

**КАЧЕСТВЕННЫЙ СОСТАВ ЭКСТРАКТОВ ГРИБОВ - ЭНДОФИТОВ,  
ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ РАСТЕНИЯ АЛОЕ ВЕРА****<sup>1</sup>Депсинов Р.И., <sup>2</sup>Рузиева Д.М., <sup>3</sup>Абдульмянова Л.И.**

Институт микробиологии Академии наук Республики Узбекистан, Ташкент

<https://doi.org/10.5281/zenodo.8367876>

**Аннотация.** В настоящее время эндофитные грибы, обитающие во всех ныне существующих на Земле растениях, обладают способностью продуцировать чрезвычайно широкое разнообразие различных вторичных метаболитов. Природные продукты из эндофитных грибов имеют широкий спектр биологической активности и могут быть сгруппированы в несколько классов химических соединений, в том числе, алкалоиды, фенолы, танины, стероиды, терпеноиды, лактоны, флавоноиды, изокумарины, хиноны и ряд других соединений [1]. В этой связи, являются актуальными исследования направленные на изучение качественного состава биологически активных соединений эндофитов. В статье представлены экспериментальные данные по определению биологически активных соединений этанольных экстрактов эндофитных грибов выделенных из соцветий, листьев и корней растения Алое вера.

**Ключевые слова:** эндофитные грибы, качественный состав, флавоноиды, Aloe vera

**Annotatsiya.** Hozirgi vaqtda yerda mavjud bo'lgan barcha o'simliklarda yashovchi endofitik zamburug'lar turli xil ikkilamchi metabolitlarning juda xilma-xilligini ishlab chiqarish qobiliyatiga ega. Endofitik qo'ziqorinlardan olingan tabiiy mahsulotlar biologik faollikning keng doirasiga ega va ularni kimyoviy birikmalarning bir nechta sinflariga, shu jumladan alkaloidlar, fenollar, taninlar, steroidlar, terpenoidlar, laktonlar, flavonoidlarga guruhlash mumkin. izokumarinlar, xinonlar va boshqa bir qator birikmalar [1]. Shu munosabat bilan endofitlarning biologik faol birikmalarining sifat tarkibini o'rganishga qaratilgan tadqiqotlar dolzarbdir. Maqolada Scarlet Vera o'simlikining inflorescences, barglari va ildizlaridan ajratilgan endofitik endofitlarning etanol ekstraktlarining biologik faol birikmalarini aniqlash bo'yicha eksperimental ma'lumotlar keltirilgan

**Kalit so'zlar:** endofitik qo'ziqorinlar, sifatli tarkibi, flavonoidlar, Aloe vera

**Abstract.** Currently, endophytic fungi living in all plants currently existing on Earth have the ability to produce an extremely wide variety of different secondary metabolites. Natural products from endophytic fungi have a wide range of biological activity and can be grouped into several classes of chemical compounds, including alkaloids, phenols, tannins, steroids, terpenoids, lactones, flavonoids, isocoumarins, quinones and a number of other compounds [1]. In this regard, studies aimed at studying the qualitative composition of biologically active compounds of endophytes are relevant. The article presents experimental data on the determination of biologically active compounds of ethanol extracts of endophytic fungi isolated from inflorescences, leaves and roots of the Aloe Vera plant

**Keywords:** endophytic fungi, qualitative composition, flavonoids, Aloe vera

**Введение.** С каждым годом все большее внимание привлекают к себе эндофиты – микроорганизмы, бессимптомно обитающие в различных частях растений. Эндофитные микроорганизмы не только снабжают растение биологически активными веществами и увеличивают стрессоустойчивость, но и обеспечивают защитными агентами против фитопатогенов, в частности, за счет синтеза антибиотиков.

Учитывая способность эндофитов к синтезу метаболитов, родственных метаболитам растения-хозяина, особое внимание необходимо уделить исследованию эндофитной микрофлоры лекарственных растений, которыми очень богат Узбекистан.

Растение Алоэ Вера хорошо известно своими целебными свойствами и лечением многих заболеваний. [7] В народной медицине натуральные препараты из растений широко применяются при сердечно-сосудистых, нервных и желудочно-кишечных заболеваниях.

В основном Алоэ используются как декоративные виды, но некоторые из них применяются и в лечебных целях. Это связано с тем, что в их листьях содержится много биологически активных веществ, в том числе и фенольной природы.

Фитохимические исследования состава метаболитов *Алоэ вера* показали, что растение содержит много различных соединений, в том числе, антрахиноны, алкалоиды, кумарины, каротиноиды. Препараты Алоэ оказывают общее биостимулирующее и стимулирующее иммунодействие, что объясняют наличием в экстракте биогенных стимуляторов, образующихся в тканях алоэ при неблагоприятных условиях (пониженная температура, отсутствие света); биостимуляторы обладают способностью повышать защитные функции организма и усиливают репаративные процессы в тканях. При наружном применении препараты Алоэ оказывают ранозаживляющее, противовоспалительное и радиопротекторное действие [4].

