

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/30.12.2019.К.01.03 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ПРИ НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ
УЗБЕКИСТАНА**

НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ УЗБЕКИСТАНА

ЖАЛИЛОВ МАРУФЖОН ЖУМАНАЗАРОВИЧ

**РАЗРАБОТКА ВЭЖХ И СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДИК
ОПРЕДЕЛЕНИЯ М-КРЕЗОЛА И ФЕНОЛА В ПРЕПАРАТАХ
ИНСУЛИН**

02.00.02 – аналитическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ ПО ХИМИЧЕСКИМ НАУКАМ (PhD)**

Ташкент – 2024

**Kimyo fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati
mundarijasi**

**Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD) по
химическим наукам**

**Contents of dissertation abstract of doctor of philosophy (PhD) on chemical
sciences**

Jalilov Marufjon Jumanazarovich

Insulin preparatlari tarkibidagi m-krezol va fenolni YuSSX va spektroskopik
aniqlash usullarini ishlab chiqish 3

Жалилов Маруфжон Жуманазарович

Разработка ВЭЖХ и спектроскопических методик определения м-крезола и
фенола в препаратах инсулин 21

Jalilov Marufjon Jumanazarovich

Development of HPLC and spectroscopic methods for the determination of m-cresol
and phenol in insulin medicine 39

Список опубликованных работ

E'lon qilingan nashrlar ro'yxati

List of published works 42

**O'ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI HIZURIDAGI ILMIY
DARAJALAR BERUVCHI DSc.03/30.12.2019.K.01.03. RAQAMLI ILMIY
KENGASH**

O'ZBEKISTON MILLIY UNIVERSITETI

JALILOV MARUFJON JUMANAZAROVICH

**INSULIN PREPARATLARI TARKIBIDAGI M-KREZOL VA FENOLNI
YUSSX VA SPEKTROSKOPIK ANIQLASH USULLARINI ISHLAB
CHIQISH**

02.00.02 – Analitik kimyo

**KIMYO FANLARI BO'YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

Toshkent – 2024

Kimyo fanlari bo'yicha falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B2022.3.PhD/K530 raqam bilan ro'yxatga olingan.

Dissertatsiya O'zbekiston Milliy universitetida bajarilgan.

Dissertatsiya avtoreferati uchta tilda (o'zbek, rus, ingliz (rezyume) Ilmiy kengash veb-sahifada (www.ik-kimyo.nuu.uz) va «ZiyoNET» Axborot-ta'lim portalida (www.ziynet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar:

Smanova Zulayxo Asanaliyeva
Kimyo fanlari doktori, professor

Rasmiy opponentlar:

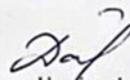
Abduraxmanov Ergashboy
kimyo fanlari doktori, professor
Ziyaviddinov Jamoliddin Fazliddinovich
kimyo fanlari doktori, professor

Yetakchi tashkilot:

Toshkent farmatsevtika instituti

Dissertatsiya himoyasi O'zbekiston Milliy universiteti huzuridagi ilmiy darajalar beruvchi DSc.03/30.12.2019.K.01.03 raqamli Ilmiy kengashning 2024 yil « 15 » iyun soat 9⁰⁰ da majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 100174, Toshkent sh. Universitet ko'chasi, 4. Tel.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; faks: (+99871) 246-53-21; e-mail: ilmiykengash@nuu.uz. Dissertatsiya bilan O'zbekiston Milliy universitetining Axborot-resurs markazida tanishish mumkin (___ raqam bilan ro'yxatga olingan). Tel.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; faks: (+99871) 246-53-21;

Dissertatsiyaning avtoreferati 2024 yil « 31 » 05 da tarqatildi.
(2024 yil « 30 » 05 da 20 raqamli reestr bayonnomasi).



Sh.Sh. Daminova
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy
kengash raisi k.f.d., professor



N.X. Qutlimurotova
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy
kengash ilmiy kotibi, k.f.d.

B.N. Babayev
Ilmiy darajalar beruvchi ilmiy
kengash qoshidagi ilmiy
seminar raisi, k.f.d., dotsent

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Bugungi kunda fenollar va uning hosilalari farmatsevtika, tibbiyot, qishloq xo‘jaligida muhim komponent hisoblanib, fenol-formaldegid smolalari, fenol asosidagi polimerlar, insilunni konservatsiya qilishda va boshqa moddalar olishda jahon sanoatida yiliga millionlab tonna ishlab chiqariladi. Xususan, farmatsevtikada insulin inektsiyalari tarkibidagi insulinning dimerlanish va yuqori molekulyar birikma holatlarga o‘tishiga to‘sqinlik qilish uchun m-krezol hamda fenol qo‘shiladi. Bundan tashqari, ular antibakterial moddalar sifatida ishlatiladi. Fenol va uning hosilalari zaharlilik xossasiga ega bo‘lib, inson salomatligiga, tirik organizm va atrof-muhitga zarar yetkazadi. Shuning uchun tahlilning aniq, tezkor usullarini ishlab chiqish muhim amaliy ahamiyatga ega.

Dunyoning yetakchi olimlari tomonidan turli funksional guruhlar tutgan adsorbentlar, ekstragentlar, modifikatsiyalangan sensorlar yordamida m-krezol va fenolni aniqlashning sezgirligi hamda selektivligini oshirish bo‘yicha ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Shu nuqtayi nazardan, yutilish spektroskopiyasiga asoslangan tezkor va selektiv yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulini ishlab chiqish katta ahamiyatga ega hisoblanadi. Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasini ishlab chiqishda xarakatsiz fazani tanlash, turli xil elyuentlarni va turli funksional guruhlarga ega qutbli hamda qutbsiz erituvchilar nisbatini aniqlash muhim ilmiy ahamiyat kasb etadi.

Bugungi kunda dunyoda farmatsevtika sanoatida kimyoviy jihatlar dori vositalari ishlab chiqarishda ham, oraliq va tayyor mahsulotlar sifatini nazorat qilish jarayonida ham, xom ashyo va materiallarning kirib kelishini nazorat qilishda ham muhim ahamiyatga ega. Shu sababli, dori vositalarining sifatini baholash uchun moddalarni aniqlashning muqobil, eng ilg‘or, yangi fizik-kimyoviy usullarini izlashga qiziqish ortib bormoqda. Tahlilning eng sodda, arzon, ekspress, ishonchli, universal, tejamkor usullarini ishlab chiqish katta amaliy ahamiyatga ega va dolzarbdir. Respublikamizda aholini dori vositalari bilan ta‘minlash tizimini takomillashtirish bo‘yicha kompleks chora-tadbirlar amalga oshirilib, mamlakatimiz farmatsevtika sanoatini rivojlantirish uchun qulay shart-sharoitlar yaratish borasida muayyan natijalarga erishilmoqda. Olib borilayotgan dasturiy chora-tadbirlar asosida mazkur yo‘nalishda ma‘lum yutuqlarga erishilgan, ayniqsa, insulin preparati tarkibidagi fenol va m-krezolni aniqlash sifat va miqdoriy aniqlash bo‘yicha keng qamrovli ishlar olib borilmoqda. Shu jumladan, muhim Yangi O‘zbekistonning taraqqiyot strategiyasi¹ bo‘yicha “Milliy iqtisodiyotning mutanosibligi va barqarorligini ta‘minlashda sanoat, ilm-fan, ishlab-chiqarishni modernizatsiya qilish, texnik va texnologik jihatdan yangilash, mahaliy xomashyo resurslarini qayta ishlash asosida yuqori qo‘shimcha qiymatli tayyor mahsulot ishlab chiqarishni jadal rivojlantirish” vazifalari belgilab berilgan. Bu yo‘nalishda farmatsevtika sanoatini jadal rivojlantirish, import o‘rnini bosuvchi dori vositalarini yaratish, dori vositalarini tahlil qilishning yuqori samarali, zamonaviy tezkor usullarini ishlab

¹O‘zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022 yil 28-fevraldagi PF-60-son “Yangi O‘zbekistonning taraqqiyot strategiyasi” to‘g‘risidagi Farmoni.

chiqish katta ahamiyatga ega. Mazkur dissertatsiya tadqiqoti O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022-yil 21-yanvardagi "2022-2026 yillarda respublika farmatsevtika tarmog'ini jadal rivojlantirishga doir qo'shimcha chora-tadbirlar to'g'risida"gi PF-55-sonli Farmoni, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 10-apreldagi "2019-2021-yillarda respublika farmatsevtika tarmog'ini rivojlantirishni jadallashtirish bo'yicha keyingi chora-tadbirlar to'g'risida"gi PF-5707-sonli Farmoni, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2020-yil 2-martdagi PQ-5953-sonli "2022-2026-yillarda Yangi O'zbekistonni rivojlantirish strategiyasi¹ to'g'risida"gi 1 2022-2026-yillarda, O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2019-yil 6-maydagi PQ-4310-sonli qarori tibbiyot va farmatsevtika ta'limi va fan tizimini yanada rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risida"gi, O'zbekiston Respublikasi Vazirlar Mahkamasining 2020-yil 30-martdagi 188-son qarori "Andijon-farm" erkin iqtisodiy zonasi hududida farmatsevtika mahsulotlari ishlab chiqaruvchi korxonalar tashkil etish chora-tadbirlari to'g'risida"gi, shuningdek, boshqa normativ-huquqiy hujjatlarda ushbu sohada qabul qilingan xorijiy huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni bajarishga ma'lum darajada xizmat qilmoqda.

Tadqiqotlarning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo'nalishlariga mosligi. Mazkur tadqiqot respublika fan va texnologiyalar rivojlanishining VII "Kimyoviy texnologiyalar va nanotexnologiyalar" ustuvor yo'nalishlariga muvofiq bajarilgan.

Muammoni o'rganilganlik darajasi. Insulin tarkibidagi fenol va m-krezolni yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli yordamida aniqlashga adsorbentlar, ekstragentlar, modifikatorlar erituvchilar va elyuentlarni tanlash bo'yicha tadqiqotlar jahon ilmiy markazlarida jadal olib borilmoqda.

Dunyoning yetakchi ilmiy markazlarida m-krezol va fenolni aniqlash bo'yicha olib borilayotgan tadqiqot ishlari kimyoviy, elektrokimyoviy, optik, xromatografik usullarga bag'ishlangan. Xorijlik limlardan E.D.Styuart, R.F.Styuart, T.V.Vorobiyeva, A.V.Terletskeya, N.F.Kushchevskaya, G.K.Budnikov, Yu.A.Zolotov, V.I.Vershinin, R.M.Xatmullina, V.I.Safarova, A.T.Magasumova, I.M.Kitayeva, F.X.Kudasheva, E.M.Chernix, L.V.Tropynina, A.V.Kartashova, I.V.Jilina, P.V.Romanov, L.Sursyakova, G.V.Burmakina, A.I.Rubailo, V.I.Antonova, Ya.I.Korenman, E.A.Podolina, O.B.Rudakov, A.V.Bulatov, E.A.Mixaylova, I.I.Timofeyeva, A.L.Moskvin, L.N.Moskvin, M.N.Klyachina, S.A.Denisova, Yu.A.Vandakurova, V.V.Sursyakova, E.M.Basova, V.M.Ivanov, K.V.Novikova, E.A.Horochordina, Chan Hai Dang, M.C.Antonova, V.A.Ivanova, P.V.Shiligin, S.Siggia, J.Xanna, I.M.Korenman, Yu.V.Vidimkin va boshqalar shu yo'nalishlarda ilmiy izlanishlar olib borganlar.

O'zbekistonda m-krezol va fenolni yutilish spektroskopiyasiga asoslangan yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usuli bo'yicha tadqiqotlar o'tkazilmagan.

Dissertatsiya mavzusi dissertatsiya bajarilgan oliy ta'lim muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari bilan bog'liqligi. Dissertatsiya tadqiqoti A.12.53 "Atrof muhit obektlarida ekotok-sikantlarni fotometrik va sorbsion-fotometrik aniqlash usullarini ishlab chiqishda polimer tashuvchilarga immobillangan reagentlar" (2015-2017-yy) mavzusidagi fundamental va amaliy loyihalar doirasida bajarilgan. **Tadqiqotning maqsadi** insulin tarkibidagi m-krezol va fenolni yutilish

spektroskopiyasiga asoslangan yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usulini ishlab chiqishdir.

Tadqiqotning vazifalari:

insulin preparatlaridagi m-krezol va fenol uchun yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli hamda spektrofotometrik usulini ishlab chiqish;

m-krezol va fenolni aniqlashning optimal sharoitlar (muhit (pH), kontsentratsiya, vaqt)ni tanlash;

optimal harakatsiz fazani tanlash (xromatografik kolonka), eng yaxshi elyuentlarni (qutbli va qutbsiz erituvchilar) m-krezol va fenolni bir-biridan ajratish uchun ularning nisbatlarini topish;

ishlab chiqilgan yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulini tayyorlangan model dori vositalarini tahlil qilishga qo'llash;

ishlab chiqilgan usullarning ishonchligini matematik-statistik usullar bilan hisoblash.

Tadqiqotning obyekti – m-krezol va fenol konservantlari saqlovchi “Juslin R”, ”Juslin N” va “Juslin 30/70” inektsion insulin dori mahsulotlari hisoblanadi.

Tadqiqotning predmeti YSSX va spektroskopik usullarni ishlab chiqish uchun insulin preparatlaridagi m-krezol hamda fenol miqdorini aniqlash.

Tadqiqotning usullari: Tadqiqot ishini bajarishda spektrofotometrik, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi va matematik-statistika usullaridan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

insulin ishlab chiqarishda qo'shiladigan m-krezol va fenol xom ashyolarini kislotali muhitda $FeCl_3$ bilan kompleks hosil qilishiga asoslangan qulay hamda sodda spektrofotometrik aniqlash usuli ishlab chiqilgan;

insulin preparatlari tarkibidagi m-krezol va fenolni chinligini tekshirish hamda miqdoriy aniqlashda tezkorlikni oshirish uchun fosfat kislotali elyuent qo'llash orqali yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usuli takomillashtirilgan;

ishlab chiqilgan yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasida Poroshell 120 EC-C18 2,1×50 mm 1,9 mkm kolonka, oqim tezligi 1 ml/min, kolonka harorati 40 °C da, DAD-273 nm detektorni qo'llanilganda, fenolni 0,260 min, m-krezolni 0,381 minutda, ajralish oraliq'i 0,121 minut bo'lganda, 0,976 mkg/ml quyi aniqlash chegarasigacha hamda m-krezolni 0,587 mkg/ml gacha fenolni aniqlash mumkinligi isbotlangan;

ishlab chiqilgan yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usullari “Juslin R”, “Juslin N” hamda “Juslin 30/70” inektsion insulin preparatlari tarkibidagi fenol va m-krezolni aniqlashga qo'llanilgan.

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

“Zamin Bio Health” MChJda inektsion insulin preparatlar “Juslin R”, “Juslin N”, hamda “Juslin 30/70” larini ishlab chiqarish jarayonida va ularning tayyor mahsulotlarini tahlil qilish uchun yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasiga asoslangan standart sinov usuli ishlab chiqilgan hamda fenolni 0,976 mkg/ml quyi aniqlash chegarasigacha hamda m-krezolni 0,587 mkg/ml gacha aniqlash imkoniyatiga egaligi keltirilgan;

“Juslin R”, “Juslin N”, hamda “Juslin 30/70” insulin inektsiyalari tarkibidagi fenol va m-krezolni yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli yordamida bitta na'muna tarkibidan 0,121 minut ajralish bilan aniqlash imkoniyati yaratilgan.

