

«ОРОКС» ДОРИ ВОСИТАСИ ТАРКИБИДАГИ СОРБИТОЛ, НАТРИЙ ЦИТРАТ ДИГИДРАТ ВА ХЛОРИДЛАР МИҚДОРИНИ АНИҚЛАШДА ИШЛАБ ЧИҚИЛГАН ЮССХ УСУЛИНИ ВАЛИДАЦИЯЛАШ

Холтураева Гулноза Миркамиловна

Тошкент фармацевтика институти

таянч докторанти (PhD)

Email: s.gulin87@mail.ru

<https://orcid.org/0009-0009-2312-1044>

Ганиева Хилола Гайратовна

Тошкент фармацевтика институти

доцент, фарм.ф.д., (DSc)

regulatoryuzb@gmail.com

Убайдуллаев Кудратилла Асадуллаевич

Тошкент фармацевтика институти

профессор, к.ф.н.

Аннотация. Ушбу тадқиқот ишида, регидратацион эритмалар таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни миқдорини бир вақтда юқори самарали суюқлик хроматографияси (ЮССХ) тезкор усули ёрдамида аниқлашга эришилди. «Орокс» дори воситаси таркибидаги фаол моддаларини самарали ажралишини таъминлашда қўзғалувчан фаза сифатида 0,1% ортофосфат кислота эритмаси, колонка ShimPack SCR-102 (H), 8,0 мм х 300 мм, 7µм ва УБ детекторидан фойдаланилди. Ушбу колонка ёрдамида тахминан 20 дақиқа давомида текширилувчи эритма таркибидаги дори моддаларини ажралишига эришилди. Хлоридлар 9,16, натрий цитрат дигидрат учун чўққининг ушланиш вақти 11,26 дақиқа атрофида, сорбитол учун 12,96 дақиқани ташкил этди. Ушланиш вақтлари асосан маълумот сифатида берилган бўлиб, системаларнинг ва колонкаларнинг ўзгариши билан бироз фарқланиши мумкин. Шунингдек, хроматографик колонка ва термостат ҳолати бир меъёрга келгунича оқим тезлигини 0,3 мл/дақ гача ушлаб туриш зарур. Навбатдаги таҳлилларни ўтказишдан аввал насосдаги оқим тезлигини 0,3 мл/дақ ушлаб туришини таъминлаш лозим. Таклиф этилган усуллар ИСН талаблари асосида валидацияланди. Сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни бир вақтда аниқлаш ва миқдорини аниқлаш учун ишлаб чиқилган усул аниқ, чизикли, қайтарилувчан ва ҳусусий эканлиги исботланди.

Калит сўзлар: Орокс, ЮССХ, сорбитол, натрий цитрат дигидрат, хлоридлар, валидация, ҳусусийлик, чизиклилиқ, қайтарилувчанлик, тўғрилиқ, барқарорлик

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ВЭЖХ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЛИЧЕСТВА СОРБИТОЛА, НАТРИЯ ЦИТРАТА ДИГИДРАТА И ХЛОРИДОВ В ПРЕПАРАТЕ «ОРОКС»

Холтураева Гулноза Миркамиловна

Ташкентский фармацевтический институт,
докторант (PhD)

Email: s.gulin87@mail.ru

<https://orcid.org/0009-0009-2312-1044>

Ганиева Хилола Гайратовна

Ташкентский фармацевтический институт,
доцент, д.фарм.н.,(DSc)

regulatoryuzb@gmail.com

Убайдуллаев Кудратилла Асадуллаевич

Ташкентский фармацевтический институт,
профессор, к.х.н.

Аннотация. В данном исследовании количество сорбита, дигидрата цитрата натрия и хлоридов в регидратационных растворах определяли с помощью экспресс-метода одновременной высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Для обеспечения эффективного разделения активных веществ, содержащихся в препарате «Орокс», в качестве подвижной фазы использовали 0,1% раствор ортофосфорной кислоты, колонку ShimPack SCR-102 (H), 8,0 мм x 300 мм, 7 мкм и УФ-детектор. С помощью этой колонки разделение лекарственных средств, содержащихся в тестируемом растворе, достигалось примерно за 20 минут. Максимальное время удерживания хлоридов составляло 9,16 минут, дигидрата цитрата натрия - около 11,26 минут и сорбита - 12,96 минут. Время удерживания указано только в качестве ориентира и может незначительно варьироваться в зависимости от особенностей системы и колонки. Также необходимо поддерживать скорость потока до 0,3 мл/мин до тех пор, пока состояние хроматографической колонки и термостата не достигнет одного стандарта. Перед проведением следующего анализа необходимо убедиться, что скорость потока в насосе поддерживается на уровне 0,3 мл/мин. Предложенные методы были проверены на соответствие требованиям ИСН. Разработанный метод одновременного определения и количественного определения сорбитола, дигидрат цитрата натрия и хлоридов оказался точным, линейным, прецизионным, специфичным.

