

EVALUATION OF ENOXOLONE SUBSTANCE COMPLIANCE WITH PHARMACOPOEIAL REQUIREMENTS

Fayzullaeva D.B.¹, Tursunov Kh.O.^{1,2}, Sharipov A.T.¹, Boboyev Z.D.^{1,2},

¹Tashkent Pharmaceutical Institute, Republic of Uzbekistan, Tashkent

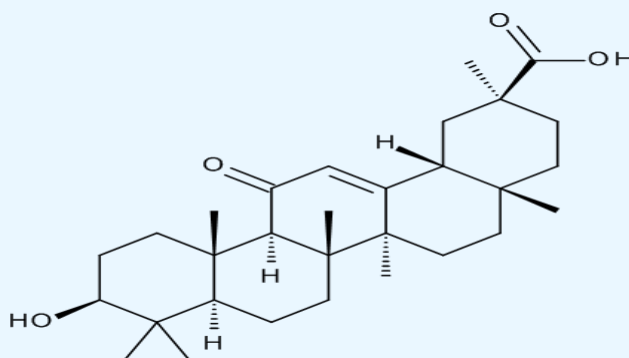
²Center for Safety of Pharmaceutical Products, Republic of Uzbekistan, Tashkent

In this study, the quality attributes of the active pharmaceutical substance enoxolone were evaluated in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia (DF), United States Pharmacopeia (USP), and European Pharmacopoeia (Ph. Eur.). Enoxolone is a natural triterpenoid compound isolated from the root of licorice (*Glycyrrhiza glabra*) with anti-inflammatory, gastroprotective, antiviral, and mineralocorticoid-like activities. The substance was identified using infrared (IR) spectroscopy. The obtained spectra fully complied with pharmacopoeial standards, confirming the accuracy of enoxolone's chemical structure. The quantitative composition and purity of the substance were determined by high-performance liquid chromatography (HPLC/YuSSX); the main component peak was symmetrical, and its retention time matched that of the standard reference. Additionally, physicochemical parameters, including moisture content (loss on drying) and inorganic residue on ignition (residue on ignition), were in compliance with pharmacopoeial requirements. These results indicate the stability of the substance during storage and manufacturing, as well as its high quality and pharmaceutical efficacy. The study also noted that, in accordance with scientific literature and recommendations of the European Pharmacopoeia, the solubility of poorly water-soluble active substances and their pharmacological and biopharmaceutical performance can be improved by forming inclusion complexes with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD) and γ -cyclodextrin. This approach significantly enhances the solubility, stability, and bioavailability of enoxolone, thereby improving the quality and therapeutic efficacy of the dosage forms.

Keywords: Enoxolone, *Glycyrrhiza glabra*, USP, Ph. Eur, pharmaceutical substance, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (HP- β -CD), γ -cyclodextrin, HPLC (HPLC), IR, loss on drying, residue on ignition, quality control, pharmacopoeial analysis.

Kirish: Dori vositalarining sifatini, xavfsizligi va terapevtik samaradorligini ta'minlashda farmakologik faol moddalarning fizik-kimyoviy xossalari, ayniqsa eruvchanlik darajasi, muhim mezonlardan biri hisoblanadi. O'z.Res. Davlat Farmakopeyasi hamda Yevropa Farmakopeyasi [1;5] talablariga muvofiq, faol farmatsevtik substansiyalarning eruvchanligi, barqarorligi va biofoydalanish ko'rsatkichlari dori vositalari sifatini baholashda asosiy nazorat parametrlaridan biri sifatida belgilangan. [1;5]

Enoksolon (18 β -glitsirretin kislota) — tabiiy kelib chiqishga ega bo'lgan triterpenoid birikma bo'lib, yallig'lanishga qarshi, gastroprotektiv va antivirus xususiyatlari bilan ajralib turadi hamda farmatsevtik amaliyotda faol farmatsevtik substansiya sifatida qo'llaniladi. Shu bilan birga, enoksolonning suvda past eruvchanligi uning biofarmatsevtik samaradorligini cheklovchi asosiy omillardan biridir. [2,3]



1-rasm. Enoksolon substansiyasining kimyoviy struktura formulasi.

