

ZARCHAVA O'SIMLIGIDAN FENOL BIRIKMALARINI AJRATIB OLISH

Bo'bodo'stova Dilrabo To'ychi Qizi

Kirish. Dorivor o'simliklardan ajratib olingan polifenollar asosida yaratilgan dori vositalari yallig'lanishga, viruslarga qarshi, oshqozon va o'n ikki barmoqli ichak yara kasalliklariga qarshi vositalar sifatida foydalaniladi. Bularga asoslanib, dorivor vositalar manbai bo'lgan yangi o'simlik turlarini izlab topish, ulardan biologik faol birikmalarni ajratib olish, kimyoviy tuzilishini o'rganish, fizik-kimyoviy xususiyatlarini aniqlash, fiziologik faol-yangi moddalarni topish va ular asosida yangi dorivor vositalar yaratish maqsadida zarchava o'simligi ildizidan polifenollar yig'indisi ajratib olindi.

Material va metodlar. Ishning bajarish jarayonida o'simlik tarkibidan ajratib olingan polifenollar yigindisining qaysi sinfga mansubligini aniqlash uchun tegishli sifat reaksiyalari, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi, yupqa qatlamli va qog'oz xromatografiya usullarida foydalanildi.

Kalit so'z. Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi, Kurkumin, demetoksikurkumin, bisdemetoksikurkumin, yupqa qatlamli xromatografiya, qog'oz xromatografiya

Adabiyotlar tahlilidan bizga ma'lum bo'ldiki, zarchava o'simligi ildizi tarkibida 6%,9% gacha polifenollar uchraydi. Polifenollar yig'indisini ajratib olishning bir necha usullari taklif etilgan. Biz o'z oldimizga polifenollar ajratib olishning optimal usulini tanlashni maqsad qilib olgan edik. Adabiyot ma'lumotlaridan va amaliy tajriba xulosalarimizdan kelib chiqqan holda, polifenollar ajratib olishning optimal usulini tanladik. Ishni Zarchava o'simligi ildizini turli erituvchilarda ekstraksiya qilishdan boshladik (-jadval)

1-jadval. Zarchava o'simligi ildizini turli erituvchilarda ekstraksiya qilish natijalari

Erituvchi	Ekstraksiya vaqti,(soat)	Ekstraksiya olib borilgan harorati,(°C)	Olingan xom ashyo miqdori,(g)	Ekstraktiv moddalar yig'indisi,(%)
Atseton	4	60	100	2
Etanol	4	60	100	3
Metanol	4	60	100	5

1-jadvaldan ma'lumki, bir xil vaqt va bir xil miqdordagi o'simlik (xom ashyodan) foydalanib ekstraksiya qilinganda, metanolda yuqori unum (5%) bilan

ekstraktiv moddalar yig'indisi ajratib olindi. Shuning uchun eng optimal ekstraksiya qiluvchi reagent sifatida metanol olindi.

Zarchava o'simligining yer ostki qismlarini avgust-sentabr oylarida yig'ib olindi va salqin, quyosh nuri tushmaydigan joyda quritildi. Quritib maydalangan o'simlik xom ashyosidan 1000 g olib maydalab, rang beruvchi va lipofil tabiatga ega bo'lgan birikmalardan tozalash maqsadida xloroform bilan ekstraksiya qilindi (50-55°C da 2 soatdan 4-marta 5 l dan). So'ng xom ashyoni xona haroratida 24 soat davomida (ya'ni xloroform hidi qolmaganicha) quritib, 100 % li metanol bilan 4-marta 50-60°C da ekstraksiya qilindi. Suvli atsetonli ekstraktlarni birlashtirib, vakuum ostida atseton haydab olindi. So'ng ajratib olingan 4.2 l suvli qismni etilatsetat bilan bir necha marta qayta ishlab, 6 l etilatsetatli fraksiya olindi. Etilatsetatli fraksiyani 500 g suvsiz Na₂SO₄ solib quritildi va etilatsetatli fraksiya tarkibidagi Na₂SO₄ filtr qog'oz yordamida ajratib olindi, so'ng fraksiyani vakuum ostida rotorli bug'latgich yordamida konsentratsiyasini oshirib, 1 l etilatsetatli konsentrat ajratib olindi. Etilatsetatli konsentratni 4 l geksan bilan cho'ktirildi. Hosil bo'lgan cho'kmani filtrlab, bir necha marta toza geksan bilan yuvildi. Ajratib olingan cho'kmani xona haroratida, vakuum-quritish shkafida quritib 50 g (5 %) polifenol birikmalar yig'indisi olindi.



