Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

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

TANACETUM VULGARE SPIRTLI EKSTRAKTINING ANTIRADIKAL FAOLLIGINI BAHOLASH VA FENOLLI BIRIIKMALAR MIQDORINI ANIQLASH

Ibrohimjon Rahmonovich Asqarov
Andijon davlat universiteti Kimyo kafedrasi professori, kimyo fanlari doktori, O‘zbekistonda xizmat ko‘rsatgan ixtirochi, O‘zbekiston TABOBAT Akademiyasi raisi
https://orcid.org/0000-0003-1625-0330

Shaxobidin Xasanboyevich Abdulloyev
Andijon davlat universiteti Kimyo kafedrasi professori, kimyo fanlari doktori, O’zbekiston TABOBAT Akademiyasi a’zosi
https://orcid.org/0000-0002-6069-1785

Mohlaroyim Azamat qizi Xaydarova
Andijon davlat universiteti Kimyo yo‘nalishi 4-kurs talabasi
https://orcid.org/0009-0001-5845-8108
E-mail: xaydaraliyevamoxlaroyim@gmail.com

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

Kalit so'zlar:
Tanacetum vulgare, antiradikal faollik, DPPH, spektrofotometriya, fenolli birimalar

Annotatsiya

Maqolada oddiy dastarbosh (*Tanacetum vulgare*) yer ustki qismining suvli va spirtli ekstraktlarining antiradikal faolligini 2,2-difenil-1-pikrilgidrazil (DPPH) erkin radikallarini so`ndirish usulida spektrofotometrik baholash hamda tarkibidagi fenollar miqdorini yuqori samarali suyuqlik xromatografiya YuSSX metodi yordamida aniqlash bo`yicha tadqiqot natijalari keltirilgan. Tanacetum vulgare spirtli ekstraktining antiradikall faolligi juda yuqori bo`lib, aniqlangan IC50 ko`rsatkichi qiymati 19,96 mkl hajmni tashkil etdi. Buning asosiy sababi etib oddiy dastarbosh o’simligining 100 grammi tarkibida biz tomonimizdan ko`p miqdorda aniqlangan rutin (73,29 mg), quercetine (25,84 mg), kaempferol (16,69 mg) va apegenin (9,97 mg) flavanoidlarini ko`rsatish mumkin.

Havola uchun

Asqarov, I. R., Abdulloyev, S. X., & Xaydarova, M. A. qizi. TANACETUM VULGARE SPIRTLI EKSTRAKTINING ANTIRADIKAL FAOLLIGINI BAHOLASH VA FENOLLI BIRIIKMALAR MIQDORINI ANIQLASH. Tovarlar Kimyosi Va Xalq Tabobati Jurnali, 4(1). https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss1.2025.454

Kirish. Dorivor o’simliklardan biri bo’lgan dastarbosh ham ko’p kasalliklarni davolashda foydalanib kelinadi [1, 2]. Dastarbosh (*Asteraceae*) ayiqtovonlar oilasiga mansub ko‘p yillik o‘t o‘simlik bo‘lib, Achillea filipendulina deb nomlangan. Bu o‘simlik asosan Markaziy va Janubi-G‘arbiy Osiyo hududlarida, jumladan Qozog‘iston, Eron, Afg‘oniston, Turkiya va Kavkazda tabiiy holda uchraydi. O‘simlikning bo‘yi 60–120 sm gacha yetadi. Barglari chuqur bo‘lingan, paporotniksimon, tishli va xushbo‘y bo‘lib, o‘ziga xos ko‘rinishga ega. Gullari mayda, zich yassi to‘pgullar shaklida joylashgan bo‘lib, yorqin sariq rangda gullaydi. Gullash davri yoz o‘rtasidan boshlab kech yozgacha davom etadi. Toshkent, Samarqand, Buxoro, Qashqadaryo, Navoiy, Surxondaryo kabi viloyatlarda, ayniqsa quyoshli va qurg‘oqchil joylarda yaxshi o‘sadi [1]. Xalq tabobatida dastarvbosh o`simligi qismlaridan asab, bo`g`im, yurak qon tomir sistemasi, ichak va me’da, o`t-tosh kabi kasalliklarni davolashda keng qo`llaniladi [2].