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi olingan natijalarni matematik-statistika usulida tahlil qilish hamda standart namunalar bilan taqqoslash, “kiritildi-topildi” va boshqa metodlar bilan taqqoslash yordamida asoslangan.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati. Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati shundan iboratki, fenol va m-krezolni insulin ishlab chiqarish xom ashyosini miqdoriy aniqlashda kislotali muhitda temir(III) xlorid bilan rangli kompleks hosil qilish orqali spektrofotometrik usulda hamda ularni insulin tarkibidan bitta eritmada birgalikda hamda tezkorligi 9 marta oshgan holda aniqlashning yuqori samarali suyuq xromatografiya usullarini takomillashtirilganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati shundan iboratki, ishlab chiqilgan usul “Juslin R”, “Juslin N” hamda “Juslin 30/70” insulin inektsiyalari tarkibidagi fenol va m-krezolni bir-biriga halaqit bermasdan, mikrogramm miqdorgacha aniqlash mumkinligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarini joriy qilinishi. Ishlab chiqilgan yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulini elyuent sifatida fosfat kislota va atsetonitril elyuentlarni qo'llash orqali takomillashtirilib, m-krezol va fenolni aniqlash usulining natijalari asosida:

m-krezol va fenolni aniqlashning yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usullari “Zamin Bio Health” MChJda inektsion insulin “Juslin R” preparatini ishlab chiqarish amaliyotga joriy etilgan va O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi huzuridagi Farmatsevtika tarmoqlarini rivojlantirish agentligining huzuridagi “Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi markazi” davlat muassasasining farmakopiya komiteti tomonidan insulin tarkibidagi metakrezolni aniqlash farmakopiya maqolasi o'zgartirish kiritilgan (O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi huzuridagi Farmatsevtika tarmoqlarini rivojlantirish agentligining huzuridagi “Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi markazi” davlat muassasasining farmakopiya komitetining 2023-yil 20-iyundagi NH 42 Uz-7852-2019-sonli maqolasi). Natijada m-krezol va fenolni yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli bilan aniqlash vaqti 9 martaga qisqartirish imkonini bergan;

m-krezol va fenolni aniqlashning yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usullari “Zamin Bio Health” MChJda in'ektsion insulin “Juslin N” preparatini ishlab chiqarish amaliyotga joriy etilgan va O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi huzuridagi Farmatsevtika tarmoqlarini rivojlantirish agentligining huzuridagi “Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi markazi” davlat muassasasining farmakopiya komiteti tomonidan insulin tarkibidagi metakrezolni aniqlash farmakopiya maqolasi o'zgartirish kiritilgan (O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi huzuridagi Farmatsevtika tarmoqlarini rivojlantirish agentligining huzuridagi “Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi markazi” davlat muassasasining farmakopiya komitetining 2023-yil 20-iyundagi NH 42 Uz-7853-2019-sonli maqolasi). Natijada, m-krezol va fenolni yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli bilan aniqlash vaqti 9 martaga qisqartirish imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarini aprobatsiyasi. Tadqiqot natijalari 10 ta ilmiy-amaliy anjumanlarda, jumladan, 4 ta xalqaro va 6 ta respublika miqyosida o'tkazilgan ilmiy-amaliy anjumanlarda ma'ruza qilingan hamda muhokama qilingan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinganligi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha 15 ta ilmiy maqola, shu jumladan, O'zbekiston Respublikasi Oliy attestatsiya komissiyasi tomonidan dissertatsiyalarning asosiy ilmiy natijalarini chop etish uchun tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 5 ta ilmiy maqola, xususan, respublika miqyosida 4 ta va 1 ta maqola xorijiy jurnallarda chop etilgan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya kirish, to'rtta bob, xulosa, foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati va ilovalardan iborat. Dissertatsiya hajmi 114 bet.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Dissertatsiyaning "**Kirish**" qismida o'tkazilgan tadqiqotlarning dolzarbligi va zarurati, maqsad va vazifalari asoslab berilgan, tadqiqot obekti va predmeti aniqlangan, tadqiqotning Respublika fan va texnologiyalari rivojlantirishning ustuvor yo'nalishlariga muvofiqligi ko'rsatilgan. O'zbekistondagi ilmiy-tadqiqot ishlarining ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilingan, olingan natijalarning ishonchliligi asoslangan, nazariy va amaliy ahamiyati ochib berilgan, tadqiqot natijalarini amaliyotga tatbiq etish istiqbollari bo'yicha xulosa qilingan hamda nashr etilgan ishlar va dissertatsiya tuzilishi haqida ma'lumotlar keltirilgan.

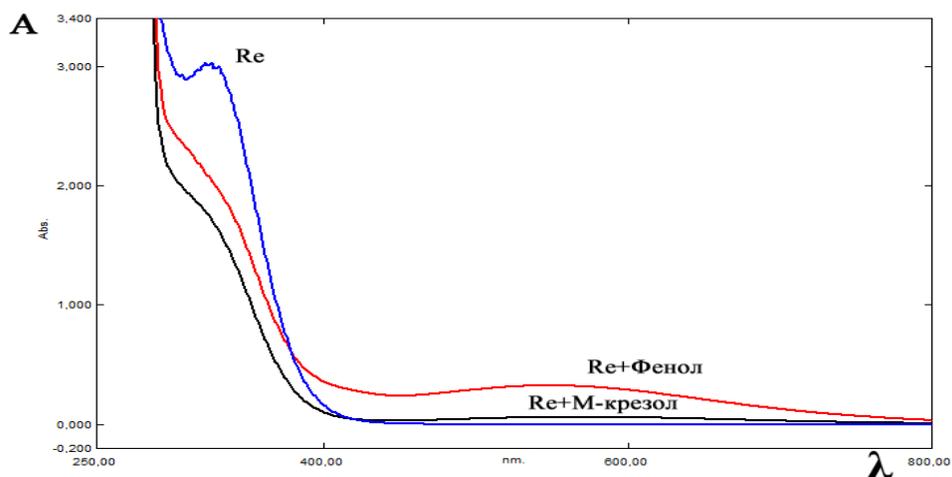
Dissertatsiyaning "**M-krezol va fenolni aniqlashning fizik-kimyoviy usullari (Adabiyotlar sharhi)**" nomli birinchi bobida adabiyotlar tahlili ma'lumotlari asosida m-krezol va fenol ishlab chiqarishga bo'lgan talab, ularni alohida va fenol indeksi, fenollik toksikantlar va antioksidantlar ko'rinishida aniqlashning analitik usullari o'rganilgan. m-krezol va fenolning miqdoriy tarkibini aniqlash usullarini tanlash bo'yicha tahlil o'tkazilgan. Mavjud va ishlab chiqilgan tahlil usullari (UB spektrning ko'rinadigan sohalaridagi spektrometriya, YuSSX, fenol va m-krezol uchun sifat reaksiyalar), shuningdek, validatsiyadan o'tishi kerak bo'lgan analitik usullar, validatsiyaning xususiyatlari va talablari tavsiflangan. Adabiyot ma'lumotlarini tahlil qilish shuni ko'rsatdiki, m-krezol va fenolni tahlil qilishning yangi usullarini ishlab chiqish, shuningdek, ularni amaliyotga tatbiq etish tahlil jarayonini sezilarli darajada tezlashtiradi va tahlil natijalarining ishonchliligini oshiradi.

Dissertatsiya ishining ikkinchi bobi "**Tadqiqot materiallari, usullari va ob'ektlari**" deb nomlangan va m-krezol hamda fenolni aniqlashda qo'llanilgan, standart va farmakopeya namunalari, temir(III) ioni, moddalar ro'yxati, hamda aniqlashda qo'llanilgan usullar, kimyoviy va farmatsevtik tahlil uchun uskunalari keltirilgan.

Dissertatsiya ishining uchinchi bobi "**M-krezol va fenolni spektrofotometriya va yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi bilan aniqlash uchun sharoitlarni optimallashtirish**" deb nomlangan va unda m-krezol hamda fenolni spektrofotometrik va yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulida aniqlashga ta'sir qiluvchi omillar, ya'ni optimal sharoitlari tanlanish va natijalarning analitik parametrlari hamda metrologik xarakteristikasi o'rganilgan.

M-krezol va fenolni spektrofotometrik aniqlashda ularning FeCl_3 eritmasi bilan kompleks hosil qilish imkoniyatidan foydalanildi. Bunda fenol va m-krezol

ultrabinafsha sohada 273 nm nur yutishiga nisbatan temirli komplekslarning nur yutishiga asoslanib, miqdoriy tahlil olib borilgan va olingan natijalar 1-rasmda keltirilgan.



1. rasm. m-krezol va fenolning temir(III) ioni bilan komplekslarining yutilish spektrlari.

Rasmdagi ma'lumotlardan ko'rinib turibdiki, temir(III) ionni tutgan reagent eritmasi bilan fenol va m-krezollarning temirli komplekslari nur yutish maksimumlari farqi $\Delta\lambda$ 200 nm dan yuqoriligi aniqlandi. Bu esa yuqori selektivlik bilan ularni temir(III) ionni bilan kompleks hosil bo'lishi reaksiyasi asosida tekshirishlar olib borish imkonini yaratadi.

M-krezol va fenolning temir(III) ionni bilan kompleks hosil qilishiga muhitning hamda vaqtning ta'siri o'rganildi. Olingan natijalar 1,2-jadvallarda keltirildi.

1-jadval

Temir(III) ionlari bilan m-krezol va fenolning kompleks hosil bo'lishida optik zichlikning muhitning pH ga bog'liqligi ($\lambda_{M-KP}=567\text{nm}$, $\lambda_{\Phi}=549\text{nm}$)

pH	2	3	4	5	6	7	8	9
m-krezol $\lambda=567$	0.028	0.027	*	*	*	*	*	*
Fenol $\lambda=549$	0.115	0.111	*	*	*	*	*	*

*- temir(III) ionni erimaydigan $\text{Fe}(\text{ON})_3$ holatiga o'tadi

Kompleks hosil bo'lish reaksiyasi borishi uchun kislotali muhit zarur, chunki temir(III) ionni pH oshsa cho'kmaga tushib qoladi, optimal muhit sifatida m-krezol va fenolning temir(III) ionni bilan maksimal kompleks hosil qilishi pH 2-3 oralig'ida kuzatildi. Shundan kelib chiqib, optimal muhit pH 2-3 deb tanlandi.

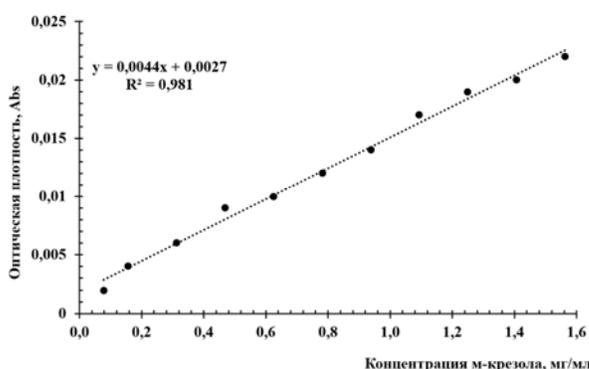
2- jadval

m-krezol ($\lambda=567\text{nm}$) va fenolning ($\lambda=549\text{nm}$) temir(III) ionni bilan kompleks hosil bo'lishining vaqtga bog'liqligi

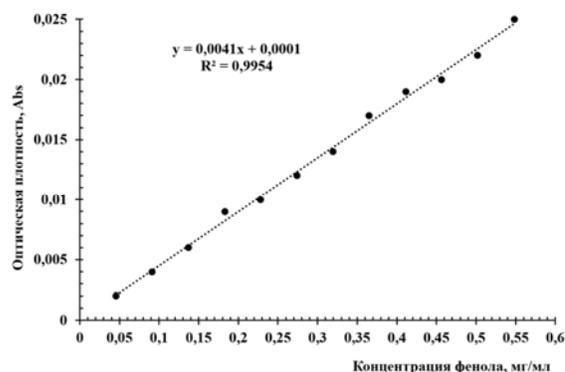
t min.	1	3	5	10	15	20	25	30	40
m-krezol	0,005	0,06	0,008	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012
fenol	0,03	0,05	0,090	0,110	0,110	0,110	0,110	0,110	0,110

Yuqoridagi qiymatlardan: m-krezol va fenolning temir(III) ion bilan hosil qilgan kompleksi 10 daqiqadan keyin ham barqaror ekanligi, optik zichlikning o'zgarish va qayta takrorlanuvchan natijalari aniqlandi.

Fenol va m-krezolni temir(III) ion bilan aniqlashda fenol va m-krezol konsentratsiyasining Lambert-Buger-Ber qonuniga bo'ysunishi o'rganildi. Bunda fenol va m-krezol konsentratsiyasining o'zgaruvchan konsentratsiyasining analitik signalga bog'liqlik grafigi chizildi hamda korrelyatsiya koeffitsiyenti topildi. Olingan natijalar 2,3-rasmda va 3-jadval keltirildi.



2. rasm. Optik zichlikning m-krezol konsentratsiyasiga bog'liqligi



3. rasm. Optik zichlikning fenol konsentratsiyasiga bog'liqligi

3-jadval

m-krezol va fenolning turli konsentratsiyalari uchun chiziqlilik tadqiqotlari

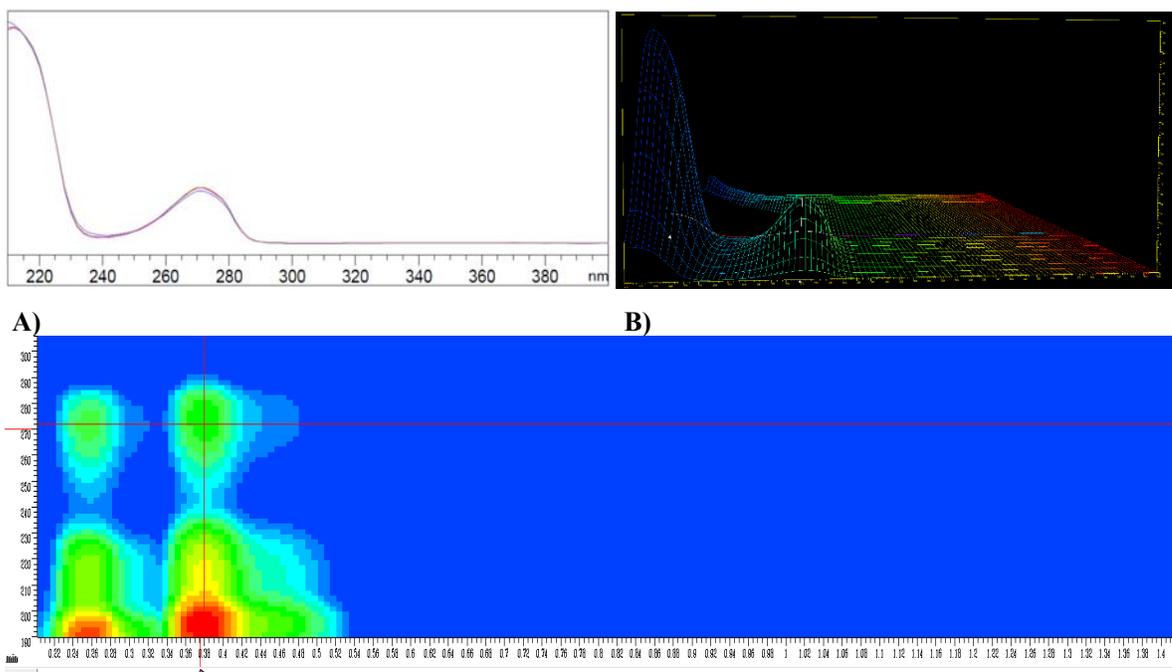
№	Hajm, ml	m-krezolning konsentratsiyasi, mg/ml	Optik zichlik, Abs	Hajm, ml	Fenolning konsentratsiyasi, mg/ml	Optik zichlik, Abs
1	0,25	0,078	0,0020	0,5	0,046	0,0020
2	0,5	0,156	0,0040	1,0	0,091	0,0040
3	1,0	0,313	0,0080	1,5	0,137	0,0060
4	1,5	0,469	0,0105	2,0	0,183	0,0090
5	2,0	0,625	0,0120	2,5	0,228	0,0100
6	2,5	0,781	0,0150	3,0	0,274	0,0120
7	3,0	0,938	0,0165	3,5	0,319	0,0140
8	3,5	1,094	0,0190	4,0	0,365	0,0170
9	4,0	1,250	0,0200	4,5	0,411	0,0190
10	4,5	1,406	0,0220	5,0	0,456	0,0200
11	5,0	1,563	0,0240	5,5	0,502	0,0220
12	-	-	-	6,0	0,548	0,0250

Natijalardan ko'rinadiki, fenol va m-krezolning Lambert-Buger-Ber qonuniga bo'ysunishi m-krezol uchun 0,078-1,563 mg/ml konsentratsiya oralig'ida, fenol

uchun 0,046-0,548 mg/ml oralig'ida ekanligi aniqlandi, mos ravishda korrelyatsiya koeffitsiyenti (R^2) fenol uchun 0,9961, m – krezol uchun 0,9810 ni tashkil etdi. Bu esa usulning yetarlicha sezgirlikka ega ekanligini ko'rsatadi.

