DOI 10.66073/ReFocus-Conf/3010064

ZA'FARON (*CROCUS SATIVUS* L.) O'SIMLIGIDAN AJRATILGAN ENDOFIT ZAMBURUG'LARNING ANTIKOAGULYANT FAOLLIGI

Kuziyeva Nilufar Xusanboy qizi[1], **Abdulmyanova Liliya Ilyasovna**[1], **Shodiyeva Dildora G'iyosovna**[1]

[1]*O'zbekiston Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya Instituti kichik ilmiy xodimi*
[1]*O'zbekiston Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya Instituti b.f.d.*
[1]*O'zbekiston Fanlar Akademiyasi Mikrobiologiya Instituti PhD doktoranti*

Annotatsiya: Mazkur tadqiqotda *Crocus sativus* L. (za'faron) o'simligidan ajratib olingan endofit zamburug'larning ikkilamchi metabolitlari antikoagulyant faolligi bo'yicha baholandi. Tadqiqotda 17 ta zamburug' shtammining ekstraktlari plazma rekalsiyfikatsiya vaqti (PRT) usuli yordamida tekshirildi. Natijalar namunalar faolligining turlicha ekanligini ko'rsatdi. Eng yuqori ta'sir *Penicillium sp.* CS50R izolatida kuzatilib, PRT ko'rsatkichi 120 daqiqadan ortiqni tashkil etdi. Ushbu izolat potensial antikoagulyant xususiyatga ega biologik faol birikmalar manbai sifatida istiqbolli hisoblanadi. Olingan natijalar za'faron endofit zamburug'larining antikoagulyant faolligini chuqurroq o'rganish va faol metabolitlarni aniqlash uchun asos bo'lib xizmat qiladi.

Kalit so'zlar: *Crocus sativus* L., antikoagulyant faollik, plazma rekalsiyfikatsiya vaqti (PRT), *Penicillium sp.*

Аннотация: В данном исследовании оценивали антикоагулянтную активность вторичных метаболитов эндофитных грибов, выделенных из растения *Crocus sativus* L. (шафран). Экстракты 17 штаммов грибов исследовали с использованием метода определения времени рекальцификации плазмы (PRT). Результаты показали различия в активности исследованных образцов. Наиболее выраженный эффект наблюдался у изолята *Penicillium sp.* CS50R, для которого показатель PRT составил более 120 минут. Данный изолят представляет перспективный источник биологически активных соединений с потенциальными антикоагулянтными свойствами. Полученные результаты служат основой для дальнейшего изучения антикоагулянтной активности эндофитных грибов шафрана и выявления активных метаболитов.

Ключевые слова: *Crocus sativus* L., антикоагулянтная активность, время рекальцификации плазмы (PRT), *Penicillium sp.*

Abstract: This study evaluated the anticoagulant activity of secondary metabolites produced by endophytic fungi isolated from *Crocus sativus* L. (saffron). Extracts of 17 fungal strains were tested using the plasma recalcification time (PRT) assay. The results revealed differences in the activity of the tested samples. The most pronounced effect was observed in the *Penicillium sp.* CS50R isolate, for which the PRT exceeded 120 minutes. This isolate represents a promising source of biologically active compounds with potential anticoagulant properties. The findings provide a basis for further investigation of the anticoagulant activity of saffron-associated endophytic fungi and the identification of active metabolites.

Keywords: *Crocus sativus* L., anticoagulant activity, plasma recalcification time (PRT), *Penicillium sp.*

IQTIBOS UCHUN
Kuziyeva N.X., Abdulmyanova L.I., Shodiyeva D.G'. Za'faron (Crocus sativus L.) o'simligidan ajratilgan endofit zamburug'larning antikoagulyant faolligi // Fundamental va amaliy mikrobiologiyaning bugungi holati va rivojlanish istiqbollari: yosh olimlar nigohi: Respublika ilmiy-amaliy anjumani materiallari. – Toshkent, 2026. – B. 234–237.
DOI: https://doi.org/10.66073/ReFocus-Conf/3010064

Kirish

Crocus sativus L. (za’faron) qadimdan dorivor o‘simlik sifatida foydalanib kelinadigan bo‘lib, hozirgi vaqtda uning kimyoviy tarkibi va farmakologik xususiyatlarini o‘rganishga katta e’tibor qaratilmoqda. Za’faron tarkibida crocin, crocetin, picrocrocin va safranal kabi biologik faol birikmalar, shuningdek, boshqa fenolik moddalar va flavonoidlar mavjud[2]. Ushbu birikmalar antioksidant, yallig‘lanishga qarshi va boshqa biologik faolliklarni namoyon qilishi bilan ahamiyatlidir. Za’faronning biologik xususiyatlarini chuqur o‘rganish uning tarkibidagi tabiiy birikmalardan yangi farmakologik vositalarni izlash va ularning amaliy qo‘llanish imkoniyatlarini baholash uchun muhim hisoblanadi.

