

**TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc. 04/30.12.2019. FAR.32.01 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

GULYAMOVA DURDONA RUSTAM QIZI

**STOMATOLOGIYA AMALIYOTIDA QO‘LLANILADIGAN
GEMOSTATIK GEL VA POLIMER PLYONKANI STANDARTLASH**

15.00.02 – farmatsevtik kimyo va farmakognoziya

**FARMATSEVTIKA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

Toshkent-2024

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi avtoreferati mundarijasi

Оглавление автореферата диссертации доктора философии (PhD)

Content of the abstract of doctor of philosophy dissertation (PhD)

Gulyamova Durdona Rustam qizi

Stomatologiya amaliyotida qoʻllaniladigan gemostatik gel va polimer plyonkani standartlash 3

Гулямова Дурдона Рустамовна

Стандартизация гемостатического геля и полимерной плёнки, применяемой в стоматологической практике 21

Gulyamova Durdona Rustamovna

Standardization of hemostatic gel and polymer film used in dental practice39

Eʼlon qilingan ishlar roʻyxati

Список опубликованных работ

Last of published works 42

**TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI
HUZURIDAGI ILMIY DARAJALAR BERUVCHI
DSc. 04/30.12.2019. FAR.32.01 RAQAMLI ILMIY KENGASH**

TOSHKENT FARMATSEVTIKA INSTITUTI

GULYAMOVA DURDONA RUSTAM QIZI

**STOMATOLOGIYA AMALIYOTIDA QO‘LLANILADIGAN
GEMOSTATIK GEL VA POLIMER PLYONKANI STANDARTLASH**

15.00.02 – farmatsevtik kimyo va farmakognoziya

**FARMATSEVTIKA FANLARI BO‘YICHA FALSAFA DOKTORI (PhD)
DISSERTATSIYASI AVTOREFERATI**

Toshkent-2024

Falsafa doktori (PhD) dissertatsiyasi mavzusi O'zbekiston Respublikasi Oliy ta'lim, fan va innovatsiyalar vazirligi huzuridagi Oliy attestatsiya komissiyasida B.2023.1.PhD/Far100 raqam bilan ro'yxatga olingan.

Dissertatsiya Toshkent farmatsevtika institutida bajarilgan.

Dissertatsiya avtoreferati uch tilda (o'zbek, rus, ingliz (rezyume)) Ilmiy kengash veb sahifasi (www.pharmi.uz) va «ZiyoNet» Axborot ta'lim portaliga (www.ziynet.uz) joylashtirilgan.

Ilmiy rahbar:

Yunusxodjayeva Nodira Abdulxamitovna
farmatsevtika fanlari doktori, professor

Rasmiy opponent

Yuldashev Zakirjon Abidovich
farmatsevtika fanlari doktori, professor

Nishanbayev Sabir Zaripbayevich
Kimyo fanlari doktori, yetakchi ilmiy xodim

Yetakchi tashkilot:

O'zR FA O.S.Sodiqov nomidagi bioorganik kimyo instituti

Dissertatsiya himoyasi Toshkent farmatsevtika instituti huzuridagi DSc.04/30.12.2019.Far.32.01 raqamli Ilmiy kengashning 2024 yil « 3 » oktabr soat 13⁰⁰ da majlisida bo'lib o'tadi. (Manzil: 100015, Toshkent sh., Mirobod tumani, Oybek ko'chasi, 45-uy. Tel.: (99871) 256-37-38, faks: (99871) 256-45-04, e-mail: www.info@pharmi.uz).

Dissertatsiya bilan Toshkent farmatsevtika instituti Axborot resurs markazida tanishish mumkin (59 raqami bilan ro'yxatga olingan). Manzil: 100015, Toshkent sh., Mirobod tumani, Oybek ko'chasi, 45-uy. Tel.: (99871) 256-37-38.

Dissertatsiya avtoreferati 2024 yil « 10 » sentabr kuni tarqatildi.
(2024 yil « 10 » sentabr da 59 raqamli reyestr bayonnomasi)



K.S. Rizayev
Ilmiy darajalar beruvchi Ilmiy kengash raisi,
t.f.d.

Y.S. Kariyeva
Ilmiy darajalar beruvchi Ilmiy kengash kotibi
farm.f.d., professor

F.F. Urmanova
Ilmiy darajalar beruvchi Ilmiy kengash
Qoshidagi ilmiy seminar raisi, farm.f.d.,
professor

KIRISH (falsafa doktori (PhD) dissertatsiya annotatsiyasi)

Dissertatsiya mavzusining dolzarbligi va zarurati. Jahon sog'liqni saqlash tashkilotining (JSST) stomatologik kasalliklar bo'yicha global hisobotida keltirilgan (2022 y) ma'lumotlarga ko'ra, dunyo bo'ylab og'iz bo'shlig'i kasalliklari bilan kasallanganlar soni qariyb 3,5 milliard kishini tashkil etadi va ularning 3/4 qismi o'rtacha daromadli mamlakatlarda yashaydi. Shu munosabat bilan iqtisodiy jihatdan qulay bo'lgan dorivor o'simliklar xomashyosi asosida olingan dori vositalar va biologik faol qo'shimchalar assortimentini kengaytirish, ularni samaradorligi va bezararligini isbotlash, ishlab chiqarishga joriy qilish muhim ahamiyat kasb etadi.

Hozirgi kunda jahonda turli biologik faol moddalarni saqlagan dorivor o'simliklarni o'rganish, zamonaviy fizik-kimyoviy usullar yordamida kimyoviy tarkibini aniqlash, yot moddalardan tozalash, sifatini baholash usullarini ishlab chiqish bo'yicha ilmiy izlanishlar olib borilmoqda. Bu borada tabiiy xomashyolardan, xususan dorivor o'simliklardan biologik faol moddalarni ajratib olish, ular asosida stomatologik kasalliklar (paradontit, gingivit, stomatit va b.)da keng qo'llaniladigan turli dori shakllari texnologiyasini ishlab chiqish, standartlash, turg'unligini ta'minlash masalalarini yechishga alohida e'tibor berilmoqda.

Respublikamizda farmatsevtika sohasini rivojlantirishda keng qamrovli islohotlar doirasida mahalliy dorivor o'simliklarni yetishtirish maqsadida plantatsiyalar tashkil qilish, ularni qayta ishlash, xorijiy analoglardan kam bo'lmagan dori vositalar va biologik faol qo'shimchalarni yaratish bo'yicha muayyan natijalarga erishilmoqda. 2022-2026 yillarga mo'ljallangan Yangi O'zbekiston taraqqiyot strategiyasining ikkinchi ilovasi, 85-bandida «Farmatsevtika sanoati mahsulotlari ishlab chiqarish hajmini 3 baravar ko'paytirish va mahalliy bozorni ta'minlash darajasini 80%ga yetkazish....»¹ kabi muhim vazifalar belgilab berilgan. Bu borada, respublikamizda mahalliy farmatsevtik ishlab chiqarishni yanada rivojlantirish, import o'rnini bosuvchi original preparatlar ishlab chiqarishni kengaytirish, aholi salomatligini saqlashda ozuqaga qo'shimchalar nomenklaturasini ko'paytirish bo'yicha ilmiy tadqiqotlar olib borish muhim ahamiyat kasb etadi.

O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022 yil 21-yanvardagi PF-55-son «2022-2026 yillarda Respublikaning farmatsevtika tarmog'ini jadal rivojlantirishga oid qo'shimcha chora-tadbirlar to'g'risida»gi farmoni, 2019 yil 6 maydagi PQ-4310-son «Tibbiyot va farmatsevtika ta'limi va ilm-fani tizimini yanada rivojlantirish chora-tadbirlari to'g'risida»gi hamda 2020 yil 26 noyabrdagi PQ-4901-son «Dorivor o'simliklarni yetishtirish va qayta ishlash, ularni urug'chiligini yo'lga qo'yishni rivojlantirish bo'yicha ilmiy tadqiqotlar ko'lamini kengaytirishga oid chora-tadbirlar to'g'risida»gi qarorlari va mazkur sohaga tegishli boshqa me'yoriy-huquqiy hujjatlarda belgilangan vazifalarni amalga oshirishda ushbu dissertatsiya tadqiqoti muayyan darajada xizmat qiladi.

Tadqiqotning respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo'nalishlariga bog'liqligi. Mazkur ilmiy tadqiqot respublika fan va

¹ O'zbekiston Respublikasi Prezidentining 2022 yil 28 yanvardagi «2022-2026 yillarga mo'ljallangan Yangi O'zbekistonning taraqqiyot strategiyasi to'g'risida»gi PF-60-son Farmoni

texnologiyalari rivojlanishining VI.«Tibbiyot va farmakologiya» ustuvor yoʻnalishiga muvofiq bajarilgan.

Muammoning oʻrganilganlik darajasi. Respublikamizning bir qator olimlari tomonidan mahalliy oʻsimlik xomashyolari asosida gemostatik va yalligʻlanishga qarshi taʼsirga ega dori vositalarini ishlab chiqish, zamonaviy usullar yordamida sifatini baholash, tarkibidagi terapevtik faollikka ega moddalarni aniqlash va farmakologik xususiyatini oʻrgangan holda tibbiyot amaliyotiga tatbiq etish borasida ishlar olib borilgan. Xususan, ushbu sohaga X.X.Xolmatov, T.P.Poʻlatova, A.Y.Ibragimov, X.M.Komilov, A.Q.Saidvaliyev, Sh.Sh.Babadjanova, F.F.Urmanova, Z.A.Nazarova, Q.A.Ubaydullayev, S.N.Aminov, V.N.Abdullabekova, G.M.Tureyeva kabi olimlar oʻz xissalarini qoʻshgan.

Shuni taʼkidlash joizki, dunyo miqyosida bir qator olimlar, jumladan Y. Dan Kong, V. Duraypandiyani, I. Lajter, I.Zupkro, Y.Yang, Uncini Manganelli R.E., G.G. Nikolayev, M.V. Lavrenteva, O.V. Trineva, V.A.Kurkin, N.Sh. Kavtaradze, Y.S.Lapinskaya, Y. A. Korjavix, L.Yu.Ostrovskaya, M.P.Vasilyev, T.N.Melnikova, T.F.Marinina, Y.Yu.Simanovskaya, L.X.Savchenko, E.A.Balagozyan kabilarning dorivor oʻsimlik xomashyolaridan olingan fitopreparatlar tarkibidagi biofaol moddalarni oʻrganish, ularni standartlash usullarini ishlab chiqish borasida ilmiy izlanishlari ahamiyatga egadir.

Mazkur dissertatsiya ishi mahalliy qush toron, achchiq toron va ikki uyli gazanda oʻsimliklarining xomashyolaridan ogʻiz boʻshligʻi kasalliklarida qon toʻxtatish va yalligʻlanishga qarshi farmakologik taʼsirga ega «Gemostat» suyuq ekstrakti asosida olingan «Inflamdent» geli va polimer plyonka koʻrinishidagi BFQ ni standartlash boʻyicha birinchi ilmiy tadqiqot hisoblanadi.

Dissertatsiya mavzusining dissertatsiya bajarilgan oliy taʼlim muassasasining ilmiy-tadqiqot ishlari rejalari bilan bogʻliqligi. Dissertatsiya tadqiqoti Toshkent farmatsevtika institutining «Mahalliy dorivor oʻsimliklar va koordinatsion birikmalar asosida original dori vositalarini ishlab chiqish va tibbiyot amaliyotiga tatbiq etish» ilmiy-tadqiqot ishlari rejasi hamda AL-422105573-sonli «Mahalliy dorivor oʻsimliklardan yangi avlod antimikrob va qon toʻxtatish xususiyatiga ega dori preparatlarni yaratish» amaliy loyihasi doirasida bajarilgan.

Tadqiqotning maqsadi mahalliy qush toron, achchiq toron va ikki uyli gazanda dorivor oʻsimlik xomashyolari asosida olingan gemostatik va yalligʻlanishga qarshi taʼsirga ega «Inflamdent» geli va polimer plyonka koʻrinishidagi BFQ ni standartlash hamda sifatini nazorat qilish usullarini ishlab chiqishdan iborat.

Tadqiqotning vazifalari:

mahalliy dorivor oʻsimlik xomashyolaridan tarkib topgan suyuq ekstrakt asosida gemostatik va yalligʻlanishga qarshi taʼsirga ega yangi dori vositasi va BFQni ishlab chiqish va standartlashning maqsadga muvofiqligini asoslash;

«Inflamdent» gelining biologik faol moddalarini identifikatsiyalashning zamonaviy tahlil usullarini ishlab chiqish;

stomatologik polimer plyonka koʻrinishidagi BFQ ning asosiy taʼsir etuvchi moddalarini aniqlash hamda tegishli sifat meʼyorlarini belgilash;

ishlab chiqilgan «Inflamdent» geli tarkibidagi K₁ vitaminining miqdoriy tahlil usullarini ishlab chiqish va validatsiyalash;

«Inflamdent» geli va plyonka shaklidagi BFQ ning saqlanish muddatlarini o'rganish;

tavsiya etilayotgan «Inflamdent» gelini tibbiyotda qo'llash va ishlab chiqarishga ruxsat olish uchun me'yoriy hujjatlarni tayyorlash va O'zR SSV «Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi markazi» davlat muassasasiga taqdim etish.

Tadqiqotning obyekti sifatida mahalliy achchiq toron, qush toron va ikki uyli gazanda dorivor o'simliklarining yer ustki qismidan ajratib olingan suyuq ekstrakt asosida ishlab chiqilgan «Inflamdent» geli va polimer plyonka ko'rinishidagi BFQ olingan.

Tadqiqotning predmeti mahalliy dorivor o'simliklar xomashyolaridan olingan suyuq ekstrakt asosidagi gel va polimer plyonkani chinligi va sifat ko'rsatkichlarini aniqlash, ularni spetsifikatsiyasini ishlab chiqish, miqdoriy tahlil usullarini validatsiyalash hamda tibbiyot amaliyotiga joriy etishdan iborat.

Tadqiqot usullari. Tadqiqotlar jarayonida zamonaviy fizik- kimyoviy tahlil usullari, jumladan, spektrofotometriya (SF), yupqa qatlamli xromatografiya (YuQX), yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX), yuqori samarali suyuqlik xromatografli mass-spektroskopiya (YuSSX-MS), induktiv bog'langan argon plazmasi bo'lgan ICP MS, klinikagacha bo'lgan izlanishlarda qo'llaniladigan usullar hamda zamonaviy kompyuter dasturlaridan foydalanilgan.

Tadqiqotning ilmiy yangiligi quyidagilardan iborat:

ilk bor mahalliy achchiq toron, qush toron va ikki uyli gazanda o'simlik xomashyolaridan olingan suyuq ekstrakt asosidagi «Inflamdent» geli va polimer plyonkani sifatini nazorat qilish usullari ishlab chiqilgan;

«Inflamdent» geli tarkibidagi vitaminlar miqdorini aniqlash uchun ilk bor yuqori samarali suyuqlik xromatografli mass-spektroskopiya uslubi ishlab chiqilgan;

«Inflamdent» geli tarkibidagi aminokislotalarning chinligi va miqdorini aniqlash uchun yuqori samarali suyuqlik xromatografiya usuli ishlab chiqilgan;

«Inflamdent» geli uchun taklif etilgan miqdoriy tahlil usuli ICH Topic Q2 (R1) «Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology» talablari bo'yicha validatsiya qilingan;

Tadqiqotning amaliy natijalari quyidagilardan iborat:

suyuq ekstrakt asosidagi «Inflamdent» gelining mo'tadil yaroqlilik muddati va saqlanish sharoitlari tabiiy eskirish usuli yordamida aniqlanilgan;

«Inflamdent» gelining gemostatik ta'siri «Gemostat» suyuq ekstraktidan kam emasligi intakt hayvonlarning jigaridagi parenximatoz qon ketish modelida aniqlangan hamda bezararligi isbotlangan;

«Inflamdent» polimer plyonka (BFQ) uchun me'yoriy hujjatlar «ALSAGE PHARMA» xususiy korxonasi bilan hamkorlikda ishlab chiqilgan va tasdiqlangan;

Tadqiqot natijalarining ishonchliligi. Olingan tahlil natijalarining ishonchlilik darajasi zamonaviy va hozirgi kunda keng qo'llanilib kelinayotgan matematik statistik tahlil usullar, fizik-kimyoviy (YuSSX, SF) tahlillar bilan belgilanadi. Ishlab chiqilgan tahlil usullari korxona laboratoriya sharoitlarida sinovdan o'tganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining ilmiy va amaliy ahamiyati. Tadqiqot natijalarining ilmiy ahamiyati xorijiy analoglaridan kam bo'lmagan, yuqori terapevtik tasirga ega bo'lgan, mahalliy o'simlik xomashyolari asosida olingan «Inflamdent» geli Davlat farmakopeya talablari bo'yicha standartlash usullarini ishlab chiqilganligi bilan izohlanadi.

