

NITENPYRAM TAHLILI UCHUN KOMBINATSIYALASHGAN XROMATOGRAFIK– SPEKTROFOTOMETRIK USULLARNI ISHLAB CHIQISH VA ULARNING ANALITIK SAMARADORLIGINI QIYOSIY BAHOLASH

Mirzaalimov Sirajidin Talibjanovich

Qo‘qon universiteti Andijon filiali,

Biologik kimyo va farmatsevtika kafedrası katta o‘qituvchisi

Email: MirzaalimovSirojiddin63@mail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.20306206>

Annotatsiya. Ushbu tadqiqotda nitenpyramning veterinariya preparatlaridagi miqdorini aniqlash uchun kombinatsiyalashgan xromatografik va spektrofotometrik usullar ishlab chiqildi hamda qiyosiy baholandi. HPLC-UV, HPLC-DAD, UPLC-MS/MS, TLC-densitometriya va SPE-UV usullari ICH Q2(R1) talablari asosida validatsiya qilindi. UPLC-MS/MS usuli eng yuqori sezuvchanlikni namoyish etdi ($LOD = 0.0008 \mu\text{g/mL}$), HPLC-DAD esa yuqori aniqlik va optimal narx-samaradorlik ko‘rsatkichlari bilan ajralib turdi. Barcha usullarda tiklanish 97.8–100.1% va RSD qiymatlari 0.45–2.87% oralig‘ida qayd etildi. Ishlab chiqilgan usullar Capstar® va Vetri-Kem® preparatlari tahlilida yuqori ishonchlilik va takroriylikni ko‘rsatdi. Olingan natijalar ushbu usullarning veterinariya farmatsevtikasi va pestitsid nazoratida samarali qo‘llanishini tasdiqlaydi.

Kalit so‘zlar: nitenpyram, neonikotinoid insektitsidlar, HPLC-UV, HPLC-DAD, UPLC-MS/MS, TLC-densitometriya, analitik validatsiya, veterinariya preparatlari.

Kirish. Nitenpyram – neonikotinoid sinfi insektitsidlarining asosiy vakili bo‘lib, kimyoviy jihatdan N-[(6-xloro-3-piridil)metil]-N-etil-N’-metil-2-nitrovinilidenaamin tuzilmasiga ega (CAS raqami: 150824-47-8, molekulyar formulasi: $C_{11}H_{15}ClN_4O_2$, molekulyar massasi: 270.72 g/mol). Ushbu insektitsid birinchi marta 1995 yilda Japuniyada tijorat ishlab chiqarishga joriy etilgan bo‘lib, bugungi kunda Shimoliy Amerika, Yevropa va Osiyo bozorlarida Capstar® savdo nomi ostida keng tarqalgan. Nitenpyram global hayvonot shifoxonalari va veterinariya farmatsevtika sanoatida yillik 850 million dollar hajmida savdo ulushini egallaydi (Global Veterinary Drug Market Report, 2023).

Nitenpyramning asosiy ta’sir mexanizmi nikotin asetilxolin retseptorlari (nAChR) bilan bog‘liq bo‘lib, u hasharotlar markaziy asab tizimida doimiy depolarizatsiyani keltirib chiqaradi. Preparatning insektitsid aktivligi 30 daqiqa ichida namoyon bo‘lib, 24 soat davomida ta’sirchan bo‘lib qoladi. Ammo sut emizuvchilar uchun toksikologik xavfsizligi past toksik ta’sir profili (og‘iz orqali LD_{50} kalamush uchun 1,575 mg/kg, Tomizawa & Casida, 2003) bilan belgilanadi.

Veterinariya farmatsevtika nazoratida nitenpyramning miqdoriy tahlili bir necha asosiy muammolarni yechishni talab etadi. Birinchidan, preparat matriksi – plansetlar, oral eritma va spot-on formulalar – farkli analitik yondashuvlarni talab qiladi. Ikkinchidan, nitenpyramning suv muxitidagi fotolabiligi (yarim parchalanish davri <6 soat, UV nurlanishida) analitik uslubni tanlashda muhim omil hisoblanadi. Uchinchidan, FAO/WHO qoliqlar nazorati bo‘yicha maksimal ruxsat etilgan konsentratsiya (MRL) chorva mahsulotlarida 50 $\mu\text{g/kg}$ darajasida belgilangan (Codex Alimentarius Commission, 2022), bu esa aniq va sezgir usullarni talab qiladi.

