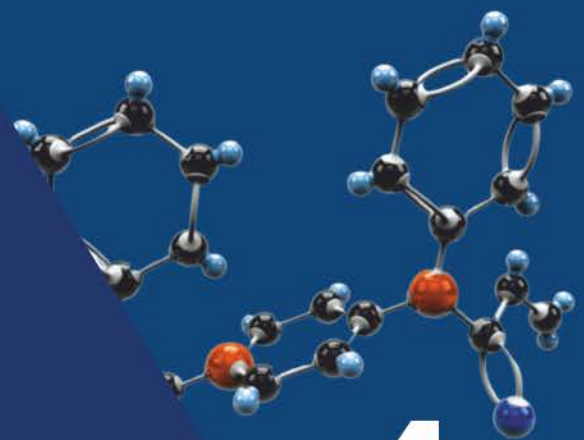


Farmatsiya



4
2026

FARMATSIYA

Ilmiy-amaliy jurnali

*2021 yilda tashkil etilgan
Yiliga 4 marta chiqadi*

№ 4 / 2026

*Axborotnoma OAK Rayosatining 2023 yil 31 mart
335/5-son qarori bilan dori vositalari texnologiyasi,
farmatsevtik kimyo, farmakognoziya, farmatsevtika ishini tashkil
qilish va farmatsevtika iqtisodiyoti, farmakologiya fanlari bo'yicha
doktorlik dissertatsiyalari asosiy ilmiy natijalarini chop etish
uchun tavsiya etilgan ilmiy nashrlar ro'yxatiga kiritilgan*

ISSN-C-31796

FARMATSIYA

Научно-практический журнал

*Основан в 2021 г.
Выходит 6 раз в год*

TOSHKENT
2026

FARMATSIYA

ISSN-C-31796

№ 4 / 2026

Tahrir hay'ati:

1. Tillayeva G.U. – bosh muharrir, f.f.d., professor, Farmatsevtik ishlab chiqishni tashkil qilish va sifat menejmenti kafedrasi, Toshkent farmatsevtika instituti.

2. Amanova M.M. – dotsent, ToshDAU dorivor o'simliklar kafedrasi mudiri.

3. Bagdasarova I.S. – b.f.n., professor, Tibbiy-biologik fanlar kafedrasi, Farmatsevtika ta'lim va tadqiqot instituti.

4. Dumatov A.F. – f.f.d., professor, Farmatsevtika ta'lim va tadqiqot instituti rektori.

5. Iskandarova L.M. – OOO "Navkar Group" laboratoriya mudiri, farm. fanlari nomzodi.

6. Jalilov F. S. – f.f.d., professor, Tibbiyot fakulteti, Farmatsevtik kimyo kafedrasi mudiri. Alfraganus universiteti.

7. Kariyeva Y.S. – f.f.d., professor, Dori turlari texnologiyasi kafedrasi mudiri, Toshkent farmatsevtika instituti.

8. Komilov X.M. – f.f.d., professor, Farmakognosiya kafedrasi, Toshkent farmatsevtika instituti.

9. Mavlyanova M.B. – f.f.n., dosent, Farmatsevtika ta'lim va tadqiqot instituti.

10. Maksudova F.X. – (muharrir o'rinbosari) f.f.d., professor, Dori vositalarini sanoat texnologiyasi kafedrasi mudiri, Toshkent farmatsevtika instituti.

11. Mirakilova D.B. – A.Sultonov nomli O'zbekiston kimyo-farmatsevtika ilmiy-tadqiqot instituti (UZ-KFITI) ilmiy ishlar bo'yicha direktor o'rinbosari

12. Nazarova Z.A. – f.f.d., professor, Dori turlari texnologiyasi kafedrasi, Toshkent farmatsevtika instituti.

13. Nabiyeu A.X. – t.f.n., yetakchi ilmiy xodim, Tajriba texnologiya laboratoriyasi, O'zR FA, Bioorganik kimyo instituti.

14. Xakimjanova Sh.O. (tehnika kotib) – Farmatsevtik ishlab chiqishni tashkil qilish va sifat menejmenti kafedrasi assistenti, Toshkent farmatsevtika instituti.

15. Olimov N.K. – f.f.d., professor, Farmakognosiya va dori vositalarini standartlash kafedrasi mudiri, Toshkent farmatsevtika instituti.

