



UDK: 1032(743)

Fayyoz XURRAMOVA,
Bioorganik kimyo instituti tayanch doktoranti
E-mail-khurramova1988@mail.ru,
Rejepov Quralbay Jadigerovich Bioorganik kimyo instituti katta ilmiy xodimi, k.f.n

Bioorganik kimyo instituti professori, kimyo fanlari doktori A.Matchanov taqrizi asosida

SUPRAMOLECULAR COMPLEX BASED ON NATURAL TRITERPENOIDS

Annotation

In this work, water-soluble supramolecular complexes of glycyrrhizic acid (GK) and glycyrrhizic acid monoammonium salt (MASGA) with different molar ratios were obtained with some anti-tuberculosis drugs.

Key words: Glycyrrhizic acid, monoammonium salt glycyrrhizic acid, supramolecular complex, immunomodulatory, acute toxicity.

СУПРАМОЛЕКУЛЯРНЫЙ КОМПЛЕКС НА ОСНОВЕ ПРИРОДНЫХ ТРИТЕРПЕНОИДОВ

Аннотация

В данной работе приводятся данные по получению водорастворимых супрамолекулярных комплексов глицирризиновой кислоты (ГК) и моноаммонийной соли глицирризиновой кислоты (МАСГК) с противотуберкулезными препаратами в различных молярных соотношениях.

Ключевые слова: Глицирризиновая кислота, моноаммониевая соль глицирризиновой кислоты, супрамолекулярный комплекс, иммуномодулятор, острая токсичность.

TABIYI TRITERPENOIDLAR ASOSIDA SUPRAMOLEKULAR KOMPLEKSLAR

Annotatsiya

Ushbu maqolada sil kasalligiga qarshi ishlatiladigan dori vositalari substansiyalari bilan glitsirizin kislotasi (GK) va glitsirizin kislotasi monoammoniyli tuzi (GKMAT)ning turli xil molyar nisbatlardagi suvda eruvchan supramolekular komplekslari olindi.

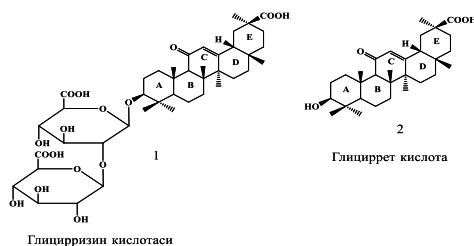
Kalit so'zlar: Glitsirizin kislotasi, glitsirizin kislotasi monoammoniyli tuzi, supramolekular kompleks, sil, immunomodulyatorlik, o'tkir zaharlilik.

Kirish. Hozirgi kunda sil kasalligi aholi salomatligini tashvishga soladigan eng keng tarqalgan yuqumli kasalliklardan biri hisoblanadi. JSSTning 2022 yildagi ma'lumotlariga ko'ra dunyo aholisining 1/3 qismi faol bo'lmagan sil kasalligi bilan kasallangan hamda dunyo bo'yicha bu kasallik o'limning to'qqizinchi asosiy sababchisidir. Sil kasalligida qo'llaniladigan dorilarning ko'pchiligi sintetik dori vositalari va ularning organizm uchun ma'lum darajada nojo'ya ta'sirlari bor. Shuning uchun sintetik dori vositalarining salbiy holatlarini yo'qotish maqsadida o'simliklardan ajratib olingan biologik faol moddalar bilan modifikatsiya qilish orqali ularni suvda eruvchan holatga olib kelish, ta'sirchanligini oshirish, zaharligining kamaytirish va ularga sinergetik xususiyat berish imkoniyatlarini izlab topish dolzarb mavzulardan hisoblanadi.

