ISSN: 2181-4341, IMPACT FACTOR (RESEARCH BIB) – 9.145, SJIF – 5,431

Arzibayeva Dildora Rustamovna

Andijon davlat universiteti 2-bosqich magistranti

CHELIDONIUM MAJUS L. O‘SIMLIGI EKSTRAKTI TARKIBIDAGI FENOL BIRIKMALARNI YUSSX USULIDA ANIQLASH VA MIQDORIY TAHLIL QILISH

Annotatsiya. Mazkur tadqiqot ishida *Chelidonium majus L.* o‘simligi ekstrakti tarkibidagi bioaktiv fenol birikmalar yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX, HPLC) usuli yordamida sifat va miqdoriy jihatdan o‘rganildi. Tadqiqot davomida gall kislota, rutin, salitsil kislota, kversetin, apigenin va kempferol kabi asosiy fenol komponentlar aniqlanib, ularning ushlanish vaqtlari hamda miqdoriy ko‘rsatkichlari belgilandi. Natijalarga ko‘ra, rutin ekstraktda dominant komponent sifatida aniqlanib, uning miqdori 127,575 mg/100 g ni tashkil etdi. Olingan ma’lumotlar o‘simlik ekstraktining yuqori antioksidant va biologik faollikka ega ekanligini ko‘rsatdi. Tadqiqot natijalari *Chelidonium majus L.* o‘simligini farmatsevtik va nutrasevtik yo‘nalishlarda qo‘llash istiqbollarini ilmiy asoslab beradi.

Kalit so‘zlar. *Chelidonium majus L.*, fenol birikmalar, YuSSX (HPLC), flavonoidlar, antioksidant faollik, rutin, gall kislota

Kirish. Hozirgi kunda tabiiy manbalardan olinadigan biologik faol moddalarni o‘rganish farmatsevtika, tibbiyot va oziq-ovqat sanoatining eng dolzarb yo‘nalishlaridan biri hisoblanadi. Ayniqsa, o‘simliklar tarkibidagi fenol birikmalar va flavonoidlar o‘zining yuqori antioksidant, yallig‘lanishga qarshi, antimikrob hamda hujayralarni erkin radikallar ta’siridan himoya qiluvchi xususiyatlari bilan ilmiy jamoatchilik e’tiborini tortmoqda. Shu sababli, turli dorivor o‘simliklar tarkibidagi bioaktiv komponentlarni aniqlash va ularning miqdoriy ko‘rsatkichlarini baholash muhim ilmiy-amaliy ahamiyat kasb etadi [1].

Chelidonium majus L. (chistotel, katta tozagul) o‘simligi Papaveraceae oilasiga mansub bo‘lib, xalq tabobatida qadimdan turli kasalliklarni davolashda qo‘llanilib kelinadi. Ushbu o‘simlik tarkibida alkaloidlar (chelidonin, sanguinarin), fenol birikmalar, flavonoidlar va boshqa biologik faol komponentlar mavjud bo‘lib, ular o‘simlikning terapevtik xususiyatlarini belgilab beradi. Xususan, fenol birikmalar o‘simlikning antioksidant salohiyatini shakllantiruvchi asosiy guruhlardan biri hisoblanadi [2].

Zamonaviy analitik kimyo usullari orasida yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX, HPLC) fenol birikmalarni aniqlash va miqdoriy baholashda eng ishonchli va yuqori aniqlikka ega usullardan biri sifatida keng qo‘llanilmoqda. Ushbu metodning yuqori sezgirligi va takrorlanuvchanligi murakkab o‘simlik matritsalarida ham individual komponentlarni aniq identifikatsiya qilish imkonini beradi. Ayniqsa, teskari fazali C18 kolonkalarda gradient elyutsiya rejimida olib borilgan tahlillar fenol birikmalarni samarali ajratish imkonini beradi [3]. So‘nggi yillarda *Chelidonium majus L.* o‘simligining kimyoviy tarkibi bo‘yicha qator ilmiy tadqiqotlar olib borilgan bo‘lsa-da, uning fenol birikmalarini zamonaviy xromatografik usullar asosida kompleks tarzda o‘rganish, ayniqsa, ularning miqdoriy ko‘rsatkichlarini aniqlash va bioaktivlik bilan bog‘lash masalalari hali to‘liq yoritilmagan.

Tajriba qism. Foydalanigan reaktiv va jihozlar. Gall kislota “Macklin” dan (Xitoy), Salisil kislota “Rhydburg Pharmaceuticals” (Germaniya) dan, kversetin, apigenin, kempferollar “Regal” (Xitoy), rutin tabiiy manbaalardan ekstraksiya va ustunli xromatografiya usullarida ajratib olingan. HPLC darajadagi tozalikda suv, asetonitril, kimyoviy toza markadagi sirka kislota va natriy

gidroksidi reaktivlaridan foydalanildi. O'simlik tarkibidagi polifenollar miqdorini Yaponiyaning Shimadzu kompaniyasida ishlab chiqarilgan LC-40 Nexera Lite yuqori samarali suyuqlik xromatografida amalga oshirildi.