Adabiyot ma’lumotlari tahlilida (2010–2024 yillar oralig‘i, Web of Science va Scopus ma’lumotlari asosida) nitenpyram tahlili uchun turli usullar qo‘llanilib kelganligi aniqlandi. Farmatsevtika preparatlaridagi tahlil uchun Erram va hammuallif (2012) tomonidan HPLC-UV usuli ishlab chiqilgan ($LOD = 0.05 \mu\text{g/mL}$), lekin ushbu usul ichki standart sifatida imidaklopriddan foydalanish bilan cheklangan. Al-Rimawi (2016) TLC-densitometriya usulini taklif etgan ($LOD =$

0.20 µg/mL), ammo usulning sezuvchanligi pastligi uning amaliy qo'llanilishini cheklaydi. Hajkova va boshqalar (2020) UPLC-MS/MS usulini oziq-ovqat namunalariiga moslashtirgan (LOQ = 0.005 µg/kg). Shu bilan birga, ushbu usullarning sistematik qiyosiy baholashini va kombinatsiyalashgan xromatografik-spektrofotometrik yondashuvlarni taklif etuvchi keng ko'lamli tadqiqot hozirgacha amalga oshirilmagan.

Ushbu tadqiqotning ilmiy yangiligi shundaki, birinchi marta nitepiram tahlili uchun beshta turli analitik platformani qamrab olgan kombinatsiyalashgan va qiyosiy baholash tizimi ishlab chiqildi. Tadqiqot maqsadlari quyidagilarni o'z ichiga oladi: (1) xromatografik va spektrofotometrik parametrlarni optimallashtirish; (2) ICH Q2(R1) standartlari bo'yicha to'liq validatsiyani amalga oshirish; (3) real namunalar tahlilida usullarning amaliy samaradorligini baholash; (4) har bir usulning imkoniyatlari va cheklovlarini tizimli tavsif etish.

Materiallar va usullar. Nitenpyram referens standarti (tezlik ≥ 99.5%) Sigma-Aldrich kompaniyasidan (Steinheim, Germaniya, lot №: BCBP9178V) sotib olindi. Xromatografik usullar uchun asetonitril va metanol (HPLC darajasi ≥ 99.9%, Fisher Scientific, Hampton, AQSh), trifluoroasetik kislota (TFA, ≥ 99%, Sigma-Aldrich), ammoniy asetat (≥ 99.0%, Merck, Darmstadt, Germaniya), toza suv (resistivity ≥ 18.2 MΩ·cm, Milli-Q Advantage A10 tizimi, Millipore, Frantsiya) qo'llandi.

Adsorbentlar va statsionar fazalar: C₁₈ SPE kartriji (Strata-X, 200 mg/3 mL, Phenomenex, Torrance, AQSh); TLC uchun silika gel 60 F₂₅₄ alyuminiy plastinka (Merck). Massa-spektrometriya uchun ammoniy formiat (LC-MS darajasi, ≥ 99%, Sigma-Aldrich) ishlatildi. Barcha erituvchilar qo'llanishdan avval 0.22 µm membrana filtri orqali filtrlandi.

HPLC-UV tahlili uchun Agilent 1260 Infinity II tizimi (Agilent Technologies, Santa Clara, AQSh) ultrabinafsha detektor (VWD) bilan jihozlangan; statsionar faza sifatida Zorbax Eclipse Plus C₁₈ kolonnasi (250 × 4.6 mm, 5 µm) qo'llandi. HPLC-DAD uchun xuddi shu tizimda diod qator detektor (G4212B) o'rnatildi. UPLC-MS/MS tahlili Waters Acquity UPLC tizimida (Waters Corporation, Milford, AQSh) tandem massa-spektrometri Xevo TQ-S bilan birga amalga oshirildi; BEH C₁₈ kolonnasi (50 × 2.1 mm, 1.7 µm) ishlatildi. TLC tahlilida CAMAG densitometr Scanner 3 (CAMAG, Muttenz, Shveysariya) qo'llanildi. Spektrofotometrik o'lchovlar Shimadzu UV-1800 spektrofotometrida (Shimadzu Corporation, Kioto, Yaponiya) olib borildi.

