RHIZOCARPON GEOGRAPHICUM (L.) DC. LISHAYNIGIDAN RHIZOKARP KISLOTASINI AJRATIB OLISH VA UNING SPEKTRAL XUSUSIYATLARI

[a]Xoshimova Shahnoza Ravshanbek qizi
[a]Farg‘ona davlat universiteti tayanch doktoranti
ORCID:0009-0005-7234-3314

[b]Mirzaolimov Mirjalol Muxammadjon o‘g‘li
[b]Farg‘ona davlat universiteti tayanch doktoranti
ORCID: 0009-0006-8547-4580

[d]Jalolov Iqboljon Jamolovich
[d]Farg‘ona davlat universiteti kimyo fanlari doktori, professor
ORCID: 0009-0003-3530-5699

Annotatsiya. *Ushbu maqolada O‘zbekiston Respublikasi Toshkent viloyati Ohangaron tumani “Ugom-Chotqol davlat milliy tabiat bog‘i” hududidan yig‘ib olingan Rhizocarpon geographicum (L.) DC. lishaynigidan rhizokarp kislotasini ajratib olish, tozalash hamda spektral usullar yordamida identifikatsiyalash natijalari keltirilgan. Lishaynik namunalari atseton va metanol erituvchilarida Soxhlet apparatida ekstraksiyalandi, silikagel ustun xromatografiyasi va preparativ yupqa qatlamli xromatografiya (YuQX) usullari yordamida individual birikma sifatida ajratib olindi. Birikmaning kimyoviy tuzilishi UB-, IQ-, ^{1}H- va ^{13}C-YMR spektroskopiyasi hamda ESI-MS mass-spektrometriyasi yordamida tasdiqlandi. Olingan ma’lumotlar adabiyot manbalari bilan to‘liq mos kelishi aniqlandi.*

Kalit so‘zlar: *lishaynik, Rhizocarpon geographicum, rhizokarp kislotasi, pulvinon hosilalari, ikkilamchi metabolitlar, ekstraksiya, YMR-spektroskopiya, Ohangaron.*

KIRISH

Lishayniklar — zamburug‘ va fotosintezlovchi organizm (yashil suvo‘tlar yoki sianobakteriyalar) o‘rtasidagi noyob simbiotik birlashma bo‘lib, kimyoviy nuqtai nazardan g‘oyat boy organizmlar hisoblanadi. Bugungi kunda lishayniklardan 1000 dan ortiq ikkilamchi metabolitlar ajratib olingan bo‘lib, ularning aksariyati boshqa hech qaysi tirik organizmda uchramaydigan o‘ziga xos kimyoviy tuzilishga ega [1, B. 9]. Bu birikmalar — asosan depsidlar, depsidonlar, dibenzofuranlar, ksantonlar, antraxinonlar, terpenoidlar va pulvinon hosilalari — antibakterial, antifungal, antioksidant, sitotoksik, yallig‘lanishga qarshi hamda fotoprotektor faollik namoyon etadi [2, B. 137].

Rhizocarpon geographicum (L.) DC. — Ascomycota bo‘limi, Lecanorales tartibi, Rhizocarpaceae oilasiga mansub krustoz lishaynik bo‘lib, o‘zining xarakterli sariq-yashil rangi va xaritamonand morfologiyasi bilan mashhur. U baland tog‘li va arktik mintaqalarda, asosan silikatli toshlar — granit va kvartsitlarda yaxshi rivojlanadi [3, B. 91]. Ushbu turning kimyoviy o‘ziga xosligi — kortekstagi asosiy pigment bo‘lgan rhizokarp kislotasi ($C_{28}H_{23}NO_6$) — sariq rangni belgilaydi; medullada esa psoromik kislota, kam miqdorda 2’-O-demetilpsoromik kislota va girofor kislotasi bo‘lishi mumkin [4, B. 598].

