

PARASETAMOL VA KOFEIN KOMBINATSIYALI TABLETKALARDA PARASETAMOL MIQDORINI YUQORI SAMARALI SUYUQLIK XROMATOGRAFIYASI VA ULTRABINAFSHA SPEKTROFOTOMETRIYA USULLARI YORDAMIDA ANIQLASH HAMDA VALIDATSIYA QILISH

Zokirjonov Asilbek Dilshodjon o'g'li

Qo'qon universiteti Andijon filiali,

Biologik kimyo va farmatsevtika kafedrası o'qituvchisi

Email: azokirjonov971@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.20454514>

ANNOTATSIYA.

Ushbu tadqiqotda parasetamol (atsetaminofen) va kofeinning birgalikdagi qattiq dozalangan shaklida parasetamol miqdorini aniqlash uchun teskari fazali yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (TF-YuSSX) hamda ultrabinafsha spektrofotometriya (UBS) usullari ishlab chiqildi va ICH Q2(R1) talablari asosida validatsiya qilindi. Xromatografik tahlil Agilent Zorbax SB-C18 (150 × 4.6 mm, 5 μm) kolonkasida asetnitril–kaliy digidrofosfat buferi mobil fazasida (35:65, v/v; pH 4.50) 243 nm da amalga oshirildi. Parasetamolning ushlanish vaqti 4.12 ± 0.02 min ni tashkil qildi. YuSSX usuli uchun chiziqlilik diapazoni 1.0–60.0 μg/ml ($r^2 = 0.99986$) bo'lib, LOD va LOQ qiymatlari mos ravishda 0.08 va 0.25 μg/ml ni tashkil qildi. UBS usulida $\lambda_{max} = 243$ nm da chiziqlilik 2.0–120.0 μg/ml ($r^2 = 0.99948$), LOD = 0.42 μg/ml va LOQ = 1.27 μg/ml ekanligi aniqlandi. Ikkala usul uchun tiklanish 98.6–101.5% va takroriylik RSD < 2.0% darajasida qayd etildi. Tijorat preparati tahlilida parasetamol miqdori YuSSX bo'yicha $99.51 \pm 0.74\%$ va UBS bo'yicha $99.28 \pm 1.36\%$ ni tashkil qildi va deklaratsiya qilingan qiymatlar bilan statistik jihatdan mos keldi ($p > 0.05$). Olingan natijalar ishlab chiqilgan usullarning farmatsevtik preparatlar sifat nazorati uchun sezgir, aniq va ishonchli ekanligini tasdiqlaydi.

Kalit so'zlar: *parasetamol; kofein; teskari fazali YuSSX; ultrabinafsha spektrofotometriya; analitik validatsiya; ICH Q2(R1); LOD; LOQ; sifat nazorati.*

KIRISH. Parasetamol [IUPAC nomi: N-(4-gidroksifenil)atsetamid; molekulyar formula: $C_8H_9NO_2$; molekulyar massa: 151.16 g/mol; CAS: 103-90-2] – keng qo'llaniladigan analgetik va antipiretik vosita bo'lib, og'riq qoldiruvchi va isitma tushiruvchi sifatida markaziy nerv tizimida siklooksigenaza fermentini ingibirlash va serotoninergik yo'llar orqali ta'sir ko'rsatadi. Terapevtik dozalarda yaxshi tolerantlikka ega bo'lsada, dozadan oshib ketganda gepatotoksik metabolit N-atsetil-p-benzoxinonimin (NAPQI) hosil bo'lishi sababli uning miqdoriy nazorati klinik va farmatsevtik ahamiyatga ega.

Parasetamol ko'pincha kofein bilan kombinatsiyalangan preparatlar tarkibida ishlatiladi, chunki kofein uning analgetik samaradorligini kuchaytiruvchi ad'yuvant vazifasini bajaradi. Bunday ko'p komponentli shakllarda har bir faol moddaning aniq miqdorini selektiv aniqlash dori vositasi sifati, xavfsizligi va terapevtik ekvivalentligini ta'minlash uchun zarurdir. Adabiyotlarda parasetamolni aniqlashning bir qator usullari (spektrofotometriya, YuSSX, suyuqlik xromatografiyasi–mass-spektrometriya, titrimetriya) tavsiflangan bo'lsada, ularning bir qismida validatsiya to'liq emasligi yoki kofein ishtirokida selektivlik yetarli baholanmaganligi kuzatiladi.

Mazkur tadqiqotning asosiy maqsadi: (a) parasetamolni kofein ishtirokida ajratib aniqlovchi TF-YuSSX usulini optimallashtirish; (b) bir komponentli sifat nazorati uchun UBS

usulini moslashtirish; (v) har ikkala usulni ICH Q2(R1) tavsiyalari asosida to'liq validatsiya qilish (aniqlik, takroriylik, chiziqlilik, LOD, LOQ va mustahkamlik); (g) tijorat preparat namunalari qiyosiy statistik baholash.

