

VINKA TURKUMIDAGI O'SIMLIKLARDAN AJRATILGAN ENDOFIT ZAMBURUG EKSTRAKTLARIDAN VINKA ALKALOIDLARINI MASS-SPEKTROMETRIYA USULI BILAN ANIQLASH

Otayeva Zarina¹, Nasmetova Saodat², Mahkamova Mavlyuda³

¹O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya instituti tayanch doktoranti;

²O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya instituti, biologiya fanlari
doktori;

³O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya instituti, kichik ilmiy xodimi

<https://doi.org/10.5281/zenodo.17185205>

Annotatsiya. Mazkur tadqiqotda *Vinka* turkumiga mansub o'simliklardan (*Vinka minor*, *Catharanthus roseus*) ajratib olingan endofit zamburug'larning ekstraktlari mass-spektrometriya usuli yordamida tahlil qilindi. Natijada *Aspergillus terreus* VR176L shtammida vinblastin, vinkristin va vindolin, *Penicillium* sp. VM86 shtammida esa vinkamin alkaloidi aniqlangan. Ushbu natijalar adabiyotdagi ma'lumotlarga mos kelib, endofit zamburug'larning farmatsevtik ahamiyatga ega vinka alkaloidlarini sintez qilish imkoniyatiga ega ekanini ko'rsatdi. Tadqiqot farmatsevtika sanoatida bioaktiv alkaloidlarning alternativ manbalarini ishlab chiqishda istiqbolli yo'nalishlarni ochib beradi.

Kalit so'zlar: *Vinka minor*, *Catharanthus roseus*, endofit zamburug'lar, vinka alkaloidlari, mass-spektrometriya.

Аннотация. В данном исследовании были проанализированы экстракты эндофитных грибов, выделенных из растений рода *Vinka* (*Vinka minor*, *Catharanthus roseus*), методом масс-спектрометрии. В штамме *Aspergillus terreus* VR176L обнаружены винбластин, винкрисдин и виндолин, а у эндофита *Penicillium* sp. VM86 — алкалоид винкамин. Полученные результаты согласуются с литературными данными и подтверждают способность эндофитных грибов синтезировать фармакологически значимые винка-алкалоиды. Работа открывает перспективы использования эндофитов в качестве альтернативных продуцентов биологически активных соединений для фармацевтической промышленности.

Ключевые слова: *Vinka minor*, *Catharanthus roseus*, эндофитные грибы, винка-алкалоиды, масс-спектрометрия.

Abstract. This study investigated extracts of endophytic fungi isolated from *Vinka* plants (*Vinka minor*, *Catharanthus roseus*) using mass spectrometry. The analysis revealed the presence of vinblastine, vincristine, and vindoline in the extract of *Aspergillus terreus* VR176L, while the endophyte *Penicillium* sp. VM86 produced the alkaloid vincamine. The obtained *m/z* values corresponded to previously reported data, confirming the reliability of the results and the potential of endophytic fungi to synthesize pharmacologically important *Vinka* alkaloids. These findings highlight the prospects of utilizing endophytes as alternative producers of bioactive compounds in the pharmaceutical industry.

Keywords: *Vinka minor*, *Catharanthus roseus*, endophytic fungi, *Vinka* alkaloids, mass spectrometry.

Kirish.

Vinka turkumiga mansub o'simliklar (*Vinka minor*, *Catharanthus roseus*) vinka-alkaloidlarning qimmatli manbai hisoblanadi. Ushbu alkaloidlar ikkilamchi metabolitlar bo'lib, yaqqol antitumor faollikka ega va tibbiyot amaliyotida keng qo'llaniladi. So'nggi yillarda ushbu o'simliklarning endofit zamburug'lariga biofaol birikmalarning muqobil produsentlari sifatida qiziqish ortib bormoqda. Ma'lumki, endofitlar mezbon o'simlik metabolitlariga o'xshash moddalarning sintezini amalga oshirish qobiliyatiga ega [1].

