UDK 547.46.054

PROPOLIS YOG'LARI TARKIBIDAGI FLAVONOIDLARNI YUQORI SAMARALI SUYUQLIK XROMATOGRAFIYASI YORDAMIDA MIQDORIY TAHLILI

Saidova Xurshida Azimovna
O‘zR FA akad. O.S.Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo instituti mustaqil izlanuvchi
E-mail: saidovax671@gmail.com
Tel (90)9719582
Asqarov Ibrohim Rahmonovich
Andijon Davlat Universiteti k.f.d., professor.
Islomov Akmal Xushvaqovich
O‘zR FA akademik O.S.Sodiqov nomidagi Bioorganik kimyo instituti etakchi ilmiy xodimi k.f.d.
E-mail: islomovakmal1972@gmail.com, islomov-72@mail.ru,
Tel:(97)7487694

O`zRFA akademigi, A.S.To`rayev taqrizi asosida

Abstract. In this study, flavonoid compounds (gallic acid, rutin, quercetin, kaempferol, and apigenin) in propolis were determined and quantitatively analyzed by high-performance liquid chromatography (HPLC). 96% ethyl alcohol was used to extract flavonoids, and the samples were mixed for 75 minutes at 30°C. The resulting extracts were centrifuged at 12,000 rpm and passed through 0.45 µm filters. A Perkin Elmer C18 column, a gradient phase consisting of 0.5% acetic acid and acetonitrile, a flow rate of 0.8 ml/min, and a temperature of 40°C were used for analysis. Flavonoids were detected at wavelengths of 254, 265, and 371 nm. The results indicated the presence of bioactive flavonoids in propolis, confirming their potential for use in the pharmaceutical and food industries.

Keywords: Propolis, flavonoids, HPLC, rutin, gallic acid, quercetin, kaempferol, apigenin, liquid chromatography, bioactive compounds

Аннотация. В данном исследовании флавоноидные соединения (галловая кислота, рутин, кверцетин, кемпферол и апигенин) в прополисе были определены и количественно проанализированы методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для экстракции флавоноидов использовали 96% этиловый спирт, образцы перемешивали в течение 75 минут при 30 °C. Полученные экстракты центрифугировали при 12 000 об/мин и пропускали через фильтры с размером пор 0,45 мкм. Для анализа использовали колонку Perkin Elmer C18 с градиентной фазой, состоящей из 0,5% уксусной кислоты и ацетонитрила, скоростью потока 0,8

ISSN 3030-3907

мл/мин и температурой 40 °C. Флавоноиды детектировали при длинах волн 254, 265 и 371 нм. Результаты свидетельствуют о наличии биоактивных флавоноидов в прополисе, что подтверждает их потенциал для использования в фармацевтической и пищевой промышленности.

Ключевые слова: прополис, флавоноиды, ВЭЖХ, рутин, галловая кислота, кверцетин, кемпферол, апигенин, жидкостная хроматография, биологически активные соединения

Annotatsiya. Ushbu tadqiqotda propolis tarkibidagi flavonoid birikmalari (gall kislota, rutin, kversetin, kaempferol va apigenin) yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YSSX) usuli orqali aniqlanib, ularning miqdoriy tahlili amalga oshirildi. Flavonoidlarni ekstraksiya qilish uchun 96% li etil spirti ishlatilib, namunalar 30°C da 75 daqiqa davomida aralashtirildi. Olingan ekstraktlar 12 000 ayl/min tezlikda sentrifugalanib, 0,45 mkm filtrlardan o‘tkazildi. Tahlil uchun Perkin Elmer C18 kolonka, 0,5% sirka kislotasi va atsetonitrildan iborat gradient faza, 0,8 ml/min oqim tezligi va 40°C haroratda ishlatildi. Flavonoidlar 254, 265 va 371 nm to‘lqin uzunliklarida aniqlandi. Natijalar propolisda biofaol flavonoidlar mavjudligini ko‘rsatib, ularning farmatsevtika va oziq-ovqat sanoatida qo‘llanilish imkoniyatlarini tasdiqladi.

