

УДК 615.07

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ АЛКАЛОИДА ДОНАКСИН В СУБСТАНЦИИ ДОНАКСИНА ГИДРОХЛОРИДА

© Д.К. Муталова*, 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 (Республика Узбекистан),
e-mail: noza-gold@mail.ru

Разработка аналитических методик для стандартизации субстанции, а также лекарственных форм на его основе является актуальной задачей в производстве фармакологических препаратов. В связи с возрастающими требованиями к качеству активных фармацевтических субстанций целесообразно включение в них современных хроматографических методов. Надземная часть *Arundo donax L.* является основным сырьем для промышленного производства субстанции Донаксина гидрохлорида, содержащего соль индольного алкалоида донаксина. Ранее для количественного определения донаксина гидрохлорида в субстанции одноименного препарата был использован метод титриметрии, по результатам которого содержание действующего вещества было не менее 98.0%. Целью настоящего исследования явилась разработка и валидация новой современной методики, которая превышает метод титрования по селективности, воспроизводимости и точности. Нами разработан и валидирован новый метод количественного определения Донаксина гидрохлорида с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Данная методика проста и хорошо воспроизводится. Разработанная методика валидирована по следующим показателям: специфичность, линейность, точность, предел обнаружения и предел количественного определения донаксина. Проведена сравнительная оценка разработанного ВЭЖХ метода с титриметрическим методом, включенным в ВФС (временная фармакопейная статья).

Ключевые слова: надземная часть *Arundo donax L.*, дитерпеноидные алкалоиды, Донаксина гидрохлорид, ВЭЖХ, количественное определение, титрование, сравнение методов.

Введение

Одним из подходов к расширению ассортимента фитопрепаратов является получение и стандартизация фармацевтических субстанций растительного происхождения, таких как, например, алкалоиды, которые обладают высокой фармакологической активностью. Однако введение в официальную медицинскую практику новых фармацевтических субстанций возможно только после их стандартизации, а именно комплекса исследований по выбору критериев и норм, которые характеризуют качество данных продуктов [1, 2].

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. Ис-

пользуемые для этого методы и методики нуждаются в постоянном совершенствовании. Учитывая вышеизложенное, актуальной является проблема сравнительного изучения физико-химических методов, используемых для анализа субстанций [3–5].

Arundo donax L. сем. Злаковых – многолетнее растение, принадлежащее к семейству Poaceae. Это растение культивируется как культурное в Китае, Румынии, Югославии, Франции, США и других странах [6, 7]. В восточной медицине настойки,

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

Ботиров Рузали Анварович – PhD, старший научный сотрудник экспериментально-технологической лаборатории, e-mail: botiroovr@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 института, e-mail: plant_inst@icps.org.uz

* Автор, с которым следует вести переписку.

приготовленные из листьев растения *A. donax*, применяют при лечении заболеваний мочевыводящих путей, матки и гинекологии [8]. Экстракт, приготовленный из поверхности, обладает противогрибковой активностью [9].

Из литературы известно, что растение *A. donax* содержит до 44% клетчатки, белков, жиров, лигнинов и алкалоидов. Химический состав, биологическая активность и систематика растения описаны в работе [8]. Алкалоид донаксин (3-диметиламинометилиндол, рис. 1) принадлежит группе индольных алкалоидов и представляет собой белое кристаллическое вещество с температурой плавления 138–139 °С. Алкалоид легко растворим в спирте, эфире, хлороформе, мало растворим в ацетоне, не растворим в воде и петролейном эфире [10–12]. Был проведен ряд исследований по определению фармакологической активности алкалоида донаксина [13].

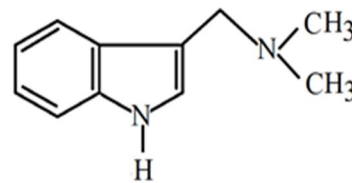


Рис. 1. Структурная формула алкалоида донаксина

Донаксина гидрохлорид (3-диметиламинометилиндол гидрохлорид), получаемый из надземной части тростниковидного камыша *Arundo donax*, используется в качестве лекарственного средства афродизийного действия [14, 15]. Для качественного и количественного анализа алкалоидов в настоящее время применяется различные аналитические методы. Одним из распространенных методов определения алкалоидов является метод потенциометрического титрования, который основан на гидролизе препарата и титровании в среде безводной уксусной кислоты. Метод не дает полного описания сопутствующих примесей [16].

