

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

TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

**BIOLOGIK OB'EKT VA BIOLOGIK
SUYUQLIKLARDAN
SONNAT (ZOPIKLON)NI AJRATIB OLISH
VA TAHLIL QILISH**

USLUBIY TAVSIYANOMA

Toshkent – 2019

O'ZBEKISTON RESPUBLIKASI
SOG'LIQNI SAQLASH VAZIRLIGI

TOSHKENT FARMATSEVIKA INSTITUTI

“KELISHILGAN”

Fanni rivojlantirish
boshqarmasi boshlig'i t.f.d.,
prof. Xabilov N.L.
« 18 » 10 2019 y.

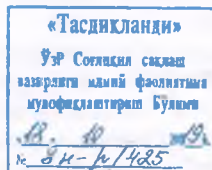
“TASDIQLAYMAN”

Fan va ta'lim Bosh
boshqarmasi boshlig'i t.f.d.,
prof. Ismailov U.S.
« 18 » 10 2019 y.



BIOLOGIK OB'JEKT VA BIOLOGIK SUYUQLIKLARDAN
SONNAT(ZOPIKLON)NI AJRATIB OLISH VA TAHLIL QILISH

(Uslubiy tavsiyanoma)



Toshkent – 2019

ASOSIY MUASSASA: TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

TUZUVCHILAR:

Sultanova A.A. Toksikologik kimyo kafedrasida assistenti
Usmanalieva Z.O' Toksikologik kimyo kafedrasida mudiri, farm.f.n., dots.
Tojiev M.A. FMOF professori, farm.f.d., professor

Taqrizchilar:

Jalilov F.S. Dori vositalarini standartlash va sertifikatlash kafedrasida mudiri, farm.f.n. dots.
Muslimov M.Q. Respublika sud-tibbiy ekspertiza ilmiy-amaliy markazi Toshkent viloyati filiali, sud kimyo bo'limi eksperti, farm.f.n. dots.

Uslubiy tavsiyanoma sud ekspertizasi va sud tibbiyot ekspertizasi ekspertlari hamda farmatsevtlar uchun sonnat(zopiklon)ni biologik ob'ekt va biologik suyuqliklar (qon, peshob) dan ajratib olish va tahlil qilishda qo'llashga mo'ljallangan.

Uslubiy tavsiyanoma Toshkent farmatsevtika instituti muammolar hay'ati tomonidan muhokama qilindi (2019yil 20 maydagi 8 -sonli bayonnomasi).

Toshkent farmatsevtika instituti Kengashining 2019 yil 30 maydagi 10-sonli bayonnomasi asosida tasdiqlandi.

Ilmiy kengash kotibi, professor



V.R. Xaydarov

Biologik ob'ekt va biologik suyuqliklardan sonnat (zopiklon)ni ajratib olish va tahlil qilish

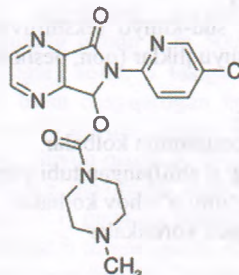
1. Sonnat (zopiklon) haqida qisqacha ma'lumotlar

Lotincha nomi: Zopiclone

Kimyoviy nomi: 6-(5-xlor-2 piridinil)-6,7-digidro-7-okso-5N-pirrolo [3,4-v] pirazin-5-il efir-4-metil-1-piperazin karboksilat

Xalqaro nomi: Zopiclone

Kimyoviy-formulasi: C₁₇H₁₇ClN₆O₃



Farmakologik guruhi: uxlatuvchi, sedativ preparat

Molekulyar massasi: 388,8 g/mol

Tabiati: asos xossali

CAS kodi: 43200-80-2

Suyuqlanish temperaturasi: 177-178° S

Sinonimlari: (Zopiclone) Sonnat, Amoban, Amovan, Datoan, Imovan, Limovan, Rhovane, Siaten, Sopivan, Ximovan, Zileze, Zimovan, Somnol va boshqalar.

Tavsifi: Sonnat (zopiklon) hidsiz, oq yoki biroz och sariq rangli kukun bo'lib, atseton, dioximetan va suyultirilgan mineral kislotalarda yaxshi eriydi. 95% spirtida kam eriydi, suvda amalda erimaydi.

Sonnat tarkibi bo'yicha benzodiazepin va barbituratlardan farq qilib, psixotrop vositalarning yangi sinfi bo'lgan siklopirolonlar xosilasiga kirib, uyquning fiziologik holatini saqlab qolishi uchun tibbiyot amaliyotida uxlatuvchi va tinchlantiruvchi dori vositasi sifatida, shu jumladan: o'tkinchi, vaziyatga bog'liq uyqusizlikni yoki surunkali uyqusizlikni qisqa muddatli davolashda, ruhiy buzilishlar va tungi astmadagi uyquni ikkilamchi buzilishlarida qo'llaniladi.