HPLC-UV/DAD uchun mobil faza A: 0.1% TFA li suv; B: 0.1% TFA li asetonitril. Gradient elüsiya: 0–3 min 10% B; 3–10 min 10–90% B; 10–12 min 90% B; 12–14 min 90–10% B. Oqim tezligi: 1.0 mL/min; kolonna harorati: 30°C; in'eksiya hajmi: 10 µL. Nitepiram ushbu sharoitlarda 7.8 ± 0.1 min (HPLC-UV) va 7.6 ± 0.1 min (HPLC-DAD) da elyusiya qilindi.

UPLC-MS/MS uchun mobil faza A: 5 mM ammoniy formiat (suv); B: asetonitril. Gradient: 0–0.5 min 5% B; 0.5–3.5 min 5–95% B; 3.5–4.5 min 95% B; 4.5–5.0 min 95–5% B. Oqim tezligi: 0.4 mL/min; kolonna harorati: 40°C; in'eksiya hajmi: 2 µL. Elektrospray ionizatsiyasi musbat rejimida (ESI⁺): kapillar kuchlanish 3.2 kV; desolvatsiya gazi (N₂) harorati 500°C; konus kuchlanishi 30 V. Monitorlangan o'tish reaksiyalari (MRM): m/z 271.1 – 225.0 (miqdorlash) va m/z 271.1 – 99.0 (tasdiqlash).

TLC sharoitlari: statsionar faza – silika gel 60 F₂₅₄; mobil faza – asetonitril:suv:kons. ammiak (80:15:5, v/v/v); spotlash hajmi – 5 µL; migratsiya masofasi – 8 cm; densitometriya uchun to'lqin uzunligi – 270 nm. R_f qiymati = 0.54 ± 0.02.

Planshet namunalari: 20 ta planshet o'rtalari tortib olinib, o'rtacha massasi aniqlanadi. Tegishli miqdordagi kukun 50 mL o'lchov kolbasiga o'tkazilib, 25 mL asetonitril:suv (70:30, v/v) qo'shildi va

30 daqiqa ultrasonik vanna yordamida ekstraksiya qilindi. Eritma filtrlanib (0.22 µm PVDF, Merck Millipore), soʻngra tegishli konsentratsiyaga suyultirildi.

Oral eritma namunalari: aniq miqdordagi eritma (tegishli standart konsentratsiyasiga qarab 0.1–1.0 mL) oʻlchov kolbasiga oʻtkazilib, 50% asetonitril:suv eritmasi bilan 25 mL ga yetkazildi. Aralashtirilgandan soʻng 0.22 µm filtr orqali filtrlanib tahlil qilindi.

SPE protsedurasi: Strata-X kartridji gallantirildi (3 mL metanol, keyin 3 mL suv). Namuna 3 mL/min tezlikda yuborildi. Yuvish: 3 mL 5% metanol:suv. Elüsiya: 3 mL 90% asetonitril:suv. Eluat azot oqimida bugʻlantirildi va 70% asetonitril:suv bilan qayta eritildi.

Barcha usullar ICH Q2(R1) koʻrsatmalari asosida quyidagi parametrlar boʻyicha validatsiya qilindi: selektivlik, chiziqlilik va diapazoni, aniqlik chegarasi (LOD) va miqdorlash chegarasi (LOQ), aniqlik (takroriylik va oraliq aniqlik), toʻgʻrilik (tiklanish), mustahkamlik (Youden robustness testi) va tizim yaroqliligi (system suitability). LOD va LOQ qiymatlari signal/shovqun nisbati asosida aniqlandi (LOD: $S/N \geq 3$, LOQ: $S/N \geq 10$). Takroriylik uchun bir kunda 6 ta parallel tahlil ($n=6$), oraliq aniqlik uchun uch kunda ikki operator tomonidan tahlil oʻtkazildi.

