UDK:546.562+547.288.3+544.175

PEGANUM HARMALA O'SIMLIGI TARKIBIDAGI ALKALOIDLARNI AJRATISH USULLARI

Xudoynazarova Gulbaxor Akiyevna
Buxoro davlat universiteti
Kimyo va neft-gaz texnologiyalari kafedrasi professori
https://doi.org/10.5281/zenodo.23001612

Annotatsiya. Ushbu maqolada Peganum harmala (isiriq) o'simligi tarkibidagi garmin, peganin, garmalin va boshqa alkaloidlarni ekstraksiya (suvli, spirtli) hamda xromatografik (kolonna, yupqa qatlamli) usullar yordamida ajratib olish yo'llari yoritilgan. Navoiy viloyati Konimex tumani Zafarobod shaharchasi hududida o'sadigan o'simlikning bargi, poyasi va urug'idan metanol va aseton yordamida olingan ekstraktlar spektral tahlil qilindi. Peganin alkaloidining biologik faolligi molekulyar doking usulida 6S5A oqsili bilan o'zaro ta'siri asosida nazariy jihatdan baholanib, bog'lanish energiyasi -7,5878 kkal/mol ekanligi aniqlandi. Natijalar peganinning CAR-J hujayralariga qarshi qo'llanilishi mumkinligini ko'rsatadi.
Tayanch so'zlar: Peganum harmala, isiriq, alkaloidlar, peganin, garmalin, ekstraksiya, xromatografiya, molekulyar doking, 6S5A oqsili, bog'lanish energiyasi.

Аннотация. В данной статье рассмотрены методы экстракции (водной, спиртовой) и хроматографии (колоночной, тонкослойной) для выделения алкалоидов — гармина, пеганина, гармалина и других — из растения Peganum harmala (гармала обыкновенная). Экстракты, полученные из листьев, стеблей и семян растения, произрастающего в окрестностях города Зафарабад Конимехского района Навоийской области, были подвергнуты спектральному анализу с использованием метанола и ацетона. Биологическая активность алкалоида пеганина теоретически оценена методом молекулярного докинга по его взаимодействию с белком 6S5A; энергия связывания составила -7,5878 ккал/моль. Полученные результаты указывают на возможность применения пеганина против клеток CAR-J.
Ключевые слова: Peganum harmala, гармала, алкалоиды, пеганин, гармалин, экстракция, хроматография, молекулярный докинг, белок 6S5A, энергия связывания.

Annotation. This article examines extraction (aqueous, alcoholic) and chromatographic (column, thin-layer) methods for isolating alkaloids — harmine, peganine, harmaline and others — from the plant Peganum harmala. Extracts obtained from the leaves, stems and seeds of the plant growing near the town of Zafarabad, Konimex district, Navoi region, were subjected to spectral analysis using methanol and acetone. The biological activity of the alkaloid peganine was theoretically evaluated by molecular docking with the 6S5A protein, giving a binding energy of -7.5878 kcal/mol. The results indicate the potential application of peganine against CAR-J cells.

Key words: Peganum harmala, alkaloids, peganine, harmaline, extraction, chromatography, molecular docking, 6S5A protein, binding energy.

Mustaqillik davrida barcha fanlar sohasida ta’lim-tarbiyaning yangicha, ilmiy va ilg‘or tizimi yaratilishi ta’minlab berildi. Natijada aniq fanlar sohasida ham g‘oyaviy negizini mustaqillik mafkurasi tashkil etgan ta’lim-tarbiya tizimini belgilab olishga imkon tug‘ildi. Xususan, yosh avlodning ma’naviy qobiliyatlarini har tomonlama rivojlantirishga va mustaqillik manfaatlariga bo‘ysundirishga qaratilgan qator tadbirlar va qonunlar bu ishga mustahkam poydevor yaratdi. [1,2]