Yevropa Farmakopeyasi monografiyalarida suvda yomon eriydigan faol moddalarning eruvchanligi va barqarorligini oshirish uchun inklyuziv komplekslar hosil qilish, xususan siklodekstrinlardan foydalanish, ilmiy jihatdan asoslangan va amaliyotda qo'llaniladigan samarali usul sifatida e'tirof etilgan [1.4]. O'zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi ham siklodekstrinlarning qo'llanishini qo'llab-quvvatlaydi [5].

Ilmiy tadqiqotlarga ko‘ra, 2-gidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β -CD) va γ -siklodekstrin faol modda bilan “mezbon–mehmon” mexanizmi asosida inklyuziv komplekslar hosil qilib, moddaning eruvchanligi, barqarorligi hamda biofoydalanishini sezilarli darajada oshirish imkonini beradi [6.7].

Mazkur ilmiy ishda enoksolonning HP- β -CD hamda γ -siklodekstrin bilan inklyuziv komplekslar hosil qilishi orqali uning eruvchanligi va fizik-kimyoviy barqarorligini oshirish masalalari O‘zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi va Yevropa Farmakopeyasi talablariga muvofiq holda o‘rganildi. Olingan natijalar enoksolon asosida ishlab chiqiladigan dori shakllarining sifat ko‘rsatkichlarini yaxshilash, ularning biofarmatsevtik samaradorligini oshirish hamda milliy va xalqaro farmatsevtik standartlarga mos mahsulotlar yaratish imkoniyatlarini kengaytirishga xizmat qiladi.

Tadqiqotning maqsadi: enoksolon substansiyasining turli ishlab chiqaruvchilar tomonidan yetkazib beriladigan namunalari sifat ko‘rsatkichlarining farmakopeyaviy me‘yorlarga muvofiqligi bo‘yicha yetarli darajada tizimli va qiyosiy tadqiqotlar mavjud emas. Bu esa mazkur yo‘nalishda kompleks ilmiy tadqiqotlar olib borishdan iborat.

Yuqorida bayon etilgan holatlardan kelib chiqib, enoksolon faol farmatsevtik substansiyasining sifatini O‘zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi talablariga muvofiq kopleks baholash, farmatsevtik standartlashtirish va sifat nazorati tizimini takomillashtirishdan iborat.[5]

Tajriba qismi. Tadqiqot obyekti sifatida sanoat sharoitida olingan enoksolon substansiyasi tanlandi. Tahlillar O‘zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi talablariga muvofiq amalga oshirildi.[5]

Identifikatsiya infraqizil (IQ) spektroskopiya usuli.

IQ-spektroskopik tahlil IRAffinity 1S (Shimadzu, Yaponiya, seriya raqami A201965200341CZ) asbobida o‘tkazildi. Namuna qurilmaga joylashtirilib, o‘rta infraqizil mintaqaning $4000\text{--}400\text{ sm}^{-1}$ diapazoni tanlandi. O‘lchovlar 4 sm^{-1} aniqlikda 4000 sm^{-1} dan 400 sm^{-1} gacha bo‘lgan chastota oralig‘ida amalga oshirildi. Olingan

spektrda asosiy cho'qqilar aniqlanadi. Standart namuna va tekshiriluvchi modda spektrlari qiyosiy solishtirish orqali moddaning funksional guruhlariga mos keladi.

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX) usuli

Tadqiqotlarni o'tkazishda ISSHIMADZU(Япония) firmasining IRAffinity (seriya raqami A20196500341) qo'llanildi. Tadqiqot obyekti sifatida enoksalon substansiyasi olindi, ishchi standart namuna sifatida esa tarkibi 99 % bo'lgan enoksalon substansiyasi qo'llanildi.

Qo'zg'aluvchan faza: Tetragidrafuran : Natriy atsetat (430:570)

Natriy atsetat bufer eritmasining tayyorlanishi: 1,36 g/l suvdagi eritmasi pH 4,8 ga keltiriladi (konsentirlangan sirka kislotasi bilan), detektirlash - 250 nm to'lqin uzunligida, tahlil vaqti – 8 daqiqa.

Standart namuna tayyorlash: Enoksalon ishchi standartining aniq 10 mg tortmasi 100 ml hajmdagi o'lchov kolbasiga solinadi. Modda qo'zg'aluvchan fazada eritilib, hajm belgigacha yetkaziladi.

