PLANTAGO MAJOR O‘SIMLIGIDAN AJRATILGAN ENDOFIT ZAMBURUG‘LARNING ANTIKOAGULYANT VA YALLIG‘LANISHGA QARSHI FAOLLIGI

Kuziyeva Nilufar Xusanboy qizi[1] Abdulmyanova Liliya Ilyasovna[2]
[1]O‘zbekiston Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya Instituti PhD doktoranti;
[2]O‘zbekiston Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya Instituti b.f.d.
https://doi.org/10.5281/zenodo.17218631

Annotatsiya. *Ushbu tadqiqotda* ***Plantago major*** *o‘simligidan ajratib olingan* ***PM4S endofit zamburug‘i ekstrakti****ning* ***a****ntikoagulyant va yallig‘lanishga qarshi faolligi baholandi. Plazma rekalsifikatsiya vaqti (PRT) nazoratga nisbatan qariyb* ***80 barobar*** *uzaydi. Protrombin vaqti (PT)* ***9,7±0,15 s*** *gacha qisqargan bo‘lib, shu bilan birga, APTT* ***4.5 martaga****, TT esa* ***11 marta****ga uzaygan, fibrinogen miqdori esa* ***2,04±0,03 g/L*** *gacha kamaygan. Yallig‘lanishga qarshi faollikda esa PM4S ekstrakti 75 mkg/ml konsentratsiyada* ***64,7±0,32 %*** *natija ko‘rsatib, shu dozada aspirinning* ***62,2 %*** *faolligidan yuqori bo‘ldi. Ushbu natijalar PM4S ekstrakti gemostazning bir nechta bosqichiga ta’sir ko‘rsatishini hamda farmatsevtik jihatdan ahamiyatli* ***antikoagulyant va yallig‘lanishga qarshi salohiyatga ega*** *ekanini tasdiqlaydi.*

Kalit so‘zlar: *Plantago major, endofit zamburug‘, antikoagulant faollik, rekalsiyfikatsiya vaqti(PRT), protrombin vaqti (PT), qisman faollashtirilgan tromboplastin vaqti (APTT), trombin vaqti (TT), fibrinogen, yallig‘lanishga qarshi faollik.*

Gemostatik tizim qonning erkin harakatlanishi va qon tomirlar yaxlitligini ta'minlaydi. Gemostaz – organizm uchun tabiiy jarayon bo‘lib, u irsiy yoki orttirilgan omillar ta'sirida buzilishi mumkin va bu holat miokard infarkti, chuqur venalar trombozi yoki o‘pka emboliyasi kabi trombozlarga sabab bo‘lishi mumkin. Tromboembolik kasalliklar O‘zbekistonda ham, jahon miqyosida ham aholi salomatligi uchun dolzarb muammo hisoblanadi. Bunday kasalliklarni davolashda samaradorligi klinik jihatdan tasdiqlangan turli antiagregant va antikoagulyant dorilar qo‘llaniladi. Biroq, ularning ko‘pchiligi salbiy nojo‘ya ta'sirlarga va cheklovlarga ega bo‘lib, bu ularning keng ommaviy qo‘llanilishini qiyinlashtiradi. Shuning uchun yangi dori vositalari yoki qo‘shimcha davo usullarini izlash muhimdir. Bu borada xalq tabobatida oldindan qo‘llanib kelinayotgan tabiiy mahsulotlar(dorivor o‘simliklar)ni ilmiy baholash katta ahamiyatga ega.[1]

Endofit zamburug‘lar biologik faol birikmalarning muhim manbalari qatoriga kiradi. O‘simliklarning ichki qismlarida joylashgan bu zamburug‘lar simbioz orqali o‘simlik o‘sishini rag‘batlantiradi va ko‘plab muhim ikkilamchi biologik faol metabolitlarni sintez qilishi ma’lum [6].Shu ma’lumotlarga asoslangan holatda zubturumdan ajratilgan endofit zamburug‘larida ham shunday xususiyatlar mavjud degan faraz asosida, endofit zamburug‘larning antikoagulyant xususiyatlarini o‘rganish dolzarb hisoblanadi.