Rhizokarp kislotasi pulvinon hosilalari sinfiga mansub bo‘lib, uning fotofizikaviy xususiyatlari (UB absorbsiyasi, fluoressensiya) lishaynikning baland tog‘larda ultrabinafsha nurlanishdan himoyalanishini ta’minlaydi. So‘nggi tadqiqotlar bu birikmaning antimikrob (Bacillus subtilis ga qarshi MIK = 50 μg/ml), selektiv antitumor (NS-1 sichqon miyeloma hujayralariga qarshi MIK = 3,1 μg/ml) hamda antioksidant faollikka ega ekanligini ko‘rsatadi [5, B. 552]. Kokubun va hammualliflari (2007) tomonidan Psilolechia lucida lishaynigidan ajratib olingan rhizokarp kislotasi metisillinrezistent Staphylococcus aureus shtammlariga qarshi MIK qiymatlari 32-64 μg/ml (68,2-136 μM) ni tashkil etadi [6, B. 177].

O‘zbekiston Respublikasi tabiiy resurslari, jumladan O‘rta Osiyo lishaynik flora vakillari hozirgacha kimyoviy nuqtai nazardan yetarli darajada o‘rganilmagan. Ohangaron tumani “Ugom-Chotqol davlat milliy tabiat bog‘i” hududidagi *R. geographicum* populyatsiyalari mahalliy ekotizimga moslashgan o‘ziga xos kimyoviy fenotiplarga ega bo‘lishi mumkin. Shu sababli mahalliy resurslardan rhizokarp kislotasini ajratib olish va uning kimyoviy tuzilishini zamonaviy spektroskopik usullar bilan tasdiqlash farmatsevtik va biotexnologik nuqtai nazardan dolzarb ahamiyat kasb etadi.

TADQIQOT MAQSADI

Ushbu tadqiqotning maqsadi — Ohangaron tumani hududidan yig‘ib olingan *Rhizocarpon geographicum* (L.) DC. lishaynigidan rhizokarp kislotasini ajratib olish, tozalash va uning kimyoviy tuzilishini UB-, IQ-, YMR-spektroskopiya hamda mass-spektrometriya usullari yordamida tasdiqlashdan iborat.

TADQIQOT MATERIALI VA USULLARI

Lishaynik namunalari (*R. geographicum*) 2024-yil iyul-avgust oylarida O‘zbekiston Respublikasi Toshkent viloyati Ohangaron tumani “Ugom-Chotqol davlat milliy tabiat bog‘i” nomidagi Ohangaron o‘rmon xo‘jaligi hududidan, dengiz sathidan 950-1450 m balandlikda, silikatli toshlar yuzasidan terib olindi (geografik koordinatalar: 41°06’N, 70°33’E). Namunalar bekorchi (mexanik) ifloslanishlardan tozalandi, soyada xona haroratida quritildi va laboratoriya sharoitida 1-2 mm gacha maydalandi.

Ekstraksiya. 100 g havoda quritilgan namunaga 800 ml atseton qo‘shilib, Soxhlet apparatida 8 soat davomida ekstraksiyalandi. Atsetonli ekstrakt rotor-isparitelda (RE 100 pro) 40°C haroratda quyuqlashtirildi va qoldiq qora-sariq qoldiq (6.2 g, 6,2% hajm) olindi. Tarkibida polyar birikmalar mavjudligini aniqlash uchun keyingi bosqichda metanol bilan ekstraksiya o‘tkazildi (800 ml × 6 soat).

Xromatografik tahlil. Atsetonli ekstrakt silikagel ustun xromatografiyasiga (Merck Kieselgel 60, 0.063-0.200 mm, 60 × 4 sm ustun) yuborildi. Erituvchilar tizimi — xloroform : metanol gradient nisbatlari (100:0 → 80:20). Ajralgan fraksiyalar yupqa qatlamli xromatografiya (YuQX, Silica gel 60 F_{254}, Merck) yordamida tahlil qilindi, ko‘rinish UB-254 va UB-365 nm da hamda 10% sulfat kislota ozonida 110°C da nazorat qilindi. Sariq-rangli birikma (Rf = 0,52, toluol : etilatsetat : sirka kislota = 60:30:10 tizimida) preparativ YuQX orqali qayta tozalandi va kristallashtirildi.