Tekshiriluvchi namuna tayyorlash: Enoksalon ishchi substansiyasining aniq 10 mg tortmasi 100 ml hajmdagi o'lchov kolbasiga solinadi. Modda qo'zg'aluvchan fazada eritilib, hajm belgigacha yetkaziladi.

- Kolonka: C18 (250 × 4,6 mm, 5 μm)
- Qo'zgaluvchan faza: 430 hajm qismi tetragidrofuran R va pH 4,8 gacha muzli sirka kislotasi R bilan yetkazilgan, konsentrasiyasi 1,36 g/l bo'lgan natriy asetati R eritmasining 570 hajm qismi: metanol (60:40)
- Oqim tezligi: 0,8 ml/min
- Deteksiya to'lqin uzunligi: 250 nm
- Inyeksiya hajmi: 20 μl
- Qo'zg'almas faza harorati: 25-30 °C
- Yuboriladigan namuna: 20 mkl hajmli halqali injektor yordamida tekshiriluvchi va standart eritmalar yuboriladi.
- Xromatografiyalash davomiyligi: enoksalonning ushlab turilish vaqtidan 4 baravar ko'p vaqt davomida.

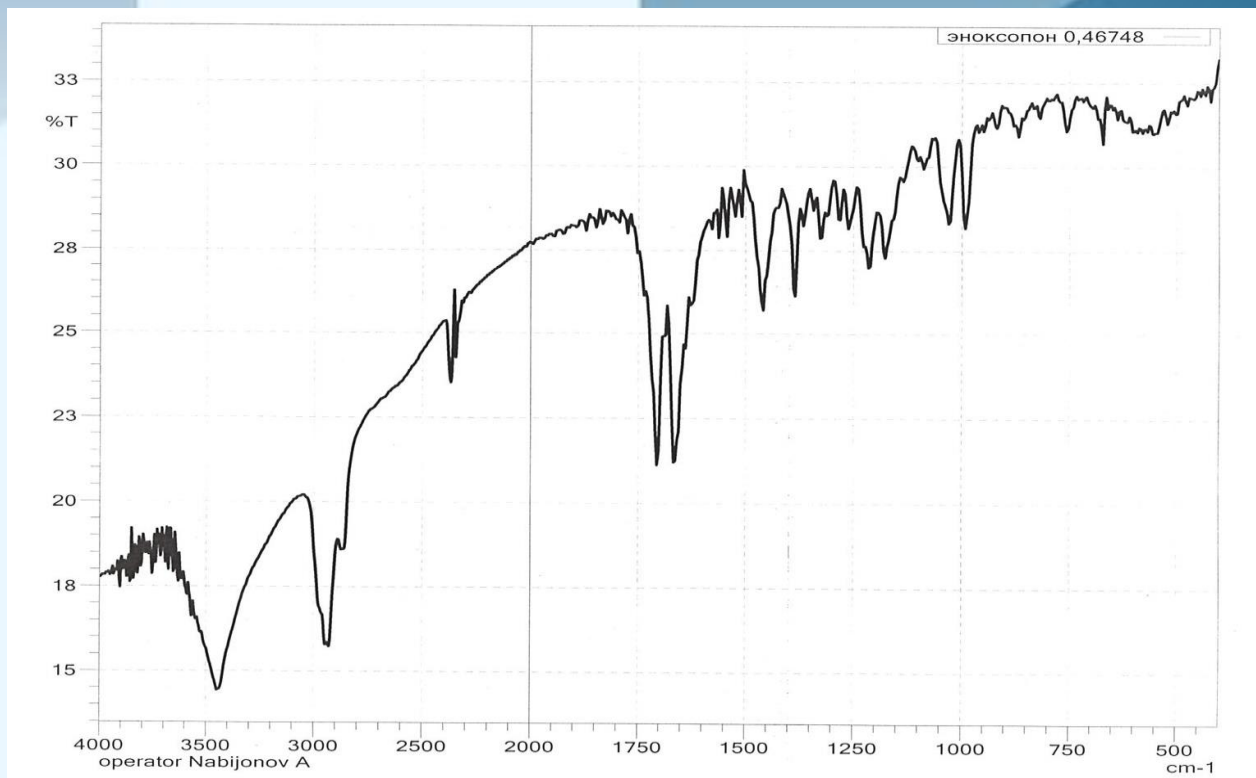
Mazkur sharoitlarda enoksalon aniq, simmetrik cho'qqi hosil qiladi va retensiya vaqti standart namunaga mos keladi.

