

**МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc 03/30.12.2019.К.01.03 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ

ГАППАРОВ ДИЛШОДБЕК ДАВРОНБЕКОВИЧ

**ДОРИВОР ВОСИТАЛАРИ ТАРКИБИДАГИ ФРАМИЦЕТИН
СУЛЬФАТНИ АНИҚЛАШНИНГ АНАЛИТИК УСЛУБЛАРИНИ
ИШЛАБ ЧИҚИШ ВА ВАЛИДАЦИЯ ҚИЛИШ**

02.00.02 – Аналитик кимё

**КИМЁ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2021

**Кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси
автореферати мундарижаси**

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

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

Гаппаров Дилшодбек Давронбекович

Доривор воситалари таркибидаги фрамицетин сульфатни аниқлашнинг
аналитик услубларини ишлаб чиқиш ва валидация қилиш..... 3

Гаппаров Дилшодбек Давронбекович

Разработка и валидация аналитических методик определения фрамицетина
сульфата в составе лекарственных средств 21

Gapparov Dilshodbek Davronbekovich

Development and validation of analytical methods for the determination of
framycetin sulfate in the composition of medicinal preparations 39

Эълон қилинган ишлар рўйхати

Список опубликованных работ
List of published works 42

**МИРЗО УЛУҒБЕК НОМИДАГИ ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ
УНИВЕРСИТЕТИ ХУЗУРИДАГИ ИЛМИЙ ДАРАЖАЛАР БЕРУВЧИ
DSc. 03/30.12.2019.К.01.03 РАҚАМЛИ ИЛМИЙ КЕНГАШ**

ЎЗБЕКИСТОН МИЛЛИЙ УНИВЕРСИТЕТИ

ГАППАРОВ ДИЛШОДБЕК ДАВРОНБЕКОВИЧ

**ДОРИВОР ВОСИТАЛАРИ ТАРКИБИДАГИ ФРАМИЦЕТИН
СУЛЬФАТНИ АНИҚЛАШНИНГ АНАЛИТИК УСЛУБЛАРИНИ
ИШЛАБ ЧИҚИШ ВА ВАЛИДАЦИЯ ҚИЛИШ**

02.00.02 – Аналитик кимё

**КИМЁ ФАНЛАРИ БЎЙИЧА ФАЛСАФА ДОКТОРИ (PhD)
ДИССЕРТАЦИЯСИ АВТОРЕФЕРАТИ**

Тошкент – 2021

Кимё фанлари бўйича фалсафа доктори (PhD) диссертацияси мавзуси Ўзбекистон Республикаси Вазирлар Маҳкамаси хузуридаги Олий аттестация комиссиясида В2019.2.PhD/K180 рақам билан рўйхатга олинган.

Диссертация Ўзбекистон Миллий университетида бажарилган.

Диссертация автореферати учта тилда (Ўзбек, рус, инглиз (резюме) Илмий кенгаш веб-саҳифада (www.ik-kimyo.nuu.uz) ва «ZiyoNET» Ахборот-таълим порталида (www.ziyounet.uz) жойлаштирилган.

Илмий раҳбар:

Смаинова Зулайхо Асапалиевна
кимё фанлари доктори, профессор

Расмий оппонентлар:

Абдурахмонов Эргашбой
кимё фанлари доктори, профессор

Фатхуллаева Муассар
кимё фанлари номзоди, доцент

Етақчи ташкилот:

Умумий ва иоорганик кимё институти

Диссертация химояси Ўзбекистон Миллий университети хузуридаги DSc.03/30.12.2019.K.01.03 рақамли Илмий кенгашнинг 2021 йил «11» 11 соат 15⁰⁰ даги мажлисида бўлиб ўтади. (Манзил: 100174, Тошкент ш, Университет кўчаси, 4. Тел.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; факс: (+99871) 246-53-21; e-mail: chem0102@mail.ru .

Диссертация билан Ўзбекистон Миллий университетининг Ахборот-ресурс марказида танишиш мумкин (98 рақам билан рўйхатга олинган). Тел.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; факс: (+99871) 246-53-21;

Диссертациянинг автореферати 2021 йил «27» 10 да тарқатилди.

(2021 йил «27» 10 даги 13 рақамли реестр баённомаси).



Х.Т. Шарипов
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш раиси к.ф.д., профессор

Д.А. Гафурова
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш илмий котиби, к.ф.д., доцент

Н.Х. Кутлимуратова
Илмий даражалар берувчи илмий кенгаш қошидаги илмий семинар раиси, к.ф.д.

КИРИШ (фалсафа доктори (PhD) диссертацияси аннотацияси)

Диссертация мавзусининг долзарблиги ва талабгорлиги. Бугунги кунда дунёда фармацевтика саноатида дори-дармон ишлаб чиқаришда ҳам, оралик ва тайёр маҳсулотлар сифатини назорат қилиш жараёнида ҳам, хомашё ва материалларни бошланғич назоратида ҳам кимёвий таҳлил бирламчи аҳамиятга эга. Шунинг учун дори-дармонларни сифатини назорат қилиш учун улардаги моддаларни аниқлашнинг муқобил, энг такомиллашган, янги физик ва кимёвий усулларни топишга эҳтиёж ортиб бормоқда. Таҳлилнинг энг содда, энг қулай, тезкор, ишончли, универсал, бюджетли таҳлил қилиш усулларини ишлаб чиқиш амалий аҳамиятга эгадир.

Жаҳон миқёсида дори препаратларни сифатини текшириш тизимини такомиллаштириш мақсадида, биринчи навбатда, дори препаратлар сифатини хар бир босқичида назорат қилиш бўйича амалга ошириладиган илмий-тадқиқот изланишларга катта эътибор қаратилмоқда. Бу борада, дори препаратларни аниқ, қайта тикланувчан ва тезкор, таҳлилларни бажариш осон ва арзон усулларни яратиш, улар ёрдамида дори воситаларини хар томонлама таҳлил қилишга қаратилган илмий тадқиқотлар олиб бориш муҳим аҳамият касб этади.

Республикамизда аҳолини дори препаратлар билан таъминлаш тизимини такомиллаштириш бўйича комплекс чора-тадбирлар амалга оширилиб, маҳаллий фармацевтика саноатини ривожлантириш учун қулай шароитлар яратиш бўйича муайян натижаларга эришилмоқда. Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича 2017-2021 йилларга мўлжалланган Ҳаракатлар стратегиясида «юқори технологияли қайта ишлаш тармоқларини, энг аввало, маҳаллий хом ашё ресурсларини чуқур қайта ишлаш асосида юқори қўшимча қийматли тайёр маҳсулот ишлаб чиқаришни жадал ривожлантиришга қаратилган сифат жиҳатидан янги босқичга ўтказиш орқали саноатни янада модернизация ва диверсификация қилиш»¹ вазифалари белгилаб берилган. Бу борада, фармацевтика саноатини жадал ривожлантириш, импорт ўрнини босувчи препаратларни яратиш, юқори самарали, замонавий тезкор таҳлил усулларини ишлаб чиқиш муҳим аҳамият касб этади.

Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947 сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида», 2019 йил 10 апрелдаги ПФ-5707 сон «2019-2021 йилларда республика фармацевтика саноатини ривожлантиришни жадаллаштириш чора-тадбирлари тўғрисида» фармонлари, 2019 йил 6 майдаги ПҚ-4310 сон «Тиббиёт ва фармацевтика таълими ва фан тизимини янада ривожлантириш чора-тадбирлари тўғрисида»ги қарори ва мазкур соҳага тегишли бошқа меъёрий ҳужжатларда белгиланган вазифаларни амалга оширишида ушбу диссертация тадқиқоти муайян даражада хизмат қилади.

¹ Ўзбекистон Республикаси Президентининг 2017 йил 7 февралдаги ПФ-4947-сон «Ўзбекистон Республикасини янада ривожлантириш бўйича Ҳаракатлар стратегияси тўғрисида»ги Фармони.

Тадқиқотнинг республика фан ва технологиялари ривожланишининг устувор йўналишларига мослиги. Мазкур тадқиқот республика фан ва технологиялар ривожланишининг VII. «Кимё технологиялари ва нанотехнологиялари» устувор йўналишига мувофиқ бажарилган.

Муаммонинг ўрганилганлик даражаси. Фармацевтика препаратларининг ажралмас қисми бўлган аминогликозидларни таҳлил қилиш усуллари ишлаб чиқиш ва такомиллаштириш борасидаги илмий изланишлар дунёда алоҳида эътиборга лойиқ бўлмоқда. Аввалроқ, аминогликозидлар ҳосилаларини микробиологик, капилляр электрофорези ва ЮҚХ дунёнинг етакчи олимлари Е. Г. Кулапина, М. В. Костицина, Т. А. Краснова, Н. Н. Рудакова, П. Срисом, Б. Лиавруанграт, С. Ванкарн, У. Губицка, Ян Кшек, Х. Волтынской, Б. Стахач томонидан ишлаб чиқилган ва препаратларни яратиш ва уларни хусусиятларини ўрганиш бўйича А.П., Виноградов, Ю.А.Харитонов, Э.Э.Шульц, R.Weis, G.Tomas, P.Pfeiffer, K.Suzuki томонидан илмий тадқиқотлар олиб борилган.

Дори препаратларни стандартлаш ва сифатини назорат қилиш бўйича Республикамиздаги олимлар Н.А.Парпиев, Х.Х.Хакимов, А.А.Шабилалов, А.Н.Юнусходжаев, А.Б.Акбаров, А.Ф.Дусматовлар илмий изланишларни амалга оширган. Диссертация мавзуси бўйича маҳаллий муаллифларнинг асарлари кам келтирилган. Адабий манбаларнинг таҳлили шуни кўрсатдики, доривор маҳсулотларда фрамицетин сульфатнинг микдорий таркибини аниқлашда ва субстанцияларнинг кириш назоратини ўтказишда дериватирловчи агентдан фойдаланган ҳолда спектрофотометрик ва юқори самарали суюқлик хроматографияси (ЮССХ) усуллари ишлаб чиқиш бўйича тадқиқотлар олиб борилмаган.

Диссертация мавзуси диссертация бажарилган олий таълим муассасасининг илмий-тадқиқот ишлари билан боғлиқлиги. Диссертация тадқиқоти Ўзбекистон Миллий университети илмий-тадқиқот ишлари режасининг № Ф.22.7 «Селектив органик реагентлар синтези» (2012-2017 й), мавзусидаги фундаментал лойиҳа доирасида бажарилган.

Диссертациянинг мақсади доривор воситалар таркибида фрамицетин сульфатнинг микдорий таркибини аниқлашнинг аналитик таҳлил қилишнинг янги усуллари ишлаб чиқиш, валидацияси ўтказиш ва амалиётга жорий қилишдан иборат.

Тадқиқотнинг вазифалари:

фрамицетин сульфатнинг тузилиши ва хоссаларини ўрганиш ва унинг фармакопея таҳлилинини ўтказиш, Ўзбекистон Республикасида аминогликозид антибиотикларини рўйхатга олиш тўғрисидаги маълумотларни аниқлаш;

спектрофотометрия ва юқори самарали суюқлик хроматография усулларида фрамицетин сульфатни таҳлил қилишнинг янги усуллари ишлаб чиқиш;

«Фрамидекс» препаратини, кўз ва қулоқ томчилари ва «Фрамекс» бурун учун спрей таркибини ва сифатини назорат қилиш усуллари ишлаб чиқиш;

фрамицетин тутган препаратларни таҳлил қилиш учун сифатни назорат қилиш усуллари такомиллаштириш ва фрамицетин сульфат субстанцияси учун спецификацияни ишлаб чиқиш;

фрамицетин сульфатнинг доривор маҳсулотлардаги миқдорий таркибини аниқлашнинг аналитик усуллари тасдиқлаш;

Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлиги ҳузуридаги фармацевтика фаолиятини ривожлантириш агентлигининг дори воситалари, тиббий асбоблар ва тиббий асбоб-ускуналарни экспертиза қилиш Давлат маркази ДУКда дори воситаларини рўйхатга олиш бўйича меъёрий ҳужжатларни ишлаб чиқиш.

Тадқиқот объектлари «Фрамидекс», кўз ва қулоқ томчилари ва «Фрамекс», бурун спреји дори-дармонларидир.

Тадқиқотнинг предмети. Тадқиқотнинг предмети-фрамицетин тутган дори препаратларини таҳлил қилишда сифатни назорат қилиш усуллари ишлаб чиқиш, стандартлаштириш ва такомиллаштиришдан иборат.

Тадқиқот усуллари. Илмий-тадқиқот иши давомида таҳлилнинг спектрофотометрик ва хроматографик (ЮССХ) усулларидан фойдаланилди. Намуна тайёрлаш жараёнида таҳлил учун дериватизация усулидан фойдаланилди. ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology тавсияларига мувофиқ аналитик ишлар учун: аниқлик, тўғрилиқ, ўзига хослик, чизиклилик ва қайта тикланувчанлик каби валидацион параметрлар қўлланилган.

Тадқиқотнинг илмий янгилиги қуйидагилардан иборат:

илк маротаба дори-дармонлар таркибидаги фрамицетиннинг миқдорий таркибини аниқлаш учун спектрофотометриянинг арзон ва осон бажариладиган усули яратилган;

доривор маҳсулотлар таркибида фрамицетин сульфатни аниқлаш ва миқдорий баҳолаш учун дериват ёрдамида юқори самарали суяқлик хроматография усули оптималлаштирилган;

«Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари ҳамда «Фрамекс» бурун спреји препаратларининг фармакопея сифат кўрсаткичларини ҳамда уларнинг руҳсат этилган чегараларини белгилаш бўйича тадқиқотлар олиб борилган ва ушбу тадқиқотлар асосида юқорида кўрсатилган дори учун спецификация ишлаб чиқилган;

«ASEPTICA» корхонасида «Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари ва «Фрамекс» бурун спреји препаратлари сифатини назорат қилишда қўлланиладиган ташкилотнинг фармакопея мақоласи (ТФМ) меъёрий ҳужжатлари яратилган;

фрамицетин сульфатнинг доривор маҳсулотлардаги миқдорий таркибини спектрофотометрия ва юқори самарали суяқлик хроматография усуллари ёрдамида аниқлашнинг аналитик усуллари ишлаб чиқилган.