Plantago major — Plantaginaceae oilasiga mansub, keng bargli, ko‘p yillik o‘simlik bo‘lib, o‘simlik antropogen buzilgan yerlarda, yo‘l chetlari va maysazorlarda keng tarqalgan [2]. Fitokimyoviy tarkibida iridoid glikozidlari, fenilpropanoidlar hamda flavonoidlar aniqlangan [8]. Ushbu bioaktiv moddalar unga yallig‘lanishga qarshi, antioksidant, yara bitiruvchi, antimikrob va antikoagulyant xususiyatlarni beradi[1,4]

Tadqiqotda O‘zbekiston Fanlar akademiyasi Mikrobiologiya instituti Fizologik faol birikmalar biokimyosi va biotexnologiyasi laboratoriyasida saqlanayotgan antikoagulyantlik xususiyatiga ega o‘simliklardan – Katta zubturum (*Plantago major*) o‘simligidan ajratilgan 5 ta shtammini umumiy ekstraktlarining ikkilamchi metobolitlari rekalsiyfikatsiya usuli bo‘yicha tekshirildi

Endofit zamburug‘larning biomassasidan ikkilamchi metabolitlarni ajratib olishda Hazalin va boshqalar uslubidan biroz modifikatsiya bilan foydalanildi [3]. Bunda -40° C da muzlatilgan 1g biomassa maydalangan kvarts bilan chinni xovonchada yaxshilab ezilib gomogentizat holiga kelgandan so‘ng sirka kislotaning etil efiri (etilatsetat)dan 5 ml solindi va kolbaga o‘tkazilib, xona temperaturasida 24 soatga tebratgichda qoldirildi. Keyin massa filtr (Vattman№1) qog‘ozdan filtrlab o‘tkazildi va suvli qatlamni yo‘qotish maqsadida 40 mkg/ml natriy sulfat solindi. Shundan keyin aralashmalarni rotorli bug‘latgichda bug‘latildi. Quruq ikkilamchi metabolitlari 1,0 ml etil spirtida qayta suspenziya qilindi va +4° C da saqlandi.

Ekstraksiyalar plazma rekalsiyfikatsiya vaqti (PRT) testiga quyidagi metod orqali tekshirildi. Venoz qon 3,8% natriy sitratini o‘z ichiga olgan probirkalarga olindi. Ushbu probirkalar qonning antikoagulyantga nisbatini 9:1 darajasida ushlab turdi. Qonni qayta kalsiyfikatsiya qilish vaqti odatda namuna olinganidan keyin yarim soat ichida o‘lchandi. 0,2 ml sitratlangan qon namunasi 12 x 75 mm idishga o‘tkazildi. Shisha probirka va suv hammomda 37 ° C da 2 daqiqa davomida inkubatsiya qilindi. Bunga 0,2 ml 0,025 M kalsiy xlorid qo‘shildi va bir vaqtning o‘zida taymerni (sekundomer) yoqildi. Ingredientlar aralashtirildi va trubka fibrin iplarining ko‘rinishini kuzatish uchun taxminan 20 soniya oralig‘ida yengil aylanish harakati bilan oldinga va orqaga sekin egildi. Kalsiy xlorid qo‘shilishi va eng birinchi kuzatilgan fibrin iplari hosil bo‘lishi o‘rtasidagi vaqt qonni qayta kalsiyfikatsiya qilish vaqti sifatida qayd etildi[9].

Tayyor ekstraktarda koagulatsiya testlari - protrombin vaqti (PT), qisman faollashtirilgan tromboplastin vaqti (aPTT), trombin vaqti (TT), Fibrinogen testi Huma Clot Junior(Human GmbH, Wiesbaden,Germaniya) apparatida o‘tkazildi. Buning uchun tekshiriluvchidan 3 ml qon olib, 3.8 % natriy sitratli probirka solinadi. Probirka sentrifugada 3000ay/min 3 minut aylantirilib, plazma ajratib olindi. Bu testlarni tekshirish uchun plazma va ekstraktlar 1:5 nisbatda aralashtirilib, toza kyuvetaga o‘z reagentlari (Human GmbH, Wiesbaden,Germaniya) solinib, 15 sekund inkubatsiya qilinadi hamda 37˚ C da apparatda tekshiriladi[7].

