

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI

OLIY TA'LIM, FAN VA INNOVATSIYALAR VAZIRLIGI

FARG'ONA DAVLAT UNIVERSITETI

**FarDU.
ILMIY
XABARLAR**

1995-yildan nashr etiladi
Yilda 6 marta chiqadi

6-2024

**НАУЧНЫЙ
ВЕСТНИК.
ФерГУ**

Издаётся с 1995 года
Выходит 6 раз в год

И. Ж.Жалолов, К.М.Шергозиев, М.М.Мирзаолимов Изоляция и характеристика 3-метилкатехола, синтезированного грибами из <i>anabasis Aphylla</i> L.....	115
F.B.Eshqurbonov, N.A.Izatillayev, E.R.Safarova Mono akva-koordinatsiyaga ega mis asosidagi bis (gidroksinaftaldegid) kompleksining fizik-kimyoviy tadqiqotlari	120
Q.M.Sherg'oziyev, I.J.Jalolov, O.M.Nazarov O'zbekistondagi <i>Anabasis aphylla</i> L. o'simligining fitokimyoviy komponentlarini o'rganish	127
R.B.Karabayeva <i>Prunus persica</i> var. <i>Nectarina</i> o'simligi danak mag'zining moy tarkibi	131
G'.U.Siddikov <i>Papaver pavoninum</i> o'simligini yer ustki qismining makro- va mikroelementlarini tahlili.....	139
Sh.X.Karimov May qo'ng'izidan olingan xitin va xitozan moddalarining termik tahlili	143
Sh.X.Karimov Oksalil xitozan sintezi.....	149
I.Y.Ganiyeva, I.A.Xudoynazarov, M.J.Negmatova, M.T.Shokirov, Sh.Sh.Turg'unboyev <i>Labiatae</i> oilasi o'simliklari ayrim vakillarining tarkibidagi terpenoidlarni aniqlash usullari	155
G.M.Abdurasulieva, N.T.Farmanova, G.E.Berdimbetova <i>Prunus persica</i> (L.) <i>batsch.</i> bargi tarkibidagi biologik faol moddalarni suyuqlik xromatografiyasi usulida aniqlash (LC/MS)	160
J.Z.Jalilov, X.E.Yunusov, N.Sh.Ashurov, A.A.Sarimsaqov Natriy-kaboksimeilsellyuloza va kumush kationlari asosida olingan polimermetallokompleks eritmalarining reologik xossalari	165

BIOLOGIYA

D.E.Urmonova, B.M.Sheraliyev So'x daryosi havzasida uchrovchi <i>Gobio lepidolaemus Kessler, 1872</i> (Teleostei: Gobionidae)ning morfologik xususiyatlari	175
S.T.Gafurova, B.R.Xolmatov Farg'ona vodiysida tarqalgan koxsinellidlarning hayot shakllari	181
D.E.Urmonova, X.M.Komilova Farg'ona vodiysi suv havzalarida uchrovchi qum baliqlar (Gobionidae) oilasining tarqalishi va geoaxborot ma'lumotlari qayumova yorqinoy qobilovna.....	187
D.M.Ahmedova Tut ipak qurtining rivojlanishi va pilla hosildorligiga ekologik omillarning ta'siri	193
M.J.Asrolova, A.M.Turgunova, B.M.Sheraliyev Farg'ona vodiysi sharoitida tabiiy va sun'iy suv havzalarida uchrovchi <i>Gambusia holbrooki</i> (Teleostei: Poeciliidae) urg'ochilarining morfologik o'zgaruvchanlik xususiyatlari.....	198
B.E.Murodov Unabi agrotsenozi zararli hasharotlarining entomofaglari va kasallik qo'zg'atuvchilari hamda ularning biotsenozdagi ahamiyati	203
M.R.Shermatov Farg'ona vodiysi agroekotizimlari tangachaqanotli hasharotlarining (Insecta, Lepidoptera) tur tarkibi va taksonomik tahlili	206
K.B.Aliyeva O'zbekiston florasining birinchi nashrida keltirilgan elymus turlarining tahlili	214

