

**O‘ZBEKISTON RESPUBLIKASI
SOG‘LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI**

TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

**ANTIGELMINT TA‘SIRLI DORI VOSITALARINI BIOLOGIK OB‘EKT
VA BIOLOGIK SUYUQLIKLARDAN
AJRATIB OLIH VA XROMATOGRAFIK USULLARDA TAHLIL
QILISH**


USLUBIY TAVSIYANOMA

Toshkent – 2021

**O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI SOG'LIQNI SAQLASH
VAZIRLIGI**

«KELISHILDI»

Fan va ilmni rivojlantirish bo'limi
boshlig'i, t.f.d., dotsent


B.O. Xudanov
« 7 » 08 2021 y.

«TASDIQLAYMAN»

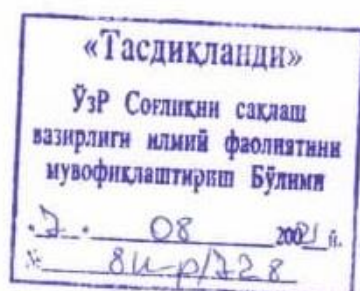
Fan va ta'lim boshqarmasi boshlig'i,
t.f.d., dotsent


A.T. Maxmudov
« 7 » 08 2021 y.

Usmanaliyeva Z.U., Zulfikariyeva D.A.

**ANTIGELMINT TA'SIRLI DORI VOSITALARINI BIOLOGIK
OB'YEKT VA BIOLOGIK SUYUQLIKLARDAN AJRATIB OLISH VA
XROMATOGRAFIK USULLARDA TAHLIL QILISH**

(Uslubiy tavsiyanoma)



Toshkent-2021

Uslubiy tavsiyanoma Toshkent farmatsevtika instituti toksikologik kimyo kafedrasida ishlab chiqilgan

Tuzuvchilar:

Usmanalieva Z.U. Toksikologik kimyo kafedrasini mudiri, farmatsevtika fanlari nomzodi, dotsent

Zulfikarieva D.A. Toksikologik kimyo kafedrasini dotsenti, farmatsevtika fanlari doktori, dotsent

Taqrizchilar:

Yuldashev Z.A. Toshkent farmatsevtika instituti O`quv ishlari bo`yicha prorektor, farmatsevtika fanlari doktori, professor

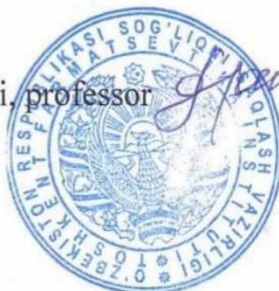
Xalilova N.Sh. O`zbekiston Respublikasi Adliya vazirligi huzuridagi X. Sulaymonova nomli Respublika Sud ekspertizasi markazi bosh eksperti, farmatsevtika fanlari nomzodi

Ushbu uslubiy tavsiyanoma sud kimyogarlari va farmatsiya fakulteti 4 kurs talabalariga toksikologik kimyo fanidan mustaqil ishlarini bajarishda, shuningdek, Respublika sud-tibbiy ekspertiza ilmiy-amaliy markazi va uning filiallari sud-kimyo laboratoriyalarida kimyogar-ekspertlar, tez tibbiy yordam markazlar bo`limlarining ekspress laboratoriyalarida ilmiy xodimlar va laborantlarning amaliy faoliyatida qo`llash uchun mo`ljallangan.

Uslubiy tavsiyanoma Toshkent farmatsevtika instituti Muammolar hay'atida (2021 yil 7 iyundagi 8-sonli majlis bayonnoma) ko`rib chiqildi va Kengashga tasdiqlash uchun tavsiya etildi.

Uslubiy tavsiyanoma Toshkent farmatsevtika instituti Kengashida (2021 yil 29 iyundagi 11-sonli bayonnoma) ko`rib chiqilgan va tasdiqlangan.

Kengash ilmiy kotibi, professor  V.R. Xaydarov



Antigelmint ta'sirli dori vositalari haqida qisqacha ma'lumotlar

1. Albendazol

Kimyoviy nomi: 5- (propiltio)-1n-benzimidazol-2-il karbamat.

Xalqaro nomi: Albendazol

Brutto-formulasi: $C_{12}H_{15}N_3O_2S$

Dori guruhi: antigelmint

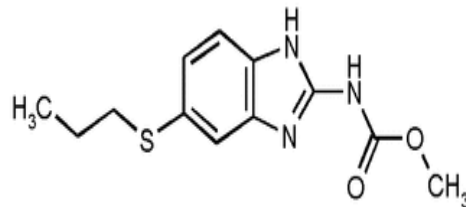
Fizik-kimyoviy xossalari: Suvda va ko'pgina organik erituvchilarda yaxshi erimaydigan kukun. Dimetilsulfoksid va sirka kislotasida yaxshi eriydi, xloroformda bir oz eriydi.

Molekulyar og'irligi: 265,3.

Erish harorati: 193-198 °S.

Sinonimlar: atazol, brovalzen, valbazen. Albendazolga yaqin bo'lgan modda albendazol sulfoksid bo'lib, antigelmintik sifatida xuddi albendazol kabi dozalarda qo'llanadi. Albendazol sulfoksidning farmakologik va toksikologik xususiyatlari deyarli albendazol singaridir.

Dori shakllari: kukun, tabletka, suspenziya, pasta, intraruminal bolyuslar.



2. Mebendazol

Kimyoviy nomi: 5-benzoil-2-metoxikarbonilamino-benzimidazol

Xalqaro nomi: Mebendazol

Brutto-formulasi: $C_{16}H_{13}N_3O_3$

Dori guruhi: antigelmint

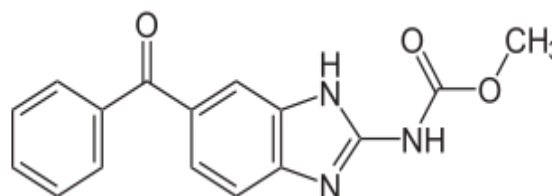
Fizik-kimyoviy xossalari: Oq-sarg'ish kristall kukun. Suvda, spirtida va xloroformda kam eriydi. Chumoli kislota, kuchli kislota ishqorlarda eriydi.

Molekulyar og'irligi: 295,29 g/mol

Erish harorati: 288,8° C.

Sinonimlar: Vermakar, Vermox, Vero-mebendazol, Vormin, Mebex, Mebendazol, Telmox va boshqalar.

Dori shakllari: kukun, tabletka, suspenziya, pasta



3. Levamizol

Kimyoviy nomi: S)-2,3,5,6-Тетрагидро-5-фенилимидазо[2,1-b]тиазол

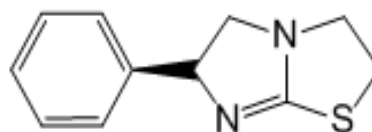
Xalqaro nomi: Levamizol

Brutto-formulasi: $C_{11}H_{12}N_2S$

Dori guruhi: antigelmint

Molekulyar og'irligi: 204,3г/моль

Erish harorati: 60°С.



Fizik-kimyoviy xossalari:deyarli hidsiz, oq yoki och pushti rangli kristall kukun, suvda oson eriydi; kislotali eritmalarida barqaror va gidroksidi hamda neytral eritmalarida gidrolizlanadi.

Sinonimlar: Dekaris, levavet, glistagonva boshqalar.

