

УДК 547.944+54.056+615.07+615.32

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ СПОСОБА КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ N-ДЕЗАЦЕТИЛЛАППАКОНИТИНА ГИДРОБРОМИДА В СУБСТАНЦИИ ПРЕПАРАТА АНТИАРИТМИН МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ*

© Д.К. Муталова**, Ш.А. Отаева, Р.А. Ботиров, А.З. Садиков, Ш.Ш. Сагдуллаев

*Институт химии растительных веществ им. акад. С.Ю. Юнусова АН РУз,
ул. Мирзо Улугбека, 77, Ташкент, 100170 (Узбекистан),
e-mail: noza-gold@mail.ru*

В настоящее время в мировых исследовательских центрах различных стран изучены химические составы растительного сырья на содержание дитерпеноидных алкалоидов, определены их фармакологические и токсикологические свойства, проведены технологические исследования в области получения их в производстве. В Институте химии растительных веществ проводятся исследования по изучению дитерпеноидных алкалоидов растений рода *Aconitum*, в частности, исследования по установлению их химической структуры, биосинтеза, фармакологические и токсикологические свойства дитерпеноидных алкалоидов и их технология получения.

Возрастающие требования к безопасности, эффективности и качеству лекарственных средств обуславливают необходимость разрабатывать новые и совершенствовать существующие методы их анализа. Как правило, качество субстанций обеспечивается комплексом аналитических методов, позволяющих подтвердить их подлинность, определить чистоту и количественное содержание действующего вещества. Используемые для этого методы и методики нуждаются в постоянном совершенствовании. Учитывая вышесказанное, актуальной является проблема сравнительного изучения физико-химических методов, используемых для анализа субстанций. Объектом исследования выбрана субстанция Антиаритмина. Разработан новый метод качественного и количественного определения N-дезацетиллаппаконитин гидробромида в субстанциях Антиаритмин. Проведен сравнительный анализ метода спектрофотометрии и метода ВЭЖХ количественного определения N-дезацетиллаппаконитин гидробромида в субстанциях Антиаритмин.

Метод ВЭЖХ в изократическом режиме применен для чувствительного определения N-дезацетиллаппаконитин гидробромида (N-ДАГ). Данная методика проста и хорошо воспроизводится. Результаты валидации показали, что методика обладает хорошей линейностью и внутрилабораторной прецизионностью. Разработанная методика может быть использована для определения N-дезацетиллаппаконитин гидробромида в субстанции при контроле качества.

Ключевые слова: дитерпеноидные алкалоиды, Антиаритмин, N-дезацетиллаппаконитин гидробромид, количественное определение.

Введение

Муталова Дилноза Каримбердиевна – младший научный сотрудник экспериментально-технологической лаборатории, e-mail: noza-gold@mail.ru

Отаева Шахзода Ахтамовна – начальник отдела контроля качества, e-mail: noza-gold@mail.ru

Ботиров Рузали Анварович – PhD, старший научный сотрудник экспериментально-технологической лаборатории, e-mail: botirov@mail.ru

Садиков Алимджан Заирович – доктор технических наук, старший научный сотрудник экспериментально-технологической лаборатории, e-mail: sadikov48@list.ru

Сагдуллаев Шамансур Шахсаидович – доктор технических наук, профессор, директор, e-mail: noza-gold@mail.ru

При изучении фармакологических и токсикологических свойств было выявлено, что главный метаболит лаппаконитина (Аллапинин) – N-дезацетиллаппаконитин гидробромид (Антиаритмин) обладает выраженным противоаритмическим и противofiбрилляторным действием при нарушениях сердечного ритма, индуцированных у различных животных аконитином, хлоридом бария, электрическим раздражением камер сердца и окклюзией коронарной артерии. В отличие от Аллапинина, N-

* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprtm.20220411308s

** Автор, с которым следует вести переписку.

ДАГ менее токсичен, обладает большей терапевтической широтой, превосходит Аллапинин по скорости развития противоаритмического эффекта [1–3].

В настоящее время актуальной является оптимизация методов контроля качества растительных лекарственных средств и в том числе исходного сырья [4, 5].

Развитие методов высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) расширяет возможности ее использования для анализа лекарственного растительного сырья, которая за последние 30 лет во многом определила заметный прогресс в аналитической химии [6, 7].