Тадқиқотнинг амалий натижалари қуйидагилардан иборат:

«Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари ҳамда «Фрамекс» бурун спреји препаратларининг ҳалқаро стандартлар талабларига мувофиқ стандартлаш услублари ишлаб чиқилган, тавсия этилган спектрофотометрия ва юқори

самарали суюқлик хроматография усулларининг асосий валидацион кўрсаткичлари аниқланган;

«ASEPTICA» корхонасида янги ишлаб чиқилган меъерий хужжатларга асосан фрамицетин тутган дори воситаларини ишлаб чиқариш жараёнига жорий этилган, Ўзбекистон Республикаси Соғлиқни сақлаш вазирлигининг Фармацевтика тармоғини ривожлантириш агентлиги қошидаги Фармакопоя кўмитаси томонидан ўрганилган объектлар учун сифат кўрсаткичлари яратилган ва регистрацион гувоҳномалар олинган;

«Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари ҳамда «Фрамекс» бурун спреийи препаратларининг генерикларни сериявий ишлаб чиқарилган.

Тадқиқот натижаларининг ишончлилиги бажарилган физик- кимёвий ва фармакологик анализларни замонавий компьютер технологиялари ёрдамида қайта ишланганлиги билан асосланади. Тадқиқот давомида олинган барча маълумотлар замонавий статистик ва математик таҳлил усуллари ёрдамида тасдиқланган. Лаборатория тадқиқотлари натижалари амалиётда ва саноат шароитларида синовдан ўтказилди.

Тадқиқот натижаларининг илмий ва амалий аҳамияти.

Тадқиқот натижаларининг илмий аҳамияти кўз ва қулоқ томчилари ва бурун спреиларини ишлаб чиқаришда сифатни назорат қилиш талаб ва меёрлари халқаро стандартларга мувофиқлаштирилганлиги, бунинг исботи спектрофотометрик ва хроматографик таҳлил усулларини ишлаб чиқилганлиги, шунингдек, уларни ўзига хослик, аниқлик, чизиқлилиқ, мос келиш ва тўғрилиқ параметрлари бўйича тасдиқлангани, хорижий дори воситалардан кам бўлмаган, иқтисодий рақобатбардош бўлган препаратларни ишлаб чиқариш билан изоҳланади.

Тадқиқот натижаларининг амалий аҳамияти «ASEPTICA» корхонасида ишлаб чиқариш жараёнига ишлаб чиқилган спектрофотометрик ва ЮССХ услублари жорий этилган, ўрганилган объектлар учун ЎзР ССВ ФТРА ФҚ дан меъерий хужжатлар тасдиқланганлиги, шунингдек, ўрганилаётган «Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари ҳамда «Фрамекс» бурун спреийи дори воситалари оммавий ишлаб чиқарилиши ижтимоий-иқтисодий аҳамиятга эга бўлиб, импорт қилинадиган препаратларни ўрнини босишга хизмат қилади.

Тадқиқот натижаларини жорий этиш. Фрамицетин тутган дори препаратлари сифатини назорат қилиш, стандартлаш ва уларнинг хоссаларини аниқлаш бўйича олинган илмий натижалар асосида:

«Фрамекс» 1,25 %ли бурун спреийи ЎзР ССВ ФТРА ФҚ томонидан тиббиётда қўллашга рухсат этилган (ТФМ 42 Уз-26491354-3810-2020). Натижада, тадқиқотлар асосида яратилган усул дори препарати таркибида фрамецетин сульфатни оралик ва якуний сифатини назорат қилиш имконини берган;

«Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари ЎзР ССВ ФТРА ФҚ томонидан тиббиётда қўллашга рухсат этилган (ТФМ 42 Уз-26491354-3457-2018). Натижада, ишлаб чиқилган усуллар фрамицетин сульфатли дори препаратларини назорат қилиш имконини берган.

Тадқиқот натижалари апробацияси. Тадқиқот натижалари 6 та илмий-амалий конференцияда, шу жумладан 3 та халқаро ва 3 та миллий конференцияларда муҳокама қилинди.

Тадқиқот натижаларини нашр этиш. Диссертация мавзуси бўйича 11 та илмий мақола, шу жумладан диссертацияларнинг асосий илмий натижаларини чоп этиш учун Ўзбекистон Республикаси Олий аттестация комиссияси томонидан тавсия этилган илмий нашрларда 4 та илмий мақола, шу жумладан 3 та маҳаллий ва 1 та хорижий журналларда чоп этилган.

Диссертациянинг тузилиши ва ҳажми. Диссертация кириш, олти боб, хулоса, фойдаланилган адабиётлар рўйхати ва иловалардан иборат. Диссертация ҳажми 114 бетни ташкил этади.

ДИССЕРТАЦИЯНИНГ АСОСИЙ МАЗМУНИ

Кириш қисмида диссертация ишининг долзарблиги ва аҳамияти, муаммонинг ўрганилганлик даражаси асослаб берилган, тадқиқотнинг илм-фан ва технологиялар тараққиётининг устувор йўналишларига мослиги белгилаб берилган, тадқиқотнинг мақсад ва вазифалари, тадқиқот объектлари ва предметлари аниқлаб берилган, тадқиқотнинг илмий янгилиги ва амалий натижаларини баён қилинган, шунингдек, тадқиқот натижаларини амалиётда қўллаш натижалари, чоп этилган ишлар ва диссертациянинг тузилиши ҳақида маълумотлар берилган.

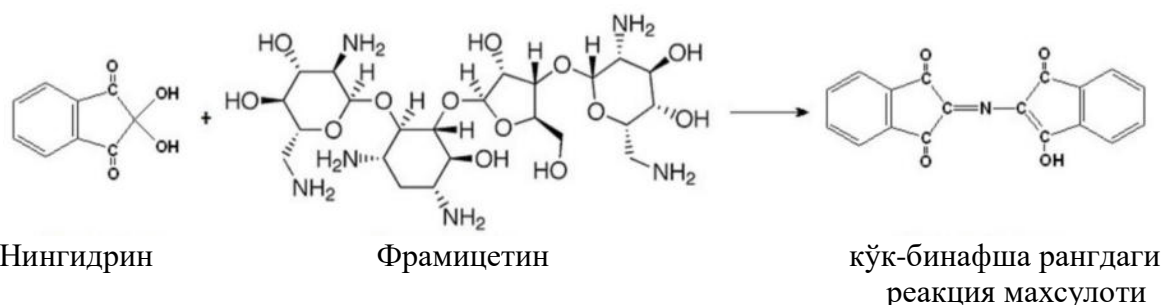
Диссертациянинг «**Аминогликозидларни аниқлашнинг аналитик усуллари**» номли биринчи бобида адабиётларда келтирилган маълумотларини таҳлил қилиш асосида аминогликозидларни аниқлашнинг аналитик жиҳатлари, фрамецитин сульфатнинг номенклатураси, тузилиши ва хоссалари ўрганилган. Дори воситалари таркибидаги фаол моддаларнинг миқдорий таркибини аниқлаш учун фармакопея таҳлили ва тегишли усулларни танлаш амалга оширилди. Таҳлилларнинг мавжуд ва биз томондан ишлаб чиқиладиган усуллари (спектрнинг ултрабинафша (УБ) ва кўринувчан соҳаларидаги спектрометрияси, ЮССХ, аминокислоталар гуруҳларига сифат реакциялари) ҳамда текширилиши керак бўлган аналитик усуллар, валидация хусусиятлари ва талаблари баён этилган. Адабиётлар маълумотлари таҳлили шуни кўрсатдики, фрамицетин тутган дори воситаларини таҳлил қилишнинг янги усулларини ишлаб чиқиш ҳамда уларни амалиётга жорий этиш таҳлил жараёнини сезиларли даражада тезлаштиради ва олинган таҳлил натижаларининг ишончлилигини оширади.

Диссертация ишининг «**Тадқиқот объекти, асбоблари ва синов шартлари**» номли иккинчи бобида стандарт фармакопея намуналари рўйхати; дори воситаларини тайёрлашда ишлатиладиган моддалар; ўрганиладиган дори воситалари; кимёвий ва фармацевтик таҳлил учун жиҳозлар келтирилган.

Диссертациянинг «**Спектрофотометрия усулида фрамицетин сульфат таҳлили**» номли учинчи бобда, спектрофотометрия усулида фрамицетин сульфат таҳлил қилиш бўйича тадқиқот натижаларини тақдим этилган, бу эса «ҳақиқий» ва «миқдорий аниқлаш» бўлимлари бўйича таҳлил қилиш

имконини беради, баъзи ҳолларда маълум тўлқин узунликларида ютилиш бўйича тозалигини таҳлил қилиш учун ишлатилиши мумкин.

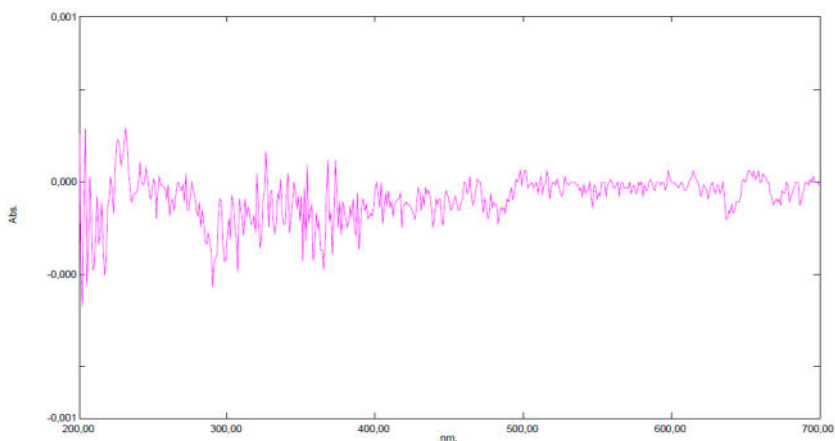
Олиб борилган спектрал тажрибалар шуни кўрсатдики, фрамицетин ултрабинафша ва кўринадиган соҳаларда ёруғликни ютиш қобилиятига эга эмас. Фрамицетин таркибида аминогуруҳларнинг мавжудлиги, нингидрин эритмаси билан рангли реакция беради (1-расм). Бу эса олинган рангли эритманинг кўринувчан соҳадаги ютилиш спектрларини ўрганиш имконини беради.



1-Расм. Нингидринни фрамицетин билан рангли реакцияси

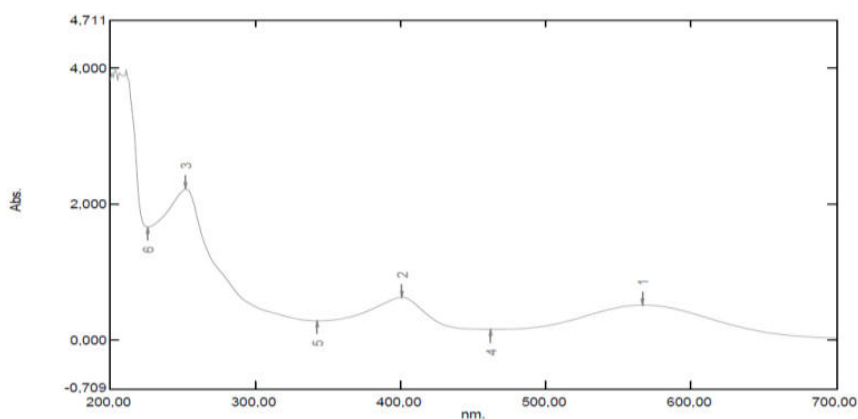
Фрамицетин сульфатнинг стандарт намунасини ва ТФМ 42 Ўз- 26491354-3810-2020 бўйича тайёрланган дори препаратининг синов эритмасини 200 нм дан 700 нм гача бўлган тўлқин узунлигидаги дастлабки спектрал таҳлили шуни кўрсатдики, фрамицетин 252 нм (3), 401 нм (2), 564 нм (1) тўлқин узунлигида ютилиш максимумларига эга.

Бланк эритмаси, фрамицетин сульфатнинг ишчи стандарт намунаси (ИСН) ва синов эритмасининг ютилиш спектрлари 2-4-расмларда келтирилган.

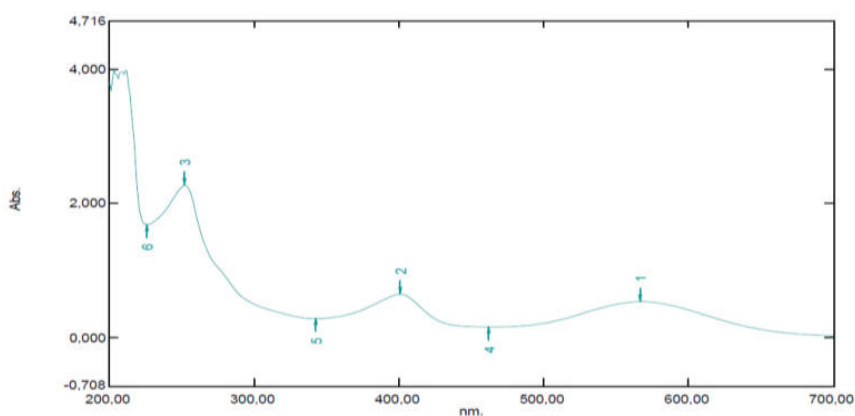


2-Расм. Бланк эритмаси ютилиш спектри

2-4-расмлардан кўришиб турибдики, мақбул шароитларда ИСН ва синалаётган эритмаларнинг максимум қийматлари бир хил. Ишлаб чиқилган услуб фрамицетин сульфатнинг миқдорий таркибини аниқлаш учун намуна тайёрлаш ва спектрларини ўлчаш шартлари ўзига хос эканлигини кўрсатади.



