Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

J Chem Good Trad Med, Volume 4, Issue 1, 2025 Traditional Medicine

ОЦЕНКА АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЭТАНОЛЬНОМ ЭКСТРАКТЕ TANACETUM VULGARE

Ибрагим Рахманович Аскаров
Андижанский государственный университет профессор кафедры химии, доктор химических наук, Заслуженный изобретатель Узбекистана, председатель Академии ТАБОБАТ Узбекистана
https://orcid.org/0000-0003-1625-0330

Шахобидин Хасанбоевич Абдуллоев
Андижанский государственный университет Профессор кафедры химии, доктор химических наук, член Академии ТАБОБАТ Узбекистана
https://orcid.org/0000-0002-6069-1785

Мохларойим Азамат кизи Хайдарова
Андижанский государственный университет Студент 4 курса направлении химии
https://orcid.org/0009-0001-5845-8108
E-mail: xaydaraliyevamoxlaroyim@gmail.com

DOI: https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss1.2025.454

Ключевые слова:
Tanacetum vulgare, антирадикальная активность, DPPH, спектрофотометрия, фенольные соединения

Аннотация
В статье представлены результаты исследования антирадикальной активности водного и спиртового экстрактов надземной части растения пижмы (Tanacetum vulgare) методом спектрофотометрического анализа с использованием гашения свободных радикалов 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH), а также данные по количественному определению фенольных соединений с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Установлено, что спиртовой экстракт Tanacetum vulgare обладает высокой антирадикальной активностью — значение IC50 составило 19,96 мкл. Это объясняется высоким содержанием флавоноидов, таких как рутин (73,29 мг), кверцетин (25,84 мг), кемпферол (16,69 мг) и апигенин (9,97 мг) в 100 граммах растения.

Как цитировать
Аскаров, И. Р., Абдуллоев, Ш. Х., & Хайдарова, М. А. к. ОЦЕНКА АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ И КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОЛЬНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В ЭТАНОЛЬНОМ ЭКСТРАКТЕ TANACETUM VULGARE. Журнал химии товаров и народной медицины, 4(1). https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss1.2025.454

Введение. Тысячелистник, одно из лекарственных растений, используется для лечения многих заболеваний [1, 2]. Тысячелистник (Asteraceae) — многолетнее травянистое растение, называемое Achillea filipendulina. Это растение в основном встречается в природе в Центральной и Юго-Западной Азии, включая Казахстан, Иран, Афганистан, Турцию и Кавказ. Растение достигает высоты 60–120 см. Его листья глубоко разделены, похожи на папоротник,

зубчатые и ароматные, что придает ему уникальный внешний вид. Его цветки мелкие, густо расположены в плоских соцветиях и цветут ярко-желтым цветом. Период цветения длится с середины лета до конца лета. Он хорошо растет в таких регионах, как Ташкент, Самарканд, Бухара, Кашкадарья, Навои, Сурхандарья, особенно в солнечных и засушливых районах [1]. В народной медицине части растения Achelia широко используются для лечения таких заболеваний, как нервная, суставная, сердечно-сосудистая система, кишечник и желудок, а также желчные камни [2]. В данной статье анализируются результаты определения антирадикальной активности и содержания фенольных соединений водных и спиртовых извлечений надземной части Ахелии (Achelia Filipindulina). Свободные радикалы в организме в основном происходят из активных форм кислорода и азота [3, 4] и образуются под воздействием различных эндогенных систем, различных физико-химических условий или патофизиологических состояний в нашем организме. Свободные радикалы могут негативно изменять липиды, белки и ДНК, что является одной из основных причин старения и ряда заболеваний [5]. К антирадикальным или антиоксидантно активным соединениям, каталитически гасящим свободные радикалы, относятся хелатирующие соединения, гормоны, водо- и жирорастворимые витамины, тиолсодержащие аминокислоты и полипептиды, фенольные соединения, флавоноиды, каротиноиды и др. [6]. Большинство этих соединений ингибируют цепную реакцию образования свободных радикалов и предотвращают развитие окислительного стресса.

Материалы и методы.

Антирадикальную активность оценивали in vitro с использованием метода гашения радикалов 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилом (DPPH) [7] [8].

Раствор 0,812 мМ DPPH• в этаноле готовили в мерной колбе объемом 100 мл, обертывали алюминиевой фольгой и выдерживали в темноте при комнатной температуре в течение 30 минут. В кварцевую кювету объемом 4 мл и толщиной 1 см добавляли 3 мл раствора DPPH и 100 мкл этанола (холостой образец) и измеряли оптическую плотность (D1) раствора каждые 30 секунд при 517 нм в течение 10 минут с помощью спектрофотометра YOKE (Китай) K7000.