Dolzarbligi

Farmakologik ahamiyatga ega alkaloidlarning yangi manbalarini izlash zamonaviy farmatsevtika fanining dolzarb vazifasi bo'lib qolmoqda. Vinka-alkaloidlar: vinblastin va vinkristin — yuqori sitotoksik ta'sirga ega bo'lgan antitumor alkaloidlar tabiiy ravishda *Catharanthus roseus* o'simligidan ajratib olinadi, ammo o'simlikda ushbu alkaloidlarning tabiiy konsentratsiyasi past, ishlab chiqarish jarayonlari ko'p vaqt va resurslarni talab qiladi [2]. Shu sababli, endofit zamburug'lar vinka-alkaloidlarning potentsial ishlab chiqaruvchilari sifatida alohida qiziqish uyg'otadi. Endofitlarning ushbu birikmalarni sintez qilish qobiliyatini o'rganish saratonga qarshi dorilarni biotexnologik ishlab chiqarish sohasida yangi istiqbollarni ochib beradi. Mass-spektrometriyani qo'llash murakkab biologik matritsalarida alkaloidlarning yuqori aniqlikdagi identifikatsiyasini ta'minlaydi va maqsadli metabolitlarning past konsentratsiyasini ham aniqlashga imkon beradi.

Tadqiqot maqsadi: Vinka turkumiga mansub o'simliklardan ajratilgan endofit zamburug' ekstraktlaridagi vinka alkaloidlarini mass-spektrometriya usuli yordamida aniqlash.

Materiallar va usullar

Penicilium sp. - VM86 va *Aspergillus terreus* VR176L endofit zamburug'lari *Vinka minor* va *Catharanthus roseus* o'simliklaridan avval ajratilgan. Biomassa hosil bo'lgunga qadar 28 °C haroratda va 140 aylanish tezligida 7 kun davomida makkajo'xori ozuqa muhitida o'stirildi. Biomassa va kultural suyuqlik suyuq azot yordamida liyofilizatsiya qilindi. Quruq biomassa ikkilamchi metabolitlarni ajratish uchun 24 soat davomida xloroform bilan ekstraksiya qilindi. Olingan ekstrakt Whatman qog'ozi orqali filtrlandi, aylanadigan evaporatorda 37 °C haroratda va aylanish tezligi 120 rpm da bug'landi. shundan so'ng u 70% etanolda yig'ib olindi va diametri 0,22 mkm bo'lgan filtdan o'tkazildi. Ikkilamchi metabolitlarning umumiy rentabelligi massa spektral tahliliga yo'naltirildi.

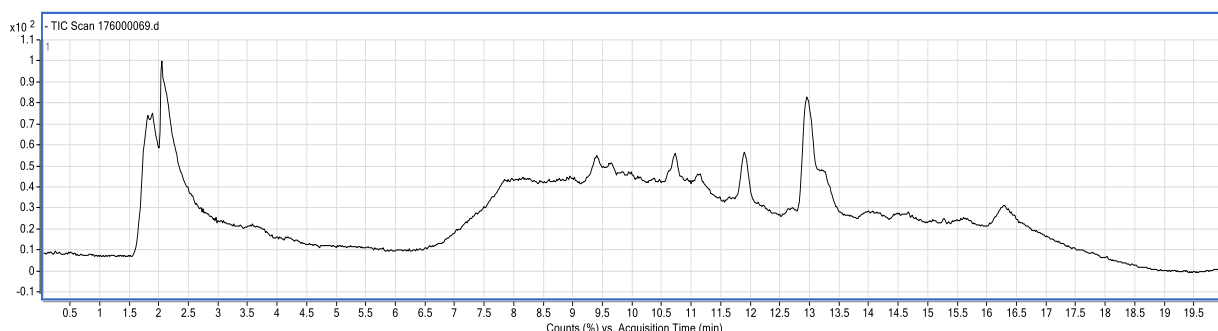
Teskari-faza nano-LC-MS/MS usuli bo'yicha tahlil Agilent 1200 (nano-oqim suyuqlik xromatografiyasi) tizimida, Agilent Technologies 6520B CHIP-Q-TOF mass-spektrometri bilan birlashtirilgan holda amalga oshirildi. Namuna Agilent 1200 xromatografida Zorbax SB C18 kolonkasi (5 mkm, 75 mkm × 43 mm) yordamida fraksiyalandi. Harakatlanuvchifaza tarkibi: eritma A: 0,1% chumoli kislotasi + 5% atsetonitril; eritma B: atsetonitril + 0,1% chumoli kislotasi + 10% deionlashtirilgan suv.

Namuna Agilent 1260 Cap Pump nasosi yordamida 4 mkl/min tezlikda yuborildi. Elütsiya Nano Pump (Agilent 1260) yordamida 0,6 mkl/min tezlikda bajarildi. Gradient: eritma B — 0% (3 daqiqa) dan 60% gacha (12–18 daqiqalar), va yana 0% gacha (20 daqiqa). Eritmalar µ-degasser (Agilent 1260) qurilmasida degazatsiya qilindi. Namunalarni kolonkaga yuborish Agilent Micro WPS injektor orqali 2 mkl hajmda amalga oshirildi.