Tadqiqot natijalarining amaliy ahamiyati «Inflamdent» geliga «DENTAFILL PLYUS» MChJ bilan hamkorlikda KFMning loyihasi ishlab chiqilib, tibbiyot amaliyotiga tatbiq etish uchun O'zR SSV «Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi markazi» davlat muassasasiga topshirilganligi bilan izohlanadi va ushbu me'yoriy hujjatning tasdiqlanishi stomatologiya amaliyotida qo'llaniladigan dori vositalarining assortimentini kengaytirishga xizmat qiladi.

Tadqiqot natijalarining joriy qilinishi. Stomatologiya amaliyotida qo'llaniladigan gemostatik gel va polimer plyonkani standartlash bo'yicha olingan natijalar asosida:

«Inflamdent» geli uchun korxona farmakopeya maqolasi loyihasi O'zR SSV huzuridagi «Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi Markazi» Davlat muassasasiga ro'yxatdan o'tkazish uchun topshirilgan («Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi Markazi» Davlat muassasasining 2024 yil 29 yanvardagi №41/11-1341-son xati, Sog'liqni saqlash vazirligining 2018 yil 15 oktyabrdagi 8n-3/280-son xati). Ushbu KFMning tasdiqlanishi «DENTAFILL PLYUS» MChJ farmatsevtik korxonasi tomonidan stomatologik kasalliklarda qo'llaniladigan mahalliy dori vositasini ishlab chiqish imkonini beradi;

«Inflamdent» polimer plyonka ko'rinishidagi biologik faol qo'shimcha uchun Texnik shartlar (Ts 27326037–006:2023) hamda uni ishlab chiqarish bo'yicha Texnologik yo'riqnoma (TI 27326037–006:2023) O'zbekiston Respublikasi sanitariya-epidemiologik osoyishtalik va jamoat salomatligi qo'mitasi tomonidan tasdiqlangan. Natijada og'iz bo'shlig'ining yallig'lanishini oldini olish va davolash uchun qo'llaniladigan BFQ ishlab chiqish imkonini bergan;

o'tkazilgan klinik oldi sinovlar natijasida “Inflamdent” gelining spetsifik farmakologik faolligi hamda o'tkir zaharli emasligi isbotlangan (Sog'liqni saqlash vazirligining 2018 yil 15 oktyabrdagi 8n-3/280-son xati). Natijada ishonchli gemostatik faollikga ega bezarar dori vositasini ishlab chiqarish imkonini bergan.

Tadqiqot natijalarining aprobatsiyasi. Mazkur tadqiqot natijalari 9 ta xalqaro va 2 ta respublika ilmiy-amaliy anjumanlarida muhokamadan o'tkazilgan.

Tadqiqot natijalarining e'lon qilinganligi. Dissertatsiya mavzusi bo'yicha jami 16 ta ilmiy ish chop etilgan, shulardan O'zbekiston Respublikasi Oliy Attestatsiya Komissiyasining falsafa doktori (PhD) ilmiy darajasini olish uchun asosiy ilmiy natijalarni chop etish tavsiya etilgan ilmiy nashrlarda 5 ta maqola, jumladan, 4 ta respublika va 1 ta xorijiy jurnalda nashr etilgan.

Dissertatsiyaning tuzilishi va hajmi. Dissertatsiya tarkibi kirish, beshta bob, xulosa, foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati va ilovalardan iborat. Dissertatsiya hajmi 116 betni tashkil etgan.

DISSERTATSIYANING ASOSIY MAZMUNI

Kirish qismida tadqiqotning dolzarbligi va zarurati asoslangan, muammoning maqsadi va vazifalari, ob'yekt va predmetlari tavsiflangan, respublika fan va texnologiyalari rivojlanishining ustuvor yo'nalishlarga mosligi ko'rsatilgan, tadqiqotning ilmiy yangiligi va amaliy natijalari bayon qilingan, tadqiqot natijalarining amaliyotga joriy qilinishi, nashr etilgan ilmiy ishlar va dissertatsiya tuzilishi yuzasidan ma'lumotlar keltirilgan.

Dissertatsiyaning «*Stomatologiya amaliyotida dorivor o'simlik xomashyolari asosida olingan dori vositalarining tutgan o'rni*» deb nomlangan birinchi bobida adabiyotlarda keltirilgan ma'lumotlar tahlili keltirilgan bo'lib, bunda dorivor o'simlik xomashyosi va ular asosida olingan fitopreparatlarni standartlashda xalqaro farmakopeya talablari, gel dori shaklini standartlashning o'ziga xosligi va zamonaviy usullar haqida ma'lumotlar hamda *Urtica dioica* L. (ikki uyli gazanda), *Polygonum hydropiper* L. (achchiq toron) va *Polygonum aviculare* L. (qush toron) o'simliklarining biologik faol moddalari haqida qisqacha ma'lumot keltirilgan. Shuningdek, polimer plyonkalarining tasnifi va zamonaviy tibbiyotda qo'llanilishi, stomatologiya amaliyotida qo'llaniladigan dori vositalarining O'zbekiston Respublikasi farmatsevtika bozorida tutgan o'rni haqidagi ma'lumotlar berilgan.

Dissertatsiyaning «*Qo'llanilgan xomashyo va tahlil usullari tavsifi*» deb nomlangan ikkinchi bobida tadqiqot materiallari, ob'yekti, suyuq ekstrakt asosida gel dori shakli va polimer plyonka biologik faol qo'shimchani olish usuli ilmiy asoslanib berilgan.

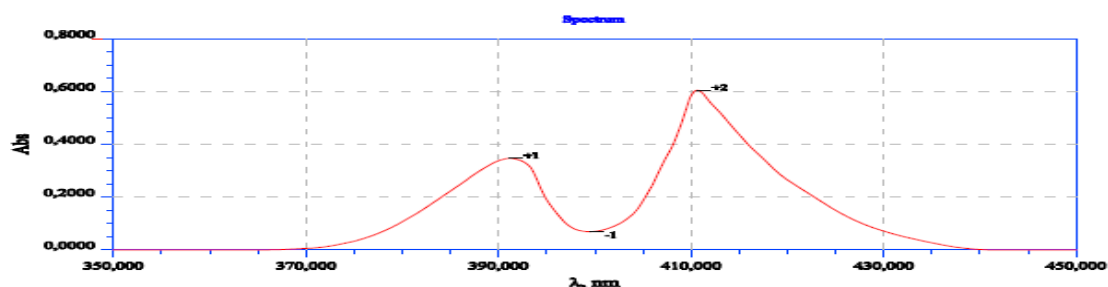
Dissertatsiyaning «*Inflamdent*» gelining kimyoviy tarkibini o'rganish» deb nomlanuvchi uchinchi bobida gel tarkibidagi biologik faol moddalarni zamonaviy fizik-kimyoviy tahlil usullarida o'rganilish davomida olingan natijalar bayon qilingan. Bunda turli xil xromatografik usullar bilan bir qatorda SF usuli ham qo'llanilgan. Tadqiqotlarni avval ishlab chiqilgan dori shakllaridagi biologik faol moddalarni o'rganishdan boshlandi. «Inflamdent» geli tarkibidagi asosiy ta'sir etuvchi moddalardan biri bu flavonoidlar bo'lganligi sababli, ularni identifikatsiyalash uchun YuQX usulidan foydalanildi. 1-jadvalda foydalangan xromatografik sistemalar va olingan natijalar keltirildi.

1-jadval

«Inflamdent» geli tarkibidagi flavonoidlarni YuQX usulidagi tahlil natijalari

№	Namuna	Harakatlantiruvchi faza			
		toluol- (96%) etil spirti 3:2	n-butanol-sirka k-tasi- suv 10 : 3 : 7	etil efiri- toluol 2:8	etilatsetat- xloroform- metanol (8:1:1)
1	Rutin	0,44	0,52	0,16	0,42
2	Kvertsetin	0,70	0,70	-	
3	Gel eritmasi	0,43	0,51 0,70	0,15	0,44

Olingan natijalarga ko'ra, rutin, kvartsetin dog'larining Rf qiymatlari tegishli: 0,51 va 0,70 ga teng bo'ldi. Ishlab chiqilgan Inflamdent gelining tarkibidagi flavonoidlar miqdorini aniqlashning SF usuli ishlab chiqildi. Usul rutinga nisbatan alyuminiy xlorid bilan kompleks hosil qilishiga asoslangan.



1-rasm. Gelning UB spektri

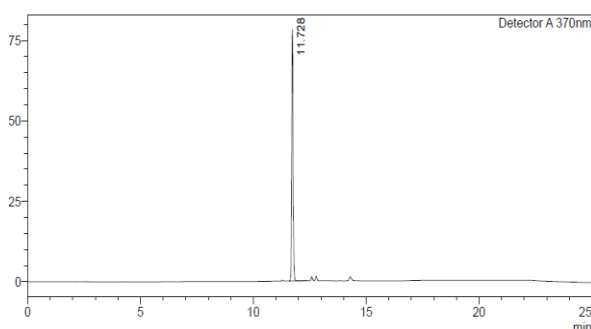
2-jadval

“Inflamdent” geli tarkibidagi flavonoidlarni SF usulidagi tahlil natijalari va usulning metrologik tavsifi (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78; f=4)

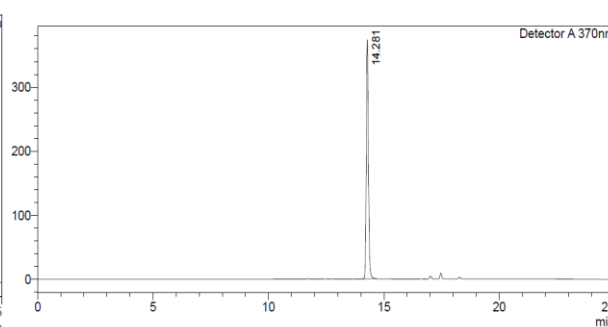
$X_i, \%$	$\bar{X}, \%$	F	S^2	S	S_x	$\pm \bar{\varepsilon}, \%$
$X_1=0,061$ $X_2=0,062$ $X_3=0,068$ $X_4=0,068$ $X_5=0,069$	0,068	4	0,00020	0,0141	0,00632	2,47

2- jadvaldagi ma'lumotlarga ko'ra gel tarkibida flavonoidlarni yig'indisi 0,068 % usulning o'rtacha nisbiy xatoligi esa 2,47 % tashkil qildi.

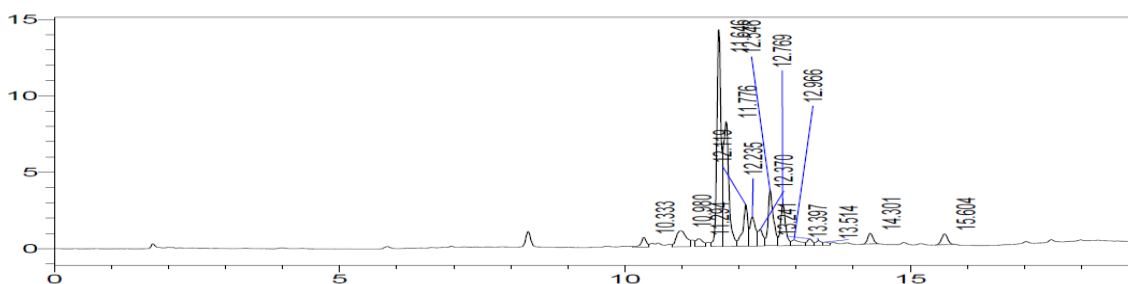
Flavonoidlarni chinligi va miqdorini chuquroq o'rganish maqsadida YuSSX usulidan foydalanildi. Rutin va kvartsetin flavonoidlarini aniqlashda quyidigicha sharoit tanlandi: xromatograf - Agilent Technologies (AQSh) YuSSXda olib borildi. Xromatograf Chemstation 09.03.a dasturiy ta'minot, gradiyent nasos va spektrofotometrik detektor bilan ta'minlangan. Bo'linish zarrachalar o'lchami 5 mkm bo'lgan Zorbax Eclipse C-18 sorbent bilan to'ldirilgan, 4,6×150 mm o'lchamdagi kolonkada amalga oshirildi. Qo'zg'aluvchi faza 0,3% fosfat kislota (A) va metanol (B), gradient rejimida bajarildi. YuSSX xromatogrammalari 2-4-raslarda keltirildi.



2-rasm. Rutin ISN xromatogrammasi



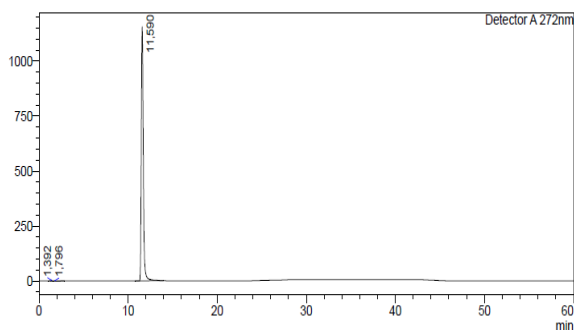
3-rasm. Kvartsetin ISN xromatogrammasi



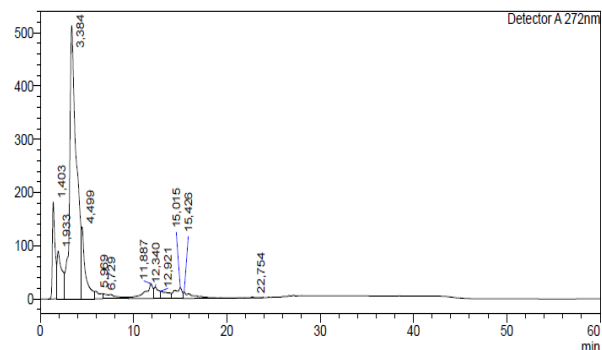
4- rasm. “Inflamdent” gelining xromatogrammasi

4-rasmdagi xromatogrammaga ko‘ra gel tarkibida flavonoidlar rutin va kvvertsetin ishchi standart namunalarining (ISN) ushlanish vaqtiga mos ravishda 11,7 daqiqa rutin, 14,3 daqiqada kvvertsetin aniqlandi.