Для получения этанольного экстракта Дастарбаша 1 г образца кипятили в 25 мл 96% этанола в ультразвуковой ванне мощностью 100 Вт в течение 20 минут в круглодонной колбе объемом 50 мл, снабженной обратным холодильником. Экстракт охлаждали и фильтровали через шприцевой фильтр 0,45 мкм для анализа. Для оценки антирадикальной активности праймера 25, 50, 75, 100 мкл экстракта образца смешивали с 3 мл раствора DPPH и измеряли оптическую плотность (D_2) растворов, полученных в вышеуказанной процедуре, при длине волны 517 нм. К оставшейся части добавляли этанол, доводя общий объем раствора в кювете до 3,1 мл. Антирадикальную активность образцов рассчитывали в процентах по следующей формуле:

$$ARA, \% = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \cdot 100\%$$

Хроматографический анализ. Содержание полифенолов в Achelia Filipindulina (ахелии филипиндулине) определяли на высокоэффективном жидкостном хроматографе Shimadzu LC-40 Nexera Lite. 1,5 мл экстракта центрифугировали при 7000 об/мин на центрифуге Mini-7 (BIOBASE, Китай) и фильтровали через шприцевой фильтр 0,45 мкм и использовали для анализа.

Хроматографическое определение фенольных соединений. Хроматографический анализ смеси стандартных растворов и спиртового экстракта надземной части Achelia Filipindulina проводили на обращенно-фазовой колонке Shim pack GIST C18 (150 × 4,6 мм; 5 мкм, Shimadzu) с использованием градиентной подвижной фазы, состоящей из ацетонитрила (А) и 0,5% раствора уксусной кислоты в воде (Б) (таблица 1).

Таблица 1. Программа градиента подвижной фазы.

Время	Ацетонитрил (А), %	0,5% уксусная кислота (Б), %
0	5	95
5	5	95
17	40	60
22	40	60
22,1	5	95
40	Заканчивать	

Объем инфекции был установлен на 10 мкл, скорость потока составляла 0,5 мл/мин, а термостат колонки был установлен на 40 оС. Хроматограммы регистрировали при длине волны 300 нм (рисунки 1-2).

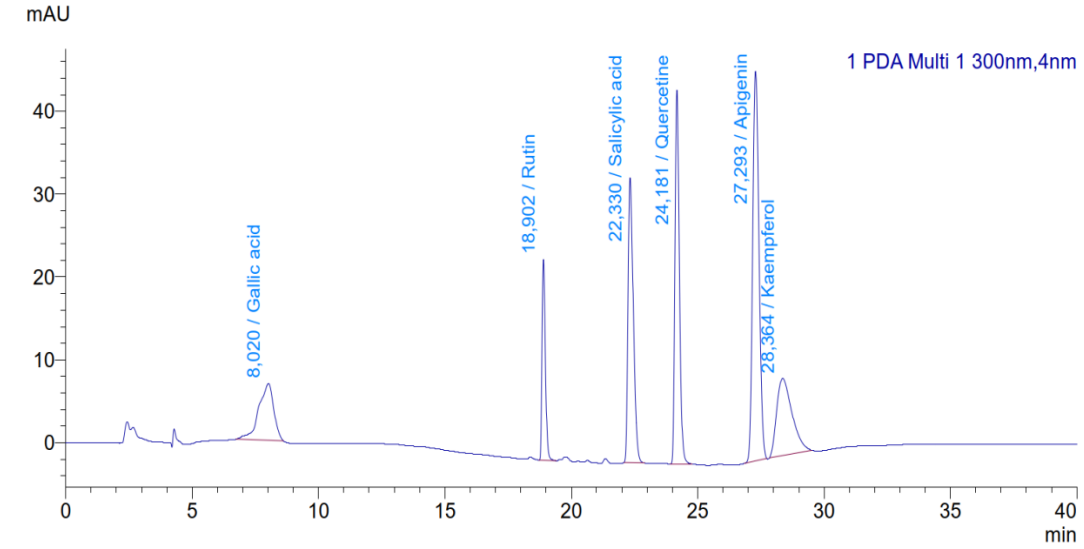


Рисунок 1. Хроматограмма при 300 нм смеси стандартных растворов.