So‘nggi yillarda za’faron ekstraktlarining qon ivish tizimiga ta’siri, xususan, antikoagulyant faolligini o‘rganishga ham qiziqish ortmoqda. Khan va hammualliflar tomonidan olib borilgan tadqiqotda za’faronning turli qismlaridan — changchisi, gulbargi, bargi va piyozboshidan — olingan etanolli ekstraktlarning biologik faolligi baholangan. Natijalarga ko‘ra, gul changchisi ekstrakti uchun 101,66 soniya, gulbarg ekstrakti uchun 86,5 soniya, barg ekstrakti uchun 66,83 soniya va piyozbosh ekstrakti uchun 42,83 soniya koagulyatsiya vaqti qayd etilgan[5]. Ushbu natijalar za’faronning turli organlaridan olingan ekstraktlar qon ivish ko‘rsatkichlariga turlicha ta’sir qilishi mumkinligini ko‘rsatadi.

Drioiche va hammualliflar tomonidan o‘tkazilgan tadqiqotda esa *Crocus sativus* L. ning suvli ekstrakti sitratlangan sog‘lom donorlar qon plazmasida protrombin vaqti (PT) hamda faollashtirilgan qisman tromboplastin vaqti (aPTT) ko‘rsatkichlari bo‘yicha baholangan. Natijada ekstraktning 359 µg/ml konsentratsiyasida aPTT ko‘rsatkichining statistik jihatdan sezilarli uzayishi aniqlangan ($p <$ 0,001), PT ko‘rsatkichida esa sezilarli o‘zgarish kuzatilmagan[2]. Ushbu natijalar za’faronning suvli ekstrakti qon ivish tizimining ayrim ko‘rsatkichlariga ta’sir qilishi mumkinligini ko‘rsatadi.

Za’faronning farmakologik xususiyatlariga bag‘ishlangan ilmiy sharhlarda ham uning ko‘p komponentli kimyoviy tarkibi va turli biologik faolliklari ta’kidlangan. Biroq mavjud ma’lumotlar za’faron ekstraktlarining antikoagulyant ta’sir mexanizmlarini, faol metabolitlarning o‘zaro ta’sirini va ularning samarali konsentratsiyalarini yanada chuqurroq o‘rganish zarurligini ko‘rsatadi. Shu nuqtayi nazardan, nafaqat o‘simlikning o‘zi, balki u bilan bog‘liq mikroorganizmlar tomonidan ishlab chiqariladigan ikkilamchi metabolitlarni ham tadqiq etish muhim ilmiy yo‘nalish hisoblanadi.

O‘simliklarning to‘qimalarida yashovchi endofit zamburug‘lar mezbon o‘simlik bilan yaqin biologik munosabatda bo‘lib, turli xil ikkilamchi metabolitlarni sintez qilish qobiliyatiga ega. Ushbu metabolitlar antibakterial, antioksidant va boshqa biologik faolliklarni namoyon qilishi mumkin. Endofit zamburug‘lar tomonidan ishlab chiqariladigan birikmalar tarkibi va faolligi zamburug‘ turiga, mezbon o‘simlikka hamda o‘stirish sharoitlariga bog‘liq bo‘lishi mumkin. Shu sababli, dorivor o‘simliklardan ajratib olingan endofit zamburug‘lar yangi biologik faol moddalarni izlashda istiqbolli manba sifatida qaraladi.

Chamkhi va hammualliflar Marokashning Taliouine hududida o‘sadigan *Crocus sativus* L. ildizlaridan 60 ta endofit zamburug‘ izolatini ajratib olib, ularning biologik xususiyatlarini o‘rgangan. Tadqiqot natijasida *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus fumigatiaffinis* va *Aspergillus niger* turlari identifikatsiya qilingan. Ushbu zamburug‘lardan olingan ekstraktlarning antibakterial va antioksidant faolligi baholangan[1],[4]. Shunga qaramay, yuqorida keltirilgan za’faron endofitlariga oid tadqiqotlarda zamburug‘ ekstraktlarining antikoagulyant faolligi bevosita baholanmagan. Demak, *Crocus sativus* endofitlarining qon ivish jarayoniga ta’siri va ular sintez qiladigan metabolitlarning potensial antikoagulyant xususiyatlari yetarlicha o‘rganilmagan ilmiy yo‘nalishlardan biri bo‘lib qolmoqda.

Endofit zamburug‘larni ajratish, ularni identifikatsiya qilish, ekstraktlarining biologik faolligini baholash va faol metabolitlarni aniqlash ushbu bo‘shliqni to‘ldirishga xizmat qilishi mumkin. Shu munosabat bilan, mazkur tadqiqotning dolzarbligi *Crocus sativus* L. bilan bog‘liq endofit zamburug‘larning biologik faol metabolitlarini o‘rganish va ularning antikoagulyant xususiyatlarini baholash zarurati bilan belgilanadi.

DOI: 10.66073/ReFocus-Conf/3010064

Material va metodlar

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 gomogenizat 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[6].