Dori shakllari: kukun, tabletka, suspenziya

2. Tekshirish ob'ektlari

Kimyo-toksikologik, sud-kimyo tekshiruvlar ob'ektlari bo'lmish biologik ob'ekt (jigar), biologik suyuqliklar (qon, peshob).

3. Asbob va uskunalar:

- 1). 100 ml sig'imli konussimon kolbalar.
- 2). 250 ml sig'imli og'zi shliflangan tubi yumaloq kolbalar.
- 3). 10, 25, 50, 100 ml sig'imli o'lchov kolbalari.
- 4). 100, 250 ml ajratgich voronkalar.
- 5). Voronkalar.
- 6). Chinni tovoqchalar.
- 7). Suyuqliklarni chayqatish asbobi.
- 8). Universal indikator qog'ozi.
- 9). Xromatografiya uchun kamera.
- 10). Shisha purkagich.
- 11). Laboratoriya sentrifugasi.
- 12). 1, 2, 5 ml sig'imli o'lchov pipetkalari.
- 13). 10,50 ml sig'imli menzurkalar.
- 14). Mikroshpiritslar (1-10 mkl).
- 15). Mikrokapillyarlar (1-10 mkl).
- 16). "Agilent 1100 series" rusumli yuqori samarali suyuqlik xromatografi.
- 17). UB-254 lampa.

4. Reaktivlar va eritmalar:

- 1). Geksan, "chda".
- 2). Xoroform, "chda".
- 3). Etil spirti, 96%.
- 4). Albendazolning ishchi standart namunasi.
- 5). Mebendazolning ishchi standart namunasi.
- 6). Levamizolning ishchi standart namunasi.
- 7). Dragendorf reaktivi.
- 8). Xromatografik plastinkalar «Silufol UV 254».
- 9). 0,1 M xlorid kislota.
- 10). 0,1 M sulfat kislota.
- 11). 2 M xlorid kislota.
- 12). 0,02 M sulfat kislota.
- 13). Ammoniy gidroksid 10% eritmasi.
- 14). Suvsiz natriy sulfat, "chda".
- 15). Chumoli kislota, "chda".

16). Ammoniy digidrofosfat, "chda".

17). Metanol, "chda".

5. Antigelmint ta'sirli dori vositalarini biologik ob'ekt va biologik suyuqliklardan ajratib olish va tahlilga tayyorlash

5.1. Albendazolni biologik ob'ektdan ekstraksiyalash sharoitlari:

50 g maydalangan biologik ob'ekt (jigar) ni 250 ml hajmli kolbaga solib, ustiga ob'ektni qoplaguncha 0,1 M xlorid kislota eritmasidan solinadi va shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi va uy haroratida bir soatga vaqti-vaqti bilan chayqatib turgan holatda qoldiriladi. Ko'rsatilgan vaqtdan so'ng uni filtr orqali suzilib, biologik ob'ektning qattiq qismi ikkinchi marotaba bir soat davomida 0,1 M xlorid kislota eritmasi bilan bo'ktiriladi. Xlorid kislotali eritmalar birlashtirilib, 10 daqiqa 3000 ayl/daq tezlikda sentrifugalanadi. So'ngra suvli qismi ajratilib, cho'kma qismiga 20-30 ml 0,1 M xlorid kislota eritmasidan solinib, bir soatga qoldiriladi. Ajratma sentrifugalanib, suvli qatlami umumiy ajratmaga qo'shib, ajratgich voronkaga o'tkaziladi va oqsil moddalardan tozalash maqsadida ikki marotaba 20 ml xloroform bilan ekstraksiyalandi. Xloroform qatlami tashlab yuboriladi. Qolgan suvli eritma qatlamini 25% ammiak eritmasi bilan pH=4,0-5,0 ga keltirilib, uni 20 ml geksan yordamida uch marotaba ekstraksiya qilinadi. Olingan geksanli ajratmalar birlashtirilib, 5,0 g suvsizlantirilgan natriy sulfat tuzi saqlagan filtr qog'oz orqali chinni kosachaga filtrlab olinadi va quruq qoldiq qolguncha uy haroratida parlatiladi. Qoldiqni 5 ml etil spirtida eritilib, YUQX usulida tozalanadi. So'ngra YUSSX usulida tahlili amalga oshiriladi.

5.2. Albendazolni biosuyuqliklardan ekstraksiyalash sharoitlari: 25 ml peshob yoki 5 ml qon namunasidan olinib, 2 M xlorid kislotasi bilan pH = 4,0-5,0 muhitga keltiriladi va ustiga 10 ml geksan qo'shib, 10 daqiqa davomida mexanik chayqatgichda chayqatiladi. Shundan so'ng aralashmadagi oqsil moddalarni cho'ktirish maqsadida 5 daqiqa (3000 ayl/daq) davomida sentrifugalanadi. Suvli qatlamdan geksan qatlami ajratib olinib, qolgan suvli qatlam 5 ml geksan bilan ekstraksiyalanib, geksan quyib olinadi. Geksanli ajratmalar birlashtirilib, 5 g. suvsiz natriy sulfat tuzi saqlagan filtr qog'ozidan o'tkaziladi. Filtr 5 ml geksan bilan yuviladi. Filtratdan organik erituvchi xona haroratida bug'latilib, qoldiqni 5 ml etil spirtida eritiladi va albendazolni yupqa qatlam xromatografiya usulida yot moddalardan tozalanib, so'ngra YUSSX usulida tahlili amalga oshiriladi.

5.3. Mebendazolni biologik ob'ektdan ekstraksiyalash sharoitlari:

50 g maydalangan biologik ob'ekt (jigar) ni 250 ml hajmli kolbaga solib, ustiga ob'ektni qoplaguncha 0,1 M xlorid kislota eritmasidan solinadi va shisha tayoqcha bilan aralashtiriladi va uy haroratida bir soatga vaqti-vaqti bilan chayqatib turgan holatda qoldiriladi. Ko'rsatilgan vaqtdan so'ng uni filtr orqali suzilib, biologik ob'ektning qattiq qismi ikkinchi marotaba bir soat davomida 0,1 M xlorid kislota eritmasi bilan bo'ktiriladi. Xlorid kislotali eritmalar birlashtirilib, 10 daqiqa 3000 ayl/daq tezlikda sentrifugalanadi. So'ngra suvli qismi ajratilib,

choʻkma qismiga 20-30 ml 0,1 M xlorid kislota eritmasidan solinib, bir soatga qoldiriladi. Ajratma sentrifugalanib, suvli qatlami umumiy ajratmaga qoʻshilib, ajratgich voronkaga oʻtkaziladi va suvli eritma qatlamini 25% ammiak eritmasi bilan pH=6,0-7,0 ga keltirilib, uni 20 ml xloroform yordamida uch marotaba ekstraksiya qilinadi. Olingan xloroformli ajratmalar birlashtirilib, 5,0 g suvsizlantirilgan natriy sulfat tuzi saqlagan filtr qogʻoz orqali chinni kosachaga filtrlab olinadi va quruq qoldiq qolguncha uy haroratida parlatiladi. Qoldiqni 5 ml etil spirtida eritilib, YUQX usulida tozalanadi. Soʻngra YUSSX usulida tahlili amalga oshiriladi.