Sonnat qabul qilingandan so'ng oshqozon ichak orqali yaxshi so'riladi, 30 daqiqadan so'ng uyqu chaqiradi. Hujayralarda tez va keng tarqaladi, jumladan miyada ham. Organizmdan sut, peshob, so'lak va nafas orqali chiqariladi. Jigarda metabolitlanadi, nofaol N-demetil va faol N-oksidi metabolitga parchalanadi. Bu jarayon normal jigarda 3,5-6 soat davom etsa jigar faoliyati yetishmovchiligida 11 soatgacha boradi. Bundan tashqari qabul qilingan dozaning 50% dekarboksillanadi va o'pka orqali chiqib ketadi. Peshobda N-demetil va N-oksidi metabolitlar dastlabki dozaning 30% ni tashkil qiladi, 4-5% esa o'zgarmagan holda ajralib

chiqadi. 13-14% ichaklar orqali ajraladi. Sonnat qabul qilingandan so'ng 20-30 daqiqa ichida uyqu keladi va 6-8 soat davom etadi.

Biroq sonnat dori vositasini mumkin bo'lmagan holatlarda nojo'ya qo'llash, uzoq muddatli qabul qilish yoki dozasini oshirib yuborilganda, alkohol, giyohvand va boshqa neyroleptik vositalar bilan birgalikda qabul qilinganda asosan markaziy nerv tizimining susayishi rivojlanadi, uyquchanlikdan komagacha bo'lgan holat, ba'zida o'lim holati bilan tugaydi. Buning natijasida sud kimyo amaliyotida zaharlanish holatlari tez-tez uchrab turibdi.

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) 500 ml sig'imli konussimon kolbalar
- 2) 250 ml sig'imli og'zi shliflangan tubi yumaloq kolbalar
- 3) 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) UB-spektrofotometri
- 15) Kyuvetalar
- 16) PIIN-S "Iskovich-1"
- 17) Mikroshpiritslar (1-10 mkl)
- 18) Mikrokapilyarlar (1-10 mkl)
- 19) "Agilent 1100 series" rusumli yuqori samarali suyuqlik xromatografi
- 20) Xromatografik po'lat kolonka- zarrachalar yirikligi 3,5 mkm bo'lgan Zorbax Eclipse XDB S-18 sorbent bilan to'ldirilgan, o'lchami 150x3 mm;

4. Reaktivlar va eritmalar:

- 1) Xloroform, "a.u.t."
- 2) Benzol, "a.u.t."
- 3) Atseton, "a.u.t."
- 4) Etil spirti, 95%
- 5) Zopiklonning ishchi standart namunasi
- 6) Mune bo'yicha modifikatsiyalangan Dragendorf reaktivi
- 7) Bushard reaktivi

- 8) Xromatografik plastinkalar «Silufol UV 254»
- 9) KSK sorbentli plastinka
- 10) Suvsiz natriy sulfat, "a.u.t."
- 11) 0,1 M xlorid kislota
- 12) 10% natriy ishqori

5. Sonnatni biologik ob'ekt va biologik suyuqliklardan ajratib olish va tahlilga tayyorlash

5.1 Sonnatni biologik ob'ektdan ajratib olish ekstraksiyalash

sharoitlarini ishlab chiqish: Buning uchun 6 ta 500 ml kolbalarga 50,0 g dan maydalangan biologik ob'ekt (jigar) solib, 5 tasiga 3,0 mg dan zopiklon dori vositasidan qo'shib, vaqti-vaqti bilan chayqatilgan holatda 24 soatga qoldirildi. So'ngra ob'ektlarning hammasiga 50 ml dan atseton solinib, 1 soatga qoldirildi, vaqti-vaqti bilan chayqatib turildi. Suyuq qismi bo'luvchi voronkada ajratib olinib, 3000 ayl/daq sentrifugada 5 daqiqa davomida sentrifugalandi, qolgan cho'kma ob'ekt ustiga qo'shildi. Ob'ektga (5:3) nisbatda atseton:suv aralashmasidan 50 ml dan solinib, vaqti-vaqti bilan chayqatib turgan holda 30 daqiqaga qoldirildi. Suyuq qismi ajratib olinib, 3000 ayl/daq sentrifugada 5 daqiqa davomida sentrifugalandi va cho'kma yana ob'ektga qo'shildi. Shu jarayon yana bir marta takrorlandi. Atseton-suvli eritmalar yig'ilib, natriy xlorid tuzi bilan to'yintirildi va 5 daqiqa qattiq chayqatildi. Tindirilgan eritmani ajratgich voronkasida atseton qismi ajratib olinib, chinni tavoqchalarga solindi va 50°C dan yuqori bo'lmagan haroratda suv hammomida atseton to'la bug'languncha qo'yildi. Qolgan 5-10 ml suvli qismi 0,1 M xlorid kislota bilan $\text{pH}=2-3$ keltirilib, 10 ml benzol bilan 1 marta ekstraksiya qilinib, benzol qatlami tashlab yuborildi. Suvli qatlam 10% natriy gidroksid eritmasi bilan $\text{pH}=9-10$ ga etkazilib, 10 ml xloroform bilan 3 marta ekstraksiya qilindi. Ekstraksiya jarayonida xloroformli qatlamdagi ortiqcha suvdan xolos bo'lish uchun 5 g suvsiz natriy sulfatdan filtrlab o'tkazildi. Xloroformli ajralma iliq xona haroratida quruq qoldiq qolguncha bug'latildi. Quruq qoldiq 3 ml atsetonda eritilib, 10 ml kolbaga solindi va belgisigacha atseton bilan yetkazildi. Shu eritmadan 1 ml olib, KSK sorbenti saqlagan xromatografik plastinkasiga o'tqazilib, (7:3) nisbatdagi xloroform : etil spirti sistemasi saqlagan kamerada xromatografik jarayon olib borildi. Xromatografik plastinka UB nurida ko'rilganda och yashil tusda tovlangan joyi qirib olinib, sorbent 0,1 M xlorid kislota bilan elyuatsiya qilindi. Eritma 10 ml kolbaga solinib, belgisigacha 0,1M xlorid kislota bilan etkazilib, spektrofotometrik usulda 303 nm to'lqin uzunligida optik zichligi aniqlandi. Tegishli formula asosida foiz miqdori hisoblab topildi va metrologik hisoboti amalga oshirildi. So'ngra termodesorbsion sirt ionlashuv spektroskopiyasi, yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usullarida tahlili amalga oshiriladi.