Mavzuga doir adabiyotlar tahlili. Sil kasalligi – bu sil mikobakteriyalarini havo-tomchi yo'li orqali organizmga kirib borishi bilan rivojlanuvchi yuqumli kasallikdir [1]. Sil bakteriyasining hujayra yuzasida asosan, mikolik kislotasi mavjudligi sababli noodatiy mumsimon qoplamaga ega ekanligi aniqlangan [2]. 25% hollarda bakteriya qon oqimiga kirib, limfa tizimi, siydik-jinsiy yo'l, suyaklar, bo'g'imlarga ta'sir qilishi mumkin (Rivers va Mancera, 2008). Mycobacterium tuberculosis faol shaklda patogendir, lekin u immunitet tizimining reaksiyasini oldini olish uchun asosan xost ichida yashirin patogen bo'lmagan, ya'ni faol bo'lmagan shaklda yashirinadi. Faol bo'lmagan shakl granulomalarining rivojlanishi bilan bog'liq. Faol shaklga o'tishi esa mezbora immunitet himoyasining zaiflanishi bilan bog'liq (Dusati va boshq., 2006). Sil kasalligining yashirin infeksiyasi odatda bitta antibiotik bilan davolanadi. Biroq bakteriyalarning antibiotiklarga chidamliligi xavfini kamaytirish uchun faol sil kasalligini davolashda bir nechta antibiotiklarning kombinatsiyasi qo'llaniladi. Sil kasalligiga qarshi dorilarni doimiy ravishda qabul qilish jiddiy yon ta'sirlarga olib keladi. Masalan, izoniazid va pirazinamidni ortiqcha qabul qilish jigar yetishmovchiligini keltirib chiqaradi, bu esa izoniazid almashinuvi jarayonida gidrazinning ortiqcha hosil bo'lishi tufayli o'limga olib keladi. Etambutoldan doimiy foydalanish oftalmik muammolarni keltirib chiqaradi [3].

Sil kasalligini davolash 6-8 oygacha bo'lgan vaqt oralig'ida antibiotiklar kombinatsiyasini qabul qilish bilan kechadi. Sil kasalligida qo'llaniladigan birinchi toifali dorilar – izoniazid (INH), rifampitsin (RIF), pirazinamid (PZA) va etambutolgidroxlarid (EMB)dir. Agar bakteriya shtampi bu dorilarga chidamli bo'lib qolsa, ikkinchi qatorli dorilar qo'llaniladi. Bularga streptomitsin, kanamitsin, florxinolonlar, etionamid va paraaminosalitsil kislotasi kiradi. Odatda ikkinchi darajali dorilar birinchi darajali dorilarga qaraganda samarasi past va toksikligi yuqoriroqdir [4].

Hozirgi kunda ko'plab farmakologik faol dori vositalari tabiiy resurslardan ya'ni, dorivor o'simliklardan olinayotganligi barchamizga ma'lum. Dorivor o'simliklar inson va jamiyat salomatligi uchun katta ahamiyatga ega. Ana shunday o'simliklardan biri shirinmiya (Glycyrrhiza glabra) o'simligidir. Bu shifobaxsh o'simlik juda qadim zamonlardan ma'lum. Shirinmiya o'simligi ildizi tarkibidagi asosiy biologik faollikni beradigan triterpenoidlar bu – Glitsirizin kislotasi (18 β -Glycyrrhetic acid-GA) va Glitsirret kislotasi (Glycyrrhizin-GI), ko'plab farmakologik xususiyatlarga ega. Masalan, viruslarga, yallig'lanishga, o'sma kasalliklariga, bakteriyalarga qarshiligi va hattoki, sil kasalligini davolashi mumkinligi adabiyotlarda keltirilgan [5,6].

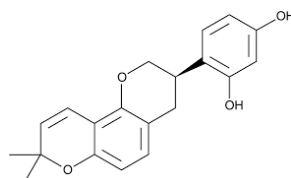


erimaydigan yoki umuman erimaydigan ko'pgina dori vositalari GK va uning tuzlari ishtirokida suvda eruvchan holatga o'tishi ko'rsatilgan.

So'ngi tadqiqotlar shuni ko'rsatadiki, GlKning C-30 holatidagi modifikatsiyalangan GlK va uning piperazin analogi izoniazid, rifampitsin va streptomitsin bilan birgalikda sil kasalligiga qarshi samarali vosita bo'lishi mumkin. GlKning ushbu dori vositalari bilan modifikatsiyalari *Mycobacterium bovis* ga qarshi faollikni namoyon etgan [7]. YAMR-spektroskopiya metodi orqali, GK ni sil kasalligiga qarshi tubazid va ftivazid moddalari bilan kompleks hosil qilish mexanizmi o'rganilgan. Tubazid va ftivazid GK bilan donor-akseptor bog'lari orqali bog'langanligi aniqlangan. Bu yerda elektron juftlari donor o'rinda, azotning pirimidin halqasi ishtirok etishi ko'rsatilgan. α -protonlar signallarining kengayishi azot atomining GK uglevod qismi bilan o'zaro molekulararo vodorod bog'i orqali bog'lanishi aniqlangan [8].