5.4. Mebendazolni biosuyuqliklardan ekstraksiyalash sharoitlari: 25 ml peshob va 5 ml qon namunasidan olinib, ammiak eritmasi bilan pH = 6,0-7,0 muhitga keltiriladi va ustiga 10 ml organik erituvchi xloroform qoʻshib, 10 daqiqa davomida mexanik chayqatgichda chayqatiladi. Shundan soʻng aralashmadagi oqsil moddalarni choʻktirish maqsadida 5 daqiqa (3000 ayl/daq) davomida sentrifugalanadi. Suvli qatlamdan xloroform qatlami ajratib olinib, qolgan suvli qatlam 5 ml xloroform bilan ekstraksiyalanib, xloroform quyib olinadi. Xloroformli ajratmalar birlashtirilib, 5 g. suvsiz natriy sulfat tuzi saqlagan filtr qogʻozidan oʻtkaziladi. Filtr 5 ml xloroform bilan yuviladi. Filtratdan organik erituvchi xona haroratida bugʻlatilib, qoldiqni 5 ml etil spirtida eritiladi va mebendazolni yupqa qatlam xromatografiya usulida yot moddalardan tozalanib, soʻngra YUSSX usulida tahlili amalga oshiriladi.

5.5. Levamizolni biologik obʻektdan ekstraksiyalash sharoitlari:

50 g maydalangan biologik obʻekt (jigar) ni 250 ml hajmli kolbaga solib, ustiga obʻektni qoplaguncha 0,02 M sulfat kislota eritmasidan solinadi va shisha tayoqcha bilan aralashiriladi va uy haroratida bir soatga vaqti-vaqti bilan chayqatib turgan holatda qoldiriladi. Koʻrsatilgan vaqtdan soʻng uni filtr orqali suzilib, biologik obʻektning qattiq qismi ikkinchi marotaba bir soat davomida 0,02 M sulfat kislota eritmasi bilan boʻktiriladi. Sulfat kislota eritmalar birlashtirilib, 10 daqiqa 3000 ayl/daq tezlikda sentrifugalanadi. Soʻngra suvli qismi ajratilib, choʻkma qismiga 20-30 ml 0,02 M sulfat kislota eritmasidan solinib, bir soatga qoldiriladi. Ajratma sentrifugalanib, suvli qatlami umumiy ajratmaga qoʻshilib, ajratgich voronkaga oʻtkaziladi va suvli eritma qatlamini 25% ammiak eritmasi bilan pH=3,0-4,0 ga keltirilib, uni 20 ml xloroform yordamida uch marotaba ekstraksiya qilinadi. Olingan xloroformli ajratmalar birlashtirilib, 5,0 g suvsizlantirilgan natriy sulfat tuzi saqlagan filtr qogʻoz orqali chinni kosachaga filtrlab olinadi va quruq qoldiq qolguncha uy haroratida parlatiladi. Qoldiqni 5 ml etil spirtida eritilib, YUQX usulida tozalanadi. Soʻngra YUSSX usulida tahlili amalga oshiriladi.

5.6. Levamizolni biosuyuqliklardan ekstraksiyalash sharoitlari: 25 ml peshob va 5 ml qon namunasidan olinib, 0,1 M sulfat kislota eritmasi bilan pH = 3,0-4,0 muhitga keltiriladi va ustiga 10 ml organik erituvchi xloroform qoʻshib, 10 daqiqa davomida mexanik chayqatgichda chayqatiladi. Shundan soʻng aralashmadagi oqsil moddalarni choʻktirish maqsadida 5 daqiqa (3000 ayl/daq)

davomida sentrifugalanadi. Suvli qatlamdan xloroform qatlami ajratib olinib, qolgan suvli qatlam 5 ml xloroform bilan ekstratsiyalanib, xloroform quyib olinadi. Xloroformli ajratmalar birlashtirilib, 5 g. suvsiz natriy sulfat tuzi saqlagan filtr qog'ozidan o'tkaziladi. Filtr 5 ml xloroform bilan yuviladi. Filtratdan organik erituvchi xona haroratida bug'latilib, qoldiqni 5 ml 95% etil spirtida eritiladi va levamizolni yupqa qatlam xromatografiya usulida yot moddalardan tozalanib, so'ngra YUSSX usulida tahlili amalga oshiriladi.

6. Ajratmalardan olingan antigelmint dori vositalarini yot moddalardan yupqa qatlam xromatografik usulda tozalash va aniqlash

Aniqlanuvchi moddalarni tasdiqlash, bir-biridan ajratish, soekstraktiv moddalardan tozalash maqsadida YUQX tahlili amalga oshiriladi.

Buning uchun 3ta xromotografik «Silufol UV 254» plastinkalarning start chizig'iga biologik ob'ekt va biologik suyuqliklardan ajraib olingan spirtli eritmalaridan chiziq shaklida tomizilib, bir tomoniga tasdiqlovchi sifatida albendazol, mebendazol, levamizollarning ishchi standart eritmalaridan tomizilib, xona haroratida quritiladi. Organik erituvchilar aralashmasi: xloroform - etil spirti – chumoli kislota (8:1:1), xloroform - etil spirti – chumoli kislota (4:2:1) solingan va ularning bug'lari bilan to'yintirilgan xromatografik kameralarga plastinkalarni tushirilib, erituvchilar aralashmasi 10 sm balandlikka ko'tarilib, finish chizig'iga etganida plastinkalarni olib xona haroratida quritiladi. Xromatografik plastinkalarda moddalarni ko'tarilib to'plangan joylarini aniqlash maqsadida UB-254 lampa yordamida belgilab olinadi, yoki qirib olinadigan sorbent qatlami tomoni berkitilib, ob'ektlardan olingan dori moddalari tomizilgan qismiga Dragendorf reaktivi bilan purkaladi. Moddalarni dog'lari hosil bo'lgan qismlari belgilanib, sorbent qatlamlarini qirib olinadi va tahlili olib boriladi.

1-jadval

O`rganilayotgan antigelmint dori vositalari uchun tavsiya etilayotgan

YUQX -skrining tahlil sharoitlari

Moddalar	Erituvchilar sistemasi	Ochuvchi reaktiv	Rf ko`rsatgich	Elyuant
Albendazol	xloroform - etil spirti – chumoli kislota (8:1:1)	UB-nurda tovlanish; Mun`e bo`yicha modifikatsiyalangan Dragendorf reaktivi	0,70	0,1M xlorid kislota
Mebendazol			0,60	
Levamizol	xloroform - etil spirti – chumoli kislota (4:2:1)	Mun`e bo`yicha modifikatsiyalangan Dragendorf reaktivi	0,47	0,1 M sulfat kislota

7. Antigelmint ta'sirli dori vositalarini yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulida aniqlash

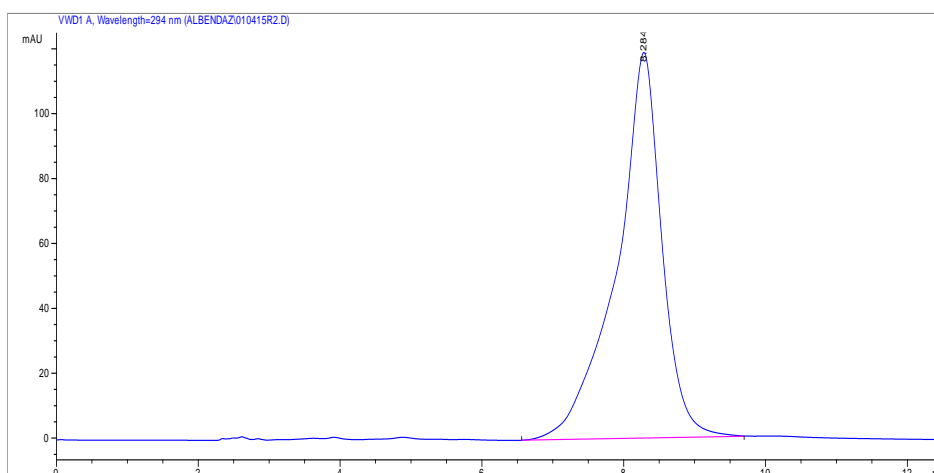
7.1. Albendazol dori vositasini yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulida aniqlash