Kalit so`zlar: Propolis, flavonoidlar, (YSSX) rutin, gall kislota, kversetin, kaempferol, apigenin, suyuqlik xromatografiyasi, biofaol birikmalar

Kirish

Propolis - asalarilar tomonidan daraxt kurtaklari, qobig‘i va boshqa qatronsimon qismlardan yig‘ilib, o‘z fermentlari bilan qayta ishlangan tabiiy moddadir. Propolis - sariq yoki jigarrang smolali modda bo'lib, uning tarkibi atrof-muhit sharoitlariga qarab o'zgaradi va asosan qatronlar (40-50%), mum (10-30%), muhim birikmalar (2-6%), gulchanglar (2-5%), polifenollar (2-20%), vitaminlar va shakarlar kabi komponentlardan iborat bo'lib, bu tarkibiy qismlar uning antibakterial, antioksidant va boshqa sog'liq uchun foydali xususiyatlari bilan qadrlanadi. Bu xususiyatlar, asosan, propolis tarkibidagi flavonoidlar va fenolik birikmalar bilan bog‘liqdir [1].Propolisning tarkibi murakkab bo‘lib, u joylashgan hudud, o‘simlik manbai, yig‘ish mavsumi va asalarining biologik faoliyati bilan bog‘liq holda o‘zgarib turadi. Aynan flavonoidlar - kversetin, apigenin, pinosembrin, galangin kabi birikmalar -propolisning asosiy farmakologik komponentlari hisoblanadi [2]. Propolis tarkibidagi flavonoidlar va fenolik kislotalar prostaglandinlar sintezini bostirib, yallig‘lanish mediatorlarini kamaytiradi. Bu xususiyati tufayli u artrit, dermatit, gingivit va boshqa yallig‘lanishli holatlarda samarali .