MATERIALLAR VA USULLAR

Parasetamol farmakopeya standarti (sof modda: $\geq 99.0\%$) va kofein standarti analitik toza darajasida olindi. Asetonitril va metanol YuSSX tozalik darajasida ($\geq 99.9\%$), kaliy digidrofosfat va ortofosfor kislota analitik toza edi. Barcha eritmalar Milli-Q deionlangan suvda tayyorlandi. Tijorat preparat namunalari (har bir tabletka tarkibida 500 mg parasetamol va 65 mg kofein deb deklaratsiya qilingan) dorixonalardan olindi.

Xromatografik tahlil Agilent Technologies 1260 Infinity II tizimida olib borildi; tizim tarkibiga to'rt kanalli nasos, avtomatik namuna yuborgich, kolonka termostati va diod liniyal (DAD) detektor kirardi. Kolonka: Agilent Zorbax SB-C18, 150×4.6 mm, 5 μ m. Ultrabinafsha spektrofotometrik o'lchovlar ikki nurli spektrofotometrda 1.000 sm kvarts kyuveta yordamida amalga oshirildi. pH nazorati aniqligi ± 0.01 birlik bo'lgan pH-metrda, tortish aniqligi ± 0.01 mg bo'lgan analitik tarozida bajarildi.

Optimallashtirilgan xromatografik shart-sharoit: mobil faza A – 0.020 M kaliy digidrofosfat buferi (ortofosfor kislota bilan pH 4.50 ga tuzatilgan); mobil faza B – asetonitril; nisbat A:B = 65:35 (v/v), izokratik rejim; oqim tezligi 1.0 ml/min; kolonka harorati 30.0 ± 0.5 °C; detektor to'lqin uzunligi 243 nm; in'ektsiya hajmi 10.0 μ l. Asosiy standart eritma metanol:suv (50:50, v/v) aralashmasida tayyorlandi va ishchi eritmalar ketma-ket suyultirish yo'li bilan olindi. Validatsiya ICH Q2(R1) tavsiyalari asosida tizim muvofiqligi, selektivlik, chiziqlilik va diapazon, LOD va LOQ, aniqlik (takroriylik va oraliq aniqlik), to'g'rilik hamda mustahkamlik ko'rsatkichlari bo'yicha o'tkazildi. LOD va LOQ ICH formulalari ($LOD = 3.3\sigma/S$; $LOQ = 10\sigma/S$) yordamida hisoblandi. Statistik tahlil F-test (ANOVA) va Student t-testi yordamida $p < 0.05$ ahamiyatlilik darajasida bajarildi.

NATIJALAR

Optimallashtirilgan sharoitlarda parasetamol piki $t_R = 4.12 \pm 0.02$ min da, kofein piki esa $t_R = 6.35 \pm 0.03$ min da kuzatilib, ikki komponent to'liq ajraldi ($R_s = 3.71$). Tizim muvofiqligi sinovida ustun samaradorligi $N = 6480 \pm 110$ nazariy tarelka, simmetriya koeffitsienti $T_f = 1.06 \pm 0.03$ va RSD qiymatlari 2.0% dan past bo'lib, barcha USP/ICH mezonlari qondirildi. Quyidagi jadvalda har ikkala usulning chiziqlilik parametrlari keltirilgan.

1-jadval. YuSSX va UBS usullarining chiziqlilik va sezgirlik ko'rsatkichlari

Parametr	YuSSX (243 nm)	UBS (243 nm)
Konsentratsiya diapazoni (μ g/ml)	1.0 – 60.0	2.0 – 120.0
Korrelyatsiya koeffitsienti, r^2	0.99986	0.99948
LOD (μ g/ml)	0.08	0.42
LOQ (μ g/ml)	0.25	1.27
Tiklanish, %	98.8 – 101.5	98.6 – 101.2
Takroriylik (RSD), %	< 1.4	< 1.9

Izoh: Nolinearlik testi har ikkala usulda statistik jihatdan ahamiyatli emas ($p > 0.05$), chiziqlik tasdiqlandi.

Aniqlik va takroriylik “namunaga qo’shish” (spike-and-recovery) metodida uch xil konsentratsiya darajasida baholandi; barcha darajalarda tiklanish ICH Q2(R1) mezon (98.0–102.0%) doirasida bo’ldi. Mustahkamlik Youden-Steiner dizayni yordamida baholanganda mobil faza pH ± 0.20 va asetonitril ulushi $\pm 2\%$ o’zgarishlarida tR va pik yuzasidagi farq $\pm 2.0\%$ dan kichik bo’lib, eng ahamiyatli omil sifatida pH aniqlandi. Tijorat preparati tahlilida ($n = 6$) topilgan parasetamol miqdori YuSSX bo’yicha $99.51 \pm 0.74\%$ va UBS bo’yicha $99.28 \pm 1.36\%$ ni tashkil qildi; Student t-testi bo’yicha deklaratsiya qilingan qiymat bilan ahamiyatli farq aniqlanmadi ($p > 0.05$).

