

MODERN CHROMATOGRAPHIC METHODS FOR THE ISOLATION AND ANALYSIS OF PHENYLETHANOID GLYCOSIDES FROM PLANTS OF THE CISTANCHE GENUS

Sohiba Xoshimova Ulug'bek qizi

xoshimova.sohiba09@gmail.com

<https://orcid.org/0009-0009-2976-4083>

Fergana State University

Abstract

This thesis examines modern chromatographic approaches for the isolation, identification, and quantitative determination of phenylethanoid glycosides from plants of the *Cistanche* genus, with particular attention to echinacoside and acteoside. High-performance liquid chromatography with diode-array detection (HPLC-DAD), ultra-high-performance liquid chromatography with photodiode-array detection (UPLC-PDA), liquid chromatography–tandem mass spectrometry (LC-MS/MS), and high-speed counter-current chromatography (HSCCC) are compared in terms of selectivity, sensitivity, reproducibility, and cost-effectiveness. The results show that HPLC-DAD is the most suitable method for routine quality control and standardization, whereas LC-MS/MS provides the highest analytical certainty at low concentrations. HSCCC is considered the most effective preparative technique for obtaining highly purified echinacoside and acteoside.

Keywords

Cistanche, phenylethanoid glycosides, echinacoside, acteoside, HPLC-DAD, UPLC-PDA, LC-MS/MS, HSCCC, standardization, quality control.

ISTANCHE TURKUMI O'SIMLIKLARIDAGI FENILETANOID
GLIKOZIDLARNI AJRATIB OLIH VA TAHLIL QILISHNING
ZAMONAVIY XROMATOGRAFIK USULLARI

Sohiba Xoshimova Ulug'bek qizi

Farg'ona Davlat Universiteti

Annotatsiya. Ushbu tezisdagi Cistanche turkumiga mansub o'simliklardan ajratib olinadigan feniletanoid glikozidlar, xususan ekinakozid va akteozidni ajratish hamda miqdoriy tahlil qilishning zamonaviy xromatografik yechimlari ko'rib chiqiladi. Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (HPLC-DAD), ultra samarali suyuqlik xromatografiyasi (UPLC-PDA), suyuqlik xromatografiyasi–mass-spektrometriyasi (LC-MS/MS) va yuqori tezlikdagi qarama-qarshi oqim xromatografiyasi (HSCCC) usullarining selektivligi, aniqligi, takrorlanuvchanligi va iqtisodiy samaradorligi qiyosiy tahlil qilinadi. Tadqiqot natijasida rutin sifat nazorati va standartlashtirish uchun HPLC-DAD, past konsentratsiyalarda aniq identifikatsiya uchun LC-MS/MS, preparativ miqyosda toza modda olish uchun esa HSCCC eng maqbul yo'nalishlar sifatida asoslanadi. Shu bilan birga, ekinakozid va akteozidni bir vaqtda aniqlash orqali Cistanche xomashyosi hamda uning ekstraktlarining sifatini nazorat qilish imkoniyatlari yoritiladi.

Kalit so'zlar: Cistanche, feniletanoid glikozidlar, ekinakozid, akteozid, HPLC-DAD, UPLC-PDA, LC-MS/MS, HSCCC, standartlashtirish, sifat nazorati.

KIRISH

Cistanche turkumiga mansub o'simliklar feniletanoid glikozidlar, polisaxaridlar, iridoidlar, lignanlar va flavonoidlar kabi biologik faol birikmalarning qimmatli manbasi hisoblanadi. Ushbu birikmalar orasida ekinakozid va akteozid Cistanche xomashyosi hamda ekstraktlarining sifatini va farmakologik salohiyatini baholashda eng muhim marker moddalar sifatida qaraladi.

Cistanche xomashyosining farmatsevtik qiymati faqat faol birikmalarning mavjudligi bilan emas, balki ularni ishonchli ajratib olish va analitik aniqlash imkoniyati bilan ham belgilanadi. Ekinakozid va akteozid miqdori o'simlik turi, geografik kelib

chiqishi, yig'ish davri, quritish sharoiti, ekstraksiya usuli va saqlash sharoitlariga bog'liq o'zgarishi mumkin. Shu sababli zamonaviy xromatografik usullar sifat nazorati, standartlashtirish va takrorlanuvchan fitopreparatlar yaratishda muhim ahamiyatga ega.