Объектом нашего исследования являются суммарные этанольные экстракты эндофитных грибов, выделенных из листьев, корня и соцветия растения Алоэ Вера

**Материалы и методы исследования.** Выделение эндофитных грибов проводили по Hazalin et al. [2]. из корней, листьев и соцветий собранных растений. После предварительной обработки 70% этанолом в течении 1 минуты и промывки стерильной водой, каждый сегмент растения асептически измельчали на кусочки размером не более 0,5 см и помещали на чашки Петри с агаризованной средой Чапека-Докса, содержащей хлортетрациклин в концентрации 50 мг/мл и сульфат стрептомицина в концентрации 250 мг/мл для подавления роста бактериальной микрофлоры. Чашки инкубировали в течении 7-14 дней при температуре 28<sup>0</sup>С. Выросшие грибные изоляты пересеивали на среду Чапека-Докса, не содержащую антибиотики.

**Глубинная ферментация эндофитных грибов.** С целью накопления и извлечения вторичных метаболитов из биомассы эндофитных грибов, штаммы выращивали глубинным методом культивирования в колбах объемом 500 мл, содержащих 250 мл жидкой среды Чапека-Докса, на качалке при 180 об/мин, температуре 28<sup>0</sup>С в течении 7 суток. Биомассу культур сепарировали путем центрифугирования при 6 тыс. об/мин и хранили при - 4<sup>0</sup>С. Для определения сухого веса биомассу высушивали до постоянного веса при температуре 105<sup>0</sup>С.

**Экстракция вторичных метаболитов эндофитных грибов.** Для определения биологических активностей экстракцию метаболитов из биомассы эндофитных грибов проводили по Lang et al. с модификациями Hazalin et al. Для этого 5 г замороженной биомассы растирали в ступке со стеклянным песком и 50 мл этилового эфира уксусной кислоты, переносили в коническую колбу и оставляли на сутки на качалке при комнатной температуре для перемешивания. Затем смесь отфильтровывали через бумажный фильтр (ватман бумага №1) и добавляли Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> из расчета 40 мкг/мл для удаления водного слоя. Далее смесь упаривали досуха на ротормном испарителе и добавляли 1 мл

диметилсульфоксида. Полученный экстракт использовали как маточный раствор и хранили при температуре +4°C.

Определение вторичных метаболитов в этанольных экстрактах грибов проводили качественными реакциями, путем дифференциальной окраски компонентов по описанию G. Visweswari [3].

Наличие танинов и фенольных веществ определяли путем добавления к 2 мл полученного экстракта 2-3 каплей 1% раствора FeCl<sub>3</sub>. В присутствии ионов железа танины дают черно-синий или черно-зеленый цвет, фенолы - фиолетовый.

Наличие сапонинов устанавливали путем растворения 1 мл экстракта в 5 мл горячей воды (60°C) с дальнейшим интенсивным встряхиванием в течение 5 минут до образования стойкой пены. Объем пены сохранялся в течение последующих 30 минут.

Наличие терпеноидов определяли путем смешивания 0,5 мл экстракта с 2 мл хлороформа и 3 мл. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (конц.). Образование между фазами красно-коричневого окрашивания говорит о наличии терпеноидов.

Наличие антрахинонов устанавливали смешиванием 2 мл экстракта с 4 мл гексана и последующим встряхиванием. При этом наблюдалось разделение экстракта на 2 слоя. Верхний слой отделяли, обрабатывали 4 мл разведенного 10% аммиака и определяли окраску нижнего слоя. Фиолетово-розовая окраска говорила о наличии антрахинонов.

Наличие сердечных гликозидов определяли путем смешивания 1 мл экстракта с 1 мл ледяной уксусной кислоты и последующим добавлением 1 капли 3% хлорида железа в метаноле. Затем добавляли по стенке пробирки H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> (конц.) и определяли окраску нижнего слоя. Сине-зеленое окрашивание говорило о наличии сердечных гликозидов.

**Тест на флавоноиды:** К 2 мл каждого экстракта добавляли несколько капель 20% гидроксида натрия, наблюдается образование интенсивного желтого цвета. К нему было добавлено несколько капель 70% разбавленной соляной кислоты, и желтый цвет исчез. Образование и исчезновение желтого цвета указывает на присутствие флавоноидов в экстракте пробы.