ВЭЖХ как высокочувствительный и универсальный метод анализа, которому во многих случаях нет альтернативы, позволяет одновременно идентифицировать требуемый продукт, сопутствующие вещества и отличается достаточной точностью и воспроизводимостью [8].

С целью изучения современных подходов к стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) данная работа посвящена оптимизации стандартизации субстанции нового антиаритмического препарата, получаемого из вторичных продуктов производства Аллапинина, широко применяемого в медицине в качестве антиаритмического средства [9–11].

Установлено, что в процессе производства Аллапинина в отходах остаются сопутствующие родственные лаппаконитину дитерпеноидные алкалоиды, которые также обладают антиаритмической активностью [12]. На основе их создан препарат Антиаритмин [13], применяемый в фармакологической практике. Антиаритмин представляет собой бромистоводородную соль алкалоида N-дезацетиллаппаконитина (8 β ,9 β -дигидрокси-1 α ,14 α ,16 β -триметокси-4 β -антроноилокси-N-этилаконитан) (рис. 1.) с сопутствующими алкалоидами (бромистоводородные соли лаппаконитина, N-ацетилсепаконитина и ранаконитина), который получают из отходов производства субстанции антиаритмического препарата Аллапинина, широко применяемого в медицине в качестве лекарственного средства [13–15].

При производстве этого препарата важным является постадийный контроль производства с применением аналитических методов и валидация применяемых методик для анализа, качественного и количественного определения алкалоидов на всех стадиях производства [12].

Целью данного исследования является разработка качественного и количественного метода определения Антиаритмина и оптимизация количественного определения методом ВЭЖХ для стандартизации препарата Антиаритмина. Ранее количественное содержание N-Деацетиллаппаконитин гидробромида согласно ВФС 42 Уз-3260-2017 «Антиаритмин» проводилось методом спектрофотометрии (СФ) (не менее 97.5%) [16].

Однако с развитием аналитических методов анализа целесообразно разрабатывать альтернативные количественные методики. В связи с этим нами выбран метод ВЭЖХ из-за его высокой чувствительности, универсальности, экспрессности, точности и воспроизводимости.

Также проводили хроматографическое разделение на тонком слое силикагеля в системе растворителей бензол-хлороформ-диэтиламин [17]. Вещества обнаруживали в УФ-свете или после опрыскивания реактивом Драгендорфа. Разделение Антиаритмина на тонкослойной хроматографии (ТСХ) приведено в работе.

Разработана ВЭЖХ-методика для стандартизации субстанции препарата Антиаритмина. Проведена валидация метода и рассчитаны метрологические характеристики количественного содержания N-дезацетиллаппаконитин гидробромида в субстанции методом ВЭЖХ [18, 19]. Установлено, что методика прецизионна в условиях повторяемости правильна, обладает линейной зависимостью в пределах определения и воспроизводима.

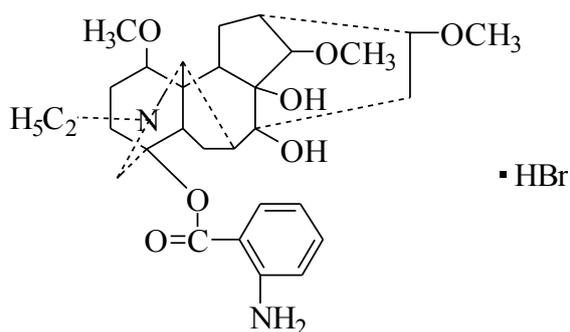


Рис. 1. Структурная формула N-Деацетиллаппаконитин гидробромида

Экспериментальная часть

В качестве объекта исследования были взяты образцы субстанции Антиаритмина производства ИХРВ АНРУз. Методом ТСХ в работе проведено разделение субстанции препарата Антиаритмин на пластинке с силикагелем 60 F254 на алюминиевой подложке в системе бензол-хлороформ-диэтиламин (40 : 10 : 3).

Приготовление 1% раствора препарата. 0.02г препарата растворяют в 2 мл спирта метилового (1% раствор). На линию старта пластинки с силикагелем наносят 0.01 мл (100 мкг) 1% раствора препарата в виде точки (т. 1). Пластинку высушивают на воздухе в течение 10 мин и помещают в ненасыщенную камеру со смесью растворителей бензол – хлороформ – диэтиламин в соотношении 40 : 10 : 3.

