PROTOPARMELIOPSIS MURALIS LISHAYNIGIDAN IKKILAMCHI METABOLITLARNI KETMA-KET EKSTRAKSIYA VA USTUN XROMATOGRAFIYASI USULIDA AJRATIB OLISH

[a]Abdumamatov Abdulhay Abdupatto o‘g‘li
[a]Farg‘ona davlat universiteti tayanch doktoranti

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

Annotatsiya: *Ushbu maqolada O‘zbekiston Respublikasi hududidan (Ohangaron tumani, Ugom-Chotqol davlat milliy tabiat bog‘i) yig‘ib olingan Protoparmeliopsis muralis lishaynigi tallomidan ikkilamchi metabolitlarni ajratib olish natijalari keltirilgan. Qutbliligi izchil ortib boruvchi erituvchilar bilan ketma-ket ekstraksiya (n-geksan → atseton → metanol) va silikagelda ustun xromatografiyasi usuli yordamida oltita individual metabolit — usnik kislotasi, zeorin, murol kislotasi, psorom kislotasi, izousnik kislotasi va leukotilin — ajratib olindi. Ajratib olingan birikmalarning tozaligi YuSSX (95% dan yuqori), tuzilishi esa UB, IQ, ^{1}H- va ^{13}C-YMR hamda mass-spektrometriya usullari bilan tasdiqlandi.*

Kalit so‘zlar: *Protoparmeliopsis muralis, lishaynik, ikkilamchi metabolitlar, ketma-ket ekstraksiya, ustun xromatografiyasi, usnik kislotasi, zeorin, depsidonlar, triterpenoidlar.*

KIRISH

Lishayniklar — mikobiont (zamburug‘) va fotobiont (suvo‘t yoki sianobakteriya) o‘rtasidagi simbiotik birlashma bo‘lib, mingdan ortiq o‘ziga xos ikkilamchi metabolit ishlab chiqaradi. Bu birikmalar — depsidlar, depsidonlar, dibenzofuranlar va triterpenoidlar — antibakterial, antifungal, antioksidant va sitotoksik faollikning keng spektrini namoyon etadi [1]. *Protoparmeliopsis muralis* (Schreb.) M. Choisy (sinonimi: *Lecanora muralis*) — Lecanoraceae oilasiga mansub plakodioid lishaynik bo‘lib, toshli substratlarda keng tarqalgan. Uning tarkibida usnik kislotasi, zeorin va ba’zi depsidonlar mavjudligi xorijiy adabiyotlarda qayd etilgan [2].

Biroq O‘zbekiston populyatsiyasiga mansub *P. muralis* ning kimyoviy tarkibi tizimli o‘rganilmagan. Mintaqaviy lishaynik namunalarining metabolit profili xalqaro adabiyotda tavsiflanganidan farq qilishi mumkin, chunki metabolit konsentratsiyasi iqlim, substrat va yorug‘lik rejimiga bog‘liq. Tadqiqotning maqsadi — *P. muralis* tallomidan asosiy ikkilamchi metabolitlarni samarali va selektiv ajratib olish hamda ularning kimyoviy tuzilishini aniqlashdir.

Tadqiqot obyekti va usullari. *P. muralis* tallomi Toshkent viloyati Ohangaron tumani hududidagi Ugom-Chotqol davlat milliy tabiat bog‘i bilan bog‘liq o‘rmon xo‘jaligi hududidan yig‘ib olindi. Namunalar morfologik-anatomik, kimyoviy (K, C, KC, Pd nuqta-test reaksiyalari, UB ostida lyuminessensiya) va yupqa qatlamli xromatografiya (YuQX) usullari majmuasi yordamida identifikatsiya qilindi [3].

Metabolitlarni ajratib olishda **qutbliligi izchil ortib boruvchi erituvchilar bilan ketma-ket fraksion ekstraksiya** strategiyasi qo‘llanildi. Havoda quritilib

maydalangan tallom dastlab n-geksan bilan, so‘ngra qoldiq navbat bilan atseton va metanol bilan ekstraksiya qilindi. Har bir bosqichda ekstraksiya to‘liqligi YuQX nazorati bilan tasdiqlandi. Olingan uchta ekstrakt rotorli bug‘latgichda quritildi va silikagelda (60–120 mkm) ustun xromatografiyasiga yuborildi.

Geksanli ekstrakt uchun n-geksan–etilatsetat gradient tizimi (95:5 → 70:30), atsetonli va metanolli ekstraktlar uchun esa xloroform–metanol gradient tizimi (98:2 → 80:20) qo‘llanildi. Fraksiyalar YuQX nazorati ostida birlashtirildi va individual birikmalar qayta kristallash hamda zarurat bo‘lganda preparativ YuSSX yo‘li bilan tozalandi. Ajratib olingan birikmalarning tozaligi YuSSX (teskari fazali C18 ustun, atsetonitril–suv gradient, PDA detektor) yordamida, tuzilishi esa UB, IQ (FT-IR), ^{1}H- va ^{13}C-YMR (jumladan HSQC, HMBC) hamda yuqori aniqlikdagi mass-spektrometriya (HR-ESI-MS) usullari bilan aniqlandi [4].