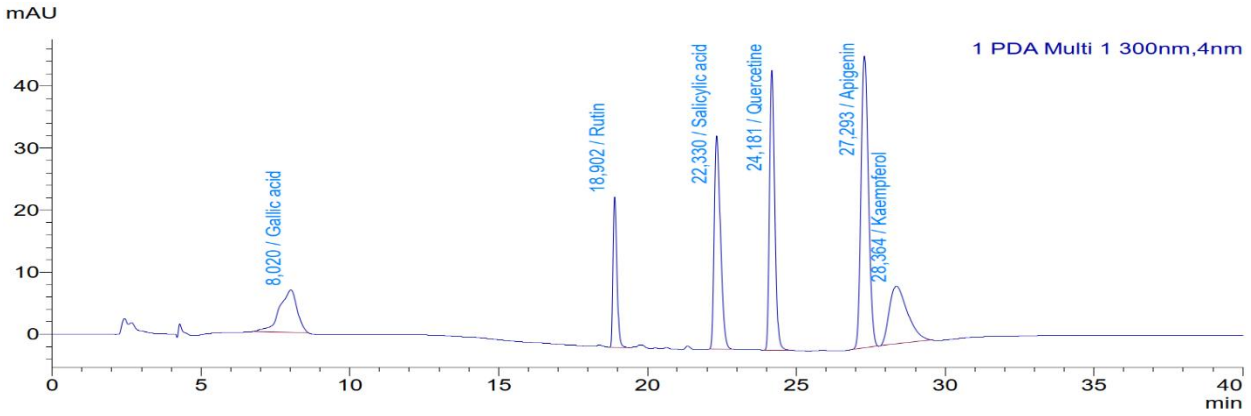
Standart eritmalarni tayyorlash. Gall kislota (5,2 mg), salisil kislota (5,2 mg), rutin (5 mg), kversetin (5 mg), apigenin (5 mg), kempferol (5 mg) 96 % li etanolda 20 daqiqa ultratovushli vannada eritildi va 50 ml kolbaga o'tkazilib, etanol bilan chizig'iga yetkazildi. Har bir eritmadan 200 mkl dan olinib aralashtirildi hamda ularni suyiltirish yo'li bilan jami 4 xil eritma tayyorlandi. Har bir eritmalar vialaga quyildi va analiz uchun foydalanildi.

O'simlik ekstraktini tayyorlash. Fenol birikmalarni ekstraksiya qilish uchun 1 g tekshiriladigan namuna OHAUS kompaniyasi (AQSh) tomonidan ishlab chiqarilgan NV222 markali tarozida 0,01 g aniqlikda tortib olinib, 50 ml hajmli konussimon kolbaga solindi va 25 ml 96 % li etanol qo'shildi. Aralashma GT SONIC-D3 (Xitoy) markali ultratovushli vannada 60 °C haroratda 20 daqiqa davomida ekstraksiya qilindi. So'ngra aralashma sovitilib, filtrlandi hamda o'lchov kolbasida etanol bilan 25 ml ga yetkazildi. 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.

Xromatografik sharoitlar. Fenol birikmalarni aniqlash. Standart eritma, namuna ekstrakti Shim pack GIST C18 (150 × 4,6 mm; 5 mkm, Shimadzu, Yaponiya) teskari fazali kolonkasi hamda atsetonitril (A) va sirka kislotaning suvdagi 0,5 % li eritmasidan (B) tashkil topgan gradiyentli harakatchan faza (1-jadval) qo'llanildi. In'ektsiya hajmi 10 mkl, oqim tezligi 0,5 ml/min va kolonka termostati 40 °C etib belgilandi. Fenol birikmalarning analitik signali (cho'qqi maydoni) 300 nmda qayd etildi (1-rasm).

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	



1-rasm. Standartlarning 300 nm dagi xromatogrammasi.

Olingan natijalar. Namuna ekstrakti tarkibidagi fenol birikmalar miqdorini aniqlash. Massasi 1 g bo'lgan namuna ekstraktining xromatogrammasi olindi (2-rasm) hamda natijalar asosida 100 g namuna tarkibidagi fenol birikmalar miqdorlari quyidagi formula bilan hisoblanib 3-jadvallarda keltirildi.