ADABIYOTLAR TAHLILI

ISSN 3030-3907

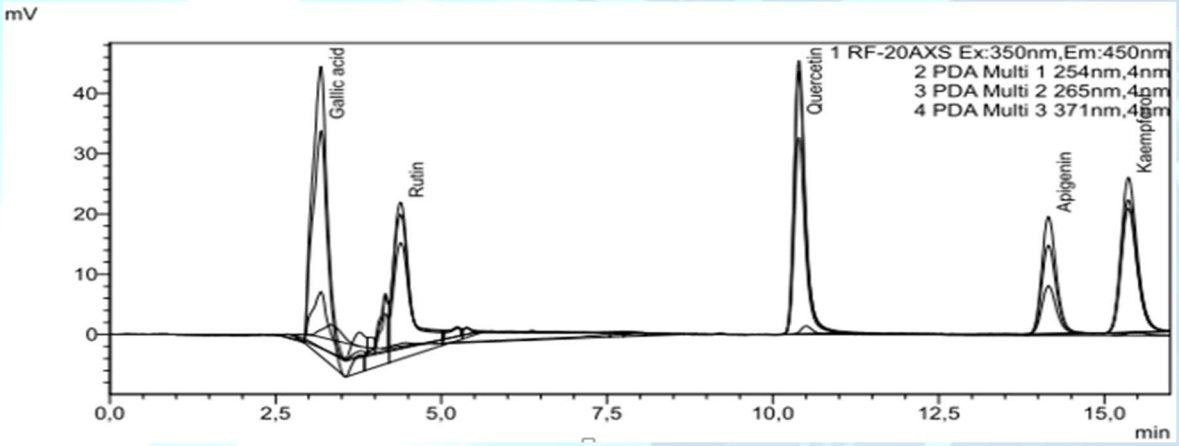
Propolis asosidagi dorivor mahsulotlar sifatini baholashda muhim ahamiyatga ega.Bugungi kunda flavonoidlarni aniqlashda yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YSSX) eng samarali analitik usul sifatida qo‘llanilmoqda. Bu usul yuqori sezuvchanlik, aniqlik va takrorlanuvchanlik kabi afzalliklarga ega [3]. YSSX orqali flavonoidlarning aniqlanishi usulning puxta optimallashtirilgan sharoitlarida, ya’ni kolonkalar turi, harakatlanuvchi faza, UV-detektor to‘lqin uzunligi kabi omillarga bog‘liq [4]. Bundan tashqari, namunani tayyorlash bosqichi ham flavonoidlarni aniqlash jarayonida muhim ahamiyatga ega. Propolisdan flavonoidlarni ajratib olishda odatda metanol, etanol yoki ularning suvli eritmalari ekstragent sifatida qo‘llaniladi. Ekstraksiya, filtratsiya, sentrifugatsiya va quritish kabi bosqichlar flavonoidlarning maksimal ajralishini ta'minlash uchun to‘g‘ri bajarilishi lozim [5]. Mahalliy (O‘zbekiston) sharoitida ishlab chiqarilgan propolis yog‘li ekstraktlarining flavonoid tarkibini miqdoriy baholash orqali ularning farmakologik faolligini aniqlash mumkin. Mazkur maqolada YSSX yordamida flavonoidlar aniqlangan, va natijalar ilgari chop etilgan ilmiy adabiyotlar bilan solishtirilib tahlil qilinadi [6-7]. Propolis tarkibidagi flavonoidlar, fenolik kislotalar, aromatik aldegidlar va terpenoidlar uning yuqoridagi biologik faolligini ta’minlovchi asosiy komponentlar hisoblanadi. Aynan shu tarkib uni xalq tabobatida har xil kasalliklarga qarshi ko‘p yillardan beri foydalanish imkonini bergan. Propolis ekstraktlari asosida tayyorlangan ba’zi preparatlar antibiotiklarga chidamli bakteriyalarga qarshi ham ijobiy ta’sir ko‘rsatgan.[8] Ayniqsa, xalq tabobatida propolis ichki va tashqi kasalliklarni davolashda, masalan, nafas yo‘llari yallig‘lanishlari, teri shikastlanishlari, oshqozon-ichak muammolari, va shamollashda tez-tez tavsiya etilgan. Zamonaviy tibbiyotda propolisning farmakologik faolligi keng o‘rganilgan. Propolisdan tayyorlangan preparatlar turli sohalarda quyidagi maqsadlarda qo‘llaniladi: Propolis Gram-musbat (masalan, *Staphylococcus aureus*) va Gram-manfiy (masalan, *Escherichia coli*) bakteriyalarga, shuningdek, zamburug‘ va ayrim viruslarga qarshi faol ta’sir ko‘rsatadi. U mikroorganizmlarning hujayra membranasiga ta’sir qilib, ularning o‘sishiga to‘sqinlik qiladi. Propolisning biologik faolligi va sifati uning kimyoviy tarkibiga bevosita bog‘liq bo‘lib, aynan shu moddalarning nisbiy miqdori propolisning terapevtik qiymatini belgilaydi. [9-10-11.].

NATIJALAR VA MUHOKAMALAR

O‘tkazilgan tadqiqot davomida propolis moyi ekstrakti tarkibidagi flavonoid birikmalar yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YSSX) usuli yordamida muvaffaqiyatli aniqlab olindi va miqdoriy baholandi. Natijalar flavonoidlarning turli hildagi turlari propolis ekstraktida sezilarli darajada mavjudligini ko‘rsatdi.Standart flavonoid namunalari xromatogrammalari quyidagi saqlanish

ISSN 3030-3907

vaqtlarida aniq piklarni ko‘rsatdi: gallik kislota (4,2 min), rutin (6,8 min), kversetin (8,5 min) va kaempferol (10,1 min).Propolis moyi ekstrakti gallik kislota (pik maydoni: 715,146 ± AU) va kversetin (pik maydoni**:** 549,894 ± AU) uchun sezilarli piklarni namoyon etdi, bu ularning yuqori konsentratsiyasini tasdiqlaydi. Shuningdek, propolis tarkibida rutin (pik maydoni: 468,568 ± AU) va kaempferol (pik maydoni: 439,920 ± AU) ham aniqlangan bo‘lib, ularning miqdori o‘rtacha darajada qayd etildi. Propolis tarkibida apigenin (pik maydoni**:** 298,482 ± AU) ham mavjud bo‘lib, bu moddalar majmuasi ekstraktning biologik faolligini ta’minlaydi. Pik tozaligi UV spektrlarni standartlar bilan taqqoslash orqali tasdiqlandi, bu usulning spesifikligini ta'minladi.



1-rasm. Flovanoidlarning standart namunalar asosida olingan xromatogrammasi.

2-jadval.