Ключевые слова: Орокс, ВЭЖХ, сорбитол, дигидрат цитрата натрия, хлориды, валидация, специфичность, линейность, воспроизводимость, точность, устойчивость

VALIDATION OF HPLC METHOD FOR DETERMINING THE QUANTITY OF SORBITOL, SODIUM CITRATE DIHYDRATE AND CHLORIDES IN THE MEDICINE «OROKS»

Kholturaeva Gulnoza Mirkamilovna*PhD researcher,**Tashkent pharmaceutical institute**Email: s.gulin87@mail.ru**<https://orcid.org/0009-0009-2312-1044>*

Ganieva Hilola Gayratovna

*Assistant professor, DSc,**Tashkent pharmaceutical institute**regulatoryuzb@gmail.com*

Ubaydullaev Kudratilla Asadullaevich

*Professor, PhD,**Tashkent pharmaceutical institute*

Abstract. In this study, the amounts of sorbitol, sodium citrate dihydrate, and chlorides in the rehydration solutions were determined using a rapid, simultaneous high-performance liquid chromatography (HPLC) method. To ensure efficient separation of the active substances contained in «Oroks», a 0,1% orthophosphoric acid solution, a ShimPack SCR-102 (H) column, 8,0 mm x 300 mm, 7 µm, and a UV detector were used as the mobile phase. With this column, the separation of the drugs contained in the test solution was achieved in approximately 20 minutes. The maximum retention time for chlorides was 9,16 minutes, for sodium citrate dihydrate - about 11,26 minutes, and for sorbitol – 12,96 minutes. Retention times are provided as a guide only and may vary slightly depending on the characteristics of the system and column. It is also necessary to maintain the flow rate up to 0,3 ml/min until the condition of the chromatographic column and the thermostat reach the same standard. Before performing the next analysis, it is necessary to ensure that the flow rate in the pump is maintained at 0,3 ml/min. The proposed methods were verified for compliance with ICH requirements. The developed method for the simultaneous determination and quantification of sorbitol, sodium citrate dihydrate and chlorides was found to be accurate, linear, precision, specific.

Key words: «Oroks», HPLC, sorbitol, sodium citrate dihydrate, chloride ions, simultaneous method, validation, specificity, linearity, precision, accuracy, robustness.

Долзарблиги.

Сўнгги йилларда фармацевтика бозори турли ҳил кимёвий тузилишга ва дори шакллариغا эга жуда кенг ассортимент билан тўлиб бормоқда, бу эса

сифатини назорат қилишда мавжуд таҳлил усуллари тақомиллаштириш ва янги усуллари ишлаб чиқишни, шунингдек, уларни валидациялаш ва стандартлашни талаб этади. Мураккаб таркибли дори воситалари таркиби турли микдорда ва кимёвий, физик-кимёвий хоссалари бир биридан фарқ қиладиган асосий таъсир этувчи дори моддаларидан иборат. Мураккаб таркибли дори воситалари таркибидаги ҳар бир компонентни таҳлил қилиш усулини танлашда ва ишлаб чиқишда уларнинг бир системада ўзаро таъсирини ҳисобга олиш зарур.

Ҳозирги кунда, диареяни ва унинг оқибатида юзага келадиган сувсизланиш ҳолатларини даволаш ва олдини олиш мақсадида энг самарали ва ҳавфсиз даволаш усулларида бири бу перорал регидратацион муолажа тури ҳисобланади. 1979 йилда ЖССТ томонидан перорал регидратацион муолажа диареяни даволаш усули сифатида тавсия этилган [1; 20-26-б]. Узоқ йиллардан буён ОРТ лар кукун дори шаклида қадоланиб ишлаб чиқарилиб келинган. Ҳозирги кунда эса тайёр ичиш учун мўлжалланган эритмалар кўринишида ишлаб чиқарила бошланди. Турли шароитларда, турли инсонлар томонидан истеъмоли учун тайёрланган, турли ҳавф ва хатарларни келтириб чиқарувчи омиллар ҳисобга олинса, тайёр эритмаларни ишлаб чиқарилишини кенгайтириш мақсадга мувофиқ. Бу эса ўз навбатида мутахассислардан мураккаб таркибли диареяда қўлланиладиган перорал регидратацион эритмалар таркибидаги асосий таъсир этувчи моддаларни сифатини назорат қилиш, янги муқобил таҳлил усуллари ишлаб чиқиш, мавжудларини тақомиллаштириш ва валидациялаш каби вазифаларни бажаришни талаб этади.

Ушбу тадқиқотнинг мақсади кутблилик ва гидрофобикликнинг кенг оралиғига эга сорбентларда, турли элюация режимларида ЮССХдан фойдаланган ҳолда мураккаб таркибли, турли функционал гуруҳли дори воситасини таҳлил қилишнинг янги усуллари ишлаб чиқиш, услубий ва метрологик таъминотини тақомиллаштиришдан иборат.

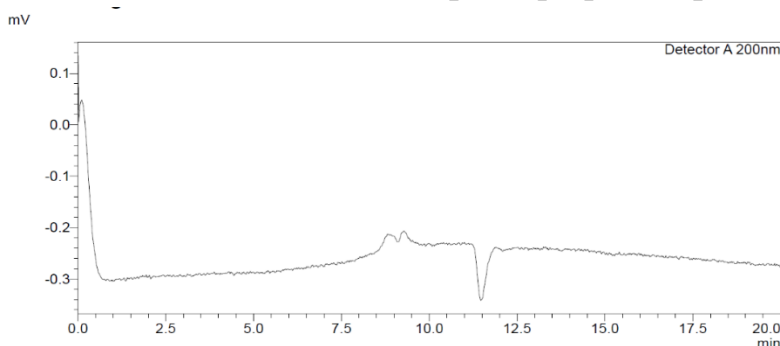
Дори воситалари таҳлилида қўлланилган хроматографик усулларнинг шароитини яроқлилигини исботлаш мақсадида, таҳлил услубларига «Хроматографик системаларининг яроқлилигини текшириш» тестини ҳам киритишни таъминлаш зарур. Дори воситаларининг таҳлил услубларига хроматографик системаларнинг яроқлилигининг қуйидаги шартлари киритилади: чўққиларининг ажралиш коэффиценти 3,0 дан кам бўлмаслиги керак; ушбу моддалар таҳлиliga мўлжалланган хроматографик колонканинг самарадорлигини белгилаш учун назарий тарелкалар сони 2000 дан кам бўлмаслиги; нисбий стандарт четланиш (RSD) 2% дан ошмаслиги керак; фаол моддаларнинг чўққиларининг симметрия коэффиценти 0,8-1,8 оралиғида бўлиши зарур [2, 3; 55-57-б]. Таклиф этилган усул ИЧ талаблари асосида валидацияланди [4].

