



**The Effect of Flavonoids on Pyruvate Carboxylase Enzyme Activity:
An In Vitro and In Silico Approach**

Azimova Dilafroz Furkat qizi

Azimova Baxtigul Jovli qizi

Tulyaganov Rustam Tursunovich

Tashkent Pharmaceutical Institute

ABSTRACT. Pyruvate carboxylase (PC), the enzyme responsible for catalyzing oxaloacetate synthesis, serves as a central regulator of gluconeogenesis and lipogenesis, with its hyperactivity playing a fundamental role in the pathogenesis of type 2 diabetes. This study aims to quantitatively and thermodynamically evaluate the modulatory effects of polyphenol-derived bioactive compounds—specifically flavonoids like quercetin and rutin—on the catalytic activity of the PC enzyme. By integrating in vitro spectrophotometric assays with in silico molecular docking techniques, the binding kinetics of flavonoids to the enzyme's allosteric domain were thoroughly investigated. Empirical data obtained within the scope of the research proved that quercetin and its derivatives competitively inhibit the ATP-dependent carboxylation phase. During the formation of the substrate-enzyme complex, the quercetin molecule was noted to significantly reduce catalytic efficiency. The dynamics of the obtained results provide a molecular foundation for the development of next-generation pharmacotherapeutic agents based on plant-derived flavonoids, designed to correct carbohydrate metabolism disorders and block excessive glucose production in hepatocytes.

KEYWORDS: Pyruvate carboxylase, flavonoids, gluconeogenesis, enzymological kinetics, quercetin, molecular docking, inhibitor.

ANNOTATSIYA. Oksaloatsetat sintezini katalizlovchi piruvat karboksilaza (PK) fermenti glyukoneogenez va lipogenez jarayonlarining markaziy regulyatori hisoblanib,



**“SOG’LIQNI SAQLASHDA YANGI YONDASHUVLAR”
nomli respublika ilmiy-amaliy masofaviy konferensiyasi
VOLUME-1, ISSUE-1, 2026**

uning giperaktivligi 2-tip qandli diabet patogenezida fundamental rol o'ynaydi. Mazkur tadqiqot polifenol tabiatli bioaktiv moddalar — flavonoidlarning (xususan, kversetin va rutin) PK fermenti katalitik faolligiga modulyatorlik ta'sirini miqdoriy hamda termodinamik jihatdan baholashga qaratilgan. In vitro sharoitida o'tkazilgan spektrofotometrik tahlil va in silico molekulyar dokking usullarini integratsiyalash orqali flavonoidlarning fermentning allosterik domeniga bog'lanish kinetikasi chuqur o'rganildi. Tadqiqot obyekti doirasida olingan empirik ma'lumotlar kversetin va uning hosilalari ATP ga bog'liq karboksillanish bosqichini raqobatli ravishda ingibirlashini isbotladi. Substrat-ferment kompleksi shakllanishida kversetin molekulasining katalitik samaradorlikni sezilarli darajada pasaytirishi qayd etildi. Olingan natijalar dinamikasi o'simlik xomashyosidan olinadigan flavonoidlar asosida uglevod almashinuvi buzilishlarini korreksiya qiluvchi, gepatotsitlarda ortiqcha glyukoza ishlab chiqarilishini bloklovchi yangi avlod farmakoterapevtik vositalarini yaratish uchun molekulyar baza bo'lib xizmat qiladi.

KALIT SO'ZLAR: Piruvat karboksilaza, flavonoidlar, glyukoneogenez, enzimologik kinetika, kversetin, molekulyar dokking, ingibitor.

KIRISH. Odam organizmida uglevod gomeostazini ta'minlash murakkab ko'p bosqichli biokimyoviy mexanizmlarga asoslanadi. Mitoxondrial matritsada joylashgan piruvat karboksilaza (PK; EC 6.4.1.1) fermenti piruvatning ATP ga bog'liq holda oksaloatsetatga aylanishini ta'minlab, anaplerotik reaksiyalar va glyukoneogenez jarayonining asosiy tezlikni belgilovchi bosqichini boshqaradi. Zamonaviy endokrinologik va biokimyoviy tadqiqotlar gepatotsitlarda PK fermenti ekspressiyasining ortishi to'g'ridan-to'g'ri giperglikemiya va insulin rezistentligi rivojlanishi bilan bog'liqligini ko'rsatmoqda. Oksaloatsetat sintezining patologik tezlashuvi jigarda glyukoza ishlab chiqarilishining ortishiga olib keladi.