«Inflamdent» geli tarkibidagi lyuteolin flavonoidini aniqlashda, YuSSX uslubidan foydalanildi, tanlangan sharoit quyidagicha: Agilent Technologies (AQSH) firmasining, «Agilent 1200 series» markali, «Chemstation 09.03.a» programmasi bilan ta‘minlangan xromatograf, qurilma gradient nasosli va spektrofotometrik detektorli. Bo‘linish zarracha o‘lchami 5 mkm bo‘lgan Zorbax Eclipse C-18 sorbent bilan to‘ldirilgan 4,6×150 mm kolonkada amalga oshiriladi. Qo‘zg‘aluvchi faza 0,3% fosfat kislota (A) va atsetonitril (B), gradient rejimida bajarildi. Detektorlash L_{max} lyuteolin uchun mos ravishda xarakterli bo‘lgan, 272 nm to‘lqin uzunligida o‘lchanadi. Oqim tezligi 1 ml/daqiqaga teng bo‘lib, eritmaning yuborilish miqdori - 10 mkl. Xromatografiyalash harorati- 40°C. Tahlil olib borilish vaqti 25 daqiqa. Tahlil natijalari 5-6 rasmlarda keltirildi.



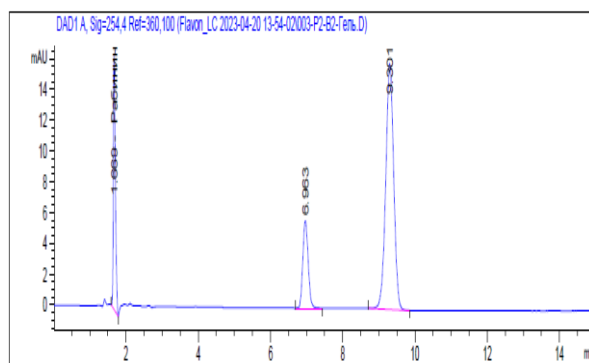
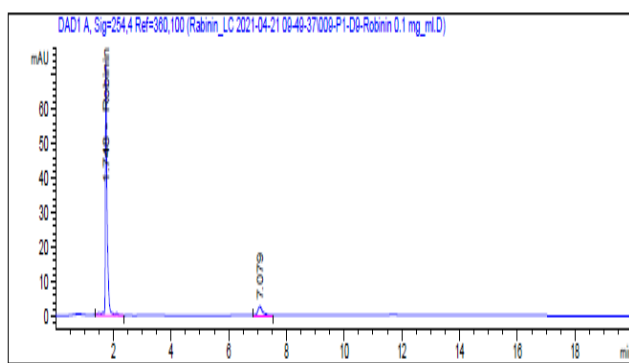
5-rasm. Lyuteolin ISN xromatogrammasi



6-rasm. Gel tarkibidagi lyuteolinning xromatogrammasi

6-rasmdagi xromatogrammaga ko‘ra gel tarkibida lyuteolin flavonoidi ishchi standart namunasining ushlanish vaqtiga mos ravishda 11,8 daqiqada aniqlandi.

Robinin flavonoidini YuSSX usulida aniqlashda quyidagicha sharoit tanlandi: xromatograf -Agilent Technologies 1200, qo‘zg‘aluvchi faza sifatida (gradientli rejim) A-atsetatli bufer pH=2,89 hamda B- atsetonitril tanlab olindi; kolonka – Zorbax Eclipse XDB C18, 150 x 3,0 mm zarrachalar o‘lchami 3,5 mkm; injeksiyaning miqdori – 20 mkl; qo‘zg‘aluvchan faza tezligi – 1,0 ml/daq; detektor – diod-matritsali, 254 nm to‘lqin uzunligida o‘lchandi. Tahlil natijalari 7-8-rasmlarda keltirildi.



7-rasm. Robinin ISN xromatogrammasi

8-rasm. Gel tarkibidagi robinining xromatogrammasi

8-rasmdagi xromatogrammaga ko'ra gel tarkibida robinin flavonoidi ishchi standart namunasining ushlanish vaqtiga mos ravishda 1,6 daqiqada aniqlandi. Flavonoidlarni miqdorini hisoblash natijalari 3-jadvalda keltirildi.

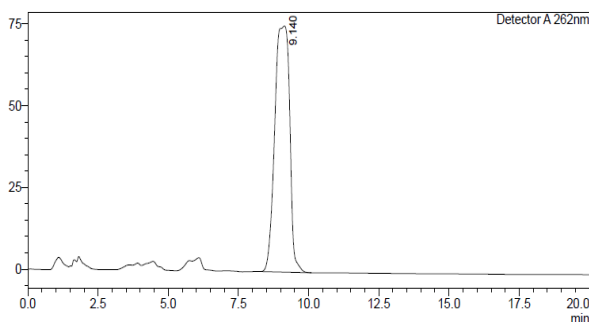
3-jadval

«Inflamdent» geli tarkibidagi flavonoidlarning miqdori

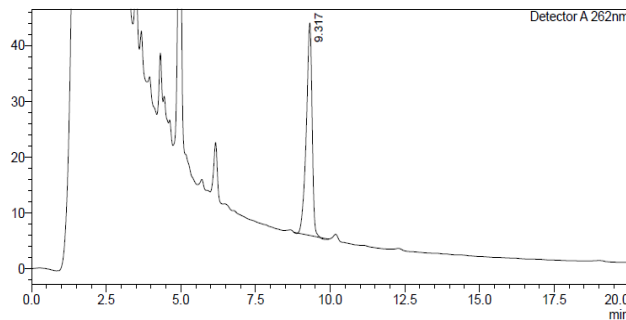
№	Flavonoid larning miqdori, mg/ml	Metrologik tavsifi						
		X _{oʻrt}	S ²	S	ΔX	ΔX _{oʻrt}	E %	E _{oʻrt} %
Rutin								
1	0,051 0,050 0,051 0,050 0,051	0,0506	0,00000030	0,0005477	0,0015227	0,0006810	3,01	1,35
Kvertsetin								
2	0,032 0,032 0,032 0,033 0,032	0,0323	0,00000021	0,0004604	0,0012800	0,0005724	3,96	1,77
Lyuteolin								
3	0,024 0,025 0,024 0,024 0,025	0,0246	0,00000030	0,0005477	0,0015227	0,0006810	4,19	2,08
Robinin								
4	0,032 0,033 0,033 0,034 0,034	0,03	0,00000007	0,000836	0,002325	0,001040	4,68	2,34

Keyingi izlanishlarda gel tarkibidagi biofaol moddalardan K₁ vitaminining miqdori o'rganildi, bunda tahlil uchun YuSSX usuli qo'llanildi. Xromatografiyalash UB spektrofotometrik detektor bilan ta'minlangan Agilent

Technologies firmasining 1200 series rusumli YuSSX da olib borildi. Qoʻzgʻaluvchi faza metanol:asetonitril (55:45); aniqlash toʻlqin uzunligi - 262 nm; mobil faza oqim tezligi - 1,0 ml/daqiqqa; harorat – xona harorati; yuboriluvchi namunaning hajmi - 20 µl; tahlil vaqti asosiy choʻqqining (K₁ vitamin) ushlanish vaqtidan kamida 3 barobar koʻp boʻlishi kerak. Olib borilgan tadqiqotlar natijasi quyidagi 9- va 10-rasmlarda keltirildi.



9-rasm. K₁ vitaminning ISN xromatogrammasi



10- rasm. Geldagi K₁ vitaminning xromatogrammasi

9 va 10-rasmlardan maʼlum boʻldiki K₁ vitamin standart namunasining ushlanish vaqti 9,14 daqiqani tashkil qildi, gelning xromatogrammasida ham mos ravishda ushlanish vaqti 9,31 daqiqada choʻqqi hosil boʻldi.

4-jadval

Gel tarkibidagi K₁ vitaminining tahlil natijalari va usulning metrologik tavsifi

Statistik koʻrsatkichi	Natijalar
Eng past qiymat	0,0167 mg/ml
Eng yuqori qiymat	0,0168 mg/ml
Oʻrtacha qiymat	0,01678 mg/ml
Standart chetlanish	0,000447
Variatsiya koeffitsienti	0,00278
Ishonch oraligʻi (R=95%)	2,78
Oʻrtacha nisbiy xatolik	2,3 %

4-jadvalda keltirilgan maʼlumotlarga koʻra, gel tarkibida K₁ vitaminining miqdori 0,0168 mg/ml hamda uslubning oʻrtacha nisbiy xatolik esa 2,3 % tashkil etdi.

«Inflamdent» gelining biofaol moddalaridan aminokislotalar miqdoriy tahlili. Ularning miqdori YuSSX usulida aniqlandi, tanlangan xromatografiya sharoiti: zarrachalar hajmi 5 mk yoki shunga oʻxshash oktadesilsilil silikagel sorbent bilan toʻldirilgan 150 x 4,6 mm oʻlchamdagi kolonka; mobil faza: eluent A: 6,8 g natriy asetat trigidrat 1000 ml hajmli oʻlchov kolbasiga solinadi, 150 ml suvda eritiladi, suv bilan belgilangan belgigacha suyultiriladi va yaxshilab aralashtiriladi. Eluent B: metanol - asetonitril (3:2), mobil faza tezligi - 1,0 ml/min; toʻlqin uzunligi- 338 nm aniqlanadi; kolonka harorati - 40°C; yuboriladigan namunalar hajmi - 20 µl.

Gel tarkibidagi aminokislotalarning tahlil natijalari

№	Aminokislotalarning nomi	Gel tarkibidagi aminokislotalar miqdori mg/g
1	L-asparagin kislota	0,23998
2	L-serin	0,00356
3	L-glutamin kislota	0,00355
4	L- gistidin gidroxlorid monogidrat *	0,12648
5	L- arginin gidroxlorid *	0,00177
6	L-alanin	0,04185
7	L-tirozin	0,04478
8	L- sistin	0,01211
9	L- valin	0,00466
10	L- metionin *	0,00364
11	L- triptofan *	0,00088
12	L- fenilalanin *	0,01386
13	L- lizin gidroxlorid	0,06561
14	L-prolin	0,00843

*-almashinmaydigan aminokislotalar

5-jadvalda keltirilgan natijalariga ko'ra, gel tarkibida almashinmaydigan aminokislotalar 5 ta, almashinadigan aminokislotalar esa 9 ta bo'lib shulardan eng ko'p miqdorda L-asparagin kislota mavjudligi aniqlandi.

Tadqiqotlarni davom ettirib «Inflamdent» geli tarkibidagi makro va mikroelementlarni aniqlandi. «Inflamdent» gelining makro- va mikroelement tarkibi 6-jadvalda keltirilgan.

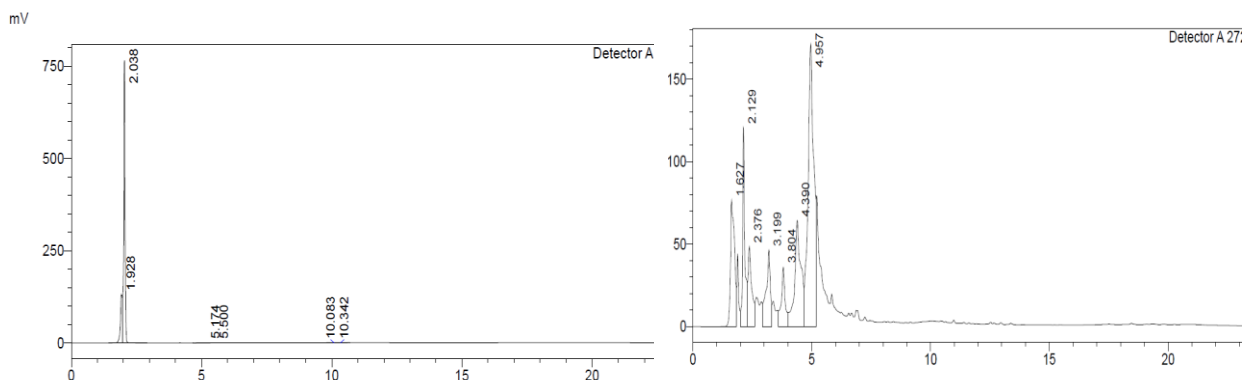
«Inflamdent» geli tarkibidagi makro-mikroelementlar miqdori

№	Element	Miqdori kg/g	№	Element	Miqdori kg/g
1	Litiy	0,205	6	Kalsiy	4697,1
2	Bor	7,0	7	Temir	74,64
3	Natriy	2506,0	8	Stronsiy	12,6
4	Magniy	272,6	9	Bariy	20,2
5	Alyuminiy	161,0	10	Rux	6,06
6	Kremniy	1265,5	11	Titan	10,9
7	Kaliy	270,7	12	Mis	9,2

6-jadvaldagi olingan ma'lumotlarga ko'ra gel tarkibida eng ko'p miqdorda elementlardan kalsiy va natriy tashkil qildi.

Tadqiqot natijalariga ko'ra gel tarkibida 5 ta makroelement, 7 ta mikroelement mavjudligi aniqlandi. Makroelementlardan kalsiy, natriy va kaliy miqdori yuqoriligi aniqlandi. Bu gelni gemostatik xususiyatini oshirishga yordam beradi.

Ishlab chiqilgan «Inflamdent» gelni stomatologiya amaliyotida qo'llanilishini inobatga olgan holda, tarkibidagi oshlovchi moddalar o'rganildi. Oshlovchi moddalar miqdori gall kislotasiga nisbatan YuSSX usuli yordamida aniqlandi. Tahlil natijalari 11, 12-rasmlar va 7-jadvalda keltirilgan.



11- rasm. Gall kislotasining (ISN) xromatogrammasi

12- rasm. Gel tarkibidagi gall kislotasining xromatogrammasi

12-rasmda keltirilgan xromatogrammada gall kislota cho‘qqisining ushlanish vaqti 2,1 daqiqani tashkil qilib, gall kislota standart namunasi xromatogrammasidagi (11-rasm) 2,03 daqiqadagi cho‘qqiga mos keldi.

7-jadval

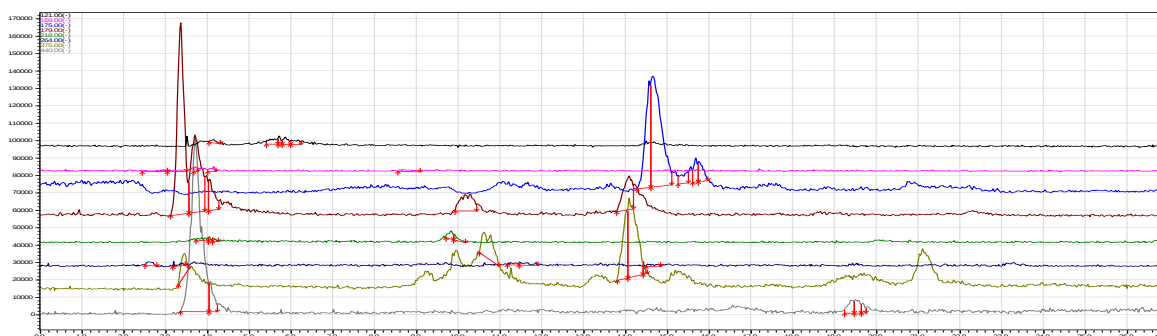
«Inflamdent» geli tarkibidagi oshlovchi moddalarning tahlil natijalari va usulning metrologik tavsifi (n=5; P=95%; t (p,f)=2,78; f=4)

$X_i, \%$	$\bar{X}, \%$	F	S^2	S	S_x	$\pm \varepsilon, \%$
$X_1=0,0334$ $X_2=0,0334$ $X_3=0,0340$ $X_4=0,0345$ $X_5=0,0345$	0,0339	4	0,00000030	0,00055	0,00025	2,02

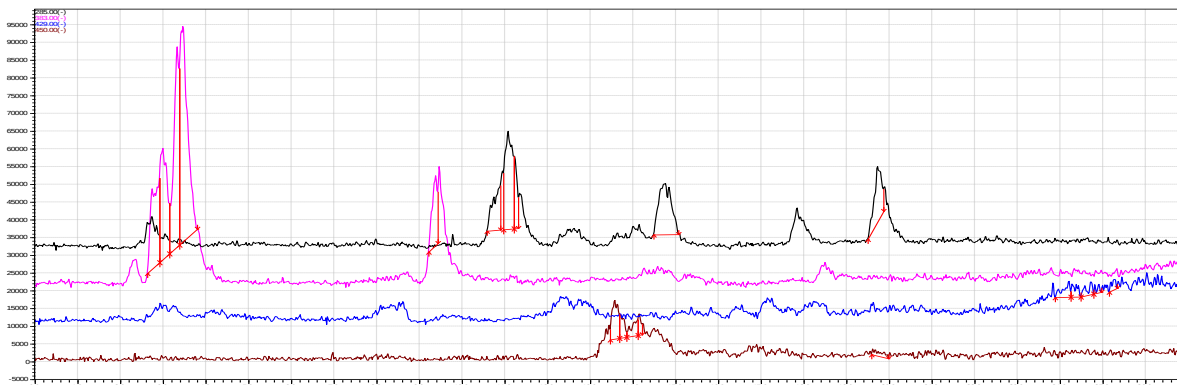
7-jadvalda keltirilgan ma’lumotlarga ko‘ra gel tarkibida gall kislotasining miqdori 0,0339 % ni, usulning xatoligi esa 2,02 % ni tashkil qildi.