Усуллар ва материаллар.

Юқори самарали суюқлик хроматография усули ёрдамида «Орокс» дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни микдорини бир босқичда аниқлаш мақсадида таҳлил учун зарур бўлган эритма намуналари тайёрланди.

Қўзғалувчан фазани тайёрлаш.

1,0 г ортофосфат кислотаси 1000 мл инъекция учун сув билан эритилди. Тешикчалар ўлчами 0,45 мкмли нейлонли фильтр орқали филтрланди.

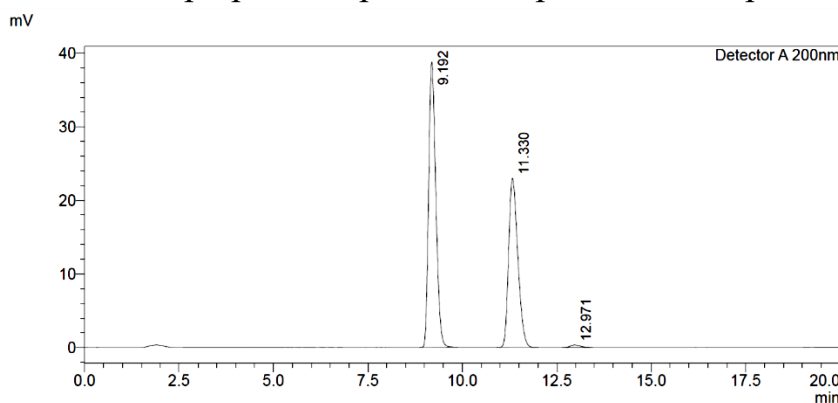


1-расм. Қўзғалувчан фаза (бланк)

Сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлорид ИСН эритмаларини тайёрлаш.

0,290 г натрий цитрат дигидрат, 0,3775 г натрий хлорид и 0,050 г сорбитол ишчи стандартлари тортиб олинди ва 100 мл ўлчов колбасига солинди. Унинг устига 70 мл сув солиб тўлиқ эриб кетгунча аралаштирилди. Белгисигача сув билан етказилди. Юқорида тайёрланган эритмадан 20 мл олиб 100 мл инъекция учун сувда суюлтирилди. 0,22 мкм нейлон фильтр орқали филтрланди ва дастлабки 5 мл биринчи қисми ташлаб юборилди.

Олинган натижалар хроматограммаси 2-расмда келтирилган.



2-расм. Сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлорид ионидан иборат ишчи стандарт намунанинг хроматограммаси

Текиширилувчи эритма тайёрлаш.

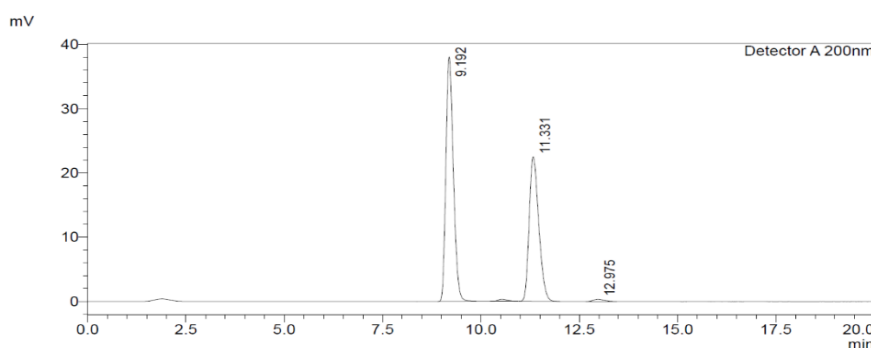
Эхтиёткорлик билан 20 мл эритма намунаси, ҳажми 100 мл ли ўлчов колбасига солинди, сув билан белгисигача етказилди ва яхшилаб

аралаштирилди. 0,22 мкм нейлонли фильтр орқали филтрланди ва дастлабки 5 мл филтрат ташлаб юборилди.

ЮССХ усули ёрдамида, «LC-20, Shimadzu» хроматограф ускунасида дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлорид ионлари миқдорини аниқлаш қуйидаги хроматографик шароитда олиб борилди:

Колонка:	ShimPack SCR-102 (H), 8,0 мм x 300 мм, 7 мкм
Қўзғалувчан фаза:	0,1% ортофосфат кислота эритмаси
Тўлқин узунлиги:	200 нм (УФ детектор)
Колонка ҳарорати:	40°C
Оқим тезлиги:	0,6 мл/дақ
Юбориш ҳажми:	10 мкл
Таҳлил вақти:	20 дақиқа
Ушланиш вақти	Сорбитол-12,96 дақиқа, натрий цитрат дигидрат-11,26 дақиқа, хлорид ионлари 9,16 дақиқа.

Текширилувчи эритманинг хроматограмма натижалари 3-расмда келтирилган.



3-расм. «Орокс» дори воситасини текширилувчи эритмасининг хроматограммаси.