Mazkur maqolada dastarbosh (*AcheliaFilipindulina*) yer ustki qismining suvdagi va spirtdagi ekstraktlarining antiradikallik faolligini va fenolli birikmalar miqdorini aniqlash natijalari tahlil qilingan. Organizmda erkin radikallar asosan kislorod va azot faol shakllaridan kelib chiqadi [3, 4] va organizmizdagi turli endogen tizimlar, har xil fizik-kimyoviy sharoitlar yoki patofiziologik sharoitlar ta'sirida hosil bo'ladi. Erkin radikallar lipidlarni, oqsillarni va DNKni salbiy o'zgartirishi mumkin, bu qarishning va bir qator kasalliklarining paydo bo'lishining asosiy sabablaridan biridir [5]. Erkin radikallarni katalitik so`ndiruvchi antiradikal yoki antioksidant faol birikmalarga xelat birikmalari, gormonlar, suvda va yog'da eriydigan vitaminlar, tiol guruhli aminokislotalar va polipeptidlar, fenolli birikmalar, flavonoidlar, karotinoidlar va boshqalar kiradi [6]. Ushbu birikmalarning aksariyati erkin radikal hosil bo'lishining zanjirli reaksiyasini to'xtatib, oksidlovchi stressning rivojlanishiga to'sqinlik qiladi.

Materiallar va metodlar.

Antiradikallik faollikni baholash 2,2-difenil-1-pikrilgidrazil (DPPH) radikalini so’ndirish metodi yordamida in vitro sharoitda amalga oshirildi [7] [8].

Hajmi 100 ml bo’lgan o‘lchov kolbasida etanolda 0,812 mM DPPH• eritmasi tayyorlanib, alyuminiy qog‘ozga o‘ralib 30 daqiqa xona haroratida qorong‘i joyda saqlandi. Qalinligi 1 sm bo’lgan 4 ml hajmli kvarts kyuvetaga 3 ml DPPH eritmasi va 100 mkl etanol (bo‘sh namuna) qo‘shib 10 daqiqa davomida har 30 sekundda 517 nm to‘lqin uzunligida eritmaning optik zichligi (D1) YOKE (Xitoy) K7000 spektrofotometrida o‘lchandi.

Dastarboshning etanoldagi ekstraktini olish uchun qaytarma sovitkich bilan jihozlangan 50 ml hajmli tubi yumaloq kolbada 1 g namuna 25 ml 96 %-li etanolda 100 W quvvatga ega bo’lgan ultratovushli vannada 20 daqiqa davomida qaynatildi. Ekstrakt sovitilib, analiz uchun hajmi 0,45 mkm o‘lchamli shpritsli filtrda filtrlandi. Dastarboshning antiradikallik faolligini baholash uchun 25, 50, 75, 100 mkl namuna ekstrakti 3 ml DPPH eritmasi bilan aralashtirilib, yuqoridagi tartibda hosil bolgan eritmalarning 517 nm to’lqin uzunlikdagi optik zichligi (D2) o‘lchandi. Kyuvetadagi eritmaning umumiy hajmini 3,1 ml ga yetkazish uchun qolgan qismiga etanol qo‘shildi. Namunalarning antiradikallik faolligini foizlarda quyidagi formula bilan hisoblandi:

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

Xromatografik analiz. Dastarbosh (*Achelia Filipindulina*) tarkibidagi polifenollar miqdorini Shimadzu LC-40 Nexera Lite yuqori samarali suyuqlik xromatografida amalga oshirildi. Dastarbosh ekstraktdan 1,5 ml miqdori Mini-7 markali (BIOBASE, Xitoy) sentrifugada 7000 ayl./min tezlikda sentrifugalandi va 0,45 mkm li shpritsli filtrda filtrlanib analiz uchun foydalanildi.

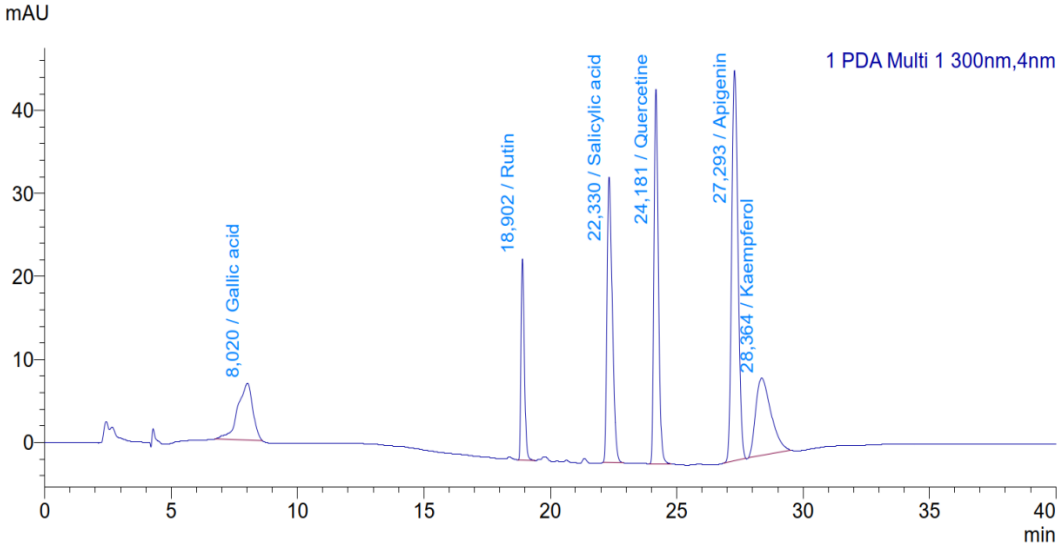
Fenol birikmalarni xromatografik aniqlash. Standart eritmalar aralashmasi va dastarbosh yer ustki qismi spirtli ekstraktining xromatografik analizi Shim pack GIST C18 (150 × 4,6 mm; 5 mkm, Shimadzu) teskari fazali kolonkasidan foydalangangan holda, atsetonitril (A) va sirka kislotaning suvdagi 0,5 % li eritmasidan (B) tashkil topgan gradiyentli harakatchan faza (1-jadval) qo'llanilib amalga oshirildi.