M-krezol va fenolni aniqlashning YuSSX usullarini ishlab chiqish

YuSSX usulida optimal sharoit tanlash uchun kolonka turini va aniqlanayotgan moddaning maksimal nur yutish sohasini aniqlash zarur. Buning uchun m-krezol va fenolning 32 mkg/ml m-krezol va 14,6 mkg/ml fenol konsentratsiyali standart eritmalaridan olib, turli xil kolonkalarda sinab ko'rildi. Analitik signal modda konsentratsiyasiga to'g'ridan to'g'ri ta'sir etuvchi kattalik hisoblanganligi uchun, maksimal analitik signal olish mumkin bo'lgan to'lqin uzunligini tanlandi. Olingan natijalar 4-rasmda keltirildi.



V)
4- rasm. M-krezol va fenolning optimal nur yutish sohasini YuSSX da aniqlash(A) 2D nur yutishining optik zichlikka bog'liqligi, B) 3D- nur yutishining optik zichlikka bog'liqligi, V) absorbsiya intensivligining rang shkalasiga bog'liqligi).

Rasmlardan ko'rinadiki, m-krezol va fenolni eng yaxshi ajratuvchi kolonka C-18 tanlab olindi. YuSSX usulida fenol va m-krezolning xromatogrammalarida optimal to'lqin uzunligi 273 nm ekanligi aniqlandi hamda shu to'lqin uzunliklarida ishonchli natijalar olinadi.

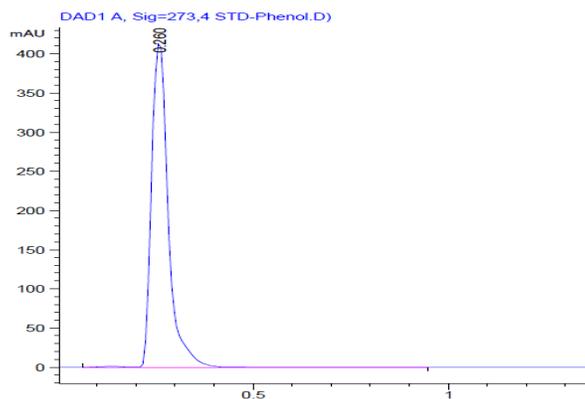
Fenol va m-krezol kuchli kislota-asoslilik xossasini namoyon qilmagani sababli, ionalmashinuvchi xromatografik usulini ishlatib bo'lmaydi. Shu sababli, tahlil qilinuvchi moddalarni ajratish sharoitlarini ishlab chiqish uchun teskari fazali YuSSX dan foydalanish taklif qilindi.

Juslin R 2,5 mg/ml m-krezol va Juslin N, Juslin 30/70 insulinlari tarkibida 1,6 mg/ml m-krezol va 0,73 mg/ml fenol saqlaydi, shuning uchun tadqiqot davomida ular kislotali muhitda erigan holatda bo'ladi, shuning uchun ularning 0,01 M HCl dagi eritmalaridan foydalanildi.

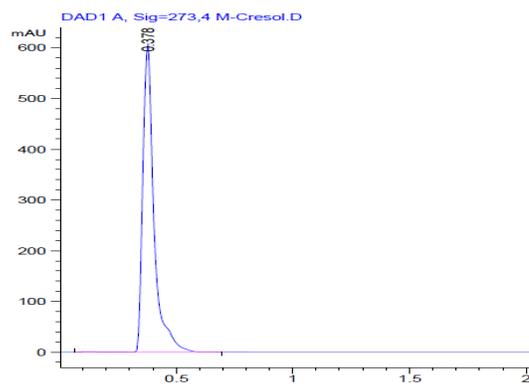
YuSSX tahlilida inektsiya uchun USP standartlaridan namuna tayyorlandi. 25 mg m-krezol standartini 100 mlli kolbada (“Juslin R” uchun) 0,01 M HCl eritmasi bilan eritilib, hosil bo‘lgan eritmada aniq 5 ml o‘lchab olib, 50 ml li kolbaga o‘tkazildi va 25 mkg/ml m-krezol tutgan eritmasi hosil qilindi. Huddi shunday, 32 mg m-krezol va 14,6 mg fenol alohida 100 ml kolbalarga tortilib, bir xil erituvchida eritildi. Olingan dastlabki eritmalaridan 5 ml ini 50 ml sig‘imli alohida o‘lchov kolbalariga o‘tkazildi va 0,01 M HCl eritmasi bilan belgisigacha keltirildi. Shu bilan birga, Juslin N va Juslin 30/70 ni tahlil qilish uchun 32 mkg/ml m-krezol hamda 14,6 mkg/ml fenol konsentratsiyali eritmalar tayyorlandi.

Namunaviy obekt sifatida m-krezol va fenolni ajratish uchun Juslin N hamda Juslin 30/70 uchun dastlabki eritmalaridan 5 ml dan olinib, 50 ml li bitta kolbaga o‘tkazildi va eritma 0,01 M HCl eritmasi bilan belgisigacha keltirildi. Poroshell 120 EC-C18 2,1×50 mm zarrachalar diametri 1,9 mkm bo‘lgan kolonka tanlandi. Elyuent sifatida atsetonitril bilan 70:30 nisbatda o-fosfat kislotasining 0,1 %li suvdagi eritmasi, pH-3,00±0,1 bufer eritmasi sifatida qabul qilingan, 700 MPa bosimda analiz qilindi.

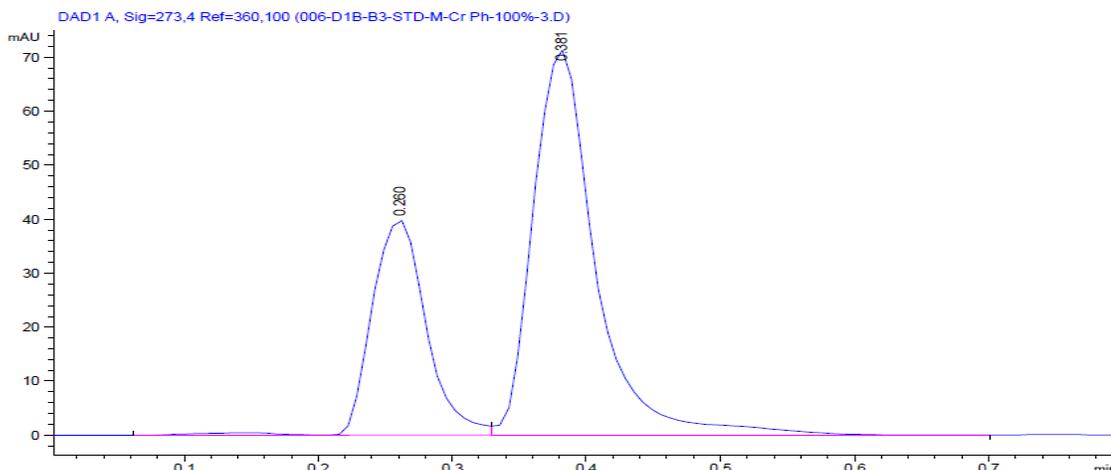
Analitlar past qutbli birikmalar bo‘lgani uchun ($\log P \leq 2,5$), teskari fazali YuSSX usulidan foydalanganda, statsionar faza sifatida lipofil payvand guruhlariga ega, oktatetsisilan silikagelli sorbentlardan foydalanildi. Tizimdagi bosimni ko‘tarilib ketmasligi uchun 1 ml/min oqim tezligi tanlangan. Kolonka harorati 40 °C, DAD-273 nm detektor, inektsiya hajmi 10 µl, YuSSX Agilent 1290 Infinity II ishlatildi. Fenol va m-krezolni chiqish vaqtini aniq bilish uchun alohida tahlil qilinuvchi moddalarning xromatogrammasi, m-krezol va fenol aralashmasining xromatogrammasi olindi, olingan natijalar 5-7-raslarda keltirildi.



5. rasm. Fenol standart eritmasining xromotogrammasi.

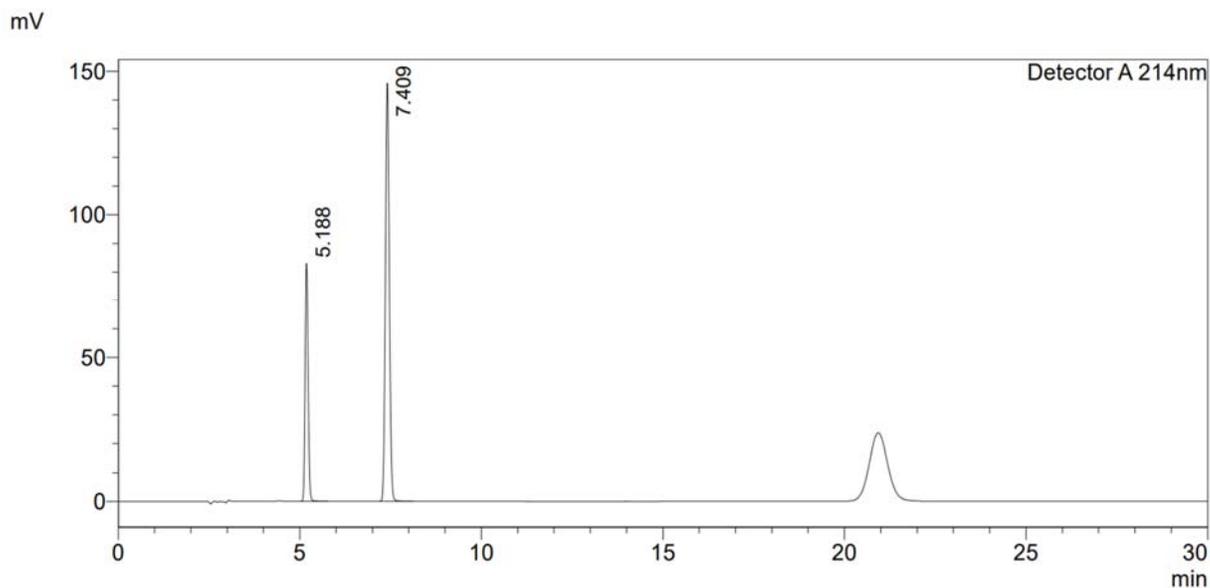


6. rasm. m-krezol standart eritmasining xromotogrammasi.



7. rasm. Fenol va m-krezol aralashmasi eritmasining xromatogrammasi.

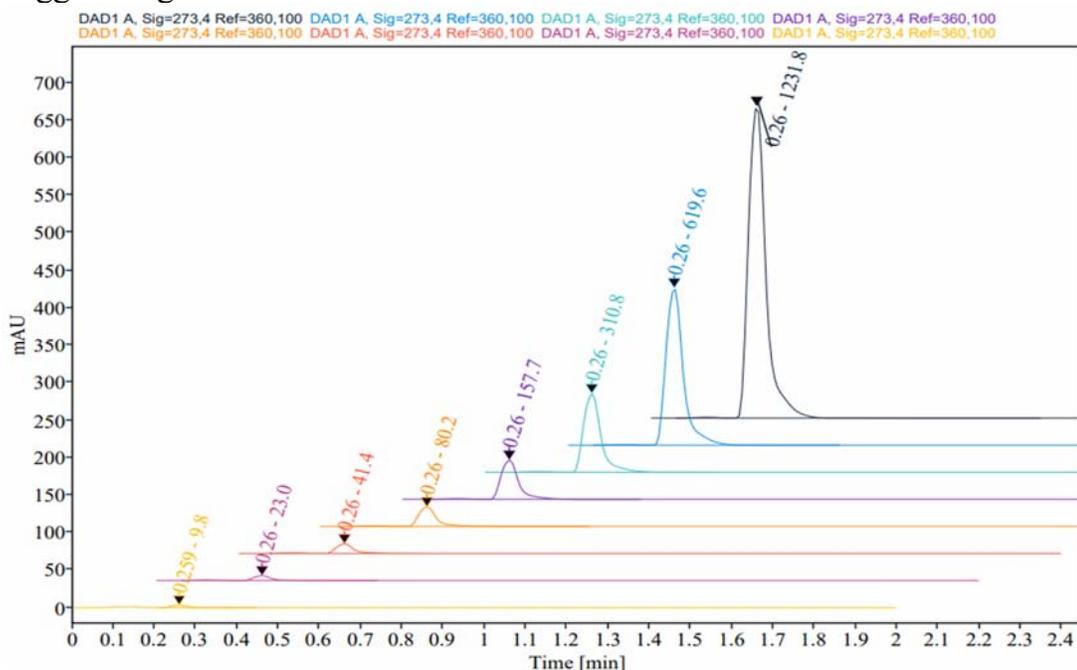
Xromotogrammalardan, fenol va m-krezolning bitta namuna tarkibidan ajralishi fenol uchun 0,260 min, m-krezol uchun 0,381 minutda, ajralish oralig'i 0,121 minutda kuzatildi. Oldin qo'llanilgan miqdoriy aniqlash usuli standart va sinov eritmalarini, harakatchan fazalarni tayyorlash uchun ketadigan vaqtni hisobga olmagan holda 6 soat (tahlil va kolonkani yuvishga) vaqt sarflangan (bunda bir marttalik xromotografik tahlilga 30 daqiqa sarflangan 8-rasm), biz ishlab chiqayotgan yangi usulda esa 40 daqiqa sarflangan. Bu esa, fenol va m-krezolni insulinning tayyor preparatidagi hamda ishlab chiqarish jarayoni vaqtida sifat va miqdoriy tarkibini samarali nazorat qilish uchun minimal vaqt sarf bo'lishini ko'rsatadi.