GEOGRAFIYA

Y.I.Axmadaliyev Qadimgi Ershi shahrining vujudga kelishida iqlim omilining o'rni	222
Y.I.Axmadaliyev, N.O'.Komilova Qadimgi Ershi shahrining suv resurslari bilan ta'minlanishidagi qulayliklar	225
Y.I.Axmadaliyev, B.Z.Shadmanova	



UO'K: 577.1.547.1.547.99

**ANABASIS APHYLLA L. DAN AJRATILGAN VA ZAMBURUG'LAR TOMONIDAN
SINTEZ QILINGAN 3-METILKATEXOLNI AJRATISH VA XARAKTERLASH****ИЗОЛЯЦИЯ И ХАРАКТЕРИЗАЦИЯ 3-МЕТИЛКАТЕХОЛА, СИНТЕЗИРОВАННОГО
ГРИБАМИ ИЗ ANABASIS APHYLLA L.****ISOLATION AND CHARACTERIZATION OF 3-METHYLCATECHOL SYNTHESIZED BY
FUNGI FROM ANABASIS APHYLLA L.****Жалолов Икболжон Жамалович¹** ¹доктор химических наук (DSc), доцент кафедры химии, Ферганский государственный университет**Шергозиев Киличбек Маруфжонович²** ²Преподаватель кафедры химии, Ферганский государственный университет**Мирзаолимов Миржалол Мухаммаджонович³** ³Научный сотрудник Ферганского государственного университета**Annotatsiya**

Ushbu maqolada *Anabasis aphylla* L. o'simligining endofitlari tomonidan sintez qilingan 3-metilkatexolning ajratilishi va xarakteristikasi bayon etilgan. Endofit zamburug'lar 14 kun davomida qulay sharoitda o'stirildi, so'ngra keyingi 14 kun davomida noqulay sharoitga duchor qilindi, bu esa ikkilamchi metabolitlarning sintezini rag'batlantirdi. Zamburug'lar madaniyat suyuqligi etil asetat bilan ekstraksiyalandi, olingan ekstrakt kolonka xromatografiyasi yordamida ajratildi va individual modda olindi. Moddaning tuzilishi fizik-kimyoviy usullar yordamida o'rganildi va tadqiqot natijasida 3-metilkatexolning tuzilishi aniqlandi.

Аннотация

В данной статье описывается изоляция и характеристика 3-метилкатехола, синтезированного эндофитами растения *Anabasis aphylla* L. Эндофитные грибы культивировались в благоприятных условиях в течение 14 дней, после чего в течение следующих 14 дней подвергались неблагоприятным условиям, что стимулировало синтез вторичных метаболитов. Грибы были экстрагированы из культурной жидкости с помощью этилового ацетата, а полученный экстракт был разделен с использованием колоночной хроматографии для изоляции индивидуального соединения. Структура соединения была изучена с помощью физико-химических методов, и в результате была определена структура 3-метилкатехола.

Abstract

This article describes the isolation and characterization of 3-methylcatechol synthesized by endophytes of the *Anabasis aphylla* L. plant. Endophytic fungi were cultivated under favorable conditions for 14 days, followed by exposure to unfavorable conditions for another 14 days, which stimulated the synthesis of secondary metabolites. The fungi were extracted from the culture broth using ethyl acetate, and the obtained extract was separated using column chromatography to isolate the individual compound. The structure of the compound was studied using physicochemical methods, and as a result, the structure of 3-methylcatechol was determined.

Kalit so'zlar: *Anabasis aphylla* L., endofit zamburug'lar, kultivatsiya, ekstraksiya, 3-metilkatexol.**Ключевые слова:** *Anabasis aphylla* L., эндофитные грибы, культивирование, экстракция, 3-метилкатехол.**Key words:** *Anabasis aphylla* L., endophytic fungi, cultivation, extraction, 3-methylcatechol.**ВВЕДЕНИЕ**

Anabasis aphylla L., известный также как безлистный анабазис, принадлежит к семейству амарантовых (Amaranthaceae), ранее относимому к семейству маревых

(Chenopodiaceae). Это многолетний кустарник, который в первую очередь встречается на солончаках и засушливых степях, обладая высокой устойчивостью к засолению и засухам.