Shu bilan bir qatorda tabiatning sirlarini to‘liq tushunish, uning sehrli xazinasini ochish uchun faqat bitta narsa zarur - yuqori bilim. Ilm-fan sohasida ilg‘or cho‘qqilarga erishayotgan yoshlar, ushbu xazinaning sirlarini ochish va undan foydalanish uchun to‘liq yetuk, rivojlangan va yuqori ma'lumotli insonlar bo‘lishi zarur. Mana shunday tabiat mo’jizalari bo’lmish isiriq o’simligi nabotot olamidagi minglab shifobaxsh o‘simlikdan biri bo‘lib, unda hech qanday g‘ayritabiiy tilsimot yo‘qligi, uning tarkibida shifobaxsh ta’sirga ega bo‘lgan moddalarning majmuasi borligi muhim amaliy ahamiyatga ega. Isiriq tarkibida asosan garmin, peganin, vazitsin, garman, dezosipeganin va boshqa alkaloidlar turli yog' va oshlovchi moddalar mavjud, bundan tashqari o'simlik urug'idan jun, gazlama va shoyilar uchun bo‘yoq va boshqa moddalar ham olinadi. O'simlik bargi va urug'ida alkaloidlar nisbatan ko'p. Isiriqning barcha qismlari dorivor, shuning uchun davolash maqsadida o'simlikning deyarli barcha qismidan foydalaniladi[2,3].

O‘simliklar tarkibidagi alkaloidlar miqdori ularning o‘sish davriga qarab o‘zgarishi haqidagi ma’lumotlar taniqli olim akademik S.Yu.Yunusov aytgan qonuniyat isiriqda alkaloidlar to‘planish dinamikasini o‘rganish asosida yana bir marta tasdiqlandi. Chunki isiriqdagi alkaloidlar miqdori ham boshqa o‘simliklardagi kabi unish, o‘sish, rivojlanish bilan bog‘liq bo‘lib, o‘simlik g‘unchalar hosil qilganda eng yuqori, o‘simlik quriy boshlaganda esa juda oz miqdorda bo‘lishi ahiqlangan.

Shuni ta’kidlash kerakki, isiriq (ko‘karib o‘sa boshlaganda) 5-10 sm bo‘lgan paytda alkaloidlar miqdori 2,17%ni tashkil qilgan bo‘lsa, g‘unchalay boshlaganda 2%, gullash davrida esa 1,95%, gullash va urug‘lash paytida esa 1,3% dan ortmaydi, ildizida 3,3%gasa, poyasida 3,45% gacha, bargida 4,95% va urug‘ida 6,60% gacha alkaloidlr borligi qayd qilingan. O‘simlik quriy boshlaganda esa alkaloidlar miqdori hatto 0,5% ga tushib qoladi. isiriqning pishgan mevalarida alkaloidlar miqdori 5% atrofida bo‘lib, asosan garmin, garmalin va peganindan iboratdir.

Alkaloidlar miqdorining o‘zgarishi o‘simlikning o‘sib rivojlanishi bilangina cheklab qolmay, balki qaerda o‘sishiga ham bog‘liqdir. Masalan, Sirdaryo oblastida o‘sadigan isiriqdagi peganin miqdori Buxoro oblastida o‘sadigan o‘simlikdagi peganinga qaraganda 5 baravar ko’p ekanligi aniqlandi, bu kabi sifat va miqdoriy o‘zgarishlar hatto o‘simlikning qaysi qismini tekshirishga bog‘liq. Olimlar bergan ma’lumotga qaraganda isiriq yer ustki qimidan peganin, pegatsionin, dezoksivozin, dezoksipeganin, garmin, pegamin olingan bo‘lsa, ildizidan esa faqat garmin alkaloidi ajratib olingan.

Isiriqda alkaloidlardan tashqari moy, bo‘yoq moddalar ham bor. Qozig‘iston respublikasining Fanlar akademiyasining akademigi N.V.Pavlov ma’lumotiga ko‘ra o‘simlik tanasida 5,7% suv, 18% klechatka, 24% quruq protein, 3,7% o‘simlik yog‘i, 30,7% azotsiz ekstrativ moddalar borligi aniqlangan. Urug‘idan esa alkaloidlardan tashqari 14 -25% bo‘yoq, qizil - jigar rang tusdagi o‘simlik moyi olingan.

Peganum harmala (isiriq) o‘simligi tarkibidan galmol va garmalin alkaloidlari ekstraksiya va xromatografik usullari orqali ajralib olingan.

Ekstraksiya usullari

Suvli ekstraksiya: Peganum harmala rastanasining quritilgan xasillaridan suv yoki spirt bilan ekstraksiya qilinadi. Bunda alkaloidlar (masalan, garmalin va galmol) olish uchun organik erituvchilardan foydalaniladi. Bu usulda o‘simlikning maydalangan qismi erituvchi moddada tarqalib, ularning konsentratlari olinadi.