Хроматографические методы широко используются в аналитической химии [17–19]. В связи с низкой стоимостью, чувствительностью и селективностью, метод ТСХ был использован для определения сопутствующих веществ донаксина. В качестве подвижной фазы использовали смесь органических растворителей, имеющих сродство к Донаксина гидрохлориду [20, 21]. Однако тонкослойная хроматография обладает низкой селективностью и чувствительностью по сравнению с инструментальными методами, хотя является необходимым для предварительного анализа сырья и субстанции [22].

Цель данного исследования – разработка ВЭЖХ метода количественного анализа Донаксина гидрохлорида, а также определение и сравнение его валидационных характеристик: специфичность, линейность, прецизионность и точность, с таковыми титриметрического метода, включенного во временную фармакопейную статью (ВФС).

Экспериментальная часть

Объектом исследования является субстанция «Донаксина гидрохлорид». Данную субстанцию получают на базе Опытного производства Института химии растительных веществ АН РУз (Узбекистан, Ташкент) из надземной части растения *A. donax* и содержит соли алкалоида донаксина (>98.0%) [22].

Приготовление испытуемого раствора субстанции препарата Донаксина гидрохлорида. Навеску испытуемого образца Донаксина гидрохлорида около 10 мг помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 30 мл смеси ацетонитрила и воды (50/50), перемешивали до полного растворения, доводили объем до метки тем же растворителем и перемешивали, получая исходный раствор с концентрацией около 0.1 мг/мл. В случае высоких концентраций Донаксина гидрохлорида (более 0.10 мг/мл) из объема V (100 мл) отбирали аликвоту в 10 мл и разбавляли смесью ацетонитрила и воды в N раз. Разбавление учитывали при расчете концентрации.

Приготовление раствора стандартного образца Донаксина или Грамина. Навеску алкалоида Грамин ($C_{11}H_{14}N_2$ «ч» по ТУ 6-09-055-42-74) 10 мг помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляли 40 мл смеси ацетонитрила и воды (50/50), перемешивали до полного растворения, доводили объем до метки тем же растворителем и перемешивали, получая исходный раствор с концентрацией около 0.1 мг/мл.

Метод количественного определения Донаксина гидрохлорида титрованием. Около 0.2 г (точная навеска) субстанции Донаксина гидрохлорид растворяют в 10 мл кислоты ледяной уксусной и 5 мл раствора ртути ацетата окисной. Титруют раствором 0.1 моль/л хлорной кислоты до перехода окраски от фиолетовой в синюю (индикатор-кристаллическо-фиолетовый). 1 мл раствора хлорной кислоты соответствует 0.02106 г донаксина.

Расчет содержания донаксина в процентах (X) проводили по следующей формуле:

$$X = \frac{(V - V_0) \cdot K \cdot 0.02106 \cdot 100}{a},$$

где 0.02106 – масса Донаксина гидрохлорид, соответствующая 1 см³ раствора хлорной кислоты молярной концентрации точно 0.1 моль/дм³, г; а – масса навески в г; V – объем титранта (мл), израсходованный на титрование в исследуемого раствора; V₀ – объем титранта (мл), израсходованный на титрование в контрольном опыте; K – поправочный коэффициент 0.1 М раствора хлорной кислоты.

Содержание донаксина в пересчете на абсолютно сухой препарат должно быть не менее 98%.

ВЭЖХ метод количественного определения Донаксин гидрохлорида. Жидкостная хроматография проводилась на жидкостном хроматографе высокого давления Agilent 1100 series (Agilent Technologies Inc., США), оснащенном 4-градиентным насосом, дегазатором, петлевым инжектором и детектором с переменной длиной волны (VWD), колонкой Supelco Discovery HS C18 4.6 × 75 мм, оснащенная предколонкой Discovery HS C18 (2 см × 4 мм, 3 мкм, 120А).

Условия ВЭЖХ анализа Донаксина гидрохлорида: состав подвижной фазы – А – 0.1% раствор трифторуксусной кислоты (ТФУК) и Б – ацетонитрил; режим элюирования – изократический А : В (20 : 80); скорость потока – 0.6 мл/мин, объем вводимого образца 20 мкл; температура колонки 40 °С, УФ детектирование – 270±2 нм.

