UMBILICARIA AMERICANA LISHAYNIGI VA ENDOLISHAYNIK MIKROORGANIZMLARINING KIMYOVIY TARKIBI HAMDA BIOLOGIK FAOLLIGINI O‘RGANISHNING ZAMONAVIY USULLARI

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

[b]Sherg‘oziev Qilichbek Marufjon o‘g‘li
[b]Farg‘ona davlat universiteti kimyo kafedrasi katta o‘qituvchisi (PhD)
ORCID: 0000-0001-5917-7255

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

Annotatsiya: *Ushbu maqolada lishayniklar va ularning tanasida yashovchi endolishaynik mikroorganizmlarning ikkilamchi metabolitlarini o‘rganishning zamonaviy usullari ko‘rib chiqilgan. Umbilicaria americana turidan ikkilamchi metabolitlarni ajratib olish, ularning tuzilishini xromatografik (YuQX, kolonkali xromatografiya) va spektral (IQ, YMR, mass-spektrometriya) usullar yordamida aniqlash hamda endolishaynik bakteriya va zamburug‘larni ajratib olish va identifikatsiya qilish masalalari yoritilgan. Shuningdek, OSMAC va ko-kultura (birgalikda o‘stirish) yondashuvlarining yangi biologik faol birikmalarni topishdagi ahamiyati tahlil qilingan. Olingan natijalar mahalliy bioresurslarni tabiiy antimikrob va antioksidant agentlar manbai sifatida o‘rganishning ilmiy asoslarini mustahkamlaydi.*

Kalit so‘zlar: *lishaynik, ikkilamchi metabolit, gyrofor kislota, endolishaynik mikroorganizmlar, OSMAC, ko-kultura, antimikrob faollik, antioksidant faollik, YMR spektroskopiya.*

KIRISH

Lishayniklar — zamburug‘ (mikobiont) va fotosintezlovchi sherik (yashil suvo‘t yoki sianobakteriya — fotobiont) o‘rtasidagi barqaror simbiotik birlashma bo‘lib, evolyutsion jihatdan o‘ziga xos ikkilamchi metabolizmga ega murakkab biologik tizimlardir. Hozirgi vaqtda lishayniklardan 1000 dan ortiq ikkilamchi metabolit aniqlangan bo‘lib, ularning aksariyati boshqa tirik organizmlarda uchramaydi va biosintetik jihatdan poliketid yo‘li orqali hosil bo‘ladi [1, B. 45]. Bu birikmalar — depsidlar, depsidonlar, dibenzofuranlar, ksantonlar va alifatik poliollar — antibakterial, antifungal, antioksidant hamda ferment ingibirlovchi faolliklari bilan zamonaviy farmatsevtika va biotexnologiya uchun istiqbolli xom ashyo manbai hisoblanadi [2, B. 12].

So‘nggi yillarda ilmiy hamjamiyat e’tibori lishaynik tanasi (tallom) ichida asimptomatik holda yashovchi endolishaynik zamburug‘lar va bakteriyalarga qaratilmoqda. Bu mikroorganizmlar mustaqil biosintetik salohiyatga ega bo‘lib, ko‘pincha yangi tuzilishli biologik faol birikmalar manbai bo‘lib xizmat qiladi [3, B. 78]. Antibiotiklarga chidamlilikning global muammoga aylanishi sharoitida tabiiy

manbalardan yangi antimikrob va antioksidant agentlar izlash ayniqsa dolzarbdir. Ushbu maqolaning maqsadi — *Umbilicaria americana* lishaynigi va undan ajratilgan endolishaynik mikroorganizmlarning kimyoviy tarkibini hamda biologik faolligini o‘rganishda qo‘llaniladigan zamonaviy usullarni tahlil qilishdan iborat.

