

ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ФЛАВОНОИДИТЕ КВЕРЦЕТИН И ХРИЗИН СО ПРИМЕНА НА УЛТРАВИОЛЕТОВА ДЕРИВАТИВНА СПЕКТРОСКОПИЈА

Николовска-Чолеска Ж., Клисарова Лј.*, Шутуркова Љ., Доревски К.
Институт за Фармацевтска хемија, Фармацевтски факултет, Скопје
*Институт за Хемија, Природно-математички факултет, Скопје

Деривативната UV спектроскопија претставува погодна метода за идентификација и квантитативно определување на голем број органски соединенија и во фармацијата наоѓа примена за определување на едно компонентни дозажни форми во присуство на ексципиенси или деградациони продукти, како и за анализа на две и повеќе компонентни системи. (1,2)

Флавоноидите хризин (5,7-дихидроксифлаван) и кверцетин (3,5,7,3',4'-пентахидроксифлаван) присутни се во голем број на лековити растенија како и во природниот пчелин продукт прополис, каде се носители на одредени биолошки особини (3).

Во литературата се опишани голем број на методи за определување на флавоноиди, во зависност од тоа дали се определува содржината на вкупни односно поедини флавоноиди. За определување на вкупни флавоноиди најчесто се применува спектрофотометријата преку создавање на комплекс помеѓу флавоноидите и одреден реагенс (антимон III хлорид, циркониум оксихлорид, алуминиум хлорид). За определување на содржината на поедини флавоноиди се применуваат дензитометриски и спектрофотометриски методи при што е неопходно претходно разделување на флавоноидите со тенкослојна или хартиена хроматографија. Истотака за определување на поедини флавоноиди се повеќе наоѓаат примена гасната и течната хроматографија под висок притисок (4,5).

Со цел да се овозможи директно определување на поедини флавоноиди, без нивно претходно разделување, пристапиме кон разработување и поставување на нова метода за квантитативно определување на флавоноидите кверцетин и хризин во смеша, со примена на UV деривативна спектроскопија.

Експериментален дел

Во испитувањето користени се р.а. супстанции хризин и кверцетин (Aldrich). Основните раствори на хризин и кверцетин припремени се во етанол во концентрација од 0,1 mg/ml, односно серија од стандардни раствори во концентрација од 2-16 µg/ml. Припремени се смеси кверцетин-хризин и тоа: смеша во која едниот флавоноид е константен во концентрација од 4, 8 односно 12 µg/ml, а вториот се менува во концентрационо подрачје од 2-16 µg/ml и смеша во која концентрацијата на едниот флавоноид расте, а на другиот опаѓа во концентрационо подрачје од 2-16 µg/ml. Снимањето се врши на Perkin Elmer UV/VIS спектрофотометар Lambda 16, поврзан со апликативен софтвер UVWinLab. Сканирањето се врши со брзина од 240 nm/min, резолуција 1 nm и слит 1 nm.

Резултати и дискусија

Абсорпционите спектри на хризин и кверцетин во етанол, се карактеризираат со абсорпциони максимуми кои не можат да се користат за нивно определување во смеша, бидејќи постои меѓусебно влијание. Меѓутоа првиот и вториот деривативен спектар покажува спектрални карактеристики кои овозможуваат симултано определување на двете соединенија.

Можностите на различни графички и zero-crossing мерења се следени од спектрите на првиот и вториот извод за двата испитувани флавоноида. Анализата на добиените резултати покажа дека деривативниот сигнал на 256 nm од првиот извод е специфичен за хризинот односно дека тие не зависат од присуството на кверцетин во испитуваното концентрационо подрачје, што се потврди со појавата на изобестична точка на 256 nm во првиот извод на смеси кои содржат константна содржина на кверцетин и променлива на хризин. Во првиот извод не е забележано pogodно подрачје за определување на кверцетинот, затоа што во целото подрачје се забележува влијание од присутниот хризин. Од друга страна анализата на спектарот од

вториот извод покажа дека деривативниот сигнал ${}^2D_{258}$ е карактеристичен за кверцетин, односно влијанието на хризинот на овие бранови должини е незначително.

Калибрационите криви беа конструирани преку мерења на амплитудите на сигналот во првиот извод ${}^1D_{256}$ (за хризин) а во вториот извод ${}^2D_{258}$ (за кверцетин) во концентрационо подрачје од 2-16 $\mu\text{g/ml}$. Притоа се добиени следните регресиони равенки и корелациони коефициенти (r):

$${}^1D_{256} = 4,1311 \cdot 10^{-4} + 4,0032 \cdot 10^{-3} X \quad (r=0,9999)$$

$${}^2D_{258} = 3,9817 \cdot 10^{-5} + 4,4216 \cdot 10^{-4} X \quad (r=0,9999)$$

Високите вредности на корелациониот коефициент укажува на добра линеарност во испитуваното концентрационо подрачје.

Испитана беше можната интеракција помеѓу двата флавоноида преку следење на концентрацијата на хризин, односно кверцетин во смешите, при што се утврди дека одбраните деривативни амплитуди се соодветни, а методата е прецизна и точна што се гледа од ниските вредности на релативната стандардна девијација (0,24-2,52%) и високите вредности на рикавери (99,55-102,50%) (табела 1).

Табела 1: Резултати од определувањето на хризин и кверцетин во смеша со UV деривативна спектроскопија

Земено	Најдено (n = 5)					
	хризин ($\mu\text{g/ml}$)	Rec. (%)	RSD (%)	кверцетин ($\mu\text{g/ml}$)	Rec. (%)	RSD (%)
2 : 16	2,045	102,25	0,241	16,241	101,51	0,638
4 : 12	4,101	102,50	2,187	12,132	101,10	0,861
8 : 8	8,016	100,21	1,247	8,068	100,85	0,985
12 : 4	12,116	100,96	1,044	4,038	100,95	2,521
16 : 2	16,019	100,12	1,539	1,991	99,55	2,455

Литература:

1. E.R.M. Hackmann, S.A. Benetton and M.I.R.M. Santoro, *J. Pharm. Pharmacol.* **43**, 285 (1991);
2. A.Parra, M.D. Gomez, V. Rodenas, J.Garcia-Villanova and M.L.Lopez, *J.Pharm. Biomed. Anal.* **10**, 525 (1992);
3. Ghisalberty E.L., *Bee World* **60** (2), 59 (1979);
4. A. Villar, S.Manez, A.Llopis, *Ann. Pharm. Fr.* **42**, 349 (1984);
5. V.S.Bankova, S.S. Popov, N.L. Marekov, *Journal of Chromatography* **242**, 135 (1982)

DETERMINATION OF FLAVONOIDS QUERCETIN AND CHRYSIN BY DERIVATIVE ULTRAVIOLET SPECTROPHOTOMETRY

Ž.Nikolovska-Čoleska, L.J. Klisarova*, Lj.Šuturkova, K.Dorevski

* Institute of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy, Skopje
Institute of Chemistry, Faculty of Science, Skopje

First-derivative and second-derivative spectrophotometric methods have been developed for the analysis of chrysin and quercetin in mixture. The amplitude in the first derivative spectrophotometric spectra at 256 nm and the amplitude in the second derivative spectrophotometric spectra at 258 nm, were selected to determine chrysin and quercetin, respectively. A linear relationship between derivative amplitudes and the concentrations was demonstrated over the range 2-16 $\mu\text{g/ml}$ for both components ($r=0,9999$). The method was applied to the determination of flavonoids in binary mixture. The obtained results showed a satisfactory recovery (99,55-102,50 %) and confirmed the accuracy of the method.