В хроматограф, выведенный на рабочий режим, вводят раствор стандарта или субстанции, повторяя анализ каждого образца в 5-кратной повторности. На хроматограммах идентифицируют пик Донаксина и определяют их площади. Время процесса хроматографии – X мин, время удерживания Донаксина около 4.38 мин.

Определение содержания Донаксина гидрохлорида в субстанции препарата Донаксин проводили по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot V_1 \cdot P}{S_0 \cdot m_1 \cdot V_0},$$

где X – процентное содержание донаксина гидрохлорида в субстанции; S₁ – площадь пика испытуемого раствора субстанции Донаксина гидрохлорид; S₀ – площадь пика стандартного раствора; m₁ – масса навески испытуемого образца субстанции Донаксина гидрохлорид; m₀ – масса навески стандартного образца; V₁ – объем раствора испытуемого образца субстанции Донаксина гидрохлорид; V₀ – объем раствора стандартного образца Донаксина; P – суммарное содержание стандартного образца Донаксина.

Обсуждение результатов

Количественное определение Донаксина гидрохлорида в субстанции методом безводного титрования. Критериями выбора оптимального состава растворителя служило наличие четко выраженного скачка на кривой потенциометрического титрования, а также количественное содержание определяемого вещества, рассчитанное по результатам титрования.

Для оценки пригодности предлагаемой методики была проведена ее валидация. В соответствии с рекомендациями проводили одновременное изучение линейности, правильности и прецизионности (сходимости) предлагаемой методики. Были проведены восемь количественных определений в пределах аналитической области методики (80–120%). Полученные данные приведены в таблице 1.

На основании данных, представленных в таблице 1, методика может быть признана правильной. Численное значение коэффициента нормированных отклонений (коэффициента Стьюдента), рассчитанное по результатам анализа, составило t=2.35, что ниже табличного значения коэффициента Стьюдента, который при степени свободы f=7 и доверительной вероятности 95% равен 2.37, т.е. t_{выч} < t_{табл}. Таким образом, результаты, полученные данным методом, являются правильными и не отягощены систематической ошибкой.

График линейной зависимости объема титранта от массы субстанции Донаксина гидрохлорида представлен на рисунке 2.

Количественное определение Донаксина гидрохлорида в субстанции методом ВЭЖХ. ВЭЖХ обладает наибольшей специфичностью среди методик количественного определения, что определяется особенностями данного аналитического метода, однако требует использования стандартного образца. В качестве стандартного образца использовали алкалоид Донаксин (СО) с молекулярной формулой $C_{11}H_{14}N_2$, в которой величина (Р) является 99.8% [10]. В качестве аналитической выбрана длина волны 270 нм, поскольку в данной области спектра изучаемые вещества характеризуются максимальным поглощением (рис. 3), что в итоге обеспечит наибольшую чувствительность методики при определении примесей.

Специфичность методики доказана на основании сопоставления полученных хроматограмм стандартного раствора Донаксина гидрохлорида (СО), модельной смеси с концентрацией Донаксина гидрохлорида 0.1 мг/мл и используемого растворителя. В результате анализа установили, что время удерживания раствора стандартного Донаксина гидрохлорида и анализируемой пробы на хроматограмме одинаковы (4.38 мин) (рис. 4).

На основании графика зависимости площади полученных пиков от концентрации стандартного образца в модельных смесях была доказана линейность методики в диапазоне концентраций Донаксина гидрохлорида (СО) от 0.107 мкг/мл до 1.720 мкг/мл. Полученные результаты показали, что существует линейная зависимость между площадью пика и количеством алкалоида Донаксина гидрохлорида, нанесенного на колонку, что подтверждается значением коэффициента корреляции: $R^2=0.9999$ (рис. 5).