16. Sanayev Z.I. – t.f.n., katta ilmiy xodim, Farmakologiya va toksikologiya bo'limi, O'zR FA O'simlik moddalari kimyosi instituti.

17. Sidametova Z.E. (ma'sul kotib) – f.f.d., professor, Farmakognosiya va dori vositalarini standartlash kafedrasi, Toshkent farmatsevtika instituti.

18. Tillaeva U.M. – f.f.d., dotsent, Toshkent farmatsevtika instituti Xalqaro hamkorlik bo'yicha prorektor

19. Tulaganov A.A. – f.f.d., professor, O'zbekiston kimyo farmatsevtika ilmiy tadqiqot instituti, O'simliklar va sintetik Dori vositalarini texnologiyasi nomli laboratoriya mudiri

20. Tulyaganov R.T. – b.f.d., professor, Farmakologiya va biologik fanlarkafedrasi, Toshkent farmatsevtika instituti.

21. Tagayaliyeva N.A. – b.f.n., katta ilmiy xodim, Biologik faol moddalar farmakologiya si va skriningi laboratoriyasi mudiri, O'zR FA Bioorganik kimyo instituti.

22. Tukhtaev Kh.R. – f.f.d., professor, Noorganik, fizik va colloid kimyo kafedrasi, Toshkent farmatsevtika instituti.

23. Tukhtaev B.E. – b.f.d., professor, ToshDAU dorivor o'simliklar kafedrasi

24. Urmanova F.F. – f.f.d., professor, Farmakognosiya kafedrasi, Toshkent farmatsevtika instituti.

25. Usmanaliyeva Z.U. – f.f.d., professor, Farmatsevtik va toksikologik kimyo kafedrasi mudiri, Farmatsevtika va tadqiqot instituti.

26. Yunusxodjayeva N.A. – f.f.d., professor, Farmatsevtik va toksikologik kimyo kafedrasi, Farmatsevtika va tadqiqot instituti.

Tahrir kengashi:

Prof. Krasnyuk I.I. (Rossiya)
Prof. Dzhusupova Zh.D. (Rossiya)
Akad. Ramenskaya G.V. (Rossiya),
Akad. Patigorskaya N.V. (Rossiya),
Prof. Ordabaeva S.K. (Qozog'iston),
Prof. Sadchikova N.P. (Rossiya)

Prof. Grizodub A.I. (Ukraina),
Prof. Kurmanov R. (Qirg'ziston),
Prof. Shukirbekova A.B. (Qozog'iston),
Akad. Sagdullayev Sh.Sh. (O'zbekiston),
Akad. To'rayev A.S. (O'zbekiston).

UDK 615.32

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКОГО МЕТОДА ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВОНОИДОВ В ЭКСТРАКТЕ *ORTHIBER*

Тиллаева Гулнора Урунбаевна,
Ахмаджонова Гулчехра Искандар кизи,
Тиллаева Умида Махмуджановна

Ташкентский фармацевтический институт, г. Ташкент,
Республика Узбекистан
e-mail: gulnoratillayeva@gmail.com

Аннотация. В настоящей работе представлен разработанный метод определения флавоноидов в сухих экстрактах, полученных из смеси *Orthilia secunda* и *Berberis vulgaris*, с использованием хроматографических методов. Для идентификации использовали метод тонкослойной хроматографии. Были проанализированы экстракты, полученные с использованием различных растворителей, и их значения R_f сопоставлены со стандартом рутина. На основании полученных результатов определены оптимальные условия разделения и идентификации рутина, проведена валидация по параметрам: чувствительность, селективность и линейность. Также приведены результаты разработки количественного определения флавоноидов (по рутину) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. При проведении расчета, было установлено, что количественно флавоноидов содержится в экстракте 5,04 мг/г. Определены правильность и специфичность методики.

Ключевые слова: *Orthilia secunda*, *Berberis vulgaris*, идентификация, флавоноиды, рутин.тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография(ВЭЖХ), валидация.

Введение. В настоящее время ведутся научные исследования по изучению широко применяемых по всему миру лекарственных растений, состав которых малоизучен, выделению биологически активных веществ, содержащихся в их составе, изучению их фармакологической активности и безопасности, а также их стандартизации. Известно, что БАДы используются в

качестве дополнительного источника биологически активных веществ (пищевые волокна, витамины, минеральные вещества, аминокислоты) для устранения их дефицита. Их используют в виде фармацевтических форм - чая, экстрактов, порошков, таблеток, капсул, сиропов, настоев, концентратов и получают из растительного, животного или минерального сырья [1,2].