3-Расм. Фрамицетин сульфат ИСН ютилиш спектри (C=0,50 мг/мл)



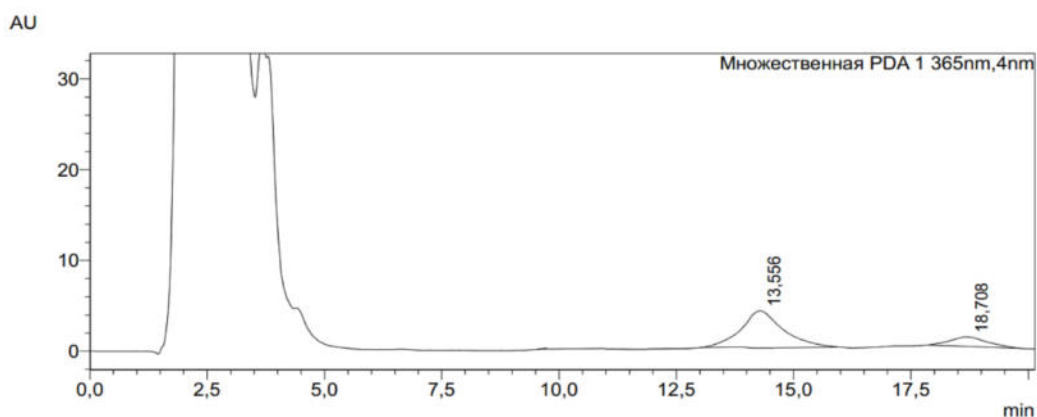
4-Расм. Синалаётган эритмани ютилиш спектри (C=0,50 мг/мл)

Тадқиқот давомида фрамицетин сульфат таркибида аминогурӯҳларнинг мавжудлиги, нингидрин эритмаси билан рангли реакция бериши аниқланди, бу бизга кўринадиган соҳада олинган рангли эритманинг ютилиш спектрларини ўрганишга имкон берди ва фрамицетин сульфатнинг 200 нм дан 700 нм гача тўлқин узунлиги оралиғида 252 нм, 401 нм, 564 нм тўлқин узунлигида ютилиш максимумига эга эканлиги аниқланди.

Диссертациянинг «**Фрамицетин сульфатни ЮССХ усулида тахлили**» номли тўртинчи бобида ЮССХ усули ёрдамида дори воситалари таркибида фрамицетин сульфатни аниқлашнинг мукамал услубини ишлаб чиқиш бўйича тадқиқотлар баён этилган.

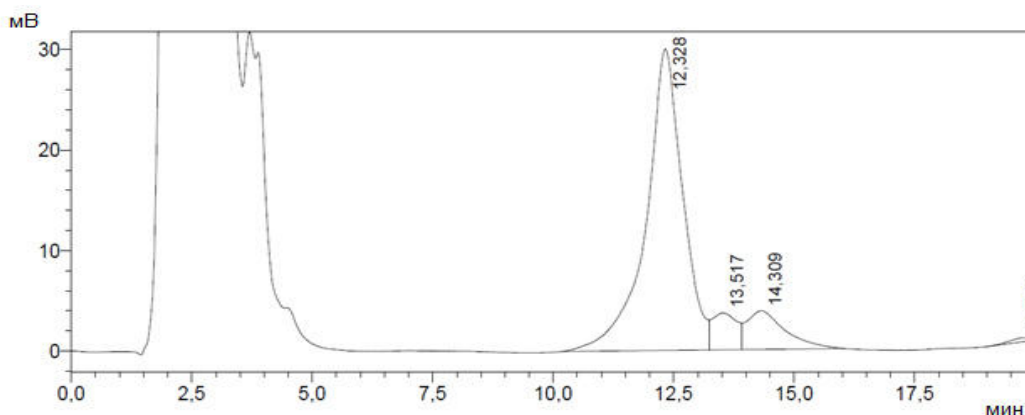
Услубни ишлаб чиқиш давомида ҳаракатчан фазани танлашда суюлтирилган эритмалар учун чўққилар катталикларидан ва фрамицетин сульфатни ацетонитрилдаги ва аминометаннинг трис (гидроксиметил) буфер эритмасидаги чўққиларини қийматларини адабиётларда келтирилган маълумотларига таянилди. Эритмаларнинг хроматографияси ишда келтирилган мақбул шароитда олиб борилди. Олинган хроматограммалар хроматография шароити мақбуллаштирилганини, фрамицетин сульфатнинг чўққиси препаратнинг бошқа компонентлари чўққиларидан ажралиб чиққанлигини тасдиқлайди.

Бланк эритмаси, фрамицетин сульфатнинг ИСН ва синалаётган эритмаларининг хроматограммалари 5-7-расмларда келтирилган.



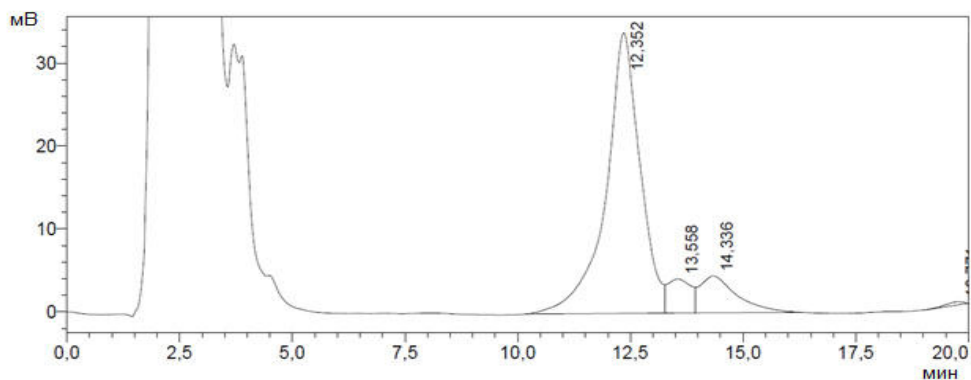
5-Расм. Бланк эритмасининг хроматограммаси

Хроматограммада 1.5 дан 5.0 минутгача олинган чўққи 2,4-динитрофторбензол чўққиси ҳисобланади. Чунки, бланк эритмаси таркибида 20% 2,4- динитрофторбензол бўлади. 2,4- динитрофторбензолнинг чўққиси хроматограмма чегарасидан ташқарига чиқади. 5-расмда шунингдек, намуна тайёрлаш учун ишлатиладиган эритувчилар ва реактивлар хроматография натижасини 6,0 дан 20,0 минутгача бўлган вақт оралиғида бузиб кўрсатмагани кўриниб турибди.



6-расм. Фрамицетин сульфат ИСН хроматограммаси

Кейинги тажриба жараёнида фрамицетин чўққисининг ушланиш вақти 12.328 минут бўлган хроматограмма олинди.



7-Расм. Синов эритмасининг хроматограммаси

«Фрамидекс» препаратининг синов эритмасини хроматография қилиш вақтида фрамицетин чўққисининг ушланиш вақти 12.352 минутни ташкил этади. 6-7-расмлардан кўриниб турибдики, танланган хроматография

шароитида ИСН чўққиларининг ушланиш ваки ва синов эритмалариники бир хил бўлади. Ишлаб чиқилган усул препаратдаги фрамицетин сульфатнинг миқдорий таркибини аниқлаш шартлари ўзига хос эканлигини кўрсатади.

Диссертациянинг бешинчи боби **«Фрамицетин тутган дори препаратлари сифатини назорат қилиш усулларини такомиллаштириш»** деб номланган бўлиб, унда комбинирланган (кўш) препаратларда фаол моддаларни аниқлашнинг энг мақбул, оддий, арзон, тезкор усулларини танлаш бугунги кунда долзарбдир. Биз ишлаб чиққан усуллардан нафақат дори ишлаб чиқаришда, балки модда сифатини баҳолаш ва сохталаштирилган дори воситаларини аниқлаш учун кирим назорати пайтида ҳам фойдаланиш мумкин.

Ўтказилган тадқиқотлар натижасида «Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчиларида фрамицетин сульфатни ЮССХ усули ёрдамида сифат ва миқдорий баҳолаш усуллари синаб кўрилди ва мақбуллаштирилди, бунда 2,4-динитрофторбензол дериватловчи агенти ишлатилди.

Шунингдек, «Фрамидекс» препаратининг қуйидаги фармакопея сифат кўрсаткичлари: тавсифи, ҳақиқийлиги, шаффофлиги, ранги, рН, механик киритмалар, тўлдириш ҳажми, стериллик, миқдорий аниқлаш кабиларни ва уларнинг рухсат этилган чегараларини ўрнатиш учун тадқиқотлар ўтказилди.

Уч қатор намуналарда ўтказилган тадқиқотлар натижалари дори препарати белгиланган талабларга мувофиқлигини кўрсатди.

Ўтказилган тадқиқотлар натижасида «ASEPTICA» корхонасида «Фрамидекс» дори препаратини сифат назорати вақтида ишлатиладиган меъёрий ҳужжатлар ТФМ 42 Уз-26491354-3457-2018 ишлаб чиқилди, жорий қилиш санаси 12.09.2018 й.

«Фрамекс» бурун спреий препаратининг таркиби ва сифатини назорат қилиш усулларини ишлаб чиқиш, спектрофотометрия йўли билан препаратдаги фрамицетин сульфатни сифат ва миқдорий баҳолаш усули бўйича тадқиқот ўтказилди ва оптималлаштирилди. «Фрамекс» препаратининг қуйидаги фармакопея сифат кўрсаткичларини ва уларнинг рухсат этилган чегараларини аниқлаш учун тадқиқотлар ўтказилди: тавсифи, ҳақиқийлиги, шаффофлиги, ранги, рН, механик кўшимчалар, идишларни тўлдириш ҳажми, миқдорий аниқлаш ва микробиологик тозаллиги.

Уч қатор намуналарда ўтказилган тадқиқотлар натижалари дорининг белгиланган талабларга мувофиқлигини кўрсатди.

Ўтказилган тадқиқотлар натижасида «ASEPTICA» корхонасида «Фрамекс» дори препаратини сифат назорати вақтида ишлатиладиган меъёрий ҳужжатлар ТФМ 42 Уз-26491354-3810-2020 ишлаб чиқилди, жорий қилиш санаси 17.01.2020 й.

Шунингдек, Европа Фармакопеясида баён қилинган тадқиқотлар ва таҳлил усуллари асосида фрамицетин сульфатнинг сифатини баҳолаш учун спецификация тузилди (1-жадвал).

Фрамицетин сульфат субстанциясига спецификация

Фрамицетин сульфат			
№	Кўрсаткич номи	Спецификация	Усул
1.	Тавсифи	Оқ ёки оқ-сарғиш кукун, гигроскопик	Евр. Ф.
2.	Эрувчанлиги	Сувда осон эрийди, 96%спиртда кам эрийди, ацетонда деярли эрмайди	Евр. Ф.
3.	Ҳақиқийлиги	А. 500 дан 700 нм гача ораликда микдорий аниқлаш учун тайёрланган синов эритмасининг ютилиш спектри фрамицетин сульфатнинг ИСН эритмаси спектрига мос келиши ва 564±5 нм тўлқин узунлигида максимумга эга бўлиши керак В. Синов намунаси сульфатларга реакция (а) беради	Евр. Ф.
4.	рН	6,0 дан 7,0 гача	Евр. Ф.
5.	Солиштирма оптик айланиш	+52,5 дан +55,5 гача	Евр. Ф.
6.	Йўлдош кўшимчалар (ЮССХ)	Кўшимча А. Кўпи билан 1 % Кўшимча С. Кўпи билан 3 % Бошқа кўшимчалар йиғиндиси -кўпи билан 3,0%	Евр. Ф.
7.	Сульфатлар	Камида 27,0 % ва кўпи билан 31,0 %	Евр. Ф.
8.	Қуритишда йўқолган масса	Кўпи билан 8,0 %	Евр. Ф.
9.	Сульфат кули	Кўпи билан 1,0 %	Евр. Ф.
10.	Микробиологик тозалик	1 г препаратда аэроб бактериялар ва замбуруғлар микдори кўпи билан 10 ² . Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa. Staphylococcus aureus бўлмаслиги шарт.	ГФ XI
11.	Микдорий аниқлаш	Қурук моддага нисбатан ҳисобланганда камида 630 ХБ/мг (СФ)	Корхона стандарти

Ўтказилган тадқиқотлар натижасида «ASEPTICA» корхонасида фрамицетин сульфат субстанциясининг сифат назорати вақтида ишлатиладиган спецификацияси № СУБ/025/19 ишлаб чиқилди, жорий қилиш санаси 10.01.2019 й.

Дори воситаларидаги фрамицетин сульфатни сифат ва микдорий аниқлаш учун ишлаб чиқилган таҳлил усуллариининг ишончлилигини ўрнатиш учун мазкур дори воситаларини оригинал препаратлар билан қиёсий таҳлили ўрганилди:

- «Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари, «ASEPTICA» МЧЖ, Ўзбекистон Республикаси;

- «Софрадекс» кўз ва қулоқ томчилари, Санофи Индия Лимитед, Ҳиндистон;

- «Фрамекс» бурун спреји 1.25 %, «ASEPTICA» МЧЖ, Ўзбекистон Республикаси;

- «Изофра» бурун спреји 1.25 %, Бушара-Рекордати лабораторияси, Франция.