Gel tarkibidagi vitaminlarni sifat va miqdorini aniqlashda zamonaviy tezkor yuqori aniqlikdagi YuSSX-MS usulidan foydalanildi. Bu usul o‘zining o‘ta aniqliligi va preparatlar tarkibidagi vitaminlarni massa zaryadlari bilan identifikatsiya qilish bilan boshqa fizik kimyoviy usullardan ajralib turadi.

Tayyorlangan tekshiriluvchi va standart namuna eritmalari alohida-alohida 20 mkl miqdorda uskunaga (Shimadzu, LC-MS 2020) yuborildi. Xromatografiya 16 daqiqa davomida olib borildi. Qo‘zg‘almas va yuqori bosim ostida qo‘zg‘aluvchi fazalarda ajralgan moddalar UB va mass detektorlar yordamida qayd etildi. YuSSX-MS usulining sharoitlari: qo‘zg‘almas faza Shim-pack XR-ODS II 75 Lx3 mm poralar o‘lchami 2,2 mkm, qo‘zg‘almas faza harorati 40°C, qo‘zg‘aluvchan fazaning oqim tezligi 0,230 ml/daqiqa, to‘lqin uzunligi 220 nm, tekshiriluvchi eritmaning yuborilish miqdori – 20 mkl, tekshiruv davomiyligi 22 daqiqa. MS usulining sharoitlari: ESI (musbat qutblilik), harorat 300°C, MS Ssan skanerlash turi, Nebulirer 1,3 ml/daqiqa, quruq gaz 10 l/daqiqa, massa zaryadlari 100-2000 m/z, dastur LabSolution va MassHunter. «Inflamdent» geli tarkibidagi vitaminlarning YuSSX-MS uslubidagi xromatogrammasi 13-14 rasmlarda keltirildi.



13– rasm. «Inflamdent» geli tarkibidagi suvda eriydigan vitaminlarning umumiy YuSSX-MS xromatogrammasi



14– rasm. «Inflamdent» geli tarkibidagi suvda erimaydigan vitaminlarning umumiy YuSSX-MS xromatogrammasi

8-jadval

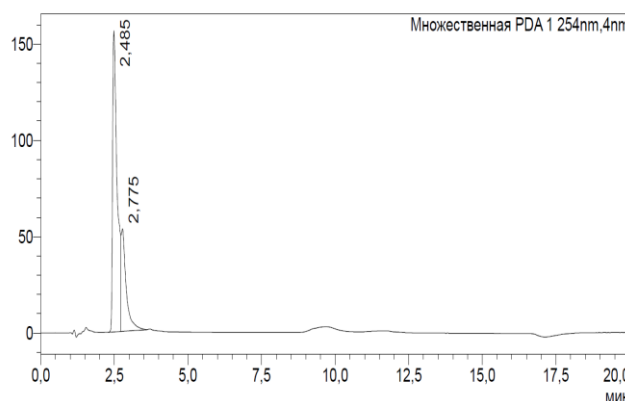
«Gemostat» suyuq ekstrakti va «Inflamdent» geli tarkibidagi vitaminlarning miqdori

№	Vitamin nomi	Suyuq ekstrakt	«Inflamdent» geli	1 ml suyuq ekstraktidagi vitaminlar miqdori (mg)	1 g «Inflamdent» gel tarkibidagi vitaminlar miqdori (mg)
1	Vitamin D ₃	+	+	0,00035	0,000049
2	Vitamin E	+	+	0,00028	0,000033
3	Vitamin B ₈	+	+	0,032	0,00302
4	Vitamin B ₉	+	+	0,0024	0,00031
5	Vitamin B ₁	+	+	0,39	0,0375
6	Vitamin B ₂	+	+	0,325	0,0312
7	Vitamin B ₅	+	+	0,046	0,0038
8	Vitamin B ₆	+	+	1,35	0,1375
9	Vitamin A	+	+	0,0089	0,00096
10	Vitamin C	+	+	0,28	0,0454
11	Vitamin K ₁	+	+	2,45	0,2436
12	Vitamin PP	+	+	0,47	0,0428

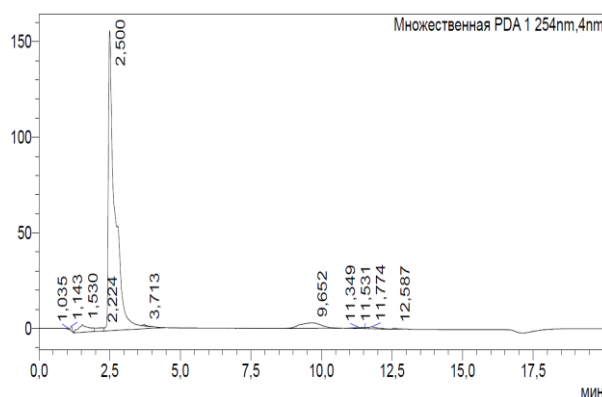
8-jadvaldagi natijalarga ko‘ra «Gemostat» suyuq ekstrakti va «Inflamdent» geli tarkibida eng ko‘p miqdorda vitamin B₆ 1,35 va 0,01375 mg, K₁ vitamin esa 2,45 va 0,2436 mg ni tashkil qildi.

To‘rtinchi bob «*Gemostat suyuq ekstrakti asosida olingan polimer plyonka ko‘rinishidagi BFQ ning sifatini baholash*» deb nomlangan. Bu bobda polimer plyonka BFQ tarkibidagi flavonoidlar va xlorgeksidinni YuQX va YuSSX tahlil usullarini ishlab chiqishning tadqiqot natijalari keltirilgan.

Flavonoidlarni identifikatsiya qilish uchun gelga taklif qilingan YuQX usulidan foydalanildi. Polimer plyonka ko‘rinishidagi BFQ tarkibidagi asosiy ta’sir etuvchi moddalardan biri bu xlorgeksidin biglyukonat bo‘lib, uni aniqlash uchun YuSSX usuli ishlab chiqildi. Xromatografiya Shimadzu (Yaponiya) firmasining Shimadzu LC 2030 Nexera markali suyuqlik xromatografida «LabSolution 10.02.b», dasturiy ta’minotli, gradient nasos va spektrofotometrik detektor yordamida amalga oshirildi. Ajratish ZORBAX Eclipse zarrachalar kattaligi 3,5 mikronli sorbenti bilan to‘ldirilgan, 3,0 x 150 mm o‘lchamdagi kolonkada amalga oshirildi. Qo‘zg‘aluvchi faza 1,0 % li muz sirka kislotasi (A) va atsetonitril (B) gradient rejimida amalga oshirildi. Aniqlash navbat bilan L_{max} xlorheksidin biglukonatga hos bo‘lgan, 254 nm to‘lqin uzunligida olib borildi. Eluentning oqim tezligi 1 ml/daqiqa, yuboriluvchi namunaning hajmi 10 mkl. Xromatografiya harorati 40°C, tahlilning davomiyligi 20 daqiqa. Preparatdagi xlorgeksidin biglukonatni aniqlash uchun, parallel ravishda ularning ISN eritmalari xromatografdan o‘tkaziladi. Olingan natijalar 15 va 16 -rasmlarda keltirildi.



15-rasm. Xlorgeksidin ISNning xromatogrammasi



16-rasm. Plyonka tarkibidagi xlorgeksidin xromatogrammasi

15-rasmida keltirilgan xromatogrammadagi xlorgeksidin biglyukonat standart eritmasining ushlanish vaqti 2,48 daqiqani, plyonka (16-rasm) tarkibidagi xlorgeksidin biglyukonatni ushlanish vaqtiga 2,50 ga mos kelishi aniqlandi.

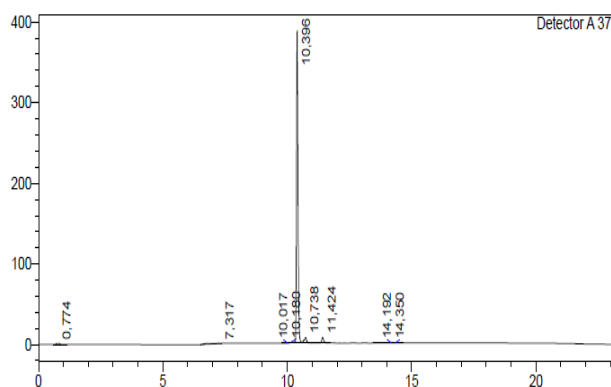
9-jadval

Polimer plyonka ko‘rinishidagi BFQ tarkibidagi xlorgeksidin tahlil natijalari va usulning metrologik tavsifi (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78; f=4)

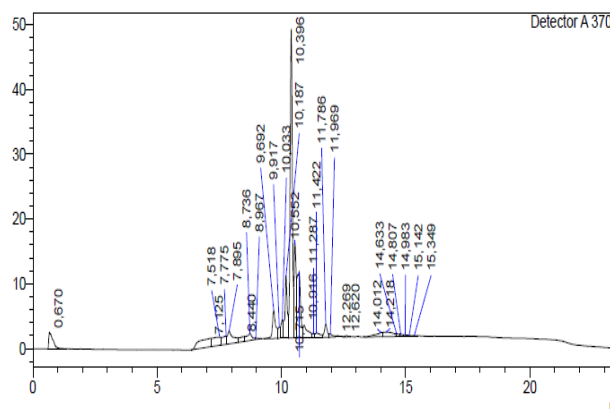
$X_i, \%$	$\bar{X}, \%$	F	S^2	S	S_x	$\pm \varepsilon, \%$
$X_1=0,0020$ $X_2=0,0020$ $X_3=0,0020$ $X_4=0,0021$ $X_5=0,0021$	0,00204	4	0,00000030	0,0000547	0,0000245	3,34%

9-jadvaldagi natijalarga ko‘ra xlorgeksidin biglyukonatni miqdori 0,002 %, o‘rtacha nisbiy xatolik esa 3,34 % ni tashkil qildi.

Plyonka tarkibidagi flavonoidlarni miqdori YuSSX usulida aniqlandi. Olingan natijalar 17 va 18 -rasmlarda keltirilgan.



17- rasm. Rutin ISN xromatogrammasi



18- rasm. Plyonka xromatogrammasi

17 va 18 -rasmlarda keltirilgan natijalarga ko'ra gelda rutin flavonoidining ushlanish vaqti mos ravishda 10,39 daqiqani tashkil qildi. Rutin miqdori 0,047 mg/g, uslubning o'rtacha xatoligi esa rutinga nisbatan 2,68 % ni tashkil qildi.

Beshinchi bobda «*Inflamdent gelini standartlash*» deb nomlanib unda asosiy ta'sir etuvchi moddalardan K₁ vitaminini YuSSX usulining validatsiyasi haqida ma'lumotlar berilgan. Validatsiya natijalari 10-jadvalda keltirildi.

10-jadval

K₁ vitaminni YuSSX usulining validatsiyasi

No	Parametrlar	Baholash kriteriyasi
1	Usulning xususiyligi	Tasdiqlandi
2	Usulning takrorlanuvchanligi	RSD = 0.93463%
3	Usulning aniqliligi	NMT (dan ortiq emas) $\pm 1\%$
4	Usulning chiziqliligi	Korrel – 0.99
5	Usulning qo'llanilish sohasi	$\pm 1\%$
6	Usulning barqarorligi	± 1 nm

10-jadvalda keltirilgan validatsiya natijalariga ko'ra K₁ vitamini YuSSX usulining yaroqliligi isbotlandi.

Tadqiqot natijalari asosida farmakopeya maqolasi ishlab chiqildi. Farmakopeya maqolasining qisqacha ta'rif va olingan natijalar 11-jadvalda keltirilgan.

“INFLAMDENT” GELINING SPETSIFIKATSIYASI

Ko'rsatkichlar	Usullar	Me'yor
Tasvirlanishi	Vizual	Och- sariq rangdan jigarranggacha, o'ziga xos hidli, shaffof bo'lmagan gel
Chinligi Flavonoidlar	YuQX	UB nurida plastinka ko'rilganda, Rf 0,52 (rutin) va 0,70 ga teng bo'lgan (kvertsetin) atrofida ikkita dog'lar paydo bo'lishi kerak.
K ₁ vitamin	YuQX	UB nurda 254 nm ko'rilganda binafsha rangli dog' K ₁ vitamin paydo bo'lishi kerak (Rf taxminan 0,43).
Qadoq ichidagi massasi	Gravimetriya	19,0 g. dan 21,0 g. gacha
pH	Potensiometrik	3,5 dan 5,5
Zichlik	Og'irligi bo'yicha	1,050 - 1,060 g/ml
Zarrachalar hajmi va bir xilligi	Mikroskopik	Gel bir xil, zarrachalarsiz bo'lishi kerak
Mikrobiologik tozaligi	O'z DF 5.1.8. bo'lim	1g preparatda umumiy aerob bakteriyalar soni 10 ⁴ KOE dan oshmasligi kerak; 1g preparatda zamburug'larning umumiy soni 100 KOE dan ortiq bo'lmashligi kerak; 1g preparatda Enterobakteriya va boshqa guruh bakteriyalari 100 KOE dan ortiq bo'lmashligi kerak; 1g preparat tarkibida <i>Escherichia coli</i> bo'lmashligi kerak; 25g preparatda <i>Salmonella</i> bo'lmashligi kerak; 1 g preparat tarkibida <i>Pseudomonas aeruginosa</i> va <i>Staphylococcus aureus</i> bakteriyalar bo'lmashligi kerak;
Miqdoriy tahlil Flavonoidlar (Rutin) Vitamin K ₁	SF, YuSSX (YuSSX)	±0,04 % kam bo'lmashligi kerak ±0,015 % kam bo'lmashligi kerak
Qadoqlanishi	Yuqori zichlikdagi polietilen naychada 20 g gel. 1 tuba, foydalanish bo'yicha ko'rsatma bilan birga karton qutiga joylashtiriladi	
Markirofkalash	MH ga muvofiq	
Saqlash	Quruq joyda, 25°C dan yuqori bo'lmagan haroratda saqlanadi	
Yaroqlilik muddati	2 yil	

Tadqiqot natijalari shuni ko'rsatadiki, ishlab chiqilgan «Inflamdent» gel sifatiga qo'yilgan barcha talablarga to'liq javob beradi.

Olingan ma'lumotlarga asoslanib, «DENTAFILL PLYUS» MChJ bilan hamkorlikda «Inflamdent» geliga KFM loyihasi ishlab chiqilgan va O'zbekiston Respublikasi Sog'liqni saqlash vazirligi huzuridagi «Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi Markazi» Davlat muassasasiga, tibbiyot amaliyotida qo'llashga ruxsat olish uchun taqdim etilgan. Olib borilgan tadqiqotlar natijasida, tibbiyotda

stomatologiya amaliyoti uchun plyonka BFQ uchun me'yoriy sifat ko'rsatkichlari ishlab chiqildi va texnologik yo'riqnoma tasdiqlangan.