Когда фронт растворителей пройдет до финиша, ее вынимают из камеры, сушат в вытяжном шкафу до исчезновения запаха растворителей и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм. На хроматограмме из точки 1 должна проявиться основная зона адсорбции фиолетового цвета на уровне зоны из точки 2 (N-дезацетиллапаконитин, $R_f=0.82$). Кроме основной зоны из точки 1 могут проявляться еще до 4 зон сопутствующих алкалоидов с R_f от 0.5 до 1.4.

Применяемые для хроматографии растворители имели квалификацию «чда» и «хч» и дополнительно очищались перегонкой. Пластины помещали в специальные камеры для хроматографирования. Анализируемые растворы наносили микропипеткой или микрошприцом. Для проявления хроматограммы в УФ-свете применяли хроматоскоп (254 нм) и стеклянные пульверизаторы. Хроматограмма считается достоверной, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

Проверка пригодности хроматографической системы. Хроматографическая система считается пригодной, если наблюдается четкое деление зон адсорбции сопутствующих алкалоидов; зона N-дезацетиллапаконитина на хроматограмме имеет R_f не менее 0.8.

Для количественного анализа Антиаритмина применен метод спектрофотометрии и метод ВЭЖХ. Исследования проводили на УФ-спектрофотометре Shimadzu UV-1800 с двухлучевой оптической схемой, спектральным диапазоном 190–1100 нм, с детектором – кремниевым фотодиодом и шириной щели 1 нм. Концентрация растворов подбиралась таким образом, что их оптическая плотность находилось в интервале 0.2–0.6. Исследуемый объект был проанализирован методом спектрофотометрии по ВФС 42 Уз-3260-2017 «Антиаритмин». В ходе исследования готовили раствор стандартный образец (СО) Антиаритмина и субстанцию нижеприведенным способом.

Приготовление стандартного образца Антиаритмина. Около 0.05 г стандартного образца Антиаритмина помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 15 мл дистиллированной воде, доводили до метки водой перемешивали, 2 мл раствора переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили водой до метки и перемешивали.

Приготовление испытуемого образца препарата Антиаритмина. Около 0.05 г порошка субстанции Антиаритмина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 80 мл воды и доводят водой до метки. 2 мл раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 330 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют воду. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца Антиаритмина [20]. При анализе УФ-спектр раствора СО Антиаритмина не отличался от спектра испытуемого раствора.

Содержание N-дезацетиллапаконитина в субстанции Антиаритмина в 1 мл раствора вычисляли по формуле:

$$C = \frac{A \cdot 100 \cdot 100}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m_{\text{нав}}}$$

где А – оптическая плотность испытуемого раствора; $m_{\text{нав}}$ – масса действующего вещества в навеске; Е – удельный показатель поглощения стандартного образца при длине волны 330 нм.

Значение повторяемости было равно пяти. Данные представлены в таблице 1.

Результаты статистической обработки определения содержания N-дезацетиллапаконитина в субстанции методом спектрофотометрии, представлены в таблице 2.

Из таблицы 2 следует, относительная ошибка метода количественного определения Антиаритмина спектрофотометрическим методом составила 0.45.

Для анализа субстанции Антиаритмина методом ВЭЖХ использовали хроматограф Shimadzu. Хроматографирование проводили при следующих условиях: колонка C18 из нержавеющей стали (25 см × 4.6 мм, размером частиц 5 мкм) или аналогичная; детектор УФ 330 нм; скорость потока 0.7 мл/мин.; температура термостата колонки 45±2 °С; объем введения 20 мкл. При анализе использовался буферный раствор с рН 8.0. Подвижная фаза: ацетонитрил – 0.1 М, буферный раствор в соотношении (65 : 35).

Валидацию аналитической методики проводили в соответствии с [18, 19].

На хроматограмме водного раствора субстанции Антиаритмина отсутствовали мешающие пики со временами удерживания, соответствующими пикам N-дезацетилапкоконитин гидробромида, что подтверждает специфичность предлагаемой методики.

