Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

J Chem Good Trad Med, Volume 4, Issue 5, 2025 Traditional Medicine

ISMALOQ BARGINING ANTIRADIKALLIK XUSUSIYATINI ANIQLASH

Xojimatov Maxmutali Muydinovich
Andijon viloyati Nogironligi bo'lgan shaxslarni reabilitatsiya qilish va protezlash markazi, ichki kasalliklar shifokori
https://orcid.org/0009-0005-7472-5551
E-mail: maxmutalixojimatov@gmail.com

Kalit so'zlar:
farmatsevtika, antioksidant, gemisellulоza, pektin, biologik faol birikmalar

Annotatsiya
Ismaloq (Spinacia oleracea L.) bargining spirtli ekstraksiyasi DPPH usuli bilan baholandi. 517 nm da o'lchovlar asosida IC_{50} qiymati aniqlandi. Yuqori antiradikallik faollik ismaloqda fenolik va flavonoid birikmalar mavjudligini ko'rsatib, uni tabiiy antioksidant sifatida farmatsevtika va tabobatda qo'llash imkonini beradi.

Havola uchun
Xojimatov, M. M. ISMALOQ BARGINING ANTIRADIKALLIK XUSUSIYATINI ANIQLASH. Tovarlar Kimyosi Va Xalq Tabobati Jurnali, 4(5). https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss5.2025.555

Kirish. Zamonaviy tibbiyot amaliyotida qo'llanilayotgan dorivor preparat larning sezilarli qismi tabiiy manbalardan olingan biofaol moddalarga asoslanadi. Bunday manbalardan olingan dori vositalari o'zining yuqori samaradorligi, organizm tomonidan oson o'zlashtirilishi, past toksikligi, biologik mosligi va kompleks terapevtik ta'siri bilan sun'iy sintez qilingan preparatlardan farq qiladi. Shu sababli tabiiy kelib chiqishga ega antioksidant, antibakterial, zamburug'larga hamda o'sma hujayralariga qarshi faollikka ega bo'lgan birikmalarga bo'lgan talab farmatsevtika sanoatida ortib bormoqda [1; 5–7-b.].

Tabiiy o'simliklardan biologik faol komponentlarni aniqlash, ularni ajratib olish va amaliy tibbiyot hamda farmatsevtika ishlab chiqarishida qo'llash istiqbollari kimyo-biologiya sohasida dolzarb ilmiy yo'nalishlardan biridir. Ayniqsa, antioksidant moddalarning ahamiyati ularning hujayralarda kechuvchi oksidlanish jarayonlarini sekinlashtirish, erkin radikallarni neytrallash hamda oksidlovchi stress bilan bog'liq turli kasalliklarning oldini olish xususiyati bilan izohlanadi.

Uglevodlar sinfiga mansub polisaxaridlar ham tabiiy antioksidantlar sifatida e'tiborga loyiqdir. Ular o'simlik hujayra devorining asosiy tarkibiy qismini tashkil etib, asosan selluloza, gemisellulоza va pektin moddalardan iborat [2; 850–861-b.]. Ushbu polisaxaridlar neytral yoki kislotali tabiatga ega monosaxarid qoldiqlaridan tashkil topadi. Biotexnolog B. Warrandning tadqiqotlariga ko'ra, ko'plab o'simlik polisaxaridlari tabiiy, xavfsiz va toksik ta'sirga ega bo'lmagan antioksidantlar bo'lib, ularning biologik tizimlarga zararli ta'siri deyarli kuzatilmaydi [3; 355–370-b.].



1-rasm. Ismaloqning ko'rinishi.

Namunaning antiradikallik xususiyatini DPPH metodi bilan baholash

Binafsha rangli 2,2-difenil-1-pikrilgidrazil (DPPH) radikalining rangsizlanish hodisasi antioksidant moddalarning vodorod atomi yoki elektron berish qobiliyatini baholash uchun keng qo‘llaniladi. Ushbu mexanizm asosida DPPH• erkin radikallarini neytrallash qobiliyatiga ega tabiiy antioksidant birikmalar mavjudligi aniqlanadi. Barqaror DPPH• radikali spektrofotometrik tahlil jarayonida standart reagent sifatida foydalaniladi va u erkin radikal bilan antioksidant o‘rtasidagi elektron almashuv reaktsiyasiga asoslanadi [4].

Mazkur tadqiqotda Blois [5] tomonidan taklif etilgan DPPH• erkin radikallarini ingibirlash (inaktivatsiya) usulidan biroz modifikatsiyalangan holda foydalanildi [6]. Tajriba davomida ismaloq bargidan olingan namunalar ekstrakti tayyorlandi. Buning uchun 1 g quritilgan o‘simlik namunasi 25 ml 96 % li etanol eritmasida 20 daqiqa davomida ultratovushli vannada ekstraksiyalandi. Hosil bo‘lgan ekstrakt tahlil uchun tayyorlash maqsadida 0,45 mkm o‘lchamdagi shprits-filtr orqali suzib o‘tkazildi. Filtrlash jarayonidan so‘ng olingan toza eritma DPPH reaksiyasida antioksidant faollikni aniqlash uchun ishlatildi [7].

Namunalarning antiradikallik xususiyatini aniqlash. Ismaloq bargi ekstraktining erkin radikallarni neytrallash qobiliyati DPPH (2,2-difenil-1-pikrilgidrazil) usuli asosida aniqlangan. Tajriba jarayonida 4 ml hajmli kvarts kyuvetaga 3 ml DPPH eritmasi hamda 100 mkl etanol (nazorat namunasi) qo‘shildi. Hosil bo‘lgan eritma YOKE (Xitoy) kompaniyasining **K7000** rusumli spektrofotometriga joylashtirilib, 30 daqiqa davomida 517 nm to‘lqin uzunligida nur yutilish darajasi (D_1) har 5 daqiqalik intervalda qayd etildi.