5.2 Sonnatni qondan ekstraksiyalash sharoitlarini ishlab chiqish:

Buning uchun 5 ml qon ishlatildi. Tarkibida 1 mg/ml sonnat dori vositasini saqlagan ishchi standart eritma tayyorlab olindi. Biologik suyuqlik qonga 1 ml

ishchi standart eritmadan solindi. Stakandagi aralashmani ikki soat davomida vaqti-vaqti bilan mexanik chayqatgichda aralastirib turildi. Shundan so'ng aralashmani 10 daqiqa (3000 ayl/daq) sentrifugalandi. Suyuqlik qismi ajratib olinib 10% natriy gidroksid bilan muhiti $\text{pH}=9-10$ ga yetkazildi va xloroform bilan 3 marta ekstraksiya jarayoni amalga oshirildi. Xloroformli ajratmalar birlashtirilib, 5 g suvsiz natriy sulfat tuzi saqlagan filtr qog'ozdan o'tkazildi. Xloroformli ajratma quruq qoldiq qolguncha bug'latilib, qoldiq 5 ml atsetonda eritildi. KSK sorbenti saqlagan plastinkada erituvchilar (7:3) nisbatdagi xloroform : etil spirti sistemali kamerada xromatografik jarayon olib borildi. Xromatografik plastinka UB nurida ko'rilganda och yashil tusda tovlangan joyi qirib olinib, sorbent 0,1 M xlorid kislota bilan 3 ml dan uch marta elyuatsiya qilindi. 0,1 M xlorid kislota yordamida spektrofotometrik usulda 303 nm to'lqin uzunligida optik zichligi aniqlandi. So'ngra termodesorbsion sirt ionlashuv spektroskopiyasi va yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usullarida tahlili amalga oshiriladi.

5.3 Sonnatni peshobdan ekstraksiyalash sharoitlarini ishlab chiqish:

Buning uchun ob'ekt sifatida 20 ml peshob ishlatildi. Tarkibida 1 mg/ml sonnat dori vositasini saqlagan ishchi standart eritma tayyorlab olindi. Biologik suyuqlik peshobga 1 ml ishchi standart eritmadan solindi. Vaqti-vaqti bilan chayqatib turgan holda 2 soatga qoldirildi. Shundan so'ng 10% natriy gidroksid bilan muhiti $\text{pH}=9-10$ ga etkazildi va 10 ml xloroform bilan 3 marta ekstraksiya jarayoni amalga oshirildi. Xloroformli ajratmalar birlashtirilib, 5 g suvsiz natriy sulfat tuzi saqlagan filtr qog'ozidan o'tkazildi. Xloroformli ajratma quruq qoldiq qolguncha bug'latilib, qoldiq 5 ml atsetonda eritildi. KSK sorbenti saqlagan plastinkada erituvchilar (7:3) nisbatdagi xloroform : etil spirti sistemali kamerada xromatografik jarayon olib borildi. Xromatografik plastinka UB nurida ko'rilganda och yashil tusda tovlangan joyi qirib olinib, sorbent 0,1 M xlorid kislota bilan 3 ml dan uch marta elyuatsiya qilindi. 0,1 M xlorid kislota yordamida spektrofotometrik usulda 303 nm to'lqin uzunligida optik zichligi aniqlandi. So'ngra termodesorbsion sirt ionlashuv spektroskopiyasi va yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usullarida tahlili amalga oshiriladi.

6. Sonnatni yupqa qatlam xromatografik tahlil sharoitlari.

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

Shularni inobatga olib zopiklonni chinligini aniqlashda yupqa qatlamli xromatografiya usuli qo'llanildi. Unda organik erituvchilar sistemasini va dog' xosil qiluvchi reaktivlarni tanlash, hamda ularni sezgirligini aniqlashdan iborat bo'ldi.