Юқоридаги шароитда текширилаётган дори моддаларини ушланиш вақтлари хлоридлар-9,16 дақиқа, натрий цитрат дигидрат-11,26 дақиқа, сорбитол-12,96 дақиқани ташкил этди. Бу эса хроматографик таҳлилни қисқа вақт ичида дори моддаларнинг тегишли чўққиларини тўлиқ ажралишига эришилди [6, 18-23-б].

ЮССХ усули ёрдамида олиб борилган тадқиқот натижалари асосида усулнинг метрологик тавсифлари 1-жадвалларда келтирилди. 5 марта ўлчашлар натижалари бўйича усулнинг аниқлиги Стиюдент критерийси ёрдамида баҳоланди.

«Орокс» дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни миқдорини баҳолаш усулининг метрологик тавсифи ($P=95\%$; $t(p,f)=2,78$)

«Орокс» дори воситаси таркибидаги моддаларнинг МХ да кўрсатилган миқдори	0,1 мг/мл	2,9 мг/мл	2,29 мг/мл
Намуналар номи	Сорбитол миқдори (мг/мл)	Натрия цитрат дигидрат миқдори (мг/мл)	Хлоридлар миқдори (мг/мл)
1	0,096	2,93	2,53
2	0,095	2,92	2,52
3	0,097	2,92	2,50
4	0,095	2,92	2,49
5	0,098	2,92	2,49
Ўртача қиймат	0,096	2,92	2,50
Нисбий стандарт четланиш (%)	1,4	0,1	0,9

Юқоридаги 1-жадвалда келтирилган натижалар, ЮССХ усули ёрдамида «Орокс» дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларнинг ўртача миқдори мос равишда 0,096 мг/мл, 2,92 мг/мл, 2,21 мг/мл ни ташкил этди. Дори воситаси таркибидаги асосий таъсир этувчи моддаларни аниқлаш усулининг ўртача нисбий ҳатолиги 1,4 %, 0,1 %, 0,9 % эканлиги аниқланди.

Натижалар ва муҳокама.

«Орокс» дори воситаси таркибидаги асосий таъсир этувчи моддалар сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни миқдорини ЮССХ усулида таҳлил қилиш ва стандартлаш мақсадида ишлаб чиқилган янги услубнинг яроқлилигини, тўғрилигини текшириш учун валидация жараёнининг хусусийлик, кайтарилувчанлик, тўғрилик, чизиқлилиқ, ишончлилиқ, кўзгалувчан фаза ва эритувчиларнинг барқарорлиги каби кўрсаткичлари ёрдамида валидация жараёнлари ўтказилди.

Услубнинг хусусийлиги плацебо ва назорат эритмаларини ЮССХ кўзгалувчан фазага юбориб хроматограммаларни ёзиб олиш йўли билан баҳоланди. «Орокс» дори воситасини таҳлилида сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни ушланиш вақтларида плацебо хроматограммаси билан солиштирилганда чўккилар пайдо бўлмади. Демак, услуб хусусийлиги бўйича

мувафиқлик мезонлари талабларига жавоб берди.

Қайтарилувчанлик «Орокс» дори воситасининг турли серияли, партияли намуналаридан иборат 6 та намунага тегишли методология асосида таҳлил ўтказилади. Текширилаётган моддаларни таҳлил усулининг нисбий стандарт четланиши 2,0% дан ошмаслиги аниқланди.

Усулнинг қайтарилувчанлиги учун олинган натижалар 2-жадвалда келтирилди.

2-жадвал

«Орокс» дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни миқдорини аниқлашнинг ЮССХ усулининг қатарилувчанлик натижалари

Серия рақами	02060323		
Берилган миқдори	0,1 мг/мл	2,9 мг/мл	2,293 мг/мл
Намуна	Сорбитол миқдори (%)	Натрий цитрат дигидрат миқдори (%)	Хлоридлар миқдори (%)
ТН-1	95,6	100,9	97,1
ТН -2	95,2	100,8	96,7
ТН -3	96,7	100,7	95,8
ТН -4	94,7	100,7	95,7
ТН -5	98,4	100,7	95,7
ТН -6	95,9	100,7	95,7
Ўртача қиймат	96,1	100.0	96,1
Нисбий стандарт четланиш (%)	1.4	0.1	0.6

«Орокс» дори воситасининг таркибидаги дори моддаларининг турли серияли, партияли намуналаридан иборат 6 та намуналар таҳлил усулининг нисбий стандарт четланиши қийматлари 1,4%, 0,1% ва 0,6% ни ташкил этди. Демак, тавсия этилаётган усул қатарилувчан ҳисобланади.

Қатарилувчанлик учун олинган натижалар 3-жадвалда келтирилган.

3-жадвал

«Орокс» дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни миқдорини аниқлашнинг ЮССХ усулининг оралик қайтарилувчанлик натижалари

Берилган миқдори	0,1 мг/мл		2,9 мг/мл		2,293 мг/мл	
Таҳлилчи	Таҳлилч и-1	Таҳлилч и-2	Таҳлил-чи-1	Таҳлил-чи-2	Таҳлил-чи-1	Таҳлил-чи-2