Antiradikallik faolligini baholash maqsadida ismaloq ekstraktining 25, 50, 75 va 100 mkl hajmli namunalariga 3 ml DPPH eritmasi qo‘shilib, xuddi shu sharoitda 517 nm to‘lqin uzunligida optik zichlik (D_2) o‘lchandi. Har bir kyuvetadagi eritma hajmi 3,1 ml ga tenglashtirilib, zarur miqdorda etanol bilan to‘ldirildi.

Olingan ma’lumotlar asosida namunadagi erkin radikallarni ingibirlash foizi (antiradikallik faolligi) quyidagi formula orqali hisoblab chiqildi:

$$ARF\% = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \cdot 100\%$$

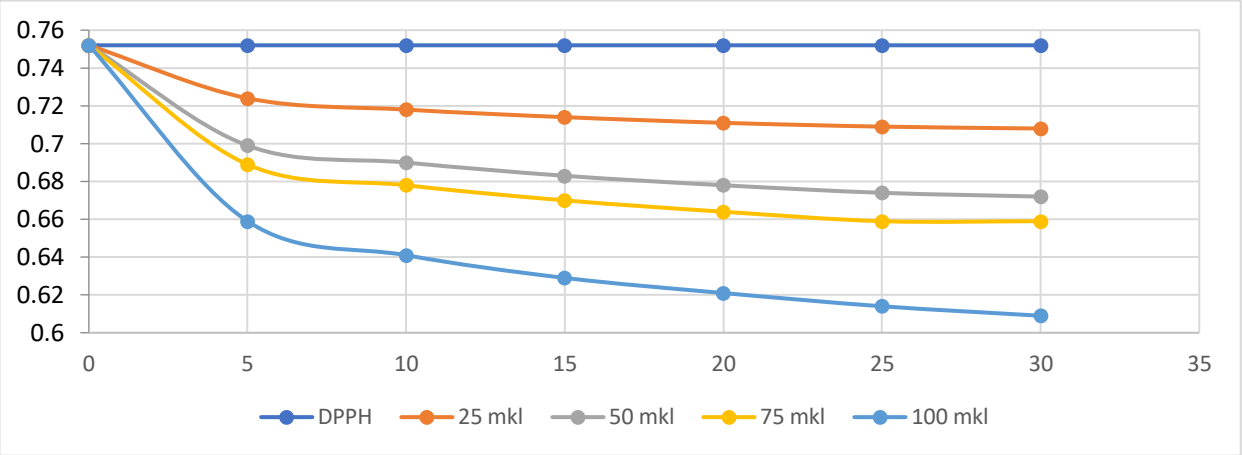
Olingan natijalar quyidagi jadvalda berildi:

1-jadval.

DPPH eritmasiga qo’shilgan bo’sh va tekshiriladigan spirtli ektraksiya qilingan namunalarning o‘lchangan nur yutilishi va hisoblangan antiradikallik faollik qiymatlari.

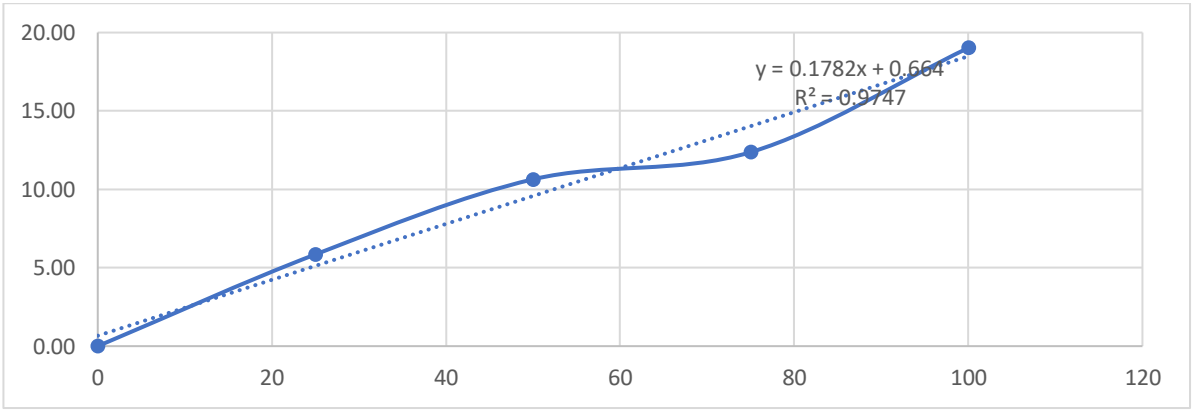
Hajm, mkl	**Vaqt, daq.**	**Namuna**					
		Abs, D	**ARF%**		**Vaqt, daq.**	**Abs, D**	**ARF%**
25	0	0,752	0,00	75	0	0,752	0,00
	5	0,724	3,72		5	0,689	8,38
	10	0,718	4,52		10	0,678	9,84
	15	0,714	5,05		15	0,67	10,90
	20	0,711	5,45		20	0,664	11,70
	25	0,709	5,72		25	0,659	12,37
	30	0,708	**5,85**		**30**	0,659	**12,37**
50	0	0,752	0,00	100	0	0,752	0,00
	5	0,699	7,05		5	0,659	12,37
	10	0,69	8,24		10	0,641	14,76

	15	0,683	9,18		15	0,629	16,36
	20	0,678	9,84		20	0,621	17,42
	25	0,674	10,37		25	0,614	18,35
	30	0,672	**10,64**		**30**	0,609	**19,02**



2-rasm. DPPH eritmasiga qo'shilgan bo'sh va tekshirilgan spirtli esktraksiya qilingan namunalar eritmalarining o'lchangan nur yutilishining grafikda ko'rinishi.