Flovanoidlarning yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usuli asosida kalibrofka egrisi olingan natijalari

Propolis yog`i tarkibidagi birikmalar	Korrelyatsiya koeffitsienti R2	Qayta tiklash,%	Aniqlanish chegarasi LOD, µg/ml	LOQ miqdoriy chegarasi, mg/L
Gall kislota	R^2=0,9997645	97.18	155	920
Rutin	R^2=0,9982900	95.08	125	740
Keversiten	R^2=0,9999856	98.98	85	520
Apigenin	R^2=0,9995998	91.53	45	260
Kaempferol	Rr=0,9995311	92.02	60	370

Ekstraksiya qilib aratilgan namuna tarkibidagi flavanoidlar miqdori (quruq massada mg/kg) 3- jadvalda keltirilgan.

ISSN 3030-3907

3-jadval.

Turli barg namunalari tarkibidan yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usuli asosida olingan flovanoidlarining miqdoriy ko'rsatkichlari.

Flovanoidlar nomi	Gall kislota (mg/kg)	Rutin (mg/kg)	Quercetin (mg/kg)	Apigenin (mg/kg)	Kaempferol (mg/kg)
Propolis moyi	135,459	104,810	37,189	13,199	28,467

Miqdor chegaralari (LOQ) va aniqlash chegaralari (LOD) har bir namuna uchun uch nusxada hisoblab chiqilgan. Kalibrlash egri chiziqlari ketma-ket kontsentratsiyani tepalik maydoniga solish orqali olingan. Kalibrofka egrisining o'rtacha qiymati (S) va kesishishning standart og'ishi (s) uchta takroriy standart egri chiziqdan hisoblab chiqilgan. Har bir standartning tiklanish foizi (YSSX) dan keyin va undan oldingi standart konsentratsiyaning nisbati asosida hisoblab chiqilgan.

Har bir tashqi standart uchun standartning kontsentratsiyasini (mg/L) ma'lum bir to'lqin uzunligidagi tepalik maydoniga solishtirish orqali standart egri qurilgan. Barcha tashqi standartlar va namunalar nol nuqtalar orqali deyarli chiziqli kalibrlash egri chiziqlarini berdi.Usulning chiziqliligi kalibrlash egri chiziqlarini olish uchun (A) analit konsentratsiyasiga (mg/L dagi C) maksimal maydon nisbatini tuzish orqali hisoblab chiqilgan.

XULOSA

Ushbu tadqiqotda propolis moyidagi flavonoid birikmalar (YSSX) usuli yordamida muvaffaqiyatli aniqlanib, ularning miqdoriy tahlili amalga oshirildi. Tahlil natijalari propolis moyining tarkibida rutin (137,784 mg/L), gallik kislota (160,893 mg/L), kversetin (85,823 mg/L), kaempferol (56,624 mg/L) va apigenin (42,805 mg/L) kabi flavonoidlarga boy ekanini ko‘rsatdi.

ADABIYOTLAR

1. Bankova, V. S., De Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31(1), 3–15.
2. Ahn, M. R., Kunimasa, K., Kumazawa, S., Nakayama, T., Kaji, K., & Uto, Y. (2007). Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(16), 7130–7136.
3. Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84(3), 329–339.
4. Harborne, J. B. (1998). *Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis*. Chapman & Hall, London.

ISSN 3030-3907

5. Scalbert, A., Johnson, I. T., & Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 8,215S–217S.
6. Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747.
7. Kumar, S., Pandey, A. K. (2013). Chemistry and biological activities of flavonoids: An overview. *The Scientific World Journal*, 2013, Article ID 162750.
8. Salomão, K., et al. (2004). Comparison of the in vitro antifungal activity of propolis from different geographic origins. *Mycoses*, 47(9-10), 400-405. https://doi.org/10.1111/j.1439-0507.2004.01041.x
9. Kujumgiev A. et al. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology*, 1999, 64(3): 235-240.
10. Sforcin J.M. Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 2007, 113(1): 1-14.
11. Ansorge S., Reinhold D., Lendeckel U. Propolis and some of its constituents down-regulate DNA synthesis and inflammatory cytokine production. *Planta Med.*, 2003; 69(10): 895-899.

ISSN 3030-3907