Тажриба давомида олинган таҳлиллар натижалари, ишлаб чиқилган усуллар бўйича топилган параметрларнинг тавсифи, ҳақиқийлиги, эритманинг рН ва миқдорий мазмунига кўра таққосланди. Олинган маълумотлар 2-жадвалда кўрсатилган.

2-жадвал

“Изофра” ва “Фрадекс” препаратларини қиёсий таҳлили

Кўрсаткичлар	Меъёри	Препаратлар	
		Изофра	Фрадекс
Тавсифи	Шаффоф эритма, рангсиздан оч сарик ранггача	Шаффоф рангсиз эритма	Шаффоф рангсиз эритма
Ҳақиқийлиги	500 дан 700 нм гача ораликда миқдорий аниқлаш учун тайёрланган синов эритмасининг ютилиш спектри фрамицетин сульфатнинг ИСН эритмаси спектрига мос келиши ва 564 ± 5 нм тўлқин узунлигида максимумга эга бўлиши керак.	500 дан 700 нм гача ораликда миқдорий аниқлаш учун тайёрланган синов эритмасининг ютилиш спектри фрамицетин сульфатнинг ИСН эритмаси спектрига мос келади ва 565 нм тўлқин узунлигида максимумга эга	500 дан 700 нм гача ораликда миқдорий аниқлаш учун тайёрланган синов эритмасининг ютилиш спектри фрамицетин сульфатнинг ИСН эритмаси спектрига мос келади ва 564 нм тўлқин узунлигида максимумга эга.
Эритма рН	5,0 дан 6,0 гача	5,61	5,57
Микробиологик усул	7200 дан 8800 ХБ/мл гача	8054 ХБ/мл	8031 ХБ/мл
Спектрофотометрик усул		8019 ХБ/мл	8025 ХБ/мл

Жадвалда кўрсатилган маълумотлар шуни кўрсатадики, биз ишлаб чиққан спектрофотометрия усули барча асосий кўрсаткичлар бўйича таҳлил натижалари билан таққосланганда меърий ҳужжат (НД) талабларига жавоб беради. Олинган натижалар бир-биридан бироз фарқ қилади, бу эса дори воситалари таркибидаги фрамицетин сульфат таркибини аниқлашнинг бу усули ишончли эканлигини исботлайди.

3-жадвал

“Софрадекс” ва “Фрамидекс” препаратларини қиёсий таҳлили

Кўрсаткичлари	Меъёри	Препаратлар	
		Софрадекс	Фрамидекс
Тавсифи	Фенилэтил спиртининг характерли ҳиди бор рангсиздан бир оз сарғиш ранггача шаффоф ёки бир оз опалесцирловчи эритма	Фенилэтил спиртининг характерли ҳидига эга бўлган шаффоф рангсиз эритма	Фенилэтил спиртининг характерли ҳидига эга бўлган шаффоф рангсиз эритма

Ҳақиқийлиги	Нингидрин реагентини қўшганда бинафшарангнинг пайдо бўлиши	Нингидрин реагентини қўшганда бинафшаранг пайдо бўлади	Нингидрин реагентини қўшганда бинафшаранг пайдо бўлади
Эритма рН	4,0 дан 6,0 гача	5,12	5,04
Микробиологик усул	4,5 дан 6,0 мг/мл гача	5,55 мг/мл	5,63 мг/мл
ЮССХ		5,19 мг/мл	5,06 мг/мл
Грамицидинни миқдорий аниқлаш (ЮССХ)	0,045 дан 0,060 мг/мл гача	0,052 мг/мл	0,053 мг/мл

Таққослаш давомида олинган таҳлил натижалари (3-жадвал) фаол модда таркибини аниқлаш учун ишлаб чиқилган ЮССХ усули НД талабларига жавоб беришини исботлайди. Препаратларни таққослашда таҳлил давомида олинган натижалар деярли бир хил бўлиб, бу хроматографик усулнинг ишончли эканлигини исботлайди.

Диссертациянинг олтинчи боби «**Фрамицетин сульфатнинг миқдорий таркибини аниқлашнинг аналитик усуллари текшириш**» деб номланган бўлиб, фрамицетин сульфатни миқдорий аниқлаш ва ишлаб чиқилган усулларни тасдиқлаш учун УБ-спектрофотометрик ва ЮССХ усуллари ишлаб чиқиш бўйича тадқиқотлар ўтказилди, дори препаратларда фрамицетин сульфатни миқдорий аниқлаш учун қўлланиладиган усулларнинг чизиқлилиги, тўғрилиги ва ўхшашлигини аниқлаш ва баҳолаш бўйича ишлаб чиқилган усуллар текширилди.

Аналитик усулларни текшириш жараёнида куйидаги текшириш параметрлари бўйича синовлар ўтказилади, уларга маълум қабул қилиш мезонлари танланади:

Усулнинг ўзига хослиги эритувчи, фаол модда ва дори препаратни таҳлил қилишда фаол модданинг қийматларини таққослаш орқали аниқланади.

Усулнинг чизиқлилиги синов эритмасидаги анализ қилинаётган модда концентрациясининг камида 5 хилдаги минимум 80-120% концентрацияли эритмаларида аниқланади. 2 та эритмадаги фаол модда концентрацияси 80%, 2 та эритмада фаол модда концентрацияси 90%, 2 та эритмада фаол модда концентрацияси 100%, 2 та эритмада 110%, 2 та эритмада 120%.

Олинган маълумотларга кўра, оптик зичликнинг эритмадаги фрамицетин сульфат концентрациясига боғлиқлик графиги қурилади. Дастурда тренд чизиги қурилади ва регрессия тенгламаси аниқланади. Олинган натижаларни статистик қайта ишлаш шуни кўрсатдики, 95% $n-1=9$ ишончли эҳтимол учун $t_{кр}=2,262$.

Ўхшашлик синов эритмасида фаол модданинг 100% концентрацияси билан тайёрланган камида 6 та намунани синаш йўли билан аниқланади.

Усулнинг тўғрилиги фаол модданинг плацебога жавобини белгилайди. Плацебо концентрацияси назорат усулида кўрсатилган намунанинг 100% ни ташкил этади. Актив модда модель аралашмага керакли концентрация

даражасига мувофиқ кўшилади (қуйи чегара-мах.80, 100%; юқори чегараси – мин. 120%).

Препарат концентрацияси 80 дан 120% гача оралиқда бўлган эритмалар тайёрланди ва ўлчанди: 80% фаол модда концентрациясига эга бўлган 3 та эритма, 90% фаол модда концентрациясига эга бўлган 3 та эритма, 100% фаол модда концентрациясига эга бўлган 3 та эритма, 110% ва 120% ли 3 та эритма олинди. Олинган натижаларни статистик қайта ишлаш натижаси $P=95\%$ ва $n-1=14$, $t_{кр}=2,144$ кўрсатди. Синов шартлари: хона ҳарорати 25°C дан ошмаслиги керак, намлик 65% дан ошмаслиги керак.

Барча ҳисоб-китоблар Microsoft Office Excel дастурида амалга оширилди.

«Фрадекс» бурун спреји дори препаратни аналитик усулларини спектрофотометрик усулда валидациясини ўтказиш давомида олинган натижалар 4-жадвалда кўрсатилган. Қийслаш эритмаси сифатида бланк ишлатилган.

4-жадвал

«Фрадекс» препарати таркибидаги фрамицетин сульфатни миқдорий аниқлаш учун спектрофотометрик усулни текшириш натижалари

Валидация параметрлари	Мақбуллик мезонлари	Натижалар
Ўзига хослик	Намунани тайёрлаш учун ишлатиладиган эритувчи ва реактивлар, плацебо компонентлари натижани бузмайди	Мос келади
Чизиқлилиқ	Корреляция коэффиценти $\geq 0,99$	0,9998
Ўхшашлик	Вариация коэффиценти $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 1)	0,0112
Оралиқ аниқлик	Вариация коэффиценти $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 2); $F(5\%,5,5) \leq 5,05$; $t(5\%,10) \leq 2,228$	$KB = 0,0113\%$; $F(5\%,5,5) = 1,00$; $T(5\%,10) = 1,43$.
Тўғрилиқ	Жавоб омили: ўртача қиймат 97,5 – 102,5%. Вариация коэффиценти $\leq 2,0\%$. Ишонч оралиғи 100% қийматларни ўз ичига олиши керак	Ўрт.қиймат.: 100,76% Вариация коэф. 0,3761% Ишонч диапазони 100%

5-жадвал

«Фрамидекс» препарати таркибидаги фрамицетин сульфатни миқдорий аниқлаш учун ЮССХ усулини текшириш натижалари

Валидация параметрлари	Мақбуллик мезонлари	Натижалар
Ўзига хослик	Намунани тайёрлаш учун ишлатиладиган эритувчи ва реактивлар, плацебо компонентлари натижани бузмайди	Мос келади
Чизиқлилиқ	Корреляция коэффиценти $\geq 0,99$	0,9995
Ўхшашлик	Вариация коэффиценти $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 1)	0,4054
Оралиқ аниқлик	Вариация коэффиценти $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 2); $F(5\%,5,5) \leq 5,05$; $t(5\%,10) \leq 2,228$	$KB = 0,4442\%$; $F(5\%,5,5) = 1,1833$; $T(5\%,10) = 0,2137$.
Тўғрилиқ	Жавоб омили: ўртача қиймат 97,5 – 102,5%. Вариация коэффиценти $\leq 2,0\%$. Ишонч оралиғи 100% қийматларни ўз ичига олиши керак	Ўрт.қиймат.: 100,14% Вариация коэфф.0,6675% Ишонч диапазонига 100% киради

«Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари препаратини таҳлила қўлланилган аналитик усулларни ЮССХ усули ёрдамида текшириш давомида олинган маълумотлар 5-жадвалда кўрсатилган. Қиёслаш эритмаси сифатида бланк ишлатилган.

4-5-жадвалларда келтирилган тадқиқот натижалари НД да кўрсатилган усуллар ишончли эканлигини кўрсатади, буни текшириш жараёнида олинган натижалар тасдиқлайди. Барча ўлчанган параметрлар: ўзига хослик, чизиклилик, яқинлашиш ва тўғрилиқ қабул қилиш мезонларига жавоб беради.

Доривор препаратлардаги фаол моддаларнинг миқдорий таркибини аниқлаш текширилганидан кейин, фармакопееда илгари баён қилинган усулларнинг биз томонимиздан ишлаб чиқилган усул билан қиёсий таҳлили ўтказилди. Олинган маълумотларнинг умумий жадвали (6-7-жадваллар) тузилган бўлиб, унда умумлаштирилган натижалар акс эттирилган.

6-жадвал

«Фрамекс» дори препарати таркибидаги фрамицетиннинг миқдорий таркибини аниқлашнинг спектрофотометрик ва микробиологик усулларини текшириш давомида олинган натижаларни таққослаш»

Валидация параметрлари	Мақбуллик мезонлари	Усуллар	
		СФ	Микробиологик усул
1	2	3	4
Ўзига хослик	Намунани тайёрлаш учун ишлатиладиган эритувчи ва реактивлар, плацебо компонентлари натижани бузмайди	Мос келади	Мос келади
Чизиклилик	Корреляция коэффициенти $\geq 0,99$	0,9998	0,9905
Ўхшашлик	Вариация коэффициенти $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 1)	0,0112	1,4813
Оралик аниқлик	Вариация коэффициенти $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 2); $F(5\%, 5, 5) \leq 5,05$; $t_{кр}(5\%, 10) \leq 2,228$	КВ = 0,0113%; $F(5\%, 5, 5) = 1,00$; $T(5\%, 10) = 1,43$.	КВ = 1,4157; $F(5\%, 5, 5) = 4,5563$; $T(5\%, 10) = 1,9671$
Тўғрилиқ	Жавоб омили: ўртача қиймат 97,5 – 102,5%. Вариация коэффициенти $\leq 2,0\%$. Ишонч оралиғи 100% қийматларни ўз ичига олиши керак	Ўрт.қиймат.: 100,76% Вариация коэф. 0,3761% Ишонч диапзонига 100% киради	Ўрт.қиймат: 97,69% Вариация коэф. 1,94%

Қиёсий таҳлилимиз натижасида спектрофотометрик усул ёрдамида олинган маълумотлар текширишнинг барча параметрларига мос келади ва микробиологик усул билан олинган маълумотларга нисбатан ишончли эканлиги аниқланди.

7-жадвал

«Фрамидекс» препарати таркибидаги фрамицетиннинг миқдорий таркибини аниқлашнинг ЮССХ ва микробиологик усулларини текшириш давомида олинган натижаларни таққослаш.

Текшириш параметрлари	Мақбуллик мезонлари	Усуллар	
		ЮССХ	Микробиологик усул
Ўзига хослик	Намунани тайёрлаш учун ишлатиладиган эритувчи ва реактивлар, плацебо компонентлари натижани бузмайди	Мос келади	Мос келади
Чизиклилик	Корреляция коэффициенти $\geq 0,99$	0,9995	0,9908
Ўхшашлик	Вариация коэффициенти $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 1)	0,4054	1,256
Оралик аниқлик	Вариация коэффициенти $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 2); $F(5\%, 5, 5) \leq 5,05$; $t_{кр}(5\%, 10) \leq 2,228$	КВ = 0,4442%; $F(5\%, 5, 5) = 1,1833$; $T(5\%, 10) = 0,2137$.	КВ = 1,3861; $F(5\%, 5, 5) = 4,1725$; $T(5\%, 10) = 1,8219$
Тўғрилиқ	Жавоб омили: ўртача қиймат 97,5 – 102,5%. Вариация коэффициенти $\leq 2,0\%$. Ишонч оралиғи 100% қийматларни ўз ичига олиши керак	Ўрт.қиймат.: 100,14% Вариация коэф. 0,6675% Доверительный диапазон включает 100%	Ўрт.қийм.: 99,87% Вариация коэф. 1,86%

ЮССХ ва микробиологик усулларнинг қиёсий таҳлили натижасида шу нарса аниқландики, ЮССХ усули ёрдамида олинган маълумотлар барча текшириш параметрларига мос келиши ва микробиологик усул билан олинган маълумотларга нисбатан ишончлироқ эканлиги аниқланди.