Namunalarning IC_{50}- DPPH eritmasining 50 % gacha ingibirlash konsentratsiyasini hisoblash uchun har bir tajribada 30-daqiqadagi antiradikallik faolliklari (ARF %) qiymatlari va qo'shilgan spirtli namunalar hajmi asosida quyidagi grafik tuzildi hamda unga o'tkazilgan trend chizig'i funktsiyasi asosida hisoblab topildi.



3-rasm. Ismaloq batgining spirtli estraksiyasining 10-daqiqada aniqlangan ARF % lari va hajmlari o'rastidagi bog'liqlik grafiki.

Grafikga o'tkazilgan trend chizig'i funksiya formulasi y=mx+b dan 50 % ARF % namoyon qiluvchi hajmni (IC_{50}) x=(y-b)/m formulasi asosida hisoblandi:

$$IC_{50} = \frac{(50 - 0.664)}{0.1782} = 276.86\ mkl$$

Ismaloq (Spinacia oleracea L.) bargining spirtli ekstraksiyasining antiradikallik xususiyatlari DPPH (2,2-difenil-1-pikrilgidrazil) erkin radikalini neytrallash reaksiyasi asosida baholandi. Olingan natijalarga ko'ra, DPPH eritmasining 517 nm to'lqin uzunligidagi optik zichligi (D) namuna hajmi va inkubatsiya vaqtiga qarab izchil kamayib bordi (1-jadval). Bu holat ismaloq ekstraktidagi fenolik va flavonoid birikmalar erkin radikallar bilan reaksiyaga kirishib, ularni neytrallashini ko'rsatadi.

5 daqiqalik kuzatuvda 25 mkl hajmdagi namunada antiradikallik faollik (ARF) 3,72 % ni tashkil etgan bo'lsa, 30 daqiqalik inkubatsiyadan so'ng bu ko'rsatkich 5,85 % gacha oshdi. Hajm ortgani sari faollikning oshishi kuzatildi: 50 mkl namuna uchun 10,64 %, 75 mkl uchun 12,37 %, 100 mkl uchun esa

19,02 % gacha yetdi. Bu esa ismaloq bargi ekstraktida erkin radikallarni to‘suvchi biologik faol komponentlarning mavjudligini tasdiqlaydi (2-rasm).

Antiradikallik faollikning namuna hajmiga bog‘liqligini aniqlash maqsadida 30 daqiqalik o‘lchov natijalari asosida ARF (%) qiymatlarining konsentratsiyaga bog‘liqlik grafigi tuzildi. Grafikdagi trend chizig‘i uchun tenglama y = 0,1782x + 0,664 ko‘rinishida ifodalandi. Ushbu tenglamadan foydalanib IC_{50}-DPPH eritmasining 50 % gacha ingibirlash konsentratsiyasi- x = (50 - 0,664)/0,1782 = 276,86 mkl deb hisoblab chiqildi (3-rasm).

IC_{50} qiymatining nisbatan yuqori bo‘lishi ismaloq bargi ekstraktida erkin radikallarni ingibirlaydigan moddalarning o‘rtacha konsentratsiyada mavjudligidan dalolat beradi. Bu ko‘rsatkich ismaloqning tabiiy antioksidantlar manbai sifatida muhim ekanligini tasdiqlaydi. Uning biologik faolligi asosan flavonoidlar, askorbin kislotasi, polifenollar va boshqa antioksidant moddalarning ta’siri bilan bog‘liq.

Shunday qilib, DPPH usuli bo‘yicha olingan natijalar ismaloq bargining spirtli ekstraktida sezilarli darajadagi antiradikallik faollik mavjudligini ko‘rsatdi. Bu uni parhez mahsuloti va farmakologik xomashyo sifatida qimmatli manba deb baholash imkonini beradi.

Xulosa. Olingan natijalar shuni ko‘rsatadiki, ismaloq (Spinacia oleracea L.) bargining spirtli ekstrakti sezilarli darajada antiradikallik faollikka ega. DPPH erkin radikalini neytrallash tajribalari asosida aniqlangan IC_{50} qiymati 276,86 mkl ni tashkil etdi, bu esa ekstraktning o‘rtacha darajadagi antiradikal potentsialini ifodalaydi. Tadqiqot natijalari ismaloq barglarida erkin radikallarni inaktivatsiya qiluvchi fenolik va flavonoid birikmalar mavjudligini tasdiqlaydi.

Mazkur ilmiy izlanish natijalariga ko‘ra, ismaloq ekstrakti tabiiy antioksidantlar manbai sifatida istiqbolli hisoblanadi hamda kelajakda biologik faol oziq-ovqat qo‘shilmalari ishlab chiqish uchun ilmiy asos bo‘lib xizmat qilishi mumkin.

Adabiyotlar

1. M.B. Nuraddinova, M.M. Olimova. Euphorbia milii o'simligi kimyoviy tarkibi va biologik faolligi. / monografiya. Toshkent "MAKON SAVDO PRINT" 2024 -104 bet.
2. Caili F. et al. Some properties of an acidic protein-bound polysaccharide from the fruit of pumpkin //Food chemistry. - 2007. - T. 100. - №. 3. - C. 944-947.
3. Cosgrove D.]. Growth of the plant cell wall //Nature reviews molecular cell biology. - 2005. - T. 6. - №. 11. - C. 850-861. 8. Warrand J. Healthy Polysaccharides //Food Technology & Biotechnology. - 2006. - T. 44. - №. 3. - C. 355-370.
4. Gulcin, I.; Beydemir, S.; Sat, I.G.; Kufrevioglu, O.I. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (Cornus mas L.). Acta Aliment. Hung. 2005, 34, 193–202.
5. Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958, 181, 1199–1200.
6. Askarov I.R., Muminov M.M., Yusupov M.A. Study of antiradical properties of artichoke (cynara scolymus l.) and milk thistle (sylybum marianum l.) vegetable oils. NamDU Ilmiy Axborotnomasi, 2024, 11, p.173-177.
7. Askarov, I. R., Abdullaev, S. S., Mamatkulova, S. A., & Abdulloev, O. S. (2024). Antioxidant activity and elemental composition of mixtures of fig and common unabi fruits. Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine, 3(3), 179–205., https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol3.iss3.2024.320.

Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

J Chem Good Trad Med, Volume 4, Issue 5, 2025 Traditional Medicine

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИСТЬЕВ ШПИНАТА

Махмутали Муйдинович Ходжиматов
Андижанский региональный реабилитационный и протезный центр для лиц с ограниченными возможностями, Врач-терапевт
https://orcid.org/0009-0005-7472-5551
DOI: https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss5.2025.555

Ключевые слова:
фармацевтика, антиоксидант, гемицеллюлоза, пектин, биологически активные вещества
Аннотация
Антирадикальная активность спиртового экстракта листьев шпината (Spinacia oleracea L.) оценена методом DPPH. По результатам измерений при 517 нм рассчитано значение IC_{50}. Высокая активность указывает на наличие фенольных и флавоноидных соединений, что делает экстракт перспективным природным антиоксидантом.

Как цитировать
Ходжиматов, М. М. ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИРАДИКАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ЛИСТЬЕВ ШПИНАТА. Журнал химии товаров и народной медицины, 4(5). https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss5.2025.555

Введение. В современной медицинской практике значительная часть применяемых лекарственных препаратов основана на биологически активных веществах природного происхождения. Такие препараты отличаются от синтетически синтезированных средств высокой эффективностью, лёгкой усвояемостью организмом, низкой токсичностью, биологической совместимостью и комплексным терапевтическим действием. В связи с этим возрастает потребность в соединениях природного происхождения, обладающих антиоксидантной, антибактериальной, противогрибковой и противоопухолевой активностью [1; 5–7 с.].

Выявление биологически активных компонентов из природных растений, их выделение и использование в практической медицине и фармацевтическом производстве являются актуальными направлениями в области химико-биологических исследований. Особенно важна роль антиоксидантов, которые способны замедлять процессы окисления в клетках, нейтрализовать свободные радикалы и предотвращать развитие заболеваний, связанных с окислительным стрессом.

Полисахариды, относящиеся к классу углеводов, также представляют интерес как природные антиоксиданты. Они составляют основную часть клеточной стенки растений и включают такие компоненты, как целлюлоза, гемицеллюлоза и пектины [2; 850–861 с.]. Эти полисахариды состоят из остатков моносахаридов нейтрального или кислотного характера. По данным биотехнолога Б. Варранда, многие растительные полисахариды являются природными, безопасными и нетоксичными антиоксидантами, не оказыва ющими вредного воздействия на биологические системы [3; 355–370 с.].



Рисунок 1. Внешний вид шпината.

Оценка антиредикальной активности образца методом DPPH.

Явление обесцвечивания фиолетового раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразилового (DPPH) радикала широко используется для оценки способности антиоксидантных соединений отдавать атом водорода или электрон. На основе данного механизма определяется наличие природных антиоксидантов, способных нейтрализовать свободные радикалы DPPH•. Стабильный радикал DPPH• применяется в спектрофотометрическом анализе в качестве стандартного реагента и основан на реакции обмена электронами между антиоксидантом и свободным радикалом [4].

В настоящем исследовании была использована модифицированная методика ингибирования (инактивации) свободных радикалов DPPH•, предложенная Блуа (Blois) [5], с незначительными изменениями [6]. В ходе эксперимента был приготовлен этанольный экстракт из листьев шпината. Для этого 1 г высушенного растительного образца экстрагировали в 25 мл 96%-ного этанола в течение 20 минут с применением ультразвуковой ванны. Полученный экстракт фильтровали через шприцевой фильтр с размером пор 0,45 мкм и использовали для определения антиоксидантной активности в реакции с DPPH [7].

Определение антиреакционной (антиредикальной) активности. Способность экстракта листьев шпината к нейтрализации свободных радикалов определяли методом DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил). В кварцевую кювету объемом 4 мл вносили 3 мл раствора DPPH и 100 мкл этанола (контрольный образец). Смесь помещали в спектрофотометр марки YOKE K7000 (Китай) и измеряли степень поглощения света (D_1) при длине волны 517 нм каждые 5 минут в течение 30 минут.

Для оценки антиредикальной активности к 3 мл раствора DPPH добавляли 25, 50, 75 и 100 мкл экстракта шпината, после чего измеряли оптическую плотность (D_2) при тех же условиях. Общий объем раствора в каждой кювете доводили до 3,1 мл этанолом.

На основании полученных данных процент ингибирования свободных радикалов, то есть антиредикальная активность (АРА), рассчитывалась по следующей формуле:

$$ARF\% = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \cdot 100\%$$

Полученные результаты представлены в следующей таблице:

Таблица 1.

Измеренные значения поглощения света и рассчитанные показатели антиредикальной активности для контрольных и исследуемых образцов, полученных спиртовой экстракцией, добавленных к раствору DPPH.