Quritishda massa yo'qotilishi (Loss on drying) usuli. Substansiyaning namlik miqdorini aniqlash uchun quritishdagi massa yo'qotilishi (Loss on drying) orqali, noorganik qoldiq miqdori esa sulfatlangan kul (Residue on ignition) usuli bilan aniqlandi. Tahlil termoregulyatorli quritish shkafi (drying oven) yordamida o'tkazildi. Tajribada "HS MEGA PYRO' L-548" tipidagi quritish shkafi qo'llanilib, harorat 105 ± 2 °C darajada saqlandi.

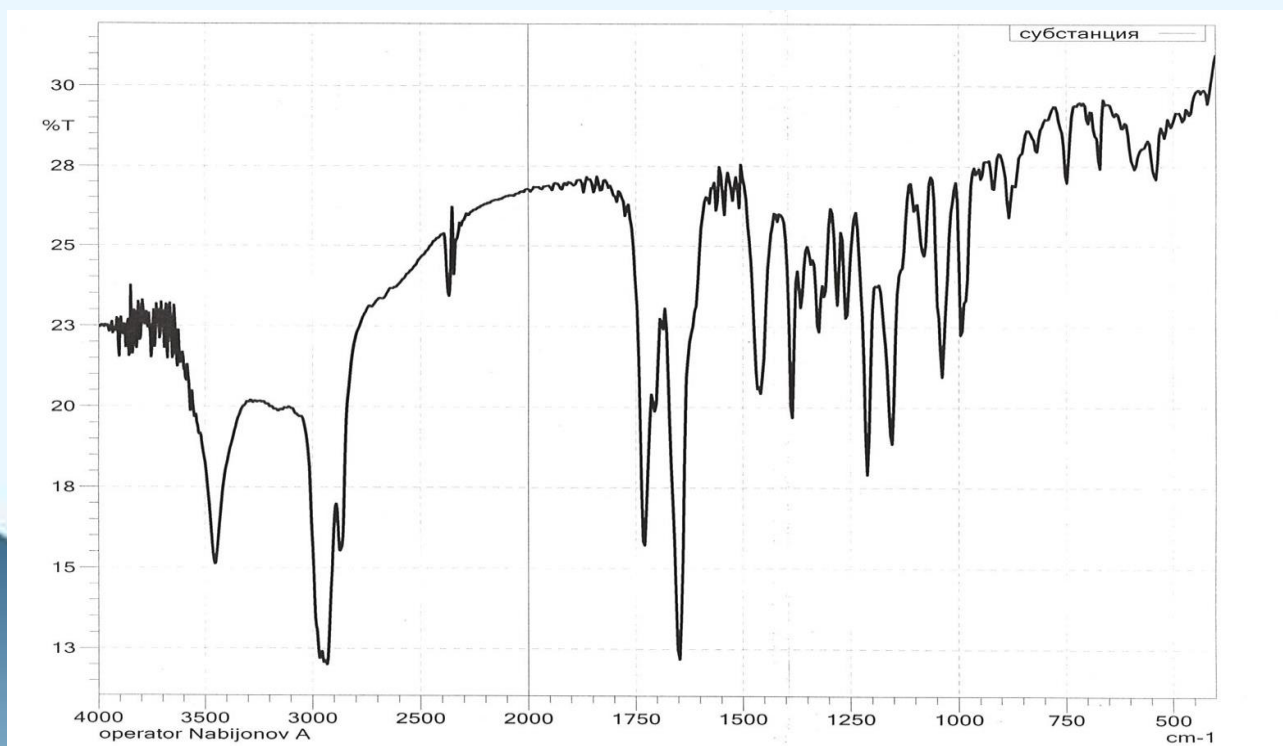
Sulfatlangan kul usuli

Chinni tigel (600 ± 50) °C haroratda 30 daqiqa davomida qizdiriladi, so'ngra silikagel qatlamli eksikatora sovutiladi va tortiladi. Tayyorlangan tigelga 1,0 g enoksalon substansiyasi solinadi va tortiladi. Sinov moddasiga 1 ml konsentrlangan sulfat kislotasi qo'shiladi, so'ng namuna to'liq ko'mirlanguncha imkon qadar past haroratda ehtiyotkorlik bilan qizdiriladi. Sovutilgandan so'ng qoldiq yana 1 ml sulfat kislotasi bilan namlanadi, oq bug'lar ajralishi to'xtaguncha ehtiyotkorlik bilan qizdiriladi, keyin esa 600 °C atrofidagi haroratda qoldiq to'liq kul holatiga kelguncha qizdiriladi. Tigel silikagel ustidagi eksikatora sovutiladi va tortiladi. Massalar farqi asosida sulfatlangan kulning foiz miqdori hisoblab chiqiladi.

Natijalar: O'zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi tahlil natijalari enoksalon substansiyasining yuqori sifat ko'rsatkichlariga ega ekanligini ko'rsatdi. IQ-spektroskopiya natijalariga ko'ra, substansiyaning spektrlari USP standarti bilan to'liq mos keldi va uning **chinligi** tasdiqlandi.[5]



2-rasm. Enoksalon SN eritmasining IK-spektri



3-rasm. Enoksalon substansiyasining IK-spektri

Tahlil qilingan enoksalon namunasining IQ-spektrida quyidagi diagnostik belgilar aniqlandi va olingan natijalar 1-jadvalda keltirilgan.

Enoksalon substansiyasining IK-spektroskopiya natijalari

To'lqin soni (sm^{-1})	Yutilish intensivligi	Funksional guruh	Enoksalonga xos izoh
3500–3200	Keng, kuchli	–OH	Enoksalon molekulasidagi gidroksil guruhi, kuchli vodorod bog'lari bilan bog'langan
2940–2850	O'rtacha	C–H	Pentatsiklik triterpen skeletiga xos alifatik C–H bog'lari
1715–1700	Kuchli	C=O	Karboksil guruhi (–COOH) va keton karbonil tebranishlari
1660–1640	O'rtacha	C=C	Tr iterpen yadrosidagi olefin bog'lari
1460–1380	O'rtacha	CH ₂ , CH ₃	Metil va metilen guruhlarining deformatsion tebranishlari
1260–1030	Kuchli	C–O	Karboksil va gidroksil guruhlariga xos C–O valent tebranishlari
900–750	Past–o'rtacha	C–H	Siklik tuzilmalardagi tashqi tekislik tebranishlari

USP, British Pharmacopoeia (BP) va European Pharmacopoeia (Ph. Eur.) talablariga muvofiq, Enoksalon substansiyasi infraqizil spektroskopiya usuli yordamida identifikatsiya qilindi va olingan spektr rasmiy referens spektr bilan mos keldi. Qo'shimcha yoki begona cho'qqilar aniqlanmadi.