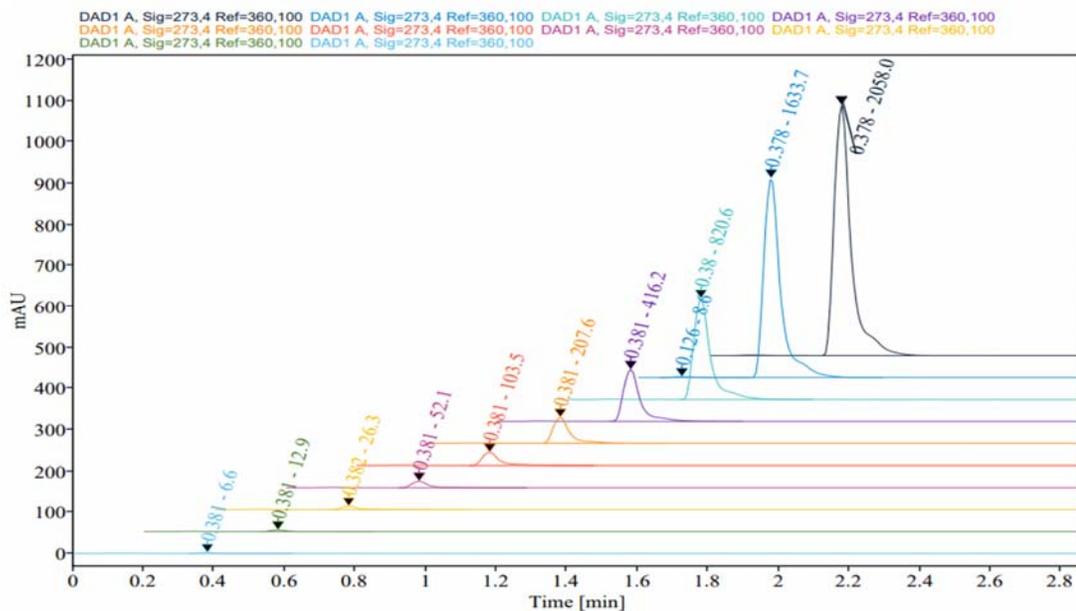
8. rasm. Jusline 30-70 dorisi tarkibidagi konservantlar fenol va m-krezolni aniqlash uchun avvalgi foydalanilgan usulda olingan xromatogrammasi (5,18 daqiqada-fenol, 7,4 daqiqada-m-krezol va 21 daqiqada-insulin).

Fenol va m-krezolni YuSSX usulining quyi aniqlash chegarasi aniqlandi. Olingan natijalar 8,9-raslarda keltirilgan, xromatogrammalar ustma-ust tushganda

bir-birini qoplab ketmasligi uchun ular bir-biridan vaqt o'qi bo'yicha 0,2 daqiqaga o'ngga surilgan.



9. rasm. 0,29-150,23 mkg/ml li fenol eritmalarining xromatogrammalari.



10. rasm. 0,976-321,98 mkg/ml li m-krezolning eritmalarining xromatogrammalari.

Xromatogrammadagi ma'lumotlar, fenol uchun quyi aniqlash chegarasi 0,29 mkg/ml va m-krezol uchun 0,976 mkg/ml ekanligi aniqlangan. Olingan natijalarda har xil konsentratsiyali fenol va m-krezolning chiqish vaqtlari orasidag farq 2%dan oshmagan, bu esa YuSSX usulining yuqori aniqlikga ega ekanligini ko'rsatadi.

Dissertatsiyaning to'rtinchi bobi **“Ishlab chiqilgan yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulida m-krezol va fenolni aniqlash usulini real obyektlarga qo'llash hamda olingan natijalar validatsiyasi”** deb nomlangan

bo'lib, unda "Juslin R" insulindagi m-krezolni, "Juslin N" va "Juslin 30/70" insulinlarida m-krezol hamda fenolni aniqlashga qo'llanilgan.

Fenol va m-krezolni YuSSX usulida aniqlashda xona harorati 20-25 °S oralig'ida, namlik 65%dan oshmasligi kerak.

M-krezolni aniqlash usulini validatsiya qilishda o'ziga xoslik, usulning chiziqiligi, qayta takrorlanuvchanlik, to'g'rilik ko'rsatkichlarini tasdiqlash parametrlari tekshirildi.

"Juslin R" insulindagi m-krezol va "Juslin N" hamda "Juslin 30/70" insulindagi m-krezol va fenollarni aniqlash uchun YuSSX usulini ishlab chiqishda quyidagi tahlil parametrlari tajriba yo'li bilan aniqlangan.

Eritma B. Bufer eritmasi pH-3,0 ± 0,1, taxminan 1,0 ml konsentrlangan fosfat kislotasi eritmasi 1 litr UTSda eritiladi va eritmaning pH qiymati 0,1 M fosfat kislotasi eritmasi ishlatiladi.

Eritma A. Atsetonitril YuSSX tozaligidagi.

Xarakatchan faza tayyorlash. A:B (30 : 70) hajmiy nisbatlardagi eritmasini yaxshilab aralashtirib, 0,45 mkm filtr orqali filtrlanadi, ultratovushli suv hammomi yordamida harakatchan faza gazzizlantiriladi.

Kolonka: InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 2,1x50 mm 1,9-µm yoki ekvivalenti, oqim tezligi: 1,0 ml/min. detektor: DAD 273 nm, inyektsiya hajmi: "Juslin R" uchun 3 µl, shuningdek "Juslin N" va "Juslin 30/70" uchun 10 µl, kolonka harorati: 40 °C. Erituvchi: 0,01 M HCl.

Navbat bilan eritmalar inyektsiya qilinadi va kamida 3 tadan xromatogramma olinadi. Hisoblash uchun STD (standart) eritmasi va sinov eritmasining xromatogrammalaridan foydalaniladi. Hisoblash uchun ishlatilmaydigan cho'qqilarni bor yoki yo'qligini aniqlash uchun uchinchi eritma blank sifatida 0,01 M xlorid kislotasi ishlatiladi.

"Juslin R"dagi m-krezolning miqdori 2,25 mg/ml dan 2,75 mg/ml gacha (e'lon qilingan miqdorning 90-110 %) bo'lishi kerak.

Juslin N va Juslin 30/70 dagi fenol 0,657 mg/ml dan 0,803 mg/ml gacha hamda m-krezol 1,44 mg/ml dan 1,76 mg/ml gacha bo'lishi kerak (e'lon qilingan miqdorning 90-110 % (0,73 mg/ml fenol va 1,6 mg/ml m-krezol uchun)).

Barcha hisob-kitoblar Microsoft Office Excel dasturida amalga oshirildi.

O'ziga xoslikni tekshirish uchun blank eritmasi, standart eritma va sinov eritmasi xromatografiya qilindi 4-5-jadvalda.

4-jadval

"Juslin R" inektsiyasi tarkibidagi m-krezolni YuSSXda aniqlashning o'ziga xosligini tekshirish (273 nm DM detektor, inyektsiya 3 µl)

Namuna	Chiqish vaqti, daqiqa	m-krezol, maydon
Blank	(0,2 dan 3,0 minutgacha)	Topilmadi
Standart eritma	0,377	52,61959
Sinov eritmasi (100%)	0,377	52,85621

5-jadval

“Juslin N” va “Juslin 30/70” inyektsiyalari tarkibidagi fenol hamda m-krezolni YuSSX da aniqlashning o‘ziga xosligini tekshirish
(273 nm DM detektor, inyektsiya 10 µl)

Namuna	Chiqish vaqti, daqiqa		Maydon	
	Fenol	m-krezol	Fenol	m-krezol
Blank	-	-	Topilmadi	
Standart eritma	0,260	0,381	112.15	232.33
Sinov eritmasi (100%)	0,260	0,380	113.10	232.08

4 va 5 jadvallardan standart eritma hamda sinalayotgan eritmalar xromatogrammalaridagi m-krezol va fenollarning chiqish vaqtlari bir-biriga mosligi hamda insulin tarkibidagi boshqa qo‘shimchalar aniqlashga ta’sir qilmasligi aniqlandi.

Ishlab chiqilgan usulning chiziqlilikni tekshirish uchun “Juslin R” ga m-krezol hamda “Juslin N” va “Juslin 30/70”larga m-krezol va fenol tutgan (konservantlar) konsentratsiyasi 80 % dan 100 % miqdordan 20 % ortiq bo‘lgan preparatlar tayyorlandi. Bunda konservant konsentratsiyasi 80 % bo‘lgan 3 ta, 90 % bo‘lgan 3 ta, 100 % bo‘lgan 3 ta, 100 % miqdordan 10 % ortiq bo‘lgan 3 ta va 100 % miqdordan 20 % ortiq bo‘lgan 3 ta eritmalar tayyorlandi va xromatogrammalari olindi. Analitik signalning(yuza) m-krezol va fenolning konsentratsiyalariga bog‘liqlik grafigi chizildi va chiziqlilik aniqlandi, olingan natijalar 6-jadvalda keltirildi.

6-jadval

Ishlab chiqilgan YuSSX usulida fenol va m-krezolni aniqlash natijalarining chiziqlilikini aniqlash

Statistik mezonlar	“Juslin R” uchun m-krezol natijalari	“Juslin N” va “Juslin 30/70” m-krezol natijalari	“Juslin N” va “Juslin 30/70” fenol natijalari
a	5.3366	22.95	10.882
b	+36.655	+ 163.01	+ 80.714
Korrelyatsiya koeffitsiyenti r.	0,9998	0,9999	0,9997

Aniqlanayotgan moddalar konsentratsiyasining analitik signalga bog‘liqligini aks ettiruvchi korrelyatsiya koeffitsiyentidan foydalanildi. Bunda “Juslin R”da m-krezol uchun 0,9998, “Juslin N” va “Juslin 30/70” da m-krezol uchun 0,9999, xamda fenol uchun 0,9997 ni tashkil qildi. Bu esa o‘z navbatida, konservantlarni e’lon qilingan miqdorning 80 % dan 100 % miqdordan 20 % ortiq bo‘lgan miqdorlari oralig‘ida tahlil qilganda ishonchli natijalarga erishish mumkinligini ko‘rsatdi.

Ishlab chiqilgan fenol va m-krezolni aniqlash usulining qayta tiklanuvchanligini aniqlash uchun m-krezolning 100 % konsentratsiyali preparatning 6 ta eritmalari tekshirildi. Tahlil har bir namuna uchun turli kunlarda, ikki kimyogar tomonidan, turli hajmli idishlarda amalga oshirildi. Qayta tiklanuvchanligini aniqlashda olingan natijalar 7-jadvallarda keltirildi.

7-jadval

Ishlab chiqilgan usulning “Juslin N”, “Juslin 30/70” dagi fenol va m-krezolni aniqlashning takrorlanuvchanligini (DAD-273 nm, inyeksiya hajmi 10 µl)

Statistik xarakteristikalar, %	Natijalar		Natijalar	
	1-kimyogar	2-kimyogar	1-kimyogar	2-kimyogar
	fenol	fenol	m-krezol	m-krezol
Eng past qiymat, mg/ml	14,69	14,63	31,86	31,83
Eng yuqori qiymat, mg/ml	14,76	14,72	31,91	31,91
O‘rtacha qiymati	14,72	14,66	31,885	31,875
Standart chetlanish	0,0223	0,0316	0,0217	0,0295
Variatsiya koeffitsiyenti	0,022	0,032	0,022	0,030
Ishonch oralig‘ining pastki chegarasi (P=95 %)	99,85	99,78	99,93	99,91
Ishonch oralig‘ining yuqori chegarasi (P=95 %)	100,15	100,22	100,07	100,09
$t_{kp}(5\%; 10)$ 2,228	1,9555		0,2558	
$F(5\%; 5; 5)$ 5,05	0,2187		0,1202	

aniqlikni baholash mezonlari: variatsiya koeffitsiyenti $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$), ishonch oralig‘i $F(5\%; 5; 5) \leq 5,05$, $t(5\%; 10) \leq 2,228$.

“Juslin R”, “Juslin N” va “Juslin 30/70” preparatlari tarkibidagi fenol hamda m-krezolning sifat va miqdoriy tarkibini aniqlash uchun YuSSX usullarini hozirgi kunda insulin tarkibidagi fenol hamda metakrezollarni aniqlash uchun foydalanib kelinayotgan tasdiqlangan usullar bilan qiyosiy tahlilini o‘tkazish talab etiladi. Shunga ko‘ra yangi ishlab chiqilgan YuSSX usul va hozirgi kunda foydalanilayotgan eski YuSSX usularining turli metrologik mezonlarning solishtirma ma’lumotlari 8-jadvalda keltirildi.

8-jadval

Ishlab chiqilgan YuSSX usulida Juslin R, Juslin N va Juslin 30/70 preparati tarkibidagi fenol hamda m-krezolni aniqlash natijalarining standart YuSSX usuli natijalarining validatsiyasi

Validatsiya ko'rsatkichlari	Qabul qilish mezonlari	Usullari					
		YuSSX yangi			Eski YuSSX		
		Jus. R	Jus. N va Jus. 30/70		Jus. R	Jus. N va Jus. 30/70	
		m-krezol	m-krezol	fenol	m-krezol	m-krezol	fenol
O'ziga xoslik	Blank, dorining boshqa komponentlari natijaga tasir etmaydi	Mos	Mos	Mos	Mos	Mos	Mos
Chiziqlilik	Korrelyatsiya koeffitsiyenti $\geq 0,99$	0,9998	0,9999	0,9997	0,9908	0,9908	0,9908
Qayta takrorlanuvchanlik	Variatsiya koeffitsiyenti $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, 1-seriya)	1,9991	1,955	0,2558	2,1856	2,1015	2,031
To'g'rilik	Javob omili: o'rtacha qiymat 97,5 - 102,5 %. Variatsiya koeffitsiyenti $\leq 2,0\%$.	O'rtacha qiymati: 100,13 % Variatsiya koef. 0,154 %	O'rtacha qiymati: 99,27 % Variatsiya koef. 0,288 %	O'rtacha qiymati: 99,90 % Variatsiya koef. 0,36 %	O'rtacha qiymati: 99,87 % Variatsiya koef. 0,86 %	O'rtacha qiymati: 99,93 % Variatsiya koef. 0,92 %	O'rtacha qiymati: 99,81 % Variatsiya koef. 0,72 %
Ekspresslik	Tahlili davomiyligi uchun vaqt (1 inyektsiya)	1 daq.	1 daq.	1 daq.	30 daq.	30 daq.	30 daq.
To'liq tahlil vaqti (stabillashish + standart eritmaning 6 inyektsiyasi + sinov eritmasining 2 inyektsiyasi) va kolonkani yuvishga		40 daq.	40 daq.	40 daq.	360 daq.	360 daq.	360 daq.

Jadvalda keltirilgan solishtirish natijasidan ma'lum bo'ldiki, ishlab chiqilgan YuSSX usulining barcha natijalari validatsiya mezonlarga mos kelganligini va standart YuSSX usuli natijalariga nisbatan ishonchliroq ekanligi isbotlandi.