Anabasis aphylla L. является типичным представителем пустынной и полупустынной растительности Средней Азии. Его естественный ареал включает Казахстан, Узбекистан, Туркменистан, Киргизию и другие районы Средней Азии, а также частично Иран, Афганистан и Пакистан. В Узбекистане он встречается в пустынных зонах и предгорьях, особенно на солончаках, песчаных и каменистых почвах, что подчеркивает его адаптированность к экстремальным условиям с низкой влажностью и высокой температурой [1].

Это растение известно своим богатым химическим составом, использованием в фармацевтике и агрохимии. В данной работе исследуется синтез и выделение химических веществ, осуществляемые грибами, выделенными из данного растения. Исследования, проведенные на эндофитных грибах, выявляют их значительный потенциал в качестве источника новых антибактериальных веществ, особенно в борьбе с бактериями, устойчивыми к антибиотикам, что открывает большие возможности для создания новых лекарственных препаратов. Хотя для определения токсичности метаболитов и разработки эффективных методов их культивирования необходимы дополнительные исследования, эндофитные грибы считаются перспективным источником новых антибактериальных препаратов, которые могут решить проблему бактериальной устойчивости к традиционным антибиотикам. С учетом этого, исследование эндофитов, характерных для растения *Anabasis aphylla* L., а также синтез химических веществ, происходящих через эти грибы, является актуальной задачей [2].

МЕТОДЫ И МАТЕРИАЛЫ

Растение *A. aphylla* L. собрано с холмов Алтыарыкского района Ферганской области. Для выделения эндофитных грибов был взят образец размером 1 см² из стебля растения. Для удаления лишних микроорганизмов и загрязнений образец размером 1 см² был стерилизован с использованием этилового спирта. Стерилизованный образец был помещен на питательный агар, являющийся стандартной питательной средой для выращивания микроорганизмов, и инкубирован в течение 7 дней при температуре 29,8°C в темноте [3].

Процесс культивирования для выделения чистых эндофитов был повторен трижды: полученные эндофиты помещались на питательный агар в чашки Петри и инкубировались тем же методом [4]. Для увеличения биомассы эндофитов они были перенесены в 10-литровые емкости, где выращивались в стерильной картофельной среде в течение 14 дней. После 14-дневного периода роста и развития в благоприятных условиях, грибы оставлялись еще на 14 дней в неблагоприятных условиях, то есть без питательной среды. Под воздействием этих условий эндофиты начинали синтезировать вторичные метаболиты. По окончании этого периода культуральная жидкость грибов была отфильтрована и экстрагирована с помощью этилацетата. Растворитель выпаривали, а экстракт промывали на хроматографической колонке с использованием хлороформа в качестве элюента. В качестве адсорбента использовался силикагель. В результате хроматографии было получено более 50 фракций, из которых в 13-й фракции при стоянии вещество выделилось в кристаллической форме [5-7].

Оборудование и материалы:

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) проводился на ЯМР-спектрометре с частотой 600 МГц. В качестве растворителей использовались CDCl₃ и DMSO-d₆. Спектры ¹H и ¹³C ЯМР были записаны при комнатной температуре. Для калибровки использовался тетраметилсилан (ТМС) в качестве внутреннего стандарта.

Жидкостная хроматография – масс-спектрометрия (ЖХ-МС). Обратнофазный нано-LC-MS/MS проводили, используя Agilent 1200 нано-проточную LC систему, соединенную с масс-спектрометром CHIP-Q-TOF Agilent Technologies серии 6520B. Образец фракционировали с помощью хроматографа фирмы Agilent Technologies серии 1200, через ЧИП Zorbax SB C18, 5 μm, 75мм x 43 мм. Мобильная фаза: А - 0,1% раствор муравьиной кислоты + 5% ацетонитрила, В – ацетонитрил + 0,1 % муравьиная кислота + 10% деионизированной воды. Нанесение осуществляли на приборе Agilent Technologies серии 1260 Cap Pump при скорости потока 4 мкл/мин. Элюцию осуществляли на приборе Agilent