1-Rasm.Konsentratni geksanda cho'ktirish jarayoni

Ajratib olingan polifenollarining kimyoviy tarkibi 3 ta birikmalardan iboratligi sifat reaksiyalari, yupqa qatlamli xromatografiya (YuQX), qog'ozli xromatografiya (QX),yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX) usullari bo'yicha aniqlandi. Polifenollar yig'indisi tarkibida 3 ta ma'lum curcumin,demetiksicurcumin va bis-demetoksicurcumin borligi guvoh moddalar ishtirokida YuQX, QX, YuSSX usulida o'rganildi.

Olingan polifenollar yig'ndisi $FeCl_3$ bilan sifat reaksiyasi olib borilganda, polifenollarga xos binafsha rang hosil bo'lganligi kuzatildi. Kislotali muhitda Mg bilan sifat reaksiya olib borganimizda polifenollarga xos qizil rang hosil bo'lganligi kuzatildi.



2-rasm sifat reaksiyalari

Polifenollar tarkibini aniqlashda xromatografiya usullaridan foydalandik.

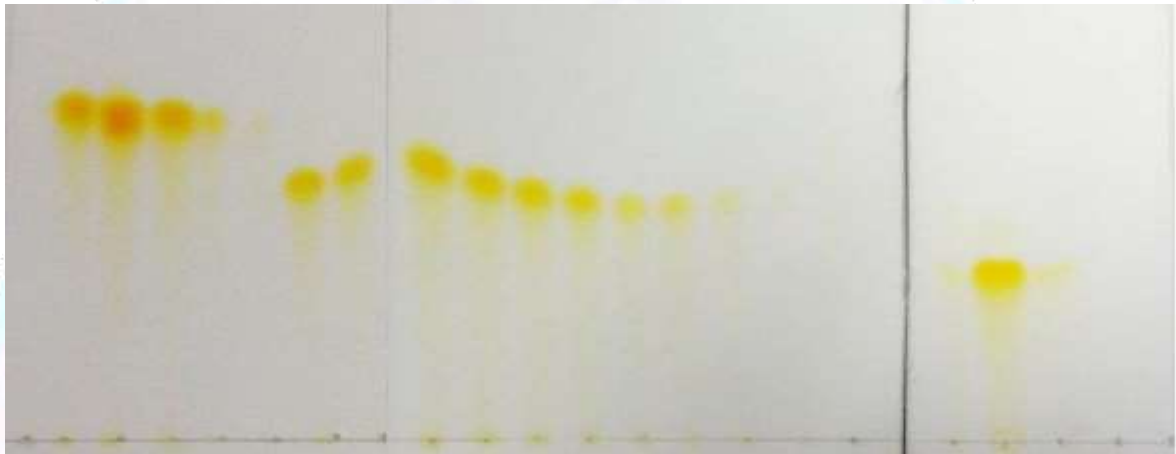
Bunda quyidagi erituvchilar sistemasi ishlatildi:

1. n. Butanol- sirka kislota- suv (40:12:28)
2. n. Butanol- sirka kislota- suv (40: 8: 28)
3. Sirka kislotaning 6% suvli eritmasi
4. Xloroform- metanol (17:3)
5. Sirka kislotaning 2% suvli eritmasi
6. Xloroform: metanol (17:2)
7. Xloroform - metanol (8:1)
8. Xloroform - metanol (17:5)
9. Xloroform – metanol (8:2)
10. Sirka kislotaning 15% suvli eritmasi
11. Xloroform - metanol (8:3)
12. Metanolning 60% suvli eritmasi
13. Etilatsetat
14. n. butanol- piridin- suv (6:4:3)
15. Xloroform - metanol (7:4)
16. Xloroform - metanol- suv (7:3:1)
17. 2 n sirka kislota - konts. xlorid kislota - suv (30:3:10)
18. Sirka kislota - konts. xlorid kislota - suv (5:1:6)
19. Suv - sirka kislota - xlorid kislota (82:15:3)
20. Dietilefir: etilatseta (2:8 dan toza etilatsetatgacha o'zgarib boradi)

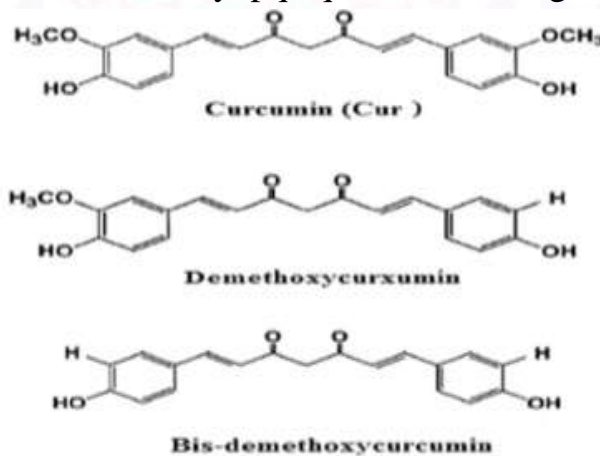
Xromatogrammalarni ochiltiruvchi reaktivlar:

1. FeCl₃ ning 1% suvli va spirtli eritmasi;
2. 1% FeCl₃ + 1% K₃[Fe(CN)₆] (1: 1)
3. Vanilinning HCl dagi 1% eritmasi;
4. NN₄OH
5. Na₂CO₃ ning 5% suvli eritmasi;
6. AlCl₃ ning 1% eritmasi;

n-Butanol- sirka kislotasi- suv (40: 12: 28) hamda sirka kislotaning 6% suvli eritmasida qo'yilgan ikki o'lchamli qog'oz xromatografiyasida polifenollar yig'indisi (-)-curcumin (R_f 0.65), (+)-demetoksicurcumin (R_f 0.45), (-)-bis-demetoksicurcumin (R_f 0.30) ekanligini guvoh moddalar ishtirokida aniqladik.



3-rasm yupqa qatlam xromatografiyasi



1-rasm. Kurkuminoidlarning kimyoviy tuzilishi.

Qog'ozli xromatografiya uchun "M", "Filtrak" markali qog'ozlardan foydalanildi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi: Zarchava o'simligi ildizidan ajratib olingan polifenollar yig'indisi YuSSX usuli asosida tahlil qilindi.

Suvda eruvchan polifenollar miqdori ekstraksiya usuli bilan ajratib olindi. Olingan ekstraktlar filtrlab olindi va 7000 ayl/min 10 minut davomida sentrifuga qilindi. Olingan eritmalar YuSSX usuli yordamida tahlil qilindi.

YuSSX tahlil usuli sharoitlari quyidagicha:

Yuqori samarali suyuqlik xromatografni - Agilent Technologies 1260, (AQSH) xromatografida olib borildi.

Kolonka – Poroshell 120 EC-C18, 2.7 μm , 4.6x100 mm,

Detektor – diod-matritsali detektor (UB dedektor ham qo'llash mumkin).

Elyuent-asetinitril; 0.1 % li, triflorsirka kislotasi (25:75, izokratik usul)