На основании графика зависимости площади полученных пиков от концентрации Антиаритмина в модельных смесях была доказана линейность методики в диапазоне концентраций Антиаритмина от 5.6 мкг/мл до 11.2 мкг/мл. Полученные результаты показали, что существует линейная зависимость между площадью пика и количеством N-дезацетилапкоконитина, нанесенного на колонку, что подтверждается значением коэффициента корреляции: $R^2=0.999$ (рис. 4). Полученное уравнение, представленное в форме $y=ax+b$, имеет вид: $a=61715$, $b=2798$.

Хроматограмма и график представлен на рисунке 2, 3. Для оценки прецизионности (сходимости) результатов был рассчитан коэффициент вариации, не превышающий 1% (0.22%).

Предел обнаружения Антиаритмина был установлен на уровне 0.22 мкг/мл. Предел количественного определения составил 0.66 мкг/мл. Пределы устанавливали согласно отклонениям сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика.

Внутрилабораторную прецизионность оценивали по результатам определения Антиаритмина: 2 раствора, приготовленные разными химиками-аналитиками. Анализ проводили по методике определения Антиаритмина методом ВЭЖХ. Каждый химик хроматографировал 5 раз по три повторности, на приведенной таблице приведены средние значения результатов.

Таблица 1. Результаты исследования повторяемости СФ определения Антиаритмина

Опыт	Масса навески	Длина волны	Результат, С%
1	0.05166	330	98.45
2	0.04999	330	97.80
3	0.04899	330	98.20
4	0.05015	330	97.90
5	0.48760	330	97.54

Таблица 2. Результаты статистической обработки определения содержания N-дезацетилапкоконитина в субстанции Антиаритмина

n	X_{cp}	S^2	S	P, %	t(P,f)	$\pm\Delta x$	ϵ	$\dot{\epsilon}$	RSD, %
5	97.978	0.126	0.355	95	2.78	0.9869	1.007	0.45	0.36

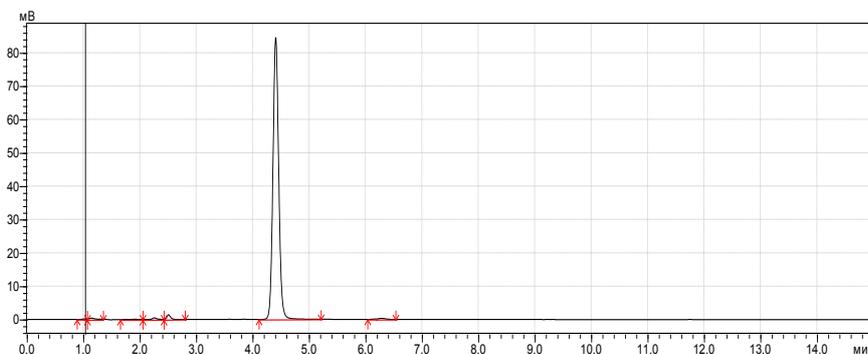


Рис. 2. Хроматограмма раствора Антиаритмина (в.у. 4.432 мин)

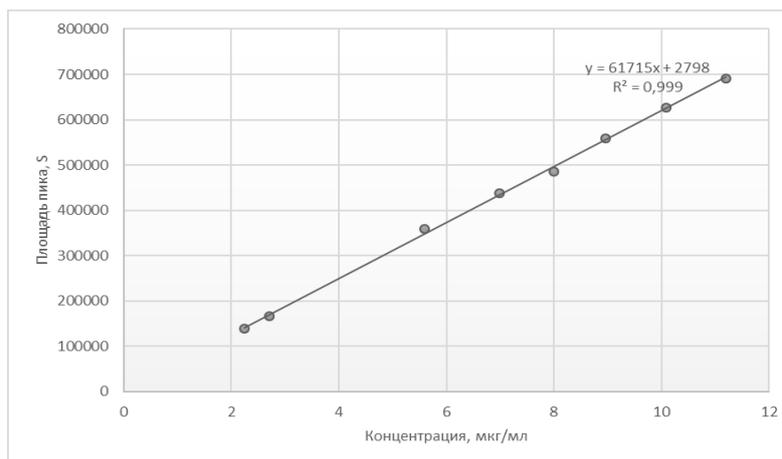


Рис. 3. Градуировочный график зависимости площади пика Антиаритмина от концентрации

Результаты проведенного анализа обобщены в таблицах 3, 4. Было проведено пять параллельных измерений. Полученные данные обрабатывали статистически. Результаты исследования количественного определения Антиаритмина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии представлены в таблицах 3, 4.