Tajribalar Amerikaning "Agilent Technologies" korxonasi ishlab chiqarilgan "Agilent 1100 series" rusumli yuqori samarali suyuqlik xromatografida olib boriladi. Asbob yuqori bosimda ishlashga mo'ljallangan izokritik nasos, 190-600 nm to'liq uzunliklarida tahlil o'tkazuvchi spektrofotometrik detektor, qo'zg'aluvchi faza tarkibidagi gazlarni yo'qotuvchi qurilma, 20 mkl hajmli o'lchov uskuna – "Rheodyne" injektor va xromatografik kolonkadan tashkil topgan. Asbob to'raligicha "Chemstation A.09.03" dasturi yordamida kompyuter orqali boshqariladi.

Izlanishlar quyidagi sharoitlarda olib boriladi:

- Xromatografik kolonka: 3x100 mm, sorbent -Eclipse XDV, zarracha o'lchami- 3,5 mkm.
- Deteksiyalash 294 nm to'liq uzunligida olib borildi.
- Mobil faza: ammoniy digidrofosfat-metanol (300:700).
- Elyuent oqimi tezligi- 1,0 ml/daq.
- Kolonka harorati - uy haroratiga teng.
- Tahlil davomiyligi 15 daqiqa

Albendazol 0,02 g(a.t) tortilib, 50 ml o'lchov kolbasida mobil faza bilan eritilib, eritmaning hajmi belgisigacha mobil faza bilan etkaziladi. Shu eritmadan albendazolning ishchi standart eritmaları tayyorlanib, tahlili amalga oshiriladi. Ushbu sharoitlarda albendazolning ushlanish vaqti 8,284 daqiqani tashkil qiladi (1-rasm).



1-rasm. Albendazolning tanlangan YUSSX sharoitlarida olingan xromatogrammasi

Tajribalarning keyingi bosqichida ushbu tahlil sharoitlarda albendazolning miqdoriy tahlilini olib borish maqsadida tarkibida 1, 10, 20, 30, 40 mkg/ml miqdorda albendazolning standart moddasini saqlagan standart namuna eritmaları

tayyorlanadi. Standart eritmalardan 20 mkl hajmda xromatograf kolonkasiga yuqoridagi sharoitlarda yuboriladi va olingan xromatografik cho‘qqilarning ko‘rsatkichlari hisoblanadi. Tajriba natijalari 2-jadvalda keltirilgan.

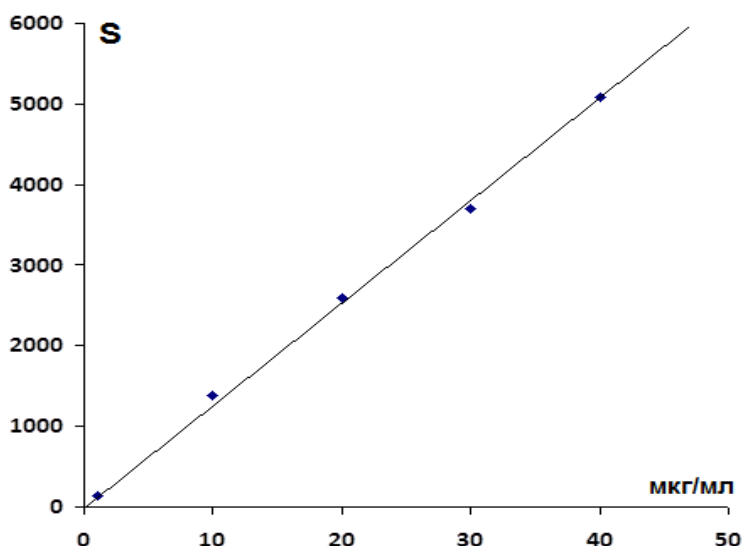
2-jadval

YUSSX usulida albendazolni aniqlashning chiziqliligini o‘rganish natijalari

Eritma konsentratsiyasi, mkg/mkl	Xromatografik cho‘qqi maydon yuzasi(S)
1.00	133.7
10.00	1386.8
20.00	2593.6
30.00	3710.4
40.00	5087.2

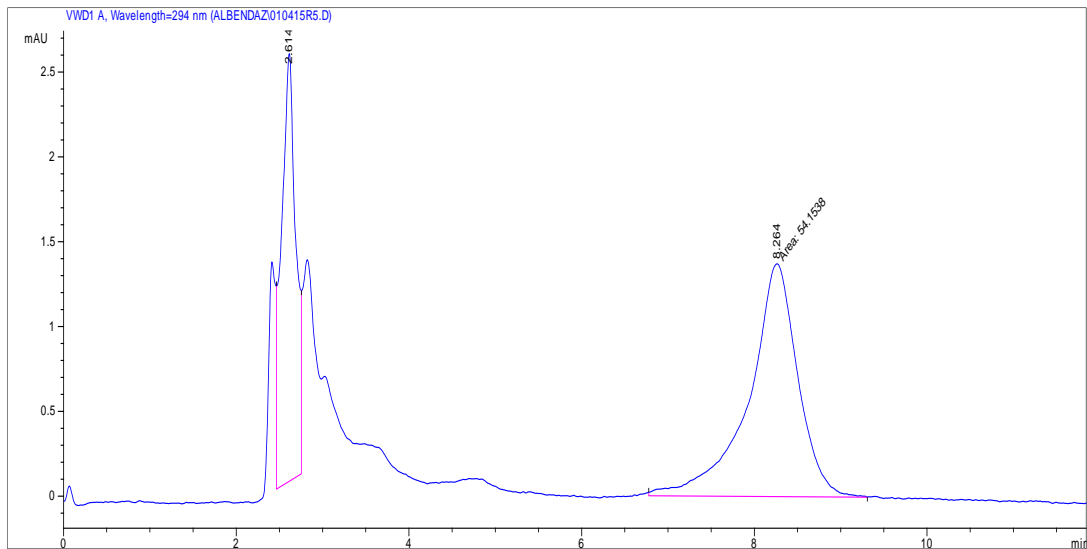
Tajribalar natijasida uslubning albendazol uchun aniqlashlarning chiziqli diapazoni 1-40 mkg va sezgirliги 0,3 mkgni tashkil etadi.

Tajriba uchun olingan modda miqdorlari va ularga mos keluvchi xromatografik cho‘qqi maydon yuzalariga bog‘liqlik asosida kalibrlash chizmasi asbob boshqaruv dasturi orqali tuziladi (2-rasm).