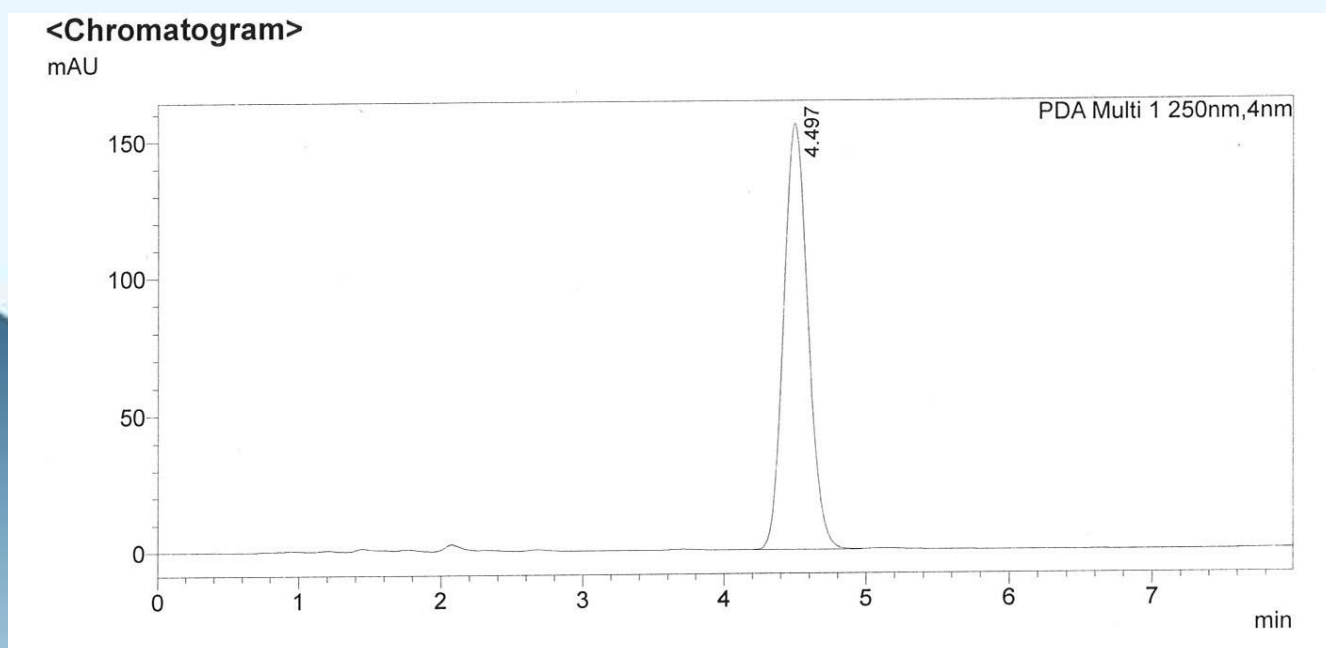
O'zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi nuqtayi nazaridan xulosa olingan IR-spektr ma'lumotlari enoksalon substansiyasining chinligini, kimyoviy tuzilishini, va farmakopeya talablariga muvofiqligini tasdiqlaydi. Infraqizil

spektroskopiya usuli enoksalon substansiyasini identifikatsiya qilishda oddiy, tezkor va ishonchli usul hisoblanadi.

