građenja kompleksa sa jonima. Takvi kompleksi mogu doprineti antioksidativnom delovanju flavonoida. Heliranje čini metalne jone katalitički neaktivnim.

Halkoni, prirodni prekursori flavona i flavonoida se lako ciklizuju u kiselim uslovima i pokazano je da poseduju snažne učinke na antioksidativno delovanje. 3,4- dihidroksihalkoni su naročito efikasni, dok su halkoni efikasniji od odgovarajućih flavonona. Efikasnost 3,4- dihidroksihalkona, naime buteina i okanina zavisi od formiranja rezonanciono stabilizovanih slobodnih radikala (Slika 4) <sup>7,8</sup>.



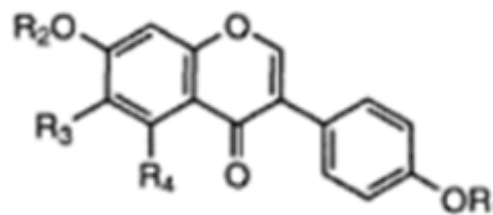
Slika 3. Prikaz razlika u strukturi flavonoida sa antioksidativnim kapacitetom i flavonoida bez antioksidativnog kapaciteta

Kod izoflavonoida potrebne su obe hidroksilne grupe na položaju 4' i 5 za značajno antioksidativno delovanje, kao što je slučaj se genisteinom koji je posebno aktivan (Slika 5). Rezonantno stabilizovane kinoidne strukture pokazuju da je za izoflavone karbonilna grupa na položaju četiri jako bitna, ona ostaje netaknuta i može komunicirati sa 5-hidroksi grupom ako postoji, dok u flavonu karbonilna grupa na položaju četiri gubi svoju funkcionalnost. Ovo se može objasniti superiornom antioksidativnom aktivnošću genisteina u poređenju sa apigeninom<sup>8</sup>.



Slika 4. Rezonanciono stabilizovani slobodni radikali 3',4'- dihidrohalkona

Izoflavonoidi koji se prirodno javljaju nalaze se uglavnom u porodici Leguminoseae i mnogo su manje zastupljeni od flavona. Izraženi sinergizam je primećen kada su izoflavoni dopunjeni fosfolipidima, kao što je fosfatidil etanolamin.



Komponente	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>
Daidzein	H	H	H	H
Formononetin	CH <sub>3</sub>	H	H	H
Genestein	H	H	H	OH
Prunetin	H	CH <sub>3</sub>	H	OH
4,6,7-trihidroksiizoflavon	H	H	OH	H
Glicitein (7-O-glukozid)	H	Gluc	OCH <sub>3</sub>	H

Slika 5. Hemijska struktura izoflavonoidnih glikozida soje

Antioksidativna aktivnost fenolnih kiselina i njihovih estara zavisi od broja hidroksilnih grupa u molekulu. Otkriveno je da su hidroksilovane cimetne kiseline efikasnije nego benzo-eve kiseline. Istraživanja su pokazala da su najbolje dve ili tri susedne fenolne hidroksilne grupe (katehol ili pirogalol) i karbonilna grupa u obliku aromatičnog estara laktona ili halkona, flavonona ili favona, potrebne za postizanje visokog nivoa antioksidativne aktivnosti <sup>7,8</sup>.

## ANTIMIKROBNA SVOJSTVA FLAVONOIDA

Mnoga istraživanja pokazala su da kapacitet antioksidativnih i antimikrobnih svojstava flavonoida zavise od sorte voća kao i od pravilnog odležavanja nakon procesa fermentacije kada je reč o vinima. Antimikrobno svojstvo flavonoida je okarakterisano prisustvom (+)-katehina i kvercetina protiv gram-pozitivnih i gram-negativnih bakterija. Antimikrobno svojstvo nije u potpunosti istraženo ali jeste dokazano da postoji i da poseduje blagotvorno dejstvo po ljudski organizam <sup>16</sup>.