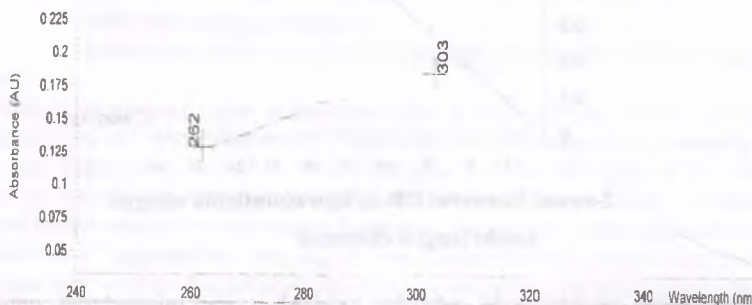
Sonnatni yupqa qatlam xromatografiya usulida tahlilini olib borish uchun «Silufol UV 254» va KSK plastinkasidan foydalanildi. Plastinkaning start chizig'iga 0,15mg/ml saqlagan zopiklonni atsetondagi eritmasidan mikropipetka yordamida 0,1 ml miqdorda tomizildi. Xromatografik plastinka xona haroratida quritilib, qo'zg'aluvchi faza va uning bug'i bilan to'yintirilgan xromatografik kameraga plastinka vertikal holatda joylashtirildi. Erituvchilar aralashmasi 10sm

balandlikka ko'tarilib, finish chizig'iga yetganda plastinka olinib, xona haroratida quritildi. Xromatografik plastinkada ko'tarilib to'plangan dog'ni aniqlash uchun yorituvchi reagentlardan foydalanildi. Bulardan; UB -254 lampa yordamida (och yashil rang), 10% natriy gidroksid-UB da (binafsha rang), Bushard, Dragendorf reaktivi (qo'ng'ir rang) yordamida yuqorida keltirilgan rangdagi dog'lar belgilab olindi.

Buning uchun xromatografik «Silufol UV 254» plastinkalarning start chizig'iga olingan atsetonli eritmadan chiziq shaklida, bir tomoniga tasdiqlovchi sifatida sonnatning ishchi standart eritmasidan tomizilib, xona haroratida quritildi. Organik erituvchilar (7:3) nisbatdagi xloroform : etanol aralashmasi solingan va ularning bug'i bilan to'yintirilgan xromatografik kameraga plastinkani tushirilib, erituvchilar aralashmasi 10 sm balandlikka ko'tarilib, finish chizig'iga etganida plastinkani olib xona haroratida quritildi. Xromatografik plastinkada moddani ko'tarilib to'plangan joyini aniqlash maqsadida UB-254 lampa yordamida belgilab olinadi, yoki qirib olinadigan sorbent qatlami tomoni berkitilib, zopiklon tomizilgan qismiga ochuvchi reaktiv Bushard, Munye bo'yicha modifikatsiyalangan Dragendorf reaktivi bilan purkaldi. ($R_f=0,68-0,70$) sonnatni dog' hosil bo'lgan qismi belgilanib, sorbent qatlamlarini qirib olinadi va ularni 5 ml 0,1 M xlorid kislota bilan elyuatsiya qilindi va tahlil olib borildi.

7. Sonnatni UB-spektrofotometriya usulida aniqlash sharoitlarini ishlab chiqish

Elyuat 0,1 M xlorid kislota yordamida eritilib, eritmani qatlam qalinligi 10 mm, to'lqin uzunligi 200 dan 350 nm atrofida tahlili olib borildi. Solishtiruvchi eritma sifatida 0,1 M xlorid kislota qo'llanilib, bunda sonnatning 0,1 M xlorid kislota dagi eritmasi $\lambda_{max}=303$ nm to'lqin uzunligida optik ko'rsatkichi aniqlab olindi (1-rasm).



1-rasm. Sonnatni UB-spektrofotometriya usulida aniqlangan spektri

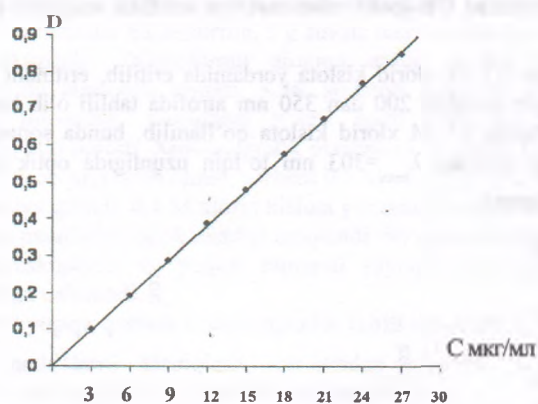
UB-spektrofotometriya usulida sonnatni miqdoriy tahlili kalibrash chizmasi orqali hisoblanadi. Buning uchun 0,0075g (a.t.) zopiklon tortilib, 50 ml o'lchov kolbasiga solib va 0,1 M xlorid kislota bilan eritildi. Tayyorlangan eritmani

o'lchov kolbaning belgisigacha 0,1 M xlorid kislotasi bilan etkazildi. Bu eritmadan sonnat (zopiklon)ning ishchi standart eritmalarini tayyorlanib (1-jadval), natijalarga asosan kalibrlangan chizmasi chizib olinadi (2-rasm).