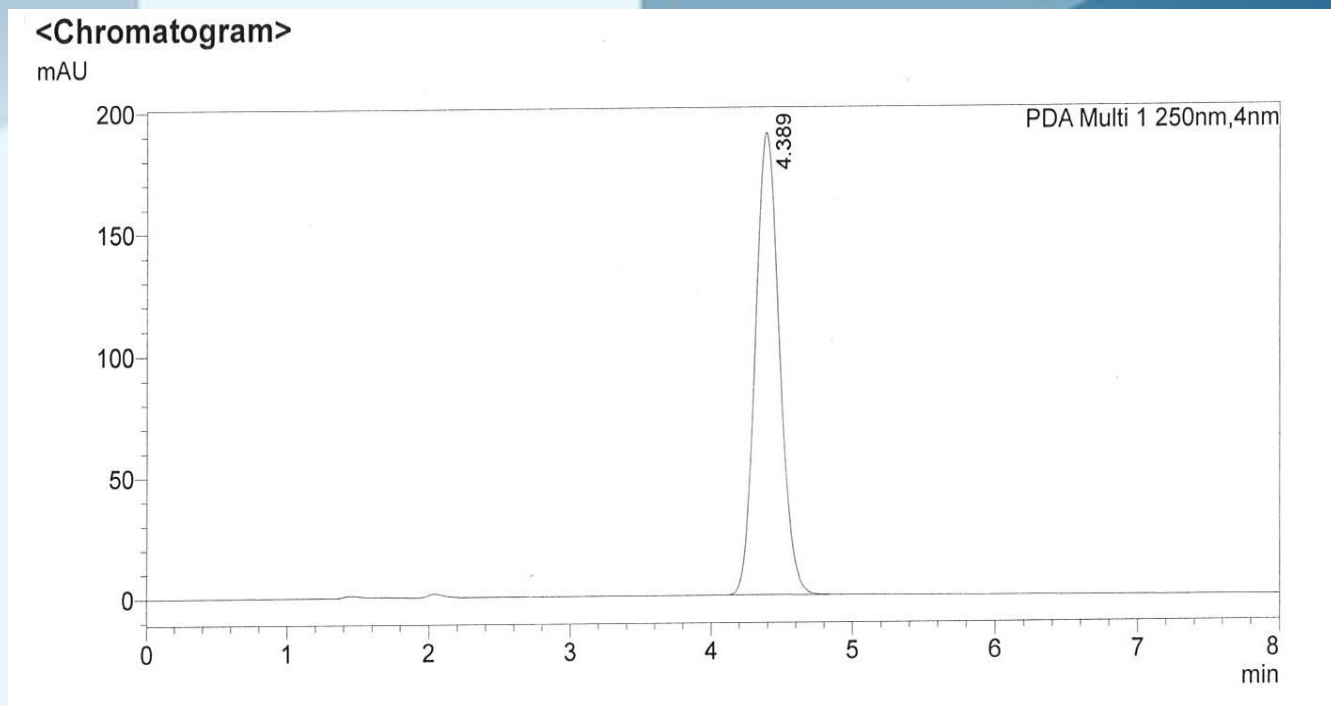
IQ-spektroskopiya natijalari substansiyaning identifikatsiyasini tasdiqlab, olingan IQ-spektr farmakopeya standart namunasi spektriga mos kelishini ko'rsatdi. Spektrda moddaning tuzilishiga xos bo'lgan funksional guruhlarining xarakterli yutilish spektri aniq kuzatildi, bu esa substansiyaning kimyoviy identikligini ishonchli tasdiqlaydi.