Объем, мкл	Время, мин	Образец					
		Поглощение, D	**АРФ%**		Время, мин	**Abs, D**	**АРФ%**

25	0	0,752	0,00	75	0	0,752	0,00
	5	0,724	3,72		5	0,689	8,38
	10	0,718	4,52		10	0,678	9,84
	15	0,714	5,05		15	0,67	10,90
	20	0,711	5,45		20	0,664	11,70
	25	0,709	5,72		25	0,659	12,37
	30	0,708	**5,85**		**30**	0,659	**12,37**
50	0	0,752	0,00	100	0	0,752	0,00
	5	0,699	7,05		5	0,659	12,37
	10	0,69	8,24		10	0,641	14,76
	15	0,683	9,18		15	0,629	16,36
	20	0,678	9,84		20	0,621	17,42
	25	0,674	10,37		25	0,614	18,35
	30	0,672	**10,64**		**30**	0,609	**19,02**

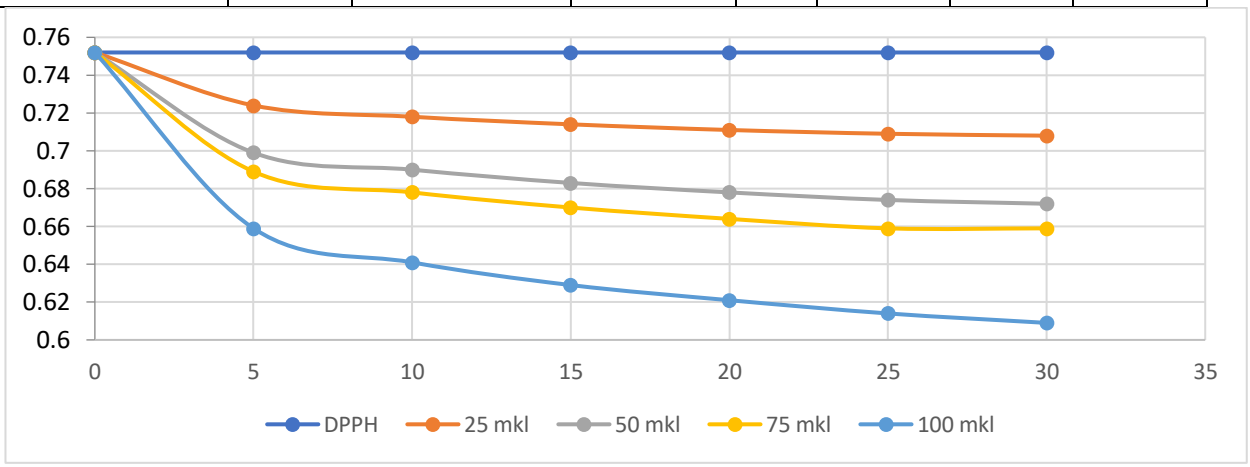


Рисунок 2. Графическое отображение оптического поглощения контрольного и этанольного экстрактов образцов, добавленных в раствор DPPH.

Для определения значения IC_{50}- концентрации, необходимой для ингибирования 50% радикалов DPPH- были использованы данные о значениях антирадикальной активности (АРА, %) на 30-й минуте эксперимента в зависимости от объёма добавленного спиртового экстракта. На основании полученного графика значение IC_{50} рассчитано по уравнению трендовой линии.

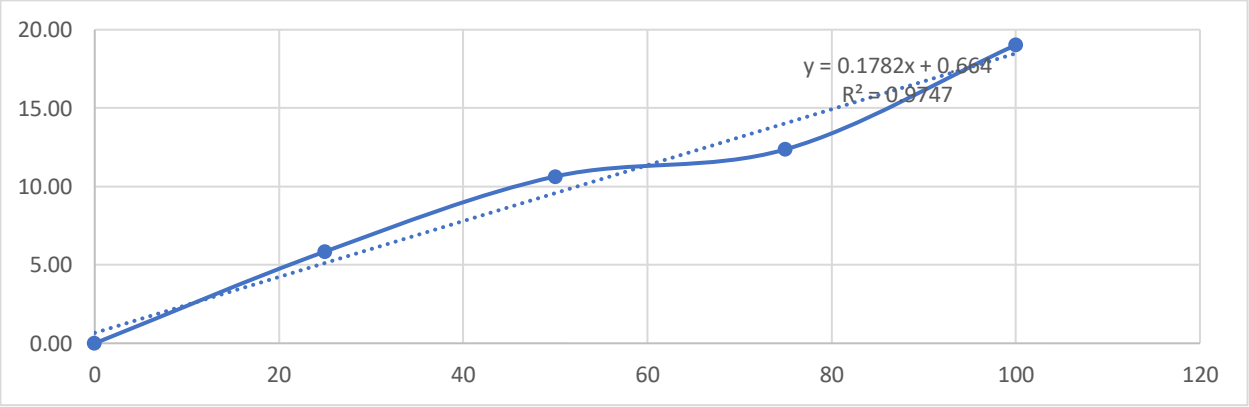


Рисунок 3. График зависимости между объемами спиртового экстракта листьев шпината и их антиредикальной активностью (ARF %) при 10-й минуте измерения.

На основе трендовой линии, проведённой по графику, с использованием уравнения функции **y = mx + b** было рассчитано значение объёма, при котором наблюдается 50 % антиредикальная активность (IC_{50}), по формуле **x = (y – b) / m**.

$$IC_{50} = \frac{(50 - 0.664)}{0.1782} = 276.86\ mkl$$

Антирадикальные свойства спиртового экстракта листьев шпината (Spinacia oleracea L.) были оценены методом нейтрализации радикала DPPH (2,2-дифенил-1-пикрилгидразил). Согласно полученным результатам, оптическая плотность (D) раствора DPPH при длине волны 517 нм постепенно снижалась в зависимости от объёма пробы и времени инкубации (табл. 1). Это свидетельствует о том, что фенольные и флавоноидные соединения, содержащиеся в экстракте шпината, реагируют со свободными радикалами и нейтрализуют их.