XULOSALAR

1. Insulin ishlab chiqarishdagi m-krezol va fenol xom ashyosini kislotali muhitda FeCl_3 bilan kompleks hosil qilishga asoslanib spektrofotometrik usulda identifikatsiyalandi, ularni bitta eritmadan alohida ajratish va aniqlash uchun yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usuli tavsiya etildi hamda optimal sharoit sifatida pH 3 ga teng bo'lgan fosfat kislota va atsetonitrilning 70:30 nisbatdagi elyuenti tanlandi.
2. Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi Poroshell 120 EC-C18 2,1×50 mm 1,9 mkm kolonkasida, oqim tezligi 1 ml/daqqa, kolonka harorati 40°C da, DAD-273 nm detektori qo'llanilganda, ushlanish vaqtlari fenol uchun 0,260 daq., m-krezol uchun 0,381 daq.da, ajralishi 0,121 daqiqada bo'lganda, m-krezolni 0,976 mkg/ml quyi aniqlash chegarasigacha hamda fenolni 0,587 mkg/ml gacha aniqlash tavsiya etildi.
3. Ishlab chiqilgan yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli farmakopeyada tavsiya etilgan usullar bilan o'ziga xosligi, qayta takrorlanuvchanligi, to'g'ri chiziqiligi, to'g'riligi bo'yicha validatsiya qilindi va "Juslin R", "Juslin N" hamda "Juslin 30/70" preparatlari uchun korrelyatsiya koeffitsiyenti qiymatlari 0,9998, 0,9999 va 0,9997 ga tengligi isbotlandi.
4. "Juslin R", "Juslin N", hamda "Juslin 30/70" insulin inyektsiyalari tarkibidagi fenol va m-krezolni yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli yordamida bitta na'muna tarkibidan 0,121 minut ajralish bilan aniqlash imkoniyati yaratilgan.
5. Ishlab chiqilgan yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli oldingi usulga nisbatan umumiy tahlil vaqtini 9 martaga qisqartirildi, insulin tarkibidagi m-krezol va fenolni tavsiya etilgan usul bilan aniqlash esa 40 minutdan oshmaydi.
6. Ishlab chiqilgan usul "Zamin Bio Health" korxonasi tomonidan ishlab chiqiladigan "Juslin R", "Juslin N", "Juslin 30/70" insulinlari tarkibidagi m-krezol va fenolni bir vaqtda aniqlashga (STM) hamda O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi huzuridagi Farmatsevtika tarmoqlarini rivojlantirish agentligining amaliyotiga (ND) joriy etildi. Shuningdek, normativ hujjatlarga 20.06.2023 ND 42 O'z-7852-2019 1-sonli o'zgartirish shaklida Juslin R in'ektsiya uchun eritma 100 UB/ml 10 ml (shisha) va 20.06.2023 yil ND 42-O'z-7853-2019 1-sonli o'zgartirishlar Juslin N inyektsiya suspenziyasi 100 UB/ml 10 ml (shisha) shaklida kiritildi. O'zbekiston Respublikasi Farmakopeya qo'mitasi tomonidan respublika bo'ylab miqdoriy va sifat tahlili uchun joriy qilingan.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc.03/30.12.2019.К.01.03 ПО ПРИСУЖДЕНИЮ
УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ ПРИ НАЦИОНАЛЬНОМ УНИВЕРСИТЕТЕ
УЗБЕКИСТАНА**

НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ УЗБЕКИСТАНА

ЖАЛИЛОВ МАРУФЖОН ЖУМАНАЗАРОВИЧ

**РАЗРАБОТКА ВЭЖХ И СПЕКТРОСКОПИЧЕСКИХ МЕТОДИК
ОПРЕДЕЛЕНИЯ М-КРЕЗОЛА И ФЕНОЛА В ПРЕПАРАТАХ
ИНСУЛИН**

02.00.02 – аналитическая химия

**АВТОРЕФЕРАТ ДИССЕРТАЦИИ
ДОКТОРА ФИЛОСОФИИ ПО ХИМИЧЕСКИМ НАУКАМ (PhD)**

Ташкент – 2024

Тема диссертации доктора философии по химическим наукам (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2022.3.PhD/К530

Диссертация выполнена в Национальном Университете Узбекистана имени Мирзо Улутбека

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета ik-kimyo.nuu.uz) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziynet.uz).

Научный руководитель: Сманова Зулайхо Асаналиевна
доктор химических наук, профессор

Оппоненты: Абдурахманов Эргашбой
доктор химических наук, профессор
Зиявигдинов Жамолгидин Фазлигидинович
доктор химических наук, профессор

Ведущая организация: Ташкентский фармацевтический институт

Защита диссертации состоится «15» июня 2024 г. в 9⁰⁰ часов на заседании Научного совета DSc.03/30.12.2019.K.01.03 при Национальном Университете Узбекистана (адрес: 100174, г. Ташкент, ул. Университетская, 4. Тел.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; факс: (+99871) 246-53-21; e-mail:ilmiykengash@nuu.uz .

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Национального Университета Узбекистана (регистрационный номер _____) по адресу: 100174, г. Ташкент, ул. Университетская, 4. Тел.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; факс: (+99871) 246-53-21.

Автореферат диссертации разослан «31» 05 2024 года
(реестр протокола рассылки № 20 от «30» 05 2024 г.).



Ш.Ш. Дамнинова
председателя Научного совета по присуждению ученых степеней, д.х.н., профессор

Н.Х. Кутлимуротова
заместитель секретаря Научного совета по присуждению ученых степеней, д.х.н., профессор

Б.Н. Бабаев
председатель научного семинара при Научном совете по присуждению ученых степеней, д.х.н., доцент

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Сегодня фенолы и их производные считаются важным компонентом в фармацевтике, медицине, сельском хозяйстве и ежегодно в мировой промышленности производятся миллионы тонн при производстве фенол формальдегидных смол, полимеров на основе фенола, консервантов инсулина и других веществ. В частности, м-крезол и фенол добавляют в инъекции инсулина в фармацевтике для предотвращения димеризации инсулина и перехода в состояния высокомолекулярных соединений. Кроме того, они используются в качестве антибактериальных веществ. Фенол и его производные обладают токсическими свойствами и наносят вред здоровью человека, живым организмам и окружающей среде. Поэтому имеет практическое значение разработка наиболее точных и быстрых методов их анализа.

Со стороны ведущих ученых мира проводятся научные исследования по повышению чувствительности и селективности определения м-крезола и фенола с использованием сорбентов, экстрагентов и модифицированных сенсоров с различными функциональными группами. В связи с этим большое значение имеет разработка метода быстрой и селективной высокоэффективной жидкостной хроматографии на основе абсорбционной спектроскопии. В развитии высокоэффективной жидкостной хроматографии большое научное значение имеют выбор неподвижной фазы, определение различных элюентов и соотношения полярных и неполярных растворителей с разными функциональными группами.

Сегодня в фармацевтической промышленности имеют важное значение химические аспекты как в производстве лекарственных средств, так и в процессе контроля качества во время производства и готовой продукции, а также при поступлении сырья и материалов. Поэтому возрастает интерес к поиску альтернативных, наиболее совершенных, новых физико-химических методов определения веществ для оценки качества лекарственных средств. Разработка максимально простых, дешевых, экспрессных, надежных, универсальных, экономичных методов анализа имеет большое практическое значение и актуальность.

В нашей Республике реализуются комплексные меры по совершенствованию системы обеспечения населения лекарственными средствами, достигаются определенные результаты в плане создания благоприятных условий для развития фармацевтической отрасли нашей страны. На основе проводимых программных мероприятий в этом направлении достигнуты определенные успехи, особенно при проведении качественного и количественного определения фенола и м-крезола в препарате инсулин. Среди них, согласно Стратегии развития¹. нового Узбекистана, «В целях обеспечения сбалансированности и устойчивости народного хозяйства, модернизации промышленности, науки, производства,

¹ Указ Президента Республики Узбекистан, от 28.01.2022 года №УП – 60 «О стратегии развития нового Узбекистана на 2022 — 2026 годы».

технического и технологического обновления, стремительного развития производства готовой продукции с высокой дополнительной стоимостью на основе переработки ресурсов местного сырья». В этом направлении большое значение имеет стремительное развитие фармацевтической промышленности, создание импортозамещающих препаратов, разработка высокоэффективных современных экспресс-методов анализа лекарственных средств. Данное диссертационное исследование в определённой степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указах Президента Республики Узбекистан № УП-55 от 21 января 2022 года «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли республики в 2022 — 2026 годах», № УП-5707 от 10 апреля 2019 года «О дальнейших мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли республики в 2019-2021 годах», Постановлениях Президента Республики Узбекистан № ПП-5953 от 2 марта 2020 года «О Стратегии развития Нового Узбекистана на 2022-2026 годы» в 2022-2026 годах, № ПП-4310 от 6 мая 2019 года «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки», Постановлении Кабинета Министров Республики Узбекистан № 188 от 30 марта 2020 года «О мерах по созданию предприятия по производству фармацевтической продукции на территории свободной экономической зоны «Андижон-фарм», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследований приоритетным направлениям развития науки и технологии республики. Диссертация выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий в республике VI. «Химия, химическая технология и нанотехнология».

Степень изученности проблемы. В научных центрах мира стремительно ведутся исследования по подбору адсорбентов, экстрагентов, модификаторов, растворителей и элюентов для определения фенола и м-крезола в инсулине методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Химическим, электрохимическим, оптическим, хроматографическим методам посвящены работы по определению м-крезола и фенола в ведущих научных центрах мира. Из зарубежных ученых Стюарт Э.Д., Стюарт Р.Ф., Воробьева, Т.В. Терлецкая А.В., Кушевская Н.Ф., Будников Г.К., Золотов Ю.А., Вершинин В.И., Хатмуллина Р.М., Сафарова В.И., Магасумова А.Т., Китаева И.М., Кудашева Ф.Х., Черных Е.М., Тропынина Л.В., Карташова А.В., Жилина И.В., Романов П.В., Сурсякова Л., Бурмакина Г.В., Рубайло А.И., Антонова Т.В., Коренман Я.И., Подолина Е.А., Рудаков О.Б., Булатов А.В., Михайлова Е.А., Тимофеева И.И., Москвин Л.Н., Клячина М.Н., Денисова С.А., Вандакурова Ю.А., Сурсякова В.В., Басова Е.М., Иванов В.М., Новикова К.В., Хорохордина Е.А., Чан Хай Данг, Антонова М.С., Иванова В.А., Шилигин П.В., Сиггиа С., Ханна Дж., Коренман И.М., Видимкина Ю.В. и другие проводили научные исследования по этим направлениям.

В Узбекистане исследования по методу высокоэффективной жидкостной хроматографии на основе абсорбционной спектроскопии м-крезола и фенола не проводились.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация. Диссертационное исследование выполнено в рамках плана научно-исследовательской работы № А.12.53 «Разработка методов фотометрического и сорбционно-фотометрического определения экотоксикантов в объектах окружающей среды, иммобилизованными на полимерные носители реагентами» (2015-2017 гг.).

Цель исследования заключается в разработке методов определения м-крезола и фенола в препаратах инсулин высокоэффективной жидкостной хроматографией и спектрофотометрией.

Задачи исследования:

Подбор селективных комплексообразователей для определения м-крезола и фенола и разработка на их основе спектрофотометрической методики;

подбор оптимальных условий (среда (рН), буфер, концентрация, время и др.) для спектрофотометрического определения м-крезола и фенола;

выбор оптимальной неподвижной фазы (хроматографическая колонка), нахождение наилучших элюентов (полярные и неполярные растворители) для разделения м-крезола и фенола друг от друга;

разработка методики ВЭЖХ по определению фенола и м-крезола;

применение разработанного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии к анализу готовых модельных препаратов;

расчет достоверности результатов анализа разработанных методик методами математической статистики.

Объектом исследования – являются инъекционные лекарственные препараты инсулин «Жуслин Р», «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70», содержащие м-крезол и фенол в качестве консервантов.

Предметом исследования является определение содержания м-крезола и фенола в препаратах инсулин для разработки ВЭЖХ и спектроскопических методик.

Методы исследования: В работе использовались методы спектрофотометрии, высокоэффективной жидкостной хроматографии и математической статистики.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

разработан удобный и простой спектрофотометрический метод определения м-крезола и фенола, основанный на комплексообразовании м-крезола и фенольного сырья, используемого в производстве инсулина, с хлоридом железа ($FeCl_3$) в кислой среде;

усовершенствован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием в качестве элюента фосфорной кислоты для проверки подлинности и количественного определения м-крезола и фенола в препаратах инсулина;

разработаны методики высокоэффективной жидкостной хроматографии с колонкой Poroshell 120 EC-C18 2,1×50 мм, 1,9 мкм, скорость потока 1 мл/мин, температура колонки 40°C, с использованием детектора

ДАД-273 нм, фенол 0,260 мин, м-крезол 0,381 в мин, с интервал разделения 0,121 мин, доказано, что фенол может быть обнаружен с нижней границей определяемых содержаний 0,976 мкг/мл и м-крезол до 0,587 мкг/мл;

разработанные методы высокоэффективной жидкостной хроматографии применены для определения фенола и м-крезола в препаратах инсулина для инъекций «Жуслин Р», «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70».

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

разработанные методы высокоэффективной жидкостной хроматографии по определению фенола и м-крезола внедрены для анализа в процессе производства готовых продуктов лекарственных препаратов инъекционных инсулинов «Жуслин Р», «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70» и на предприятии ООО «Zamin Bio Health», с нижней границей определяемых содержаний 0,976 мкг/мл для фенола и 0,587 мкг/мл м-крезола;

Фенол и м-крезол, содержащиеся в инъекциях инсулина «Жуслин Р», «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70», удалось определить из одной пробы, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с временем разделения 0,121 мин.

Достоверность полученных результатов исследования обоснована обработкой полученных результатов методом математической статистики и сравнением со стандартными образцами, с государственными стандартными методами, а также «введено-найденно» и «методом добавок».

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследований заключается в количественном определении фенола и м-крезола в сырье для производства инсулина путем образования окрашенного комплекса с хлоридом железа(III) в кислой среде спектрофотометрическим методом, а также усовершенствованием методов высокоэффективных жидкостной хроматографии применением в качестве элюентов фосфорной кислоты и ацетонитрила при их совместном определении в одном растворе из состава инсулина, за счет чего объясняется увеличение скорости определения в 9 раз.

Практическая значимость результатов исследования заключается в применении разработанных методов определения фенола и м-крезола в инъекциях инсулина «Жуслин Р», «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70», отдельное определение каждого из них и разделение друг от друга при их совместном присутствии, вплоть до микрограммовых количеств.

Внедрение результатов исследования. Разработанный метод высокоэффективной жидкостной хроматографии был усовершенствован за счет использования в качестве элюентов фосфорной кислоты и ацетонитрила, на основе результатов метода определения м-крезола и фенола:

метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения м-крезола и фенола внедрен в практику производства инъекционного инсулина «Жуслин Р» в ООО «Zamin Bio Health» и фармакопее государственного учреждения «Центр безопасности фармацевтической продукции» комитетом при Агентстве по развитию фармацевтической промышленности при Министерстве здравоохранения Республики

Узбекистан внесены изменения в фармакопейную статью по определению метакрезола в инсулине (статья № НД 42 Уз-7852-2019 от 20 июня 2023 года Фармакопейного комитета государственного учреждения «Центр безопасности фармацевтической продукции» Агентства по развитию фармацевтической отрасли при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан). В результате время обнаружения м-крезола и фенола методом высокоэффективной жидкостной хроматографии удалось сократить в 9 раз;

метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения м-крезола и фенола внедрен в практику на производстве инъекционного инсулина «Жуслин Н» в ООО «Zamin Bio Health» и фармакопее ГУ «Центр безопасности фармацевтической продукции» » при Агентстве по развитию фармацевтической промышленности при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан внесены изменения в фармакопейную статью по определению метакрезола в инсулине (комиссией статья № НД 42 Уз-7853-2019) от 20 июня 2023 года Фармакопейного комитета государственного учреждения «Центр безопасности фармацевтической продукции» Агентства по развитию фармацевтической промышленности при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан). В результате время обнаружения м-крезола и фенола методом высокоэффективной жидкостной хроматографии удалось сократить в 9 раз.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования докладывались и обсуждались на 10-ти научно-практических конференциях, в том числе на 4-х международных и 6-ти Республиканских.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 15 научных работ, из них 5 статей в научных изданиях, рекомендованных ВАК Республики Узбекистан для опубликования основных научных результатов диссертаций, в частности 4 статьи в республиканских и 1 статья в зарубежном журналах.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 114 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении диссертации обосновываются актуальность и необходимость, цели и задачи проведенного исследования, определяются объект и предмет исследования, указано соответствие исследований приоритетным направлениям развития науки и технологий Республики. Приведены научная новизна и практические результаты научно-исследовательской работы, обоснована достоверность полученных результатов, выявлена теоретическая и практическая значимость, сделаны выводы о перспективах применения результатов исследования на практике, также дана информация об опубликованных работах и структуре диссертации.