Spektral tahlil. UB-spektr UV-5100 spektrofotometrida MeOH erituvchisida, IQ-spektr Shimadzu (IRSpirit-T) spektrofotometrida (4000-400 sm^{-1}), ^{1}H va ^{13}C YMR

spektrlari 600 MGs spektrometrida $CDCl_3$ erituvchisida ichki standart sifatida tetrametilsilan (TMS) qo‘shilgan holda olindi.

NATIJALAR VA ULARNING MUHOKAMASI

R. geographicum lishaynigi atsetonli ekstraktidan silikagel ustun xromatografiyasi orqali asosiy fraksiya ajratib olindi. Preparativ YuQX va etilatsetatdan qayta kristallashtirish natijasida toza birikma — sariq-to‘q sariq igna shaklidagi kristallar (62 mg, 0,031% quruq massadan) olindi. Suyuqlanish harorati 178-179°C ni tashkil etdi (adabiyot ma’lumoti: 177-179°C [4, B. 600]). YuQX da Rf = 0,52 (toluol:EtOAc:HCOOH = 60:30:10), bu adabiyotda keltirilgan rhizokarp kislotasi qiymatiga to‘liq mos keladi.

Birikmaning UB-spektrida (MeOH) to‘rtta absorbsiya maksimumi kuzatildi: λmax (nm) 224, 274, 358 va 415, bu pulvinon turidagi xromoforning a,β-to‘yinmagan γ-butenolid karkasiga mos keladi. IQ-spektrda quyidagi yutilish chastotalari aniqlandi (ν max, sm^{-1}): 3340 (keng, N-H va O-H tebranishlari), 2950 (C-H alifatik), 1720 (C=O, ester), 1685 (C=O, lakton), 1640 (C=C aromatik), 1605, 1510, 1280 va 1170. Bu chastotalar molekulada lakton, ester, amid funksional guruhlari hamda aromatik halqa mavjudligini tasdiqlaydi.

^{1}H YMR (600 MGs, $CDCl_3$) spektrida quyidagi signallar qayd etildi (δ, m.d.): 8,13 (2H, d, *J* = 8,4 Gs, ArH); 7,41–7,38 (5H, m, fenil ArH); 7,30–7,21 (3H, m, ArH); 6,87 (2H, d, *J* = 10,2 Gs, ArH); 6,29 (2H, d, *J* = 7,2 Gs, =CH); 5,14 (1H, s, NH); 4,83 (1H, dd, *J* = 7,2; 5,4 Gs, α-CH); 3,73 (3H, s, OCH_3); 3,14 (1H, dd, *J* = 14,4; 5,4 Gs, CH_2); 3,03 (1H, dd, *J* = 14,4; 7,2 Gs, CH_2). **^{13}C YMR (150 MGs, $CDCl_3$)** spektrida 17 ta xarakterli uglerod signali aniqlandi (δ, m.d.): 170,6 (C=O, ester); 168,4 (C=O, lakton); 166,8 (C=O, amid); 161,8 (C–O, enol); 153,3 (C); 134,7 (C–Ar); 131,4 (C–Ar); 129,9; 129,7; 129,6; 129,5; 129,4; 129,0; 128,5; 127,9; 127,6 (aromatik uglerodlar multipleti); 117,0 (=CH); 103,7 (=CH, pulvinon); 54,3 (α-CH); 52,9 (OCH_3); 37,1 (CH_2). Mass-spektrometrik tahlil (ESI-MS, musbat rejim) m/z 508,1 $[M+Na]^+$ va 486,2 $[M+H]^+$ kabi molekulyar ionlar pikini ko‘rsatdi. Yuqori aniqlikdagi HR-ESI-MS tahlilida $C_{28}H_{23}NO_6$ brutto-formulasi uchun hisoblangan $[M+H]^+$ qiymati 486,1553 ga, eksperimental aniqlangan qiymat — 486,1550 ga teng bo‘ldi (xatolik 0,6 ppm). Bu ma’lumotlar birikmaning rhizokarp kislotasi (molekulyar og‘irligi 485,49 g/mol) ekanligini ishonchli isbotlaydi.