Кун	Кун-1	Кун-2	Кун-1	Кун-2	Кун-1	Кун-2
Ускуна	ID 094	ID 095	ID 094	ID 095	ID 094	ID 095
Колонка №	11J0038 121025L 00	11J0038 121025L 00	11J003812 1025L00	11J003812 1025L00	11J00381 21025L00	11J00381 21025L0 0
Намуна	Сорбитол миқдори (%)		Натрий цитрат дигидрат миқдори (%)		Хлоридлар миқдори (%)	
ТН-1	95,6	98,2	100,9	96,9	97,1	98,1
ТН -2	95,2	97,3	100,8	101,0	96,7	98,8
ТН -3	96,7	98,1	100,7	101,7	95,8	99,4
ТН -4	94,7	95,1	100,7	100,4	95,7	99,8
ТН -5	98,4	98,1	100,7	99,0	95,7	99,4
ТН -6	95,9	98,2	100,7	99,5	95,7	99,1
Ўртача қиймат	96,1	97,5	100,0	99,8	96,1	99,1
Нисбий стандарт четланиш (%)	1.4	1,3	0.1	1,7	0.6	0.6
Умумий ўртача қиймат (%)	96.8		100.3		97.6	
Умумий нисбий стандарт четланиш (%)	1.47		1.26		1.70	

Усулнинг нисбий стандарт четланиш сорбитол учун 1,3%, натрий цитрат дигидрат учун 1,7% ва хлоридлар учун 0,6% эканлиги аниқланди. Усулнинг умумий нисбий стандарт четланиши сорбитол учун 1,47%, натрий цитрат дигидрат учун 1,26% ва хлоридлар учун 1,70% га тенглиги аниқланди. Демак, ЮССХ усули ёрдамида «Орокс» дори воситаси таркибидаги таъсир этувчи дори моддаларининг миқдорини аниқлаш ва стандартлаш учун ишончли усул ҳисобланади.

Усулнинг тўғрилиги текширилаётган моддаларни турли хил босиқчларда ажралишини ҳисоблаш йўли билан аниқланди. Текширилувчи ишчи эритмасини уч хил концентрацияда уч маротаба эритиш йўли билан тайёрланди ва ажралиш унуми (%) ҳисобланди.

Намуна тайёрлашда «Орокс» дори воситаси таркибидаги асосий таъсир этувчи моддаларнинг алоҳида ва ўртача ажралиб чиқиши 97,0% дан 103,0% оралиғида бўлиши зарур. Ҳар бир босиқчда ажралиб чиқиш фоиз миқдори учун нисбий стандарт четланиш ва намуна тайёрлашнинг умумий аниқлиги 2,0% дан ошмаслиги керак.

«Орокс» дори воситаси таркибидаги дори моддаларни аниқлаш усулининг тўғрилиги учун олинган натижалар қуйида 4-жадвалда келтирилган.

4-жадвал

«Орокс» дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни миқдорини аниқлашнинг ЮССХ усулининг тўғрилик натижалари

Намуна, %	Қўшилган миқдори (мг/мл)			Тоқилган миқдори (мг/мл)			Ўртача унум (%)			Нисбий стандарт четланиш (%)		
	натрий цитрат	сорбитол	хлоридлар	натрий цитрат	сорбитол	хлоридлар	натрий цитрат	сорбитол	хлоридлар	натрий цитрат	сорбитол	хлоридлар
80	46,44	8,32	35,88	46,207	8,47	35,45	99,5	102,0	98,6	0,1	0,3	0,2
	46,44	8,32	35,88	46,207	8,52	35,37						
	46,44	8,32	35,88	46,182	8,49	35,34						
90	52,25	9,39	40,25	51,879	9,51	39,34	99,3	101,8	97,6	0,0	0,7	0,2
	52,25	9,39	40,25	51,893	9,53	39,38						
	52,25	9,39	40,25	51,894	9,63	39,22						
100	58,06	10,35	44,62	57,679	10,64	43,33	99,4	102,7	97,1	0,1	0,2	0,1
	58,06	10,35	44,62	57,691	10,62	43,31						
	58,06	10,35	44,62	57,728	10,65	43,29						
110	63,86	11,47	48,76	63,495	11,64	47,37	99,4	101,7	97,3	0,0	1,0	0,1
	63,86	11,47	48,76	63,504	11,79	47,41						
	63,86	11,47	48,76	63,503	11,56	47,50						
120	69,67	12,33	51,98	68,879	12,66	51,70	98,8	101,4	99,7	0,1	1,2	0,3
	69,67	12,33	51,98	68,859	12,46	51,77						
	69,67	12,33	51,98	68,83	12,39	52,02						
Умумий нисбий стандарт четланиш, (%)							0,2					
							0,8					
							1,1					
Умумий ўртача қиймат, (%)							99,3					
							101,9					
							98,1					

Тайёрланган намуна таркибида сорбитолнинг ўртача ва индивидуал ажралиш миқдори 101,4-102,7%, натрий цитрат дигидрат 98,8-99,5% ва хлоридлар 97,1-99,7% оралиғини ташкил этди.

Шундай қилиб, турли концентрация даражасидаги сорбитолдан иборат

эритмалардан 80, 90, 100, 110 ва 120% глюкозанинг миқдорий ажралишининг нисбий стандарт четланиши мос равишда 0,3; 0,7; 0,2; 1,0 ва 1,2 ни, умумий жами нисбий стандарт четланишлар 0,8% ни ташкил этди. Натрий цитрат сақлаган 80, 90, 100, 110 ва 120% эритмалари учун мос равишда 0,1; 0,0; 0,1; 0,0 ва 0,1 ни, умумий жами нисбий стандарт четланиш 0,2% ни ташкил этди. Хлоридлар сақлаган 80, 90, 100, 110 ва 120% эритмалари учун мос равишда 0,2; 0,2; 0,1; 0,1 ва 0,3 ни, умумий жами нисбий стандарт четланиш 1,1% ни ташкил этди.