Shunday qilib, adabiyotlar tahlilidan shuni ko'rish mumkinki, ushbu ajoyib birikmalarni qo'llanilish sohaslarini kengaytirish, GK va GKMAT asosida yangi preparatlarni ishlab chiqarish va yana ma'lum bo'lgan dorivor vositalarni GK va uning hosilalari yordamida modifikatsiyalash va ularni biologik faolligini o'rganish zarurligini ko'rsatmoqda.

Sil kasalligiga qarshi qo'llaniladigan dorilarning zararli yon ta'sirlari va uzoq davom etishi silga qarshi kurashish muommosini yanada murakkablashtiradi. Friis-Moller va boshqalar (2002) Xitoyda o'suvchi shirinmiya o'simligi ildizlaridan ajratilgan flavonoidlar – likoxalkonlar bir nechta sil kasalligi turlariga *M. bovis*, *M. tuberculosis*, *M. kanasii* va *M. marinum* turlariga qarshi faollik ko'rsatganligini ta'kidlaydilar [9]. Gupta va boshqalar (2008) *Glycyrrhiza glabra* tarkibida mavjud bo'lgan asosiy flavonoid – glabridinning 1,3 holatlarida ikkita fenol guruhi borligi sababli mikroblarga qarshilik ko'rsatish mumkinligi haqida ma'lumot bergan.



Ularning tadqiqodi shirinmiya ildizi tarkibidagi - glabridinning *M. Tuberculosis* ga qarshi faolligini o'rganishga qaratilgan edi. Biologik faollikni nazorat qilish bilan fitokimyoviy tahlillar shuni ko'rsatdiki, glabridin 29,16 g/ml konsentratsiyada *Mycobacterium tuberculosis* ning H37Ra va H37Rv shtamplariga gram-musbat va gram-manfiy bakteriyalariga qarshi faollik ko'rsatgan [10].

Foydali birikmalarga boy bo'lgan shirinmiya ildizidan samarali foydalanish maqsadida yana bir guruh olimlar tomonidan shirinmiyaning atsetonli ekstraktini in vitro usullar orqali sil kasalligiga qarshi faolligini o'rgandilar. Ekstraktining in vitro faolligi Resazurin Microtiter Plate Assay (REMA) usuli va koloniyalarni hisoblash usuli bilan sinovdan o'tkazilgan. Sil kasalligiga qarshi faollikni qo'shimcha baholash uchun model sifatida inson makrofagi U937 hujayra liniyalari tanlangan, chunki *Mycobacterium tuberculosis* asosan infeksiyaning dastlabki bosqichlarida makrofaglar ichida joylashgan bo'ladi [11].

Glitsirritsin kislotasi (18- β GK) ma'lum faollikka ega bo'lgan shirinmiya ildizi tarkibidagi asosiy biologik komponentdir. Tadqiqotlarga ko'ra 18- β GKning piperazin bilan olingan kompleksi *Mycobacterium bovis*ga qarshi kuchli antimikobakterial xususiyatlarga ega ekanligi aniqlangan. Muhimi shundaki, 18 β GK bilan dorilarga chidamli shtamlarga qarshi birinchi qator dori vositalari izoniazid (INH), rifampitsin (RIF) va streptomitsin (SM)lar bilan sinergetik ta'sir ko'rsatgan [12].

Tadqiqot metodologiyasi. Tadqiqot ob'ekti shirinmiya o'simligi tarkibidagi asosiy triterpenodlar (GK va GKMAT) hamda sil kasalligiga qarshi qo'llaniladigan dori vositalari substansiyalari olingan.

Buning uchun GKni 96%li etil spirtida eritib olindi va intensiv aralashtirilib turilgan holda preparatlarni substansiyalari etanolga 10% li eritmasi va ustiga 1:1 nisbatga yetguncha distillangan suvdan hamda tegishli dori vositalari substansiyalari qo'shildi. Reaksiyon aralashma 5-6 soat davomida aralashtirilib turildi va organik qism rotorli haydagichda haydab olindi, suvli qoldiq esa liofil usulda quritib olindi. O'rtacha unum 87-95% tashkil qildi.