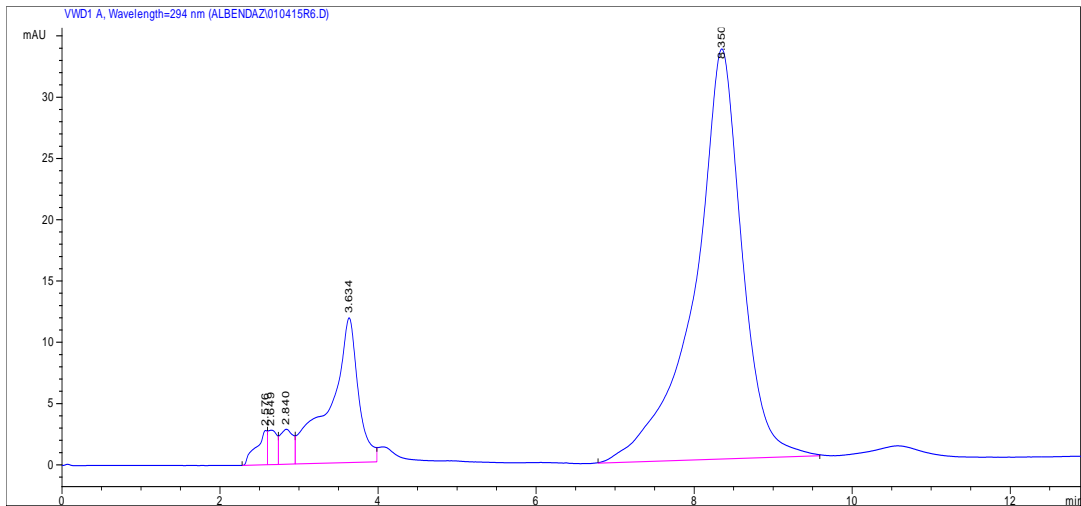


2-rasm. Albendazolning tavsiya qilinayotgan YUSSX tahlil sharoitida chiziqliligini aniqlash chizmasi

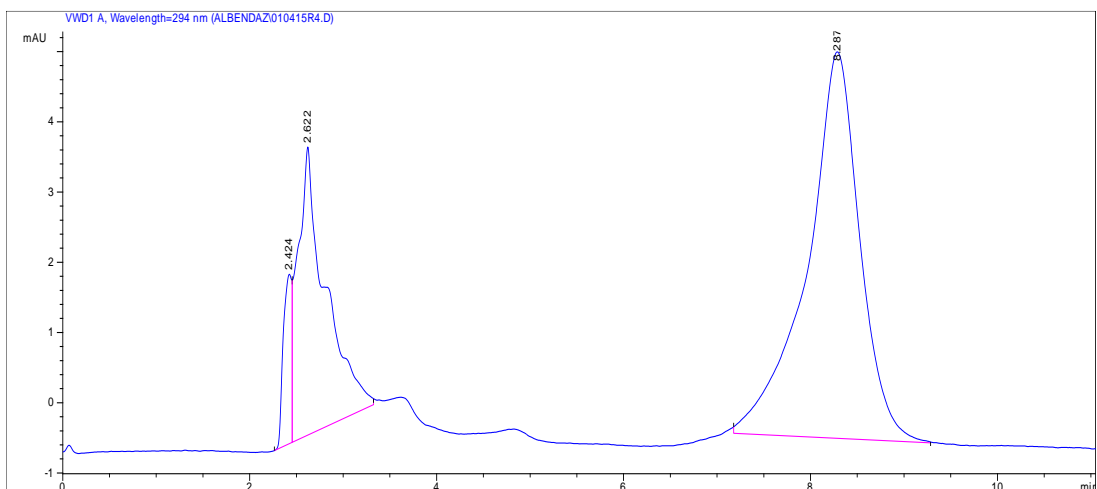
Ishlab chiqilgan xromatografik tahlil sharoitlari asosida biologik ob’ekt va biologik suyuqliklar tarkibidan ajratib olingan albendazolning sifat va miqdorini aniqlanadi.



3-rasm. Qondan ajratib olingan albendazol eritmasining xromatogrammasi



4-rasm. Peshobdan ajratib olingan albendazol eritmasining xromatogrammasi



5-rasm. Biologik ob'ektdan ajratib olingan albendazol eritmasining xromatogrammasi

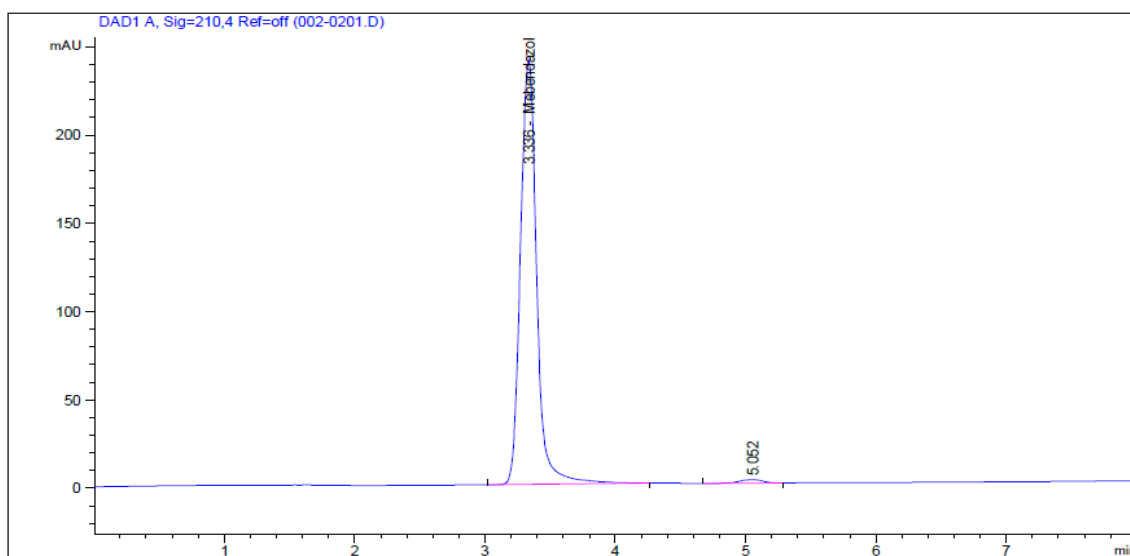
7.2. Mebendazol dori vositasini yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulida aniqlash

Tajribalar Amerikaning “Agilent Technologies” korxonasi ishlab chiqarilgan “Agilent 1100 series” rusumli yuqori samarali suyuqlik xromatografida olib boriladi. Asbob yuqori bosimda ishlashga mo‘ljallangan izokritik nasos, 190-600 nm to‘lqin uzunliklarida tahlil o‘tkazuvchi spektrofotometrik detektor, qo‘zg‘aluvchi faza tarkibidagi gazlarni yo‘qotuvchi qurilma, 20 mkl hajmli o‘lchov uskuna – “Rheodyne” injektor va xromatografik kolonkadan tashkil topgan. Asbob to‘laligicha “Chemstation A.09.03” dasturi yordamida kompyuter orqali boshqariladi.

Izlanishlar quyidagi sharoitlarda olib boriladi:

- Xromatografik kolonka: 4,6 x150 mm, sorbent - Eclipse ACE 5 C18 S/N-A82851, zarrachao‘lchami- 5 mkm.
- Deteksiyalash 210 nm to‘lqin uzunligida olib borildi.
- Mobil faza: ammoniy digidrofosfat-metanol (20:80).
- Elyuent oqimi tezligi- 1,0 ml/daq.
- Kolonka harorati - uy haroratiga teng.
- Tahlil davomiyligi 10 daqiqa

Mebendazol 100 mg(a.t) tortilib, 100 ml o‘lchov kolbasida 5 ml 1% sulfat kislotada eritildi va eritmaning hajmi belgisigacha metanol bilan etkaziladi. Shu eritmadan 1ml olinib hajmi 100ml bo‘lgan o‘lchov kolbasiga solinadi va hajmi belgisigacha methanol bilan etkazilib, tahlili amalga oshiriladi. Ushbu sharoitlarda mebendazolning ushlanish vaqti 3,336daqiqani tashkil qiladi (6-rasm).