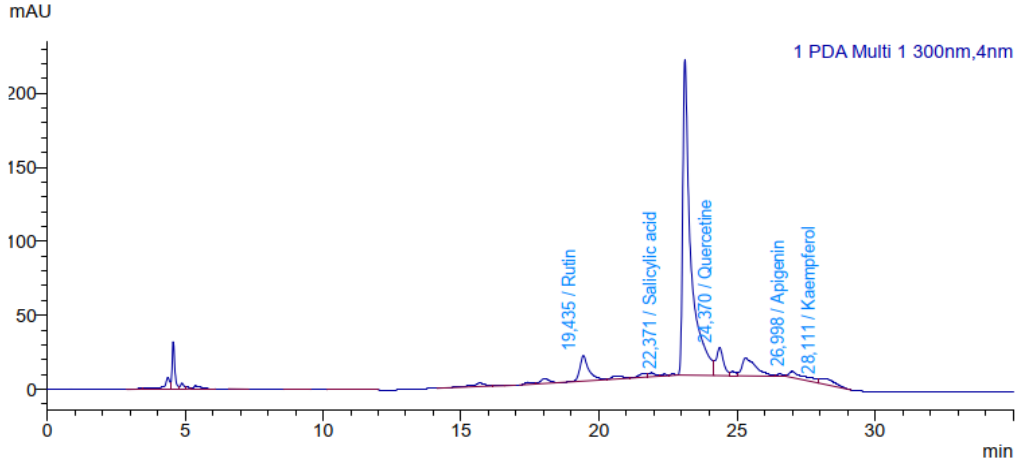


Рисунок 2. Хроматограмма для определения полифенолов в спиртовом экстракте дастарбоша.

Результаты и обсуждение.

Результаты определения антирадикальной активности. Полученные результаты оценки антирадикальной активности спиртового экстракта растения Дастарбас представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Значения оптической плотности, измеренные при длине волны 517 нм, и рассчитанная антирадикальная активность (АРА) раствора DPPH и добавленного спиртового экстракта Дастарбаса (разбавленного в 10 раз).

Объем, мкл	Время, мин.	Оптическая плотность, D	АРА, %	Объем, мкл	Время, мин..	Оптическая плотность, D	АРА, %
25	0	0,957	0,00	75	0	0,957	0,0
	5	0,887	7,31		5	0,808	15,6
	10	0,881	7,94		10	0,796	16,8
	15	0,877	8,36		15	0,788	17,7
	20	0,874	8,67		20	0,783	18,2
	25	0,872	8,88		25	0,778	18,7
	30	0,87	9,09		**30**	0,773	19,2
50	0	0,957	0,00	100	0	0,957	0,00
	5	0,847	11,49		5	0,78	18,50
	10	0,837	12,54		10	0,76	20,59
	15	0,829	13,38		15	0,744	22,26
	20	0,823	14,00		20	0,732	23,51
	25	0,819	14,42		25	0,722	24,56
	30	0,815	14,84		**30**	0,715	25,29

Для расчета IC_{50} 10-кратно разбавленного экстракта, т.е. объема образца, обеспечивающего 50% гашение раствора DPPH, был построен следующий график на основе значений антирадикальной активности (АРА, %) через 30 минут в каждом эксперименте и объема добавленных образцов спирта (рисунок 3) и рассчитан на основе примененной к нему функции линии тренда.

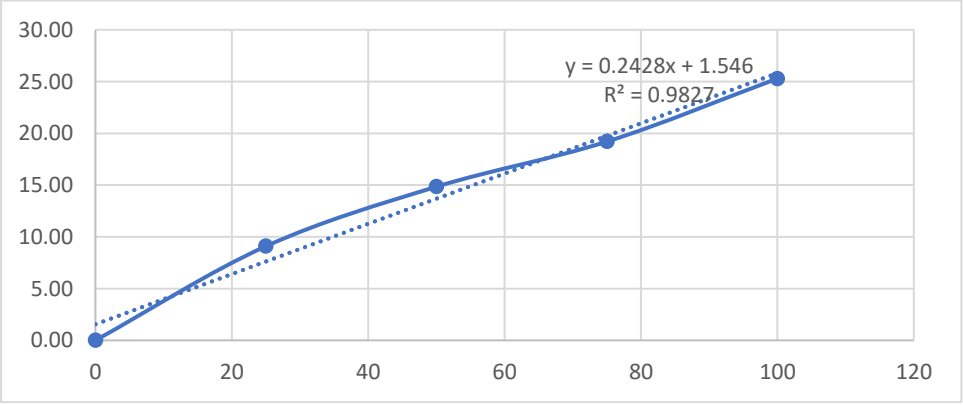


Рисунок 3. График зависимости между значениями АРА% и объемами, определенными через 30 минут экстракции основания 10-кратно разбавленным спиртом.