Наличие алкалоидов основаны на способности алкалоидов образовывать не растворимые в воде соединения с солями тяжелых металлов, с комплексными йодидами, комплексными кислотами и другими соединениями кислотного характера. Эти реакции позволяют установить наличие алкалоидов даже при незначительном их содержании. Раствор йода в растворе калия йодида (реактив Вагнера, реактив Бушарда) с алкалоидами образуют бурые, трудно растворимые в воде осадки. К 1 мл экстракта добавляют 5 капель реактива для осаждения алкалоидов. При наличии алкалоидов появляется бурый осадок осадок.

Все эксперименты проводили в 3-х повторностях.

**Результаты и обсуждение.** Результаты качественного анализа вторичных метаболитов соцветия, листьев и корней эндофитных грибов, выделенных из растения *Aloe vera* представлены в таблице 1. Предварительный фитохимический скрининг 9 этанольных экстрактов эндофитных грибов, выделенных из листьев растения *Aloe vera* выявил наличие различных биоактивных компонентов, таких как – фенолы, танины, алкалоиды, сапонины, в экстрактах, выделенных из корней растения обнаружены - флавоноиды, фенолы и танины и в экстрактах, выделенных из цветков *Aloe vera* – алкалоиды, терпеноиды, фенолы и танины.

Фенолы и фенольные кислоты из грибных эндофитов обычно обладают выраженной антиоксидантной активностью. Танины находят применение в медицине как вяжущие лекарственные препараты, антитоксические при отравлениях солями тяжелых металлов, противодиарейные и кровоостанавливающие.

Алкалоиды и флавоноиды обладают антиоксидантными свойствами и их влияние на питание и здоровье человека значительно. Флавоноиды являются мощными водорастворимыми антиоксидантами и поглотителями свободных радикалов, которые предотвращают окислительное повреждение клеток и обладают сильной противораковой активностью [4].

Флавоноиды, также известные как лекарственные средства природы, обладают многочисленными биологическими и фармакологическими свойствами. Противовоспалительные свойства флавоноидов давно используются в китайской медицине и косметической промышленности в виде экстрактов сырых растений [5]. Алкалоиды и их синтетические производные используются в качестве основных лекарственных средств из-за их обезболивающего, спазмолитического и бактерицидного действия. [6].

#### Таблица 1

Фитохимический скрининг этанольных экстрактов эндофитов, выделенных из листьев, корней, соцветий *Aloe vera*.

№	Фито компоненты	Этанольные экстракты		
		Листья	корень	Соцветие
1	Алкалоиды	+	-	+
2	Флавоноиды	-	+	-
3	Сердечные гликозиды	-	-	-
4	Фенолы	+	+	+
5	Терпеноиды	-	-	+
6	Антрахиноны	-	-	-
7	Протеины	-	-	-
8	Сапонины	+	-	-
9	Танины	+	+	+

примечание: (+) присутствует (-) отсутствует

Таким образом фитохимические исследования эндофитных грибов, выделенных из растения Алое Вера показали наличие различных универсальных компонентов, таких как флавоноиды, алкалоиды, танины, сапонины, фенолы, которые являются богатым источником новых природных соединений.

Алкалоиды обладают антибактериальной активностью широкого спектра, а также используются в качестве анальгетиков и наркотических средств для облегчения боли.

Дубильным веществам приписываются многие физиологические активности человека, такие как стимуляция фагоцитарной активности клеток-хозяев, опосредованная опухолевой активностью и широкий спектр противомикробных действий. Дубильные вещества обладают вяжущими свойствами, ускоряющими заживление ран и воспаленных слизистых оболочек. Танины ответственны за изменение цвета пищи.

Таким образом фитохимические исследования растения *Aloe vera* и эндофитных грибов показали наличие различных универсальных компонентов, таких как флавоноиды,

алкалоиды, танины, сапонины, фенолы, которые являются богатым источником новых природных соединений.

### REFERENCES

1. Guo B., Wang Y., Sun X., Tang K. Bioactive natural products from endophytes. Appl. Biochem. Microbiol., 44(2):136-142.
2. 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.
3. Visweswari G, Christopher R, RajendraW. Phytochemical screening of active metabolites present in *WithaniaSomnifera* root:Role in traditional medicine. International Journal of Pharmaceutical Science and Research. 2013;4(7):2770-2776.
4. Oktay M, Guloin I, Kufrevioglu OI. Determination of in vitro antioxidant activity of fennel (*Foeniculum vulgare*) seed extracts. J LWT Food Science and Technology 2003;36:263-71.
5. Meir S, Kanner J, Akiri B, Hadar SP, J. Determination and involvement of aqueous reducing compounds in oxidative systems of various senescing leaves. J Food Chem 1995;43:1813-7.
6. Del-Rio ABG, Obdululio J, Casfillo FG, Masin A. Ortuno Uses and properties of citrus flavonoids. J Agric Food Chem 1997;45:4505-15.
7. Лекарственное растительное сырье. Фармакогнозия/ред. Г,П. Яковлев., К.Ф.Блинова. СПб., 2004. 765с.