Чизиқлилигини аниқлаш. «Орокс» дори воситасини 80-120% концентрацияли текширилувчи намуна эритмалари тайёрлаб олинди ва ЮССХ системасига таҳлил учун юборилди. Корреляция коэффиценти 0,998 дан кам бўлмаслиги, 100% га нисбатан у-кесишмасининг қиймати $\pm 5,0\%$ дан ошмаслиги керак. Ордината ўқи билан регрессия коэффиценти, оғиш бурчаги ва кесишган нуқталари кўрсатилиши зарур.

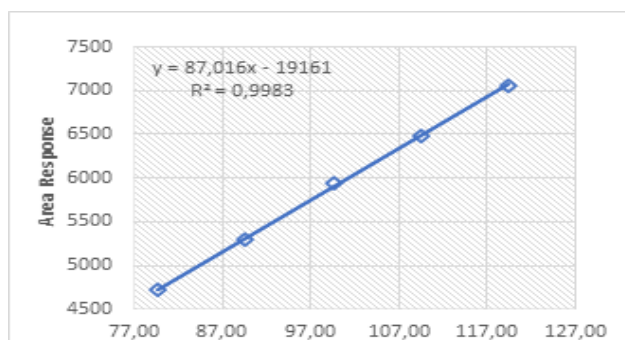
Чизиқлилиқ натижалари қуйидаги 5-жадвалда келтирилган.

Чизиқлилиқ чизмалари қуйидаги 4-6-расмларда келтирилган.

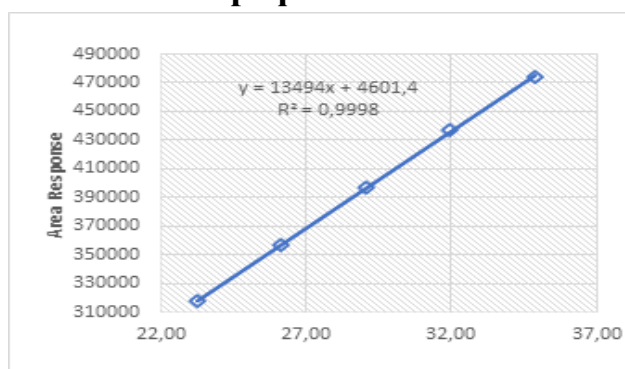
5-жадвал

«Орокс» дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни миқдорини аниқлашнинг ЮССХ усулининг чизиқлилиқ натижалари

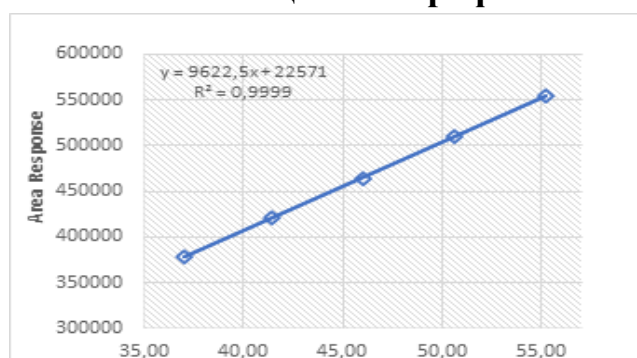
№	Чизиқлилиқ даражаси (%)	Концентрация, ppm			Сорбитолнинг чўққи майдони		
		сорбитол	натрий цитрат дигидрат	хлорид	сорбитол	натрий цитрат дигидрат	хлорид
1.	80%	79,67	23,24	37,03	4722	318013	378881
2.	90%	89,62	26,15	41,40	5304	357052	421796
3.	100%	99,58	29,05	46,00	5935	396966	464107
4.	110%	109,54	31,95	50,60	6490	436991	509291
5.	120%	119,50	34,86	55,20	7060	474050	554246
Оғиш чизиғи					58,8662		
					13494,42		
					9622,51		
Корреляция коэффиценти (R)					0,9998		
					0,9999		
					0,9999		
Регрессия коэффиценти (R^2)					0,9996		
					0,9998		
					0,9999		
y- қамрови (y- intercept)					40,2022		
					4601,40		
					22571,18		
100% даражадаги % y- қамрови (% y- intercept at 100% level)					0,7		
					1,2		
					4,9		



4-расм. Сорбитол миқдорини чўққи майдонига нисбатан чизиқлилиқ графиги



5-расм. Натрий цитрат дигидрат миқдорини чўққи майдонига нисбатан чизиқлилиқ графиги



6-расм. Хлор ионлари миқдорини чўққи майдонига нисбатан чизиқлилиқ графиги

Корреляция коэффиценти сорбитол учун 0,9998, натрий цитрат дигидрат учун 0,9995 ва хлоридлар учун 0,9999 га тенглиги аниқланди. Маълум бўлишича, 100% даражадаги у-кесишмасининг қиймати сорбитол учун 0,7%, натрий цитрат дигидрат учун 1,2% ва хлоридлар учун 4,9% ни ташкил этди. Сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридлар учун оғиш регрессия коэффиценти ва Y ўқини кесиб ўтувчи нуқталар кўрсатиб ўтилган. Шундай қилиб, чизиқлилиқ натижалари мувофиқлик мезони талабларига жавоб беради. Демак, «Орокс» дори воситаси таркибидаги дори моддаларини аниқлашда тавсия этилган услуб чизиқлилиги бўйича талабга жавоб берди ва 80-120% ораликда чизиқли деб топилди.