1-jadval

Sonnatni solishtirma va molyar nur yutish ko'rsatkichlarini aniqlash natijalari (n=5)

No	Tajriba uchun olingan modda miqdori mkg/ml	Optik zichligi D	Solishtirma nur yutish ko'rsatkichi $E_{1\text{cm}}^{1\%}$	Molyar nur yutish ko'rsatkichi ϵ
1	3	0.100	333.3	12958.7
2	6	0.195	325.0	12636.0
3	9	0.290	322.2	12527.1
4	12	0.390	325.0	12636.0
5	15	0.480	320.0	12441.6
6	18	0.575	319.4	12418.2
7	21	0.670	319.0	12402.7
8	24	0.770	320.8	12472.7
9	27	0.850	314.8	12239.4
o'rtacha			$E_{o'rt} = 322.1$	$\epsilon_{o'rt} = 12525.8$



2-rasm. Sonnatni UB-to'lqin uzunligida olingan kalibrlangan chizmasi

Sonnatning tekshiriluvchi ashyolar tarkibidagi mg miqdorlarini aniqlash quyidagi formula asosida olib boriladi.

$$X = \frac{D \cdot V \cdot 100}{E_{1\text{cm}}^{1\%} \cdot 100 \cdot V_1}$$

bunda, D - eritmaning optik zichligi;

$E_{1cm}^{1\%}$ - sonnatning solishtirma nur yutish ko'rsatkichi;

V - tekshiriluvchi eritma hajmi, ml;

V₁ - tekshiriluvchi ashyo hajmi, ml.

8. Sonnatni termodesorbsion sirt ionlashuv spektroskopiya usulida aniqlash

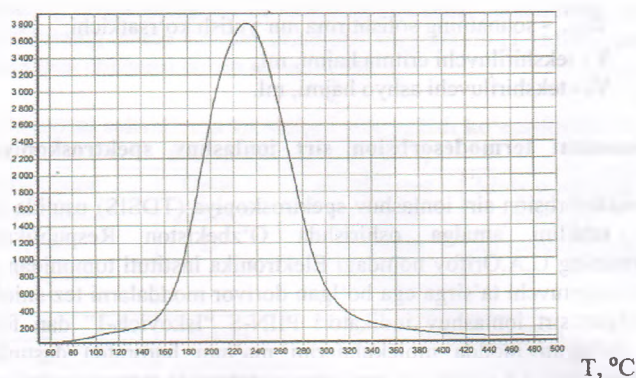
Termodesorbsion sirt ionlashuv spektroskopiya (TDSIS) usulida sonnat dori vositasini tahlilini amalga oshirishda O'zbekiston Respublikasi Fanlar Akademiyasining U.A.Orifov nomdagi Elektronika instituti tomonidan giyohvand va boshqa gangituvchi ta'sirga ega bo'lgan dorivor moddalarni tez aniqlash uchun tavsiya etilgan sirt ionlashuv indikatorini PIIN-S "Iskovich-1" dan foydalanildi. Usulning mohiyati modda molekulalarini ma'lum haroratda dasturlashtirilgan yo'sinda bug'latish va ularni sirt ionlashuv detektorida termodesorbsion spektrlar ko'rinishida qayd qilishdan iboratdir. Qayd qilish asosini sirt ionlashuv detektorining ishlash tizimi tashkil qiladi. Detektorning anodi qizdirilganda emitter bo'lib, katodi esa musbat ionlar kollektoridir. Tahlil qilinayotgan aralashmaning eritmasi diod orqali o'tkazilganda, emitter sirtiga kelib tushayotgan molekulalar ionlar ko'rinishida desorbsiyalanadi. Desorbsiyalangan ionlar esa elektr maydoni yordamida kollektorga yozib olish uchun yo'naltiriladi.

Sonnat dori vositasini termodesorbsion sirt ionlashuv spektroskopik tahlili quyidagi sharoitda olib borildi:

- emitter - iridiy kirishmali oksidlangan molibden,
- emitter kuchlanishi - 405 V,
- emitter harorati - 390 - 420°C,
- bug'latish harorati - 505°C,
- havo oqimi - 50 l/soat (kompressor kuchlanishi 12 V)
- tahlil uchun olingan tekshiriluvchi namuna hajmi - 1,0 mkl;
- tahlil davomiyligi - 3 daqiqa.
- spektrlarni yozib olish bevosita kompyuter dasturi yordamida amalga oshirildi.

Sonnat (zopiklon) dori vositasidan 0,01 g (a.t) tortilib, 100 ml o'lchov kolbasida 96% etil spirti bilan eritildi. Tayyorlangan eritmaning hajmi belgisigacha 96% etil spirti bilan etkazildi. SHu eritmadan 0,5 ml olib 100 ml li o'lchov kolbasiga solindi va belgisigacha 96% etil spirti bilan etkazildi. Ushbu 50 mkg/ml ishchi standart eritmasidan mikroshpirts yordamida 1 mkl miqdorda PIIN-S "Iskovich-1" apparatining bug'latgich lentasidagi silindrik chuqurchaga solindi va sonnat dori vositasining termodesorbsion sirt ionlashuv spektrlari olindi. Bunda $\sim 229 \pm 10^\circ \text{C}$ sonnat dori vositasiga xos chiziqli cho'qqi paydo bo'lishi kuzatildi (3-rasm).

I, A		
117		0,01
117		0,01
117		0,01
117		0,01



3-rasm. Sonnat dori vositasining TDSIS spektri

Olingan termodesorbsion spektrlarni kompyuterning ma'lumotlar bankiga etalon spektr sifatida yozib qo'yildi. Usulning sezgirlik darajasi 10^{-10} g ni tashkil qildi.