Ekstrakt yallig‘lanishga qarshi faollikka ham quyidagi metod orqali tekshirildi: Reaksiya aralashmasi (5 ml) 0,2 ml tuxum albumini (tovuq tuxumidan), 2,8 ml fosfat-buferli tuz (PBS, pH 6,4) va 2 ml turli konsentratsiyali ekstraktlardan iborat. Keyin aralash taxminan 15 daqiqa davomida inkubatorda 37 ° C da inkubatsiya qilindi va keyin 5 daqiqa davomida 70 ° C da isitildi. Sovutgandan so‘ng, ularning absorbsiyasi blanka yordamida 660 nm da o‘lchandi. Aspirin musbat kontrol, etanol manfiy kontrol sifatida ishlatildi [5]. Protein denaturatsiyasini ingibirlash foizi formula asosida hisoblab chiqildi: Ingibirlash foizi = [Abs -kontrol - Abs namuna / Abs –kontrol]*100

Plantago major o‘simligidan 5 ta endofit zamburug‘lar izolyatlari ajratib olindi. Ajratib olingan izolyatlarning ekstraktlari plazma rekalsiyfikatsiya vaqti (PRT) testi o‘tkazildi (1-jadval).

1-jadval.

Plantago major o‘simligidan ajratilgan izolyatlar PRT ko‘rsatkichi

№	Izolyatlar	PRT (min)
Kontrol		1.43
Katta zubturum (*Plantago major*)		
1	*PM2F*	2.38±0.01
2	*PM3L*	1.33±0.03
3	*PM4S*	>120.0±1.80
4	*PM5S*	1.20±0.01
5	*PM6S*	10.46±0.16

Jadvalda keltirilgan ma'lumotlardan ko‘rinib turibdiki, Katta zubturumdan ajratib olingan *PM4S* izolyati >120,0 dan yuqori PRTga ega. Yuqori PRT faolligiga ega izolyati umumiy ekstraktlari koagulatsiya testlari: protrombin vaqti (PT), qisman faollashtirilgan tromboplastin vaqti (APTT), trombin vaqti (TT), fibrinogen kabi ko‘rsatkichlar orqali tekshirildi.

Sog‘lom odamda plazma rekalsiyfikatsiya vaqti (PRT) 60-120 sekund bo‘lsa, koagulogramma natijalari Protrombin vaqti(PT) testi – 9.0-15.0 sekund, Protrombin Indeksi(PTI) 78-142%, Xalqaro normallashgan nisbat (INR) 0.85-1.15, qisman faollashtirilgan tromboplastin vaqti (APTT) 25.4-35.0 sekund, trombin vaqti (TT) 10.3-16.6 sekund, fibrinogen 2-4 g/l ni tashkil etadi (2-jadval).

2-jadval

PM4S izolyatining koagulatsion ko‘rsatkichlari

Shtamm	PT			APTT		TT		FIB
	Vaqti (sek)	PTI(%)	INR	Vaqti (sek	Нисбати	Vaqti (sek)	Nisbati	g/l
Norma	12,4 ±0,1 9	131±0 ,07	0,85 ±0,0 2	27,9± 0,42	0,83 ±0,0 1	20,4±0, 01	1,25± 0,02	3,4±0,0 7
Geparin (+)	+	+	+	+	+	+	+	>0.70
Etanol (-)	10,8 ±0,2 2	166±2 ,49	0,73 ±0,0 2	36,8± 0,74	1,24 ±0,0 2	19,8±0, 29	1,21± 0,02	2,35±0, 03
	96 % lik C_2H_5OH dagi ekstrakti							
PM4S	9,7± 0,15	199,4 ±3,99	0,66 ±0,0 1	117,2 ±1,76	3,91 ±0,0 6	223,5± 0,11	13,7± 0,27	2,04±0, 03

Tadqiqot natijalariga ko‘ra *PM4S* izolyatining 96 % etanoldagi ekstrakti kuchli antikoagulyant faollikka ega ekanligi ko‘rsatildi. Ayniqsa APTT (4,5 marta) va TT (11 marta) ko‘rsatkichlarining keskin cho‘zilishi, PT va fibrinogen darajasining pasayishi uning

gemostazning bir necha bo‘g‘iniga ta’sir qilishini ko‘rsatadi. Ushbu natijalar *PM4S* ekstraktida tromb hosil bo‘lish jarayonini to‘xtatuvchi ikkilamchi metabolitlar mavjudligini ilmiy asoslaydi.