Флавоноиды представляют собой широко распространённый класс биологически активных соединений растительного происхождения, обладающих выраженными антиоксидантными, противовоспалительными свойствами, а также способностью укреплять стенки капилляров. Одним из представителей данного класса является рутин, который играет важную роль в снижении оксидативного стресса, повышении эластичности сосудов и улучшении микроциркуляции. Ранее нами изучены лекарственные ресурсы для расширения фундаментальных знаний о фармакологических свойствах и актуальности с целью дальнейшего их применения в медицинской практике для профилактики и лечения. В этих исследованиях рассматривалась возможность применения лекарственного растения *Orthilia secunda* L и *Berberis vulgaris* L в фитотерапии гинекологических заболеваний и перспективы его использования при разработке новых лекарственных препаратов и БАДов на их основ [1,3].

Известно, что комбинированием БАДов и лекарственных средств разной фармакологической группы можно улучшить свойства и вызвать синергизм действия основного препарата, и при минимальных терапевтических дозах уменьшить побочные действия и увеличить терапевтический эффект [4].

Лекарственные растения *Orthilia secunda* и *Berberis vulgaris* широко применяются в народной медицине на протяжении многих лет. В связи с наличием в их составе различных биологически активных веществ, в частности флавоноидов, определение содержания рутина в экстрактах этих растений

является актуальной научной и практической задачей [5-8].

ТСХ является одним из современных методов анализа для идентификации, отличающимся простотой, быстротой и высокой чувствительностью. Данный метод широко применяется для качественного и частично количественного определения флавоноидов в растительных экстрактах. Он обеспечивает эффективное разделение и идентификацию компонентов и удобен для использования в лабораторных условиях. Хроматографическое разделение осуществляется в результате движения анализируемых веществ в тонком слое (неподвижной фазе), растворенных в растворителе или соответствующей смеси растворителей (подвижная фаза, элюент). При разделении вещества образуют на поверхности сорбента зоны адсорбции в виде пятен (круглых или эллипсовидных) или полос.

В настоящей работе разработан метод определения рутина в сухих экстрактах, полученных из смеси *Orthilia secunda* и *Berberis vulgaris* в соотношении 1:1, с использованием метода ТСХ. Были проанализированы экстракты, полученные с использованием различных растворителей, и их значения R_f сопоставлены со стандартом рутина. На основании полученных результатов определены оптимальные условия разделения и идентификации рутина. Также как альтернативный метод для идентификации и для количественного определения использовали метод ВЭЖХ.

Цель исследования. Разработка метода определения флавоноидов в экстракте комбинированного действия *OrthiBer* хроматографировани-

ем в тонких слоях сорбента для идентификации и ВЭЖХ для количественного определения.

Материалы и методы. Сырьё: сухие экстракты, полученные из смеси *Orthilia secunda* и *Berberis vulgaris* в соотношении 1:1, с использованием различных растворителей; стандартный образец рутина.

Подвижная фаза: бутанол : уксусная кислота : вода (40:10:50). 10% раствор NaOH для проявления.

Материалы: «Силуфол» пластинки, хроматографическая камера, водяная баня, сушильный шкаф, распылитель, УФ-лампа (254 нм). Для количественного определения флавоноидов использовали метод высокоэффективной жидкостной хроматографии -ВЭЖХ марки «Agilent-1200» Колонка Agilent C18 5 мкм, 4,6х250мм.

Методика. Для определения содержания рутина методом ТСХ из каждого из четырёх экстрактов и стандартного образца были отобраны навески массой 0,005 г, которые растворяли в 5 мл 90% этилового спирта с последующим нагреванием. После полного растворения растворы охлаждали. Полученные растворы наносили на стартовую линию хроматографической пластинки с помощью капилляра. После высушивания нанесение повторяли трижды.

Хроматографическую камеру насыщали системой растворителей в течение 30 минут, после чего пластин-

ку помещали в камеру и проводили хроматографирование до достижения фронтом растворителя линии финиша. Затем пластинку извлекали и высушивали до полного удаления запаха растворителя. Высушенную пластинку просматривали в УФ-свете при 254 нм, при этом пятно рутина проявлялось в виде тёмно-коричневого пятна. Далее пластинку обрабатывали 10% раствором NaOH, в результате чего пятно приобретало жёлтую окраску. Результаты определения рутина методом ТСХ представлены в таб.1 и рис.1.