6-rasm. Mebendazolning tanlangan YUSSX sharoitlarda olingan xromatogrammasi

Tajribalarning keyingi bosqichida ushbu tahlil sharoitlarda mebendazolning miqdoriy tahlilini olib borish maqsadida tarkibida 10-50 mkg/ml miqdorda mebendazolning standart moddasini saqlagan standart namuna eritmaları tayyorlanadi. Standart eritmalardan 20 mkl hajmda xromatograf kolonkasiga yuqoridagi sharoitlarda yuboriladi va olingan xromatografik cho‘qqilarning ko‘rsatkichlari hisoblanadi. Tajriba natijalari 3-jadvalda keltirilgan.

3-jadval

YUSSX usulida mebendazolni aniqlashning chiziqchilikni o‘rganish natijalari

Eritma konsentratsiyasi, mkg/mkl	Xromatografik cho‘qqi maydon yuzasi(S)
10	2082,08
20	3903,2
30	5642,6
40	7417,2
50	9184,8

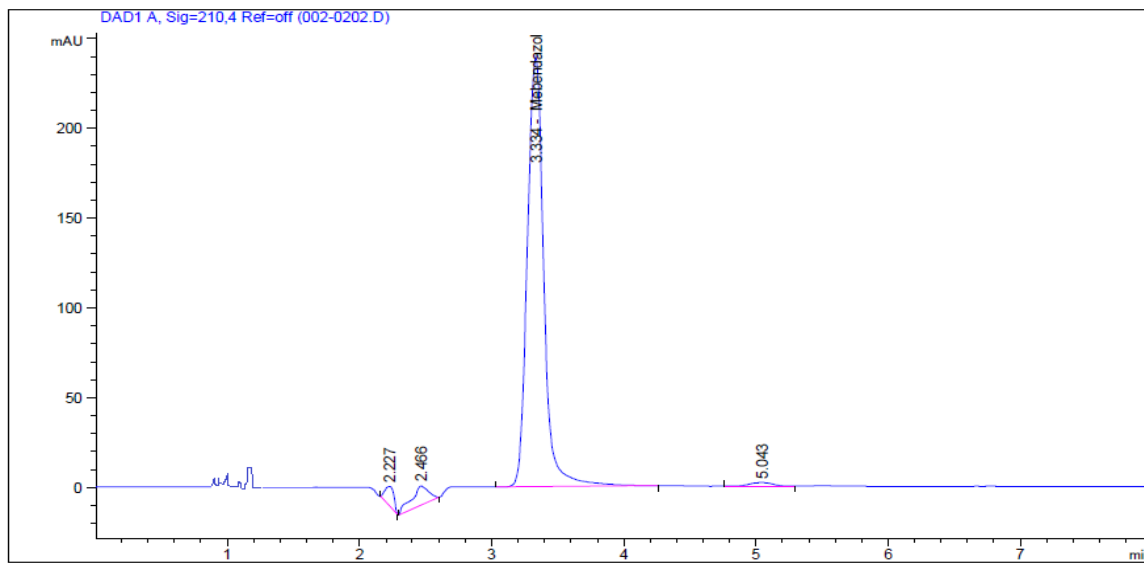
Tajribalar natijasida uslubning mebendazol uchun aniqlashlarning chiziqchilik diapazoni 10-50 mkg va sezgirligi 0,3 mkgni tashkil etadi.

Tajriba uchun olingan modda miqdorlari va ularga mos keluvchi xromatografik cho‘qqi maydon yuzalariga bog‘liqlik asosida kalibrlash chizmasi asbob boshqaruv dasturi orqali tuziladi (7-rasm).

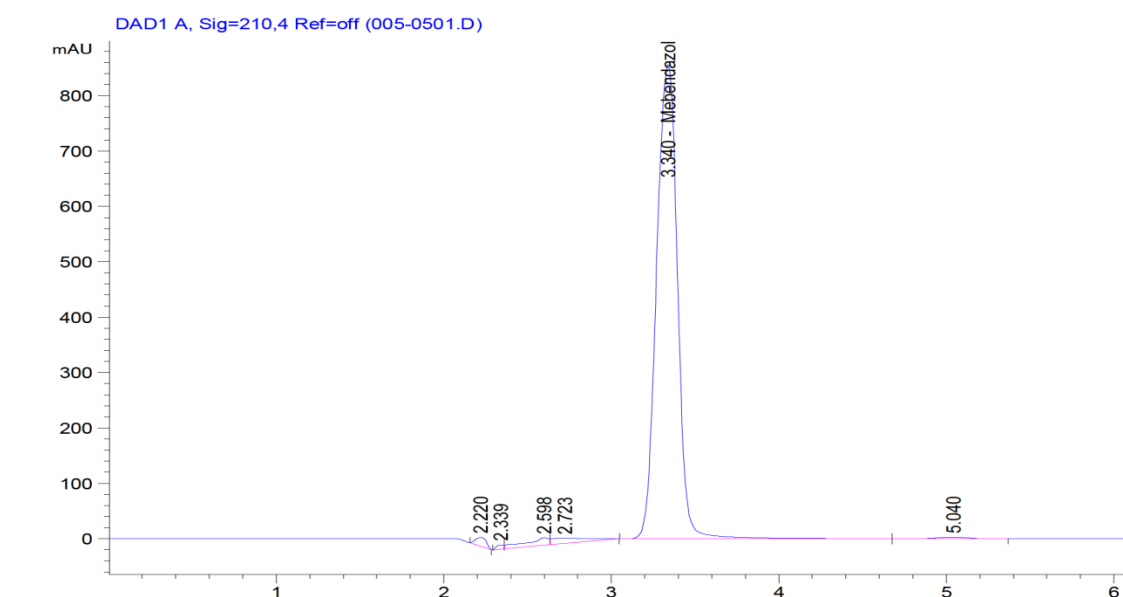


7-rasm. Mebendazolning tavsiya qilinayotgan YUSSX tahlil sharoitida chiziqchilikni aniqlash chizmasi