1-jadval .Harakatchan faza gradiyent dasturi.

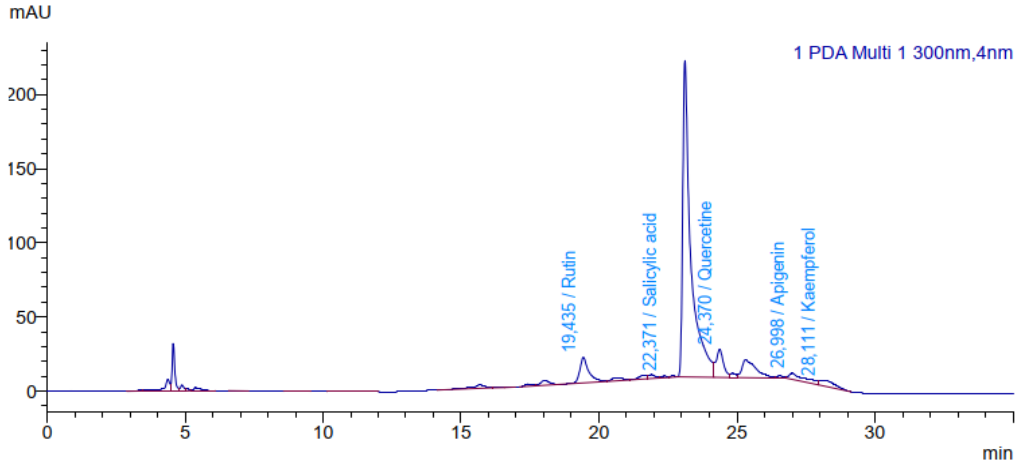
Vaqt	Atsetonitril (A), %	0,5 % li sirka kislota (B), %
0	5	95
5	5	95
17	40	60
22	40	60

22,1	5	95
40	Tugatish	

Infektsiya hajmi 10 mkl, oqim tezligi 0,5 ml/min va kolonka termostati 40 ^{o}C etib belgilandi. 300 nm to`lqin uzunlikda qayd etilgan xromqatogrammalar (1-2 rasmlar).



1-rasm. Standart eritmalar aralashmasining 300 nm dagi xromatogrammasi.



2-rasm. Dastarbosh spirtli ekstrakti tarkibidagi polifenollarni aniqlash xromatogrammasi.

Natijalar va ularning muhokamasi.

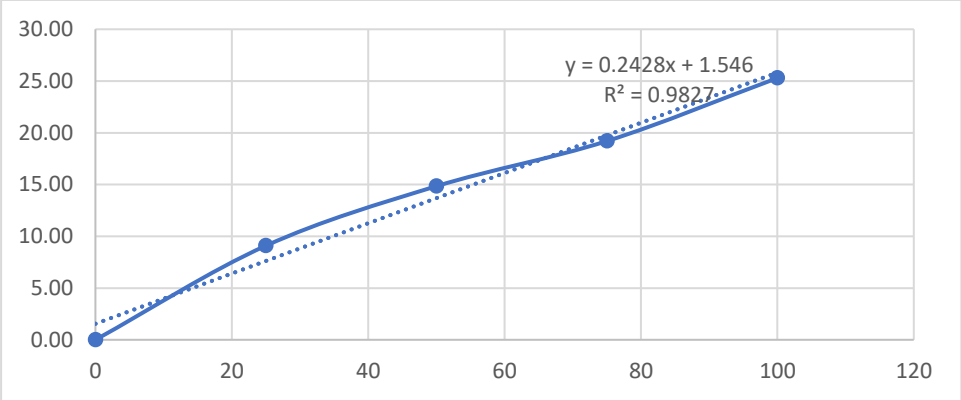
Antiradikal faollikni aniqlash natijalari. Dastarbosh o`simligining spirtli ekstrakrtining antiradikalligini baholash bo`yich olingan natijalar 2-jadvalda keltirilgan.