XULOSA

1. O'zbekiston Respublikasi farmatsevtika bozorini o'rganish va tahlil qilish natijalariga asosan stomatologiya amaliyotida qo'llaniladigan dori vositalari asosan chet elda ishlab chiqarilayotganligi ma'lum bo'ldi va mahalliy dorivor o'simlik xomashyolari, jumladan achchiq toron, qush toron va ikki uyli gazanda o'simliklaridan olingan «Gemostat» suyuq ekstrakti asosida yallig'lanishga qarshi, gemostatik «Inflamdent» geli va antimikrob ta'sirga ega polimer plyonka ko'rinishidagi biologik faol qo'shimcha ishlab chiqish dolzarb ekanligi isbotlandi.

2. «Inflamdent» geli tarkibidagi biofaol moddalar, jumladan flavonoidlar, oshlovchi moddalar, aminokislotalar va makro-mikroelementlar mavjudligi YuSSX, YuSSX-MS, ISP-MS kabi samarali zamonaviy tahlil usullari yordamida isbotlandi.

3. «Inflamdent» gelini standartlash uchun zarur bo'lgan chinlik va sifat ko'rsatkichlarining ishonchli mezonlari tavsiya etildi. Standartlashda chinligi va miqdori rutinga nisbatan flavonoidlar yig'indisi bo'yicha olib borildi hamda me'yoriy hujjatlarda uning miqdori $\pm 0,04$ mg/g etib belgilandi.

4. «Inflamdent» polimer plyonka ko'rinishidagi BFQ sifatini baholashning instrumental tahlil usullari ishlab chiqildi hamda sifat ko'rsatkichlari bo'yicha tegishli me'yorlari ya'ni flavonoidlar miqdori $\pm 0,04$ mg/g va xlorgeksidin biglyukonat $\pm 0,00204$ mg/g etib belgilandi.

5. Mahalliy dorivor o'simliklar asosidagi «Inflamdent» geli va polimer plyonka shaklidagi biologik faol qo'shimchaning yaroqlilik muddati va saqlanish sharoiti tabiiy eskirish usulida aniqlanib, 2 yil deb belgilandi.

6. «Inflamdent» gel dori shakli uchun korxona farmakopeya maqolasi ishlab chiqildi va tibbiyot amaliyotida ruxsat etilishi uchun O'zR SSV «Farmatsevtika mahsulotlari xavfsizligi Markazi» Davlat muassasasiga taqdim etildi. «Inflamdent» polimer plyonka (BFQ) uchun Texnik shartlar (Ts 27326037-006:2023) hamda Texnologik yo'riqnoma (TI 27326037-006:2023) O'zR sanitariya-epidemiologik osoyishtalik va jamoat salomatligi qo'mitasi tomonidan tasdiqlangan.

**НАУЧНЫЙ СОВЕТ DSc. 04/30.12.2019. FAR.32.01
ПО ПРИСУЖДЕНИЮ УЧЕНЫХ СТЕПЕНЕЙ ПРИ
ТАШКЕНТСКОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ИНСТИТУТЕ**

ТАШКЕНТСКИЙ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

ГУЛЯМОВА ДУРДОНА РУСТАМ КИЗИ

**СТАНДАРТИЗАЦИЯ ГЕМОСТАТИЧЕСКОГО ГЕЛЯ И
ПОЛИМЕРНОЙ ПЛЁНКИ, ПРИМЕНЯЕМОЙ В
СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ПРАКТИКЕ**

15.00.02 – фармацевтическая химия и фармакогнозия

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

Ташкент -2024

Тема докторской диссертации (PhD) зарегистрирована в Высшей аттестационной комиссии при Министерстве высшего образования, науки и инноваций Республики Узбекистан за номером В.2023.1.PhD/Far100.

Диссертация выполнена в Ташкентском фармацевтическом институте.

Автореферат диссертации на трех языках (узбекском, русском, английском (резюме)) размещен на веб-странице Научного совета (www.pharmi.uz) и Информационно-образовательном портале «ZiyoNet» (www.ziyonet.uz).

Научный руководитель: Юнусходжаева Нодира Абдулхамитовна
доктор фармацевтических наук, профессор

Официальные оппоненты Юлдашев Закиржон Абидович
доктор фармацевтических наук, профессор

Нишанбаев Сабир Зарипбаевич
доктор химических наук, ведущий научный сотрудник

Ведущая организация: Институт биоорганической химии имени
О.С. Содикова А.Н. Республики Узбекистан

Защита диссертации состоится «3» октября 2024 г в 13⁰⁰ часов на заседании Научного совета DSc.04/30.12.2019.Far.32.01 при Ташкентском фармацевтическом институте (адрес: 100015, г. Ташкент, Мирабадский район, ул. Айбека, 45. Тел.: (99871) 256-37-38, факс: (99871) 256-45-04, e-mail: www.pharmi.uz).

С диссертацией можно ознакомиться в информационно-ресурсном центре Ташкентского фармацевтического института (регистрационный номер 59) по адресу: 100015, г. Ташкент, Мирабадский район, ул. Айбека, 45. Тел.: (99871) 256-37-38.

Автореферат диссертации разослан «10» сентября 2024 года
(Реестр протокола № 59 от «10» сентября 2024 года)



Зини

К.С. Ризаев
Председатель Научного совета по
присуждению ученых степеней, д.м.н.

Ё.С. Кариева
Ученый секретарь Научного совета по
присуждению ученых степеней,
д.фарм.н., профессор

Ф.Ф. Урманова
Председатель научного семинара при
Научном совете по присуждению ученых
степеней, д. фарм.н., профессор

ВВЕДЕНИЕ (аннотация диссертации доктора философии (PhD))

Актуальность и востребованность темы диссертации. Согласно данным, представленным в глобальном отчете Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ) о стоматологических заболеваниях (2022 г.), число людей с заболеваниями полости рта во всем мире составляет почти 3,5 миллиарда человек и 3/4 из них живут в странах со средним уровнем дохода. В связи с этим, приобретает значение расширение ассортимента лекарственных средств и биологически активных добавок, получаемых на основе экономически выгодного растительного сырья, доказательство их эффективности и безвредности, а также их внедрение в производство.

В настоящее время в мире ведутся научные исследования по изучению лекарственных растений, сохраняющих различные биологически активные вещества, по определению их химического состава с помощью современных физико-химических методов, по очистке от посторонних веществ, разработке методов оценки их качества. В связи с этим из природного сырья, в частности лекарственных растений, выделяют биологически активные вещества, на основе которых лечат стоматологические заболевания (пародонтит, гингивит, стоматит и др.). Особое внимание уделяется решению вопросов разработки, стандартизации, обеспечения стабильности технологии различных лекарственных форм, широко применяемых в медицине.

В рамках комплексных реформ в развитии фармацевтической отрасли в нашей республике достигаются определенные результаты по организации плантаций с целью выращивания отечественных лекарственных растений, их переработке, производству лекарственных средств и биологически активных добавок, не уступающих зарубежным аналогам. Во втором приложении новой стратегии развития Узбекистана на 2022-2026 годы, в пункте 85 определены такие важные задачи, как: «Увеличение объемов производства продукции фармацевтической промышленности в 3 раза и доведение уровня обеспеченности местного рынка до 80%....».¹ В связи с этим важное значение приобретает проведение научных исследований по дальнейшему развитию отечественного фармацевтического производства в нашей республике, расширению производства оригинальных импортозамещающих препаратов, увеличению номенклатуры используемых в медицине биологически активных добавок.

Данное диссертационное исследование в определенной степени служит реализации задач, поставленных решениями и иными нормативными правовыми актами, относящимися к фармацевтической отрасли, такими как: Указ Президента Республики Узбекистан от 21 января 2022 года УП-№ 55 «О дополнительных мерах по ускоренному развитию фармацевтической отрасли республики в 2022-2026 годах», ПП-№ 4310 от 6 мая 2019 года «О мерах по дальнейшему развитию системы медицинского и фармацевтического образования и науки», а также ПП-№ 4901 от 26 ноября 2020 г. «О мерах по

¹ Указ Президента Республики Узбекистан от 28 января 2022 года №ПФ-60 «О Стратегии развития нового Узбекистана на 2022-2026 годы»

расширению масштаба научных исследований по выращиванию и переработке лекарственных растений, развитию их семеноводства».

Соответствие исследования приоритетным направлениям развития науки и технологий республики. Данное научное исследование выполнено в соответствии с приоритетным направлением развития науки и технологий республики VI. «Медицина и фармакология».

Степень изученности проблемы. Ряд ученых республики проводили работы по разработке лекарственных средств с кровоостанавливающим и противовоспалительным действием на основе местного растительного сырья, оценке их качества современными методами, выявлению в составе веществ обладающих терапевтической активностью и их применению в медицинской практике. В частности, к ним относятся такие учёные как: Х.Х. Холматов, Т.П. Пулатова, А.Е. Ибрагимов, Х.М. Комилов, А.Қ. Саидвалиев, Ш.Ш. Бабаджанова, Ф.Ф. Урманова, З.А.Назарова, Қ.А. Убайдуллаев, С.Н. Аминов, В.Н. Абдуллабекова, Г.М. Туреева.

Кроме того, стоит отметить, что во всем мире ряд ученых, в том числе: Ю. Дан Конг, В. Дурайпандян, И. Лайтер, И. Зупкро, Ю. Янг, Унчини Манганелли Р.Е., Г.Г. Николаев, М.В. Лаврентьева, О.В. Тринева, В.А. Куркин, Н.Ш. Кавтарадзе, Ю.С. Лапинская, Ю.А. Коржавих, Л.Ю. Островская, М.П. Васильев, Т.Н. Мельникова, Т.Ф. Маринина, Ю.Ю. Симановская, Л.Х. Савченко, Е.А. Балагозян проводили важные научные исследования по изучению биоактивных веществ, содержащихся в фитопрепаратах и разработке методов их стандартизации.

Данная диссертационная работа является первым научным исследованием по стандартизации БАД в виде геля «Inflamdent» и полимерной пленки, полученных на основе жидкого экстракта «Гемостат», обладающего кровоостанавливающим и противовоспалительным фармакологическим действием при заболеваниях полости рта из сырья местных растений горца перечного, горца птичьего и крапивы двудомной.

Связь темы диссертации с планами научно-исследовательских работ высшего образовательного учреждения, где выполнена диссертация. Научно-исследовательская работа диссертации выполнена в рамках практического проекта Ташкентского фармацевтического института под номером AL-422105573 на тему «Создание нового поколения противомикробных и кровоостанавливающих лекарственных препаратов из местных лекарственных растений» и план исследования «Разработка оригинальных лекарственных средств на основе местных лекарственных растений и координационных соединений и внедрение в медицинскую практику».

Целью исследования является разработка методов стандартизации и контроля качества БАД в виде геля «Inflamdent» и полимерной пленки с кровоостанавливающим и противовоспалительным действием, получаемых на основе местного лекарственного растительного сырья горца перечного, горца птичьего и крапивы двудомной.

Задачи исследования:

обоснование целесообразности разработки и стандартизации нового лекарственного средства и БАД с кровоостанавливающим и противовоспалительным действием на основе жидкого экстракта, полученного из местного сырья;

разработка современных аналитических методов идентификации биологически активных веществ в геле «Inflamdent»;

определение основных действующих веществ (биологически активных добавок) в виде стоматологической полимерной пленки, а также установление соответствующих стандартов качества;

разработка и проверка методов количественного анализа витамина К₁ в разработанном геле «Inflamdent»;

исследование сроков годности геля «Inflamdent» и полимерной пленки;

подготовка нормативных документов и представление в государственное учреждение «Центр безопасности фармацевтической продукции» при Министерстве здравоохранения РУз для получения разрешения на медицинское применение и производство рекомендуемого геля «Inflamdent».

Объектом исследования является гель «Inflamdent», разработанный на основе жидкого экстракта, извлеченного из надземной части лекарственных растений горца перечного, горца птичьего и крапивы двудомной.

Предметом исследования является определение подлинности и качественных показателей геля и полимерной пленки на основе жидкого экстракта из местного лекарственного растительного сырья, разработка их спецификации, валидация методов количественного анализа и внедрение в медицинскую практику.

Методы исследования. При проведении научных исследований использовались современные физико - химические методы анализа, включая спектрофотометрию (СФ), тонкослойную хроматографию (ТСХ), высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ), масс-спектроскопию с высокоэффективным жидкостным хроматографом (ВЭЖХ-МС), масс-спектроскопию с индуктивно связанной аргонной плазмой (ICP MS), а также современные компьютерные программы.

Научная новизна исследования заключается в следующем:

впервые были разработаны методы контроля качества геля «Inflamdent» и полимерной пленки на основе жидких экстрактов, полученных из местного растительного сырья - горца перечного, горца птичьего и крапивы двудомной;

впервые была разработана методика масс-спектропии с высокоэффективным жидкостным хроматографом для определения содержания витаминов в геле «Inflamdent»;

для определения подлинности и количества аминокислот в геле «Inflamdent» разработан метод высокоэффективной жидкостной хроматографии;

метод количественного анализа, предложенный для геля «Inflamdent» был валидирован в соответствии с требованиями ICH Topic Q2 (R1)

«Validation of Analitical Procedures: Text and Methodology»;

Практические результаты исследования заключаются в следующем:
сроки годности установлены путем определения стабильности стойкости геля «Inflamdent» в естественных условиях;

исследование гемостатического эффекта геля проводилось на модели паренхиматозного кровоизлияния в печень интактных животных и доказал свою безвредность. Было доказано что гемостатический эффект геля «Inflamdent» не менее выражен, чем у жидкого экстракта «Gemostat»;

нормативные документы на полимерную пленку «Inflamdent» (БАД) разработаны и утверждены совместно с частным предприятием «ALSAGE PHARMA».

Достоверность результатов исследования. Степень достоверности полученных результатов анализа подтверждена на основе современных и широко используемых в настоящее время методов математического моделирования и физико-химических (ВЭЖХ, СФ) исследований. Разработанные аналитические методы подтверждаются тем, что они апробированы в лабораторных условиях предприятия.

Научная и практическая значимость результатов исследования.

Научная значимость результатов исследования объясняется разработкой методов стандартизации по требованиям государственной фармакопеи геля «Inflamdent», полученного на основе отечественного растительного сырья, не уступающего зарубежным аналогам, обладающего высокой терапевтической эффективностью.

Это объясняется тем, что гель «Inflamdent» был разработан совместно с ООО «DENTAFILL PLYUS» и передан государственному учреждению «Центр безопасности фармацевтической продукции» при Министерстве здравоохранения РУз для внедрения в медицинскую практику. Утверждение этого нормативного документа послужит расширению ассортимента лекарственных средств, используемых в стоматологической практике.

Внедрение результатов исследования. На основании полученных результатов стандартизации кровоостанавливающего геля и полимерной пленки, применяемой в стоматологической практике:

Проект фармакопейной статьи предприятия для геля «Inflamdent» подан на регистрацию в Государственное учреждение «Центр безопасности фармацевтической продукции» при Министерстве Здравоохранения РУз (письмо поданное для регистрации в ГУ «Центр безопасности фармацевтической продукции» от 29 января 2024 г. №41/11-1341, письмо Министерства Здравоохранения от 15 октября 2018 г. № 8н-3/280). Одобрение данной ФСП позволит фармацевтическому предприятию ООО «DENTAFILL PLYUS» разработать отечественный препарат, применяемый при стоматологических заболеваниях;

Комитетом санитарно-эпидемиологического благополучия и общественного здоровья Республики Узбекистан утверждены Технические условия (Ts 27326037-006:2023) и Технологическая инструкция по разработке

(ТІ 27326037-006:2023) на полимерную пленку «Inflamdent» (БАД). В будущем это позволит разработать БАД для профилактики и лечения воспалений полости рта.