GKM-PI (4:2:1) molekular kompleksini olish; Dastlab 200 ml tubi yassi kolbaga 3,292 gr (4 mmol) GKMAT ni solib 50 ml etanolga to'liq eritildi va unga 0,246 gr (2 mmol) pirazinamid hamda 0,137 gr (1 mmol) izoniazid preparatlari substansiyalari qo'shildi, so'ngra magnit aralashtirgichda intensiv aralashtirilgan holda 50 ml suv qo'shib xona haroratida 5-6 soat aralashtirildi. So'ngra rotorli bug'latgichda 500S haroratda spirtli qism haydab olindi va suvli qism suyuq azot muhitida muzlatib liofil uskunasi yordamida quritib olindi. Olingan modda och sariq rangli kukunsimon. T.suyuq.(parch) 175-1800S. UB, λ_{max} , nm(lge) 260(5.01), IQ spektr; (ON)=3318, ν (SN, SN2, SN3)=2925, ν (S11=O, C=C)=1657, ν (SOO-)=1593, δ (SN2, SN3)=1456, 1417, δ (NH4+)=1366, δ (SN)=1212, 1169, δ (S-O-S, S-ON)=1043, δ (=CH)=981.

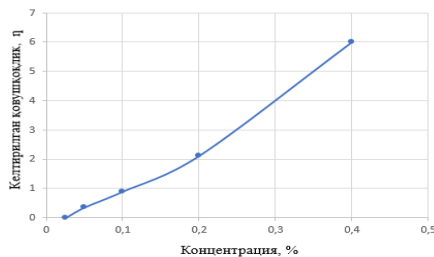
Yuqoridagi usul asosida GK va GKMATlarning sil kasalligiga qarshi ishlatiladigan dori preparatlari substansiyalari bilan tkrlri xil nisbatda supramolekular komplekslari olindi.

Tahlil va natijalar. Glitsirritsin kislotasi (GK) va glitsirritsin kislotasi monoammoniyli tuzi (GKMAT)ning sil kasalligiga qarshi qo'llaniladigan dori vositalari substansiyalari bilan supramolekular komplekslari olindi. Olingan kompleksning ba'zi fizik-kimyoviy kattaliklari suyuqlanish haroratlari, eruvchanligi aniqlandi. Yupqa qatlamli xromatografiya uchun sistemalar tanlanib, moddaning Rf qiymatlari hisoblandi. Gidrodinamik xususiyatlari o'rganildi hamda komplekslarning UB va IQ spektrlari olindi va natijalari tahlil qilindi. Olingan komplekslarning kukunli difraktometriya usuli asosida kristallik va amorflik darajasi aniqlandi. Olingan natijalar 1-jadvalda keltirilgan.

1-jadval. Olingan supramolekular komplekslarning ayrim fizik-kimyoviy kattaliklari

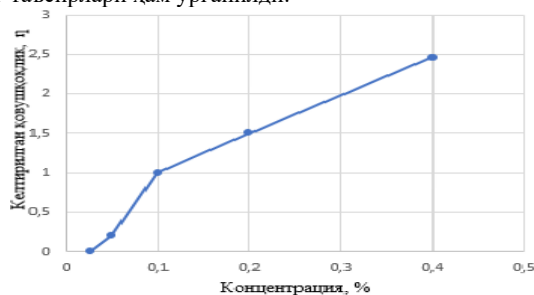
Комплекслар	Мол нисбати	R _f киймати	Т.с., °C (парч)	УБ, λ _{max} , нм(lge)	Кристаллик ва аморфлик даражаси %
ГК-ПИ	4:2:1	0,51	187-189	260 (5,02)	13,03 86,97
ГКМ-ИЛПР	6:0,5:1,5:2:1	0,54	175-180	259 (5,15)	9,80 90,20
ГКМ-ИРПЭ	6:1:2:5:3,9	0,46	160-165	226 (4,06)	8,36 91,64
ГКМ-ИЭ	4:1:2	0,52	180-185	262 (4,90)	14,63 85,37
ГК-ИРПЭ	6:1:2:5:3,9	0,48	155-160	265 (5,23)	9,14 90,86

Olingan komplekslarning gidrodinamik xususiyatlarini tadqiq qilish maqsadida GK va GKMAT asosida olingan komplekslarning qovushqoqliklari o'rganildi. Dastlabki GKMAT asosida olingan kompleksning keltirilgan qovushqoqligini konsentratsiyaga bog'liqligi o'rganildi. Keltirilgan qovushqoqlik konsentratsiya oshishi bilan ortib borishi kuzatildi.