Бизнинг навбатдаги тадқиқотимиз аналитик таҳлиллар диапозонини текширишдан иборат бўлди. Бу текширилувчи намунадаги (ТН) аниқланилаётган модданинг юқори ва қуйи чегараларини аниқлайди, юқорида аналитик усулнинг қайтарилувчанлигига, тўғрилигига ва чизиқлилигига мослиги ҳақида батафсил маълумотлар келтирилган эди. Аниқлаш чегаралари чизиқлилиқ, қайтарилувчанлик ва тўғрилиқ кўрсаткичларининг натижалари асосида 80%-120% концентрациялар дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни аниқлаш чегараси сифатида қабул қилинди.

Текширилувчи намуна эритмасининг барқарорлигини 25°C ҳароратда сақланган ИСН ва ТН ларни ўлчаш орқали олиб борилди. Янги тайёрланган ИСН ва сақланган ИСН лар учун натижаларнинг ўхшашлик коэффиценти 0,95-1,05 оралиғида бўлиши керак. Янги тайёрланган ТН ва сақланган ТН орасидаги фарқлар сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридлар учун $\pm 3,0\%$ дан ошмаслиги керак.

Натижалар 6 ва 7- жадвалларда келтирилган.

6-жадвал

ИСН эритмасининг 25 °C ҳароратда барқарорлик натижалари

Вақт оралиғи (соат)	Ўхшашлик омили (сорбитол)		Ўхшашлик омили (натрий цитрат дигидрат)		Ўхшашлик омили (хлоридлар)	
	Майд он	Фарқ (%)	Майдон	Фарқ (%)	Майдон	Фарқ (%)
Янги тайёрланган	5900	Тақдим этилмайди	399528	Тақдим этилмайди	494967	Тақдим этилмайди
24 соат сақланган	5935	0,99	397596	1,00	490866	1,01

Юқоридаги жадвал маълумотларига кўра янги тайёрланган ва 24 соат сақланган эритмаларнинг ўхшашлик коэффицентлари сорбитол учун 0,99%, натрий цитрат дигидрат учун 1% ва хлоридлар учун 1,01% қийматларни ташкил этди.

7-жадвал

Текширилувчи намунанинг (ТН) 25 °C ҳароратда барқарорлик натижалар

Вақт оралиғи (соат)	Сорбитол миқдори, (%)			Натрий цитрат дигидрат миқдори, (%)			Хлоридлар миқдори, (%)		
	┌	└	Фарқ (%)	┌	└	Фарқ (%)	┌	└	Фарқ (%)

			ТН -1	ТН -2			ТН -1	ТН -2			ТН -1	ТН -2
Янги тайёрланган	5379	5374	Такдим этилмайди	Такдим этилмайди	401917	402511	Такдим этилмайди	Такдим этилмайди	490004	475745	Такдим этилмайди	Такдим этилмайди
24 соат сақланган	5462	5350	0,98	1,0	397762	401694	1,01	1,00	470464	470054	1,04	1,01

Янги тайёрланган текширилувчи эритма ва 24 соат сақланган текширилувчи эритмалар таҳлили орасидаги фарқлар (%) сорбитол учун 0,98 ва 1,00, натрий цитрат дигидрат 1,01 ва 1,00 ва хлоридлар учун 1,04 ва 1,01 ни ташкил этди. Шундай қилиб, стандарт эритмалар 25°C ҳароратда 24 соатгача турғун, сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридлар сақлаган ишчи намуна эритмалари турғун эмаслиги аниқланди.

Қўзғалувчан фазанинг турғунлигини текшириш мақсадида янги тайёрланган қўзғалувчан фаза 24 соат давомида хона ҳароратида сақланди ва янги тайёрланган эритмалардан олинган натижаларни солиштириш орқали таҳлил олиб борилди. Чўкки симметриясининг коэффиценти (tailing factor) 0,8-1,8 оралиғида бўлиши зарур. ИСН чўкки майдони учун нисбий стандарт четланиш 2,0% дан ошмаслиги керак. Қўзғалувчан фаза тиниқ бўлиши, лойқаланиш ва хиралашиш кузатилмаслиги керак.

8-жадвалда қўзғалувчан фазанинг турғунлигини текшириш учун олиб борилган тадқиқот натижалари келтирилган.

8-жадвал

Қўзғалувчан фазанинг барқарорлик натижалари

Системанинг яроқлилик мезонлари	Мувофиқлик мезони	Дастлабки натижалар			24 соатдан сўнг олинган натижалар		
		Сорбитол	Натрий цитрат дигидрат	Хлорид	Сорбитол	Натрий цитрат дигидрат	Хлорид
Чўкки симметриясининг коэффиценти (tailing factor)	0,8–1,8 оралиғида бўлиши керак	1,207	1,302	1,243	1,235	1,289	1,239

Биринчи стандарт эритма юборилганда назарий тарелкалар сони	2000 дан кам бўлмаслиги керак	11645	10280	10819	11335	10344	10860
Нисбий стандарт четланиш	2,0 % дан ошмаслиги керак	0,71	0,17	0,30	1,15	0,24	0,27
Қўзғалувчан фаза тиниқ бўлиши ва лойқалик кузатилмаслиги зарур		Лойқаланиш кузатилмади			Лойқаланиш кузатилмади		

8-жадвалда келтирилган натижаларга асосланиб, усул қўзғалувчан фазани барқарорлиги учун барча мувафиқлик мезонларига мос келганлигини кўриш мумкин. Бунда, қўзғалувчан фаза хона ҳароратида 24 соатгача барқарор деб ҳисоблаш мумкин.