Natijalar va ularning muhokamasi

Tadqiqot uchun foydalanilgan endofit zamburug‘lar *Crocus sativus* o‘simligidan ajratilgan bo‘lib, o‘simlik Toshkent viloyatining Chatqol qo‘riqxonasi tog‘oldi hududidan (dengiz sathidan 1000 m balandlikda) keltirildi. Za’faronning poyasi, ildizi va bargidan ajratib olingan zamburug‘ izolatlarining tarkibi xilma-xil, ya’ni o‘simlikning turli organlaridan *Aspergillus, Penicillium, Fusarium, Alternaria* kabi avlodlarga mansub endofit zamburug‘lar ajratilgan. Tadqiqotda *Crocus sativus* o‘simligidan ajratilgan 17 ta shtammini umumiy ekstraktlarining ikkilamchi metabolitlari rekalsiyfikatsiya usuli bo‘yicha tekshirildi.

1-jadval. Endofit zamburug‘lar ekstraktlarining plazma rekalsiyfikatsiya vaqtiga (PRT) ta’siri

№	Namunalar	PRT (soniya)
	Nazorat	1,48 ± 0,02
	Etanol	1,43 ± 0,01
	Varfarin	>120
	Geparin	>120
1	*Aspergillus terreus CS16S*	2,45±0,04
2	*Aspergillus terricola CS17S*	3,16±0,04
3	*Penicillium sp. CS18S*	2,18±0,03
4	*Fusarium sp. CS23S*	1,49±0,02
5	*Penicillium rubrum CS51S*	2,34±0,03
6	*Alternaria sp. CS53S*	2,51±0,04
7	*Gliocladium sp. CS54S*	3,07±0,05
8	*Aspergillus niger CS14R*	2,18±0,03
9	*Aspergillus terreus CS15R*	2,10±0,03
10	*Penicillium sp. CS19R*	4,09±0,06
11	*Penicillium sp. CS20R*	2,24±0,03
12	*Penicillium sp. CS21R*	1,53±0,02
13	*Fusarium sp. CS22R*	1,58±0,02
14	*Acremonium sp. CS24R*	2,28±0,03

DOI: 10.66073/ReFocus-Conf/3010064

15	*Cunninghamella sp. CS25R*	2,13±0,03
16	*Penicillium sp. CS50R*	>120,0
17	*Alternaria sp. CS52L*	4,49±0,07

Jadval natijalariga ko‘ra, endofit zamburug‘lar ekstraktlarining PRT ko‘rsatkichiga ta’siri turlicha bo‘lgan. Eng qisqa vaqt *Fusarium sp.* CS23S namunasida (1,49 ± 0,02 daqiqa), eng uzoq vaqt esa *Penicillium sp.* CS50R namunasida (>120 daqiqa) kuzatilgan. CS50R namunasida PRTning keskin uzayishi potensial antikoagulyant faollik mavjudligini taxmin qiladi. Biroq ushbu xulosani tasdiqlash uchun qo‘shimcha tajribalar va statistik tahlil talab etiladi.

Xulosa

Tadqiqot natijalariga ko‘ra, za’faron (*Crocus sativus* L.) endofit zamburug‘lari ekstraktlarining plazmani rekalsiyfikatsiya vaqtiga ta’siri turlicha bo‘ldi. Ayniqsa, *Penicillium sp.* CS50R izolatida PRT ko‘rsatkichining 120 daqiqadan ortishi uning potensial antikoagulyant faolligini ko‘rsatadi. Ushbu izolat kelgusida antikoagulyant xususiyatga ega biologik faol birikmalarni aniqlash uchun istiqbolli manba sifatida chuqurroq o‘rganilishi lozim.

Foydalanilgan adabiyotlar

1. Chamkhi I., Sbabou L., Aurag J. (2018). Endophytic Fungi Isolated from *Crocus sativus L.* (Saffron) as a Source of Bioactive Secondary Metabolites. Pharmacognosy Journal, 10(6), 1143–1148. https://doi.org/10.5530/pj.2018.6.195
2. Drioiche A. et al. (2023). Identification of Compounds of *Crocus sativus* by GC-MS and HPLC/UV-ESI-MS and Evaluation of Their Antioxidant, Antimicrobial, Anticoagulant, and Antidiabetic Properties. Pharmaceuticals, 16(4), 545. https://doi.org/10.3390/ph16040545
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. Jiang Y. et al. (2022). Study on Secondary Metabolites of Endophytic Fungus, *Aspergillus fumigatus*, from *Crocus sativus L.* Guided by UHPLC-HRMS/MS-Based Molecular Network.
5. Khan A. et al. (2020). Potential Nutraceutical Benefits of In Vivo Grown Saffron (*Crocus sativus L.*) As Analgesic, Anti-inflammatory, Anticoagulant, and Antidepressant in Mice. Plants, 9(11), 1414. https://doi.org/10.3390/plants9111414
6. Кузиева Н.Х., Абдульмянова Л.И., Гулямова Т.Г. Скрининг антикоагулянтных свойств этанольных экстрактов эндофитных грибов. // Universum: химия и биология Выпуск: 9(123), Сентябрь 2024, ст. 15-23.

DOI: 10.66073/ReFocus-Conf/3010064