ХУЛОСАЛАР

1. Илк маротаба ҳақиқийлигини тасдиқлаш ва доривор маҳсулотлар таркибидаги фрамицетиннинг миқдорий таркибини аниқлаш учун қулай ва осон бажариладиган спектрофотометрия усули тавсия қилинди.

2. Дериват ёрдамида дори воситалари таркибидаги фрамицетин сульфатни аниқлаш ва миқдорий баҳолаш учун спектрофотометрия ва ЮССХ усуллари мақбуллаштирилди. 200нм дан 700нм гача тўлқин узунлигидаги соҳада фрамицетин сульфат 252нм, 401нм ва 564нм тўлқин узунликларида ютилиш максимумига эга бўлиши билан изоҳланади.

3. «Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари ва «Фрамекс» бурун спрейти дори воситалари сифатининг фармакопея кўрсаткичларини ҳамда уларнинг рухсат этилган чегараларини белгилаш асосида юқорида қайд этилган дори воситалари учун спецификация ишлаб чиқилди.

4. «ASEPTICA» корхонасида «Фрамидекс» кўз ва қулоқ томчилари, «Фрамекс» бурун спрейти препарати сифатини назорат қилиш учун фойдаланиладиган ТФМ меъёрий ҳужжатлари ишлаб чиқилди.

5. Фрамецитин сульфатни аниқлашнинг спектрофотометрия ва юқори самарали суюқлик хроматографияси аналитик усуллари «Софрадекс» ва «Фрамидекс» препаратларини таққослаш натижасида валидация қилинган ва олинган натижалар таҳлил учун қўлланилган микробиологик усул билан солиштирилганда, ишлаб чиқилган ЮССХ ва спектрофотометрик усулларнинг микробиологик усулга нисбатан ишончлиги билан изоҳланди.

6. Ўтказилган тадқиқотлар натижасида «ASEPTICA» корхонасида препаратлар ва хом ашёларнинг сифатини назорат қилишда ишлатиладиган бир қатор меърий ҳужжатлар ишлаб чиқилди ва амалиётга тавсия қилинди.

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

**НАЦИОНАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ УЗБЕКИСТАНА ИМЕНИ МИРЗО
УЛУГБЕКА**

ГАППАРОВ ДИЛШОДБЕК ДАВРОНБЕКОВИЧ

**РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ АНАЛИТИЧЕСКИХ МЕТОДИК
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФРАМИЦЕТИНА СУЛЬФАТА В СОСТАВЕ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

02.00.02 – аналитическая химия

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

Ташкент – 2021

Тема диссертации доктора философии по химическим наукам (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Кабинете Министров Республики Узбекистан за номером В2019.2.PhD/K180.

Диссертация выполнена в Национальном Университете Узбекистана имени Мирзо Улугбека. Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета ik-kituо.nuu.uz) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyo.net.uz).


Научный руководитель:	Сманова Зулайхо Асаналиевна доктор химических наук, профессор
Официальные оппоненты:	Абдурахмонов Эргашбой доктор химических наук, профессор Фатхуллова Муяссар кандидат химических наук, доцент
Ведущая организация:	Институт общей и неорганической химии

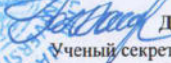
Защита диссертации состоится «11» 11 2021 г. в 15⁰⁰ часов на заседании Научного совета DSc.03/30.12.2019.K.01.03 при Национальном Университете Узбекистана (адрес: 100174, г. Ташкент, ул. Университетская, 4. Тел.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; факс: (+99871) 246-53-21; e-mail: chem0102@mail.ru).


С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-ресурсном центре Национального Университета Узбекистана (регистрационный номер 98) 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 «27» 10 2021 года
(реестр протокола рассылки № 13 от «27» 10 2021 г.).




Х.Т. Шарипов
Председатель Научного совета
по присуждению ученых степеней,
д.х.н., профессор


Д.А. Гафурова
Ученый секретарь Научного
совета по присуждению ученых
степеней, д.х.н., доцент


Н.Х. Кутлимуратова
Председателя научного семинара
при научном совете по присуждению
ученых степеней, д.х.н.

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. На сегодняшний день в мире химические аспекты в фармацевтической отрасли занимают одно из первостепенных значений, как при производстве лекарственных препаратов, так и в процессе контроля качества промежуточной и готовой продукции, а также при проведении входного контроля сырья и материалов. Поэтому возрастает потребность в поиске альтернативных, наиболее усовершенствованных, новых физико-химических методов определения веществ в лекарственных средствах для оценки их качества. Разработка наиболее простых, доступных, экспрессных, достоверных, универсальных, бюджетных методов анализа имеет важное практическое значение и является актуальным.

В целях совершенствования системы контроля качества лекарственных препаратов в мировом масштабе большое внимание уделяется исследованиям, которые проводятся в первую очередь по контролю качества лекарственных препаратов на каждой стадии их производства. В связи с этим важно проводить научные исследования, направленные на создание четкого, возобновляемого и быстрого, простого в выполнении анализа лекарственных средств и недорогих методов анализа, с помощью которых проводится комплексный анализ лекарственных средств.

В нашей Республике реализуются комплексные меры по совершенствованию системы обеспечения населения лекарственными препаратами, достигаются определенные результаты по созданию благоприятных условий для развития отечественной фармацевтической промышленности. В стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан на 2017-2021 годы определены задачи «дальнейшей модернизации и диверсификации промышленности путем перевода высокотехнологичных перерабатывающих отраслей, прежде всего, на качественно новый уровень, направленный на ускоренное развитие производства готовой продукции с высокой добавленной стоимостью на основе глубокой переработки местных сырьевых ресурсов». Важное значение в этом направлении имеет ускоренное развитие фармацевтической промышленности, создание импортозамещающих препаратов, разработка высокоэффективных, современных оперативных методов анализа лекарственных средств.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит выполнению задач, предусмотренных в Указах Президента Республики Узбекистан № УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О Стратегии действий по пяти приоритетным направлениям развития Республики Узбекистан»¹ в 2017-2021 годах, № УП-5707 от 10 апреля 2019 года «О мерах по ускоренному развитию фармацевтической промышленности республики в 2019-2021 годах», Постановлении Президента Республики Узбекистан № ПП-4310 от 6 мая 2019

¹Указ Президента Республики Узбекистан УП-4947 от 7 февраля 2017 года «О Стратегии действий по дальнейшему развитию Республики Узбекистан»

года «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки», а также в других нормативно-правовых документах, принятых в данной сфере.

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологии Республики. Диссертация выполнена в соответствии с приоритетными направлениями развития науки и технологий в республике: VII. Химическая технология и нанотехнология.

Степень изученности проблемы. Особого внимания в мире заслуживают научные исследования по разработке и усовершенствованию методов анализа аминогликозидов, являющихся составной частью фармацевтических препаратов. Ранее предложены и разработаны микробиологический, капиллярный электрофорез и тонкослойно-хроматографические методики производных аминогликозидов ведущими учеными мира, такими как, Е.Г. Кулапина, М.В. Костицина, Т.А. Краснова, Н.Н. Рудакова, П. Срисом, Б. Лиавруанграт, С. Вангкарн, У. Губицка, Ян Кшек, Х. Волтынской, Б. Стахач.

Ученые нашей Республики Н.А.Парпиев, Х.Х.Хакимов, А.А.Шабалов, А.Н.Юнусходжаев, А.Б.Акбаров, А.Ф.Дусматов и др. проводили научные исследования по стандартизации и контролю качества лекарственных препаратов. По теме диссертации работы отечественных авторов представлены мало. Проведенный анализ литературных источников показал, что исследования в области разработки спектрофотометрических методов и ВЭЖХ с применением дериватизирующего агента при определении количественного содержания фрамицетина сульфата в лекарственных препаратах и проведении входного контроля субстанций ранее не был разработан.

Связь диссертационного исследования с планами научно-исследовательских работ высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация.

Диссертационное исследование выполнено в соответствии с планами научно-исследовательской работы НУУз имени Мирзо Улугбека в рамках фундаментальных проекта на тему: №Ф 22.7 «Синтез селективных органических реагентов» (2012-2017 гг.).

Целью диссертации является разработка, валидация и внедрение в практику новых методов анализа количественного содержания фрамицетина сульфата в лекарственных препаратах.

Задачи исследования:

исследование структуры и свойств фрамицетина сульфата и проведение его фармакопейного анализа, данных о регистрации аминогликозидовых антибиотиков в Республике Узбекистан;

разработка новых методик анализа фрамицетина сульфата методами спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ);

разработка состава и методов контроля качества препарата «Фрамидекс», капли глазные и ушные и «Фрадекс», спрей для носа;

усовершенствовать методы контроля качества при анализе фрамицетин содержащих препаратов и разработать спецификацию на субстанцию фрамецитина сульфата;

проведение валидации аналитических методик по определению количественного содержания фрамецитина сульфата в лекарственных препаратах;

разработка нормативных документов для проведения регистрации лекарственных препаратов в ГУП Государственном Центре экспертизы лекарственных средств, изделий медицинского назначения и медицинской техники Агентства по развитию фармацевтической деятельности при МЗ РУз.

Объекты исследования являются лекарственные препараты «Фрамидекс», капли глазные, ушные и «Фрадекс», спрей для носа.

Предмет исследования. Предметом исследования явились разработка, стандартизация и совершенствование методов контроля качества при проведении анализа фрамицетин содержащих препаратов.

Методы исследования. В ходе проведения научно-исследовательской работы использованы спектрофотометрические и хроматографические (ВЭЖХ) методы анализа. В процессе пробоподготовки для проведения анализа использовался метод дериватизации. В соответствии с рекомендациями ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology использованы валидационные параметры для аналитической процедуры такие как, точность, правильность, специфичность, линейность и воспроизводимость.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые разработан доступный и простой в исполнении метод спектрофотометрии для подтверждения подлинности и определения количественного содержания фрамицетина в составе лекарственных препаратов;

оптимизирован метод высокоэффективной жидкостной хроматографии для идентификации и количественной оценки фрамицетина сульфата в составе лекарственных препаратов с использованием деривата;

проведены исследования по установлению фармакопейных показателей качества лекарственных препаратов «Фрамидекс» капли глазные и ушные и «Фрадекс» спрей назальный, а также допустимые их пределы, и на основании проведенных исследований составлена спецификация, на вышеуказанные препараты;

разработана нормативная документация фармакопейная статья предприятия (ФСП), используемая при контроле качества препаратов «Фрамидекс» капли глазные и ушные и «Фрадекс» спрей назальный, на предприятии ООО «ASEPTICA»;

созданы аналитические методы определения количественного содержания фрамицетина сульфата в лекарственных средствах методами спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Практические результаты исследования заключаются в следующем:

разработаны методики стандартизации препаратов глазных и ушных капель «Фрамидекс» и назального спрея «Фрамекс» в соответствии с требованиями международных стандартов, определены основные валидационные показатели рекомендуемых методов спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии;

разработанные методики внедрены в процесс производства фрамицетин содержащих лекарственных средств, согласно новой разработанной нормативной документации на предприятии ООО «ASEPTICA», Фармакопейным комитетом при Агентстве по развитию фармацевтической отрасли Министерства здравоохранения Республики Узбекистан созданы показатели качества и получены регистрационные удостоверения для изучаемых объектов;

налажено серийное производство изучаемых объектов генериков «Фрамидекс» капли глазные и ушные и «Фрамекс» спрей назальный.

Достоверность результатов исследования обосновывается тем, что проведенные физико-химические, фармакологические анализы обработаны с использованием современных компьютерных технологий. Все полученные в ходе исследования данные подтверждены современными статистическими, математическими методами анализа. Результаты лабораторных исследований испытаны на практике и в промышленных условиях.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования заключается в том, что требования и критерии контроля качества при производстве глазных и ушных капель и назальных спреев приведены в соответствие с международными стандартами, доказательством которого является разработка спектрофотометрических и хроматографических методов анализа, а также их валидация по параметрам специфичности, прецизионности, линейности, сходимости и правильности.

Практическая значимость результатов исследования заключается во внедрении в процесс производства на предприятии ООО «ASEPTICA» разработанных методик спектрофотометрического и ВЭЖХ, получение регистрационных удостоверений на изучаемые объекты со стороны ГЦЭЛС ИМН и МТ при МЗ РУз, а также налаживание серийного производства изученных препаратов глазных и ушных капель «Фрамидекс», а также назальных спреев «Фрамидекс» имеет социально-экономическое значение и служит заменой импортным препаратам.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных научных результатов по контролю качества, стандартизации и определению их свойств лекарственных средств, содержащих фрамицетин:

«Фрамекс» спрей назальный 1,25 % разрешен для применения в медицине со стороны ГЦЭЛС ИМН и МТ при МЗ РУз (ФСП 42 Уз-26491354-3810-2020). В результате, созданный на основе проведенных исследований, метод дал возможность контролировать промежуточное и конечное качество фрамицетина сульфата в составе лекарств;

«Фрамидекс» капли глазные и ушные разрешен для применения в медицине со стороны ГЦЭЛС ИМН и МТ при МЗ РУз (ФСП 42 Уз-26491354-3457-2018). В результате разработанные методы дали возможность контролировать содержание фрамицетина сульфата в лекарственных средствах.

Апробация результатов исследования. Результаты исследования были доложены и обсуждены на 6 научно-практических конференциях, в том числе на 3 международных и 3 республиканских.