В первой главе диссертационной работы «**Физико-химические методы анализа м-крезола и фенола**» на основании данных анализа литературы изучена потребность производства м-крезола и фенола, аналитические методы их определения в виде фенольного индекса, фенольных токсикантов и

антиоксидантов. Проведен анализ по выбору методов определения количественного содержания м-крезола и фенола. Описаны существующие и разрабатываемые аналитические методы (спектрометрия в УФ-видимом спектре, ВЭЖХ, качественные реакции на фенол и м-крезол), а также аналитические методы, нуждающиеся в валидации, характеристики и требования к валидации. Анализ литературных данных показал, что разработка новых методов анализа м-крезола и фенола, а также их внедрение значительно ускоряет процесс анализа и повышает достоверность результатов анализа.

Во второй главе диссертации, озаглавленной «**Материалы, методы и объекты исследования**» приведены стандартные и фармакопейные образцы, методики приготовления растворов, перечень веществ и методы определения, используемые при определении м-крезола и фенола, а также оборудование для химико-аналитического анализа.

В третьей главе диссертации под названием «**Оптимизация условий определения м-крезола и фенола методами спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии**» изложены и рассмотрены факторы, влияющие на определение м-крезола и фенола методами спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии, такие как выбор оптимальных условий, природы веществ и изучены аналитические параметры результатов определения м-крезола и фенола в инсулине и рассчитаны метрологические характеристики предлагаемых методик.

При спектрофотометрическом определении м-крезола и фенола использовалась их способность образовывать комплексы с раствором FeCl_3 . В данном методе был проведен количественный анализ на основе поглощения света при оптимальной длине волны 273 нм в ультрафиолетовой области для реагента. Найдены спектроскопические характеристики его комплексов с фенолом и м-крезолом и сравнением полученных комплексов данных веществ (рис. 1).

Как видно из рисунка 1, разница $\Delta\lambda$ в максимумах поглощения комплексов железа с фенолом и м-крезолом с раствором реагента, содержащем ионы железа(III) превышает 200 нм, что указывает на высокую контрастность реакции. Это позволяет проводить исследования на основе реакции их комплексообразования с ионами железа(III) с высокой селективностью.

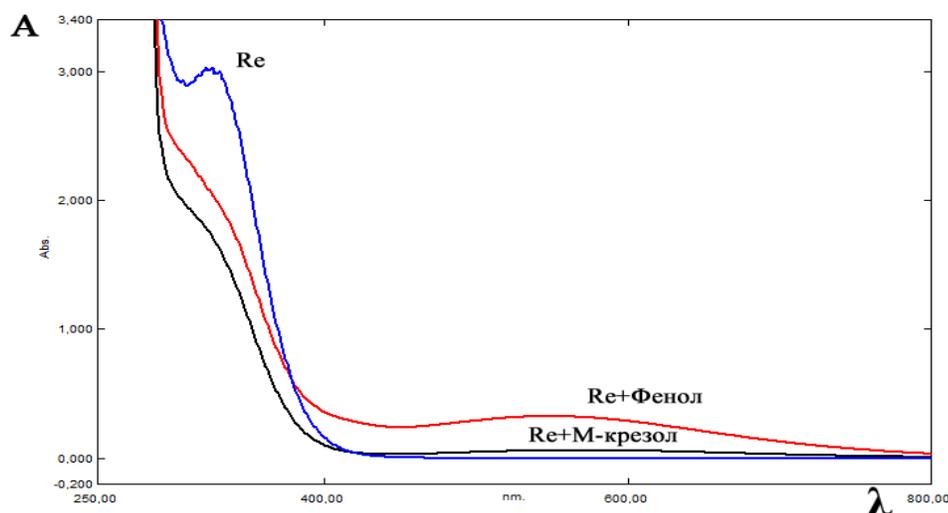


Рис. 1. Спектры поглощения комплексов м-крезола и фенола с ионами железа(III)

Исследовано влияние рН среды и времени на образование комплекса м-крезола и фенола с ионами железа(III). Полученные результаты представлены в таблицах 1 и 2.

Таблица 1

Зависимость оптической плотности от рН среды при комплексообразовании м-крезола и фенола с ионами железа(III) ($\lambda_{\text{м-кр}}=567\text{нм}$, $\lambda_{\text{ф}}=549\text{нм}$)

рН	2	3	4	5	6	7	8	9
М-крезол	0.028	0.027	*	*	*	*	*	*
Фенол	0.115	0.111	*	*	*	*	*	*

*- ионы железа (III) переходят в нерастворимую форму $\text{Fe}(\text{OH})_3$

Для реакции комплексообразования необходима кислая среда, так как при увеличении рН среды выпадает осадок ионов железа(III), в оптимальной среде максимальное комплексообразование м-крезола и фенола с ионами железа(III) наблюдается в интервале рН 2-3. Исходя из этого, была выбрана оптимальная рН среды 2-3.

Таблица 2

Зависимость от аналитического сигнала времени комплексообразования м-крезола ($\lambda=567\text{ нм}$) и фенолом ($\lambda=549\text{ нм}$) с ионом железа(III)

t мин.	1	3	5	10	15	20	25	30	40
м-крезол	0,005	0,06	0,008	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012	0,012
фенол	0,03	0,05	0,090	0,110	0,110	0,110	0,110	0,110	0,110

Видно, что комплекс, образованный м-крезолом и фенолом с ионами железа(III) стабилен во времени, оптическая плотность не меняется и можно получить воспроизводимые результаты.

Изучена зависимость аналитического сигнала от концентрации фенола и м-крезола по закону Бугера-Ламберта- Бера. При этом строили график зависимости переменных концентраций фенола и м-крезола от аналитического сигнала и находили коэффициент корреляции. Полученные результаты представлены на рис. 2, 3 и в табл. 3.

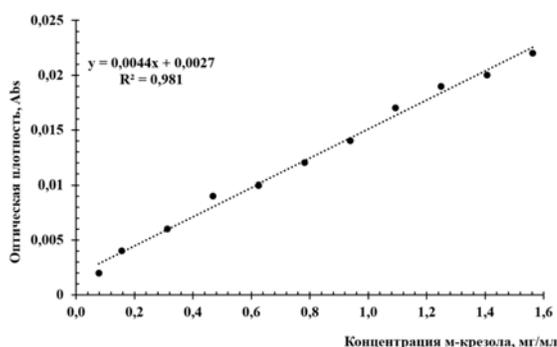


Рис. 2. Зависимость оптической плотности от концентрации м-крезола

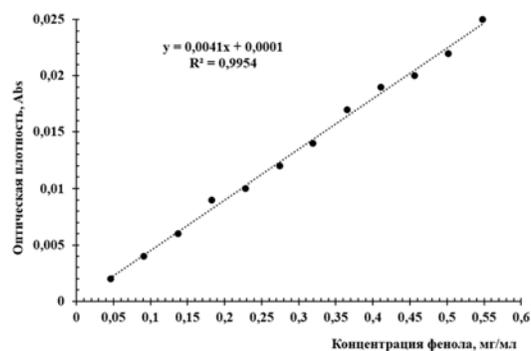


Рис. 3. Зависимость оптической плотности от концентрации фенола.

Таблица 3

Исследования прямолинейной зависимости оптической плотности от концентрации м-крезола и фенола ($\lambda_{кр}=567\text{нм}$, $\lambda_{ф}=549\text{нм}$)

№	Объём, мл	Концентрация м-крезола, мг/мл	Оптическая плотность, Abs	Объём, мл	Концентрация фенола, мг/мл	Оптическая плотность, Abs
1	0,25	0,078	0,0020	0,5	0,046	0,0020
2	0,5	0,156	0,0040	1,0	0,091	0,0040
3	1,0	0,313	0,0080	1,5	0,137	0,0060
4	1,5	0,469	0,0105	2,0	0,183	0,0090
5	2,0	0,625	0,0120	2,5	0,228	0,0100
6	2,5	0,781	0,0150	3,0	0,274	0,0120
7	3,0	0,938	0,0165	3,5	0,319	0,0140
8	3,5	1,094	0,0190	4,0	0,365	0,0170
9	4,0	1,250	0,0200	4,5	0,411	0,0190
10	4,5	1,406	0,0220	5,0	0,456	0,0200
11	5,0	1,563	0,0240	5,5	0,502	0,0220
12	-	-	-	6,0	0,548	0,0250

Из результатов видно, что подчинение закону Бугера-Ламберта-Бера для фенола и м-крезола соблюдается в диапазоне концентраций 0,078-1,563 мг/мл для м-крезола и 0,046-0,548 мг/мл для фенола, соответственно коэффициент корреляции (R^2) для фенола составил 0,9961, для м-крезола – 0,9810. Это свидетельствует о достаточной чувствительности метода.

Разработка ВЭЖХ методики определения м-крезола и фенола

Для выбора оптимальных условий в методе ВЭЖХ необходимо определить тип колонки и максимальную площадь поглощения вещества. Для этого на разных колонках испытывали стандартные растворы м-крезола и фенола с концентрацией м-крезола 32 мкг/мл и фенола 14,6 мкг/мл. Поскольку аналитический сигнал рассчитывается как величина, непосредственно влияющая на концентрацию вещества, была выбрана длина волны, при которой можно получить максимальный аналитический сигнал. Полученные результаты представлены на рис. 4.

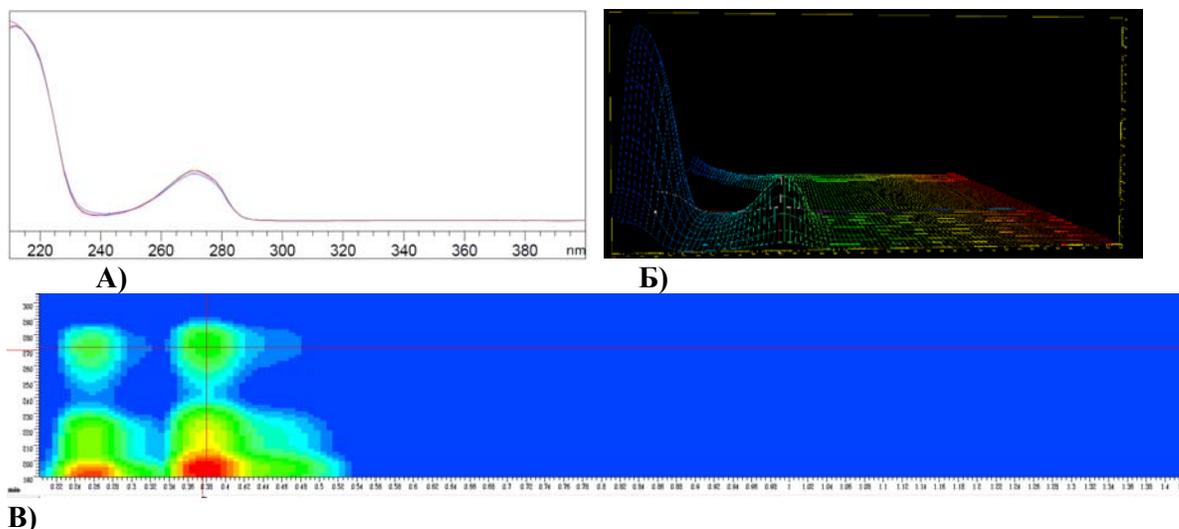


Рис. 4. *Определение оптимальной области светопоглощения м-крезола и фенола в ВЭЖХ (А) 2D-Зависимость светопоглощения от оптической плотности, Б) 3D-Зависимость светопоглощения от оптической плотности, В) Интенсивность абсорбции по цветовой шкале).*

Видно, что колонка С-18 была выбрана как лучшая для разделения м-крезола и фенола. На хроматограммах фенола и м-крезола по методу ВЭЖХ установлено, что оптимальная длина волны составляет 273 нм и при этой длине волны можно получить достоверные результаты.

Поскольку фенол и м-крезол не проявляют сильных кислотно-основных свойств, ионообменная хроматография не подходит. Поэтому было предложено использовать обращенно-фазовую ВЭЖХ для разработки условий разделения аналитов.

Учитывая, что инсулин Жуслин Р содержит 2,5 мг/мл м-крезола и Жуслин Н, Жуслин 30/70 14,6 мг/мл м-крезола и 0,73 мг/мл фенола, все они в кислых средах находятся в растворенном виде, поэтому в наших исследованиях использовали их растворы в 0,01 М хлористоводородной кислоте.

В анализе ВЭЖХ для инъекций был приготовлен образец из стандартов USP. 25 мг стандарта м-крезола растворяют в колбе вместимостью 100 мл (для «Жуслин Р») с 0,01 М раствором HCl, 5 мл полученного раствора точно отмеряют и переносят в колбу вместимостью 50 мл, и получают раствор, содержащий 25 мкг/мл м-крезола. Аналогичным образом 32 мг м-крезола и 14,6 мг фенола взвешивают в отдельные колбы на 100 мл и растворяли в том же растворителе. 5 мл полученных исходных растворов переносили в отдельные мерные колбы вместимостью 50 мл и доводили до метки 0,01 М раствором HCl. При этом для анализа Жуслина Н и Жуслина 30/70 готовили растворы с концентрацией м-крезола 32 мкг/мл и фенола 14,6 мкг/мл.

Для разделения м-крезола и фенола в качестве пробы в одну колбу вместимостью 50 мл отбирали по 5 мл исходных растворов для Жуслина Н и Жуслина 30/70 и доводили раствор до метки 0,01 М раствором HCl. Была выбрана колонка Poroshell 120 EC-C18 2,1×50 мм с диаметром частиц 1,9 мкм.

В качестве буферного раствора использовали 0,1% раствор о-фосфорной кислоты в воде, рН-3,00±0,1 с ацетонитрилом в соотношении 70:30 в качестве элюента, анализировали при давлении 700 МПа.

Поскольку аналиты являются низкополярными соединениями ($lgP \leq 2,5$), при использовании обращенно-фазового метода ВЭЖХ в качестве неподвижной фазы использовали сорбенты на основе октадецилсиланового силикагеля с липофильными привитыми группами. Скорость потока 1 мл/мин была выбрана для предотвращения повышения давления в системе. Температура колонки 40 °С, детектор ДАД-273 нм, объем ввода 10 мкл, использовали ВЭЖХ Agilent 1290 Infinity II. Для точного определения времени удержания фенола и м-крезола были получены хроматограммы отдельных аналитов, хроматограмма смеси м-крезола и фенола, полученные результаты представлены на рисунках 5-7.