Spirtli ekstraksiya: Spirt (masalan, etanol) yoki metanol bilan ekstraksiya usuli qo‘llaniladi. Spirtli erituvchilarda garmalin va galmolni ajratish samarali. Bu usulda organik molekulalar spirtda eritiladi, keyin esa erituvchi vakuum yoki yo‘qotish orqali yig‘iladi.

Kolonna xromatografiyasi

Peganum harmala o‘simligining ekstraktlarini kolonna xromatografik metod bilan ajratish mumkin. Bu usulda o‘simlikning kimyoviy komponentlari fazalar o‘rtasida bir-biridan ajratiladi. Kolonnada turli xromatografik fazalar (masalan, silikagel, alyuminiy oksid) ishlatiladi, va bu tartibda garmalin va galmol olish imkonini beradi.

Yupqa qatlamli xromatografiyasi

Yupqa qatlamli xromatografiya — kichik miqdordagi garmalin va galmolni tez ajratish uchun ishlatiladigan usul bo’lib, bunda tezkor va samarali ajratish amalga oshirilganligi tadqiqotlar uchun muhimdir.

Galmol va garmalin alkaloidlari ham 20-asrdagi organik kimyo va farmakologiya sohasidagi tadqiqotlar natijasida aniqlangan va ularning tibbiy ahamiyati ham tadqiqotlarda ma’lum qilingan.

Xromatografiya (xromo... va ...grafiya) — gaz, suyuklik yoki erigan moddalar aralashmasini adsorbsion usulda ajratish va analiz qilish. Xromatografiya rus botanigi M.S.Svet tomonidan 1903-yilda kashf etilgan. 1931-yilda Kun va uning shogirdlari xromatografiya yordamida tuxum sarig‘idagi ksantofil, lutein va zeaksantin moddalari ajratishdi. 1941-yilda A.Martin va R.Sing taqsimlash xromatografiyasiga asos soldi va oqsil, uglerod birikmalarini o‘rganishda uning keng imkoniyatlarini ko‘rsatib berdi. 1940—45 yillarda S.Mur va U.Staynlar aminokislotalarni xromatografiya usulida ajratish va miqdoriy analiz qilishga katta xissa qo‘shdi. 1950-yilda Martin va Jeyms gaz suyuklik xromatografiyasi usulini ishlab chiqdi.

Xromatografiya olib borilayotgan muxitga qarab gaz, gazsuyuqlik va suyuklik xromatografiyalariga, moddalarni ajratish mexanizmiga qarab molekulyar (adsorbsion), ion almashtirgich, cho‘ktirish va taqsimlash xromatografiyalariga, olib borilayotgan jarayon shakliga qarab kolonkali, naychali (kapillyar), qog‘ozli va yupqa qatlamli xromatografiyalargabo‘linadi. Adsorbsion xromatografiya — moddalarning adsorbentda turlicha sorbsiyalanishi (yutilishi)ga asoslangan; taqsimlash xromatografiyasi — aralashma tarkibiy qismi (komponentlari)ning qo‘zg‘almas faza (g‘ovak sathli qattiq modda yuzasiga o‘rnatilgan yuqori trada qaynaydigan suyuq modda) va elyuyentlarda turlicha erishiga; ion almashtirgich xromatografiya - harakatsiz faza (ionit) va ajraluvchi aralashma komponentlari orasidagi ion almashtirish muvozanati konstantalar farqiga; cho‘ktirish xromatografiyasi esa ajratiluvchi komponentlarning qattiq qo‘zg‘almas faza ustida turlicha cho‘kmaga cho‘kishiga asoslangan.

Isiriq o‘ti sassiq va zaharli bo‘lganligidan uni odatda jonivorlar yemaydi. Yegan taddirda ham zaharlanish yuz beradi. Zaharlangan hayvonlar karaxt bo‘lish va oshqozon ichak sistemasining buzilishi kuzatiladi. Ayrim ma’lumotlarga ko‘ra, isiriq qurigandan keyin yaxshi yem-xashak bo‘ladi va hatto chorva mollarini semirtirishi ham mumkin.