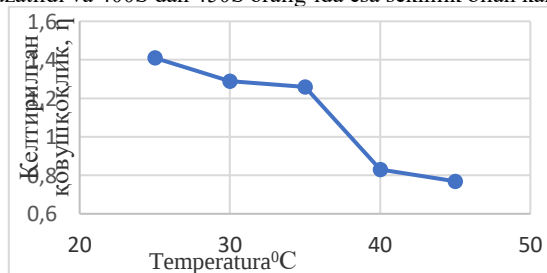
1-расм. ГКМ-ПИ 4:2:1 нисбатда олинган комплекснинг сувли эритмаси келтирилган қовушқоқлигининг концентрацияга боғлиқлиги (25°C)

Комплекс бирикмаларнинг қовушқоқлигига муҳит мочеvина (молекулараро водород боғларни парчаловчи) ва ксилоза (системадаги гидрофоб таъсирлашувни экранловчи) ҳамда KCl (электролит) эритмаларидаги қовушқоқликлари ҳамда ҳароратнинг таъсирлари ҳам ўрганилди.



2-расм. 0,01M мочеvина муhitida GK-M-PI 4:2:1 нисбатда олинган комплекснинг келтирилган қовушқоқлигини консентратсияга боғ'лиқ egри chизиг'и (25 °C)

Olingan komplekslarning 0,1% li suvli eritmasi qovushqoqligining haroratga bog'liqligi o'rganildi. Bunda 250Sdan 350S harorat oralig'ida kompleksning keltirilgan qovushqoqligi kamaydi, 350S dan 400S gacha bo'lgan oralig'ida keltirilgan qovushqoqlik keskin kamayib borishi kuzatildi va 400S dan 450S oralig'ida esa sekinlik bilan kamayib bordi.



3-расм. GK-M-PI 4:2:1 нисбатда олинган комплекснинг сувли eritmasi келтирилган қовушқоқлигининг haroratga boғ'liqlik egри chизиг'и.

Odatda moddalarning qovushqoqligi polimer moddalariga xos bo'lib, bu holat ularning bo'kishi hisobiga sodir bo'ladi. Lekin, suramolekular komplekslar quyimolekular moddalardir. Bundan shuni xulosa qilish mumkinki: kompleks hosil bo'lishida odatdagi ta'sirlashuvlardan boshqa kuchlar ham bor ularga ma'lum harorat berilganda hosil bo'lib, harorat ortganda esa o'zgarishi mumkin. Bu xuddi molekularlar o'rtasidagi "oriyentatsion ta'sir"ga o'xshaydi. Issiqlik ta'sirida molekulaning qutbli qismlaridagi zaryadlar qisman oshadi, natijada qarama-qarshi zaryadlar bir-biridan itarilishi hisobiga mitsellaning hajmi kattalashadi, oquvchanlik kamayib, qovushqoqlik esa ortishi mumkin.

Olingan komplekslarning biologik faolligi o'rganildi. Barcha tadqiqotlar kamida 10-14 kun karantinda bo'lgan sog'lom hayvonlarda o'tkazildi. O'tkir zaharlanishni o'rganish umumiy qabul qilingan usul bo'yicha 18-22 g og'irlikdagi oq sichqonlarda (har ikkala jinsda) o'tkazildi, har bir guruhda 6 ta hayvon (oltita tajriba va bitta buzilmagan guruh), jami 42 ta hayvon ishlatilgan. Eksperimental hayvonlarning o'limi natijalariga asoslanib, biz sinovdan o'tgan preparatning LD50 aniqladik.

GK-IRPE preparatning o'tkir toksikligi ko'rsatkichlarini o'rganish natijalari: LD50=6600(3882÷11220)mg/kg. GK-IRPE preparatning o'tkir zaharliligi ko'rsatkichlarini o'rganish natijalari: LD50=4050(3375÷4860) mg/kg.

Xulosa va takliflar.