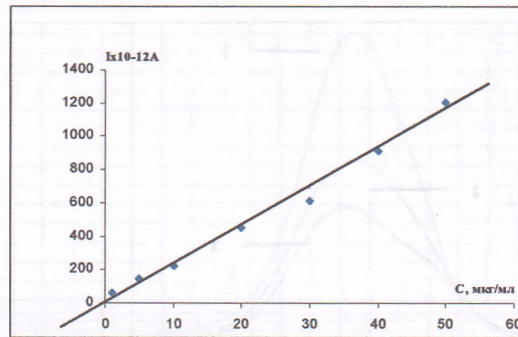
Miqdoriy tahlil esa aniq konsentratsiyali standart namuna eritmalarida asosida tuzilgan kalibrash chizmasi asosida olib borildi.

Kalibrash chizmasini tuzish uchun tarkibida 1, 5, 10, 20, 30, 40, 50 mkg/ml sonnat dori vositasining standart namunasi saqlagan spirtli eritmalaridan 1 ml dan uch marta mikroshpits yordamida PIIN-S "Iskovich-1" apparatining bug'latgich lentasidagi silindrik chuqurchaga kiritilib, tahlillar olib borildi va ularning o'rtacha qiymatlari (sonnat dori vositasining $\sim 229 \pm 10^{\circ}\text{C}$ dagi cho'qqilari asosida) hisoblab topildi va kalibrash chizmasi chizib olindi. Tajribalarda olingan natijalar sonnat uchun 2 – jadval va 4–rasmda keltirilgan.

2-jadval

Ishlab chiqilgan TDSIS sharoitlarining chiziqchilikni o'rganish natijalari (sonnat $\sim 229 \pm 10^{\circ}\text{C}$) (n=5)

Eritma konsentratsiyasi, mkg/ml	Sonnat dori vositasining miqdori, mkg	TDSIS spektrlari balandligi (tok kuchi qiymati ($I \times 10^{-12A}$))
1,0	1	62
5,0	5	145
10,0	10	225
20,0	20	452
30,0	30	613
40,0	40	909
50,0	50	1208



4 – rasm. Sonnat dori vositasining TDSIS tahlil sharoitlaridagi cho'qqi balandligi va eritma konsentratsiyasiga bog'liqlik chizmasi.

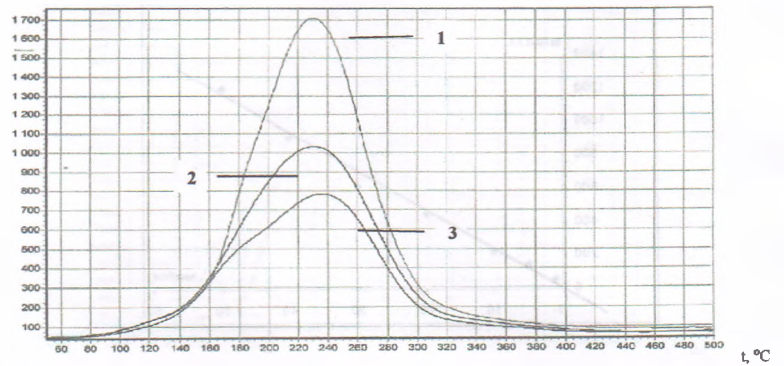
Sonnat dori vositasining TDSIS usulda miqdoriy tahlili aniqlanilib, so'ngra metrologik hisoboti amalga oshirildi. Olingan natijalar 3-jadvalda keltirilgan.

3-jadval

Sonnat dori vositasi miqdorini termodesorbtsion sirt ionlashuv spektroskopik usulda olingan tahlil natijalari (n=5)

Preparat miqdori, mkg/ml	Topilgan miqdori		Metrologik tahlil natijalari
	mkg	%	
50	49,50	99,0	$X_{\sigma r}=100,36$ $S^2=1,26$
50	50,60	101,2	$S=1,12$ $S_x=0,50$
50	50,90	101,8	$\Delta X=3,11$ $\Delta X_{\sigma r}=1,39$
50	50,00	100,0	$E=3,12\%$
50	49,90	99,8	$E_{\sigma r}=1,39\%$

3-jadvaldan ko'rinib turibdiki sonnat dori vositasini TDSIS tahlil natijasida $X_{\sigma r}=100,36\%$, o'rtacha nisbiy xatolik $E_{\sigma r}=1,39\%$ tashkil qildi. Olib borilgan tahlil natijalariga asoslanib, sonnatni dori vositasidan, dori shakillaridan hamda ashyoviy dalillar (qon va peshob) tarkibidan aniqlashda qo'llanildi va ijobiy natijalarga erishildi.



5-rasm. Sonnatning TDSIS spektrlari: 1-sonnat dori vositasini standart namunasi, 2-peshobdan ajratilgan sonnat, 3-qondan ajratilgan sonnat

9. Sonnatni yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi usulida aniqlash

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiya (YUSSX) tahlil usuli murakkab aralashmalar tarkibidagi yuqori harorat ta'sirida parchalanadigan moddalarni xona va unga yaqin bo'lgan haroratlarda sifat va miqdoriy tahlilini amalga oshirish imkonini beradi. Hozirgi kunda sud-kimyo amaliyotida ham ko'pchilik moddalarni tasdiqlashda YUSSX usuli keng qo'llanilmoqda.