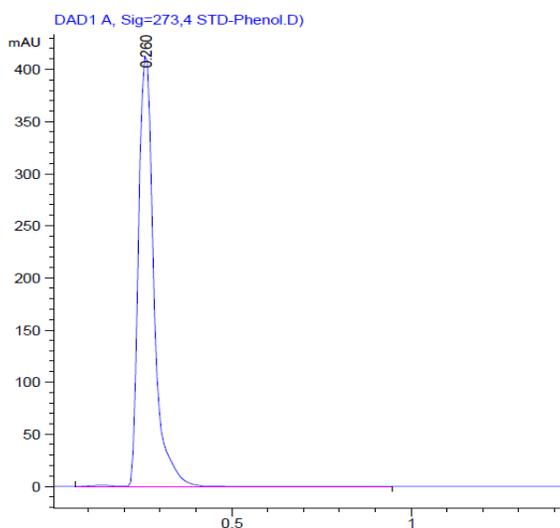


Рис. 5. Хроматограмма стандартного раствора фенола

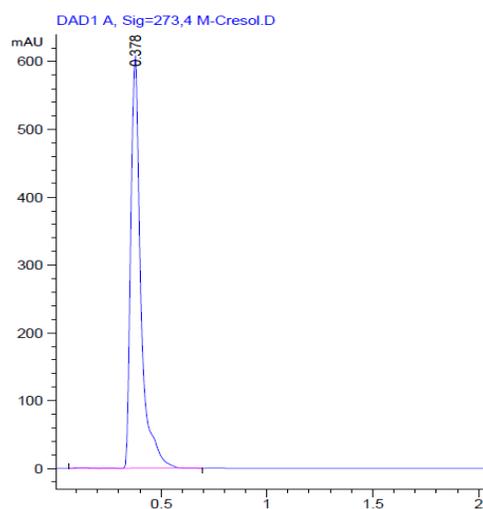


Рис. 6. Хроматограмма стандартного раствора м-крезола

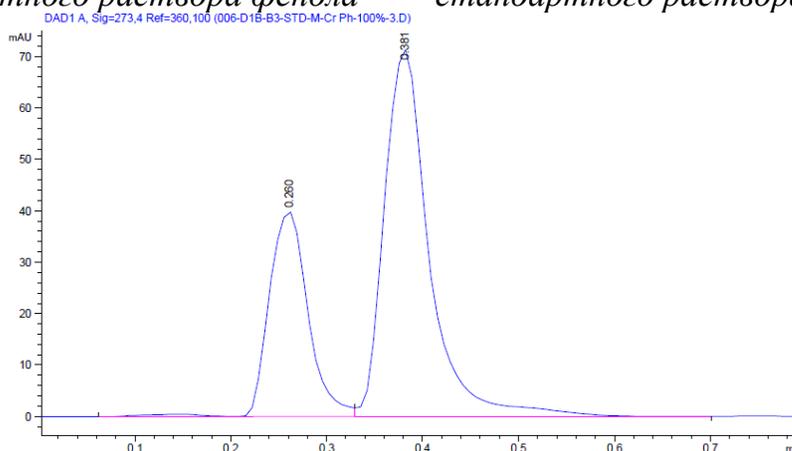


Рис. 7. Хроматограмма смеси раствора фенола и м-крезола

Судя по хроматограммам, разделение фенола и м-крезола из одной пробы наблюдалось при 0,260 мин для фенола и 0,381 мин для м-крезола с интервалом разделения 0,121 мин. Ранее использовавшийся метод количественного определения занимал 6 часов (на анализ и промывку

колонок) без учета времени, необходимого для приготовления стандартных, испытуемых растворов и подвижных фаз (при этом на один хроматографический цикл уходило 30 мин (Рис. 8)), а предлагаемым нами методом ВЭЖХ занимает анализ 40 минут. Это показывает, что для эффективного контроля качества и количества фенола и м-крезола в готовом препарате инсулин и в процессе производства требуется улучшение аналитических и метрологических параметров.

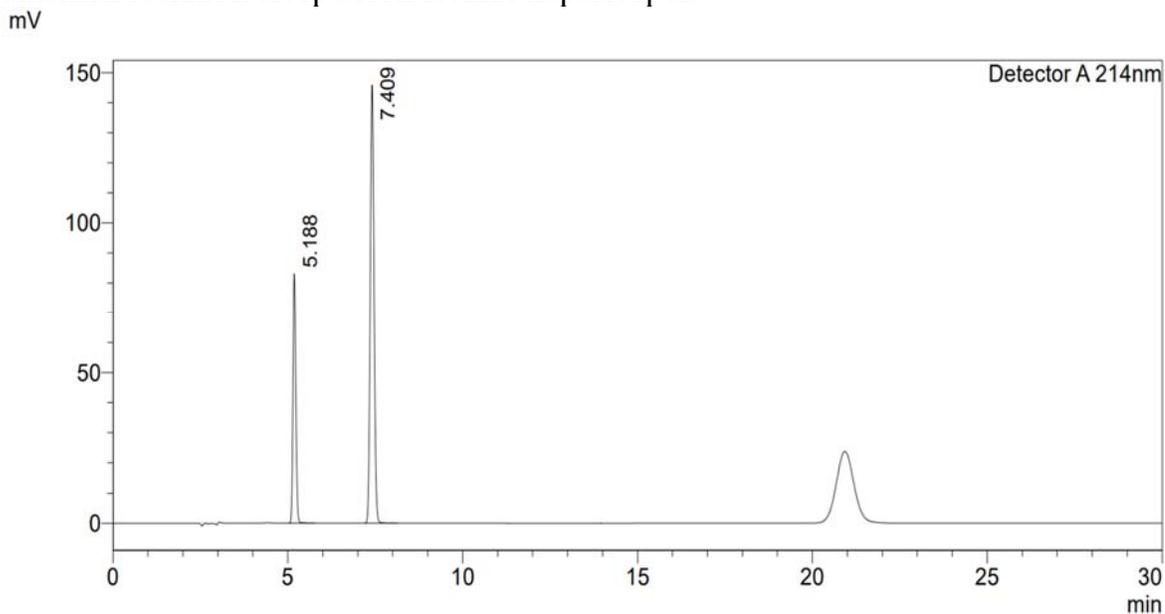


Рис. 8. Хроматограмма, полученная ранее используемым методом для определения консервантов фенола и м-крезола, содержащихся в препарате *Жуслин 30/70*

(5,18 минут - фенол, 7,4 минуты - м-крезол и 21 минута - инсулин)

Определен нижний предел обнаружения фенола и м-крезола методом ВЭЖХ. Полученные результаты представлены на рисунках 9 и 10, чтобы хроматограммы при наложении не пересекались, они смещены вправо друг от друга на 0,2 минуты по оси координат.

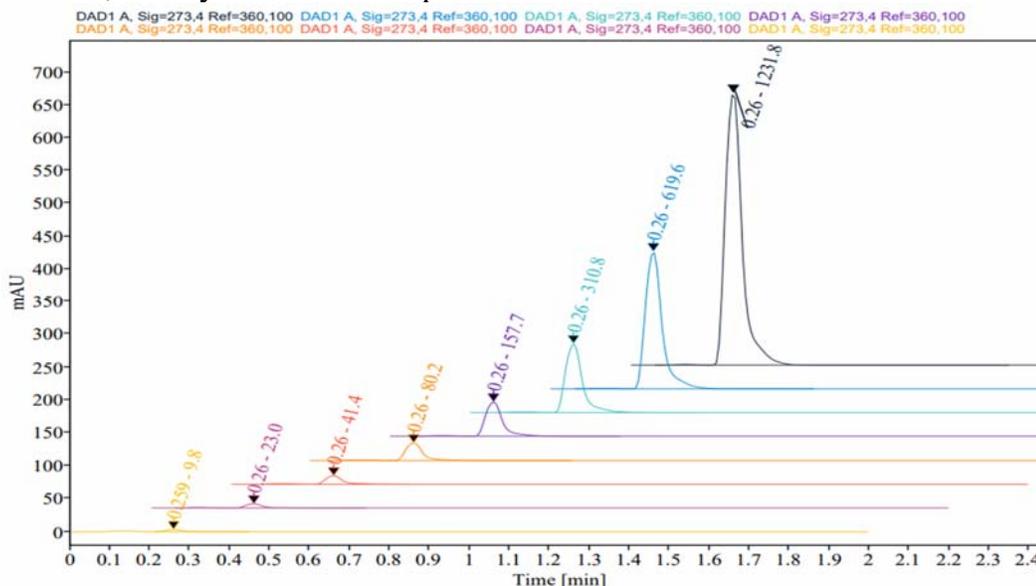


Рис.9. Хроматограммы различных концентраций фенола 0,29-150,23 мкг/мл

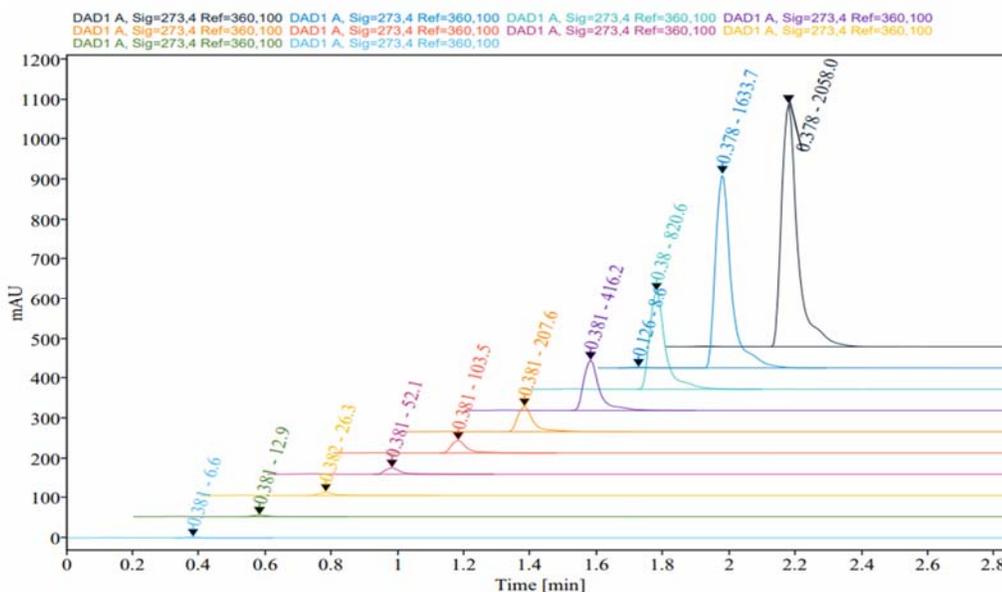


Рис.10. Хроматограммы м-крезола с разными концентрациями 0,976-321,98 мкг/мл

Данные хроматограммы показали нижний предел обнаружения 0,29 мкг/мл для фенола и 0,976 мкг/мл для м-крезола. В полученных результатах разница между временем удерживания фенола и м-крезола при разных концентрациях не превышала 2 %, что свидетельствует о высокой точности результатов метода ВЭЖХ.

Четвертая глава диссертации под названием «**Применение разработанного метода высокоэффективной жидкостной хроматографии для определения м-крезола и фенола на реальных объектах и валидация полученных результатов**», посвящена анализу реальных образцов инсулина «Жуслин Р», «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70», которые использовали для определения м-крезола и фенола в данных инсулинах.

При определении фенола и м-крезола методом ВЭЖХ температура в помещении должна быть в пределах 20-25 °С, влажность не должна превышать 65%.

При валидации метода определения м-крезола проверялись такие параметры валидации, как специфичность, линейность метода, воспроизводимость, точность и т.д.

При разработке ВЭЖХ методики определения м-крезола в инсулине «Жуслин Р» и м-крезола и фенола в инсулинах «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70» экспериментально установили следующие параметры анализа.

Раствора Б. Раствор буфера рН-3,0±0,1. Около 1,0 мл концентрированного раствора ортофосфорной кислоты растворяют в 1 л УЧВ и регулируют рН раствора до 3,0±0,1 0,1 М раствора ортофосфорной кислоты.

Раствора А. Ацетонитрил чистота для ВЭЖХ.

Приготовление подвижной фазы. Раствор в объемном соотношении А:Б (30 : 70) тщательно перемешивают, фильтруют через фильтр 0,45 мкм и дегазируют подвижную фазу с помощью ультразвуковой бани.

Колонка: InfinityLab Poroshell 120 EC-C18 2,1x50 мм 1,9-µм или аналогичный, скорость потока: 1,0 мл/мин. детектор: DAD, 273 нм. объем инъекции: 3 мкл для «Жуслин Р», а также 10 мкл для «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70», температура колонки: 40 °С. Растворитель: 0,01 М HCl.

Поочередно вводят растворы, получая не менее 3 хроматограмм. Хроматограммы раствора СТД (стандарт) и испытуемого раствора используют для проведения расчетов. Третий раствор 0,01 М раствор хлористоводородной кислоты используется в качестве бланка, для определения пиков, не используемых для расчета.

Содержание м-крезола в «Жуслин Р» должно составлять от 2,25 мг/мл до 2,75 мг/мл (90-110% от заявленного количества).

Содержание фенола должно составлять от 0,657 мг/мл до 0,803 мг/мл и м-крезола от 1,44 мг/мл до 1,76 мг/мл в «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70» (90-110% от заявленного количества (0,73мг/мл для фенола и 1,6 мг/мл м-крезола)).

Все расчеты производили в программе Microsoft Office Excel.

Для проверки специфичности проводили хроматографирование раствора бланк, стандартного раствора и испытуемого раствора (Табл. 4-5).

Таблица 4

Исследование специфичности определения м-крезола, в составе инъекции «Жуслин Р» с помощью ВЭЖХ (детектор ДМ 273 нм, объем ввода 3 мкл)

Образец	Время удерживания, мин	Площадь пика м-крезол
Бланк	(в интервале от 0,2 до 3,0 мин.)	Не обнаружен
Стандартный раствор	0,377	52,61959
Испытуемый раствор (100%)	0,377	52,85621

Таблица 5

Исследование специфичности определения фенола и м-крезола в составе инъекциях «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70» с помощью ВЭЖХ (детектор ДМ 273 нм, объем ввода 10 мкл)

Образец	Время удерживания, мин		Площадь пика	
	Фенола	м-крезола	Фенола	м-крезола
Бланк	-	-	Не обнаружен	
Стандартный раствор	0,260	0,381	112,15	232,33
Испытуемый раствор (100%)	0,260	0,380	113,10	232,08

Из таблицы 4 и 5 установлено, что время удерживания м-крезола и фенола на хроматограммах стандартного раствора и испытуемых растворов соответствуют друг другу, а другие добавки в составе инсулина не влияют на обнаружение.

Для проверки линейности разработанного метода были приготовлены препараты, содержащие м-крезол и фенол с (консерванты) концентрацией от 80% до 100% объема и более чем на 20% от 100%. При этом были приготовлены 3 раствора с концентрацией консервантов 80%, 3 раствора с 90 %, 3 раствора со 100 %, 3 раствора с концентрацией больше на 10% от 100% концентрации и 3 раствора с концентрацией больше на 20% от 100% концентрации и получены их хроматограммы. Построен график зависимости

аналитического сигнала (площадь) от концентраций м-крезола и фенола и изучена линейность, полученные результаты представлены в таблице 6.

Таблица 6

Исследование линейности результатов определения фенола и м-крезола в разработанном методе ВЭЖХ

Статистические характеристики	Результаты м-крезол для «Жуслин Р»	Результаты м-крезол «Жус. Н» и «Жус.30/70»	Результаты фенол «Жус. Н» и «Жус. 30/70»
Наклон, a	5,3366	22.95	10.882
Отрезок на оси ординат b:	+ 36,655	+ 163.01	+ 80.714
Коэффициент корреляции r.	0,9998	0,9999	0,9997

Коэффициент корреляции, отражающий зависимость концентрации определяемых веществ от аналитического сигнала, в идеальном случае может быть равен 1. В нашем случае эти результаты составили 0,9998 для м-крезола в «Жулин Р», для м-крезола в «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70» 0,9999 и 0,9997 для фенола. Это, показало, что достоверные результаты можно получить при анализе консервантов в пределах от 80 % до больше на 20% от 100% концентрации от заявленного количества.

Для определения воспроизводимости разработанного метода определения фенола и м-крезола было испытано 6 растворов препарата со 100% концентрацией м-крезола. Анализ каждого образца проводился в разные дни, двумя химиками, в сосудах разного объема. Результаты, полученные при определении воспроизводимости, представлены в таблицах 7.

Таблица 7

Воспроизводимость разработанного метода определения фенола и м-крезола в «Жуслин Н», «Жуслин 30/70» (DAD-273 нм, объем инъекции 10 мкл)

Статистические характеристики, %	Результаты		Результаты	
	Химика-1	Химика-2	Химика-1	Химика-2
	фенол	фенол	м-крезол	м-крезол
Наименьшее значение, мг/мл	14,69	14,63	31,86	31,83
Наибольшее значение, мг/мл	14,76	14,72	31,91	31,91
Среднее значение	14,72	14,66	31,885	31,875
Стандартное отклонение	0,0223	0,0316	0,0217	0,0295
Коэффициент вариации	0,022	0,032	0,022	0,030
Нижняя граница доверительного интервала (P=95%)	99,85	99,78	99,93	99,91
Верхняя граница доверительного интервала (P=95%)	100,15	100,22	100,07	100,09
$t_{кр}(5\%; 10)$ 2,228	1,9555		0,2558	
$F(5\%; 5; 5)$ 5,05	0,2187		0,1202	

Критерии оценки сходимости и промежуточной прецизионности: коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$), доверительный интервал $F(5\%, 5, 5): \leq 5,05$, $t(5\%, 10): \leq 2,228$.