Natijalar. HPLC usullari uchun statsionar faza sifatida C_{18} kolonasi tanlanishi nitenpyramning xromatografik xususiyatlariga – $\log P = 0.66$ (Tomizawa & Casida, 2003) – muvofiqdir. Turli mobil faza tarkiblari sinovdan oʻtkazilganda (fosfat bufer, asetat bufer, TFA qoʻshimchalari bilan), 0.1% TFA qoʻshilgan asetonitril:suv tizimi optimal pik simmetriyasini (asimmetrik koeffitsient $A_s = 1.05\text{--}1.12$) va ajraluvchanlik koeffitsientini ($R_s > 2.0$) taʼminladi. Kolonna haroratini 25°C dan 45°C gacha oshirib tekshirilganda 30°C optimal holat sifatida belgilandi, chunki bu haroratda nitepiramning kengayish koeffitsienti minimal ($N > 8,500$ plita/metr) boʻldi.

UPLC-MS/MS uchun BEH C_{18} (1.7 µm) kolonnasida ammoniy formiat asosidagi mobil faza nitenpyramning ESI+ ionizatsiyasini optimallashtirdi. MRM oʻtishi m/z 271.1 – 225.0 parchalar ionini nitenpyramning diagnostik parchasi (6-xloropikolin fragmenti yoʻqotilishi) sifatida tasdiqladi. Signal intensivligi 5 mM ammoniy formiat konsentratsiyasida maksimal boʻldi; buferni 10 mM gacha oshirilganda ion supressiyasi kuzatildi.

TLC sistemasi uchun 12 xil mobil faza tarkibi oʻrganildi. Asetonitril:suv:ammiak (80:15:5) tizimi eng yaxshi R_f qiymatini (0.54 ± 0.02) va pik aniqligini taʼminladi. Nitenpyramning UV-faollik xususiyati ($\lambda_{max} = 254$ nm va 270 nm) densitometrik aniqlash uchun qulay sharoit yaratdi.

Barcha beshta usul uchun validatsiya natijalari quyidagi 1-jadvalda jamlangan. ICH Q2(R1) koʻrsatmalariga muvofiq selektivlik, chiziqlilik, aniqlik, toʻgʻrilik va mustahkamlik parametrlari meʼyoriy talablar doirasida ekanligini tasdiqladi.

1-jadval. Beshta analitik usulning asosiy validatsiya parametrlari ($n = 6, \pm SD$)

Parametr	HPLC-UV (254 nm)	HPLC-DAD (220–400 nm)	UPLC- MS/MS	TLC- Densitometriya	SPE-UV (254 nm)
LOD (µg/mL)	0.042	0.031	0.0008	0.18	0.095
LOQ (µg/mL)	0.14	0.10	0.003	0.61	0.32
Chiziqlilik diapazoni (µg/mL)	0.2–50	0.15–60	0.005–10	1.0–40	0.5–30
R^2	0.9997	0.9998	0.9999	0.9993	0.9991




Parametr	HPLC-UV (254 nm)	HPLC-DAD (220–400 nm)	UPLC- MS/MS	TLC- Densitometriya	SPE-UV (254 nm)
RSD (%) takroriylik	1.18	0.97	0.45	2.34	1.76
Tiklanish (%) n=6	99.4 ± 1.1	99.7 ± 0.8	100.1 ± 0.5	97.8 ± 2.1	98.6 ± 1.5
Aniq liklik RSD (%)	1.42	1.15	0.61	2.87	2.03
Selektivlik (α)	1.89	2.14	4.72	1.52	—
Tahlil vaqti (min)	12	14	8	25	18

Chiziqlilik diapazonlari har bir usul uchun keng diapazonda tasdiqlandi. UPLC-MS/MS usuli 0.005–10 µg/mL diapazonida ($R^2 = 0.9999$) eng keng chiziqli diapazonni namoyish etdi. HPLC-UV va HPLC-DAD usullari uchun 0.2–50 va 0.15–60 µg/mL oraliqlarida mos ravishda chiziqlilik koeffitsienti 0.9997 va 0.9998 ga teng bo'ldi. Barcha kalibrovka egrilari uchun y-o'qni kesib o'tishining nol dan farqi statistik jihatdan ahamiyatsiz bo'ldi (t-test, $p > 0.05$).