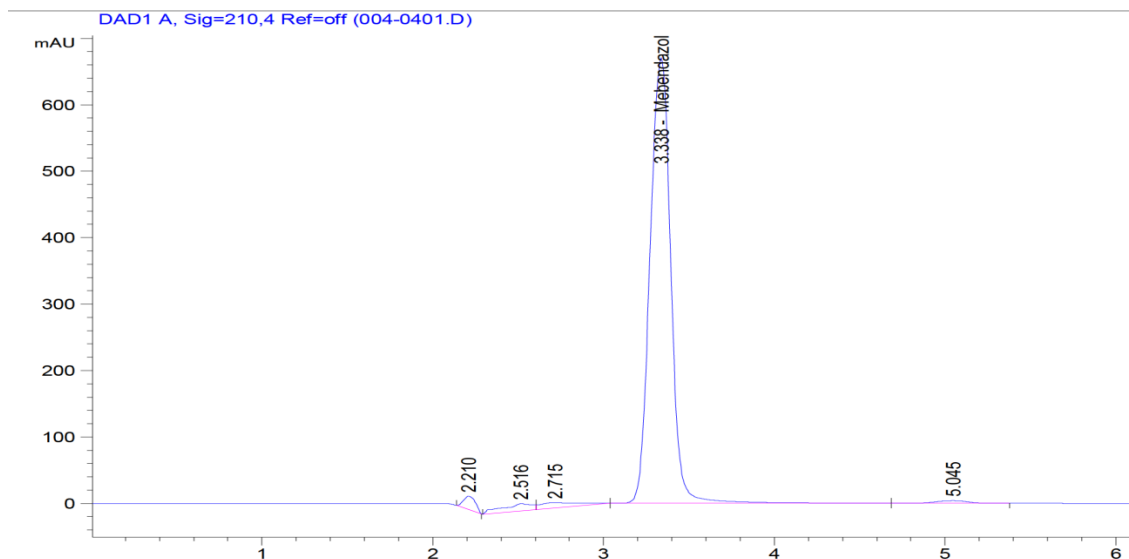
Ishlab chiqilgan xromatografik tahlil sharoitlari asosida biologik ob'ekt va biologik suyuqliklar tarkibidan ajratib olingan mebendazolning sifat va miqdorini aniqlanadi.



8-rasm. Biologik ob'ektdan ajratib olingan mebendazol eritmasining xromatogrammasi



9-rasm. Qondan ajratib olingan mebendazol eritmasining xromatogrammasi



10-rasm. Peshobdan ajratib olingan mebendazol eritmasining xromatogrammasi

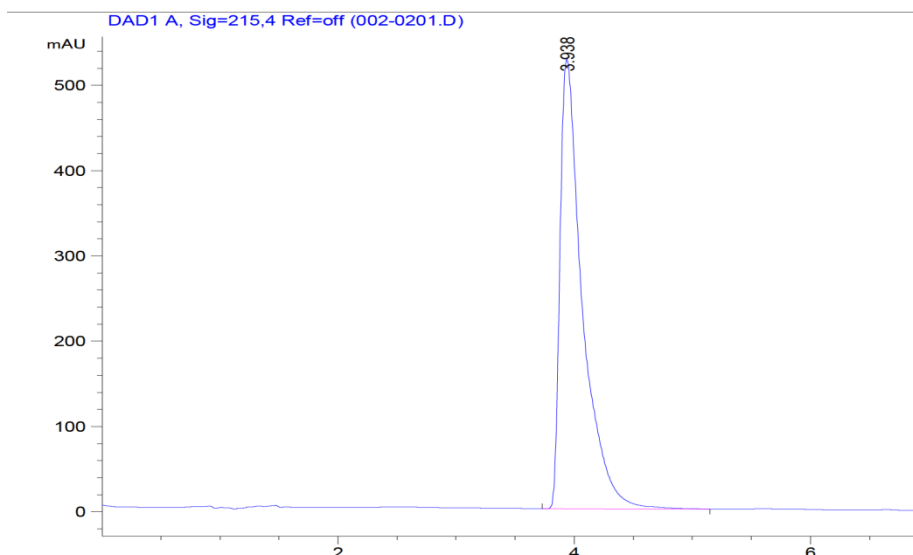
7.3. Levamizol dori vositasini yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulida aniqlash.

Tajribalar Amerikaning “Agilent Technologies” korxonasi ishlab chiqarilgan “Agilent 1100 series” rusumli yuqori samarali suyuqlik xromatografida olib boriladi. Asbob yuqori bosimda ishlashga mo‘ljallangan izokritik nasos, 190-600 nm to‘lqin uzunliklarida tahlil o‘tkazuvchi spektrofotometrik detektor, qo‘zg‘aluvchi faza tarkibidagi gazlarni yo‘qotuvchi qurilma, 20 mkl hajmli o‘lchov uskuna –“Rheodyne” injektor va xromatografik kolonkadan tashkil topgan. Asbob to‘laligicha “Chemstation A.09.03” dasturi yordamida kompyuter orqali boshqariladi.

Izlanishlar quyidagi sharoitlarda olib boriladi:

- Xromatografik kolonka: 4,6 x150 mm, sorbent - Eclipse XDB C-18, zarracha o‘lchami- 3 mkm.
- Deteksiyalash 215 nm to‘lqin uzunligida olib borildi.
- Mobil faza: metanol-distillangan suv (80:20).
- Elyuent oqimi tezligi- 2,0 ml/daq.
- Kolonka harorati - uy haroratiga teng.
- Tahlil davomiyligi 10 daqiqa

Levamizol 25 mg (a.t) tortilib, 25 ml o‘lchov kolbasida 5-10 ml distillangan suvda eritiladi va eritmaning hajmi belgisigacha metanol bilan etkaziladi. Shu eritmadan 1ml olinib hajmi 100ml bo‘lgan o‘lchov kolbasiga solinadi va hajmi belgisigacha metanol bilan etkazilib, tahlili amalga oshiriladi. Ushbu sharoitlarda levamizolning ushlanish vaqti 3,938daqiqani tashkil qiladi (11-rasm).



11-rasm. Levamizolning tanlangan YUSSX sharoitlarda olingan xromatogrammasi

Tajribalarning keyingi bosqichida ushbu tahlil sharoitlarda levamizolning miqdoriy tahlilini olib borish maqsadida tarkibida 0,015-0,075 mkg/ml miqdorda levamizolning standart moddasini saqlagan standart namuna eritmalari tayyorlanadi. Standart eritmalaridan 20 mkl hajmda xromatograf kolonkasiga yuqoridagi sharoitlarda yuboriladi va olingan xromatografik cho‘qqilarning ko‘rsatkichlari hisoblanadi. Tajriba natijalari 4-jadvalda keltirilgan.

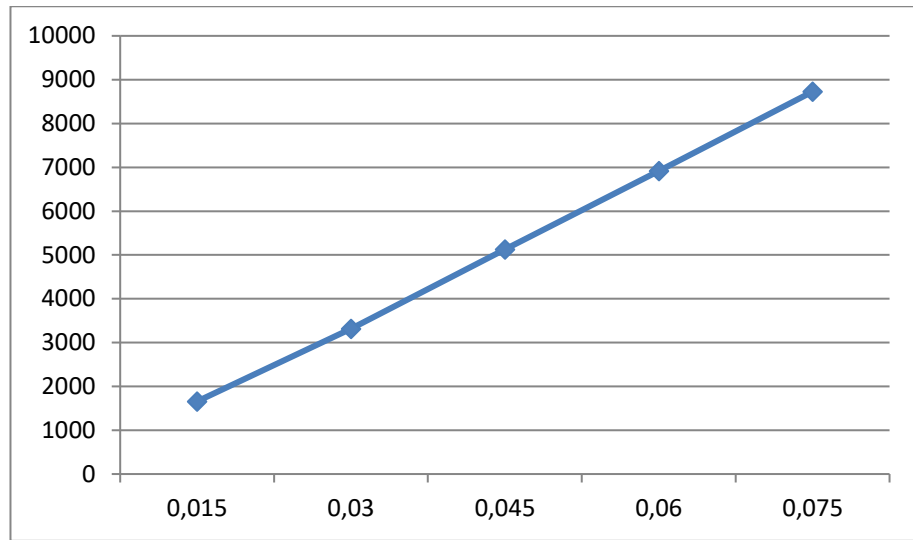
4-jadval

YUSSX usulida levamizolni aniqlashning chiziqililigini o‘rganish natijalari

Eritma konsentratsiyasi, mkg/mkl	Xromatografik cho‘qqi maydon yuzasi(S)
0,015	1657,5
0,030	3314,3
0,045	5125,7
0,060	6916,4
0,075	8727,1