Усулнинг ишончлилигини уч хил шароитда: оддий шароит, оқим тезлигини ўзгартириш (оқим тезлиги 0,55мл/дақ ва 0,65 мл/дақ), колонка ҳароратини ўзгартириш (45°C ва 55°C) билан стандарт эритмалар тайёрланди ва ЮССХ системасига киритилди. Мувофиқлик мезонлари бўйича юқорида келтирилган хроматографик системанинг яроқлилиги талабларига мослиги бўйича баҳоланди.

Усулнинг ишончлилиги бўйича олинган натижалар қуйидаги 9-жадвалда келтирилган.

9-жадвал

«Орокс» дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни миқдорини аниқлашнинг ЮССХ усулининг ишончлилиқ натижалари

Кўрсаткичлар	Чўкки симметриясининг коэффиценти (tailing factor)			Назарий тарелкалар сони			Нисбий стандарт четланиш		
	Сорбитол	Натрий цитрат дигидрат	Хлоридлар	Сорбитол	Натрий цитрат дигидрат	Хлоридлар	Сорбитол	Натрий цитрат дигидрат	Хлоридлар
Оддий шароитда (хусусийлик)	1,252	1,303	1,245	11118	10298	10817	0,71	0,17	0,30
Паст оқим тезлигида (0,55 мл/дақ)	1.291	1.312	1.240	11520	10166	10671	1.05	2.97	0.79
Юқори оқим тезлигида (0,65мл/дақ)	1.261	1.302	1.269	11300	10045	10729	0.90	0.20	0.43
Паст ҳарорат	1.291	1.335	1.277	10856	9626	10650	1.56	0.11	1.08

(45°C)									
Юқори ҳарорат (55°C)	1.300	1.296	1.231	11605	10524	10882	1.56	0.30	0.14

9-жадвалга келтирилган маълумотларга кўра, стандарт эритмаларнинг илк бор юборилгандаги чўққи симметрияси коэффиценти қийматлари, сорбитол учун 1,252 дан 1,300 гача, натрий цитрат дигидрат учун 1,296 дан 1,335 гача ва хлоридлар учун 1,231 дан 1,277 гача эканлиги аниқланди. Чўққиларнинг назарий тарелкалар сони сорбитол учун 10856 дан 11605 гача, натрий цитрат дигидрат учун 9626 дан 10298 гача ва хлоридлар учун 10650 дан 10882 гача эканлиги аниқланди. Беш марта юборилган стандарт эритмалар таркибидаги моддаларнинг чўққи майдонлари учун нисбий стандарт четланиш қиймалари сорбитол учун 0,71% дан 1,56% гача, натрий цитрат дигидрат учун 0,11% дан 2,97% гача ва хлоридлар учун 0,30% дан 1,08% гача эканлиги аниқланди.

Хулосалар.

Илк бор регидратацион эритмалар таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридларни миқдорини бир вақтда юқори самарали суяқлик хроматографияси (ЮССХ) тезкор усули ёрдамида аниқлашга эришилди. Юқорида келтирилган дори моддаларини самарали ажралишини таъминлашда кўзгалувчан фаза сифатида 0,1% ортофосфат кислота эритмаси, колонка ShimPack SCR-102 (H), 8,0 мм х 300 мм, 7µм ва УБ детекторидан фойдаланилди. Ушбу колонка ёрдамида тахминан 20 дақиқа давомида текширилувчи эритма таркибидаги дори моддаларини ажралишига эришилди. Хлоридлар 9,16, натрий цитрат дигидрат учун чўққининг ушланиш вақти 11,26 дақиқа атрофида, сорбитол учун 12,96 дақиқани ташкил этди. Ушланиш вақтлари асосан маълумот сифатида берилган бўлиб, системаларнинг ва колонкаларнинг ўзгариши билан биров фарқланиши мумкин. Шунингдек, хроматографик колонка ва термостат ҳолати бир меъёрга келгунича оқим тезлигини 0,3 мл/дақ гача ушлаб туриш зарур. Таҳлилларни давомида насосдаги оқим тезлиги 0,3 мл/дақ ушлаб турилиши таъминланди.

Mualliflar «OKS MASSAGET» MChJ ga dori vositalari sifatini nazorat qilish usullarini ishlab chiqish bo'yicha ilmiy tadqiqoti doirasida olib borilayotgan izlanishlarni qo'llab-quvvatlagani uchun o'z minnatdorchiligini bildiradi

Адабиётлар/Литература/References:

1. Учайкин В.Ф., Новокшенов А.А. Клиническая эффективность применения гипоосмолярного перорального раствора с Lactobacillus GG для регидратации при кишечных инфекциях у детей. //Детские инфекции, 2012. -№1. -С.20-26.
2. The United States Pharmacopeia, USP32-NF-27, 2009.

3. Ўзбекистон Республикаси давлат фармакопеяси. 2021, 1-жилд. -Б.55-57.
4. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of analytical procedures: Text and Methodology. Q2(R1). Geneva, 2005.
5. KanakaP.K., Abimanyu S., HemanthK. Ch., Seetharaman R. Environmental impact of greenness assessment tools in liquid chromatography – A review. Microchemical Journal. 2021, Volume 170, 106685, <https://doi.org/10.1016/j.microc.2021.106685>.
6. Г.М. Холтураева, Х.Г. Ганиева, Қ.А. Убайдуллаев «Орокс» дори воситаси таркибидаги сорбитол, натрий цитрат дигидрат ва хлоридлар миқдорини аниқлашнинг бир босқичли ЮССХ усулини ишлаб чиқиш ва валидациялаш // Topical Issues of Medical Sciences. -Tashkent, -2024.-Vol. 2 (5). -P.18-23