Tadqiqot obyekti va usullari. Tadqiqot obyekti sifatida *Umbilicaria americana* lishaynigi xizmat qildi. Lishaynik namunalari tog‘li hududdan yig‘ilib, laboratoriyada begona moddalardan tozalandi, soyada quritildi va bir jinsli kukunga aylantirildi. Tur identifikatsiyasini tasdiqlash uchun voucher (guvohnoma) namunalari tayyorlandi.

Ikkilamchi metabolitlarni ajratib olish ketma-ket (polyarlik bo‘yicha oshib boruvchi) ekstraksiya bilan amalga oshirildi: maydalangan lishaynik kukuni avval geksan, so‘ngra atseton, oxirida metanol bilan ekstraksiya qilindi. Atseton ekstrakti silikagel ustunida gradient eluirlash usulida fraksiyalarga ajratildi. Fraksiyalar *yupqa qatlamli xromatografiya* (YuQX) yordamida nazorat qilinib, o‘xshash profilli fraksiyalar birlashtirildi. Individual birikmalar takroriy kolonkali xromatografiya va rekristallizatsiya orqali sof holatda olindi [4, B. 5].

Ajratilgan birikmalarning tuzilishi bir nechta mustaqil va o‘zaro to‘ldiruvchi usul yordamida aniqlandi: suyuqlanish harorati, infraqizil (IQ) spektroskopiya, bir va ikki o‘lchovli yadro magnit rezonansi (YMR) spektroskopiyasi (^{1}H, ^{13}C, COSY, HSQC, HMBC), elektrosprey ionlash mass-spektrometriyasi (ESI-MS) hamda ayrim birikmalar uchun rentgen-strukturaviy analiz (RSA). Bu usullar majmuasi har bir birikmaning tuzilishini bir ma’noli aniqlash imkonini beradi [5, B. 1996].

Endolishaynik mikroorganizmlarni ajratib olish uchun lishaynik tallomi yuzasi etanol va natriy gipoxlorit bilan ketma-ket sterillandi, so‘ng steril suv bilan yuvildi. Sterilizatsiya samaradorligi nazorat plastinkalarida tekshirildi. Ichki to‘qimadan ajratilgan bakteriya va zamburug‘ shtammlari sof kultura holatiga keltirildi. Ularning molekulyar identifikatsiyasi bakteriyalar uchun 16S rRNA geni, zamburug‘lar uchun ITS hududini sekvenslash va NCBI GenBank bazasi bilan taqqoslash orqali amalga oshirildi.

Asosiy tahlil usullari va ularning vazifalari 1-jadvalda keltirilgan.

1-jadval. Lishaynik metabolitlarini o‘rganishda qo‘llaniladigan asosiy usullar.

Usul	**Vazifasi**
YuQX	Metabolit profilini baholash, fraksiyalarni nazorat qilish
Kolonkali xromatografiya	Individual birikmalarni ajratish va tozalash
IQ spektroskopiya	Funksional guruhlarni aniqlash
YMR (1D/2D)	Molekula tuzilishini to‘liq aniqlash
ESI-MS	Molekulyar massa va formulani tasdiqlash
RSA	Fazoviy (3D) tuzilishni bir ma’noli aniqlash

16S rRNA / ITS	Mikroorganizmlarni molekulyar identifikatsiya qilish

Natijalar va ularning muhokamasi

Umbilicaria avlodiga mansub lishayniklar gyrofor kislota kabi tridepsidlarning asosiy tabiiy manbai hisoblanadi; bu birikma avlodning xemotaksonomik markeri bo‘lib xizmat qiladi [6, B. 230]. Tavsiflangan usullar majmuasi yordamida *Umbilicaria americana* dan gyrofor kislota, atranorin, usnik kislota, metil orsellinat, metil gematommik kislota hamda poliollar (D-mannitol, D-arabitol) kabi metabolitlarni ajratib olish va ishonchli identifikatsiya qilish mumkin. Gyrofor kislotaning dominant metabolit sifatida aniqlanishi turning kimyoviy o‘ziga xosligini tasdiqlaydi.