Natijalar va muhokama. Ketma-ket ekstraksiya P. muralis metabolomini qutbliligi va biogenetik kelib chiqishiga ko‘ra uchta guruhga ajratish imkonini berdi. **Geksanli ekstraktdan** (unum 1,5–2,4%) ikkita gopan tipidagi triterpenoid — zeorin ($C_{30}H_{52}O_2$, M 444,7) va leukotilin ($C_{30}H_{52}O_3$, M 460,7) ajratib olindi. Zeorin geksan–etilatsetat 90:10–85:15 fraksiyalarida, qutbliroq leukotilin esa 80:20–70:30 fraksiyalarida ajraldi. Ikkala birikma rangsiz kristall holida olinib, metanoldan qayta kristallandi.

Atsetonli ekstraktdan (unum 3,8–5,6%) xloroform–metanol 98:2–95:5 fraksiyalarida usnik kislotasi ($C_{18}H_{16}O_7$, M 344,3) sariq ignasimon kristallar shaklida ajratib olindi. Uning izomeri — izousnik kislotasi takroriy ustun xromatografiyasi va preparativ YuSSX yordamida toza holda olindi; izomerlar YuSSX da turli saqlanish vaqti va YMR signallari joylashuvi bo‘yicha farqlandi. **Metanolli ekstraktdan** (unum 5,5–8,2%) xloroform–metanol 92:8–88:12 fraksiyalarida psorom kislotasi ($C_{18}H_{14}O_8$, M 358,3) — β-orsinol tipidagi depsidon, qutbliroq fraksiyalarda (85:15) esa murol kislotasi — alifatik β-orsinol hosilasi ajratib olindi.

Ajratib olingan birikmalarning tuzilishi spektral usullar bilan to‘liq tasdiqlandi. Usnik kislotasining IQ spektrida ichki vodorod bog‘i bilan xelatlangan karbonil (≈1690 va 1630 sm^{-1}), ^{1}H-YMR spektrida ikkita atsetil va aromatik metil signallari, ^{13}C-YMR spektrida ikkita karbonil (≈200 va 198 m.u.) signallari aniqlandi. Zeorin va leukotilinning ^{13}C-YMR spektrida gopan skeletining 30 ta uglerodi, jumladan ko‘plab metil va karbinol guruhlari signallari kuzatildi; leukotilinning zeorindan farqi qo‘shimcha CHOH uglerod signalining mavjudligi bilan tasdiqlandi. Psorom kislotasi spektrida laktonli karbonil, aldegid (≈10 m.u.) va metoksi signallari, murol kislotasi spektrida esa uzun alifatik zanjir va orsinol halqa signallari kuzatildi [5].

Olingan natijalar tanlangan ketma-ket ekstraksiya strategiyasining samaradorligini tasdiqladi: qutbsiz mevalonat hosilalari (triterpenoidlar) geksanli bosqichda, o‘rta qutbli poliketid hosilalari (dibenzofuranlar) atsetonli bosqichda, yuqori qutbli depsidon va alifatik β-orsinol hosilalari esa metanolli bosqichda izchil ajralib chiqdi. Bu metabolitlarning fizik-kimyoviy xossalari va biosintetik kelib chiqishi o‘rtasidagi bog‘liqlikni amalda namoyish etdi. Shu bilan birga, *P. muralis* ning O‘zbekiston populyatsiyasidan murol va izousnik kislotalarining birga ajratib olinishi turning mintaqaviy xemotipini xarakterlovchi muhim natija hisoblanadi.

XULOSA

Protoparmeliopsis muralis tallomidan qutbliligi izchil ortib boruvchi erituvchilar bilan ketma-ket ekstraksiya (n-geksan → atseton → metanol) va silikagelda ustun xromatografiyasi usuli yordamida oltita individual ikkilamchi metabolit ajratib olindi. Geksanli ekstraktdan zeorin va leukotilin, atsetonli ekstraktdan usnik va izousnik kislotalari, metanolli ekstraktdan esa psorom va murol kislotalari ajraldi. Birikmalarning tozaligi (95% dan yuqori) va tuzilishi zamonaviy spektral usullar majmuasi bilan ishonchli tasdiqlandi. Olingan natijalar O‘zbekiston lishaynik bioresurslarining kimyoviy salohiyatini ko‘rsatadi va ajratib olingan metabolitlar — xususan usnik kislotasi — asosida yangi farmatsevtik shakllar (jumladan supramolekulyar komplekslar) ishlab chiqish uchun zamin yaratadi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Stocker-Wörgötter E. Metabolic diversity of lichen-forming ascomycetous fungi: culturing, polyketide and shikimate metabolite production, and PKS genes. Natural Product Reports, 2008, Vol. 25, № 1. – P. 188–200.

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

3. Orange A., James P.W., White F.J. Microchemical methods for the identification of lichens. London: British Lichen Society, 2010. – 101 p.

4. Pavlovic V., Stojanovic I., Jadranin M., Vajs V., Djordjevic I., Smelcerovic A., Stojanovic G. Effect of four lichen acids isolated from Hypogymnia physodes on viability of rat thymocytes. Food and Chemical Toxicology, 2013, Vol. 51. – P. 160–164.

5. Ingólfsdóttir K. Usnic acid. Phytochemistry, 2002, Vol. 61, № 7. – P. 729–736.