Xulosa gilib aytganda ushbu o'simlik tabiat gavhari mo'jizalaridan hisoblanib, o'simlikning barcha qismi dorivorlik hususiyatiga ega bo'lib, xalq tabobati tibbiyot hamda farmaseftikada keng miqyosda foydalaniladi

Navoiy viloyati, Konimex tumani, Zafarabod shaxarchasi cho'llaridan o'sadigan Peganum harmala o'simligi tarkibidagi alkaloidlarni ajratib olish va tahlil qilish uchun sentyabr va oktyabr oylarida uning bargi, poyasi va urug'i terib, soyada quritilib natijalar olindi.



1-rasm. Maydalab olingan isiriq poyasi, bargi va urug'i metanolda eritildi va filtrlab olindi

Isiriqning bargi, urug'i va poyasidan olingan ekstraktlarni kristall tushgunicha tindirib qo'yildi. So'ngra hosil bo'lgan kristallarni methanol va asetonda GT SONIC asbobida eritilib, MIRasle 10 asbobida spektrlari olindi.

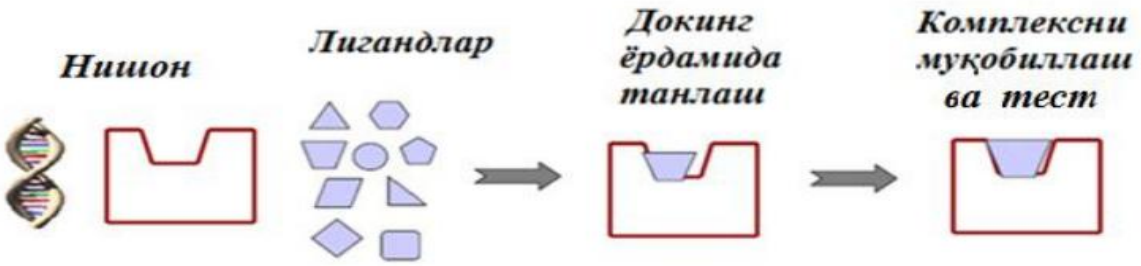
Akademik S.Yu.Yunusov tomonidan isiriqning rivojlanish davriga nisbatan uning yer ostki, ustki qismlarida va urug'ida to'planadigan alkaloidlar yig'indisining sifat va miqdor jihatidan o'zgarishini aniqlash bo'yicha ham bir qancha tadqiqot ishlari amalga oshirilgan. Bu esa akademik S.Yu.Yunusov tomonidan yaratilgan qonuniyatlar o'simlikdagi alkaloidlar summasi sifat va miqdor jihatidan o'simlik o'sadigan tuproq sharoitiga ham bog'liqligi hamda alkaloidlar yig'indisining eng ko'p miqdori o'simlikning tez o'sish va g'uncha tugish davriga;

– o'simlik tana qismidagi alkaloidlar yig'indisining eng kam miqdori vegetatsiya (o'sish) davrining oxiriga to'g'ri kelishini

– o'simlik tana qismining vegetatsiyasi tugallanishida alkaloidlar, asosan, isiriqning urug'i va ildizida to'planishini ko'rsatdi.

Peganum harmala tarkibidagi peganin alkaloidi miqdori tahlil etilib, uning biologic faolligi nazariy jihatdan molekulyar doking usulida o'rganildi.

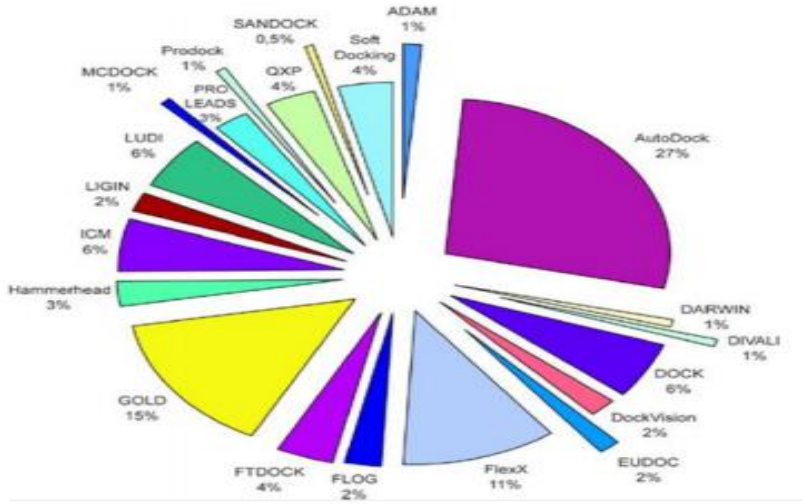
Molekulyar doking dasturlari oqsil-oqsil yoki kichik molekulalibirikmalarning (ligandlarning) oqsillar, retseptorlar yoki DNK bilan bog'lanishinibaholaydi (2-rasm).