Enoksalon substansiyasining yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi bo'yicha natijalari

Yuqori samarali suyuqlik xromatografiyasi (YuSSX) farmatsevtik substansiyalarning miqdoriy aniqlanishi, tozaligi va barqarorligini baholashda keng qo'llaniladigan zamonaviy, yuqori aniqlikka ega analitik usullardan biri hisoblanadi. Enoksalon substansiyasi uchun YuSSX usuli BP va PhEur farmakopeyalarida tavsiya etilgan asosiy miqdoriy tahlil usuli sifatida e'tirof etilgan. YuSSX usuli enoksalon molekulalarining statsionar faza (kolonka) bilan o'zaro ta'siri va harakatchan faza oqimi orqali ushlanish vaqti bo'yicha ajralishiga asoslanadi. Ajralgan modda UB-detektorda ma'lum to'lqin uzunligida aniqlanadi va hosil bo'lgan cho'qqi maydoni asosida moddaning miqdori hisoblanadi.



4-rasm. A-Enoksalon substansiyasining xromatogrammasi



5-rasm. Enoksalon standart namuna eritmasining xromatogrammasi

YuSSX usuli yordamida substansiyaning miqdoriy tarkibi aniqlanib, asosiy modda cho'qqisi aniq va simmetrik ko'rinishda ajralgani kuzatildi. Standart namunaning ushlanish vaqti – 4,389 daqiqani tashkil qildi va tekshiriluvchi moddaga mos keladi, qo'shimcha aralashmalar piklarining mavjud emasligi yoki ruxsat etilgan chegaralarda ekanligi qayd etildi. Olingan natijalar substansiyaning yuqori tozalikka ega ekanligini va O'zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi talablariga muvofiqligini ko'rsatdi.[5]

Sulfatlangan kul (Residue on ignition) usuli bo'yicha natijalar

Sulfatlangan kul (Residue on ignition) usuli O'zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi va PhEur farmakopeyalarida substansiyaning namlik miqdori hamda noorganik qoldiq ko'rsatkichlari dori moddasining barqarorligi va tozaligini baholashda muhim sifat ko'rsatkichlari sifatida belgilangan.[1;5] Ushbu farmakopeyalar mazkur parametrlarni aniqlashda mos ravishda Loss on Drying va Residue on Ignition (Sulfated Ash) usullarini tavsiya etadi. Talablar mazmunan o'xshash bo'lib, ayrim hollarda ruxsat etilgan me'yoriy chegaralarda kichik farqlar kuzatiladi. Ko'rsatkich talablari 2-jadvalda keltirilgan.