Опубликованность результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 11 научных работ, из них 4 научных статей в научных изданиях, рекомендованных ВАК Республики Узбекистан для опубликования основных научных результатов диссертаций, в частности 3 статей в республиканских и 1 статьи в зарубежных журналах.

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

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Во введении обоснованы актуальность и значимость диссертационной работы, степень изученности проблемы, определено соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики, определены цели и задачи исследования, объекты и предметы исследования, изложены научная новизна и практические результаты исследования, а также приведены сведения о внедрении результатов исследования в практику, опубликованным работам и структуре диссертации.

В первой главе диссертации «**Аналитические методы определения аминокликозидов**», на основе анализа литературных данных изучены аналитические аспекты определения аминокликозидов, номенклатура, структура и свойства фрамецитина сульфата. Проведен фармакопейный анализ и подбор методов для определения количественного содержания действующих веществ в лекарственных препаратах. Описаны существующие и разрабатываемые нами методы анализа (спектрометрия в УФ и видимой областях спектра, ВЭЖХ, качественные реакции на аминокликозиды), а также аналитические методики, подлежащие валидации, валидационные характеристики и требования. Анализ литературных данных показал, что разработка новых методов анализа фрамицетин содержащих препаратов, а также внедрение их в практику значительно ускорит процесс проведения анализа и повысит достоверность получаемых результатов анализа.

Во второй главе диссертационной работы «**Материалы, методы и объекты исследования**» представлены: перечень стандартных фармакопейных образцов; субстанции, используемые в процессе приготовления лекарственных препаратов; изучаемые лекарственные препараты; оборудование для проведения химического и фармацевтического анализа.

В третьей главе «Анализ фрамицетина сульфата методом спектрофотометрии», представлены результаты проведенного исследования по анализу фрамицетина сульфата методом спектрофотометрии, который дает возможность проводить анализ по разделам «подлинность» и «количественное определение», а в ряде случаев может использоваться и для анализа чистоты по поглощению при определенных длинах волн.

Проведенные спектральные эксперименты показали, что фрамицетин не обладает способностью к светопоглощению в ультрафиолетовой и видимой областях. Наличие аминогрупп в структуре фрамицетина, дают цветную реакцию с раствором нингидрина (рис. 1). Это позволяет изучить спектры поглощения полученного цветного раствора в видимой области.

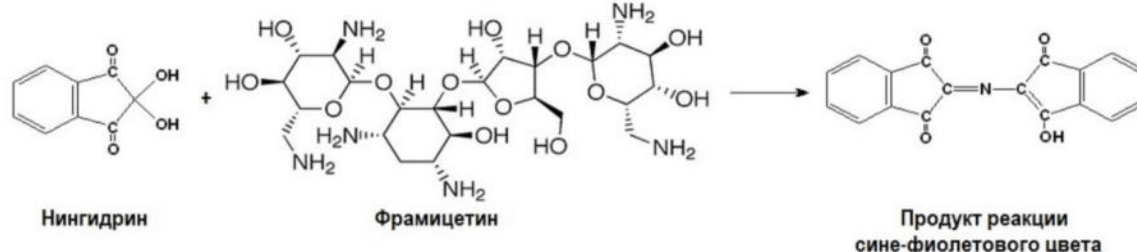


Рис. 1. Цветная реакция нингидрина с фрамицетином

Предварительные спектральные исследования стандартного образца фрамицетина сульфата и испытуемого раствора лекарственного препарата, приготовленного по ФСП 42 Уз-26491354-3810-2020 показали, что фрамицетин в диапазоне волн от 200 нм до 700 нм имеет максимумы поглощения при длине волны 252 нм (3), 401 нм (2), 564 нм (1).

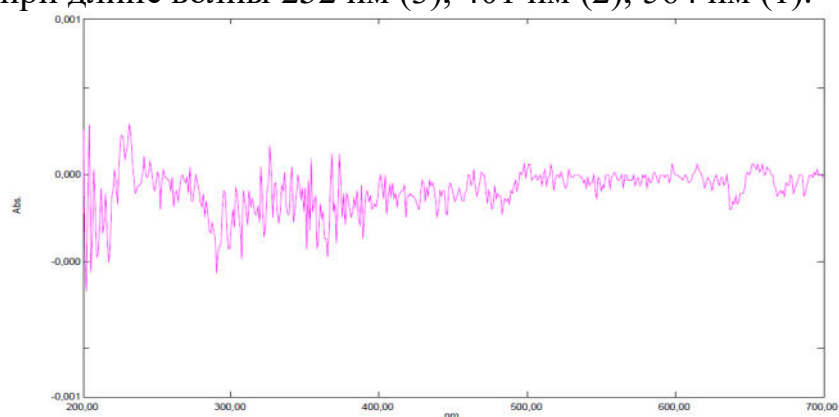


Рис. 2. Спектр поглощения раствора бланк

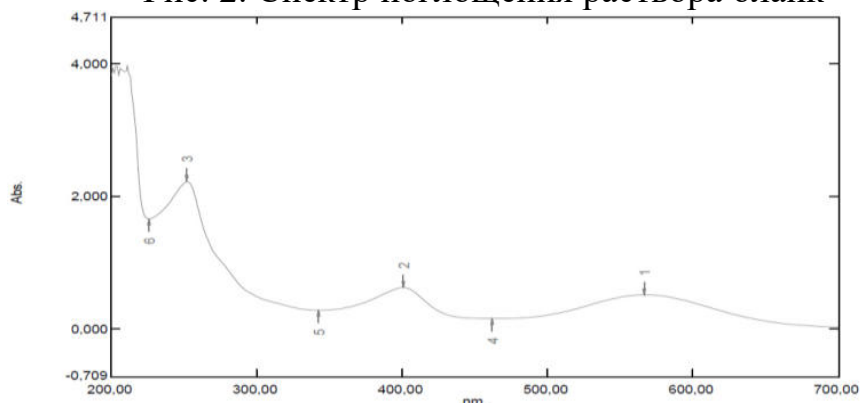


Рис. 3. Спектр поглощения РСО фрамицетина сульфата (C=0,50 мг/мл)

Спектры поглощения раствора бланк, РСО фрамицетина сульфата и испытуемого раствора представлены на рисунках 2-4.

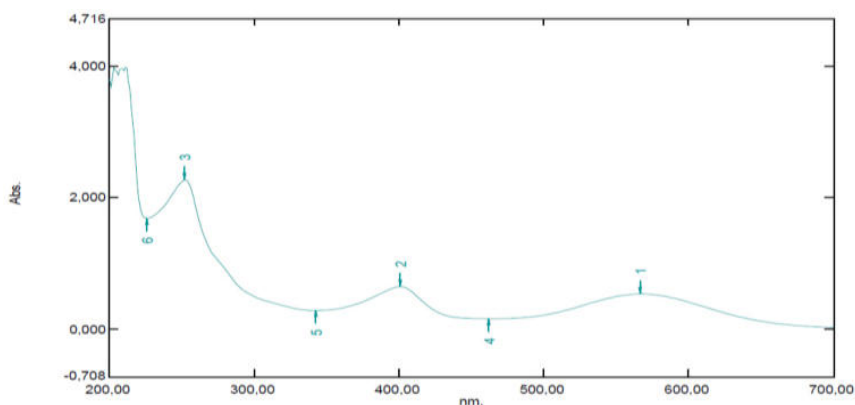


Рис. 4. Спектр поглощения испытуемого раствора (C=0,50 мг/мл)

Из рисунков 2-4 видно, что при оптимизированных условиях значения максимумов РСО и испытуемых растворов идентичны. Разработанная методика указывает на то, что условия подготовки образцов и измерения спектров для определения количественного содержания фрамицетина сульфата специфичны.

В ходе проведенного исследования было выявлено, что наличие аминогрупп в структуре фрамицетина сульфата, дают цветную реакцию с раствором нингидрина, это позволило изучать спектры поглощения полученного цветного раствора в видимой области, а также было установлено что фрамицетина сульфат в диапазоне волн от 200 нм до 700 нм имеет максимумы поглощения при длинах волн 252 нм, 401 нм, 564 нм.

В четвертой главе диссертации «**Анализ фрамицетина сульфата методом ВЭЖХ**», описано проведенное исследование по разработке унифицированной методики определения фрамицетина сульфата в составе лекарственных препаратов с использованием метода ВЭЖХ.

В ходе разработки методики проводили подбор подвижной фазы, исходя из величины разрешения пиков для разбавленных растворов и литературных данных о разрешении пиков фрамицетина сульфата в ацетонитриле и буферным раствором трис (гидроксиметил) аминметана. Хроматографирование растворов проводили в оптимизированных условиях, приведенных в работе. Полученные хроматограммы подтверждают, что условия хроматографирования оптимизированы, пик фрамицетина сульфата разделен от пиков других компонентов препарата.

Хроматограммы раствора холостого опыта, РСО фрамицетина сульфата и испытуемого раствора представлены на рисунках 5-7.

Пик, полученный на хроматограмме от 1,5 до 5,0 минуты, считается пиком 2,4-динитрофторбензола. Так как, холостой опыт содержит около 20 % 2,4-динитрофторбензола. Пик 2,4-динитрофторбензола выходит за пределы хроматограммы, так как, его концентрация в контрольном опыте высокая.

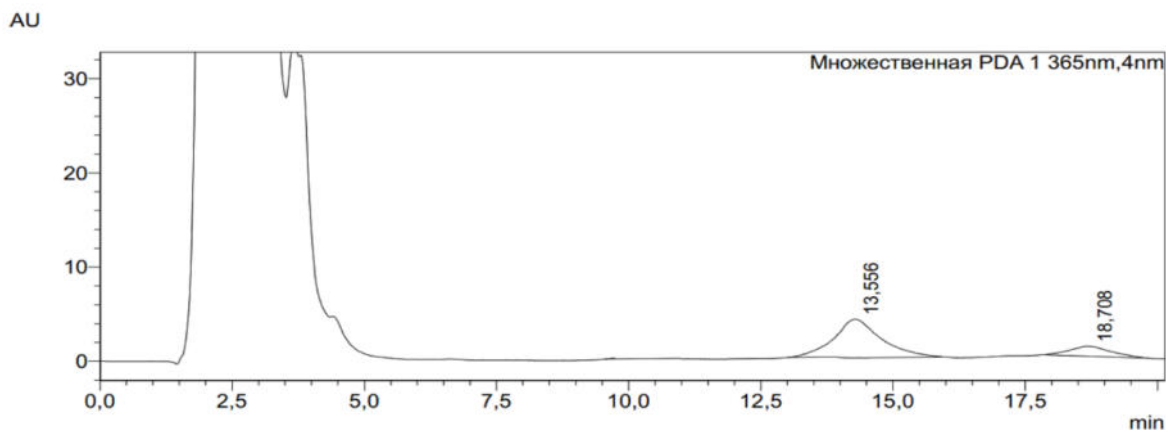


Рис. 5. Хроматограмма раствора холостого опыта

Так же на рисунке 5 видно, что растворители и реактивы, используемые для подготовки пробы, не искажают результат хроматографирования в интервале времени от 6,0 до 20,0 минут.

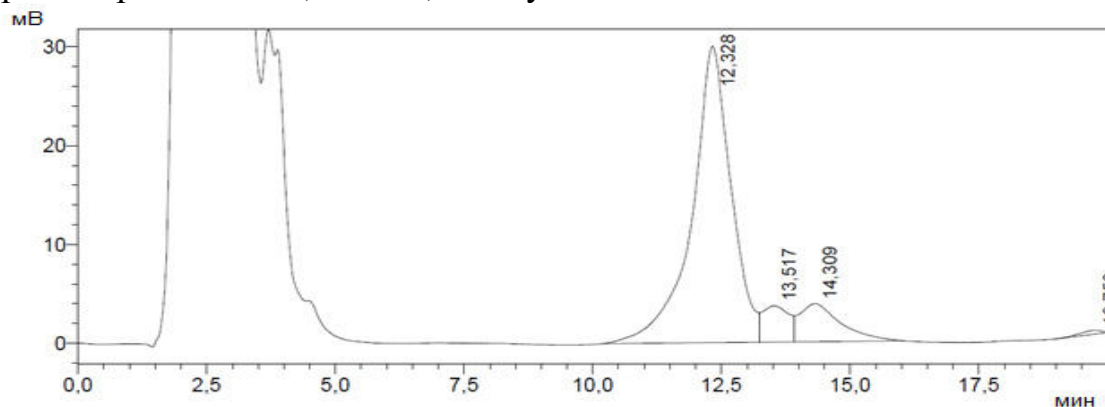


Рис. 6. Хроматограмма РСО фрамицетина сульфата

В ходе дальнейшего проведения эксперимента была получена хроматограмма, на которой время удерживания пика фрамицетина составляет 12,328 мин.

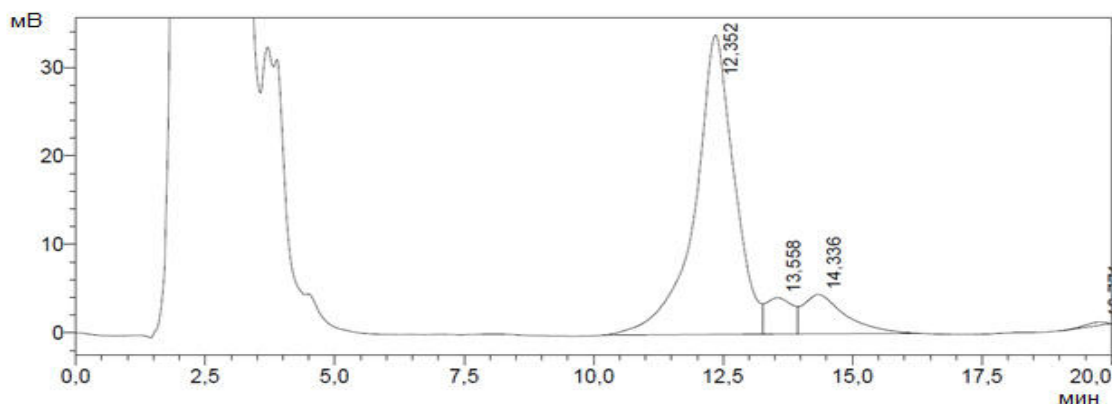


Рис. 7. Хроматограмма испытуемого раствора

При хроматографировании испытуемого раствора препарата «Фрамидекс» время удерживания пика фрамицетина составляет 12,352 мин. Из рисунков 6-7 видно, что при выбранных условиях хроматографирования, значения времени удерживания пиков РСО и испытуемых растворов идентичны. Разработанная методика указывает на то, что условия для

определения количественного содержания фрамицетина сульфата в лекарственном препарате специфичны.