Значения X для различных дней должны быть статистически неотличимы, что при отсутствии грубых погрешностей свидетельствует об удовлетворительной внутрилабораторной прецизионности.

Для проверки этого рассчитывают средневзвешенное стандартное отклонение S_0 :

$$S_0 = \sqrt{(S_1 + S_2) / 2},$$

где S_1 – стандартное отклонение результатов первого дня; S_2 – стандартное отклонение результатов второго дня; 2 – количество дней измерений.

Модуль разницы между средними значениями X для различных дней должен удовлетворять соотношению:

$$|X_{cp1} - X_{cp2}| \leq \sqrt{2} \cdot t(0.95; f) \cdot \frac{S_0}{\sqrt{n}},$$

где $f = 2(n-1)$, n – число параллельных измерений (табл. 5).

На основании данных, представленных в таблице 3, 4 методика может быть признана правильной. Численное значение коэффициента нормированных отклонений (коэффициента Стьюдента), рассчитанное по результатам анализа, составило $t=2.12$, что ниже табличного значения коэффициента Стьюдента, который при степени свободы $f=4$ и доверительной вероятности 95% равен 2.78, т.е. $t_{выч.} < t_{табл.}$. Таким образом, результаты, полученные данным методом, являются правильными и неотягощены систематической ошибкой.

Таблица 3. Результаты исследования количественного определения Антиаритмина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (1-химик, 1-прибор)

Опыт	Масса навески, мкг/мл	Площадь пика	Результат, С%	Метрологическая характеристика
1	10.4	765678	98.55	$X_{cp}=98.476$; $S^2=0.02182$; $S=0.22087$; $P, \%=95$; $t(P, f)=2.78$; $\pm \Delta x=0.27$; $\varepsilon, \%=0.62$; $\dot{\varepsilon}, \%=0.27$; $RSD, \%=0.049$
2	10.2	754468	98.43	
3	10.1	751044	98.45	
4	10.3	758654	98.50	
5	10.2	754670	98.45	

Таблица 4. Результаты исследования количественного определения Антиаритмина методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (2-химик, 2-прибор)

Опыт	Масса навески	Площадь пика	Результат, С%	Метрологическая характеристика
1	10.3	759122	98.60	$X_{cp}=98.558$; $S^2=0.04758$; $S=0.3261$; $P, \%=95$; $t(P, f)=2.78$; $\pm \Delta x=0.40$; $\varepsilon, \%=0.92$; $\dot{\varepsilon}, \%=0.41$; $RSD, \%=0.107$
2	10.0	750001	98.58	
3	10.3	759131	98.62	
4	10.2	754628	98.46	
5	10.4	761673	98.44	

Таблица 5. Расчет определения внутрилабораторной прецензионности

$ X_{cp1}-X_{cp2} $	$\sqrt{2} \cdot t(P\%; f) \cdot \frac{S_0}{\sqrt{n}} ; t(P\%; f)=2.78$
0.064	0.453

Из приведенных в таблице 5 результатов можно сделать вывод о том, что данная методика характеризуется удовлетворительной внутрилабораторной прецензионностью.

Относительная ошибка разработанного метода ВЭЖХ низка, что указывает на высокую точность метода.

При сравнении воспроизводимости двух методов (спектрофотометрический метод анализа и метод ВЭЖХ) анализа с оценками дисперсий s_1^2 и s_2^2 ($s_1^2 > s_2^2$) вычисляются критерий Фишера F:

$$F_{\text{табл.}}=4.28 (P=95\%, f_1 \text{ и } f_2=6)$$

$$F_{\text{расч.}}=s_1^2/s_2^2=0.126/0.02182=5.77$$

При равенстве $F(P, f_1, f_2) < F_{\text{расч}}$ различие дисперсий s_1^2 и s_2^2 признается статистическим с вероятностью P, что позволяет сделать заключение о более высокой воспроизводимости метода ВЭЖХ по сравнению с методом спектрофотометрии.

Выводы

Метод ВЭЖХ в изократическом режиме применен для чувствительного определения количественного анализа Антиаритмина. Данная методика проста и хорошо воспроизводится.