Значение R_f рассчитывали по формуле:

$$R_f = \frac{a}{b}$$

где:

a – путь пятна (см),

b – путь фронта растворителя (см).

Результаты. 1-й опыт:

Стандарт – 4,5 см

70% этанол – 3,7 см

40% этанол – 3,4 см

Вода – 3,3 см

Смешанный – 3,4 см

Фронт – 7,6 см

2-й опыт:

Стандарт – 4,7 см

70% этанол – 4,2 см

40% этанол – 4,6 см

Вода – 4,6 см

Смешанный – 3,6 см

Фронт – 7,8 см

Таблица 1

Результаты определение рутина методом ТСХ

№	Растворы	Путь -1, см	Путь-2, см	Rf-1	Rf -2
1	Стандарт	4.5	4.7	0.592	0.6026
2	В 70% этанольном экстракте	3.7	4.2	0.4868	0.5384
3	В 40% этанольном экстракте	3.4	4.6	0.4473	0.5974
4	Водный экстракт	3.3	4.6	0.434	0.5974
5	Смешанная фракция (70%+40%+вода)	3.4	3.6	0.447	0.4615

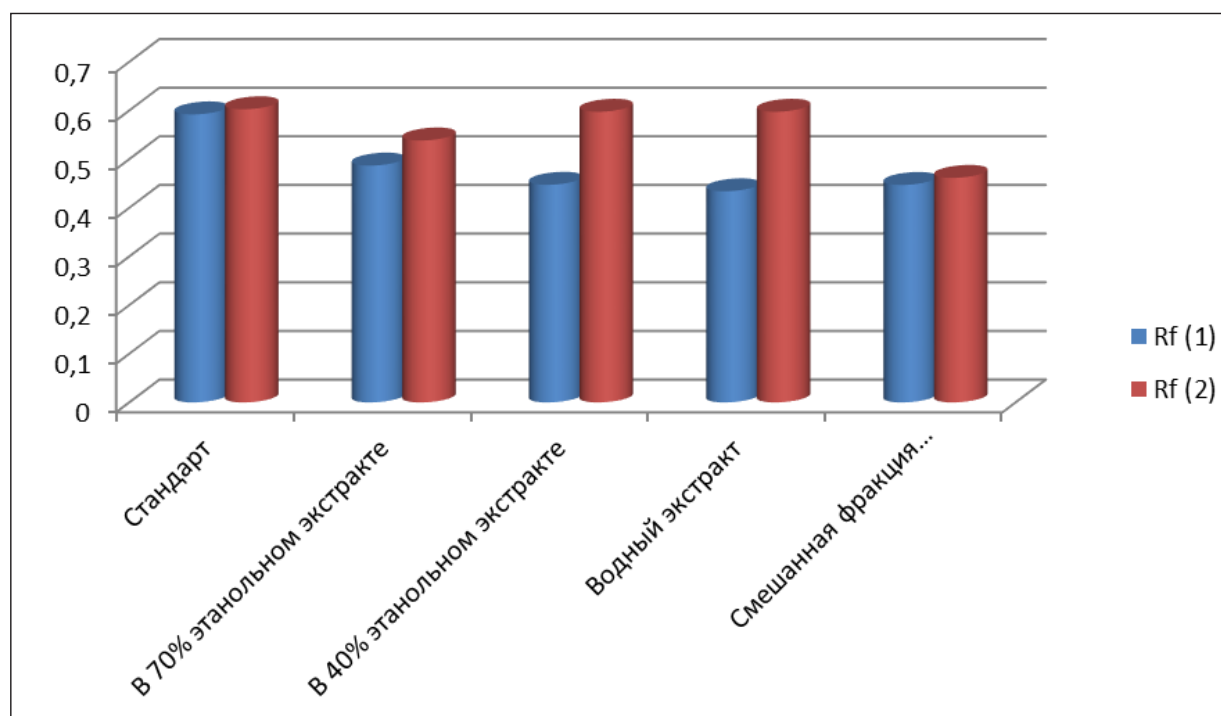


Рисунок 1. Сравнение значений Rf рутина для экстрактов, полученных в различных растворителях

Далее нами были определены валидационные характеристики метода такие как: чувствительность, селективность, линейность. Определение чувствительности метода и предела обнаружения рутина в экстрактах различными проявляющими реактивами. Результаты представлены в таб. 2.