2-rasm. Molekulyar doking dasturlarining ishlash tamoyillari.

Doking so‘zi inglizcha ―dock, docking‖ so‘zlaridan olingan bo‘lib, kemaning maxsus to‘xtash joyini (poronni) bildiradi. Bu nom ligand molekulalarining makromolekulaning maxsus qismiga, ya‘ni uning faolqismlariga (active, bindingsite) borib bog‘lanishidagi o‘xshashlik tufayli berilgan.

Molekulyar doking – yumshoq va qattiq doking qismlariga bo‘linadi. Qattiq dokingda makromolekula geometriyasini o‘zgartirmaydi, faqat ligand molekulasi geometriyasini o‘zgartiradi deb qaraladi. Yumshoq dokingda xuddi ligand molekulasi kabi makromolekula qismlarida geometriya o‘zgarishi hisobga olinadi. Molekulyar doking izlanishlari maxsus doking dasturlarda olib boriladi (3-rasm).

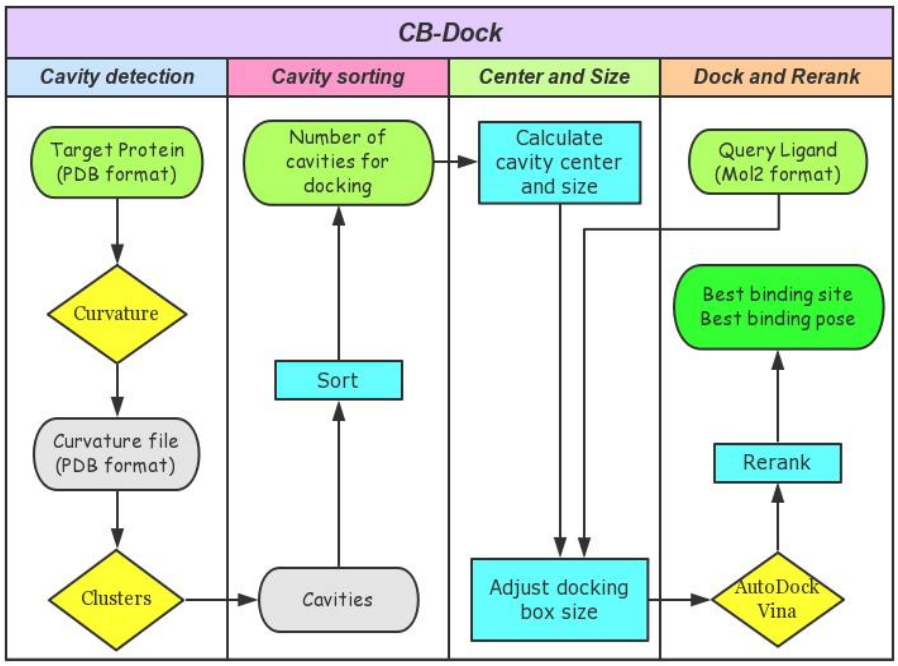


3-rasm. Molekulyar doking dasturlari va ularning qo‘llanilish foizlari.

Ushbu dasturlarda doking izlanishlarini olib borish uchun protein ma‘lumotlar bazasida (www.pdb.com) mavjud bo‘lgan RTT usuli yordamida o‘rganilgan makromolekula bo‘lishi shart. Makromolekula faol qismi tajriba ma‘lumotlariga suyangan holda aniqlanadi. Aniqlangan faol qism koordinatalari doking jarayonida ko‘rsatiladi va ligandlar bog‘lanish energiyasi (ΔG, kkal/mol) asosida baholanadi [4-6].