Через 5 минут наблюдения антирадикальная активность (АРА) для пробы объёмом 25 мкл составила 3,72 %, а через 30 минут инкубации увеличилась до 5,85 %. С ростом объёма образца активность возрастала: 10,64 % при 50 мкл, 12,37 % при 75 мкл и до 19,02 % при 100 мкл. Эти результаты подтверждают наличие в листьях шпината биологически активных соединений, способных связывать свободные радикалы (рис. 2).

Для определения зависимости антирадикальной активности от объёма образца был построен график зависимости АРА (%) от концентрации по данным 30-минутного измерения. Уравнение трендовой линии имеет вид **y** = 0,1782x + 0,664. На основе данного уравнения рассчитано значение IC_{50}- концентрации, необходимой для ингибирования 50 % радикалов DPPH**: x = (50** - 0,664) / 0,1782 = 276,86 мкл (рис. 3).

Относительно высокое значение IC_{50} указывает на среднюю концентрацию веществ, способных ингибировать свободные радикалы, в экстракте листьев шпината. Это подтверждает, что шпинат является ценным природным источником антиоксидантов, основное действие которых связано с наличием флавоноидов, аскорбиновой кислоты, полифенолов и других активных веществ.

Таким образом, результаты, полученные методом DPPH, показывают, что спиртовой экстракт листьев шпината обладает выраженной антирадикальной активностью. Это позволяет рассматривать шпинат как перспективное сырьё для производства диетических продуктов и фармакологических препаратов.

Вывод: Результаты исследования показали, что спиртовой экстракт листьев шпината (Spinacia oleracea L.) обладает заметной антирадикальной активностью. Определённое методом DPPH значение IC_{50} составило **276,86 мкл**, что указывает на умеренный антирадикальный потенциал экстракта. Установлено наличие фенольных и флавоноидных соединений, способных нейтрализовать свободные радикалы. На основании проведённых исследований экстракт шпината может рассматриваться как перспективный источник природных антиоксидантов и научная основа для разработки биологически активных пищевых добавок.

Литературы

1. M.B. Nuraddinova, M.M. Olimova. Euphorbia milii o'simligi kimyoviy tarkibi va biologik faolligi. / monografiya. Toshkent "MAKON SAVDO PRINT" 2024 -104 bet.
2. Caili F. et al. Some properties of an acidic protein-bound polysaccharide from the fruit of pumpkin //Food chemistry. - 2007. - Т. 100. - №. 3. - С. 944-947.
3. Cosgrove D.]. Growth of the plant cell wall //Nature reviews molecular cell biology. - 2005. - Т. 6. - №. 11. - С. 850-861. 8. Warrand J. Healthy Polysaccharides //Food Technology & Biotechnology. - 2006. - Т. 44. - №. 3. - С. 355-370.
4. Gulcin, I.; Beydemir, S.; Sat, I.G.; Kufrevioglu, O.I. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (Cornus mas L.). Acta Aliment. Hung. 2005, 34, 193–202.

5. Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958, 181, 1199–1200.

6. Askarov I.R., Muminov M.M., Yusupov M.A. Study of antiradical properties of artichoke (cynara scolymus l.) and milk thistle (sylybum marianum l.) vegetable oils. NamDU Ilmiy Axborotnomasi, 2024, 11, p.173-177.

7. Askarov, I. R., Abdullaev, S. S., Mamatkulova, S. A., & Abdulloev, O. S. (2024). Antioxidant activity and elemental composition of mixtures of fig and common unabi fruits. Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine, 3(3), 179–205., https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol3.iss3.2024.320.

Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine

J Chem Good Trad Med, Volume 4, Issue 5, 2025 Traditional Medicine

DETERMINATION OF THE ANTIRADICAL ACTIVITY OF SPINACH LEAVES

Makhmutali M. Khojimatov
Andijan Region Rehabilitation and Prosthetics Center for Persons with Disabilities, internal medicine doctor
https://orcid.org/0009-0005-7472-5551

DOI: https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss5.2025.555

Keywords:
pharmaceutical, antioxidant, hemicellulose, pectin, biologically active compounds

Annotation

The antiradical activity of spinach (Spinacia oleracea L.) leaf alcoholic extract was evaluated using the DPPH method. Based on absorbance at 517 nm, the IC_{50} value was determined. High activity indicates the presence of phenolic and flavonoid compounds, making the extract a promising natural antioxidant for pharmaceutical use.

How to Cite

Khojimatov, M. M. DETERMINATION OF THE ANTIRADICAL ACTIVITY OF SPINACH LEAVES. Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine, 4(5). https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol4.iss5.2025.555

Introduction. In modern medical practice, a significant proportion of pharmaceutical preparations are based on bioactive compounds derived from natural sources. These natural-origin drugs differ from synthetically produced ones due to their high efficacy, easy assimilation by the body, low toxicity, biological compatibility, and complex therapeutic effects. Consequently, the demand for naturally derived compounds with antioxidant, antibacterial, antifungal, and antitumor activities is steadily increasing in the pharmaceutical industry [1; pp. 5–7].

The identification, extraction, and application of biologically active components from medicinal plants in practical medicine and pharmaceutical production represent one of the most relevant directions in chemical and biological research. Antioxidant substances are particularly important because of their ability to slow down oxidation processes in cells, neutralize free radicals, and prevent various diseases associated with oxidative stress.