Oqim tezligi -1 ml/min,

Deteksiya-220, 254, 280, 480 nm,

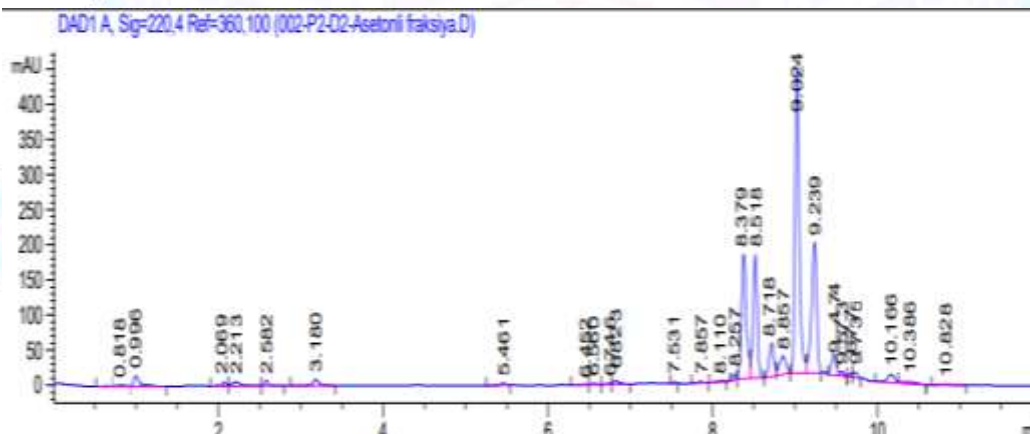
Kalonkaga kiritilgan miqdor - 10 mkl,

Termostat harorati - 30 $^{\circ}\text{C}$,

Taxlil vaqti-12 min

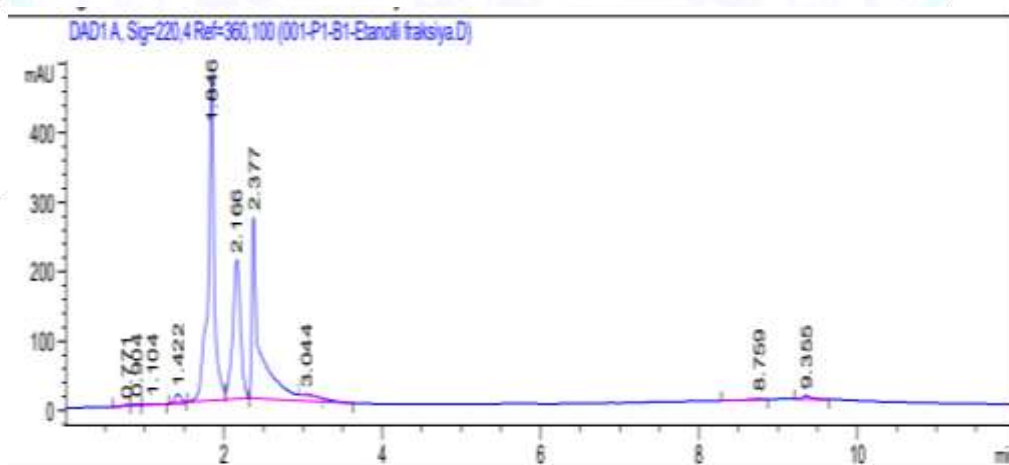
Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi: Zarchava o'simligi ildizidan ajratib olingan polifenollar yig'indisi YuSSX usuli asosida tahlil qilindi. [40].

Atsetonli fraksiya YuSSX da analizi. Ushlanish vaqti–9.024 min kurkumin, -8.518 min dimetoksikurkumin, 8.379 min bis-dimetoksikurkumin moddalari uchun xos.



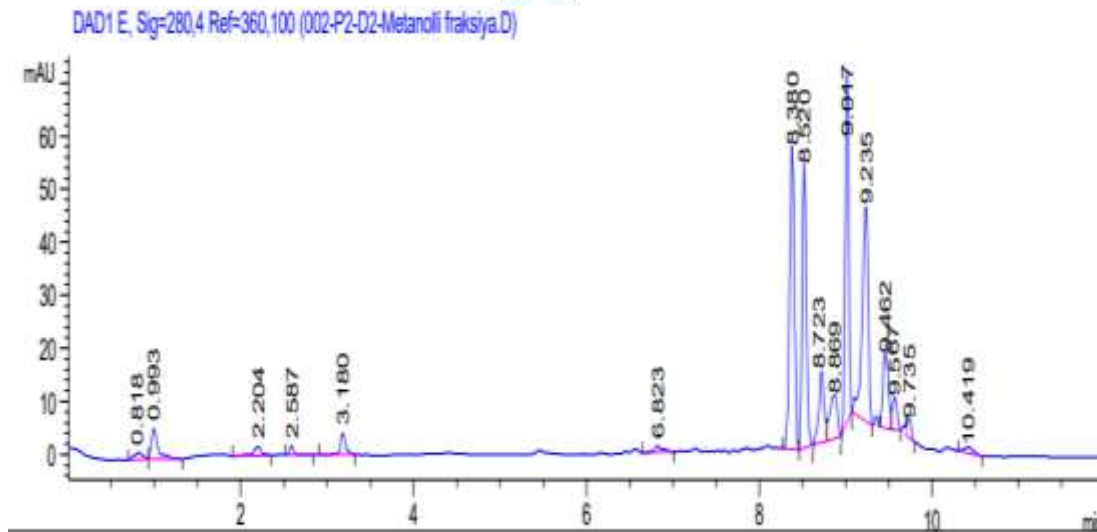
4 -rasm. Erituvchi (atseton) xromatogrammasi

Etanoli fraksiya. Ushlanish vaqti -1.846 min kurkumin, -2.377 min dimetoksikurkumin, 2.166 min bis-dimetoksikurkumin moddalari uchun xos.



5-rasm. Erituvchi (etanol) xromatogrammasi

Metanoli fraksiya YuSSX tahlili natijasi (-rasm), ushlanish vaqti – 9.017 min kurkumin, 8.380 min dimetoksikurkumin, 8.520 min bis-dimetoksikurkumin moddalari uchun xos.



6-rasm. Erituvchi (metanol) xromatogrammasi

XULOSALAR

Zarchava o'simligini ildiz qismini etil, metil spirtlari va atseton bilan ekstraksiya qilish yordamida polifenol birikmalar ajratib olindi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi yordamida ajratib olingan polifenol birikmalarini fraksiyalarga ajratildi.

Zarchava o'simligi ildizidan ajratib olingan polifenol birikmalar qog'oz xromatografiyasi va yupqa qatlamli xromatografiya asosida identifikatsiya qilindi.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Fernández-Marín R. Microwave-assisted extraction of curcuma longa l. Oil: Optimization, chemical structure and composition, antioxidant activity and comparison with conventional soxhlet extraction //Molecules. – 2021. – 26. – №. 6. – C. 1516.
2. Akpolat Ferah M. Kanser tedavisinde curcuminin yeri //Yeni Tıp Dergisi. – 2010. – №. 3. – C. 142-147.
3. Jurenka J. S. Anti-inflammatory properties of curcumin, a major constituent of Curcuma longa: a review of preclinical and clinical research //Alternative medicine review. – 2009. – №. 2.- C.14