KIMYO

Technologies серии 1260 Nano Pump при скорости потока 0.6 мкл/мин. Градиент концентрации раствора В – в минутах: 0% - 3 мин, 60% - 12-18 мин, 0% - 20 мин. Растворы дегазировали на приборе Agilent Technologies 1260 μ -degasser. Образцы наносили в колонку с помощью прибора Agilent Technologies Micro WPS по 2 мкл. Элюированные фракции анализировали масс-спектрометрически в следующих условиях:

Источник ионизации: ESI+, поток осушающего газа: 4 л/мин, температура осушающего газа: 350°C, напряжение на конусе скиммера: 65V, на фрагменторе 175V, диапазон масс: в режиме MS 50 – 3000 m/z, в режиме MS/MS 50 – 2500 m/z, при напряжении на CAP в диапазоне 1800-2500V. Способ ионизации: положительный.

УФ и ИК-спектроскопии. Для исследования вещества методом ультрафиолетовой спектроскопии (УФ) использовался спектрофотометр «MetashUV5100» с диапазоном длин волн 190-1100 нм. ИК спектр был записан в спектрометре Shimzadzu IR spiritX в области от 400 см⁻¹ до 4000 см⁻¹.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3-Метилкатехол (C₇H₈O₂) (рис.1) представляет собой твердое белое кристаллическое вещество с молекулярной массой 124,14 г/моль. Химическое соединение имеет температуру плавления 68°C и температуру кипения 241°C. В ходе хроматографического анализа с использованием системы растворителей, состоящей из хлороформа и метанола в соотношении 9:1, значение R_f 3-метилкатехола составляет 0,7.

Строение выделенного вещества изучали методами ЯМР, ЖХ-МС, ВЭЖХ, УФ и ИК-спектроскопии [8], были получены следующие данные.

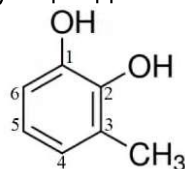


Рисунок 1. Структура 3-метилкатехина

УФ-спектроскопия показала максимум поглощения при 280 нм, что также согласуется с наличием ароматической системы в молекуле 3-метилкатехола. Это значение характерно для соединений с бензольным кольцом и подтверждает наличие ароматических углеводородов в структуре исследуемого вещества.

ИК-спектроскопия была использована для выявления функциональных групп в молекуле 3-метилкатехола. Спектр показал характерные полосы поглощения при 769.84, 808.62, 861.76, 1459.25, 1622.98, 2921.37, 3031.96 см⁻¹, соответствующие колебаниям C-H бензольного кольца, а также гидроксильным группам (-OH) и метильной группе (-CH₃). Полоса поглощения при 3400 см⁻¹ характерна для O-H связей, что дополнительно подтверждает наличие двух гидроксильных групп.

Молекулярная масса вещества была точно определена с помощью ЖХ-МС. Основной пик на масс-спектре наблюдался при m/z 124, что подтверждает молекулярную массу 124 г·моль⁻¹. Этот пик соответствует молекулярному иону [M⁺] 3-метилкатехола. Наличие такого сигнала указывает на то, что молекула была ионизирована, сохранив свою целостность без значительной фрагментации, что дополнительно подтверждает идентичность вещества.

Для подтверждения чистоты вещества использовалась ВЭЖХ. На хроматограмме главный пик с временем удерживания 7.24 минуты, указывает на высокую степень чистоты вещества, равную 98.5328%. Такая высокая степень чистоты является критически важной для последующей биологической и фармакологической оценки вещества.

В спектре ¹³C ЯМР выделенного вещества наблюдаются семь резонансных сигналов, что указывает на наличие семи уникальных углеродных атомов в молекуле 3-метилкатехола. Химический сдвиг δ 16.361 м.д. соответствует метильной группе (-CH₃), которая связано с бензольным кольцом. Сигналы при δ 113.861, 116.357, 118.382 и 126.521 м.д. относятся к ароматическим углеродным атомам, что характерно для бензольного кольца. Химический сдвиг δ 149.318 м.д. соответствует углеродному атому, связанному с гидроксильной группой (-OH) в орто-положении к метильной группе, а δ 150.973 м.д.

соответствует углеродному атому, связанному с другой гидроксильной группой, расположенной в пара-положении.