Пятая глава диссертации посвящена **«Совершенствованию методов контроля качества фрамицетин содержащих препаратов»**.

Подбор наиболее оптимальных, простых, доступных, экспрессных методов определения действующих веществ в комбинированных препаратах является актуальным на сегодняшний день. Разработанные нами методики могут применяться не только при производстве ЛС, а также при проведении входного контроля для оценки качества субстанции и выявления фальсифицированных ЛС.

В результате проведенных исследований, апробирована и оптимизирована методика качественной и количественной оценки фрамицетина сульфата в препарате «Фрамидекс» капли глазные и ушные методом ВЭЖХ, с использованием дериватизирующего агента 2,4-динитрофторбензола.

Также были проведены исследования по установлению следующих фармакопейных показателей качества лекарственного препарата «Фрамидекс» и допустимые их пределы: описание, подлинность, прозрачность, цветность, рН, механические включения, объем заполнения флаконов, стерильность и количественное определение.

Результаты проведенных исследований на трех сериях показали соответствие лекарственного препарата установленным требованиям.

В результате проведенных исследований разработана нормативная документация, ФСП 42 Уз-26491354-3457-2018, дата введения 12.09.2018 г, используемая при контроле качества препарата «Фрамидекс» на предприятии ООО «ASEPTICA».

Проведено исследование по разработке состава и методов контроля качества лекарственного препарата «Фрамекс», спрей для носа, апробирована и оптимизирована методика качественной и количественной оценки фрамицетина сульфата в препарате методом спектрофотометрии. Проведены исследования по установлению следующих фармакопейных показателей качества лекарственного препарата «Фрамекс» и допустимые их пределы: описание, подлинность, прозрачность, цветность, рН, механические включения, объем заполнения флаконов, количественное определение и микробиологическая чистота.

Результаты проведенных исследований на трех сериях показали соответствие лекарственного препарата установленным требованиям.

В результате проведенных исследований разработана нормативная документация, ФСП 42 Уз-26491354-3810-2020, дата введения 17.01.2020 г, используемая при контроле качества препарата «Фрамекс» на предприятии ООО «ASEPTICA».

Также на основании проведенных исследований и методов анализа, описанных в Европейской фармакопее, была составлена спецификация для проведения оценки качества фрамицетина сульфата (таблица 1).

Спецификация на субстанцию фрамицетина сульфат

Фрамицетина сульфат			
№	Наименование показателя	Спецификация	Метод
12.	Описание	Белый или желтовато-белый порошок, гигроскопичен	Евр. Ф.
13.	Растворимость	Легкорастворим в воде, очень мало растворим в 96 % спирте, практически нерастворим в ацетоне	Евр. Ф.
14.	Подлинность	А. Спектр поглощения испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения, в области от 500 до 700 нм должен соответствовать спектру раствора РСО фрамицетина сульфата и иметь максимумы при длине волны 564 ± 5 нм В. Испытуемый образец дает реакцию (а) на сульфаты	Евр. Ф.
15.	рН	От 6,0 до 7,0	Евр. Ф.
16.	Удельное оптическое вращение	От +52,5 до +55,5	Евр. Ф.
17.	Сопутствующие примеси (ВЭЖХ)	Примесь А. Не более 1 % Примесь С. Не более 3 % Сумма других примесей (не более 3,0 %)	Евр. Ф.
18.	Сульфаты	Не менее 27,0 % и не более 31,0 %	Евр. Ф.
19.	Потеря в массе при высушивании	Не более 8,0 %	Евр. Ф.
20.	Сульфатная зола	Не более 1,0 %	Евр. Ф.
21.	Микробиологическая чистота	В 1 г аэробных бактерий и грибов суммарно не более 10^2 . При отсут. сем. Enterobacteriaceae, Pseudomonas aeruginosa. Staphylococcus aureus.	ГФ XI
22.	Количественное определение	Не менее 630 МЕ/мг в пересчете на сухое вещество (СФ)	Стандарт предприятия

В результате проведенных исследований составлена и внедрена спецификация № СУБ/025/19, дата введения 10.01.2019 г., используемая при входном контроле субстанции фрамицетина сульфата на предприятии ООО «ASEPTICA».

Для достоверности разработанных методов анализа по качественному и количественному определению фрамицетина сульфата в лекарственных препаратах нами были проведены исследования сравнительного анализа ниже указанных воспроизводимых лекарственных средств с оригинальными препаратами:

- «Фрамидекс» капли глазные и ушные, ООО «ASEPTICA», Республика Узбекистан;

- «Софрадекс» капли глазные и ушные, Санофи Индия Лимитед, Индия;

- «Фрамекс» спрей назальный 1,25 %, ООО «ASEPTICA», Республика Узбекистан;

- «Изофра» спрей назальный 1,25 %, Лаборатории Бушара-Рекордати, Франция.

Результаты анализов, полученные в ходе проведения эксперимента, сравнивали согласно разработанных методик по показателям описание, подлинность, рН раствора, количественное содержание. Полученные нами данные указаны в таблице 2.

Таблица 2

Сравнительный анализ препаратов «Изофра» и «Фрамекс»

Показатели	Норма	Препараты	
		Изофра	Фрамекс
Описание	Прозрачный раствор, от бесцветного до бледно-желтого цвета	Прозрачный бесцветный раствор	Прозрачный бесцветный раствор
Подлинность	Спектр поглощения испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения, в области от 500 до 700 нм должен соответствовать спектру раствора РСО фрамицетина сульфата и иметь максимумы при длине волны 564 ± 5 нм	Спектр поглощения испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения, в области от 500 до 700 нм соответствуют спектру раствора РСО фрамицетина сульфата и имеет максимумы при длине волны 565 нм	Спектр поглощения испытуемого раствора, приготовленного для количественного определения, в области от 500 до 700 нм соответствуют спектру раствора РСО фрамицетина сульфата и имеет максимумы при длине волны 564 нм
рН раствора	От 5,0 до 6,0	5,61	5,57
Микробиологический метод	От 7200 до 8800 МЕ/мл	8054 МЕ/мл	8031 МЕ/мл
Спектрофотометрический метод		8019 МЕ/мл	8025 МЕ/мл

Данные, указанные в таблице 4, показывают, что разработанная нами методика по спектрофотометрии при сравнении результатов анализа по всем основным показателям соответствуют требованиям нормативной документации. Полученные результаты незначительно отличаются друг от друга, это доказывает, что данный метод определения содержания фрамицетина сульфата в составе лекарственных препаратов является достоверным.

Таблица 3

Сравнительный анализ препаратов “Софрадекс” и “Фрамидекс”

Показатели	Норма	Препараты	
		Софрадекс	Фрамидекс
Описание	Прозрачный или слегка опалесцирующий раствор от бесцветного до слегка желтоватого цвета с характерным запахом фенилэтилового спирта	Прозрачный бесцветный раствор, с характерным запахом фенилэтилового спирта	Прозрачный бесцветный раствор, с характерным запахом фенилэтилового спирта
Подлинность	Появление фиолетового окрашивания при добавлении нингидринового реагента	Появилось фиолетовое окрашивание при добавлении нингидринового реагента	Появилось фиолетовое окрашивание при добавлении нингидринового реагента
рН раствора	От 4,0 до 6,0	5,12	5,04
Микробиологический метод	от 4,5 до 6,0 мг/мл	5,55 мг/мл	5,63 мг/мл
ВЭЖХ		5,19 мг/мл	5,06 мг/мл
Количественное определение грамицидина (ВЭЖХ)	от 0,045 до 0,060 мг/мл	0,052 мг/мл	0,053 мг/мл

Полученные нами в ходе сравнения результаты анализа (таблица 3), обосновывают то, что разработанная нами ВЭЖХ методика по определению содержания действующего вещества соответствует требованиям НД. Результаты, полученные в ходе анализа при сравнении препаратов практически одинаковы, это доказывает, что данный хроматографический метод достоверен.

Шестая глава диссертации посвящена **«Валидации аналитических методик по определению количественного содержания фрамицетина сульфата»**, где проведены исследования по разработке УФ-спектрофотометрических и ВЭЖХ методик количественного определения фрамицетина сульфата и валидация разработанных методик с использованием предложенных в работе подходов к процедуре определения и оценке приемлемости линейности, правильности и сходимости применяемых методик для количественного определения фрамицетина сульфата в лекарственных препаратах.

В процессе проведения валидации аналитических методик, испытания проводятся по следующим параметрам валидации, к которым подбираются определенные критерии приемлемости:

Специфичность метода определяется путем сравнения значений действующего вещества при анализе растворителя, действующего вещества и лекарственного препарата.

Линейность метода определяется на не менее 5 разных разведениях исследуемого раствора в диапазоне применения как минимум 80 – 120% концентрации анализируемого вещества в исследуемом растворе. 2 раствора с концентрацией действующего вещества 80%, 2 раствора с концентрацией действующего вещества 90%, 2 раствора с концентрацией действующего вещества 100%, 2 раствора с концентрацией действующего вещества 110% и 2 раствора с концентрацией действующего вещества 120%.

По полученным данным строится зависимость оптической плотности от концентрации фрамицетина сульфата в растворе. В программе также строится линия тренда и определяется уравнение регрессии. Статистическая обработка полученных результатов показала, что для доверительной вероятности 95% и $n-1=9$, $t_{кр}=2,262$.

Сходимость определяется при помощи испытаний не менее 6 подготовленных проб при 100% концентрации действующего вещества в исследуемом растворе.

В правильности метода определяется отклик действующего вещества в плацебо. Концентрация плацебо составляет 100% навески, указанной в методике контроля. Действующее вещество добавляется в модельную смесь в соответствии с требуемым уровнем концентрации (нижняя граница – макс. 80, 100%; верхняя граница – мин. 120%).

Готовились и проводились измерения растворов препарата с концентрацией действующего вещества в интервале от 80 до 120%: 3 раствора с концентрацией действующего вещества 80%, 3 раствора с концентрацией действующего вещества 90%, 3 раствора с концентрацией действующего вещества 100%, 3 раствора с концентрацией действующего вещества 110% и 3 раствора с концентрацией действующего вещества 120%. Статистическая обработка полученных результатов показала $P=95\%$ и $n-1=14$, $t_{кр}=2,144$. Условия проведения испытаний: температура в помещении должна быть не выше 25⁰С, влажность не более 65%.

Все расчеты производили в программе Microsoft Office Excel.

Данные, полученные при проведении валидации аналитических методик спектрофотометрическим методом лекарственного препарата «Фрамекс», спрей назальный, приведены в таблице 4. В качестве раствора сравнения использовали бланк.

Таблица 4

Результаты валидации спектрофотометрического метода количественного определения фрамицетина сульфата в составе лекарственного препарата «Фрамекс»

Параметры валидации	Критерии приемлемости	Результаты
Специфичность	Растворители и реактивы, используемые для подготовки пробы, компоненты плацебо не искажают результат	Соответствует
Линейность	Коэффициент корреляции $\geq 0,99$	0,9998
Сходимость	Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 1)	0,0112

продолжение таблицы 4

1	2	3
Промежуточная прецизионность	Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 2); $F(5\%,5,5) \leq 5,05$; $t(5\%,10) \leq 2,228$	КВ = 0,0113%; $F(5\%,5,5) = 1,00$; $T(5\%,10) = 1,43$.
Правильность	Фактор отклика: среднее значение 97,5 – 102,5%. Коэффициент вариации $\leq 2,0\%$. Доверительный диапазон должен включать 100% значений	Сред. знач.: 100,76% Коэф. вариации 0,3761% Доверительный диапазон включает 100%

Данные, полученные при проведении валидации аналитических методик методом ВЭЖХ, лекарственного препарата «Фрамидекс», капли глазные и ушные, приведены в таблице 5. В качестве раствора сравнения использовали бланк.

Таблица 5

Результаты валидации метода ВЭЖХ количественного определения фрамицетина сульфата в составе лекарственного препарата «Фрамидекс»

Параметры валидации	Критерии приемлемости	Результаты
Специфичность	Растворители и реактивы, используемые для подготовки пробы, компоненты плацебо не искажают результат	Соответствует
Линейность	Коэффициент корреляции $\geq 0,99$	0,9995
Сходимость	Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 1)	0,4054
Промежуточная прецизионность	Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 2); $F(5\%,5,5) \leq 5,05$; $t(5\%,10) \leq 2,228$	КВ = 0,4442%; $F(5\%,5,5) = 1,1833$; $T(5\%,10) = 0,2137$.
Правильность	Фактор отклика: среднее значение 97,5 – 102,5%. Коэффициент вариации $\leq 2,0\%$. Доверительный диапазон должен включать 100% значений	Сред. знач.: 100,14% Коэф. вариации 0,6675% Доверительный диапазон включает 100%

Результаты проведенного исследования, отраженные в таблицах 4-5, свидетельствуют о том, что методы, указанные в НД, являются достоверными – это подтверждают результаты, полученные в процессе валидации. Все измеряемые параметры: специфичность, линейность, сходимость, правильность соответствуют критериям приемлемости.