Таблица 2

Определение чувствительности метода и предела обнаружения рутина в экстрактах различными проявляющими реактивами

Количество вещества, взятого для анализа мкг	УФ-254	Пары йода	CuSO ₄	FeCl ₃
100	+	+	+	+
50	+	+	+	+
10	+	+	+	-
5	+	+	-	-
1	-	+	-	-
0,1	-	-	-	-

Линейность оценивали по ответу аналитической аппаратуры. Приготовлены модельные растворы различных концентраций, соответствующих диапазону от 25% до 100% от указанной в соответствующей методике навески. Полученные результаты свидетельствуют, что наилучший диапазон линейности наблюдается в интервале концентраций препарата от 2 мкг/мл до 20 мкг/мл.

Также проводили идентификацию и определение количественного содержания активных веществ по флавоноидам -по доминирующему компоненту рутину. Для этого использовали метод ВЭЖХ. Исследование проводили на ВЭЖХ марки «Agilent-1200» Колонка Agilent C18 5 мкм, 4,6х250мм. Элюирование проводили в изократической режиме, качестве подвижной фазы ис-

пользовали смесь 0,1% трифторуксусная кислота и ацетонитрила в соотношении (70:30). Объемная скорость потока элюента – 1,0 мл/мин, объем вводимой пробы 2мкл. Длина в. 254, 280 нм. 100мг (образец)-10мл 70% спирт этиловый. Полученные результаты представлены на рисунках 2 и 3.

При проведении расчета, было установлено, что количественно флавоноидов содержится в экстракте 5,04 мг/г. Также данную методику определяли по критериям валидации: специфичность, линейность, сходимость, промежуточная прецизионность и правильность. Обобщенные результаты валидации будут представлены в следующих обзорах. Хроматограмма РСО рутина и Хроматограмма испытуемого раствора в экстракте представлена на рисунках 2,3.