Результаты валидации показали, что методика обладает хорошей линейностью и внутрилабораторной прецизионностью.

Разработанная методика может быть использована для определения N-дезацетиллаппаконитин гидробромида в субстанции при контроле качества.

При сравнении двух методов анализа (спектрофотометрический и метод ВЭЖХ) на основании критерия Фишера (F), метод ВЭЖХ превосходит по воспроизводимостью метод спектрофотометрии.

Список литературы

1. Крыжановский С.А., Юнусов М.С., Цорин И.Б., Барчуков В.В., Барчукова Е.И. Антиаритмические свойства монохлоргидрата N-дезацетиллаппаконитина // Фармакокинетика и Фармакодинамика. 2021. №2. С. 19–24. DOI: 10.37489/2587-7836-2021-2-19-24.
2. Djahangirov F.N., Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Valiev N.V., Jenis J. New Pharmacological Properties of Antiarrhythmic Preparation N-Desacetyl-lappaconitine Hydrobromide // 8th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds. Eskisehir (Turkey), 2009. 108 p.
3. Джахангиров Ф.Н., Ташходжаев Б., Султанходжаев М.Н., Салимов Б.Т. Дитерпеноидные алкалоиды – как новый класс антиаритмических средств // Химия природных соединений. 1997. №5. С. 254.
4. Саканян Е.И., Ковалева Е.Л., Фролова Л.Н., Шелестова В.В. Современные требования к качеству лекарственных средств растительного происхождения // Ведомости Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018. Т. 8(3). С. 170–178. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-3-170-178.
5. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // Фармаком. 2006. №1-2. С. 35–44.
6. Ahuja S., Dong M.W. Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC. Amsterdam: Elsevier science, 2005. 679 p.
7. Kazakevich Y., Lobrutto R. HPLC for pharmaceutical scientists. New Jersey: John Wiley, 2007. 1135 p.
8. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / под ред. В.П. Георгиевского. Харьков, 2011. Т. 1. 464 с.
9. Патент №IAР04858 (РУЗ). Способ получения N-дезацетиллаппаконитина гидробромида, обладающего антиаритмическим действием / А.З. Садиков, Ш.Ш. Сагдуллаев, Н.В. Валиев, Ф.Н. Джахангиров, Н.Д. Абдуллаев, Ф.М. Турсунходжаева, С.К. Усманова. – 2014.
10. Валиев Н.В. Технологии производства субстанций препаратов Антиаритмина и Дигидроатизина гидрохлорида: автореф. дисс. ... PhD по техн. наукам. Ташкент, 2018. 22 с.
11. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Djahangirov F.N., Abdullaev N.D., Mullabaeva Z.U., Uteniyazov A.K. New Antiarrhythmic Preparation Manufactured from the Wastes Allapinine Drug Production // 1st International Symposium of Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients. Urumqi, 2008. P. 224.
12. Валиев Н.В., Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш. N-дезацетиллаппаконитина гидробромид – новый антиаритмический препарат из отходов производства субстанции препарата аллапинин // Фармацевтический журнал. 2012. №1. С. 64–67.

13. Садиков А.З., Валиев Н.В., Хидоятова Ш.К., Отаева Ш.А. Аналитический контроль производства лекарственного препарата антиаритмин // Сборник тезисов конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений». Ташкент, 2009. С. 354.
14. Валиев Н.В., Саноев А.И., Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш. Оптимизация процесса очистки технического антиаритмина // Фармацевтический журнал. 2017. №2. С. 68–72.
15. Сагдуллаев Ш.Ш., Садиков А.З., Валиев Н.В., Ибрагимов Т.Ф., Муталова Д.К., Махмудова Б.Ш., Джахангиров Ф.Н. Утилизация отходов производства субстанции лекарственного препарата Аллапинин из корневища с корнями борца белоустого // Сборник тезисов Международной научной конференции «Актуальные проблемы развития биоорганической химии». Ташкент, 2013. С. 148.
16. ВФС 42 Уз-3260-2017. Антиаритмин / Ш.Ш. Сагдуллаев, А.З. Садиков, Ш.А. Отаева, Д.К. Муталова, Н.В. Валиев. Ташкент, 2017.
17. Хроматография в тонких слоях / под ред. Э. Штала. М.: Мир, 1965. 508 с.
18. ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитической методики».
19. ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента».
20. ВФС 42 Уз-3259-2017. Антиаритмин – стандартный образец / Ш.Ш. Сагдуллаев, А.З. Садиков, Ш.А. Отаева, Д.К. Муталова, Н.В. Валиев. Ташкент, 2017.