После проведения валидации определения количественного содержания действующих веществ в лекарственных препаратах, был проведен сравнительный анализ методов, ранее описанных в фармакопее с методом, разработанным нами. Составлена общая таблица полученных данных (таблицы 6-7), в которой отражены обобщенные результаты.

Таблица 6

Сравнение результатов, полученных при проведении валидации спектрофотометрического и микробиологического методов определения количественного содержания фрамицетина в составе лекарственного препарата «Фрамекс»

Параметры валидации	Критерии приемлемости	Методы	
		СФ	Микробиологический метод
Специфичность	Растворители и реактивы, используемые для подготовки пробы, компоненты плацебо не искажают результат	Соответствует	Соответствует
Линейность	Коэффициент корреляции $\geq 0,99$	0,9998	0,9905
Сходимость	Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 1)	0,0112	1,4813
Промежуточная прецизионность	Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 2); $F(5\%, 5, 5) \leq 5,05$; $t_{кр}(5\%, 10) \leq 2,228$	КВ = 0,0113%; $F(5\%, 5, 5) = 1,00$; $T(5\%, 10) = 1,43$.	КВ = 1,4157; $F(5\%, 5, 5) = 4,5563$; $T(5\%, 10) = 1,9671$
Правильность	Фактор отклика: среднее значение 97,5 – 102,5%. Коэффициент вариации $\leq 2,0\%$. Доверительный диапазон должен включать 100% значений	Сред. знач.: 100,76% Коэф. вариации 0,3761% Доверительный диапазон включает 100%	Сред. знач.: 97,69% Коэф. вариации 1,94%

В результате проведенного нами сравнительного анализа было выявлено, что данные, полученные при использовании спектрофотометрического метода, соответствуют по всем параметрам валидации и являются наиболее достоверными, по сравнению с данными, полученными микробиологическим методом.

Таблица 7

Сравнение результатов, полученных при проведении валидации ВЭЖХ и микробиологического методов определения количественного содержания фрамицетина в составе лекарственного препарата «Фрамидекс»

Параметры валидации	Критерии приемлемости	Методы	
		ВЭЖХ	Микробиологический метод
Специфичность	Растворители и реактивы, используемые для подготовки пробы, компоненты плацебо не искажают результат	Соответствует	Соответствует
Линейность	Коэффициент корреляции $\geq 0,99$	0,9995	0,9908
Сходимость	Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 1)	0,4054	1,256
1	2	3	4

Промежуточная прецизионность	Коэффициент вариации $\leq 1,5\%$ ($n \geq 6$, серия 2); $F(5\%, 5, 5) \leq 5,05$; $t_{кр}(5\%, 10) \leq 2,228$	КВ = 0,4442%; $F(5\%, 5, 5) = 1,1833$; $T(5\%, 10) = 0,2137$.	КВ = 1,3861; $F(5\%, 5, 5) = 4,1725$; $T(5\%, 10) = 1,8219$
Правильность	Фактор отклика: среднее значение 97,5 – 102,5%. Коэффициент вариации $\leq 2,0\%$. Доверительный диапазон должен включать 100% значений	Сред. знач.: 100,14% Коэф. вариации 0,6675% Доверительный диапазон включает 100%	Сред. знач.: 99,87% Коэф. вариации 1,86%

В результате проведенного сравнительного анализа ВЭЖХ и микробиологического методов, было выявлено, что данные полученные при использовании ВЭЖХ метода, соответствуют по всем параметрам валидации и являются наиболее достоверными, по сравнению с данными, полученными микробиологическим методом.

ВЫВОДЫ

1. Впервые разработан доступный и простой в исполнении метод спектрофотометрии для подтверждения подлинности и определения количественного содержания фрамицетина в составе лекарственных препаратов;

2. Оптимизирован метод спектрофотометрии и высокоэффективной жидкостной хроматографии для идентификации и количественной оценки фрамицетина сульфата в составе лекарственных препаратов с использованием деривата. Выявлено, что фрамицетин сульфат в диапазоне волн от 200 нм до 700 нм имеет максимумы поглощения при длинах волн 252 нм, 401 нм, 564 нм.

3. На основании установления фармакопейных показателей качества лекарственных препаратов «Фрамидекс» капли глазные и ушные и «Фрадекс» спрей назальный, а также допустимых их пределов составлена спецификация на вышеуказанные препараты;

4. Разработана нормативная документация ФСП, используемая при контроле качества препарата «Фрамидекс» капли глазные и ушные, «Фрадекс» спрей назальный на предприятии ООО «ASEPTICA»;

5. В результате сравнения и валидации, полученные спектрофотометрическим и ВЭЖХ аналитическими методами, результаты при определении сульфата фрамицетина в препаратах «Софрадекс» и «Фрамидекс» объяснялись большей надежностью разработанных ВЭЖХ и спектрофотометрических методов по сравнению с микробиологическим методом.

6. В результате проведенных исследований был разработан и рекомендован для практического применения на предприятии «ASEPTICA» ряд нормативных документов, используемых при контроле качества лекарственных средств и сырья.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREES
DSc.03/30.12.2019.K.01.03 AT THE NATIONAL
UNIVERSITY OF UZBEKISTAN**

NATIONAL UNIVERSITY OF UZBEKISTAN

GAPPAROV DILSHODBEK DAVRONBEKOVICH

**DEVELOPMENT AND VALIDATION OF ANALYTICAL METHODS FOR
THE DETERMINATION OF FRAMYCETIN SULFATE IN THE
COMPOSITION OF MEDICINAL PREPARATIONS**

02.00.02 – Analytical chemistry

**DISSERTATION ABSTRACT OF THE DOCTOR
OF PHILOSOPHY (PhD) ON CHEMICAL SCIENCES**

Ташкент – 2021

The theme of dissertation doctor of philosophy (PhD) was registered in the Supreme Attestation Commission at the Cabinet of Ministers of the Republic of Uzbekistan under number B2019.2.PHD/K180

The dissertation has been carried out at the National university of Uzbekistan.

The abstract of dissertation in three languages (Uzbek, Russian, English (resume)) is available online www.samdu.uz Scientific Council and on the website «ZiyoNet» information-education portal (www.ziynet.uz).

Scientific supervisor: Smanova Zulayxo
Doctor of chemical sciences, professor

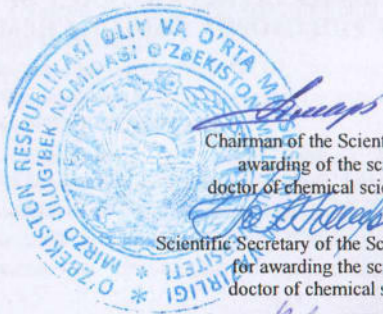
Official opponents: Abduraxmanov Ergashboy
Doctor of chemical sciences, professor
Fatxullayeva Muyassar
Candidate of chemical sciences, docent

Leading organization: Institute of General and Inorganic Chemistry

The defense dissertation will take place on « 11 » 11 2021 at « 15⁰⁰ » o'clock at the meeting of the Scientific Council on awarding scientific degrees of DSc.03/30.12.2019.K.01.03. at the National University of Uzbekistan (address: 100174, Tashkent, Universitetskaya st., 4. Tel.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; fax: (+99871) 246-53-21; e-mail: chem0102@mail.ru.

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of the National University of Uzbekistan (registration number 98) at the address: 100174, Tashkent, st. Universitetskaya, 4. Tel.: (+99871) 246-07-88; (+99871) 227-12-24; fax: (+99871) 246-53-21.

The abstract of the dissertation has been distributed on « 27 » 10 2021 y.
Protocol at the register № 13 dated « 27 » 10 2021 y.



H.T.Sharipov
Chairman of the Scientific Council for
awarding of the scientific degrees,
doctor of chemical sciences, professor

D.A.Gafurova
Scientific Secretary of the Scientific Council
for awarding the scientific degrees,
doctor of chemical sciences, docent

N.H.Qutlimuratova
Chairman of the Scientific Seminar under Scientific
Council for awarding the scientific degrees,
doctor of chemical sciences

INTRODUCTION (abstract of PhD thesis)

The aim of the research work is to develop, validation and introduce new methods for the analysis of the quantitative content of framycetin sulfate in medicinal products.

The objects of research are the drugs "Framidex", eye and ear drops and "Framex", nasal spray.

The scientific novelty of the research is as follows:

for the first time, an accessible and easy-to-use spectrophotometric method was developed to confirm the authenticity and determine the quantitative content of framycetin in the composition of drugs;

optimized HPLC method for identification and quantification of framycetin sulfate in drugs using a derivative;

studies were carried out to establish the pharmacopoeial indicators of the quality of the drug "Framidex" eye and ear drops, as well as their permissible limits, and on the basis of the studies carried out, a specification was drawn up for the above drug;

developed normative documentation used for quality control of the drug "Framidex" eye and ear drops, at the enterprise LLC "ASEPTICA";

studies were carried out to establish the pharmacopoeial parameters of the quality of the drug "Framex" nasal spray, as well as their permissible limits, and on the basis of the studies carried out, a specification was drawn up for the above drug;

developed normative documentation used for quality control of the drug "Framex" nasal spray, at the enterprise LLC "ASEPTICA";

analytical methods for determining the quantitative content of framycetin sulfate in drugs by spectrophotometry and HPLC were validated.

Implementation of research results. The results of the research carried out were introduced into domestic production at the company "ASEPTICA" LLC. The developed and validated methods of quality control of framycetin-containing drugs have been introduced into the production process of the enterprise and are successfully used in the input, intermediate and final quality control of drugs.

The results of the dissertational study were introduced into domestic production at the LLC "ASEPTICA", for the drug "Framex" nasal spray 1.25% under the registration number FSP 42 Uz-26491354-3810-2020.

The results of the study were introduced into domestic production at the enterprise LLC "ASEPTICA", for the drug "Framidex" eye and ear drops under the registration number FSP 42 Uz-26491354-3457-2018.

Aprobation of investigation results. Results of investigation have been discussed on 6 conferences including 3 international and 3 republical.

The structure and volume of dissertation. Dissertation consists from introduction, 6 chapters, conclusions, list used literature and appendix. Dissertation is presented on 114 pages.

ЭЪЛОН ҚИЛИНГАН ИШЛАРИ РЎЙХАТИ
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS

I бўлим (I часть; part 1)

1. Гаппаров Д.Д., Сманова З.А. Валидация методики количественного определения фрамицетина сульфата методом ВЭЖХ // Фармацевтический журнал №4, 2019, С.52-57. (02.00.00, №2).
2. Gapparov D.D., Smanova Z.A. Development of spectrophotometric method for analysis of framycetine sulphate in a medicinal product and its validation// Indian Journal of Forensic Medicine & Toxicology, October-December 2020, Vol. 14, No. 4, С. 7922-7928. (Scopus, IF=0,25).
3. Гаппаров Д.Д. Сманова З.А., Исакулов Ф.Б. Разработка и валидация спектрофотометрической методики анализа фрамицетина сульфата в лекарственном средстве // Научный вестник НамДУ, №3. 2020, С.109-118. (02.00.00., №18).
4. Гаппаров Д.Д., Сманова З.А. «Оценка качества лекарственного препарата «Фрамекс», спрей назальный» //Фармацевтический вестник Узбекистана № 3, 2020. С.73-78. (02.00.00, №2).

II бўлим (II часть; II part)

5. Гаппаров Д.Д., Сманова З.А., Тимченко Ю.В., Пирогова А.В. Валидация методики определения сульфата фрамицетина в лекарственном препарате «Фрамидекс» методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Заводская лаборатория. Диагностика материалов, 2020. Том 86. №6. С.73-78.
6. Гаппаров Д.Д., Гаппаров Ж.Д. Разработка и валидация методики количественного определения грамицидина методом ВЭЖХ // Сборник материалов научно-практической конференции «Вклад Абу али Ибн Сино в развитие фармации и актуальные проблемы современной фармацевтики», Ташкент, 2018. С.89-92.
7. Гаппаров Д.Д. Разработка методики количественного определения грамицидина методом ВЭЖХ //Стратегия развития современной науки, Сборник научных статей, Москва, 2019. С.124-127.
8. Гаппаров Д.Д. Фрамицетин сульфат микдорини аниқлашнинг хроматографик усулини ишлаб чиқиш ва уни валидация қилиш // Научно-практическая конференция «Кимёнинг долзарб муаммолари», Ташкент, 2019. С.93.
9. Gapparov D.D., Smanova Z.A. Validation of spectrophotometric methods for determination of framycetin sulfate in medicinal preparations // International Conference problems and solutions of advanced scientific research, 13.05.2019, P. 256-261.
10. Gapparov D.D. Quantitative determination of framycetine sulphate content in the medicine using HPLC method // Mendeleev 2019 XI International Conference on chemistry for young scientists, September 9-13, 2019. P. 457.
11. Гаппаров Д.Д. Дори воситаси таркибидаги фрамицетин сульфат микдорини аниқлашнинг спектрофотометрик усулини ишлаб чиқиш// «Tadqiqot.uz» Республика илмий 3-онлайн конференцияси материаллари, №2, 2019, 153 б.

Автореферат «ЎзМУ хабарлари» журнали
тахририятида таҳрирдан ўтказилди

Босишга рухсат этилди: 26.10.2021 йил.
Бичими 70x84 ¹/₁₆, «Times New Roman»
гарнитурда рақамли босма усулида босилди.
Шартли босма табағи: 2,6. Адади 100. Буюртма № 189.
Тел (99) 832 99 79; (97) 815 44 54.
Гувоҳнома reestr № 10-3279
“IMPRESS MEDIA” МЧЖ босмаҳонасида чоп этилган.
100031, Тошкент ш., Яккасарой тумани, Қушбеги кўчаси, 6-уй