2-jadval. DPPH eritmasining va unga qo'shilgan dastartbosh spirtli ektraktining (10 marta suyultirilgan) 517 nm to`lqin uzunlikda o`lchangan optik zichlilari qiymatlari va hisoblangan antiradikallik faolligi (ARF).

Hajm, mkl	Vaqt, daq.	Optik zichlik, D	ARF, %	Hajm, mkl	Vaqt, daq.	Optik zichlik, D	ARF, %
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

10 marta suyltirilgan ekstraktning IC_{50} ko`rsatgichini, ya'ni DPPH eritmasining 50 % gacha so`ndirilisini ta'minlovchi namuna hajmini hisoblash, har bir tajribada 30-daqiqadagi antiradikallik faolliklari (ARF, %) qiymatlari va qo'shilgan spirtli namunalar hajmi asosida quyidagi grafik tuzildi (3-rasm) hamda unga o'tkazilgan trend chizig'i funksiyasi asosida hisoblab topildi.



3-rasm. 10 marta suyultirilgan dastarbosh spirtli estraksiyasining 30-daqiqada aniqlangan ARF% qiymatlari va hajmlari o'rastidagi bog'liqlik grafiki.

Grafikga o'tkazilgan trend chizig'i funksiya formulasi y=mx+b dan 50 % ARF, % namoyon qiluvchi hajmni (IC_{50}) x=(y-b)/m formulasi asosida hisoblandi [8]:

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

Demak, olingan qiymat dastarbosh spirtli ekstraktining 10 barobar suyultrish natijasi ekanligini inobatga olsak bu o`simlik yer ustki qismini 96 %-li etanolda 20 daqiqa davomida qaynatish yo`li bilan olingan spirtli ekstraktining antiradikallik faolligi juda yuqori bo`lib, IC50 qiymati 19,95 mkl ni tashkil etishi ma'lum bo`ldi. Shundan kelib chiqib, ushbu o`simlik yer ustki qismidan tabobatda antiradikallik xususiyati yuqori bo`lgan sifobaxsh vosita sifatida foydalanish mumkin degan xulosa keldik.

Fenolli birikmalar miqdorini xromatografik aniqlash natijalari. 1- va 2-rasmlarda ko`rsatilgan xromatogrammalarni tahlil qilish asosida 1 g quritilgan dastarbosh o'simligi tarkibidagi fenol birikmalar miqdorlari quyidagi formula bilan hisoblanib 3-jadvalda keltirildi.

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

Bu yerda, X – 100 gram meva tarkibidagi fenol birikmalarning miqdori, mg;

C_{phen} – ekstrakt tarkibidagi fenol birikmaning YuSSX usuli bilan aniqlangan konsentratsiyasi, mg/l;

$V_{ekstrakt}$ – namuna ekstraktining hajmi, l;

m_{namuna} – ekstrakt tayyorlash uchun tortib olingan namuna massasi.

3-jadval. Dastarbosh o'simligi ekstraktdagi polifenollarning ushlanish vaqtlari, konsentratsiyasi va miqdori.

Fenol birikma nomi	Ushlanish vaqti, sek	Konsentratsiya, mg/l	100 g namunadagi miqdor, mg
Gallic acid	Aniqlanmadi	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

Xulosa. Ushbu tadqiqot natijalari shuni ko'rsatdiki, dastarbosh o'simligi tarkibida flavonoid birikmalari, ayniqsa rutin va quercetin miqdori yuqori ekanligi aniqlangan. Bu flavonoidlar o'zining kuchli antioksidant xususiyatlari bilan tanilgan bo'lib, ular yurak-qon tomir tizimi, qandli diabet, yallig'lanish kabi bir qator kasalliklarning oldini olishda hamda ularni davolashda foydali hisoblanadi. O'simlik tarkibidagi flavonoidlarning yuqori konsentratsiyada mavjudligi sababli, dastarbosh o'simligi asosida oziq-ovqat qo'shilmalari ishlab chiqarishda xom ashyo sifatida tavsiya etamiz.

Adabiyotlar

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.

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).