Doking dasturlarining afzallik tomoni shundaki, u ular yordamida hatto hali sintez qilinmagan, tasavvur qilingan har qanday strukturalarning ham ma‘lum bir makromolekulaga bog‘lanishini tekshirib ko‘rish mumkin [7,8]. Aniqroq qilib aytganda, millionlab strukturalarni skrining qilish natijasida ularning ichidan faol bo‘lishi mumkin bo‘lgan - lider birikmalarni tanlab olish mumkin. Bunday skrininglarni amalga oshirish uchun chet ellarda maxsus serverlar ochilgan. Ular yordamida o‘zingiz tanlagan makromolekulaga tanlangan ligandlarning bog‘lanishini tekshiribko‘rishingiz mumkin. Bu jarayon virtual skrining deyiladi [9]. Skrining natijalaritahlili bog‘lanish energiyasi (ΔG, kkal/mol) va u yordamida aniqlanadigan LE(ligand efficiency) kattaliklarini solishtirgan holda olib boriladi. LE vodoroddan tashqari har bir atom uchun bog‘lanish energiyasini ifodalaydi va quyidagichatopiladi: LE=-(ΔG)/N, bu yerda N – atomlar soni (H-dan tashqari).

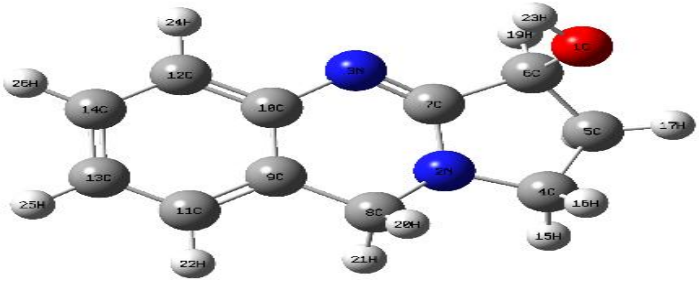
Molekulyar doking izlanishlari natijasida turli N,O,S,F – tutgan ligand molekulalarining makromolekula faol qismiga borib bog‘lanishi 70-80% aniqlikda topilmoqda [10,11].



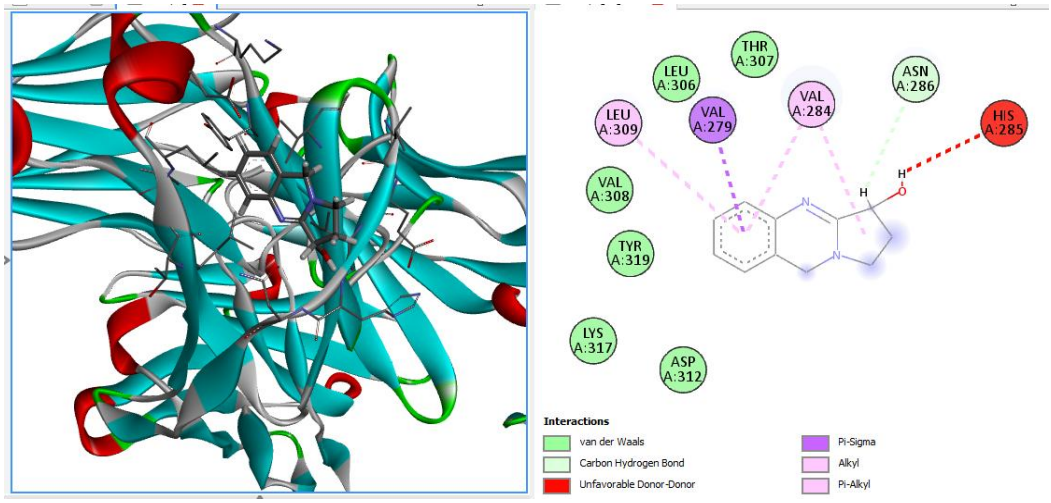
4-rasm. Ligandlarning molekulyar biriktirilishini amalga oshiradigan onlayn CB-Dock dasturining ish jarayoni