Проведённые доклинические испытания показали, что гель «Inflamdent» обладает специфической фармакологической активностью, а также не проявляет острую токсичность (письмо Министерства Здравоохранения от 15 октября 2018 г. № 8N-3/280). Проведённые исследования позволили изготовить безопасный препарат с надежной кровоостанавливающей активностью.

Апробация результатов исследования. Результаты данного исследования обсуждались на 9 международных и 2 республиканских научно-практических конференциях.

Опубликованность результатов исследования. Всего по теме диссертации опубликовано 16 научных работ, из них 5 статей опубликованы в научных изданиях, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Республики Узбекистан для публикации основных результатов диссертаций на соискание ученой степени доктора философии (PhD), в том числе 4 научных статей опубликованы в республиканских журналах и 1 статьи – в зарубежных.

Структура и объем диссертации. Структура диссертации состоит из введения, пяти глав, вывода, списка использованной литературы и приложений. Объем диссертации составляет 116 страниц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

В *введении* диссертации обосновываются актуальность и необходимость исследования, описываются цели и задачи, объекты и предметы, указывается соответствие работы приоритетным направлениям Республики по развитию науки и техники, излагается научная новизна и практические результаты исследования, приводятся сведения о внедрении результатов исследования в практику, структуре опубликованных научных работ и диссертации.

В первой главе диссертации «*Роль лекарственных средств, полученных на основе лекарственного растительного сырья, в стоматологической практике*» представлен анализ литературных данных, содержащих информацию о международных фармакопейных требованиях к стандартизации лекарственного растительного сырья и фитопрепаратов, полученных на их основе. Кроме того, представлена информация об особенностях и современных методах стандартизации лекарственной формы в виде геля, а также краткие сведения о биологически активных веществах растений *Urtica dioica* L. (крапива двудомная), *Polygonum hydropiper* L. (горец перечный) и *Polygonum aviculare* L. (горец птичий). Также даны сведения о классификации, и применении полимерных пленок в современной медицине, о роли лекарственных средств, применяемых в стоматологической практике на фармацевтическом рынке Республики Узбекистан.

Во второй главе диссертации «*Описание применяемого сырья и методов анализа*», приведены научные обоснования методов исследования, объект исследования, способы получения лекарственной формы в виде геля на основе жидкого экстракта и биологически активной добавки в виде полимерной пленки.

В третьей главе диссертации «*Исследование химического состава геля Inflamdent*», изложены результаты, полученные при исследовании биологически активных веществ, содержащихся в геле, современными физико-химическими методами анализа. При этом наряду с различными хроматографическими методами использовался метод СФ. Исследования начались с изучения биологически активных веществ в ранее разработанных лекарственных формах. Поскольку одним из основных действующих веществ в геле «Inflamdent» являются флавоноиды, для их идентификации был использован метод ТСХ. В таблице 1 представлены использованные хроматографические системы и полученные результаты.

Таблица 1

Результаты анализа флавоноидов в геле Inflamdent методом ТСХ

№	Образец	Подвижная фаза			
		толуол- (96%) спирт этиловый 3:2	н-бутанол- уксусная кислота- вода 10 : 3 : 7	этиловый эфир- толуол 2:8	этилацетат- хлороформ- метанол (8:1:1)
1	Рутин	0,44	0,52	0,16	0,42
2	Кверцетин	0,70	0,70	-	
3	Раствор геля	0,43	0,51 0,70	0,15	0,44

В результате, значения R_f пятен рутина и кверцетина составили соответственно 0,51 и 0,70. Был разработан СФ-метод определения количества флавоноидов в разработанном геле «Inflamdent». Метод основан на образовании комплекса с хлоридом алюминия по отношению к рутину.

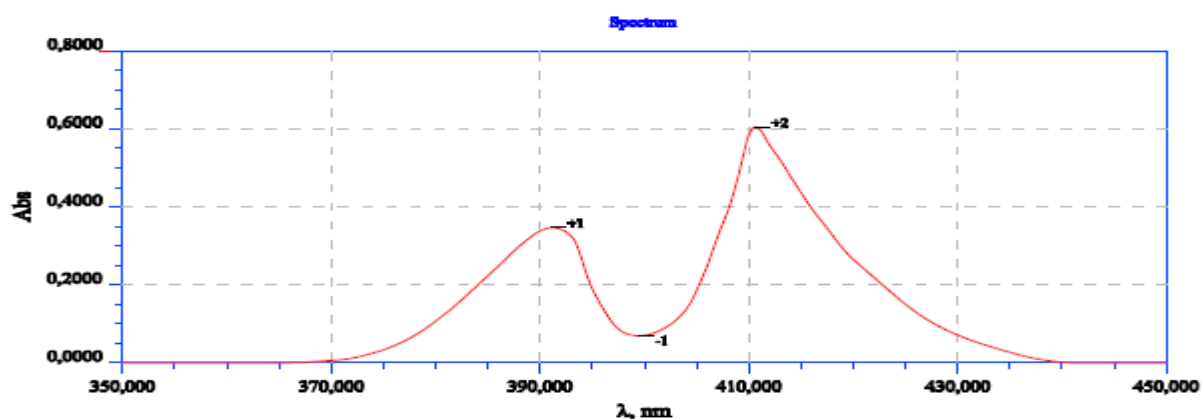


Рис.1. УФ спектр геля

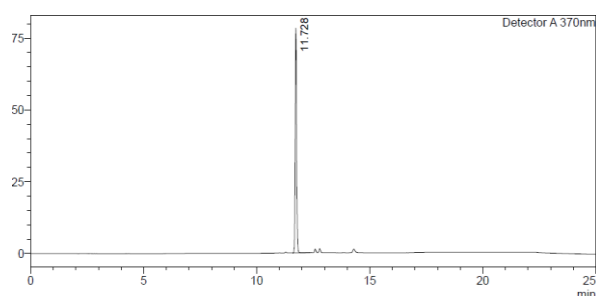
Таблица 2

Результаты анализа флавоноидов в геле «Inflamdent» методом СФ и метрологическое описание метода (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78; f=4)

$X_i, \%$	$\bar{X}, \%$	F	S^2	S	S_x	$\pm \varepsilon, \%$
$X_1=0,061$ $X_2=0,062$ $X_3=0,068$ $X_4=0,068$ $X_5=0,069$	0,068	4	0,00020	0,0141	0,00632	2,47

По данным таблицы 2 сумма флавоноидов в геле составила 0,068%, а средняя относительная погрешность метода составила 2,47%.

Для более глубокого изучения подлинности и количества флавоноидов был использован метод ВЭЖХ. При определении флавоноидов рутина и кверцетина были выбраны следующие условия: хроматограф - ВЭЖХ Agilent Technologies (США). Хроматографическое программное обеспечение – Chemstation 09.03.a, оснащённое градиентным насосом и спектрофотометрическим детектором. Деление проводилось в колонке размером 4,6×150 мм, заполненной сорбентом zorbax Eclipse C-18 с размером частиц 5 мкм. Подвижная фаза 0,3% фосфорной кислоты (а) и метанола (б), выполнена в режиме градиента. Хроматограммы ВЭЖХ показаны на рисунках 2-4.



**Рис.2. Хроматограмма РСО
рутина кверцетина**

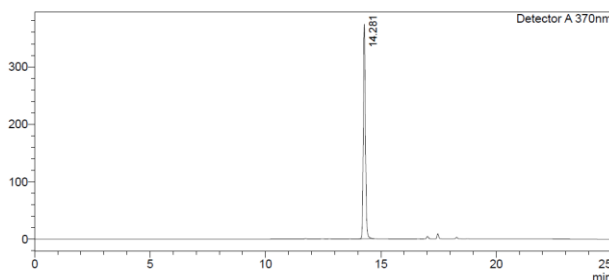


Рис.3. Хроматограмма РСО

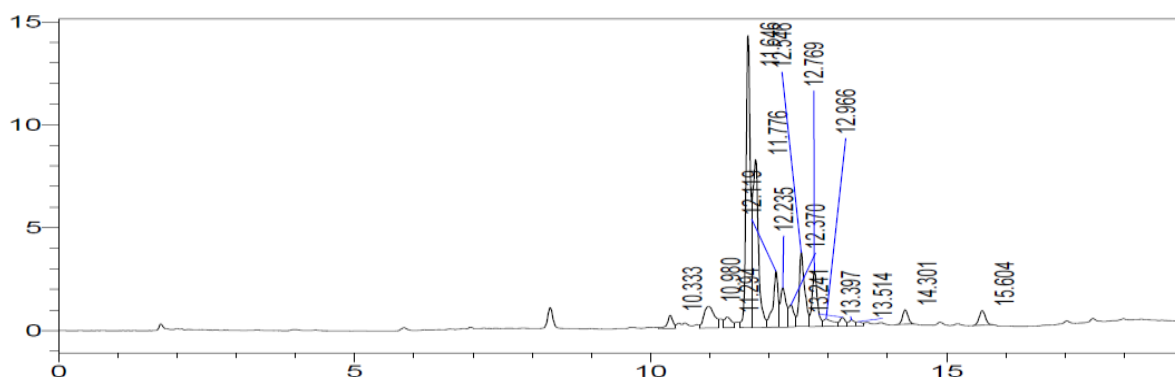


Рис.4. Хроматограмма геля «Inflamdent»

Согласно хроматограмме представленной на рисунке 4, в исследуемом геле флавоноиды рутин и кверцетин были идентифицированы соответственно на течение 11,7 и 14,3 минут, что соответствует времени захвата рабочих стандартных образцов (РСО).

При определении флавоноида лютеолина в геле «Inflamdent» был использован метод ВЭЖХ, при следующих условиях: хроматограф фирмы Agilent Technologies (США), марки «Agilent 1200 Series» оснащенный программным обеспечением «Chemstation 09.03», градиентным насосом и спектрофотометрическим детектором. Деление производится в колонке 4,6×150, заполненной сорбентом zorbax Eclipse C-18 с размером частиц 5 мкм. Фаза возбуждения 0,3% фосфорной кислоты (а) и метанола (б), выполнена в режиме градиента. Детектор $L_{\max}$ измеряется при длине волны 272 нм, соответствующей характеристике лютеолина. Расход равен 1 мл / мин, объем введения раствора - 10 мкл. Температура хроматографии - 40°C. Время проведения анализа 25 минут. Результаты анализа представлены на рисунках 5-6.

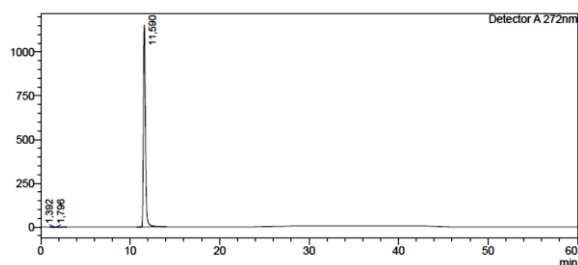


Рис.5. Хроматограмма РСО лютеолина

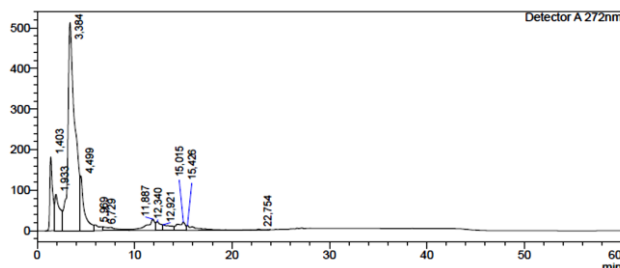


Рис.6. Хроматограмма лютеолина в составе геля

Согласно хроматограмме приведённой на рисунке 6, флавоноид лютеолин, содержащийся в геле, был идентифицирован за 11,8 минуты, что соответствует времени захвата рабочего стандартного образца.

При определении флавоноида робинина методом ВЭЖХ были выбраны следующие условия: хроматограф-Agilent Technologies 1200, в качестве возбуждающей фазы (градиентный режим) выбран α -ацетатный буфер рН=2,89 и β - ацетонитрил; колонка – Zorbach Eclipse XDB C18, 150 x 3,0 мм размер частиц 3,5 мкм; объем впрыска – 20 мкл; скорость фазы возбуждения – 1,0 мл / мин; детектор с диод-матрицей, измеренная на длине волны 254 нм. Результаты анализа представлены на рисунках 7-8.

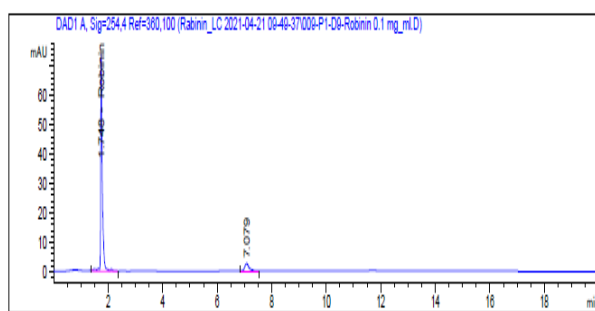


Рис.7. Хроматограмма РСО робинина

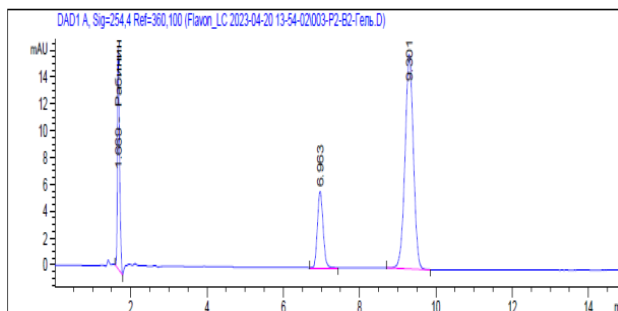


Рис.8. Хроматограмма робинина в составе геля

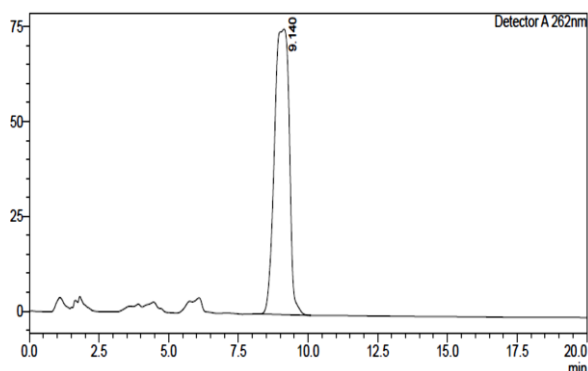
Согласно хроматограмме приведённой на рисунке 8, содержание флавоноида робинина в геле было определено за 1,6 минуты, что соответствует времени захвата рабочего стандартного образца. Результаты количественного расчета флавоноидов приведены в таблице 3.

