

СПЕКТРОФОТОМЕТРИСКО ОПРЕДЕЛУВАЊЕ НА ВКУПНИ ФЛАВОНОИДИ ВО ПРЕТСТАВНИЦИ ОД РОДОТ *Thymus L.* (LAMIACEAE)

Кулеванова С., Стафилов Т.*, Ристов Т.

Институт за фармакогнозија, Фармацевтски факултет, Скопје

*Институт за хемија, Природно-математички факултет, Скопје

За определување на вкупни флавоноиди во различен растителен материјал предложени се поголем број методи кои според видот на хемиската реакција можат да се поделат во 4 групи: реакции на редукција со магнезиум или цинк во кисела средина, реакции на комплексирање со метали, реакции со diazoniум соли и реакции со алкалии [1]. Во зависност од тоа дали се определуваат вкупни флавоноиди или некоја компонента од флавоноидниот комплекс, се применуваат различни техники на работа: денситометрија, спектрофлуориметрија, гасна хроматографија или течна хроматографија. За определување на вкупни флавоноиди најчесто се применува спектрофотометријата базирана на комплексирање со одредени метали коишто овозможуваат батохромно поместување на апсорпционите максимуми во UV-VIS спектрите на флавоноидите [2]. Најчесто употребуван реагенс е раствор на $AlCl_3$ во метанол-оцетна киселина. Christ и Müller [3] предложиле употреба на овој реагенс за определување на вкупни флавоноиди во дрогата *Betulae folium* и истата е прифатена од Германската фармакопеја DAB-9. Применета во оригинална форма, при што како стандарди се користени кверцетин и апигенин, методата не дава репродуцибилни резултати при определување на вкупните флавоноиди во претставници од родот *Thymus*.

Во овој труд е предложена метода за спектрофотометриско определување на вкупни флавоноиди во претставници од родот *Thymus* базирана на реакцијата на флавоноидите со NaOH.

МАТЕРИЈАЛИ И МЕТОДИ

Материјалот за испитување е собран од различни локалитети во Р. Македонија а таксономски ваучер за секој од примероците е депониран во Институтот за биологија при ПМФ, Скопје.

Постапка. 0,5 г дрога се екстрахира во ерленмаер со повратно ладило со 50 ml раствор 70% етанол во траење од 2 часа на водена бања. По филтрирањето, 10 ml од растворот се хидролизираат со 2 ml HCl (25%, w/v) во ерленмаер со повратно ладило, 30 минути на водена бања. По ладењето хидролизатот се екстрахира во одделителна инка 3 пати со по 15 ml етилацетат. Собраниот етилацетатен екстракт се испира 2 пати со по 50 ml вода, се филтрира и пренесува во одмерна тиквичка од 50 ml. Во 2 одмерни тиквички од 25 ml се става по 2 ml од припремениот раствор. Во едната тиквичка се додава 0,5 ml раствор од NaOH со концентрација од $0,5 \text{ mol dm}^{-3}$ и двете тиквички се дополнуваат со метанол. Апсорбанцата на растворот со NaOH се мери на $\lambda=390 \text{ nm}$, 20 минути по додавање на растворот од NaOH, спрема растворот во кој не е додаден NaOH а којшто служи како слепа проба. За конструирање на калибрациониот дијаграм употребен е стандард од апигенин.

РЕЗУЛТАТИ И ДИСКУСИЈА

Принципот на спектрофотометриското определување на вкупните флавоноиди во претставници од родот *Thymus* се состои во одредување на апсорпциониот максимум на "компензациониот спектар" кој претставува UV-VIS спектар на метанолен раствор на флавоноиди од пробата третирана со NaOH снимен спрема истиот раствор без NaOH. На ист начин е снимен компензационен спектар на апигенин. Моларниот апсорпционен коефициент на компензациониот

спектар на апигенин со NaOH изнесува $\epsilon_{\lambda} = 24635 \text{ mol}^{-1} \text{ dm}^3 \text{ cm}^{-1}$. Предложената метода е точна и репродуцибилна (RSD се движи од 1,85 до 5,45%).

Применувајќи ја предложената метода извршено е определување на вкупните флавоноиди во 23 примероци кои припаѓаат кон различни таксони од родот *Thymus*. Содржината на вкупните флавоноиди се движи од 0,53 до 2,58%.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. П. Кемертелидзе, В. П. Георгиевский, *Физико-химические методы анализа некоторых биологически активных веществ растительного происхождения*, Мецниереба, Тбилиси, 1976, стр. 125-134.
2. G. Stanić, B. Katušin-Ražem, J. Petričić, *Farm. Glas.* **41**, 179 (1988).
3. B. Christ, K. H. Müller, *Arch. Pharm.* **293**, 66 (1960).

SUMMARY

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF FLAVONOIDS IN DIFFERENT TAXA OF GENUS *THYMUS* L. (*LAMIACEAE*)

Svetlana Kulevanova, Trajče Stafilov* and Tomislav Ristov

Institute of Pharmacognosy, Faculty of Pharmacy, Vodnjanska 17, Skopje

*Institute of Chemistry, Faculty of Science, POB 162, Skopje, Macedonia

Spectrophotometric method for the determination of total flavonoids in different taxa of genus *Thymus* L. is proposed. The method consists of the extraction of flavonoids with ethanol, formation of the coloured complex with sodium hydroxide and absorbance measurements of a compensational spectrum. The method is simple, sensitive and reproducible and the coefficient of variation is smaller than 5.45%.