Sintetik antidiabetik preparatlarning ko'plab nojo'ya ta'sirlari fonida, o'simliklar tarkibidagi ikkilamchi metabolitlar — flavonoidlarga bo'lgan ilmiy qiziqish global miqyosda o'sib bormoqda. Flavonoidlarning gipoglikemik, antioksidant va yallig'lanishga qarshi xususiyatlari tasdiqlangan bo'lsa-da, ularning bevosita piruvat karboksilaza fermenti faolligiga ta'sir mexanizmlari yuzasidan adabiyotlarda keskin ilmiy bo'shliq mavjud. Mazkur tadqiqot polifenollarning PK molekulasidagi allosterik va substrat bog'lanish markazlariga ta'sirini in vitro va in silico modellar orqali ochib berishga yo'naltirilgan.

TADQIQOT METODOLOGIYASI

Tadqiqot dizayni biokimyoviy va kompyuter modellashtirish usullarining ketma-ket integratsiyasidan iborat. In vitro tajribalari uchun sigir jigari mitoxondriyalaridan ajratib olingan va tozalangan piruvat karboksilaza preparati (Sigma-Aldrich) ishlatildi. Fermentning bazal faolligi va flavonoidlar (kversetin, rutin) ishtirokidagi o'zgarishlari malatdegidrogenaza (MDH) bilan bog'langan spektrofotometrik usul yordamida 340 nm to'lqin uzunligida NADH oksidlanishi pasayishini o'lchash orqali ro'yxatga olindi. Reaksiya aralashmasi tarkibi: 100 mM Tris-HCl (pH 7.8), 5 mM MgCl₂, 5 mM piruvat, 2.5 mM ATP va 15 mM NaHCO₃. Har bir namunaviy tahlil 3 martadan takrorlandi va statistik farqlar Student t-testi yordamida hisoblandi ($p < 0.05$).

Molekulyar dokking tahlillari AutoDock Vina dasturiy ta'minoti yordamida amalga oshirildi. Piruvat karboksilazaning kristall tuzilishi Protein Data Bank (PDB ID: 3BG5) bazasidan yuklab olindi. Kversetin va rutin molekulalarining 3D konformatsiyalari energiya minimizatsiyasidan o'tkazildi. Ligand-ferment o'zaro ta'sir energiyasi va vodorod bog'lari joylashuvi Discovery Studio Visualizer orqali vizualizatsiya qilindi.

NATIJALAR. Kinetik tahlillar flavonoidlarning piruvat karboksilaza faolligiga dozaga bog'liq ravishda kuchli tormozlovchi ta'sir ko'rsatishini aniqladi. Reaksiya



“SOG’LIQNI SAQLASHDA YANGI YONDASHUVLAR”
nomli respublika ilmiy-amaliy masofaviy konferensiyasi
VOLUME-1, ISSUE-1, 2026

muhitiga kversetin qo'shilishi ferment faolligining tez va barqaror pasayishiga olib keldi. Olingan natijalar dinamikasi shuni ko'rsatadiki, kversetin uchun yarim maksimal ingibitsiya konsentratsiyasi (IC50) $18.4 \pm 1.2 \mu\text{M}$ ni tashkil etdi. Uning glikozidlangan formasi bo'lgan rutin esa biroz pastroq faollikni namoyon qildi (IC50 = $42.5 \pm 2.8 \mu\text{M}$, $p < 0.01$).