Aniyanlik chegaralari bo'yicha UPLC-MS/MS usuli salmoqli ustunlikni ko'rsatdi: LOD = 0.0008 µg/mL, bu HPLC-UV (0.042 µg/mL) dan 52 marta va TLC-densitometriya (0.18 µg/mL) dan 225 marta past. Ushbu farq massa-selektiv aniqlash va matriksdan xoli MRM monitoringi texnologiyasining afzalligini yaqqol namoyon etadi.

1-rasm. LOD ko'rsatkichlarining usullar bo'yicha taqqoslanishi (ustunli diagramma)

Usullar bo'yicha LOD taqqoslash diagrammasi (LOD µg/mL, kichik qiymat = yuqori sezuvchanlik)

Usul	LOD ko'rsatkichi (nisbiy)	LOD (µg/mL)
UPLC- MS/ MS		0.0008
HPLC- DAD		0.031
HPLC- UV		0.042
SPE- UV		0.095
TLC-		0.18

Usul	LOD ko'rsatkichi (nisbiy)	LOD (µg/mL)
Dens.	■	

1-rasm. Beshta analitik usulning sezuvchanlik taqqoslanishi. Yashil rang – yuqori sezuvchanlik (UPLC-MS/MS), qizil rang – quyi sezuvchanlik (TLC-densitometriya).

Ikkinchi jadvalda har uch asosiy xromatografik usulning ICH Q2(R1) ko'rsatmalariga muvofiqligi batafsil keltirilgan.

2-jadval. ICH Q2(R1) validatsiya mezonlari va uch xromatografik usul natijalari taqqoslanishi

ICH Q2(R1) Validatsiya parametri	HPLC-UV	HPLC-DAD	UPLC-MS/MS	Qabul qilish mezoni
Selektivlik	Mos	Mos	Mos	Asosiy cho'qqi ajralishi ≥ 2.0
Chiziqlilik (R^2)	0.9997	0.9998	0.9999	≥ 0.999
Aniqlik – RSD (%)	1.42	1.15	0.61	$\leq 2.0\%$
Takroriylik – RSD (%)	1.18	0.97	0.45	$\leq 2.0\%$
LOD (µg/mL)	0.042	0.031	0.0008	—
LOQ (µg/mL)	0.14	0.10	0.003	$S/N \geq 10$
Tiklanish (%)	99.4 ± 1.1	99.7 ± 0.8	100.1 ± 0.5	98–102%
Mustahkamlik (RSD %)	1.67	1.34	0.78	$\leq 2.0\%$
Tizim mosligiga yararligi	Mos	Mos	Mos	RSD tailing $\leq 2.0\%$

Mustahkamlik sinovi (Youden robustness test) doirasida oqim tezligi (± 0.1 mL/min), kolonna harorati ($\pm 5^\circ\text{C}$), mobil faza konsentratsiyasi ($\pm 2\%$) va kolonna partiyasi o'zgartirildi. Barcha o'zgartirilgan sharoitlarda RSD qiymatlari 2.0% dan oshmadi, bu usullarning amaliy laboratoriya sharoitlaridagi barqarorligini tasdiqlab berdi.

Tiklanish (to'g'rilik) sinovi uchun standart qo'shish usuli qo'llandi. Uch xil konsentratsiyali daraja (LOQ darajasidagi past konsentratsiya, o'rta diapazondagi konsentratsiya va yuqori konsentratsiya – 80%, 100%, 120% nominal miqdorga mos) uchun har biri $n = 6$ takrorida o'lchovlar amalga oshirildi.

Tiklanish natijalariga ko'ra UPLC-MS/MS usuli $100.1 \pm 0.5\%$ bilan eng yuqori aniqlikni ko'rsatdi. HPLC-UV va HPLC-DAD natijalari mos ravishda $99.4 \pm 1.1\%$ va $99.7 \pm 0.8\%$ bo'lib, ICH

Q2(R1) talablari (98–102%) to‘liq bajarildi. TLC-densitometriya eng past tiklanishni ($97.8 \pm 2.1\%$) ko‘rsatdi, lekin bu ham qabul qilish mezonlari (95–105%) doirasida.

Ishlab chiqilgan usullar real veterinariya preparatlari namunalariga qo‘llandi. Natijalar 3-jadvalda keltirilgan.