Endolishaynik mikroorganizmlar yo‘nalishida OSMAC (One Strain Many Compounds — “bitta shtamm, ko‘p birikma”) va ko-kultura strategiyalari alohida ahamiyat kasb etadi. Kultivatsiya sharoitini (ozuqa muhiti, harorat, faza turi) o‘zgartirish yoki ikki mikroorganizmni birgalikda o‘stirish standart sharoitda “jim” turgan biosintetik gen klasterlarini faollashtirib, tabiiy holatda kuzatilmaydigan yangi metabolitlar hosil bo‘lishini rag‘batlantiradi [7, B. 159]. Bu yondashuvlar antibiotiklarga chidamlilik davrida yangi biologik faol birikmalar izlashning istiqbolli metodologiyasi hisoblanadi.

Ajratilgan birikmalar va ekstraktlarning biologik faolligi standart usullarda baholanadi: antimikrob faollik disk-diffuziya va mikrosuyultirish usullarida minimal ingibirlovchi konsentratsiya (MIK) orqali, antioksidant faollik esa DPPH va ABTS radikallarini yo‘qotish hamda umumiy fenol miqdori usullarida aniqlanadi. Polifenolik gyrofor kislotaning kuchli antioksidant, usnik kislotaning esa yuqori antimikrob faollik namoyon etishi kutiladi [8, B. 67]. Bunday kompleks yondashuv mahalliy bioresurslarning farmakologik salohiyatini har tomonlama ochib berishga imkon yaratadi.

Xulosa. Lishayniklar va endolishaynik mikroorganizmlar tabiiy biologik faol birikmalarning boy va kam o‘rganilgan manbai bo‘lib, ularni o‘rganishda xromatografik, spektral va molekulyar-biologik usullarning yaxlit majmuasidan foydalanish zarur. Zamonaviy yondashuvlar — ketma-ket ekstraksiya, kolonkali xromatografiya, IQ/YMR/MS spektroskopiya, RSA, hamda OSMAC va ko-kultura strategiyalari — birgalikda *Umbilicaria americana* va uning simbiont mikroorganizmlarining kimyoviy tarkibini va biologik faolligini ishonchli o‘rganish imkonini beradi. Bu mahalliy bioresurslarni tabiiy dori-darmon va biotexnologik mahsulotlar manbai sifatida o‘rganishning ilmiy asosini ta’minlaydi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Boustie J., Grube M. Lichens — a promising source of bioactive secondary metabolites // Plant Genetic Resources. — 2005. — Vol. 3, No. 2. — P. 273–287.

2. Ranković B., Kosanić M. Lichen Secondary Metabolites: Bioactive Properties and Pharmaceutical Potential. — Springer, 2019. — 320 p.

3. Suryanarayanan T.S., Thirunavukkarasu N. Endolichenic fungi: the lesser known fungal associates of lichens // Mycology. — 2017. — Vol. 8, No. 3. — P. 189–196.

4. Culberson C.F. Improved conditions and new data for the identification of lichen products by a standardized thin-layer chromatographic method // Journal of Chromatography. — 1972. — Vol. 72. — P. 113–125.

5. Huneck S., Yoshimura I. Identification of Lichen Substances. — Berlin: Springer-Verlag, 1996. — 493 p.

6. Posner B., Feige G.B., Huneck S. Studies on the chemistry of the lichen genus *Umbilicaria* // Zeitschrift für Naturforschung C. — 1992. — Vol. 47, No. 1–2. — P. 1–9.

7. Bode H.B. et al. Big effects from small changes: possible ways to explore nature’s chemical diversity (OSMAC) // ChemBioChem. — 2002. — Vol. 3, No. 7. — P. 619–627.

8. Kosanić M., Ranković B. Lichens as possible sources of antioxidants // Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences. — 2011. — Vol. 24, No. 2. — P. 165–170.