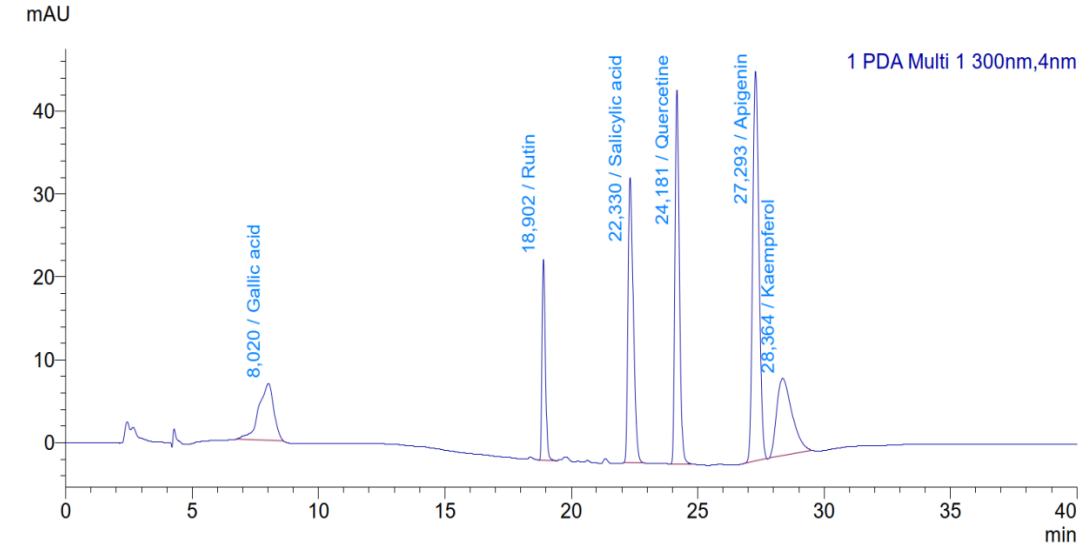


Рисунок 1. Хроматограмма при 300 нм смеси стандартных растворов.

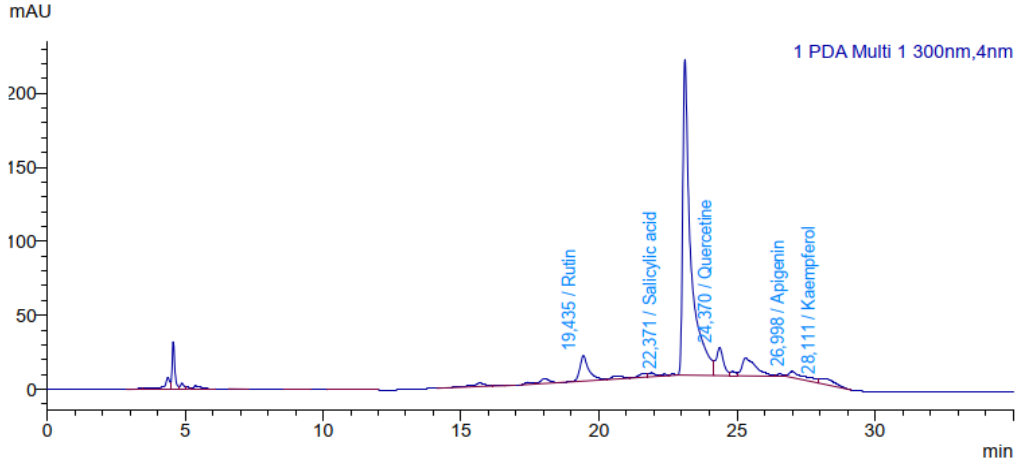


Рисунок 2. Хроматограмма для определения полифенолов в спиртовом экстракте дастарбоша.

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.

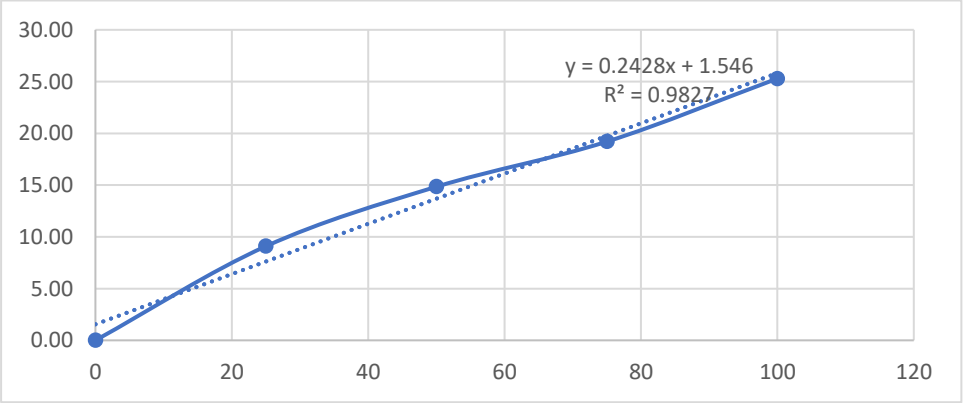


Рисунок 3. График зависимости между значениями АРА% и объемами, определенными через 30 минут экстракции основания 10-кратно разбавленным спиртом.