Линия тренда, показанная на графике, была рассчитана на основе формулы x=(y-b)/m, которая представляет собой только 50% АРА, % объема (IC_{50}) в соответствии с функцией формулы y=mx+b [8]:

$$IC_{50} = \frac{(50-0.2428)}{1.546} = 199.56\ mkl.$$

Поэтому, учитывая, что полученное значение является результатом 10-кратного разбавления спиртового извлечения корневища, было установлено, что спиртовое извлечение,

полученное при кипячении надземной части этого растения в 96% этаноле в течение 20 минут, обладает очень высокой антирадикальной активностью, а значение IC50 составляет 19,95 мкл. На основании этого мы сделали вывод, что надземная часть этого растения может быть использована в медицине в качестве сифона с высокими антирадикальными свойствами.

Результаты хроматографического определения количества фенольных соединений. На основании анализа хроматограмм, представленных на рисунках 1 и 2, количество фенольных соединений в 1 г высушенного корневища было рассчитано по следующей формуле и представлено в таблице 3.

$$X = \frac{C_{phen} \cdot V_{extract}}{m_{examle}} \cdot 100\ g$$

Здесь X — количество фенольных соединений в 100 граммах плодов, мг;

$C_{фенол}$ — концентрация фенольных соединений в экстракте, определенная методом ВЭЖХ, мг/л;

$V_{экстракта}$ — объем образца экстракта, л;

$m_{образца}$ — масса образца, взятого для приготовления экстракта.

Таблица 3. Время удерживания, концентрация и количество полифенолов в экстракте корневищного растения.

Название соединения фенола	Время выдержки, сек	Концентрация, мг/л	Количество в 100 г образца, мг
Gallic acid	Не указан	0	0,000
Rutin	19,435	29,317	73,293
Salicylic acid	22,371	0,607	1,518
Quercetine	24,37	10,337	25,843
Apigenin	26,998	3,987	9,968
Kaempferol	28,111	6,674	16,685

Заключение. Результаты данного исследования показали, что содержание флавоноидных соединений, особенно рутина и кверцетина, в составе растения высокое. Эти флавоноиды известны своими сильными антиоксидантными свойствами, которые полезны при профилактике и лечении ряда заболеваний, таких как сердечно-сосудистые заболевания, диабет и воспаления. В связи с высокой концентрацией флавоноидов в растении, мы рекомендуем использовать растение в качестве сырья для производства пищевых добавок на его основе.

Литературы

1. O‘zbekiston florasi. Toshkent: O‘zbekiston Respublikasi Fanlar akademiyasi. 2005. - 215-218 bb.
2. Devasagayam T.P., Tilak J.C., Boloor K.K, Sane K.S., Ghaskadbi S.S., Lele R.D. Free radicals and antioxidants in human health: current status and future prospects. J Assoc Physicians India. 2004 Oct; 52:794-804. PMID: 15909857.
3. Chaudhary P., Janmeda P., Docea A.O., Yeskaliyeva B., Abdull Razis A.F., Modu B., Calina D. and Sharifi-Rad J (2023), Oxidative stress, free radicals and antioxidants: potential crosstalk in the pathophysiology of human diseases. Front. Chem. 11:1158198., doi: 10.3389/fchem.2023.1158198.
4. Gulcin, I.; Beydemir, S.; Sat, I.G.; Kufrevioglu, O.I. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (Cornus mas L.). Acta Aliment. Hung. 2005, 34, 193–202 pp.
5. Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958, 181, 1199–1200 pp.

6. Charnes, A.; Frome, E. L.; Yu, P. L. (1976). "The Equivalence of Generalized Least Squares and Maximum Likelihood Estimates in the Exponential Family". Journal of the American Statistical Association. 71 (353): 169–171pp., https://doi.org/10.1080%2F01621459.1976.10481508.
7. Askarov I.R., Muminov M.M., Yusupov M.A. Study of antiradical properties of artichoke (Cynara scolymus l.) And milk thistle (Sylybum marianum l.) Vegetable oils. NamDU Ilmiy Axborotnomasi, 2024, 11, 173-177 pp.
8. Askarov, I. R., Abdullaev, S. S., Mamatkulova, S. A., & Abdulloev, O. S. (2024). Antioxidant activity and elemental composition of mixtures of fig and common unabi fruits. Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine, 3(3), 179–205 pp., https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol3.iss3.2024.320.