Danas je poznata činjenica da kvercetin deluje na DNK, dok epigalokatehin, kao antimikrobni agens, deluje na ćelijske membrane. Pored fenolnih jedinjenja, flavonoidi zajedno sa svim drugim komponentama značajno doprinose antimikrobnom delovanju hrane i pića. Dokazano je da crvena vina pokazuju mnogo veću antimikrobnu aktivnost u odnosu na bela vina, a razlog tome je upravo veća koncentracija flavonoida i antocijana <sup>16</sup>.

Nakon brojnih istraživanja početkom 20. veka, ustanovljeno je da crno vino ima ubedljivo najveće antimikrobno dejstvo od svih drugih alkoholnih pića. Razlog tome je to što etanol koji se nalazi u vinima reaguje sa organskim kiselinama, čije delovanje znatno osnažuje niska pH vrednost karakteristična za vina. Ta pH vrednost veoma je bliska pH vrednostima koje postoje u stomaćnom soku koja je uvek nešto manja od 2 <sup>17</sup>.

Veliko interesovanje podstaklo je i domaće istraživače da prouče delovanje sorti voća kao što su grožđe, šljive, maline, kupine i ribizle koje se uzgajaju na našim prostorima i uporede ih sa drugim svetskim sortama. Ustanovljeno je da su razlike u antimikrobnom dejstvu u zavisnosti od sorte veoma male. To znači da pokazuju gotovo isto antimikrobno dejstvo prema istim vrstama bakterija <sup>16</sup>.

## ANTITUMORNA SVOJSTVA FLAVONOIDA

Pored istaknutog antimikrobnog, uočeno je i antitumorsko delovanje flavonoida. Kako ćelije karcinoma ne detektuju i ne odgovaraju na signale organizma da prestanu sa proliferacijom, one to kontinuirano, rapidno i nekontrolisano nastavljaju da čine. Usled protoka vremena i intenziviranja proliferacije, dolazi do stvaranja sve većih kancerogenih tkiva. Endogeni i egzogeni faktori smatraju se odgovornim za stvaranje ćelija karcinoma (stres, genetske predispozicije, kontaminiranost

okoline i drugo). Danas je to preventivno izlečiva bolest, jer stil života značajno utiče na njegovo nastajanje <sup>18</sup>.

Dokazano je da polifenolni antioksidansi, kao što su flavonoidi, zajedno sa drugim antioksidansima koje možemo pronaći u čajevima i voću, smanjuju rizik od hroničnih bolesti, a naročito karcinoma. Flavonoidi deluju na izrazito veliki broj regulatornih mehanizama u organizmu kao što su regulacija rasta, deoba ćelija, popravka oštećenih gena, upale i odgovori na spoljni stres. Izdvajaju se četiri glavna mehanizma koji u sinergiji daju antitumorsko delovanje flavonoida, to su antioksidativna aktivnost, regulacija proteina p53, inhibicija aktivnosti protein kinaza i apoptoza. Iako je antioksidativna aktivnost razmatrana kao posebna celina, bitno je napomenuti da je ona neodvojivi deo antitumornog svojstva flavonoida jer preventivno deluje protiv oksidativnog stresa <sup>19</sup>.

## ZAKLJUČAK

Biljke, voće i povrće sadrže visok sadržaj flavonoida za koje je pokazano da imaju velike benefite po ljudsko zdravlje. Prema radovima novijeg datuma nedvosmisleno se može videti da veliki broj naučnika ispituje antioksidativni, antiproliferativni i antimikrobni kapacitet komponenti voća, povrća i biljaka.