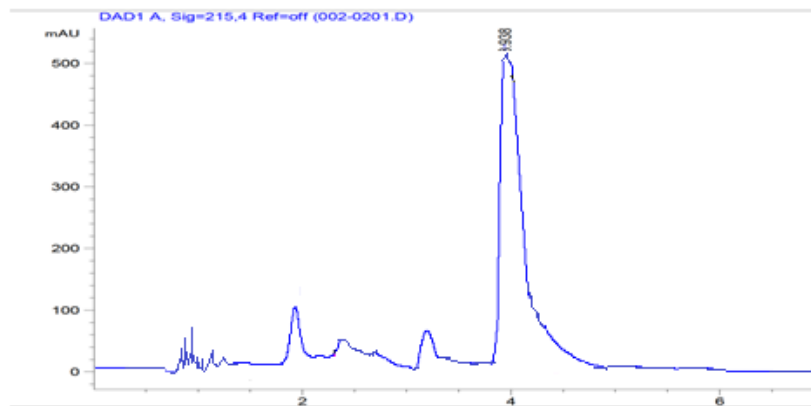
Tajribalar natijasida uslubning levamizol uchun aniqlashlarning chiziqli diapazoni 0,015-0,075mkg va sezgirligi 0,01 mkgni tashkil etadi.

Tajriba uchun olingan modda miqdorlari va ularga mos keluvchi xromatografik cho‘qqi maydon yuzalariga bog‘liqlik asosida kalibrlash chizmasi asbob boshqaruv dasturi orqali tuziladi (12-rasm).

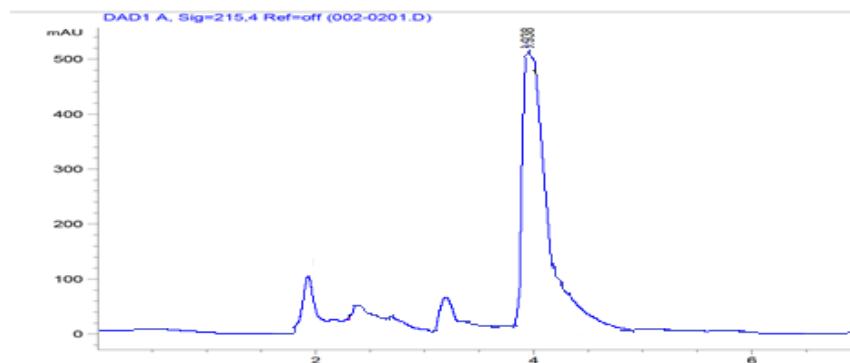


12-rasm. Levamizolning tavsiya qilinayotgan YUSSX tahlil sharoitida chiziqchiligi aniqlash chizmasi

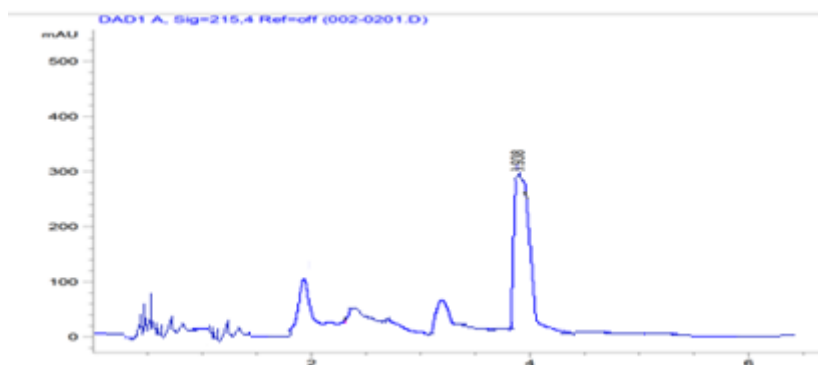
Ishlab chiqilgan xromatografik tahlil sharoitlari asosida biologik ob'ekt va biologik suyuqliklar tarkibidan ajratib olingan levamizolning sifat va miqdorini aniqlanadi.



13-rasm. Qondan ajratib olingan levamizol eritmasining xromatogrammasi



14-rasm. Peshobdan ajratib olingan levamizol eritmasining xromatogrammasi



15-rasm. Biologik ob`yektdan ajratib olingan levamizol eritmasining xromatogrammasi

Biologik ob`ektlar tarkibidagi antigelmint dori vositalarining miqdori YUSSX usulida quyidagi formula asosida hisoblab topiladi:

$$X = \frac{S \cdot A_{ct} \cdot V \cdot 100}{S_{ct} \cdot A \cdot V_{ct}}$$

bu erda, S –aniqlanuvchi namunani cho`qqi yuzasi;

S_{ct} –standart namunani cho`qqi yuzasi;

A_{st} – standart namunaning og`irligi, mkg;

A– aniqlanuvchi namunaning og`irligi, mg;

V_{st} – standart namuna eritmasi hajmi, ml;

V- aniqlanuvchi namuna eritmasi hajmi, ml;

Foydalanilgan adabiyotlar:

1. Архипов И.А. Антигельминтики: фармакология и применение. – М., 2009. – 405 с.
2. Clarke's isolation and identification of drugs, London, 2000. P. -323.
3. Сычев С.Н., Сычев К.С., Гаврилина В.А. Высокоэффективная жидкостная хроматография на микроколоночных хроматографах серии "Millixrom" – Орел: ОрелГТУ, 2002. –134 с.
4. Usmanalieva Z.O‘., Tojiev M.A., Jalilov F.S. Albendazol dori vositasini yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usulida tahlil qilish sharoitlarini ishlab chiqish. Farmatsevtika jurnali. – Toshkent, 2015. - №3. - B.45-48.
5. Usmanalieva Z.U., Tadjiev M.A. Development of detection mebendazole HPLC. 54nd Annual meeting of the international Association of Forensic Toxicologists/- Australia, 2016. –P. 225.
6. Usmanalieva Z.O‘., Tojiev M.A. Biosuyuqliklar tarkibidan albendazolni ajratib olish va tahlil qilish. Farmatsevtika jurnali. – Toshkent, 2015. - №1. - B.77-80.
7. Усманалиева З.У., Тожиев М.А., Рашитов Р. Изолирование и определение мебендазола из биологического материала методом ВЭЖХ. Фармацевтический журнал. – Ташкент, 2018. - №2. - С.52-56.
8. Михайлицын Ф.С., Лебедева М.Н., Садиков Т., Арипов Х.Н. и др. Разработка и внедрение нового отечественного антигельминтика альбендазола. Медицинская паразитология и паразитарные болезни, 2001.- №3.-С.49-51.
9. Усманалиева З.У. Разработка обнаружения и определения левамизола из биологических материалов методом ВЭЖХ //Инфекция, иммунитет и фармакология. №2. 2020. –С. 174-177.
10. Байзолданов Т.Б., Байзолданова Ш.Т. Руководство по токсикологической химии ядовитых веществ, изолируемых методами экстракции. – Алматы: “ТОО.Марья” , 2003. – 410 с.