Поступила в редакцию 25 апреля 2022 г.

После переработки 22 сентября 2022 г.

Принята к публикации 27 сентября 2022 г.

Для цитирования: Муталова Д.К., Отаева Ш.А., Ботиров Р.А., Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш. Разработка и валидация способа количественного определения N-дезацетиллаппаконитина гидробромида в субстанции препарата Антиаритмин методом высокоэффективной жидкостной хроматографии // Химия растительного сырья. 2022. №4. С. 283–290. DOI: 10.14258/jcrpm.20220411308.

Mutalova D.K., Otaeva Sh.A., Botirov R.A., Sadikov A.Z., Sagdullayev Sh.Sh.* DEVELOPMENT OF A METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF N-DEZACETYLLAPPACONITINE HYDROBROMIDE IN THE DRUG OF THE ANTIARRHYTHMINE BY THE METHOD OF HIGH-PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY AND ITS CHROMATOGRAPHIC BEHAVIOR

Institute of the chemistry of plant substances named after Acad. S.Yu. Yunusov of the Academy of Sciences Republic of Uzbekistan, ul. Mirzo Ulugbeka, 77, Tashkent, 100170 (Uzbekistan), e-mail: noza-gold@mail.ru

At present, the chemical compositions of plant raw materials for the content of diterpenoid alkaloids have been studied in world research centers in various countries, their pharmacological and toxicological properties have been determined, and technological studies have been carried out in the field of obtaining them in production. At the Institute of Chemistry of Plant Substances, research on the study of diterpenoid alkaloids of plants of the genus Aconite, in particular, research to establish their chemical structure, biosynthesis, pharmacological and toxicological properties of diterpenoid alkaloids, and their production technology.

Increasing requirements for the safety, efficacy, and quality of medicines necessitate the development of new and improvement of existing methods for their analysis. As a rule, the quality of substances is ensured by a set of analytical methods that allow confirming their authenticity, and determining the purity and quantitative content of the active substance. The methods and techniques used for this need to be constantly improved. Considering the above, the problem of the comparative study of physicochemical methods used for the analysis of substances is topical. The object of the study was the substance Antiarrhythmin. A new method for the qualitative and quantitative determination of N-deacetylappaconitine hydrobromide in Antiarrhythmin substances has been developed. A comparative analysis of the spectrophotometers and the HPLC method was carried out.

The HPLC method in isocratic mode is used for the sensitive determination of the quantitative analysis of Antiarrhythmin. This technique is simple and well reproduced. The validation results showed that the method has good linearity and within-laboratory precision. The developed method can be used for the determination of N-dezacyllappaconitine hydrobromide in a substance during quality control.

Keywords: diterpenoid alkaloids, Antiarrhythmine, N-dezacyllappaconitine hydrobromide, quantitative determination.

* Corresponding author.