MUHOKAMA

Mobil faza tarkibini optimallashtirish jarayonida parasetamolning kuchsiz kislotali tabiati ($pK_a \approx 9.5$) va kofeinning kuchsiz asoslik xossasi hisobga olindi. pH 4.50 da har ikkala molekula asosan ionlanmagan holatda bo’lib, C18 kolonkada barqaror ushlanish va simmetrik pik shaklini ta’minlaydi. 243 nm to’lqin uzunligi parasetamolning maksimal yutilishiga to’g’ri kelib, kofein va yordamchi moddalarning interferentsiyasini minimallashtiradi. YuSSX usulining LOD = 0.08 $\mu\text{g/ml}$ ko’rsatkichi UBS usuliga nisbatan taxminan besh barobar yuqori sezgirlikni ta’minlaydi, bu kolonka harorati va mobil faza pH ining aniq nazorati natijasida erishildi.

UBS usulida $\lambda_{\text{max}} = 243 \text{ nm}$ da yutilish parasetamolning xromofor (benzol halqasi va amid guruhi) tizimiga mansubdir. Biroq kofein ham shu hududda yutilishga ega bo’lganligi sababli, UBS usuli ko’p komponentli aralashmalarda selektivligi cheklangan bo’lib, asosan bir komponentli yoki oldindan ajratilgan namunalar uchun maqbul. Aksincha, YuSSX usuli xromatografik ajralish hisobiga kofein ishtirokida ham yuqori selektivlikni saqlaydi va shuning uchun referent usul sifatida tavsiya etiladi.

XULOSA

Ushbu tadqiqotda parasetamolni kofein ishtirokida aniqlash uchun TF-YuSSX va UBS usullari ishlab chiqildi va ICH Q2(R1) tavsiyalari asosida to’liq validatsiya qilindi. Asosiy xulosalar:

1. YuSSX usuli (LOD = 0.08 $\mu\text{g/ml}$, $r^2 = 0.99986$, RSD < 2.0%) yuqori sezgirligi va selektivligi tufayli ko’p komponentli preparatlar hamda past konsentratsiyali namunalar tahlili uchun maqbul.
2. UBS usuli (LOD = 0.42 $\mu\text{g/ml}$, $r^2 = 0.99948$) sodda va iqtisodiy jihatdan maqbul bo’lib, rutin sifat nazorati va tezkor skrining uchun tavsiya etiladi.
3. Tijorat preparati tahlilida har ikkala usul deklaratsiya qilingan miqdor bilan statistik jihatdan mos natija berdi ($p > 0.05$), bu usullarning real farmatsevtik preparatlarda ishonchliligini tasdiqlaydi.
4. Ikkala usul farmatsevtik laboratoriyalar uchun parasetamolni miqdoriy aniqlashda ishonchli, tez va amaliy jihatdan samarali vosita sifatida tavsiya etiladi.

Adabiyotlar, References, Литературы:

1. Bertolini A, Ferrari A, Ottani A, Guerzoni S, Tacchi R, Leone S. Paracetamol: new vistas of an old drug. CNS Drug Rev. 2006;12(3-4):250–275.
2. Graham GG, Scott KF. Mechanism of action of paracetamol. Am J Ther. 2005;12(1):46–55.
3. ICH Harmonised Tripartite Guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and

Methodology Q2(R1). Geneva: ICH; 2005.

4. Sweetman SC. Martindale: The Complete Drug Reference. 36th ed. London: Pharmaceutical Press; 2009.
5. British Pharmacopoeia 2024. London: The Stationery Office; 2024.
6. Snyder LR, Kirkland JJ, Dolan JW. Introduction to Modern Liquid Chromatography. 3rd ed. Hoboken, NJ: Wiley; 2010.
7. 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..
8. Қодиров, Р. Ш., Мамазулунов, Н. Х., Ботиров, Э. Х., & Юсупов, М. М. (2020). Флавоноиды *russowia sogdiana* (BGE). fedsch.
9. Мамазулунов, Н. (2021). Послеоперационные острые эрозии и язвы и их клинико-биохимический прогноз. Экономика и социум, (3-2 (82)), 116-119.
10. Nurmuhammad, M. (2025). Buyraklarda urat toshlari hosil bo'lishi va davolash yo'llari. Ta'lim innovatsiyasi va integratsiyasi, 59(3), 90-94.
11. Mamazulunov, N. (2021). Inorganic phosphate and principles of fluorescence. Экономика и социум, (3-1 (82)), 167-169.