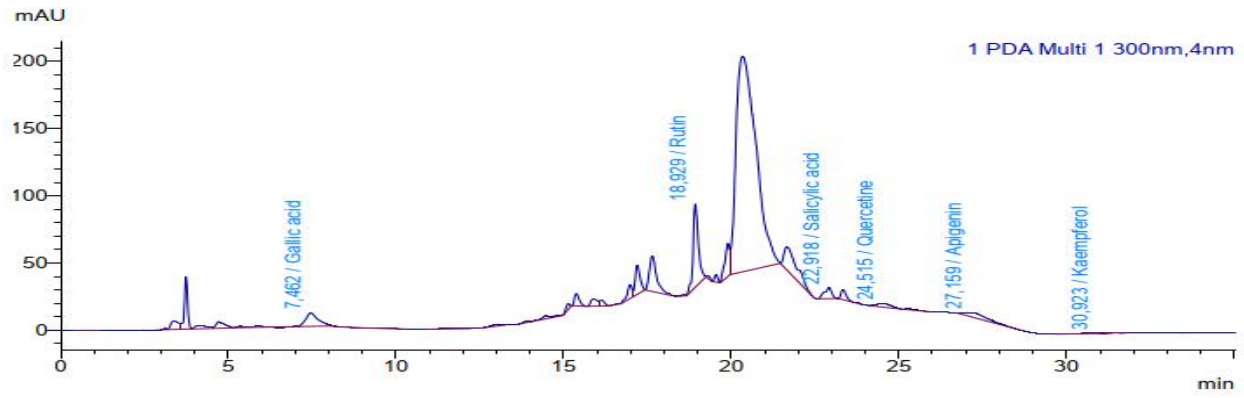
$$X=\frac{C_{phen}\cdot V_{ekstrakt}}{m_{namuna}}\cdot 100\ g$$

Bu yerda, X -100 gram namuna 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.



2-rasm. Namuna ekstrakti tarkibidagi polifenollarni aniqlash xromatogrammasi.

2-jadval. Ekstraktdagi polifenollarning miqdori va ushlanish vaqtlari.

Fenol birikma nomi	Ushlanish vaqti sek	Konsentratsiya, mg/l	100 g namunadagi miqdor, mg
Gall kislota	7,462	12,232	30,580
Rutin	18,929	51,03	127,575
Salitsil kislota	22,918	4,472	11,180
Kversetin	24,515	2,413	6,033
Apigenin	27,159	3,362	8,405
Kaempferol	30,923	0,804	2,010

Natijalar va muhokama. Ushbu tadqiqot ishida *Chelidonium majus L.* o'simligi ekstrakti tarkibidagi fenol birikmalar yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX, HPLC) usuli yordamida sifat va miqdoriy jihatdan kompleks o'rganildi. Olingan xromatografik natijalar (2-rasm) ekstrakt tarkibida bir nechta bioaktiv fenol komponentlar mavjudligini aniq ko'rsatdi. Har bir komponentning identifikatsiyasi ularning ushlanish vaqtlari (t_R) hamda standart eritmalar bilan taqqoslash asosida amalga oshirildi [4]. Tahlil natijalariga ko'ra, ekstrakt tarkibida gall kislota, rutin, salitsil kislota, kversetin, apigenin va kempferol kabi muhim fenol birikmalar

aniqlangan bo‘lib, ularning miqdoriy ko‘rsatkichlari sezilarli darajada farqlanishi kuzatildi (2-jadval).

Natijalar shuni ko‘rsatdiki, tekshirilgan ekstraktda eng yuqori konsentratsiya rutin uchun qayd etilib, uning miqdori 51,03 mg/l ni, 100 g namuna hisobida esa 127,575 mg ni tashkil etdi. Rutin flavonoidlar guruhiga mansub bo‘lib, kuchli antioksidant xususiyatga ega va qon tomirlarini mustahkamlash, yallig‘lanish jarayonlarini kamaytirishda muhim rol o‘ynaydi [5]. Uning yuqori miqdorda aniqlanishi *Chelidonium majus L.* o‘simligining biologik faolligi yuqori ekanligini ko‘rsatadi. Shuningdek, gall kislota miqdori ham sezilarli darajada yuqori bo‘lib (30,580 mg/100 g), bu modda fenol kislotalar orasida kuchli antioksidant sifatida tanilgan. Gall kislota erkin radikallarni neytrallash orqali hujayralarni oksidlovchi stressdan himoya qiladi va shu sababli farmatsevtik preparatlar tarkibida keng qo‘llaniladi.

Salitsil kislota ekstraktda 11,180 mg/100 g miqdorda aniqlangan bo‘lib, u antiseptik va yallig‘lanishga qarshi xususiyatlarga ega. Bu natija o‘simlikning xalq tabobatida teri kasalliklarini davolashda qo‘llanilishining ilmiy asosini tasdiqlaydi. Flavonoidlar guruhiga kiruvchi kversetin (6,033 mg/100 g), apigenin (8,405 mg/100 g) va kempferol (2,010 mg/100 g) nisbatan kamroq miqdorda aniqlangan bo‘lsa-da, ular yuqori biologik faollikka ega komponentlar hisoblanadi. Ushbu moddalar antioksidant, antimutagen va antikarsinogen xususiyatlari bilan ajralib turadi [7]. Ayniqsa, apigeninning nisbatan yuqoriroq miqdorda aniqlanishi o‘simlikning yallig‘lanishga qarshi potensialini ko‘rsatadi.