Referenses

1. Kryzhanovskiy S.A., Yunusov M.S., Tsorin I.B., Barchukov V.V., Barchukova Ye.I. *Farmakokinetika i Farmakodinamika*, 2021, no. 2, pp. 19–24. DOI: 10.37489/2587-7836-2021-2-19-24. (in Russ.).
2. Djahangirov F.N., Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Valiev N.V., Jenis J. *8th International Symposium on the Chemistry of Natural Compounds*. Eskisehir (Turkey), 2009, 108 p.
3. Dzhakhangirov F.N., Tashkhodzhayev B., Sultankhodzhayev M.N., Salimov B.T. *Khimiya prirodnikh soyedineniy*, 1997, no. 5, p. 254. (in Russ.).
4. Sakanyan Ye.I., Kovaleva Ye.L., Frolova L.N., Shelestova V.V. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsin-skogo primeneniya*, 2018, vol. 8(3), pp. 170–178. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-3-170-178. (in Russ.).
5. Grizodub A.I. *Farmakom*, 2006, no. 1-2, pp. 35–44. (in Russ.).
6. Ahuja S., Dong M.W. *Handbooh of pharmaceutical analysis by HPLC*. Amsterdam: Elsevier science, 2005, 679 p.
7. Kazakevich Y., Lobrutto R. *HPLC for pharmaceutical scientists*. New Jersey: John Wiley, 2007, 1135 p.
8. *Analiticheskaya khimiya v sozdanii, standartizatsii i kontrole kachestva lekarstvennykh sredstv* [Analytical chemistry in the creation, standardization and quality control of medicines], ed. V.P. Georgiyevsky. Khar'kov, 2011, vol. 1, 464 p. (in Russ.).
9. Patent IAP04858 (RUZ). 2014. (in Russ.).
10. Valiyev N.V. *Tekhnologii proizvodstva substansiy preparatov Antiaritmina i Digidroatizina gidrokhlorida: avtoref. diss. ... PhD po tekhn. naukam*. [Technologies for the production of substances of preparations of Antiarrhythmic and Dihydroatizine hydrochloride: abstract of diss. ... PhD in tech. sciences]. Tashkent, 2018, 22 p. (in Russ.).
11. Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh., Djahangirov F.N., Abdullaev N.D., Mullabaeva Z.U., Uteniyazov A.K. *1st International Symposium of Edible Plant Resources and the Bioactive Ingredients*. Urumqi, 2008, p. 224.
12. Valiyev N.V., Sadikov A.Z., Sagdullayev Sh.Sh. *Farmatsevticheskiy zhurnal*, 2012, no. 1, pp. 64–67. (in Russ.).
13. Sadikov A.Z., Valiyev N.V., Khidoyatova Sh.K., Otayeva Sh.A. *Sbornik tezisov konferentsii «Aktual'nyye problemy khimii prirodnikh soyedineniy»*. [Collection of abstracts of the conference "Actual problems of the chemistry of natural compounds"]. Tashkent, 2009, p. 354. (in Russ.).
14. Valiyev N.V., Sanoyev A.I., Sadikov A.Z., Sagdullayev Sh.Sh. *Farmatsevticheskiy zhurnal*, 2017, no. 2, pp. 68–72. (in Russ.).
15. Sagdullayev Sh.Sh., Sadikov A.Z., Valiyev N.V., Ibragimov T.F., Mutalova D.K., Makhmudova B.Sh., Dzhakhangirov F.N. *Sbornik tezisov Mezhdunarodnoy nauchnoy konferentsii «Aktual'nyye problemy razvitiya bioorganicheskoy khimii»*. [Collection of abstracts of the international scientific conference "Actual problems of the development of bioorganic chemistry"]. Tashkent, 2013, p. 148. (in Russ.).
16. *VFS 42 Uz-3260-2017. Antiaritmin* [VFS 42 Uz-3260-2017. Antiarrhythmin], Sh.Sh. Sagdullayev, A.Z. Sadikov, Sh.A. Otayeva, D.K. Mutalova, N.V. Valiyev. Tashkent, 2017. (in Russ.).
17. *Khromatografiya v tonkikh sloyakh* [Chromatography in thin layers], ed. E. Shtal'. Moscow, 1965, 508 p. (in Russ.).
18. OFS 1.1.0012.15 «Validatsiya analiticheskoy metodiki». [OFS 1.1.0012.15 "Validation of the analytical method"]. (in Russ.).
19. OFS 1.1.0013.15 «Statisticheskaya obrabotka rezul'tatov khimicheskogo eksperimenta». [OFS 1.1.0013.15 "Statistical processing of the results of a chemical experiment"]. (in Russ.).
20. *VFS 42 Uz-3259-2017. Antiaritmin – standartnyy obrazets* [VFS 42 Uz-3259-2017. Antiarrhythmin - standard sample], Sh.Sh. Sagdullayev, A.Z. Sadikov, Sh.A. Otayeva, D.K. Mutalova, N.V. Valiyev. Tashkent, 2017. (in Russ.).

Received April 25, 2022

Revised September 22, 2022

Accepted September 27, 2022

For citing: Mutalova D.K., Otaeva Sh.A., Botirov R.A., Sadikov A.Z., Sagdullayev Sh.Sh. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2022, no. 4, pp. 283–290. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprn.20220411308.