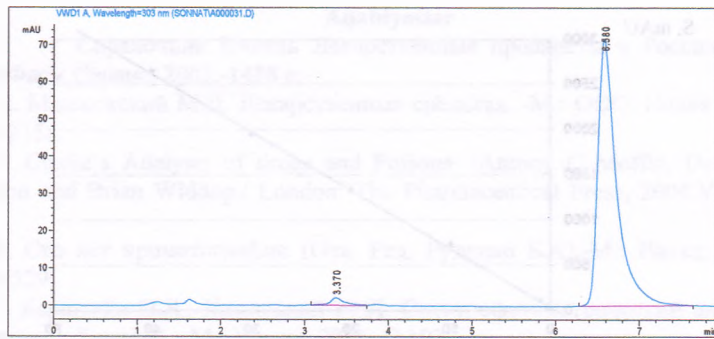
Tajribalar "Agilent Technologies" korxonasi ishlab chiqarilgan "Agilent 1200 series" rusumli yuqori samarali suyuqlik xromatografida olib borildi. Jarayon yuqori bosimda ishlashga mo'ljallangan izokratik nasos, spektrofotometrik detektor, 20 mkl hajmli o'lchov uskuna - "Rheodyne" ijektori va xromatografik kolonkadan tashkil topgan. Xromatografik jarayon "Chemstation Rev. B.0301[317]" dasturi yordamida kompyuter orqali boshqariladi [7,15,16].

Olib borilgan izlanishlar natijasida quyidagi xromatografiya sharoitlari ishlab chiqildi:

- qo'zg'aluvchi faza: atsetonitril – 0,05 M ammoniy atsetat eritmasi (30:70);
- xromatografik kolonka: 150 x 3,0 mm o'lchamli, 3,5 mkm o'lchamli Zorbax Eclipse XDB C-18 sorbenti bilan to'ldirilgan;
- harorat – xona harorati;
- detektlash to'liq uzunligi – 303 nm;
- tahlil davomiyligi - 10 daqiqa;
- tekshiriluvchi namuna hajmi – 20 mkl.

Standart namuna eritmasini tayyorlash: 0,01 g (a.t) sonnat ishchi standart namunasi tortilib, hajmi 25 ml bo'lgan o'lchov kolbasiga o'tkazildi va 5 ml qo'zg'aluvchi fazada to'liq erib ketgunicha chayqatildi. So'ngra qo'zg'aluvchi faza bilan kolba belgisigacha yetkazildi.

Tadqiqot natijalari. Ushbu sharoitlarda sonnatning ushlanish vaqti 6,580 daqiqani tashkil qildi (1-rasm).



1- rasm. Sonnat ishchi standart namunasining xromatogrammasi

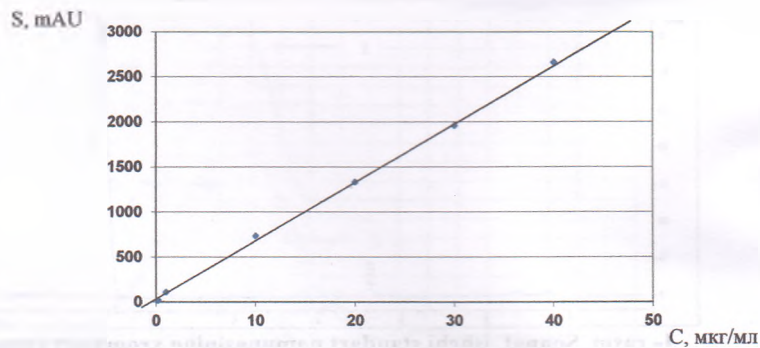
Tahlil uslubining chiziqliligini o'rganish uchun ishchi standart namuna eritmadan suyultirish orqali aniq konsentratsiyali 1-40 mkg/ml saqlagan eritmalar tayyorlandi. Standart eritmalardan 20 mkl hajmda xromatograf kolonkasiga yuqoridagi sharoitlarda yuborildi va olingan xromatografik cho'qqilarning ko'rsatkichlari hisoblendi. Olingan xromatogrammalardagi tekshiriluvchi eritma konsentratsiyasi va asosiy cho'qqining maydon yuzalari orasidagi bog'liqlik chizmasi tuzildi. Tahlil natijalari 1 - jadval va 2 - rasmda keltirilgan.

1 – jadval

Sonnat dori vositasining YUSSX tahlil sharoitlarining chiziqliligini o'rganish natijalari

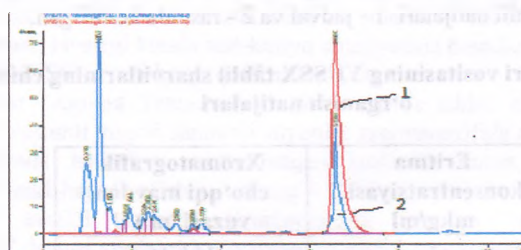
Eritma konsentratsiyasi, mkg/ml	Xromatografik cho'qqi maydon yuzasi, mAU
1	111,46
10	734,79
20	1333,58
30	1959,46
40	2659,45

Tajribalar natijasida uslubning sonnat uchun aniqlashlarning chiziqli diapazoni 1-40 mkg va sezgirligi 0,3 mkg tashkil qilishi aniqlandi.