Polysaccharides, belonging to the class of carbohydrates, are also noteworthy as natural antioxidants. They constitute the main structural component of plant cell walls, primarily consisting of cellulose, hemicellulose, and pectin substances [2; pp. 850–861]. These polysaccharides are composed of neutral or acidic monosaccharide residues. According to biotechnologist B. Warrand, many plant polysaccharides are natural, safe, and non-toxic antioxidants with virtually no harmful effects on biological systems [3; pp. 355–370].



Figure 1. Appearance of spinach.

Evaluation of the antiradical properties of the sample by the DPPH method

The discoloration of the violet 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical solution is widely used to evaluate the hydrogen atom or electron-donating capacity of antioxidant compounds. Based on this mechanism, the presence of natural antioxidant substances capable of neutralizing DPPH• free radicals can be determined. The stable DPPH• radical serves as a standard reagent in spectrophotometric analysis and is based on the electron transfer reaction between the antioxidant and the free radical [4].

In this study, a slightly modified version of the DPPH• free radical inhibition (inactivation) method proposed by Blois [5] was applied [6]. During the experiment, an ethanolic extract of spinach leaves was prepared. For this purpose, 1 g of dried plant material was extracted with 25 ml of 96% ethanol for 20 minutes using an ultrasonic bath. The resulting extract was filtered through a 0.45 μm syringe filter and used for the determination of antioxidant activity in the DPPH assay [7].

Determination of antiradical activity. The ability of spinach leaf extract to neutralize free radicals was determined using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) method. A 4 ml quartz cuvette was filled with 3 ml of DPPH solution and 100 μl of ethanol (control sample). The mixture was placed into a **YOKE K7000** (China) spectrophotometer, and the absorbance (D_1) at 517 nm wavelength was recorded every 5 minutes for 30 minutes.

To assess the antiradical activity, 25, 50, 75, and 100 μl of spinach extract were mixed with 3 ml of DPPH solution, and the optical density (D_2) was measured under identical conditions. The total solution volume in each cuvette was adjusted to 3.1 ml with ethanol.

The percentage of free radical inhibition, i.e., the antiradical activity (ARA), was calculated using the following equation:

$$ARF\% = \frac{D_1 - D_2}{D_1} \cdot 100\%$$

The obtained results are presented in the following table:

Table 1.

Measured absorbance values and calculated antiradical activity (ARF%) of control and ethanol-extracted samples added to the DPPH solution.

Volume, μL	Time, min	Sample					
		Absorbance, D	Antiradical Activity (ARF%)		Time, min	Absorbance, D	**ARF%**
25	0	0,752	0,00	75	0	0,752	0,00
	5	0,724	3,72		5	0,689	8,38
	10	0,718	4,52		10	0,678	9,84

	15	0,714	5,05		15	0,67	10,90
	20	0,711	5,45		20	0,664	11,70
	25	0,709	5,72		25	0,659	12,37
	30	0,708	**5,85**		**30**	0,659	**12,37**
50	0	0,752	0,00	100	0	0,752	0,00
	5	0,699	7,05		5	0,659	12,37
	10	0,69	8,24		10	0,641	14,76
	15	0,683	9,18		15	0,629	16,36
	20	0,678	9,84		20	0,621	17,42
	25	0,674	10,37		25	0,614	18,35
	30	0,672	**10,64**		**30**	0,609	**19,02**

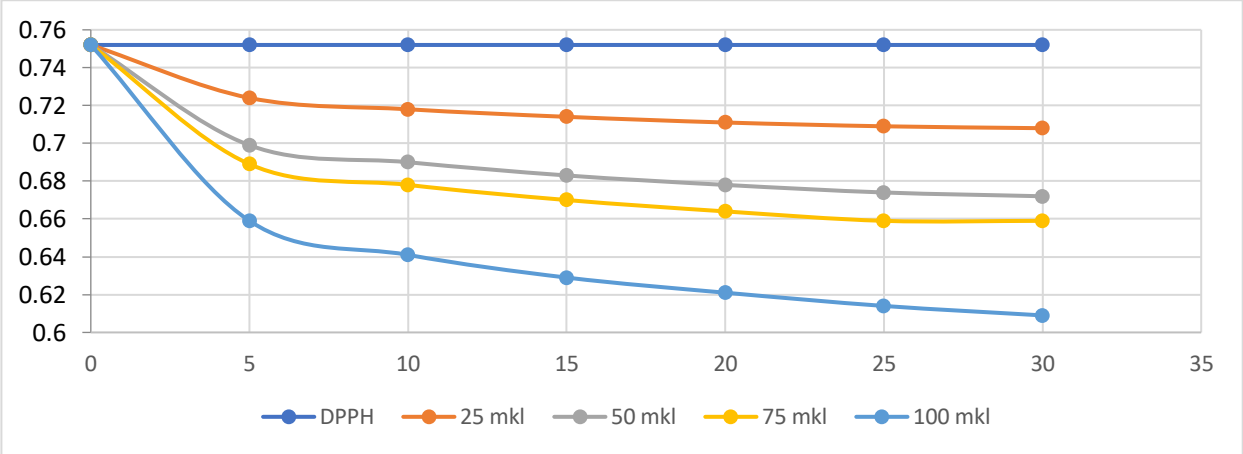


Figure 2. Graphical representation of the optical absorbance of blank and ethanol-extracted sample solutions added to the DPPH solution.

To determine the IC_{50} value- the concentration required to inhibit 50% of the DPPH radicals- the antiradical activity (ARA, %) values obtained at the 30th minute of each experiment were plotted against the corresponding volumes of ethanol extracts added. Based on the resulting graph, the IC_{50} value was calculated from the trendline function equation.