Xromatografik tahlil natijalariga asoslanib, fenol birikmalar ekstraktda turli polaritetga ega bo‘lgan komponentlar sifatida gradient elyutsiya sharoitida samarali ajratilganligi kuzatildi. Past ushlanish vaqtiga ega bo‘lgan gall kislota kabi moddalarning yuqori gidrofilligi, yuqori ushlanish vaqtiga ega flavonoidlarning esa nisbatan gidrofob xususiyatga ega ekanligi aniqlangan. Bu esa tanlangan xromatografik sharoitlarning optimal ekanligini tasdiqlaydi. Olingan natijalar adabiyot ma’lumotlari bilan solishtirilganda, *Chelidonium majus L.* o‘simligi tarkibida fenol birikmalar mavjudligi va ularning biologik faolligi yuqori ekanligi haqidagi ilmiy qarashlarni yana bir bor tasdiqlaydi. Shu bilan birga, rutinning dominant komponent sifatida aniqlanishi ushbu o‘simlikni tabiiy antioksidant manbai sifatida baholash imkonini beradi. Umuman olganda, olib borilgan tadqiqot natijalari *Chelidonium majus L.* ekstrakti fenol birikmalarga boy ekanligini ko‘rsatib, uning farmatsevtik va nutrasevtik yo‘nalishlarda qo‘llanilish istiqbollarini ilmiy jihatdan asoslab beradi.

Xulosa. Mazkur tadqiqot ishida *Chelidonium majus L.* o‘simligi ekstrakti tarkibidagi fenol birikmalar yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX, HPLC) usuli yordamida sifat va miqdoriy jihatdan kompleks o‘rganildi. Olib borilgan xromatografik tahlillar natijasida ekstrakt tarkibida gall kislota, rutin, salitsil kislota, kversetin, apigenin va kempferol kabi bioaktiv fenol komponentlar aniqlanib, ularning ushlanish vaqtlari hamda miqdoriy ko‘rsatkichlari aniq belgilandi. Hisoblash natijalariga ko‘ra, fenol birikmalar orasida eng yuqori miqdor rutin (127,575 mg/100 g) ga to‘g‘ri kelishi aniqlanib, uning dominant komponent ekanligi isbotlandi.

Shuningdek, gall kislota va salitsil kislotaning sezilarli miqdorda aniqlanishi o‘simlik ekstraktining yuqori antioksidant va yallig‘lanishga qarshi potensialga ega ekanligini ko‘rsatdi. Flavonoidlar guruhi vakillari — kversetin, apigenin va kempferolning mavjudligi esa ekstraktning biologik faolligini yanada oshiruvchi muhim omil sifatida baholandi. Tadqiqot davomida qo‘llanilgan YuSSX usuli fenol birikmalarni aniqlashda yuqori selektivlik va sezgirlikka ega ekanligi bilan o‘zini to‘liq oqladi. Tanlangan xromatografik sharoitlar (C18 kolonkasi, gradient elyutsiya, 300 nm da deteksiya) fenol komponentlarni samarali ajratish va ishonchli identifikatsiya qilish imkonini berdi. Olingan natijalar asosida xulosa qilish mumkinki, *Chelidonium majus L.* o‘simligi fenol birikmalarga boy bo‘lgan tabiiy xomashyo hisoblanadi va u farmatsevtik preparatlar, biologik faol qo‘shimchalar hamda antioksidant yo‘nalishdagi mahsulotlar ishlab chiqarishda istiqbolli manba sifatida xizmat qilishi mumkin.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants // Methods in Enzymology. -1999. -Vol. 299. -P. 152–178.
2. Harborne J.B. Phytochemical Methods: A Guide to Modern Techniques of Plant Analysis. - London: Chapman & Hall, 1998. -302 p.
3. Dai J., Mumper R.J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties // Molecules. -2010. -Vol. 15. -P. 7313–7352.
4. Ignat I., Volf I., Popa V.I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables // Food Chemistry. -2011. -Vol. 126. -P. 1821–1835.
5. Kähkönen M.P. et al. Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds // Journal of Agricultural and Food Chemistry. -1999. -Vol. 47. -P. 3954–3962.
6. Pandey K.B., Rizvi S.I. Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease // Oxidative Medicine and Cellular Longevity. -2009. -Vol. 2. -P. 270–278.
7. Zhang H., Chen F. Phenolic compounds in plants: structures and analysis // Journal of Chromatography A. -2015. -Vol. 1389. -P. 1–15.