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.

Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

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

EVALUATION OF THE ANTIRADICAL ACTIVITY AND QUANTIFICATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE ETHANOL EXTRACT OF TANACETUM VULGARE

Ibragim R. Askarov
Andijan State University Professor of the Department of Chemistry, Doctor of Chemistry, Honored Inventor of Uzbekistan, Chairman of the TABOBAT Academy of Uzbekistan
https://orcid.org/0000-0003-1625-0330

Shakhobidin Kh. Abdulloev
Andijan State University Professor of the Department of Chemistry, Doctor of Chemistry, Member of the TABOBAT Academy of Uzbekistan
https://orcid.org/0000-0002-6069-1785

Mohklaroyim A. Khaydarova
Andijan state university 4th year chemistry student
https://orcid.org/0009-0001-5845-8108
E-mail: xaydaraliyevamoxlaroyim@gmail.com

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

Keywords:
Tanacetum vulgare, antiradical activity, DPPH, spectrophotometry, phenolic compounds

Annotation

The article presents the results of a study on the antiradical activity of aqueous and alcoholic extracts from the aerial part of Tanacetum vulgare, evaluated using spectrophotometric analysis based on the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) free radical scavenging method. The content of phenolic compounds was also quantified using high-performance liquid chromatography (HPLC). It was found that the alcoholic extract of Tanacetum vulgare exhibits high antiradical activity, with an IC_{50} value of 19.96 µL. This is attributed to the high content of flavonoids such as rutin (73.29 mg), quercetin (25.84 mg), kaempferol (16.69 mg), and apigenin (9.97 mg) in 100 grams of the plant.

How to Cite

Askarov, I. R., Abdulloev, S. K., & Khaydarova, M. A. EVALUATION OF THE ANTIRADICAL ACTIVITY AND QUANTIFICATION OF PHENOLIC COMPOUNDS IN THE ETHANOL EXTRACT OF TANACETUM VULGARE. Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine, 4(1). https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss1.2025.454

Introduction. Yarrow, one of the medicinal plants, has been used to treat many diseases [1, 2]. Yarrow (Asteraceae) is a perennial herbaceous plant, called Achillea filipendulina. This plant is mainly found naturally in Central and Southwest Asia, including Kazakhstan, Iran, Afghanistan, Turkey, and the Caucasus. The plant grows to a height of 60–120 cm. Its leaves are deeply divided, fern-like, toothed, and fragrant, giving it a unique appearance. Its flowers are small, densely arranged in flat inflorescences, and bloom in bright yellow. The flowering period lasts from mid-summer to late summer. It grows well in regions such as Tashkent, Samarkand, Bukhara, Kashkadarya, Navoi, Surkhandarya, especially in sunny and arid areas [1]. In folk medicine, parts of the Achelia plant are widely used to treat diseases such as nervous, joint, cardiovascular system, intestinal and stomach, and gallstones [2].

This article analyzes the results of determining the antiradical activity and the content of phenolic compounds of aqueous and alcoholic extracts of the above-ground part of Achelia (Achelia Filipindulina). Free radicals in the body mainly originate from active forms of oxygen and nitrogen [3, 4] and are formed under the influence of various endogenous systems, various physicochemical conditions or pathophysiological conditions in our body. Free radicals can negatively change lipids, proteins and DNA, which is one of the main causes of aging and a number of diseases [5]. Antiradical or antioxidant active compounds that catalytically quench free radicals include chelating compounds, hormones, water- and fat-soluble vitamins, thiol-containing amino acids and polypeptides, phenolic compounds, flavonoids, carotenoids, etc. [6]. Most of these compounds inhibit the chain reaction of free radical formation and prevent the development of oxidative stress.

Materials and methods.

Antiradical activity was assessed in vitro using the 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical quenching method [7] [8].

A 0.812 mM DPPH• solution in ethanol was prepared in a 100 ml volumetric flask, wrapped in aluminum foil, and kept in the dark at room temperature for 30 minutes. In a 4 ml quartz cuvette with a thickness of 1 cm, 3 ml of DPPH solution and 100 µl of ethanol (blank sample) were added and the optical density (D1) of the solution was measured every 30 seconds at 517 nm for 10 minutes using a YOKE (China) K7000 spectrophotometer.