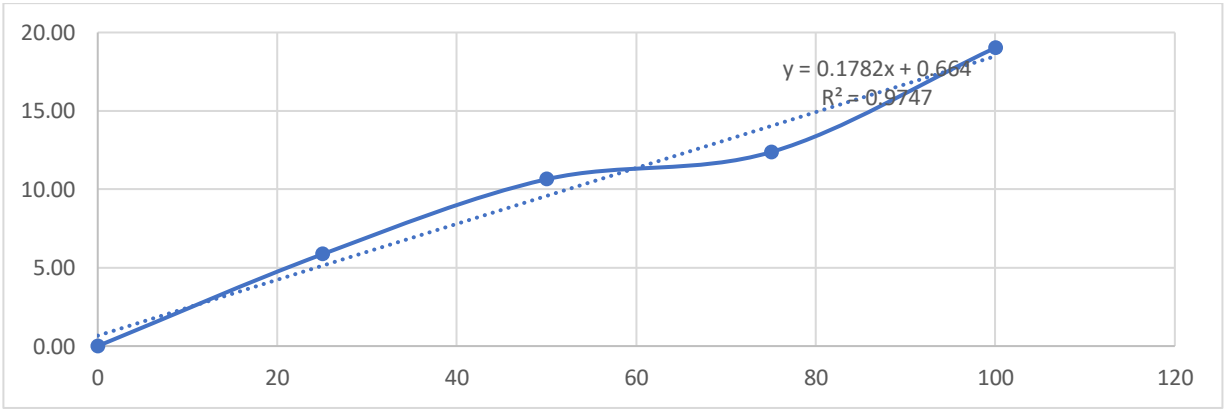


Figure 3. Graph showing the relationship between the ARF (%) values determined at the 10th minute and the sample volumes of the alcoholic extract of spinach leaves.

The IC_{50} value (the sample volume required to achieve 50% inhibition of DPPH radicals) was calculated based on the trend line function derived from the graph using the linear equation **y = mx + b**, according to the formula:

$$\mathbf{x = (y - b) / m.} IC_{50} = \frac{(50-0.664)}{0.1782} = 276.86\ mkl$$

The antiradical properties of the ethanolic extract of spinach (Spinacia oleracea L.) leaves were evaluated using the DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay. According to the obtained results, the optical density (D) of the DPPH solution at 517 nm gradually decreased depending on the sample volume and incubation time (Table 1). This indicates that phenolic and flavonoid compounds in the spinach extract react with and neutralize free radicals.

During the 5-minute observation, the antiradical activity (ARA) of the 25 µl sample was 3.72%, which increased to 5.85% after 30 minutes of incubation. As the sample volume increased, the activity also rose: 10.64% for 50 µl, 12.37% for 75 µl, and up to 19.02% for 100 µl. This confirms the presence of biologically active compounds in spinach leaves capable of scavenging free radicals (Figure 2).

To determine the dependence of antiradical activity on sample volume, a graph of ARA (%) versus concentration was plotted using the 30-minute data. The trendline equation was expressed as y = 0.1782x + 0.664, and the IC_{50} value- the concentration required to inhibit 50% of DPPH radicals- was calculated as x = (50 - 0.664) / 0.1782 = 276.86 µl (Figure 3).

The relatively high IC_{50} value indicates that the spinach leaf extract contains a moderate concentration of compounds capable of inhibiting free radicals. This demonstrates that spinach is a valuable natural source of antioxidants, primarily due to the presence of flavonoids, ascorbic acid, polyphenols, and other active substances.

Thus, the results obtained using the DPPH method confirm that the ethanolic extract of spinach leaves possesses significant antiradical activity. This suggests that spinach can be considered a promising raw material for dietary products and pharmacological applications.

Conclusion: The results show that the ethanolic extract of spinach (Spinacia oleracea L.) leaves exhibits noticeable antiradical activity. The IC_{50} value determined through the DPPH radical scavenging assay was 276.86 µl, indicating a moderate antiradical potential. The study confirms the presence of phenolic and flavonoid compounds in spinach leaves capable of neutralizing free radicals. Based on these findings, spinach extract can be considered a promising natural source of antioxidants and a scientific foundation for developing biologically active food supplements in the future.

References

1. M.B. Nuraddinova, M.M. Olimova. Euphorbia milii o'simligi kimyoviy tarkibi va biologik faolligi. / monografiya. Toshkent "MAKON SAVDO PRINT" 2024 -104 bet.
2. Caili F. et al. Some properties of an acidic protein-bound polysaccharide from the fruit of pumpkin //Food chemistry. - 2007. - T. 100. - №. 3. - C. 944-947.
3. Cosgrove D.]. Growth of the plant cell wall //Nature reviews molecular cell biology. - 2005. - T. 6. - №. 11. - C. 850-861. 8. Warrand J. Healthy Polysaccharides //Food Technology & Biotechnology. - 2006. - T. 44. - №. 3. - C. 355-370.
4. Gulcin, I.; Beydemir, S.; Sat, I.G.; Kufrevioglu, O.I. Evaluation of antioxidant activity of cornelian cherry (Cornus mas L.). Acta Aliment. Hung. 2005, 34, 193–202.
5. Blois, M.S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. Nature 1958, 181, 1199–1200.
6. Askarov I.R., Muminov M.M., Yusupov M.A. Study of antiradical properties of artichoke (cynara scolymus l.) and milk thistle (sylybum marianum l.) vegetable oils. NamDU Ilmiy Axborotnomasi, 2024, 11, p.173-177.
7. Askarov, I. R., Abdullaev, S. S., Mamatkulova, S. A., & Abdulloev, O. S. (2024). Antioxidant activity and elemental composition of mixtures of fig and common unabi fruits. Journal of Chemistry of Goods and Traditional Medicine, 3(3), 179–205., https://doi.org/10.55475/jcgtm/vol3.iss3.2024.320.