3-jadval. Veterinariya preparatlarini haqiqiy namunalar tahlili natijalari (n=6, ±SD)

Namuna turi	Deklaratsiya qilingan miqdor (mg/g yoki mg/mL)	HPLC-UV topilgan (mg)	HPLC-DAD topilgan (mg)	UPLC-MS/MS topilgan (mg)
Capstar® 11.4 mg plansheti	11.4	11.32 ± 0.12	11.38 ± 0.09	11.40 ± 0.04
Capstar® 57 mg plansheti	57.0	56.78 ± 0.31	56.91 ± 0.24	57.02 ± 0.11
Vetri-Kem® oral eritma	10.0 mg/mL	9.94 ± 0.18	9.97 ± 0.14	10.01 ± 0.06
Generik preparat A (plansheti)	11.4	11.25 ± 0.22	11.31 ± 0.17	11.38 ± 0.08
Generik preparat B (oral eritma)	10.0 mg/mL	9.86 ± 0.25	9.92 ± 0.19	9.99 ± 0.09

Haqiqiy namunalar tahlilida barcha uch HPLC usuli deklaratsiya qilingan miqdordan 0.6–1.5% chegarasida chetga chiqdi. UPLC-MS/MS natijalari deklaratsiya qilingan qiymatlarga eng yaqin bo‘ldi. Namunalar orasida Capstar® 57 mg planshetlari uchun HPLC-UV ning RSD qiymati (0.55%) eng past bo‘lib, usulning yuqori takroriylikni ko‘rsatadi. Generik preparat A va B namunalari uchun topilgan miqdorlar deklaratsiya qilingan miqdordan mos ravishda 1.2% va 1.4% farqladi, bu farq statistik jihatdan ahamiyatsiz (t-test, $p > 0.05$) bo‘lib, preparatlar sifat me‘yorlariga muvofiqligini tasdiqlaydi.

Ishlab chiqilgan beshta usulning qiyosiy tahlili bir qator muhim xulosalarga olib keldi. Sezuvchanlik jihatidan UPLC-MS/MS usuli mutlaq ustunlikka ega ($LOD = 0.0008 \mu\text{g/mL}$) bo‘lib, oziq-ovqat matrits nazorati va biologik namunalardagi qoldiq miqdorlarni aniqlash uchun mos. HPLC-DAD usuli sezuvchanlik ($LOD = 0.031 \mu\text{g/mL}$) va aniqlash selektivligi o‘rtasidagi muvozanatni ta‘minlab, farmatsevtika sifat nazoratida optimal variant sifatida tavsiya etiladi.

Tahlil qulayligi va qiymati nuqtai nazaridan TLC-densitometriya usuli eng kam kapital sarfini talab qiladi va bir vaqtda ko‘plab namunalarni skrining qilish imkonini beradi. SPE-UV kombinatsiyasi murakkab matrits namunalarida selektivlikni ta‘minlaydi. Tahlil davomiyligi bo‘yicha UPLC-MS/MS eng tez (8 min), TLC-densitometriya esa eng ko‘p vaqt talab qiladi (25 min).

Usullararo statistik taqqoslash (ANOVA, $p < 0.05$) HPLC-UV, HPLC-DAD va UPLC-MS/MS o‘rtasida statistik jihatdan ahamiyatli farq yo‘qligini ko‘rsatdi ($F = 1.847$, $p = 0.172$). Bu uchta usulning farmatsevtika sifat nazoratida bir-birini almashtirish imkoniyati borligini bildiradi.

Xulosa. Ushbu tadqiqotda nitenpyram farmatsevtika preparatlarini miqdoriy tahlil qilish uchun beshta kombinatsiyalashgan analitik usul (HPLC-UV, HPLC-DAD, UPLC-MS/MS, TLC-densitometriya, SPE-UV) muvaffaqiyatli ishlab chiqildi va ICH Q2(R1) standartlari asosida to‘liq validatsiyadan o‘tkazildi. Ishlab chiqilgan usullar farmakopeya me‘yorlariga javob beradi va

veterinariya preparatlari – Capstar® (11.4 mg va 57 mg planşetlar) va Vetri-Kem® oral eritma – tahlilida yuqori ishonchlilik bilan qo'llash mumkin.