Для определения качественного и количественного содержания фенола

и м-крезола в препаратах «Жуслин Р», «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70» необходимо провести сравнительный анализ методов ВЭЖХ с зарекомендовавшими себя в настоящее время методами, применяемые для определения фенола и метакрезола в инсулине. Следовательно, сравнительные данные различных метрологических критериев нового разработанного метода ВЭЖХ и используемых сегодня известных методов ВЭЖХ представлены в таблице 8.

Таблица 8

Валидация результатов стандартного метода ВЭЖХ для определения фенола и м-крезола в Жуслин Р, Жуслин Н и Жуслин 30/70 разработанным методом ВЭЖХ

Параметры валидации	Критерии приемлемости	ВЭЖХ					
		новый предлагаемый			используемый		
		Жус. Р	Жус. Н и Жус. 30/70		Жус. Р	Жус. Н и Жус. 30/70	
		м-крезол	м-крезол	фенол	м-крезол	м-крезол	фенол
Специфичность	Бланк, другие компоненты препарата не искажают результат	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.	Соотв.
Линейность	Коэффициент корреляции $\geq 0,99$	0,9998	0,9999	0,9997	0,9908	0,9908	0,9908
Сходимость	Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 1)	1,9991	1,955	0,2558	2,1856	2,1015	2,031
Правильность	Фактор отклика: среднее значение 97,5 – 102,5%. Коэффициент вариации $\leq 2,0\%$.	Сред. знач.: 100,13% Коэф. вариации 0,154%	Сред. знач.: 99,27% Коэф. вариации 0,288%	Сред. знач.: 99,90% Коэф. вариации 0,36%	Сред. знач.: 99,87% Коэф. вариации 0,86%	Сред. знач.: 99,93% Коэф. вариации 0,92%	Сред. знач.: 99,81% Коэф. вариации 0,72%
Экспрессность	Время на один цикл анализа (1 инъекция)	1 мин	1 мин	1 мин	30 мин	30 мин	30 мин
	Время полного анализа (стабилизация + 6 инъекций стандартного раствора + 2 инъекций испытуемого раствора) и промывки колонки	40 мин	40 мин	40 мин	360 мин	360 мин	360 мин

По результатам сравнения, представленным в таблице, установлено, что разработанный новый метод ВЭЖХ отвечает всем критериям валидации и оказался более надежным по сравнению с данными, полученными по используемому методу ВЭЖХ.

ВЫВОДЫ

1. Сырье м-крезола и фенола в производстве инсулина идентифицировано спектрофотометрическим методом, основанным на образовании комплекса с FeCl_3 в кислой среде. Метод высокоэффективной жидкостной хроматографии рекомендован для их разделения и определения в одном растворе, в качестве оптимального условия была рекомендована фосфорная кислота с рН 3 и выбран элюент ацетонитрил в соотношении 70:30.
2. Рекомендована высокоэффективная жидкостная хроматография с колонкой Poroshell 120 EC-C18 2,1×50 мм 1,9 мкм, скоростью потока 1 мл/мин, температурой колонки 40 °С, с применением детектора ДАД-273 нм, временем удерживания 0,260 мин для фенола, 0,381 мин для м-крезола, время разделения 0,121 мин. и установлено, что фенол определяется с нижним пределом обнаружения 0,976 мкг/мл, а м-крезол - 0,587 мкг/мл.
3. Разработанный метод высокоэффективной жидкостной хроматографии прошел валидацию по методу, рекомендованному в фармакопее, по специфичности, воспроизводимости, линейности, точности и значениям коэффициента корреляции для препаратов «Жуслин Р», «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70» было доказано, что равны 0,9998, 0,9999 и 0,9997.
4. Фенол и м-крезол, содержащиеся в инъекциях инсулина «Жуслин Р», «Жуслин Н» и «Жуслин 30/70», удалось определить из одной пробы, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с временем разделения 0,121 мин.
5. Разработанный метод высокоэффективной жидкостной хроматографии сократил общее время анализа в 9 раз по сравнению с предыдущим методом, при этом определение м-крезола и фенола в инсулине рекомендованным методом не превышает 40 минут.
6. Разработанный метод внедрен для одновременного определения м-крезола и фенола в инсулинах «Жуслин Р», «Жуслин Н», «Жуслин 30/70», производимым предприятием «Zamin Bio Health» и в практику Агентства по развитию Фармацевтической отрасли при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан. Введены изменения в нормативные документы в виде изменения №1 НД 42 Уз-7852-2019 от 20.06.2023 г. Жуслин Р раствор для инъекций 100 ЕД/мл 10 мл(флакон) и изменение №1 НД 42 Уз-7853-2019 от 20.06.2023 г. Жуслин Н суспензия для инъекций 100 ЕД/мл 10 мл(флакон) Фармакопейным комитетом Республики Узбекистан и внедрен для количественного и качественного анализа по всей Республике.

**SCIENTIFIC COUNCIL DSc.03/30.12.2019.K.01.03 ON AWARDING A
SCIENTIFIC DEGREE AT THE NATIONAL UNIVERSITY OF
UZBEKISTAN**

NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN

JALILOV MARUFJON JUMANAZAROVICH

**DEVELOPMENT OF HPLC AND SPECTROSCOPIC METHODS FOR
THE DETERMINATION OF M-CRESOL AND PHENOL IN INSULIN
MEDICINE**

02.00.02 - Analytical chemistry

**ABSTRACT DISSERTATIONS
DOCTOR OF PHILOSOPHY IN CHEMICAL SCIENCES (PhD)**

Tashkent - 2024

The topic of the dissertation of Doctor of Philosophy in Chemical Sciences (Ph D) is registered with the Higher Attestation Commission under the Cabinet of Ministers of the Republic Uzbekistan number B2022.3.PhD/K530

Dissertation was carried out at the National University of Uzbekistan

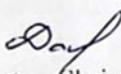
The dissertation abstract in three languages (Uzbek, Russian, English (summary)) is posted on the web page of the Scientific Council ik - kimyo . nuu .uz) and the Information and Educational Portal "ZiyoNet" (www.ziynet.uz).

Scientific adviser:	Smanova Zulaikho Asanaliyeva doctor of chemical sciences, professor
Reviewer:	Abdurakhmanov Ergashboy Doctor of Chemical Sciences, Professor Ziyavitdinov Jamolitdin Fazlitdinovich Doctor of Chemical Sciences, Professor
Lead organization:	Tashkent Pharmaceutical Institute

Thesis defense will take place on "15" June 2024 at 9⁰⁰ hours at the meeting of the Scientific Council DSc.03/30.12.2019.K.01.03 at the National University of Uzbekistan (address: 100174, Tashkent, Universitetskaya str., 4. Tel.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; fax: (+99871) 246-53-21, e - mail: ilmiykengash@nuu.uz .

The dissertation can be found at the Information Resource Center of the National University of Uzbekistan (registration number _____) at the address: 100174, Tashkent, st. University, 4. Tel.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; fax: (+99871) 246-53-21.

The abstract of the dissertation was sent out "31" 05 2024
(registry of mailing protocol No. 20 dated "30" 05 2024).


Sh.Sh. Daminova
Deputy Chairman of the Scientific Council for Award of Scientific degrees, Doctor of Chemical Sciences, Professor


N. Kutlimurotova
Secretary of Scientific Council on award of scientific degrees, Doctor of Chemical Sciences, Professor


B.N. Babayev
Chairman of the Scientific Seminar Council on award of scientific degrees, Doctor of chemical Sciences , professor



INTRODUCTION (abstract of doctor of philosophy (PhD) dissertation)

The purpose of the study is to develop a high-performance liquid chromatography method based on absorption spectroscopy of m-cresol and phenol in insulin.

The object of research work The object of the study is the injection drugs insulin “Juslin R”, “Juslin N” and “Juslin 30/70”, containing m-cresol and phenol as preservatives.

The scientific novelty of the research was as follows:

a convenient and simple spectrophotometric method for the determination of m-cresol and phenol has been developed, based on the complexation of m-cresol and phenolic raw materials used in the production of insulin with ferric chloride (FeCl_3) in an acidic environment;

the method of high-performance liquid chromatography using phosphoric acid as an eluent has been improved to verify the authenticity and quantitative determination of m-cresol and phenol in insulin preparations;

developed high-performance liquid chromatography with a Poroshell 120 EC-C18 column 2.1×50 mm, $1.9 \mu\text{m}$, flow rate 1 ml/min, column temperature 40°C , using a DAD-273 nm detector, phenol 0.260 min, m-cresol 0.381 minute, with a separation interval of 0.121 minutes, it has been proven that phenol can be detected with a lower limit of detectable content of $0.976 \mu\text{g/ml}$ and m-cresol up to $0.587 \mu\text{g/ml}$;

in injection insulins “Juslin R”, “Juslin N” and “Juslin 30/70” it was possible to determine the phenol and m-cresol contained with a resolution of 0.121 minutes from one sample using high-performance liquid chromatography;

Implementation of the research results. The developed high-performance liquid chromatography method was improved by using phosphoric acid and acetonitrile as eluents, based on the results of the method for the determination of m-cresol and phenol:

the high-performance liquid chromatography method for the determination of m-cresol and phenol was introduced into the practice of production of injection insulin "Juslin R" at Zamin Bio Health LLC and the pharmacopoeia of the state institution "Center for the Safety of Pharmaceutical Products" by a committee under the Agency for the Development of the Pharmaceutical Industry under the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan changes have been made to the pharmacopoeial monograph for the determination of metacresol in insulin (Article No. ND 42 Uz-7852-2019 dated June 20, 2023 of the Pharmacopoeial Committee of the state institution “Center for the Safety of Pharmaceutical Products” of the Agency for the Development of the Pharmaceutical Industry under the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan). As a result, the detection time of m-cresol and phenol using high-performance liquid chromatography was reduced by 9 times;

the high-performance liquid chromatography method for the determination of m-cresol and phenol was put into practice in the production of injection insulin “Juslin N” at Zamin Bio Health LLC and the pharmacopoeia of the State Institution “Center for the Safety of Pharmaceutical Products” under the Agency for the Development of the Pharmaceutical Industry under the Ministry of Health of the

Republic of Uzbekistan amendments were made to the pharmacopoeial article for the determination of metacresol in insulin (commission article No. ND 42 Uz-7853-2019) dated June 20, 2023 of the Pharmacopoeial Committee of the state institution "Center for the Safety of Pharmaceutical Products" of the Agency for the Development of the Pharmaceutical Industry under the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan). As a result, the detection time of m-cresol and phenol using high-performance liquid chromatography was reduced by 9 times.

The structure and volume of the dissertation. The dissertation consists from introduction, four chapters, a conclusion, a list of references and applications. The volume of the dissertation is 114 pages.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН НАШРЛАР РЎЙХАТИ LIST OF PUBLISHED WORKS

I часть (I бўлим; part I)

1. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Кутлимуратова Н.Х. М-крезол и фенол рост спроса в мире и их аналитический контроль как экотоксиканты // Журн. Научный вестник АГУ, 2020. – № 7. – С. 39-50. (02.00.00. № 13)
2. Жалилов М.Ж., Сманова З.А. Выбор сорбента для разработки сорбционно-спектроскопического метода определения м-крезола и фенола // Журн. Научный вестник АГУ, 2021. – № 3. – С. 14-23. (02.00.00. № 13)
3. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Кутлимуратона Н.Х., Разработка методики определения м-крезола в лекарственном препарате растворенного инъекционного инсулина // Журнала Universum: химия и биология, – Москва., 2021. – № 11(89).– С. 40-43. (02.00.00. № 2)
4. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Кутлимуратона Н.Х., Турсунова С.У. Разработка методики определения м-крезола и фенола в препарате инъекционного инсулина // Журн. Химии товаров и народной медицины, 2022. – № 1. – С. 30-51. (02.00.00. № 19)
5. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Кутлимуратона Н.Х., Турсунова С.У. Оптимизация условий методики определения м-крезола и фенола в инсулине сорбционной-спектроскопией // Журн. Научный вестник СамГУ, 2022. – №3. – С. 24-32. (02.00.00. № 9)

II часть (II бўлим; part II)

6. Jalilov M.J., Smanova Z.A., Kutlimuratova N.X., Sorption spectroscopy in the determination of m-cresol and phenol / Science, research, development № 25. – Berline, 30-31 January 2020. – P. 305-308.
7. Jalilov M.J., Smanova Z.A., Fenol va m-krezolni aniqlashning sorbsion-spektroskopik usulining ahamiyati / Respublika onlayn konferensiya “O’zbekistonda ilmiy-amaliy tadqidotlar №-18” – Toshkent. 2020. – B. 14-15.

8. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Кутлимуратона Н.Х., Выбор сорбента для сорбционной-спектраскопии при определение м-крезола и фенола / O'zbekiston Respublikasi oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi miqyosidagi ilmiy-amaliy onlayn konferensiyasi "Ilm-fan va texnikaning rivojlanishida innovatsion yondoshuvlar" – Navoiy. 2020. 20-noyabr. – В 25-27.
9. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Кутлимуратона Н.Х., Сорбционная спектроскопия при определение фенола / Международная конференция. "Наука и инновации". – Ташкент. 2020 26-ноябр. – С 36-39.
10. Jalilov M.J., Smanova Z.A., Kutlimuratova N.X., Fenol va m-krezolni aniqlashda sorbsion-spektroskopiya / O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi Mirzo Ulug'bek nomidagi O'zbekiston Milliy universiteti professori, kimyo fanlari doktori Akbarov Hamdam Ikromovich tavalludining 70 yilligi hamda ilmiy faoliyatining 45 yilligiga bag'ishlangan "Kimyoning dolzarb muammolari" mavzusidagi Respublikasi ilmiy amaliy anjuman. – Toshkent. 2021 4-5-fevral. – В. 231.
11. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Проблемы современной химии разработки аналитической метода определения м-крезола и фенола / O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi Qarshi Davlat universiteti "Zamonaviy organik kimyoning dolzarb muammolari" mavzusidagi Respublikasi ilmiy amaliy anjuman.. – Qarshi. 2021 1-may. – В. 204-205.
12. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Разработка методики определение м-крезола и фенола сорбционной-спектраскопией / O'zbekiston Respublikasi Oliy va o'rta maxsus ta'lim vazirligi Mirzo Ulug'bek nomidagi O'zbekiston Milliy universiteti " Kompleks birikmalar kimyosining dolzarb muammolari" mavzusidagi Respublikasi ilmiy amaliy anjuman. – Tashkent – 2021 14-15-sentyabr. – В. 271-272.
13. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Возможность использования сорбционно-спектраскопического метода определения м-крезола и фенола / Международная конференция "Инновационное развитие науки и образования". – Павлодар, Казахстан 2021 июль. – С 9-10.
14. Jalilov M.J., Smanova Z.A., Kutlimuratova N.X., Turdiyev A.X., Ergashev N.T. Ineksin insulin preparatida spektroskopiya yo'li bilan m-krezol va fenolni aniqlash usullarini ishlab chiqish / Respublika onlayn konferensiya "O'zbekistonda ilmiy tadqiqotlar : davriy anjumanlar". – Toshkent – 2022 may. – В. 12-13.
15. Жалилов М.Ж., Сманова З.А., Эргашев Н.Т. Development of a spectroscopic technique for the determination of m-cresol and phenol preservatives in injectable insulin drugs / международная конф. "European journal of science archives conferences series" 01.2022 – 07.2022. – Германия, Ааченер. 2022 май. – Р. 13-16