To obtain the ethanol extract of Dastarbaş, 1 g of the sample was boiled in 25 ml of 96% ethanol in an ultrasonic bath with a power of 100 W for 20 minutes in a 50 ml round-bottomed flask equipped with a reflux condenser. The extract was cooled and filtered through a 0.45 µm syringe filter for analysis. To assess the antiradical activity of the primer, 25, 50, 75, 100 µl of the sample extract was mixed with 3 ml of DPPH solution, and the optical density (D2) of the solutions obtained in the above procedure at a wavelength of 517 nm was measured. Ethanol was added to the remaining part to bring the total volume of the solution in the cuvette to 3.1 ml. The antiradical activity of the samples was calculated in percent using the following formula:

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

Chromatographic analysis. The content of polyphenols in Achelia Filipindulina (Achelia Filipindulina) was determined on a Shimadzu LC-40 Nexera Lite high-performance liquid chromatograph. 1.5 ml of the extract was centrifuged at 7000 rpm in a Mini-7 centrifuge (BIOBASE, China) and filtered through a 0.45 µm syringe filter and used for analysis.

Chromatographic determination of phenolic compounds. Chromatographic analysis of a mixture of standard solutions and an alcoholic extract of the aerial part of Achelia Filipindulina was carried out using a Shim pack GIST C18 (150 × 4.6 mm; 5 µm, Shimadzu) reversed-phase column using a gradient mobile phase consisting of acetonitrile (A) and a 0.5% solution of acetic acid in water (B) (Table 1).

Table 1. Mobile phase gradient program.

Time	Acetonitrile (A), %	0.5% acetic acid (B), %
0	5	95
5	5	95
17	40	60
22	40	60
22,1	5	95
40	Finish	

The infection volume was set to 10 µl, the flow rate was 0.5 ml/min, and the column thermostat was set to 40 °C. Chromatograms recorded at a wavelength of 300 nm (Figures 1-2).

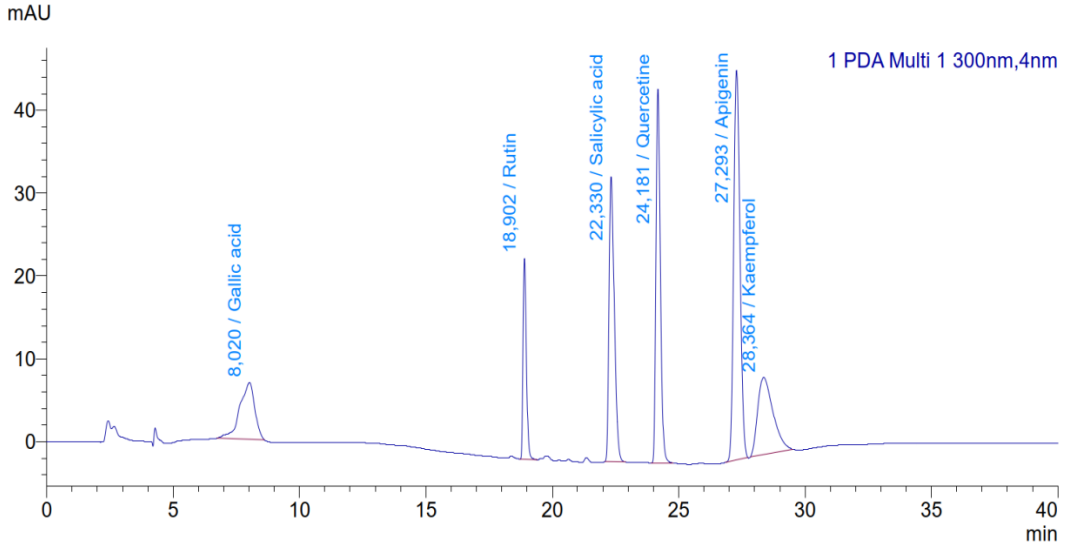


Figure 1. Chromatogram at 300 nm of a mixture of standard solutions.

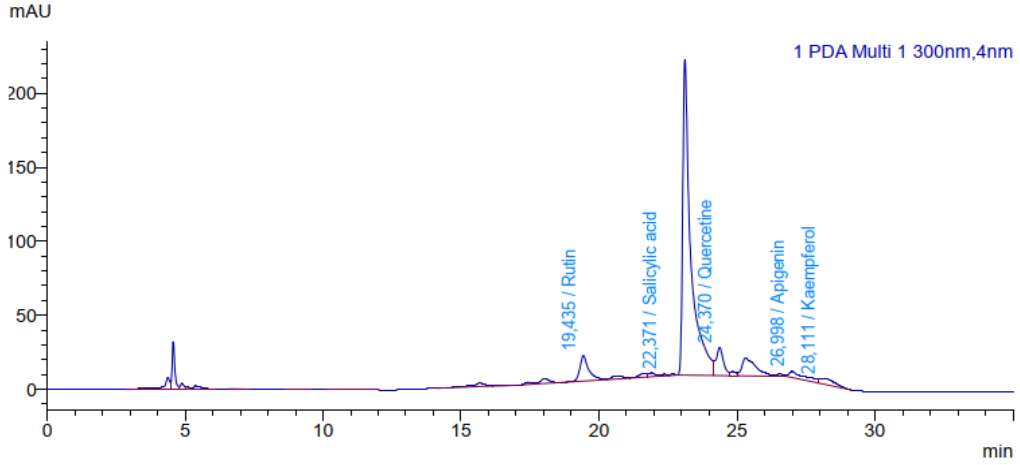


Figure 2. Chromatogram for the determination of polyphenols in the alcoholic extract of Dastarbosh.