USP / BP / PhEur bo'yicha sifat talablari

Ko'rsatkich	USP talabi	BP talabi	PhEur talabi	Natija
Quritishdagi massa yo'qotilishi (Loss on Drying)	$\leq 5,0 \%$	$\leq 5,0 \%$	$\leq 5,0 \%$	0,20%
Sulfatlangan kul (Residue on Ignition)	$\leq 0,1 \%$	$\leq 0,1 \%$	$\leq 0,1 \%$	0,04%

O'tkazilgan tahlillar natijasida substansiyaning namlik miqdori quritishdagi massa yo'qotilishi usuli orqali aniqlanib, O'zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi va Yevropa farmakopeyalarida belgilangan me'yoriy chegaralardan oshmasligi tasdiqlandi.[1,5] Bu esa substansiyaning saqlash davomida barqarorligini va texnologik jarayonlarga yaroqliligini ko'rsatadi.

Shuningdek, sulfatlangan kul miqdori farmakopeya talablariga muvofiq bo'lib, modda tarkibida noorganik aralashmalar miqdori ruxsat etilgan darajada ekanligini tasdiqlaydi. Kul miqdorining farmakopeyada belgilangan me'yoriy chegaralardan oshmasligi xom ashyo va ishlab chiqarish jarayonida noorganik ifloslanishlar yo'qligini ko'rsatadi.

Olingan natijalar asosida substansiya Yevropa va O'zbekiston Respublikasi farmakopeyalari talablariga to'liq javob berishi, sifat ko'rsatkichlari bo'yicha tayyor dori shakllarini ishlab chiqarishda qo'llashga yaroqli ekanligi xulosa qilindi.

O'tkazilgan tadqiqot natijalariga ko'ra, enoksalon substansiyasi Yevropa va O'zbekiston Respublikasi farmakopeyalari talablariga barcha asosiy sifat ko'rsatkichlari bo'yicha to'liq javob beradi.[1,5] Olingan natijalar substansiyaning farmatsevtik ishlab chiqarishda faol farmatsevtik ingredient sifatida ishlatilishi mumkinligini tasdiqlaydi. USP talablariga asoslangan sifat nazorati milliy

farmatsevtika tizimini xalqaro standartlar bilan uyg'unlashtirishga xizmat qiladi hamda dori vositalari xavfsizligi va sifatini ta'minlashda muhim ahamiyatga ega.

Xulosa:

O'tkazilgan tadqiqotlar natijalari enoksalon substansiyasining Yevropa va O'zbekiston Respublikasi farmakopeyalari talablariga to'liq mos kelishini tasdiqladi. IQ-spektroskopiya, yuqori samarali suyuqlik xromatogrammasi va sulfatlangan kul usullari moddaning aslligi va sifat barqarorligini isbotladi. Olingan natijalar enoksalonni farmatsevtik xomashyo sifatida dorivor preparatlar ishlab chiqarishda qo'llash mumkinligini ko'rsatadi.

Foydalanilgan adabiyotlar ro'yxati:

1. European Pharmacopoeia (Pharmacopoea Europaea).11.2025 p. 4805-4807.
2. Risk and safety assessment on the consumption of Licorice root (*Glycyrrhiza* sp.), its extract and powder as a food ingredient, with emphasis on the pharmacology and toxicology of glycyrrhizin. 2006 Dec;46(3):p.167-92.
3. Synthesis, modification and biological activity of 2,3-indoles of Glycyrrhetic acid.2025 Jul;39(14):p. 3991-3996.
4. Glycyrrhetic acid ameliorates gastric mucosal injury by modulating gut microbiota and its metabolites via Thbs1/PI3K-Akt/p53 pathway. 2025 Jul;142:156745
5. O'zbekiston Respublikasi Davlat Farmakopeyasi. I/I/I 2021.
6. Prodea, A., Mioc, A., Banciu, C., Trandafirescu, C., Milan, A., Racoviceanu, R., Ghiulai, R., Mioc, M., & Soica, C. (2022). The role of cyclodextrins in the design and development of Triterpene-Based therapeutic agents. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(2), 736. <https://doi.org/10.3390/ijms23020736>
7. Seckl, J. R., Kelly, P. A., & Sharkey, J. (1991). Glycyrrhetic acid, an inhibitor of 11 β -hydroxysteroid dehydrogenase, alters local cerebral glucose utilization in vivo. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*, 39(5), 777–779. [https://doi.org/10.1016/0960-0760\(91\)90379-j](https://doi.org/10.1016/0960-0760(91)90379-j)