3-jadval

PM4S etanol ekstraktining yallig‘lanishga qarshi faolligi

Ekstrakt kontsentratsiyasi, mkg/ml	25	50	75	125	150
Aspirin	49,7	74,1	62,2	52,2	50,2
PM4S	44,8±0,45	49,8±0,75	**64,7±0.32**	44,3±0,44	38,8±0,58

Jadvalga nazar soladigan bo‘lsak, *PM4S* ekstrakti o‘rta konsentratsiyada (75 mkg/ml) eng yuqori yallig‘lanishga qarshi samaradorlikni ko‘rsatib, aspirin natijalaridan ham ustun bo‘lgan. Ushbu natijalar *PM4S* ekstraktida potensial yallig‘lanishga qarshi metabolitlar mavjudligini ko‘rsatadi.

Plantago major dan ajratib olingan *PM4S* endofit zamburug‘i ekstrakti qon ivish jarayoniga kuchli antikoagulyant ta’sir ko‘rsatadi. Tadqiqotda plazma rekalsifikatsiya vaqti (PRT) nazoratga nisbatan qariyb 80 marta ortgani qayd etildi. Shuningdek, PT ko‘rsatkichi qisqargan bo‘lsa, APTT va TT ancha uzaygan, fibrinogen miqdori esa kamaygan. Ushbu kuzatuvlar ekstraktning geparinga o‘xshash ta’sir ko‘rsatib, farmatsevtik jihatdan muhim salohiyatga ega ekanligini ko‘rsatadi. Kelajakda uning ta’sir mexanizmlarini yanada chuqur o‘rganish maqsadga muvofiqdir.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Alberton B. R. et al. Efeito de extratos de plantas sobre a agregação plaquetária e coagulação sanguínea. – 2019.
2. Flora of North America Editorial Committee. (2020). *Plantago major L.* Flora of North America, Vol. 17. http://floranorthamerica.org/Plantago_major
3. Hazalin N.A., Ramasamy K., Lim S.M., Wahab I.A., Cole A.Lj, Majeed A.A. Cytotoxic and antibacterial activities of endophytic fungi isolated from plants at the National Park, Pahang, Malaysia. BMC Complementary and alternative medicine. 2009, 9:46. 49
4. Keshavarzi, A., et al. (2022). Therapeutic efficacy of *Plantago major* in second-degree burn wounds: A clinical study. Iranian Journal of Medical Sciences, 47(2), 120–129. https://doi.org/10.30476/ijms.2022.92685.2352
5. Kumari, C.S.; Yasmin, N.; Hussain, M.R.; Babuselvam, M. Invitro anti-inflammatory and anti-arthritic property of Rhizopora mucronata leaves. Int. J. Pharma Sci. Res. 2015,6, 482–485.
6. Kuziyeva N.X., Abdulmyanova L.I. *Coriandrum sativum* dan ajratilgan *CS13L* izolatini identifikatsiya va uning metabolitlarini mass-spektral tahlili.// Qo‘qon DPI. Ilmiy xabarlar 2025-yil 1-son 312-322, https://doi.org/10.70728/kspi.v5i1.244
7. Kuziyeva N.X., Abdulmyanova L.I., Dilmurodova K.F. *CICHORIUM INTYBUS* DAN AJRATIB OLINGAN ENDOFIT *ASPERGILLUS ORYZAE - CI3L* NING BIOFAOLLIGI.// Infeksiya, immunitet va farmakologiya jurnali №4/2025,176-185.
8. Samuelsen, A. B. (2000). The traditional uses, chemical constituents and biological activities of *Plantago major L. Journal of Ethnopharmacology*, 71(1–2), 1–21. https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00212-9