Među prvim ozbiljnim istraživanjima bilo je istraživanje u Francuskoj koje je kasnije nazvano „Francuski paradoks“. Naučnicima je bilo čudno što francuzi, iako koriste namirnice bogate zasićenim mastima, veoma retko obolevaju od kardiovaskularnih bolesti. Sa druge strane, narodi koji konzumiraju sličnu hranu imali su mnogo veći broj koronarnih bolesnika. Bilo je jasno da francuzi iz nekog razloga bolje podnose ovakvu ishranu, ali razlog tome u prvi mah nije bio poznat. Temeljnim istraživanjima polifenolnih jedinjenja prisutnih u biljkama i njihovim uticajem na bolesti kardiovaskularnog sistema, dolazi se do zaključka da jedinjenja koja su prisutna u crvenom vinu veoma dobro regulišu nivo nezasićenih masti u organizmu. Ovo nije jedini slučaj, ali je jedan od prvih koji je skrenuo pažnju na značaj konzumiranja hrane bogate ovom vrstom jedinjenja, što je bio i fokus analize ovog rada.

## LITERATURA

1. Salehi B, Venditti A, Sharifi-Rad M, et al. The therapeutic potential of naringenin: a review of clinical trials. *Pharmaceuticals* 2019; 12: 11.
2. Pei R, Liu X, Bolling B. Flavonoids and gut health. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2020; 23: 1-7.
3. Xu W, Dubos C, Lepiniec L. Transcriptional control of flavonoid biosynthesis by MYB-bHLH-WDR complexes. *Trends Plant Sci* 2015; 20: 176-85.
4. Khoo HE, Azlan A, Tang ST, Lim SM. Anthocyanidins and anthocyanins: colored pigments as food, pharmaceutical ingredients, and the potential health benefits. *Food Nutr Res* 2017; 61: 1361779.
5. Khan H, Ullah H, Martorell M, et al. Flavonoids nanoparticles in cancer: treatment, prevention and clinical prospects. *Semin Cancer Biol* 2021; 69: 200-11.
6. Costa C, Tsatsakis A, Mamoulakis C, et al. Current evidence on the effect of dietary polyphenols intake on chronic diseases. *Food Chem Toxicol* 2017; 110: 286-99.
7. Chen L, Teng H, Xie Z, et al. Modifications of dietary flavonoids towards improved bioactivity: An update on structure-activity relationship. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2018; 58: 513-27.
8. Shahidi F, Naczki M. Phenolics in food and nutraceuticals. *J Chem Inf Model* 2004; 53: 1689-99.
9. Heldt HW, Piechulla B. Phenylpropanoids comprise a multitude of plant secondary metabolites and cell wall components. *Plant Biochem* 2011; 431-49.
10. Reis JH, Silva TP, Silva RR, Rocha MV, Branco A. Hydroxybenzoic acids: from plant extracts to chemoprevention and anti-cancer therapy. *Planta Med* 2020; 86: 951-68.
11. Tohge T, Fernie AR. The genetics of plant metabolism. *Annu Rev Genet* 2017; 51: 287-310.
12. Dixon RA, Paiva NL. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell* 1995; 7: 1085-97.
13. Osakabe Y, Osakabe K, Shinozaki K. Transcriptional regulation of lignin biosynthesis. *Plant Signal Behav* 2014; 9: e27522.
14. Grotewold E. The genetics and biochemistry of floral pigments. *Annu Rev Plant Biol* 2006; 57: 761-80.
15. Li S, Li S, Li J. Plant flavonoids: biosynthesis, transport and interaction with other organisms. *Front Plant Sci* 2019; 10: 820.
16. Radovanović NA. Karakterizacija i korelacija bioaktivnih fenolnih jedinjenja crveni vina Balkana i njihova antioksidaciona i antimikrobna svojstva. Doktorska disertacija. Beograd: Hemijski fakultet, Univerzitet u Beogradu, 2014.
17. Soto-Hernández M, Palma-Tenango M, García-Mateos R, eds. Phenolic compounds - biological activity. London: IntechOpen, 2018.
18. Russo M, Spagnuolo C, Russo GL, et al. Nrf2 targeting by sulforaphane: a potential therapy for cancer treatment. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2018; 58: 1391-405.
19. Tang Y, Li S, Li W et al. Anticancer potential of dietary natural products: a comprehensive review. *Food Funct* 2021; 12: 422-54.