Results and discussion.

Results of determination of antiradical activity. The results obtained for the evaluation of the antiradical activity of the alcoholic extract of the Dastarbas plant are presented in Table 2.

Table 2. Optical density values measured at a wavelength of 517 nm and calculated antiradical activity (ARA) of the DPPH solution and the added alcoholic extract of Dastarbas (diluted 10 times).

Volume, mkl	Time, min.	Optic density, D	ARA, %	Volume, mkl	Time, min.	Optic density, D	ARA, %
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

To calculate the IC_{50} of a 10-fold diluted extract, i.e. the sample volume that provides 50% quenching of the DPPH solution, the following graph was constructed based on the antiradical activity (ARA, %) values at 30 minutes in each experiment and the volume of alcohol samples added (Figure 3) and calculated based on the trend line function applied to it.

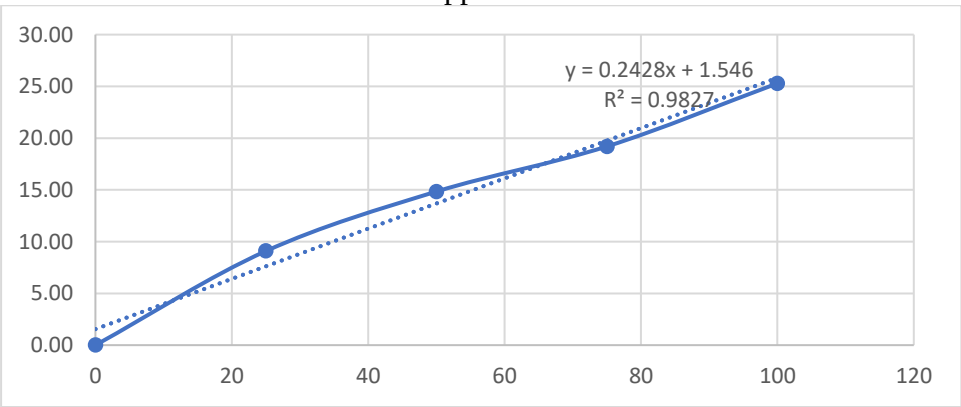


Figure 3. Graph of the relationship between the ARA% values and the volumes determined at 30 minutes of the 10-fold diluted alcohol extraction of the base.

The trend line plotted on the graph was calculated from the function formula y=mx+b, and the volume expressing 50% ARA, % (IC_{50}) was calculated based on the formula x=(y-b)/m [8]:

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

Therefore, considering that the obtained value is the result of a 10-fold dilution of the alcoholic extract of the rootstock, it was found that the alcoholic extract obtained by boiling the aboveground part of this plant in 96% ethanol for 20 minutes has a very high antiradical activity, and the IC50 value is 19.95 µl. Based on this, we concluded that the aboveground part of this plant can be used in medicine as a syphon with high antiradical properties.

Results of chromatographic determination of the amount of phenolic compounds. Based on the analysis of the chromatograms shown in Figures 1 and 2, the amount of phenolic compounds in 1 g of dried rootstock was calculated using the following formula and is presented in Table 3.

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

Here, X is the amount of phenolic compounds in 100 grams of fruit, mg;

C_{phen} is the concentration of phenolic compounds in the extract determined by the HPLC method, mg/l;

$V_{extract}$ is the volume of the sample extract, l;

m_{sample} is the mass of the sample taken for extract preparation.

Table 3. Retention times, concentrations and amounts of polyphenols in the extract of the rootstock plant.

Phenol compound name	Holding time, sec	Concentration, mg/l	Amount in 100 g of sample, mg
Gallic acid	Not detected	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

Conclusion. The results of this study showed that the content of flavonoid compounds, especially rutin and quercetin, in the composition of the plant is high. These flavonoids are known for their strong antioxidant properties, which are useful in the prevention and treatment of a number of diseases, such as cardiovascular disease, diabetes, and inflammation. Due to the high concentration of flavonoids in the plant, we recommend using the plant as a raw material for the production of food additives based on the plant.

References

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.