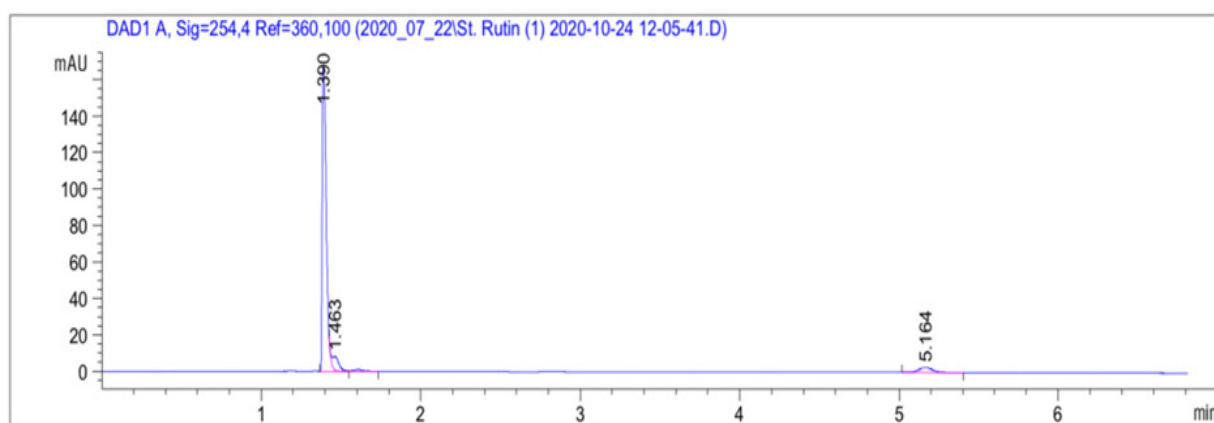


Рисунок 2. Хроматограмма РСО рутина

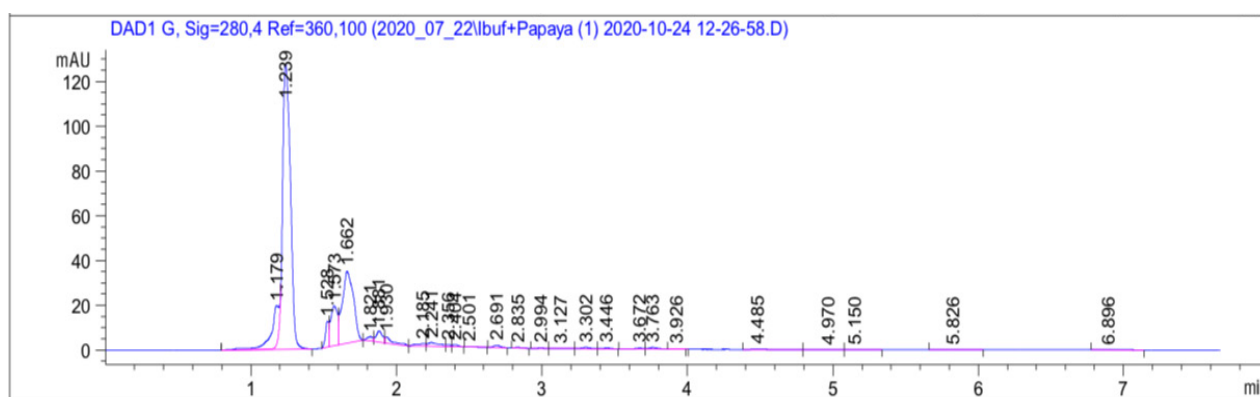


Рисунок 3. Хроматограмма испытуемого раствора в экстракте

В процессе проведения валидации аналитической методики по определению количественного содержания рутина в экстрактах, а также в сборе комбинированного состава смеси растений *Orthilia secunda* и *Berberis vulgaris*, получены достоверные результаты по валидационным характеристикам.

По критерию приемлемости: коэффициент корреляции и в том и в этом случае должен быть не менее 0,990.

Определение правильности метода. Тест выполнен одним аналитиком.

Правильность аналитической методики подтверждали на девяти приготовленных растворах стандартного образца в диапазоне концентраций от 80 до 120 % от рабочей концентрации анализируемого вещества. Полученные

результаты соответствуют критериям приемлемости. Доказывают правильность проведения методов и позволяют проводить определение количественного содержания в БАДах. Результаты разработанной методики будут включены в проект нормативного документа на БАД **OrthiBer**.

Обсуждение. В первом опыте при проведении ТСХ из-за недостаточного нанесения растворов пятна были слабо выражены, что не позволило получить достоверные результаты. Во втором опыте, при оптимальном количестве наносимого раствора, хроматографическое разделение значительно улучшилось, и рутин был четко идентифицирован. Для стандартного образца значение R_f составило око-

ло 0,59–0,60, что подтверждает корректность выбранных условий анализа. Установлено, что экстракты, полученные с использованием 40% этанола и воды, имеют значения R_f , близкие к стандарту, что свидетельствует о наличии рутина. В случае 70% этанола наблюдается некоторое снижение R_f , что может быть связано с селективностью экстракции или неполным разделением компонентов. Для смешанного экстракта отмечено значительное отклонение значений R_f , что может указывать на низкое содержание рутина или недостаточную эффективность разделения.

Заключение. В результате проведенных исследований разработан эффективный и надёжный метод определения рутина с использованием ТСХ. Установлено, что система растворителей бутанол : уксусная кислота : вода (40:10:50) является оптимальной для разделения компонентов. Определено, что характерное значение R_f для рутина составляет около 0,59. Среди исследованных экстрактов наиболее оптимальные результаты показали экстракты, полученные с использованием 40% этанола и воды.

Предложенный метод отличается простотой выполнения, быстротой и отсутствием необходимости в сложном оборудовании, что позволяет рекомендовать его для практического применения в лабораторных условиях при анализе флавоноидов, в частности рутина. Эти результаты будут использованы при стандартизации сбора(экстракта) *OrthiBer*.

Полученные же результаты количественного определения флавоноидов (по рутину) методом ВЭЖХ соответствуют критериям приемлемости. Доказывают правильность проведения методов и позволяют проводить

определение количественного содержания в БАДах. Результаты разработанной ВЭЖХ методики, также ТСХ будут включены в проект нормативного документа на БАД *OrthiBer*.

Использованная литература.