Таблица 3

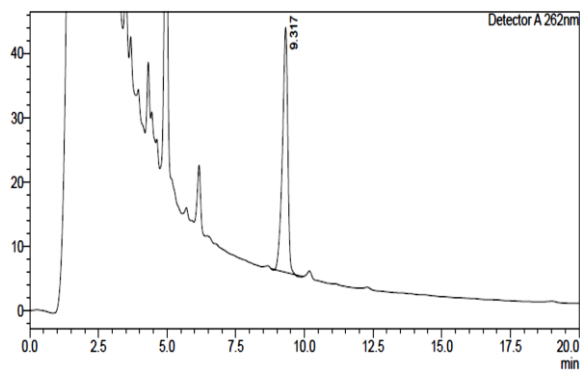
Количество флавоноидов в геле «Inflamdent»

№	Количество флавоноидов, мг/мл	Метрологические характеристики						
		X_{cp}	S^2	S	ΔX	ΔX_{cp}	E %	$E_{cp}\%$
Рутин								
1	0,051 0,050 0,051 0,050 0,051	0,050 6	0,00000030	0,0005477	0,0015227	0,0006810	3,01	1,35
Квертецин								
2	0,032 0,032 0,032 0,033 0,032	0,032 3	0,00000021	0,0004604	0,0012800	0,0005724	3,96	1,77
Лютеолин								
3	0,024 0,025 0,024 0,024 0,025	0,024 6	0,00000030	0,0005477	0,0015227	0,0006810	4,19	2,08
Робинин								
4	0,032 0,033 0,033 0,034 0,034	0,03	0,0000007	0,000836	0,002325	0,001040	4,68	2,34

В дальнейших исследованиях изучалось содержание витамина K_1 содержащегося в геле, при этом для анализа использовался метод ВЭЖХ. Хроматография проводилась на приборе ВЭЖХ серии 1200 фирмы Agilent Technologies, оснащённом УФ-спектрофотометрическим детектором. Фаза возбуждения метанола: ацетонитрил (55:45); длина волны обнаружения - 262 нм; скорость потока подвижной фазы - 1,0 мл/мин; температура – комнатная температура; объем вводимого образца - 20 мкл; время анализа должно быть как минимум в 3 раза больше времени улавливания основного пика (витамина K_1). Результаты проведенных исследований представлены ниже на рисунках 9 и 10.



**Рис.9. Хроматограмма РСО
витамина К₁**



**Рис.10. Хроматограмма витамина
К₁ в составе геля**

Из рисунков 9 и 10 видно, что время захвата стандартного образца витамина К₁ составило 9,14 минуты, в то время как на хроматограмме геля также был получен пик времени захвата 9,31 минуты, соответственно.

Таблица 4

Результаты анализа витамина К₁ в геле и метрологическое описание метода

Статистические показатели	Результаты
Наименьший показатель	0,0167 мг/мл
Наибольший показатель	0,0168 мг/мл
Средний показатель	0,01678 мг/мл
Стандартное отклонение	0,000447
Коэффициент вариации	0,00278
Доверительный интервал (R=95%)	2,78
Средняя относительная ошибка	2,3 %

Согласно данным, представленным в таблице 4, содержание витамина К₁ в геле составляло 0,0168 мг/мл, а средняя относительная погрешность метода-2,3%.

Количественный анализ аминокислот из биоактивных веществ геля «Inflamdent». Количество аминокислот было определено методом ВЭЖХ. Условия хроматографии: колонка размером 150 x 4,6 мм, заполненная сорбентом октадецилсилил силикагеля с размером частиц 5 мкм; подвижная фаза: элюент А: 6,8 гр тригидрата ацетата натрия помещают в мерную колбу объемом 1000 мл, растворяют в 150 мл воды, разбавляют водой до указанной отметки и тщательно перемешивают.

Таблица 5

Результаты анализа аминокислот в геле

№	Название аминокислот	Количество аминокислот в составе геля мг/г
1	L-аспарагиновая кислота	0,23998
2	L-серин	0,00356
3	L-глутаминовая кислота	0,00355
4	L- гистидин гидрохлорид моногидрат*	0,12648
5	L- аргинин гидрохлорид*	0,00177
6	L-аланин	0,04185
7	L-тирозин	0,04478
8	L- цистин	0,01211
9	L- валин	0,00466
10	L- метионин*	0,00364
11	L-триптофан*	0,00088
12	L- фенилаланин*	0,01386
13	L- лизин гидрохлорид	0,06561
14	L-пролин	0,00843

*- незаменимые аминокислоты

По результатам, приведенным в таблице 5, было установлено, что в геле содержится 5 незаменимых аминокислот и 9 заменимых - наибольшее количество из которых составляет L-аспарагиновая кислота.

Продолжая исследования, был проведён анализ содержания макро- и микроэлементов в геле «Inflamdent». Макро- и микроэлементный состав геля «Inflamdent» представлен в таблице 6.

Таблица 6

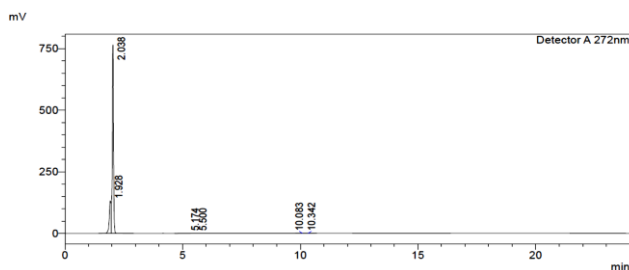
Количество макро и микроэлементов в составе геля «Inflamdent»

№	Элемент	Количество кг/г	№	Элемент	Количество кг/г
1	Литий	0,205	6	Кальций	4697,1
2	Бор	7,0	7	Железо	74,64
3	Натрий	2506,0	8	Стронций	12,6
4	Магний	272,6	9	Барий	20,2
5	Алюминий	161,0	10	Цинк	6,06
6	Кремний	1265,5	11	Титан	10,9
7	Калий	270,7	12	Медь	9,2

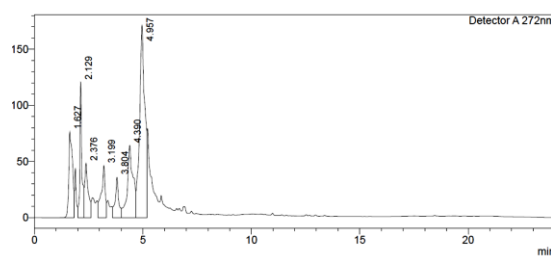
По данным, приведённым в таблице 6, в наибольшем количестве в составе геля содержатся кальций и натрий.

По результатам исследования установлено, что гель содержит 5 макро и 7 микроэлементов. Из макроэлементов, обнаруженный в геле, в наибольшем количестве содержатся кальций, натрий и калий. Это обосновывает кровоостанавливающие свойства геля.

Учитывая применение разработанного геля «Inflamdent» в стоматологической практике, были изучены содержащиеся в нём дубильные вещества. Количество дубильных веществ определяли методом ВЭЖХ по отношению к галловой кислоте. Результаты анализа представлены на рисунках 11, 12 и в таблице 7.



**Рис.11. Хроматограмма РСО
галловой кислоты**



**Рис. 12. Хроматограмма
галловой кислоты в составе
геля**

Время захвата пика галловой кислоты на хроматограмме, показанной на рисунке 12, составило 2,1 минуты, что соответствует пику в 2,03 минуты на хроматограмме стандартного образца галловой кислоты (рис.11).

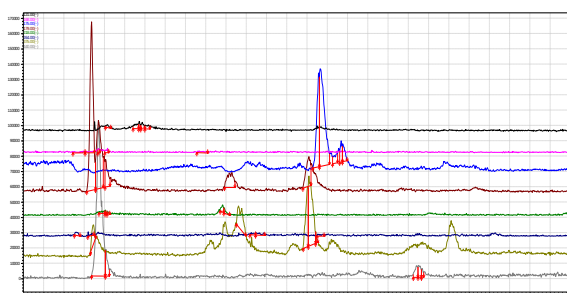
Таблица 7

**Результаты анализа дубильных веществ в геле «Inflamdent» и
метрологическое описание метода (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78; f=4)**

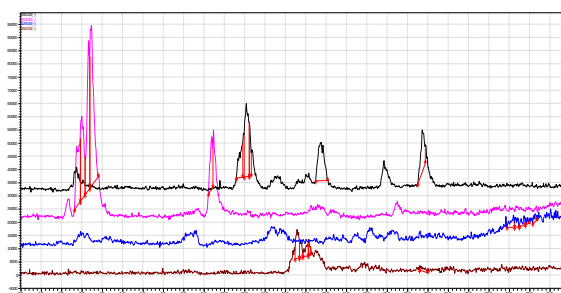
$X_i, \%$	$\bar{X}, \%$	F	S^2	S	S_x	$\pm \varepsilon, \%$
$X_1=0,0334$ $X_2=0,0334$ $X_3=0,0340$ $X_4=0,0345$ $X_5=0,0345$	0,0339	4	0,00000030	0,00055	0,00025	2,02

Согласно данным, приведенным в таблице 7, содержание галловой кислоты в геле составило 0,0339%, а погрешность метода-2,02%.

Современный быстрый высокоточный метод ВЭЖХ-МС был использован для качественного и количественного определения витаминов в геле. Подготовленные исследуемые и стандартные растворы проб по отдельности вводили на оборудование (Shimadzu, LC-MS 2020) в количестве 20 мкл. Хроматография проводилась в течение 16 минут. Вещества, выделяющиеся в возбужденных фазах при неподвижном состоянии и высоком давлении, регистрировались с помощью УФ- и масс-детекторов. Условия метода ВЭЖХ-МС: неподвижная фаза Shim-Pack XR – ODS II 75 LX3 мм размер пор 2,2 мкм, температура неподвижной фазы 40°C, расход фазы возбуждения 0,230 мл/мин, длина волны 220 нм, объем введения исследуемого раствора-20 мкл, продолжительность исследования 22 минуты. Хроматограмма витаминов в геле «Inflamdent» методом ВЭЖХ-МС представлена на рисунках 13-14.



**Рис.13. Общая ВЭЖХ-МС
хроматограмма водорастворимых
витаминов в геле «Inflamdent»**



**Рис.14. Общая ВЭЖХ-МС
хроматограмма не растворимых в воде
витаминов в геле «Inflamdent»**

Таблица 8

Содержание витаминов в жидком экстракте «Гемостат» и геле «Inflamdent»

№	Название витамина	Жидкий экстракт	«Inflamdent» гель	Количество витаминов (мг) в 1 мл жидкого экстракта	Количество витаминов (мг) в 1 гр геля «Inflamdent»
1	Витамин D ₃	+	+	0,00035	0,000049
2	Витамин E	+	+	0,00028	0,000033
3	Витамин B ₈	+	+	0,032	0,00302
4	Витамин B ₉	+	+	0,0024	0,00031
5	Витамин B ₁	+	+	0,39	0,0375
6	Витамин B ₂	+	+	0,325	0,0312
7	Витамин B ₅	+	+	0,046	0,0038
8	Витамин B ₆	+	+	1,35	0,1375
9	Витамин A	+	+	0,0089	0,00096
10	Витамин C	+	+	0,28	0,0454
11	Витамин K ₁	+	+	2,45	0,2436
12	Витамин PP	+	+	0,47	0,0428

Согласно результатам, приведённым в таблице 8, в жидком экстракте «Гемостат» и геле «Inflamdent» в наибольшем количестве содержится витамина B₆ - 1,35 и 0,1375 мг соответственно, и витамина K₁-2,45 и 0,2436 мг.

Четвертая глава «Оценка качества БАД в виде полимерной пленки, полученной на основе жидкого экстракта Гемостат». В этой главе представлены результаты исследований по разработке методов анализа ТСХ и ВЭЖХ флавоноидов и хлоргексидина в полимерной пленке.

Для идентификации флавоноидов был использован метод идентифицирования предложенный для определения флавоноидов в геле. Одним из основных действующих веществ в БАД в виде полимерной пленки является биглюконат хлоргексидина, для обнаружения которого был разработан метод ВЭЖХ. Для определения хлоргексидина биглюконата в препарате параллельно их растворы рабочих стандартных образцов (РСО) пропускают через хроматограф. Полученные результаты представлены на рисунках 15 и 16.

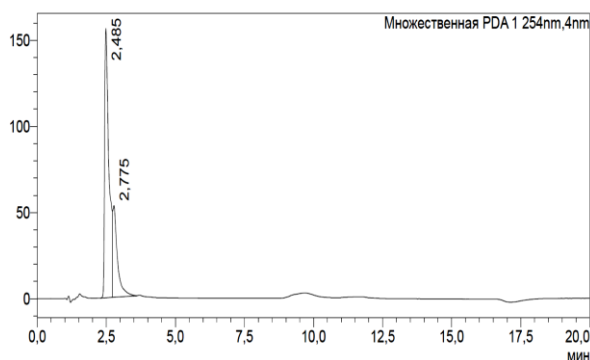


Рис.15. ВЭЖХ хроматограмма РСО хлоргексидина

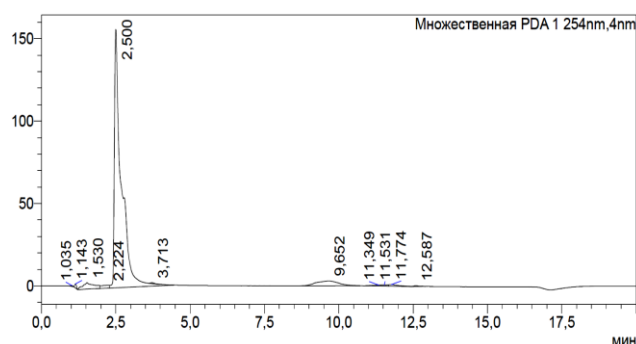


Рис.16. ВЭЖХ хроматограмма хлоргексидина в составе плёнки

Установлено, что время захвата стандартного раствора хлоргексидина биглюконата на хроматограмме, представленной на рис.15, составляет 2,48 минуты, что соответствует времени захвата хлоргексидина биглюконата на пленке 2,50 (рис. 16).

Таблица 9

Результаты анализа хлоргексидина в БАД в виде полимерной пленки и метрологическое описание метода (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78; f=4)

$X_i, \%$	$\bar{X}, \%$	F	S^2	S	S_x	$\pm \bar{\varepsilon}, \%$
$X_1=0,0020$ $X_2=0,0020$ $X_3=0,0020$ $X_4=0,0021$ $X_5=0,0021$	0,00204	4	0,00000030	0,0000547	0,0000245	3,34%

Согласно результатам, приведённым таблице 9 содержание биглюконата хлоргексидина составило 0,02%, а средняя относительная погрешность составила 3,34%.

Количество флавоноидов в пленке определяли методом ВЭЖХ. Полученные результаты представлены на рисунках 17 и 18.

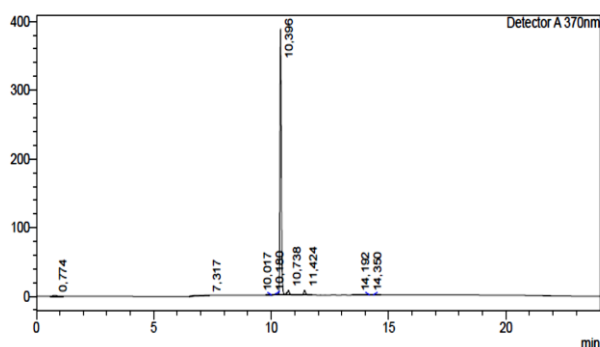


Рис.17. Хроматограмма РСО рутин

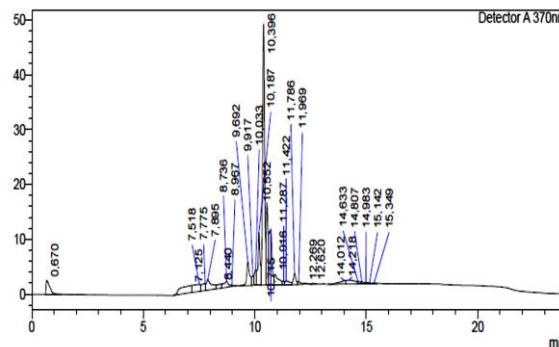


Рис.18. Хроматограмма плёнки

Согласно результатам, представленным на рисунках 17 и 18, время захвата флавоноида рутин в геле составило 10,39 минуты. Количество рутин составило 0,047 мг/г, а средняя погрешность метода составила 2,68% по сравнению с рутином.

В пятой главе, озаглавленной как «Стандартизация геля *Inflamdent*», приводятся данные валидации метода ВЭЖХ определения витамина К₁.

По результатам исследования была разработана фармакопейная статья. Краткое описание фармакопейной статьи и полученные результаты приведены в таблице 10.