Ushbu tezisning maqsadi — Cistanche o'simliklaridagi feniletanoid glikozidlarni ajratib olish va tahlil qilishda qo'llaniladigan zamonaviy xromatografik usullarni taqqoslash, ularning afzallik va cheklovlarini aniqlash hamda turli maqsadlar uchun eng maqbul yondashuvni ilmiy asoslashdan iborat.

FENILETANOID GLIKOZIDLARNING ANALITIK AHAMIYATI

Ekinakozid va akteozid fenolik gidroksil guruhlariga ega bo'lib, ultrabinafsha sohasida kuchli yutilishga ega. Bu xususiyat ularni teskari fazali xromatografiyada ajratish hamda UV yoki diod-massiv detektori yordamida miqdoriy aniqlash imkonini beradi. Biroq ekinakozid va akteozid izoakteozid, cistanosid A kabi tarkibiy jihatdan yaqin birikmalar bilan birga uchragani uchun yetarli xromatografik ajralish va ayrim hollarda mass-spektrometrik tasdiqlash zarur bo'ladi.

AJRATIB OLIHNING ASOSIY BOSQICHLARI

1. Quruq Cistanche xomashyosini maydalash va bir jinsli namuna tayyorlash.
2. 70–85% etanol yoki suvli etanol bilan ultratovushli yoki an'anaviy ekstraksiya qilish.
3. Ekstrakti konsentrlash va qutbli fraksiyalarga ajratish.
4. Makroporli smola, Sephadex LH-20 yoki ODS kolonkasi bilan dastlabki tozalash.
5. Preparativ HPLC yoki HSCCC yordamida ekinakozid va akteozidni yuqori tozalikda olish.
6. Olingan fraksiyalarni HPLC-DAD yoki LC-MS/MS bilan tasdiqlash va miqdoriy baholash.

HSCCC usuli birikmalarning ikki suyuq fazadagi taqsimlanish koeffitsientiga asoslanadi. Qattiq qattiq fazadan foydalanilmasligi tufayli adsorbsiyaga bog'liq

yo‘qotishlar kamayadi va ekinakozid hamda akteozidni yuqori tozalikda olish imkoniyati yaratiladi.

ZAMONAVIY XROMATOGRAFIK USULLAR

Usul	Asosiy vazifasi	Afzalliklari	Cheklovlari
HPLC-DAD	Ekinakozid va akteozidni miqdoriy aniqlash	Nisbatan arzon, takrorlanuvchan, rutin nazoratga mos	Yaqin izomerlarni farqlashda cheklangan
UPLC-PDA	Tezkor va samarali ajratish	Qisqa tahlil vaqti, yuqori ajratuvchanlik	Yuqori bosim va qimmatroq kolonkalar
LC-MS/MS	Past konsentratsiyalarda aniq identifikatsiya va miqdoriy o‘lchash	Yuqori selektivlik va sezgirlik	Qimmat uskuna va malakali xodim talab qiladi
LC-Q-TOF-MS	Noma‘lum feniletanoid glikozidlarni aniqlash	Aniq massa o‘lchovi va fragmentatsiya ma‘lumotlari	Asosan ilmiy tadqiqot laboratoriyalari uchun qimmat
HSCCC	Preparativ ajratish va tozalash	Yuqori tozalik va unumdorlik	Rutin miqdoriy tahlilga emas, preparativ ishga mos

HPLC-DAD: RUTIN NAZORAT UCHUN MAQBUL USUL

HPLC-DAD Cistanche ekstraktlarida ekinakozid, akteozid va ular bilan bog‘liq feniletanoid glikozidlarni bir vaqtda aniqlashda keng qo‘llaniladi. Ajratish odatda C18 testkari fazali kolonkada suv–asetonitril yoki suv–metanol elyuent tizimida amalga oshiriladi. Diod-massiv detektor bir necha to‘lqin uzunliklarida spektral ma‘lumot yozib olish imkonini beradi, bu esa pikning to‘g‘riligini qo‘shimcha tekshirishga yordam beradi. HPLC-DAD usulining asosiy afzalliklari — nisbatan past operatsion

xarajat, yaxshi takrorlanuvchanlik va rutin sifat nazoratiga mosligidir. Solishtirma standart namunalar asosida kalibrlash egri chizig'i tuzilganda marker birikmalarning miqdori aniq o'lchanadi. Shu sababli HPLC-DAD xomashyo, ekstrakt va tayyor mahsulotlarni standartlashtirish uchun eng maqbul usul hisoblanadi.