Oqsil-ligand birikmasi bog'lanish va ligandlarga o'xshashligini oldindan bilish uchun katta miqyosda foydalaniladi. Oqsil-ligand birikmasi (CADD) kompyuterda dori-darmon qidirishda kuchli vosita hisoblanadi (4-rasm). Hozirgi kunda oqsil-ligandlarni bog'lash uchun o'nlab tijoratlashtirilgan va akademik vositalari mavjud. Ko'pgina biriktiruvchi vositalar ligandning bog'lanish sohasi (ushbu sohadagi ligandning aylanishi va uzatilishi) uchun energetik holat nuqtai nazardan oldindan yaxshiroq izlash uchun talab etiladi. Bog'lanish sohasi odatda kubik blok shaklida ko'rsatiladi, shuning uchun uning o'lchami va markazi konfarmatsion tanlovlar uchun bo'shliqning chegaralarini aniqlab, aniq docking qilishda hal qiluvchi ahamiyat kasb etadi. Dasturning ko'plab maqolalarida bog'lanish sohalari keltirilmagan. Berilgan ligand va oqsilning orasida potensial ta'sirlashuvni aniqlash uchun, eng mumkin bo'lgan bog'lanish sohasini topish va oqsilning butun yuzasi bo'ylab docking qilish kerak bo'ladi. Ushbu jarayon bevosita doking deb ataladi.

Peganin va 6S5A oqsili o'zaro molekulyar dokingi natijasida alkaloid tarkibidagi 19H vodorod atomi va ASN 286A (H-A 2,79; 3,42; D-A 3,74; 3,87) hamda 1O kislorod atomi va HIS 285A (H-A 2,11; D-A 3,00)lar ta'sirlashuvi 160,25 va 109,95 hamda 149,56 Å valent burchak ostida o'zaro vodorod bog'lanishlarni hosil qilgan (5-6-rasmlar).



5-rasm.Peganin molekulasi tuzilishi



6-rasm. Peganinning 6S5A oqsilining faol saytida joylashishi va uning aminokislota qoldiqlari bilan o‘zaro ta‘siri

Olingan natijalar asosida Peganum harmala tarkibidagi alkaloidlar orasida ko‘p miqdoriy tarkibga ega bo‘lgan peganin 6S5A oqsiliga nisbatan biologic faollik ko‘rsatganligi (-7,5878kkal/mol) va ushbu alkaloidning esa imerik antigen retseptorlari (CAR) transduktsiyalangan Jurkat-NFAT-lusi ferazareportyor hujayralari (CAR-J)ga qarshi qo‘llash mumkinligini tasdiqlaydi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1.Ўзбекистон Республикасининг 2020 йил 24 июль «Инновацион фаолият тўғрисида» ги ЎРҚ-630-сонли Қонуни.

2. Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2020 йил 29 октябрь “Илм-фанни 2030 йилгача ривожлантириш концепциясини тасдиқлаш тўғрисида” ги ПФ-6097-сонли Фармони.

3.А. Хамидов, М.Набиев, Т.Одилов —Ўзбекистон ўсимликларининг шифобахш хусусиятлари. Тошкент. “Фан”.1993.976 б

4.Э.Валиева, М.Набиев. Исириқнинг сирли хислатлари. Тошкент “Мехнат” 1986й.

5.Zhang Q. et al. Anti-tumor alkaloids from Peganum harmala //Phytochemistry. – 2022. – Т. 197. – С. 113107.

6.Jalali A., Dabaghian F., Zarshenas M. M. Alkaloids of Peganum harmala: Anticancer biomarkers with promising outcomes //Current pharmaceutical design. – 2021. – Т. 27. – №. 2. – С. 185-196.

7.Sh, Ganiev Bakhtiyor. "Online molecular docking and analysis of biological activity of cyanuric acid derivatives." Universum: химия и биология 6-4 (96) (2022): 12-16.

8.Doskaliyev A. et al. Alkaloids of Peganum harmala L. and their Pharmacological Activity //Open Access Macedonian Journal of Medical Sciences. – 2021. – Т. 9. – №. A. – С. 766-775.

9.Ganiev B.Sh., Khudoynazarova G.A., Bakhodirova S.U. Dft analysis of peganin and deoxypeganine. Коллоидная химия: инновации и решения для химической технологии, экологии и промышленности. Международная научно-техническая конфиренция.Термиз. 2025 г.7-8 феврал. С.687-689

10.Bahodirova S.Y., Ganiyev B.Sh. Peganum harmala o’simligi tarkibidagi alkaloidlar va peganin molekulayr dokingi. Международный научный журнал «Научный Фокус» №19(100), часть2, ноябрь, 2024г.С.167-170

11. D.J. Bekchanov, R.A. Eshchanov, A.X. Xaitbayev, A.G. Eshimbetov. Kompyuter kimyo. o‘quv qo‘llanma. Toshkent. 2020. 176 b.