1. Birinchi bor GK bilan sil kasalligiga qarshi qo'llaniladigan dori vositalari asosida turli xil molyar nisbatlardagi suvda eruvchan supramolekular kompleks birikmalari olindi.
2. Olingan kompleks birikmalarning fizik-kimyoviy xususiyatlari va kimyoviy tuzilishi, hamda hosil bo'lishida ishtirok etadigan bog'larning tabiati optik spektroskopiya usullari asosida tahlil qilindi.
3. GK-IRPE (GK) va GKM-ILPR (GKMAT) preparatlarining o'tkir toksikligi va immunomodulyator faolligi bo'yicha klinikadan oldingi tadqiqotlar o'tkazildi. Preparatning o'tkir toksikligini o'rganish natijasida GK-IRPE (GK) sinov preparati juda zararsiz ekanligi aniqlandi, chunki preparat "Amalda zaharli bo'lmagan" beshinchi toksiklik sinfiga tegishli. Preparatning o'tkir toksikligini o'rganish natijasida GKM-ILPR (GKMAT) sinovdan o'tgan preparatning yuqori xavfsizligi aniqlandi, chunki preparat "Past toksiklik" to'rtinchi toksiklik sinfiga tegishli.
4. Immunomodulyatorlik faollikni o'rganish natijalariga ko'ra, GK-IRPE (GK) preparati va GKM-ILPR (GKMAT) preparati immunomodulyator faollikka ega va immunomodulyator sifatida o'rganish uchun istiqbolli ekanligi aniqlandi.

АДАБИЁТЛАР

1. Hawn T.R, Day TA, Scriba TJ, Hatherill M, Hanekom WA, Evans TG, Churchyard GJ, Kublin JG, Bekker LG, Self SG. Tuberculosis vaccines and prevention of infection. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 2014; 78 (4): 650-671.
2. Ryan KJ, Ray CG. *Mycobacteria*. Sherris Medical Microbiology: An Introduction to Infectious Diseases. New York. 2004; 439.
3. Birhanu Mekassa, Priscilla G.L. Baker, Bhagwan Singh Chandravanshi, Merid Tessema. Sensitive electrochemical determination of ethambutol in pharmaceutical formulation and human urine at nicel nanoparticles / electrochemically reduced graphene oxide modified electrode. *Chemical Society of Ethiopia and The Authors*. 2019, 33 (2), 215-228.
4. Current Overview of Anti-Tuberculosis Drugs: Metabolism and Toxicities. *Mycobacterial Diseases* Susmita S., Advaita G., Hoon S. 2016, 6:2.
5. Baltina L.A. Chemical modification of glycyrrhizic acid as a route to new bioactive compounds for medicine. *Current Medicinal Chemistry*. 2003. -V.10.-P.155-171.
6. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Гранкина В.П., Кондратенко Р.М., Толстикова Т.Г. Солодка: Биоразнообразие, химия, применение в медицине. Новосибирск: Гео. – 2007. – 311 с.
7. Zhou X. et al.: Antimycobacterial and Synergistic Effects of 18 β -Glycyrrhetic Acid or Glycyrrhetic acid-30-piperazine in Combination with Isoniazid, Rifampicin or Streptomycin against *Mycobacterium bovis*. *Phytother. Res.*, 26, 253, 2012.
8. Хисамутдинов Э.Ф. Изучение механизма комплексообразования глицирризиновой кислоты с противотуберкулезными препаратами: тубазид и фтивазид методами спектроскопии ЯМР //Вып. работа. – Ташкент. 2005.
9. Friis-Moller A, Chen M, Fuursted K, Christensen SB, Kharazami A. In vitro antimycobacterial and antileishman activity of licochalcone A from Chinese licorice roots. *Planta Med*. 2002, 68 (5): 416-419.
10. Gupta VK, Atiya F, Faridi U, Negi AS, Shanker K, Kumar JK, Rahuja N, Lugman S, Sisodia BS, Saikia D, Darorkan MP, Khanuja SP. Antimicrobial potential of *Glycyrrhiza glabra* roots. *J Ethnopharmacol* 2008, 116 (2): 377-380.
11. Smith I. *Mycobacterium tuberculosis* pathogenesis and molecular determinants of virulence. *Clin Microbiol Rev*. 2003; 16(3): 463-496.
12. Xuezhong Zhou, Li Zhao, Xiaoming Liu, Xueqiang Li, Fang Jia, Yuyan Zhang and Yujiong Wang. Antimycobacterial and Synergistic Effects of 18 β -Glycyrrhetic Acid or Glycyrrhetic acid-30-piperazine in Combination with Isoniazid, Rifampicin or Streptomycin against *Mycobacterium bovis*. *Phytotherapy research*. 26: 253–258. 8 June 2011.