LC-MS/MS: ENG YUQORI ANALITIK ISHONCHLILIK

LC-MS/MS, ayniqsa ko'p reaksiyali monitoring (MRM) rejimida, ekinakozid va akteozidni molekulyar massa hamda xarakterli fragment ionlari asosida aniqlaydi. Bu usul murakkab o'simlik ekstraktlarida va past konsentratsiyalarda UV-deteksiyaga nisbatan ancha yuqori selektivlik beradi.

LC-ESI-MS va LC-Q-TOF-MS/MS yordamida Cistanche ekstraktlarida ekinakozid, akteozid, izoakteozid, cistanosid A va boshqa feniletanoid glikozidlar aniqlangan. Biroq uskuna, solishtirma moddalar va malakali xodimlar xarajati yuqori bo'lgani uchun LC-MS/MS ko'proq ilmiy tadqiqot va tasdiqlash bosqichida qo'llanadi.

USULLARNI QIYOSIY BAHOLASH

Rutin sifat nazorati va iqtisodiy jihatdan qulay tahlil uchun HPLC-DAD eng maqbul usuldir. Past konsentratsiyalarda yuqori selektiv aniqlash talab etilsa, LC-MS/MS ustunlik qiladi. Toza ekinakozid va akteozid olish maqsadida esa HSCCC eng samarali preparativ texnologiya hisoblanadi.

Nazariy jihatdan HPLC-DAD "xarajat–aniqlik" muvozanati bo'yicha eng optimal yechim hisoblanadi, chunki u yetarli selektivlik, yuqori takrorlanuvchanlik va nisbatan past xarajatni birlashtiradi. LC-MS/MS eng yuqori analitik ishonchlilikni ta'minlaydi, biroq rutin laboratoriyalar uchun iqtisodiy jihatdan kamroq qulaydir.

XULOSA

Ekinakozid va akteozid Cistanche xomashyosining farmatsevtik qiymatini belgilovchi asosiy marker birikmalar hisoblanadi. Ularni ajratib olish va tahlil qilishda HPLC-DAD, UPLC-PDA, LC-MS/MS va HSCCC usullari o'ziga xos afzalliklarga ega.

HPLC-DAD rutin sifat nazorati va ekstraktlarni standartlashtirish uchun asosiy usul sifatida tavsiya etiladi. LC-MS/MS tasdiqlash, murakkab namunalarni tahlil qilish va past konsentratsiyalarda aniqlash uchun qo‘llanilishi maqsadga muvofiq. HSCCC esa yuqori tozalikdagi feniletanoid glikozidlarni preparativ miqyosda olish uchun istiqbolli texnologiya hisoblanadi. Ushbu usullarni birlashtirish Cistanche asosidagi standartlashtirilgan fitopreparatlar yaratish uchun ilmiy asos bo‘la oladi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Zhang S. va boshq. Chemical composition, pharmacological effects, and parasitic mechanisms of *Cistanche deserticola*: An update. *Phytomedicine*, 2024.
2. *Herba Cistanches: Anti-aging*. PMC, 2017.
3. Bioactive Components, Pharmacological Properties, and Applications of *Cistanche deserticola* Y. C. Ma: A Comprehensive Review. *Nutrients*, 2025.
4. Phenylethanol Glycosides from *Cistanche tubulosa* Suppress Hepatic Stellate Cell Activation. *Molecules*, 2016.
5. Analysis of the active ingredients and health applications of *cistanche*. *Frontiers in Nutrition*, 2023.
6. Studies on *Cistanches Herba*: A Bibliometric Analysis. PMC, 2023.
7. Chemical Fingerprint and Quantitative Analysis of *Cistanche deserticola*. HPLC-DAD method.
8. Isolation, Structure Elucidation and Bioactivities of Phenylethanoid Glycosides from *Cistanche* plants. *Studies in Natural Products Chemistry*.
9. Xoshimova S. U. Neuroprotective potential of biologically active compounds from *Cistanche* plants in Alzheimer’s and Parkinson’s diseases // “Zamonaviy ta’lim va tilshunoslik rivoji” Respublika ilmiy-amaliy masofaviy konferensiyasi. – 2026. – Vol. 1, Issue 6. – P. 54–59.