In silico molekulyar dokking jarayonida kversetin piruvat karboksilazaning biotin-karboksilaza (BC) domenida joylashgan ATP birikish markaziga yuqori termodinamik affinlik bilan joylashishi ma'lum bo'ldi. Kversetin va ferment o'rtasidagi erkin bog'lanish energiyasi (Gibbs energiyasi) $\Delta G = -8.6 \text{ kcal/mol}$ ni tashkil qildi. Polifenol halqasidagi gidroksil guruhlari fermentning Arg284, Glu211 va Thr213 aminokislota qoldiqlari bilan jami 4 ta mustahkam vodorod bog'i hosil qilishi qayd etildi. Bu esa o'z navbatida, ATP molekulasining fermentga birikishi va substratni fosforillash bosqichini sterik jihatdan bloklaydi. Nazorat guruhi (flavonoidsiz muhit) bilan solishtirganda, $50 \mu\text{M}$ kversetin mavjudligida oksaloatsetat hosil bo'lish tezligi to'liq 68% ga ($M \pm m$) tushib ketdi.

TAHLIL VA MUHOKAMA. Empirik kuzatuvlar shuni tasdiqlaydiki, flavonoidlarning strukturaviy xususiyatlari, xususan, C-halqasidagi qo'sh bog'lar va B-halqasidagi orto-digidroksi guruhlari PK fermenti ingibitsiyasi uchun hal qiluvchi ahamiyatga ega. Kversetin rutinga nisbatan kuchliroq ta'sir ko'rsatishi rutin molekulasidagi yirik rutinaza qoldig'ining ferment allosterik markaziga kirishda sterik to'siq yaratishi bilan patofiziologik tushuntiriladi.

Xalqaro adabiyotlarda keltirilgan sintetik PK ingibitorlari (masalan, tiazolidindionlar) mexanizmidan farqli o'laroq, flavonoidlar fermentni qaytar (reversible) va raqobatli usulda bloklaydi. Bu holat jigarning to'liq anaplerotik funksiyasi izdan chiqishini oldini olib, faqatgina giperaktiv glyukoneogenez jarayonini



“SOG’LIQNI SAQLASHDA YANGI YONDASHUVLAR”
nomli respublika ilmiy-amaliy masofaviy konferensiyasi
VOLUME-1, ISSUE-1, 2026

normallashtirish xususiyatini beradi. Molekulyar darajadagi ushbu o'zaro ta'sir mexanizmi kversetinni 2-tip qandli diabet va metabolik sindromni davolashda qand tushiruvchi xavfsiz vosita sifatida namoyon qiladi.

XULOSA: Tadqiqot natijalari kversetin va unga turdosh flavonoidlar piruvat karboksilaza fermentining yuqori samarali, tabiiy ingibitorlari ekanligini isbotlaydi. Ushbu bioaktiv birikmalarning ATP-bog'lovchi domenga spesifik tasiri orqali hepatotsitlarda oksaloatsetat sintezi tezligini regulyatsiya qilish xususiyati klinik jihatdan g'oyat qimmatli. Olingan biokimyoviy va termodinamik ko'rsatkichlar farmatsevtika sanoatida mahalliy o'simlik xomashyosidan gepatoselektiv, nojo'ya ta'sirlari minimallashtirilgan yangi avlod antidiabetik preparatlarini yuborish tizimlarini ishlab chiqish uchun fundamental platforma yaratadi.

FOYDALANILGAN ADABIYOTLAR

1. Cazzola R, Cestaro B, Della Porta E. Role of flavonoids in the regulation of hepatic glucose metabolism. *Journal of Nutritional Biochemistry*. 2022;104:108992.
2. Jitrapakdee S, St Maurice M, Rayment I, Cleland WW, Wallace JC, Attwood PV. Structure, mechanism and regulation of pyruvate carboxylase. *Biochemical Journal*. 2008;413(3):369-387.
3. Tulyaganov RT, va boshq. Gepatotsitlar metabolizmida o'simlik polifenollarining tutgan o'rni. *O'zbekiston farmatsevtika jurnali*. 2024;3(1):45-51.
4. Lin Y, Sun Z. In vivo and in silico evaluation of dietary flavonoids as metabolic modulators in type 2 diabetes. *Phytomedicine*. 2021;85:153544.
5. Wallace JC, Jitrapakdee S, Chapman-Smith A. Pyruvate carboxylase. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*. 2023;30(1):1-5.