Vinka alkaloidlarni mass-spektral tahlil orqali identifikatsiya qilish O'zR FA Biorganika instituti olimlari bilan hamkorlikda amalga oshirildi.

Natijalar va ularning muhokamasi

Catharanthus roseus o‘simligidan ajratib olingan *Aspergillus terreus* VR176L endofit zamburug‘i ekstraktining mass-spektral tahlili vinblastin (811,68 m/z), vinkristin (824,80 m/z) va vindolin (457,31m/z) molekulyar massalariga ega birikmalarni aniqladi. *Vinka minor* o‘simligidan ajratib olingan *Penicillium sp. VM86* endofit zamburug‘ida esa vinkamin (355,35 m/z) alkaloidi topildi. Vinkamin — bu indol alkaloidlar sinfiga mansub biofaol birikma bo‘lib, u miya qon aylanishini yaxshilaydi, neyroprotektor xususiyatga ega va yoshga hamda tomir o‘zgarishlariga bog‘liq kognitiv buzilishlarni davolashda qo‘llaniladi.



1-rasm. *Aspergillus terreus* VR176L shtammi biomassasi ekstraktining TIC (Total Ion Chromatogram — umumiy ion xromatogrammasi).

1-jadval

Endofit zamburug‘larning mass-spektral tahlili

Shtamm	Vinka alkaloid	Molekulyar ion (M+)	Chiqish vaqti (min)
<i>Aspergillus terreus</i> VR176L	vinkristin	824,80	11,896
	vinblastin	811,68	11,032
	vindolin	457,31	10,684
<i>Penicillium sp. VM86</i>	vinkamin	355,35	12,89

Ko‘rsatilgan birikmalar uchun olingan m/z qiymatlari adabiyot ma’lumotlariga mos keladi. Xususan, Hui Zhou tomonidan vinka alkaloidlarining mass-spektrometrik tahliliga oid ishlarda vinblastin, vinkristin va vinkaminga mos keluvchi xarakterli ion cho‘qqilari aniqlangan bo‘lib, bu bizning natijalarimizning ishonchliligini tasdiqlaydi [3].

Ashutosh Kumar tadqiqotida esa *Catharanthus roseus* o‘simligidan ajratib olingan *Fusarium oxysporum* endofit zamburug‘ining mass-spektrometrik tahlili standart vinblastin va vinkristinning chiqish vaqti hamda cho‘qqi massalarining zamburug‘dan ajratilgan birikmalar bilan mos kelishini ko‘rsatgan. Bu endofit zamburug‘larning qimmatli vinka alkaloidlarini sintez qilish qobiliyatiga ega ekanligini tasdiqlaydi [4].

Shunday qilib, olingan ma’lumotlar *Vinka minor* va *Catharanthus roseus* o‘simliklaridan ajratib olingan *Penicillium sp. VM86* va *Aspergillus terreus* VR176L endofit zamburug‘lari

biologik faol vinka alkaloidlarini sintez qilish potentsialiga ega ekanini ko'rsatadi. Bu esa ularning farmatsevtika sanoatida qo'llanilishi uchun istiqbollarni ochib beradi.

ADABIYOTLAR RO'YHATI

1. Parthasarathy, R., Shanmuganathan, R., & Pugazhendhi, A. (2019). Vinblastine production by the endophytic fungus *Curvularia verruculosa* from the leaves of *Catharanthus roseus* and its in vitro cytotoxicity against HeLa cell line. *Analytical Biochemistry*, 593, 113530. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2019.113530>.
2. Lay, C. S., Agustina, I., Astuti, P., & Hertiani, T. (2023). Cytotoxic screening of endophytic fungi associated with *Catharanthus roseus*. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 24(5). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d240525>.
3. Hui Zhou, Yuanpo Tai, Cuirong Sun and Yuanjiang Pan Rapid (2005) Identification of Vinca Alkaloids by Direct-injection Electrospray Ionisation Tandem Mass Spectrometry and Confirmation by High-performance Liquid Chromatography–Mass Spectrometry. *Phytochem. Anal.* 16, 328–333. DOI: 10.1002.pca.852.
4. Kumar, A., Patil, D., Rajamohanan, P. R., & Ahmad, A. (2013). Isolation, Purification and Characterization of Vinblastine and Vincristine from Endophytic Fungus *Fusarium oxysporum* Isolated from *Catharanthus roseus*. *PLoS ONE*, 8(9), e71805. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0071805>.