СПЕЦИФИКАЦИЯ ГЕЛЯ «INFLAMDENT»

Показатели	Методы	Нормы
Описание	Визуально	Непрозрачный гель от бледно - желтого до коричневого цвета с характерным запахом
Подлинность Флавоноиды	ТСХ	При рассмотрении пластинки в ультрафиолетовом свете, должны появиться два пятна с Rf около 0,52 (рутин) и 0,70 (кверцетин).
Витамин К ₁	ТСХ	При рассмотрении пластинки в ультрафиолетовом свете при длине волны 254 нм должно появиться пурпурное пятно витамина К ₁ (Rf около 0,43).
Масса упаковки	Гравиметрия	От 19,0 г. до 21,0 г.
pH	Потенциометрически	От 3,5 до 5,5
Количественное определение Флавоноиды (Рутин) Витамин К ₁	СФ, ВЭЖХ (ВЭЖХ)	Не менее $\pm 0,04$ % Не менее $\pm 0,015$ %
Срок годности	2 года	

Результаты исследования показывают, что разработанный гель «Inflamdent» полностью отвечает всем требованиям к качеству гелевой лекарственной формы.

На основании полученных данных совместно с «DENTAFILL PLYUS» разработан проект ФСП геля «Inflamdent» и подан в Государственное учреждение «Центр безопасности фармацевтической продукции» при Министерстве здравоохранения Республики Узбекистан для получения разрешения на применение в медицинской практике. В результате проведенных исследований разработаны нормативные показатели качества и утверждена технологическая инструкция биологически активной добавки в виде плёнки для применения в стоматологической практике.

Выводы

1. По результатам исследования и анализа фармацевтического рынка Республики Узбекистан выяснилось, что лекарственные средства, применяемые в стоматологической практике в основном производятся за рубежом. По этой причине было сочтено целесообразным разработать противовоспалительный, кровоостанавливающий гель «Inflamdent» и биологически активную добавку - полимерную плёнку с антимикробным действием, из жидкого экстракта «Гемостат» на основе местного

лекарственного растительного сырья, в частности из растений горца перечного, горца птичьего и крапивы двудомной.

2. С помощью эффективных современных методов анализа, таких как ВЭЖХ, ВЭЖХ-МС, масс-спектрометрия с индуктивно связанной плазмой (ISP-MS) было обнаружено, что гель «Inflamdent» содержит биологически активные вещества, такие как флавоноиды, дубильные вещества, аминокислоты, макро и микроэлементы.

3. Были предложены надежные критерии подлинности и качества, необходимые для стандартизации геля «Inflamdent». При стандартизации, подлинность и количественное содержание определены по сумме флавоноидов относительно рутина, в нормативных документах его количество определялось как $\pm 0,04$ мг/г.

4. Разработаны инструментальные методы анализа оценки качества БАД в виде полимерной плёнки, по основному действующему веществу и установлены соответствующие нормы по показателям качества: содержание флавоноидов $\pm 0,04$ мг/г и хлоргексидина биглюконата $\pm 0,00204$ мг/г.

5. Срок годности и условия хранения геля «Inflamdent» и биологически активной добавки в виде и полимерной плёнки на основе местных лекарственных растений определяли методом естественного старения, что составило 2 года.

6. Для лекарственной формы - геля «Inflamdent» разработана фармакопейная статья предприятия и подана в Государственное учреждение «Центр безопасности фармацевтической продукции» при Министерстве Здравоохранения РУз для получения разрешения применения в медицинской практике. Технические условия (Ts 27326037-006:2023) и Технологическая инструкция (TI 27326037-006:2023) на полимерную пленку (БАД) утверждены Комитетом санитарно-эпидемиологического благополучия и общественного здоровья Республики Узбекистан.

**SCIENTIFIC COUNCIL ON AWARD OF SCIENTIFIC DEGREE OF
DOCTOR OF SCIENCE 04/30.12.2019.FAR.32.01 AT THE TASHKENT
PHARMACEUTICAL INSTITUTE**

TASHKENT PHARMACEUTICAL INSTITUTE

GULYAMOVA DURDONA RUSTAM QIZI

**STANDARDIZATION OF HEMOSTATIC GEL AND POLYMER FILM
USED IN DENTAL PRACTICE**

15.00.02 – pharmaceutical chemistry and pharmacognosy

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

Tashkent – 2024

The title of the dissertation of doctor of philosophy (PhD) has been registered by the Supreme Attestation Commission under the Ministry of Higher Education, Science and Innovation of the Republic of Uzbekistan with registration number of B.2023.1.PhD/Far100.

The dissertation has been prepared at the Tashkent pharmaceutical Institute.

The abstract of the dissertation is posted in three languages (Uzbek, Russian and English (resume)) on the web page of the Scientific Council (www.pharmi.uz) and on the website of "ZiyoNet" information and education portal: www.ziynet.uz.

Scientific supervisor:

Yunuskhodjaeva Nodira Abdulhamitovna
Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

Official opponents:

Yuldashev Zakirjan Abidovich
Doctor of Pharmaceutical Sciences, Professor

Nishanbayev Sabir Zaripbayevich
Doctor of Chemical Sciences, leading researcher

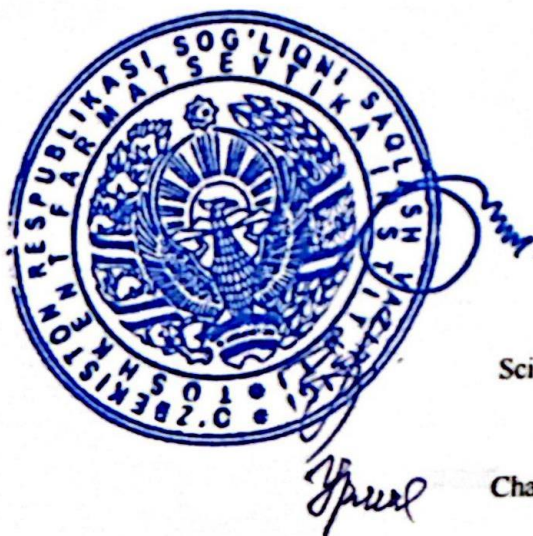
Leading organization:

**Institute of Bioorganic Chemistry named after
O.S. Sodikov ASc of the Republic of Uzbekistan.**

Defense will take place on "3" October 2024 at 13⁰⁰ at the meeting of Scientific Council DSc. 04/30.12.2019 Far. 32.01 at the Tashkent pharmaceutical institute (address: 100015, Tashkent city, Mirabad district, Aibek str., 45. Phone: (99871) 256-37-38, fax: (+99871) 256-45-04, e-mail: www.info@pharmi.uz).

The dissertation has been registered at the Information Resource Centre of Tashkent Pharmaceutical Institute (№ 59). Address: 100015, Tashkent city, Mirabad district, Aibek str., 45. Phone: (99871) 256-37-38.

Abstract of the dissertation is distributed on "10" September 2024.
(Protocol at the register № 19 dated "10" September 2024)



K.S. Rizaev
Chairman of scientific council on conferment of
scientific degrees, D.M.Sc

E.S. Karieva
Scientific secretary of scientific council on conferment
of scientific degrees, D.Pharm.Sc., Professor

F.F. Urmanova
Chairman of scientific seminar under scientific council
on conferment of scientific degrees, D.Pharm.Sc.,
Professor

INTRODUCTION (abstract of doctor of philosophy dissertation (PhD))

The aim of the study is development of methods for standardization and quality control of dietary supplements in the form of "Inflamdent" gel and polymer film with hemostatic and anti-inflammatory effects, obtained on the basis of local medicinal plant materials of *polygonum hydropiper* L., *urtica dioica* L., *polygonum aviculare* L.

The object of the study is the "Inflamdent" gel, developed on the basis of a liquid extract extracted from the aerial parts of the medicinal plants *polygonum hydropiper* L., *urtica dioica* L., *polygonum aviculare* L.

The scientific novelty of the study is as follows:

for the first time, quality control methods were developed for the Inflamdent gel and polymer film based on liquid extracts obtained from local plant materials - pepper knotweed, bird's knotweed and stinging nettle;

for the first time, a mass spectroscopy technique with a high-performance liquid chromatograph was developed to determine the vitamin content in the Inflamdent gel;

a high-performance liquid chromatography method was developed to determine the authenticity and quantity of amino acids in the Inflamdent gel;

the quantitative analysis method proposed for the Inflamdent gel was validated in accordance with the requirements of ICH Topic Q2 (R1) "Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology".

Implementing findings of research. Based on the obtained results of standardization of hemostatic gel and polymer film used in dental practice:

the draft pharmacopoeial article of the enterprise for the gel "Inflamdent" was submitted for registration to the State Institution "Center for Pharmaceutical Product Safety" under the Ministry of Health of the Republic of Uzbekistan (letter submitted for registration to the State Institution "Center for Pharmaceutical Product Safety" dated January 29, 2024 No. 41 / 11-1341, letter of the Ministry of Health dated October 15, 2018 No. 8n-3 / 280). Approval of this FSP will allow the pharmaceutical enterprise LLC "DENTAFILL PLYUS" to develop a domestic drug used for dental diseases;

Technical conditions (Ts 27326037-006:2023) and Technological instructions for development (TI 27326037-006:2023) for the polymer film "Inflamdent" (dietary supplement) were approved by the Committee for Sanitary and Epidemiological Safety and Health of the Republic of Uzbekistan. In the future, this will allow developing a dietary supplement for the prevention and treatment of oral inflammation;

preclinical trials have shown that Inflamdent gel has specific pharmacological activity and does not exhibit acute toxicity (letter of the Ministry of Health dated October 15, 2018 No. 8N-3/280). The studies have made it possible to manufacture a safe drug with reliable hemostatic activity.

Structure and scope of the dissertation. The structure of the dissertation consists of an introduction, five chapters, a conclusion, a list of references and applications. The volume of the dissertation is 116 pages.

E'LON QILINGAN ISHLAR RO'YXATI
СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ
LIST OF PUBLISHED WORKS
I bo'lim (I часть; I part)

1. Gulyamova D.R., Yunusxodjayeva N.A., Madatova N.A. Stomatologiya amaliyotida qo'llaniladigan dori vositalarining assortimenti taxlili //Farmatsevtika jurnali. -2022.-№3.-6-11 b. (15.00.00., №2).

2. Yunusxodjayeva N.A., Gulyamova D.R., Rizayeva N.M. Inflamdent gelini saqlanish muddatini aniqlash //Farmatsiya.-2023.-№3.-45-49 b. (15.00.00; 31.03.2023 y.; 335).

3. Гулямова Д.Р., Юнусходжаева Н.А., Мухитдинова К.Ш., Юнусхожиев Д.Э. Валидация ВЭЖХ методики количественного определения витамина К₁ в стоматологическом геле //Farmatsiya.-2024.-№1.-14-19 b. (15.00.00; 31.03.2023 y.; 335).

4. Гулямова Д.Р., Юнусходжаева Н.А., Турсунов Х.О., Абдувохобова Г., Юнусхожиев Д.Э. Изучение аминокислотного состава в новом полученном геле //Фармацевтический вестник Узбекистана.-2024.-№3.-С. 66-69. (15.00.00., №4).

5. Gulyamova D.R., Tureyeva G.M., Yunuskhodjayeva N.A. Development of moderate composition of complex pytoparads based on medical plant raw materials // Texas journal of medical science-2024.Volume 33 -P.69-74. (ISSN: 2770-2936; ResearchBib=9,218).

II bo'lim (II часть; II part)

6. Гулямова Д.Р., Юнусходжаева Н.А., Юнусхожиева Н.Э. Исследование витамина К₁ в геле, полученном на основе местного растительного сырья //Материалы III международной научно-практической конференции, посвященной 85-летию Ташкентского фармацевтического института «Современное состояние фармацевтической отрасли: проблемы и перспективы», Ташкент.-2022.-№1(1).-P.174.

7. Yunuskhodjayeva N.A., Gulyamova D.R., Sarvarova D.M., Yunuskhodjiyeva N.E. Makroelement analysis of inflamdent gel //Scientific and innovative therapy.-2022.- P.143-144.

8. Gulyamova D.R., Yunuskhodjayeva N.A. Quantitative determination of the amount of Carotenoids in raw nettle (*Urtica dioica*) //Materials of international scientific conference «Actual problems of the chemistry of natural compounds», Institute of Chemistry of Plant Substances Academician S. Yu. Yunusov of the Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan.-Tashkent. -2023.- P.148.

9. Gulyamova D.R., Yunusxodjayeva N.A. Inflamdent geli tarkibidagi flavonoidlarni identifikatsiya qilish //«Zamonaviy farmatsevtika sohasini rivojlanishining dolzarb masalalari va tendensiyalari» mavzusidagi xalqaro

ishtirokidagi I-respublika ilmiy amaliy anjuman materiallari, Toshkent. -2023.– 45-46 b.

10. Гулямова Д.Р., Юнусходжаева Н.А., Юнусхожиев Д.Э. Определение флавоноидов в жидком экстракте методом ВЭЖХ, полученном на основе растительного сырья //Материалы I республиканской научно-практической конференции с международным участием «Актуальные вопросы и тенденции развития современной фармацевтической отрасли», Ташкент. -2023. -С. 55-57.

11. Gulyamova D.R., Yunusxodjayeva N.A. O‘simlik xom ashyosi asosida olingan gel tarkibidagi oshlovchi moddalarni aniqlash // Materials of VI International scientific and practical conference «Abu Ali Ibn Sino (Avicenna) and innovations in modern pharmaceutics», Tashkent.-2023.- 116-117 b.

12. Гулямова Д.Р., Юнусходжаева Н.А. Разработка метода спектрофотометрического анализа для количественного определения флавоноидов в геле //Материалы 1-й Международный форум «Asfen. Forum. Новое поколение-2023», Казахстан.-2023.- С. 176.

13. Gulyamova D.R., Tureyeva G.M., Yunusxojayeva N.A. «Gemostat» suyuq ekstraktini saqllovchi fitopardalar tarkibini asoslash //«Farmatsevtika sohasining bungi holati: muammolari va istiqbollari» IV xalqaro ilmiy amaliy anjumani materiallari, Toshkent.-2023.- 259-260 b.

14. Gulyamova D.R., Yunuskhodjayeva N.A., Tursunov X.O., Yunuskhodjiyeva N.E. Study of biologically active substances in gel obtained on the basis of local plant raw materials //International Journal of Materials and Chemistry.- 2024.-14 (2) -P.13-18. (ISSN: 2166-5346; CAS).

15. Gulyamova D.R., Yunusxodjayeva N.A. Mahalliy xomashyo asosida olingan plyonka tarkibidagi flavonoidlarni o‘rganish // Materials of VII International scientific and practical conference «Abu Ali Ibn Sino (Avicenna) and innovations in modern pharmaceutics», Tashkent.-2024.- 131-132 b.

16. Gulyamova D.R., Yunuskhodjayeva N.A., Yunuskhodjiyev D.E. Studies of the additives contained in the film obtained on the basis of local plant raw materials // Materials of IV International Scientific and Practical Internet Conference “Problems and achievements of modern biotechnology”, Kharkiv.-2024.-P.25-26.

Avtoreferat «Farmatsevtika jurnali» tahririyatida tahrirdan o'tkazilib, o'zbek, rus va ingliz tillaridagi matnlar o'zaro muvofiqlashtirildi.

Bosmaxona litsenziyasi:



9338

Bichimi: 84x60 $\frac{1}{16}$. «Times New Roman» garniturası.
Raqamli bosma usulda bosildi.
Shartli bosma tabog'i: 3,5. Adadi 100 dona. Buyurtma № 40/24.

Guvohnoma № 851684.
«Tipograff» MCHJ bosmaxonasida chop etilgan.
Bosmaxona manzili: 100011, Toshkent sh., Beruniy ko'chasi, 83-uy.