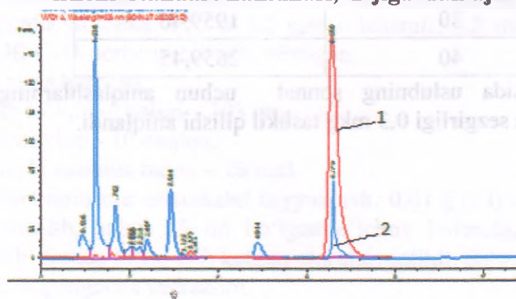


2 – rasm. Sonnat YUSSX tahlil sharoitlaridagi cho‘qqi maydon yuzasining eritma konsentratsiyasiga bog‘liqlik chizmasi.

Olib borilgan tahlil natijalariga asoslanib, sonnat dori vositasini biologik ob‘ekt (jigar) hamda biologik suyuqlik (qon) tarkibidan aniqlashda qo‘llanildi va ijobiy natijalarga erishildi.



3-rasm. Sonnatning YUSSX xromatogrammalari: 1- sonnatning ishchi standart namunasi, 2-jigardan ajratilgan sonnat.



4-rasm. Sonnatning YUSSX xromatogrammalari: 1- sonnatning ishchi standart namunasi, 2-qondan ajratilgan sonnat.

Adabiyotlar

1. Справочник Видаль Лекарственные препараты в России:– М.: АстраФарм Сервис, 2003.-1488 с.
2. Машковский М.Д. Лекарственные средства. -М.: ООО. Новая волна, 2002.-215с.
3. Clarke's Analysis of drugs and Poisons. /Antony C Moffat, David M, Osselton and Brian Widdop./ London: The Pharmaceutical Press, 2004.V.1 – P. 703.
4. Сто лет хроматографии (Отв. Ред. Руденко Б.А).-М.: Наука, 2003.- С.507-529.
5. Берштейн И.Я., Каминский Ю.Л. Спектрофотометрический анализ в органической химии. –М.: Химия, 2001.-С.192.
6. ГФ XI.-М.: Медицина, 1987.ч.1.-С.334.
7. Алиходжаева М.И, Попков В.А. Физико-химическое и химико-токсикологическое исследование некоторых диуретических лекарственных средств. -Издательство Московского университета, 2008.-171с.
8. Sultanova A.A., Tojiev M.A. // Zopiklon dori vositasini biologik ob'ekt va biologik suyuqliklardan ajratib olish usulini ishlab chiqish. Farmatsevtika jurnali. – Toshkent, 2012. - № 2. 33-35 b.
9. Sultanova A.A., Tojiev M.A. // Zopiklonning yupqa qatlam xromatografiyasi usulda taxlilini ishlab chiqish. Farmatsevtika jurnali. – Toshkent, 2010. - №4. - В.38-40.
10. Sultanova A.A., Tojiev M.A. // UB-spektrofotometrik usulda zopiklonning miqdoriy taxlilini ishlab chiqish. Farmatsevtika jurnali. – Toshkent, 2010. - №3. - В.35-37.
11. Sultanova A.A., Tojiev M.A., Najimitdinova N.N. // Xromato-spektrofotometrik usulda zopiklonning taxlilini ishlab chiqish. Farmatsevtika jurnali,– Toshkent, 2010. - № 3. - В.33-35.
12. Об анализе опиатов в крови, моче и в трупных материалах методом термодесорбционной поверхностно-ионизационной спектроскопии /Гиясов З.А., Шахитов М.М. и др.; – Ташкент, 2003. – 12 с.
13. Sultanova A.A., Tojiev M.A. // Zopikloni termodesorbsion sirt ionlashuv spektroskopiya usulida tahlili ishlab chiqish. Farmatsiya xabarnomasi. – Toshkent, 2012. - №.
14. Дорофеев В.А., Арзамасцев А.П., Садчикова Н.П. Проект общей фармакопейной статьи «Высокоэффективная жидкостная хроматография» // Вестник ВГУ. Серия Химия. Биология. Фармация. –2004.-№1.-С.166-172.
15. Лисовик Ж.А. Высокоэффективная жидкостная хроматография в Аналитической токсикологии. Всес.симп. по молекул.жидк. хроматогр.: Тез., докл., Юрмала, 20-22 ноября, 1990.-Рига, 190.-194 с.
16. Халилова Н.Ш., Абдуллаева М.У., Таджиев М.А. Обнаружение феназепамы выделенного из биологических жидкостей, методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / Харьков "Право" 2009. С. 346-349.

Босишга рухсат этилди 04.12.2019 й. Бичими 60x84¹/₁₆.
Рақамли босма усули. Times гарнитураси. Шартли босма табоғи 3,0.
Адади 100 нусха. Буюртма № 87.

Гувоҳнома реестр №10-3719.
“Тошкент кимё-технология институти” босмаҳонасида чоп этилди.
100011, Тошкент, Навоий кўчаси, 32-уй.