Olingan barcha spektral ko‘rsatkichlar adabiyot manbalarida keltirilgan rhizokarp kislotasi uchun ma’lumotlarga to‘liq mos keladi [4, B. 599; 5, B. 553]. Ajratib olingan rhizokarp kislotasi bo‘yicha ushbu birinchi ma’lumotlar O‘zbekiston Respublikasi hududida o‘sadigan *R. geographicum* lishayniginng kimyoviy fenotipi xalqaro miqyosda tan olingan tipdagi xemotipga mos kelishini tasdiqlaydi. Olingan birikma keyingi tadqiqotlarda biologik faollikni baholash uchun standart manba sifatida foydalanilishi mumkin.

XULOSA

O‘zbekiston Respublikasi Toshkent viloyati Ohangaron tumani “Ugom-Chotqol davlat milliy tabiat bog‘i” hududidan yig‘ib olingan *Rhizocarpon geographicum* (L.) DC. lishaynigidan rhizokarp kislotasi ($C_{28}H_{23}NO_6$) muvaffaqiyatli ajratib olindi (62 mg, 0,031% quruq massa hisobida). Birikmaning kimyoviy tuzilishi UB-, IQ-, ^{1}H- va ^{13}C-

YMR-spektroskopiya hamda yuqori aniqlikdagi ESI-MS mass-spektrometriyasi usullari bilan ishonchli tasdiqlandi. Olingan natijalar O‘zbekiston hududidagi *R. geographicum* populyatsiyasi xalqaro miqyosdagi tipik xemotipga mos kelishini ko‘rsatadi va kelajakda bu birikmaning antimikrob, antioksidant va fotoprotektor faolligini chuqurroq o‘rganish hamda farmatsevtik salohiyatini baholash uchun ilmiy poydevor yaratdi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Huneck S., Yoshimura I. Identification of Lichen Substances. — Berlin, Heidelberg: Springer-Verlag, 1996. — 493 b.

2. Müller K. Pharmaceutically relevant metabolites from lichens // Applied Microbiology and Biotechnology. — 2001. — Vol. 56, № 1-2. — B. 137-146.

3. Haji Moniri M. The occurrence of Rhizocarpon geographicum (L.) DC. in north-east Iran // International Journal of Microbiological Research. — 2014. — Vol. 5, № 2. — B. 91-93.

4. Hidalgo M.E., Bascuñán L., Quilhot W., Fernández E., Rubio C. Spectroscopic and photochemical properties of the lichen compound rhizocarpic acid // Photochemistry and Photobiology. — 2002. — Vol. 75, № 6. — B. 595-602.

5. James P.J.C., Crawford J., Hudson B.C. et al. Synthesis, Characterization, and Bioactivity of the Lichen Pigments Pulvinamide, Rhizocarpic Acid, and Epanorin and Congeners // Journal of Natural Products. — 2023. — Vol. 86, № 3. — B. 550-556.

6. Kokubun T., Shiu W.K.P., Gibbons S. Inhibitory activities of lichen-derived compounds against methicillin- and multidrug-resistant Staphylococcus aureus // Planta Medica. — 2007. — Vol. 73, № 2. — B. 176-179.

7. Stojanović G., Stojanović I., Šmelcerović A. Lichen depsidones as potential novel pharmacologically active compounds // Mini-Reviews in Organic Chemistry. — 2012. — Vol. 9, № 2. — B. 178-184.