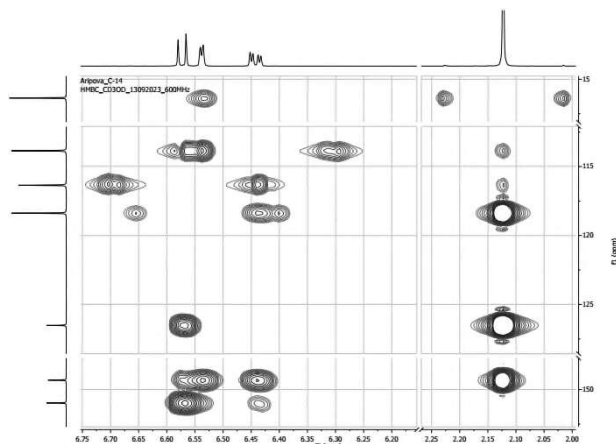


Рисунок 2: Спектр НМБС выделенного вещества

соответствует структуре целевого соединения [9].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

3-метилкатехол — это органическое соединение, представляющее интерес из-за своих потенциальных биологических свойств и роли в процессах биodeградации. Оно широко известно как промежуточный продукт в метаболических путях нескольких бактерий и эндофитов, участвующих в разложении сложных органических загрязнителей, особенно нитроароматических соединений. Данное соединение было впервые выделено нами из эндофитов растения *Anabasis aphylla* L., и его структура была подтверждена физико-химическими методами.

Полученные данные свидетельствуют о том, что 3-метилкатехол обладает значительным потенциалом для дальнейшего изучения, особенно в контексте его биологической активности. Вещество может иметь антиоксидантные, антибактериальные и противовоспалительные свойства, что делает его перспективным для разработки новых фармацевтических препаратов. Исследование также подтверждает эффективность использования эндофитов в качестве биосинтетических систем для получения вторичных метаболитов с потенциальными лечебными свойствами. Будущие работы могут быть направлены на углубленное изучение биосинтетических путей, ответственных за синтез 3-метилкатехола, а также на изучение других видов эндофитов и их взаимодействие с различными растениями. Данное исследование представляет собой важный шаг вперед в области биотехнологии и фармакологии, подчеркивая значимость междисциплинарных подходов к созданию новых биологически активных соединений.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Khojimatov, Olim & Abdiniyazova, Gulnara & Bussmann, Rainer. (2023). *Anabasis aphylla* L. - AMARANTHACEAE. 10.1007/978-3-031-23031-8_9.
2. Андреева А.П., Газалиев А.М. Получение штаммов продуцентов анабазина на основе *Anabasis aphylla* L.: Монография / А.П.Андреева, А.М.Газалиев; Карагандинский государственный технический университет. — Караганда: Изд-во КарГТУ, 2013, -149 с.
3. К.А. Мудрецова-Висс, В.П. Дедюхина, Е.В. Масленникова. Основы микробиологии: учебник / Владивостокский университет экономики и сервиса. — 5-е изд., исправленное, пересмотренное и дополненное. — М.: ИНФРА-М, 2014. — 354 с
4. И. И. Концевая "Микробиология: культивирование и рост бактерий" Чернигов Издательство «Десна Полиграф» 2017.
5. Wink, M. Evolution of secondary plant metabolism. eLS 2008. <https://doi.org/10.1002/9780470015902.a0001922.pub2>.
6. Bourgaud, F.; Gravot, A.; Milesi, S.; Gontier, E. Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. Plant Sci. 2001, 161, 839–851, [https://doi.org/10.1016/S0168-9452\(01\)00490-3](https://doi.org/10.1016/S0168-9452(01)00490-3).

KIMYO

7. Harborne, J.B. Classes and functions of secondary products from plants. In Chemicals from Plants, Perspectives on Secondary Plant Products; Walton, N.J., Brown, D.E., Eds.; Imperial College Press: London, UK, 1999; pp. 1–25.
8. Robert M. Silverstein, Francis X. Webster, David Kiemle, Spectrometric Identification of Organic Compounds, 7th Edition, Wiley, 2005 M01 3 - 512 pages.
9. Nakanishi, K., & Solomon, P. H. (1977). Infrared Absorption Spectroscopy. Practical. Holden-Day.