1. Сафонова Е.Ф. Эколого-гигиенические аспекты оборота биологически активных добавок/ Е.Ф. Сафонова, Н.А. Дьякова, Л.Л. Кукуева. - Воронеж: Изд-во ВГУ, 2016. -40 с.
2. Леонтьев В.Н. и др. Химия биологически активных веществ. Лабораторный практикум. Учебно-методическое пособие для студентов «Биотехнология», специализации «Технология ферментов, витаминов и продуктов брожения» –Минск: БГТУ, 2020. -91 с.
3. Тиллаева Г. У., Ахмаджонова Г. И. Исследования по получению биологически активной добавки комбинированного состава для использования в геникологической практике. Научно -практический журнал FARMATSIYA.2026, №1,С. 98-108.
4. Четли Эндрю. Проблемные лекарства. Health Action International. – 1998 (изд. рус.яз.) с.25-40.
5. Лёзина А.В., Тернинко И.И., Крысько М.В. Идентификация и количественное определение арбутина в траве ортилии однобокой (*Orthilia secunda*). Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021;10(4):122-
6. Левченко, Н.В. Боровая матка и другие травы для женского здоровья [Текст]: монография / Н.В. Левченко. – СПб.: Вектор, 2005. – 93 с.
7. ЛЕКАРСТВЕННОЕ РАСТЕНИЕ – БАР-БАРИС. КАРОМАТОВ И. Ж. РАХМАТОВА Д. Электронный научный журнал «Биология и интегративная медицина» №1 – январь (29) 2019 С. 197-220.
8. Сейеде Зохране Камрани Рад , Марьям Рамешрад, Хосейн Хоссейнзаде. Токсикологические эффекты *Berberis vulgaris* (барбариса) и его активного компонента берберина: обзор Iran J Basic Med Sci. 2017 Май;20(5):516–529. doi:

**ORTHIBER EKSTRAKTIDAGI
FLAVONOIDLARNI ANIQLASH VA
MIQDORINI ANIQLASH UCHUN
XROMATOGRAFIK USULIDAN
FOYDALANISH**

**Tillaeva Gulnora Urunboevna,
Axmadjonova Gulchehra Iskandar qizi,
Tillayeva Umida Maxmudjanovna**

Toshkent farmatsevtika instituti,
Toshkent, O'zbekiston Respublikasi
e-mail: gulnoratillayeva@gmail.com

Annotatsiya. Ushbu tadqiqotda biz yupqa qatlamli xromatografiya yordamida *Orthilia secunda* va *Berberis vulgaris* ning 1:1 aralashmasidan olingan quruq ekstraktlardagi rutinni aniqlash usulini ishlab chiqdik. Turli erituvchilar yordamida olingan ekstraktlar tahlil qilindi va ularning R_f qiymatlari rutin standarti bilan taqqoslandi. Olingan natijalar asosida rutinni ajratish va aniqlash uchun optimal sharoitlar aniqlandi va sezgirlik, selektivlik va chiziqlilik uchun validatsiya o'tkazildi. Yuqori samarali suyuq xromatografiya yordamida flavonoidlarni (rutin asosida) miqdoriy aniqlash natijalari ham keltirilgan. Hisob-kitoblar shuni ko'rsatdiki, ekstrakt tarkibida 5,04 mg/g flavonoidlar mavjud. Usulning aniqligi va o'ziga xosligi aniqlandi.

Kalit so'zlar: *Orthilia secunda*, *Berberis vulgaris*, identifikatsiya, flavonoidlar, rutin, yupqa qatlamli xromatografiya, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi, validatsiya.

**USING A CHROMATOGRAPHIC
METHOD FOR THE IDENTIFICATION
AND QUANTIFICATION OF
FLAVONOIDS IN *ORTHIBER* EXTRACT**

**Gulnora Urunbaevna Tillaeva,
Gulchehra Iskandar Akhmadzhonova,
Tillayeva Umida Makhmudjanovna**

Tashkent Pharmaceutical Institute,
Tashkent, Republic of Uzbekistan
e-mail: gulnoratillayeva@gmail.com

Abstract. In this study, we developed a method for the determination of rutin in dry extracts obtained from a 1:1 mixture of *Orthilia secunda* and *Berberis vulgaris* using thin-layer chromatography. Extracts obtained using various solvents were analyzed, and their R_f values were compared with a rutin standard. Based on the obtained results, optimal conditions for the separation and identification of rutin were determined, and validation was performed for sensitivity, selectivity, and linearity. The results of a quantitative determination of flavonoids (based on rutin) using high-performance liquid chromatography are also presented. Calculations revealed that the extract contained 5.04 mg/g of flavonoids. The accuracy and specificity of the method were determined.

Keywords: *Orthilia secunda*, *Berberis vulgaris*, identification, flavonoids, rutin, thin-layer chromatography, high-performance liquid chromatography, validation.