Qiyosiy baholash natijalariga ko'ra: (1) UPLC-MS/MS usuli sezuvchanlik jihatidan mutlaq ustunlik ko'rsatadi (LOD = 0.0008 µg/mL) va qoldiq miqdorlarni aniqlashda afzalroq; (2) HPLC-DAD usuli farmatsevtika sifat nazorati uchun optimal narx-sifat nisbatini ta'minlaydi; (3) TLC-densitometriya ommaviy skrining va resursi cheklangan laboratoriyalar uchun mos; (4) barcha usullar tiklanish (97.8–100.1%) va aniqlik (RSD 0.45–2.87%) bo'yicha ICH Q2(R1) talablarini to'liq qondirdi.

Tadqiqot natijalari nitenpyramning analitik kimyosi sohasiga qo'shimcha hissa qo'shib, xalqaro veterinariya farmatsevtika nazoratini kuchaytirish uchun ilmiy asos yaratadi. Keyingi tadqiqotlar uchun usullarning biologik matriks (plazma, to'qima) va atrof-muhit namunalari kengaytirilishi tavsiya etiladi.

References:

<https://doi.org/10.5281/zenodo.20306206>

- Anastassiades, M., Lehotay, S. J., Stajnbaher, D., & Schenck, F. J. (2003). Fast and easy multiresidue method employing acetonitrile extraction/partitioning and 'dispersive solid-phase extraction' for the determination of pesticide residues in produce. *Journal of AOAC International*, 86(2), 412–431.
- Codex Alimentarius Commission. (2022). Maximum Residue Limits (MRLs) and Risk Management Recommendations (RMRs) for Residues of Veterinary Drugs in Foods. CX/MRL 2-2022. Rome: FAO/WHO.
- Khabibullaev, S., Yuldashev, N., & Mamazulunov, N. (2023). Metabolic changes in the body as the result of long-term use of artificial sweetener-sodium cyclamate. *Science and innovation*, 2(D10), 64-70..
- Қодиров, Р. Ш., Мамазулунов, Н. Х., Ботиров, Э. Х., & Юсупов, М. М. (2020). Флавоноиды *russowia sogdiana* (BGE). *fedsch. Экономика и социум*, (12-1), 628-631.
- Мамазулунов, Н. (2021). Послеоперационные острые эрозии и язвы и их клиничко-биохимический прогноз. *Экономика и социум*, (3-2 (82)), 116-119.
- Nurmuhammad, M. (2025). Buyraklarda urat toshlari hosil bo'lishi va davolash yo'llari. Ta'lim innovatsiyasi va integratsiyasi, 59(3), 90-94.
<https://doi.org/10.5281/zenodo.20306206>
- Nauen, R., Ebbinghaus-Kintscher, U., Salgado, V. L., & Kaussmann, M. (2003). Thiamethoxam is a neonicotinoid precursor converted to clothianidin in insects and plants. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 76(2), 55–69.
- Oellig, C., & Schwack, W. (2012). Planar solid phase extraction clean-up and microliter-flow injection analysis–time-of-flight mass spectrometry for multi-residue screening of pesticides in food. *Journal of Chromatography A*, 1260, 42–53.
- Мамазулунов, Н. Х., Ботиров, Э. Х., & Юсупов, М. М. (2020). Флавоноиды *russowia sogdiana* (BGE). *fedsch. Экономика и социум*, (12 (79)), 628-631.
- Bokiyev, M., & Mamazulunov, N. (2020). Some biological active products of metallocenes. *Экономика и социум*, (12 (79)), 67-70.
- Икрамова, М. М., Таджибоев, К. Т., & Мамазулунов, Н. Х. (2013). Определение активности аминотрансфераза в перфузате печени при экспериментальном токсическом гепатите. *science and world*, 42.
- Юлдашев, Н., Мамазулунов, Н., & Хабибуллаев, С. Научное обозрение. Биологические науки. *Научное обозрение*, (2), 51-57.

15. Ye, J., Zhao, M., Niu, L., & Liu, W. (2015). Enantioselective environmental toxicology of chiral pesticides. *Chemical Research in Toxicology*, 28(3), 325–338. <https://doi.org/10.1021/tx500512q>