Таблица 1. Результаты количественного определения Донаксин гидрохлорида методом безводного титрования и его метрологическая характеристика

Уровень	№	Навеска, г	Объем титранта, мл	Найдено, г	Найдено, %
1	1	0.1735	5.84	0.1725	99.45
	2	0.1840	6.19	0.1833	99.65
	3	0.1920	6.47	0.1919	99.98
	4	0.2005	6.75	0.2009	100.02
	5	0.2100	7.06	0.2083	99.21
2	6	0.2255	7.60	0.2239	99.31
	7	0.2355	7.92	0.2337	99.25
	8	0.2460	8.27	0.2438	99.11

$V_0=1.71$; $K=1.005$

Параметры линейной зависимости «навеска-объем титранта»	Метрологическая характеристика результатов определений
Уравнение регрессии: $y = 33.866x - 0.0369$ Коэффициент детерминации: $R^2 = 0.9989$ Коэффициент корреляции: $r = 0.9994$	Количество определений: $n=8, f=7$ Среднее значение содержания: $X_{ср}=99.50$ Дисперсия: $S^2=0.123$ Стандартное отклонение: $S=0.60$ Доверительная вероятность: $P, \%=95$ Коэффициент Стьюдента: $t(P,f)=2.37$ Критерий Фишера: $F(P,f_1,f_2)=4.21$ Граничные значение: $\pm\Delta x=0.50$ Относительная ошибка: $\varepsilon, \%=1.41$ Относительная ошибка среднего результата: $\hat{\varepsilon}, \%=0.50$ Коэффициент вариации: $RSD, \%=0.35$

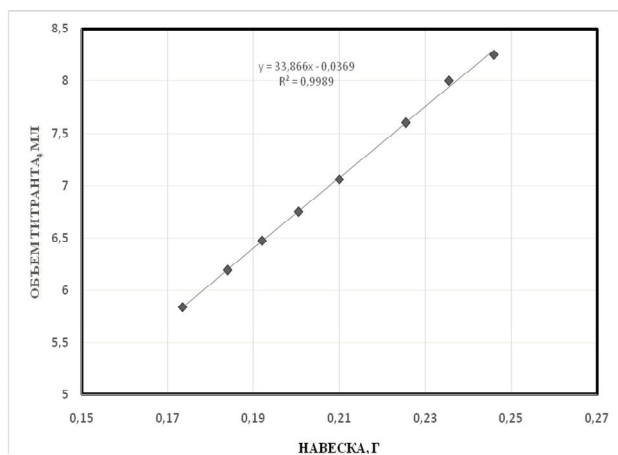


Рис. 2. График линейной зависимости объема титранта от массы субстанции Донаксина гидрохлорида

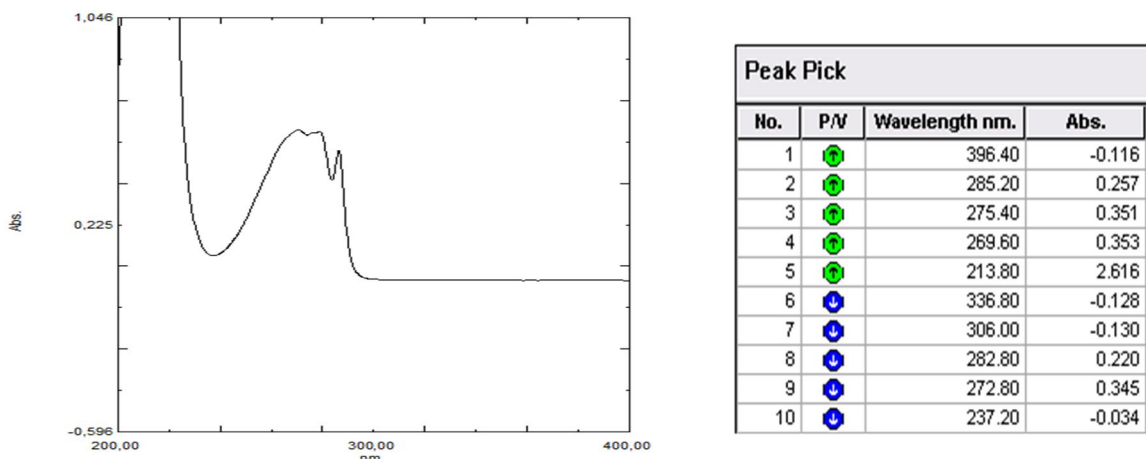


Рис. 3. УФ-спектр поглощения раствора стандартного образца Донаксина

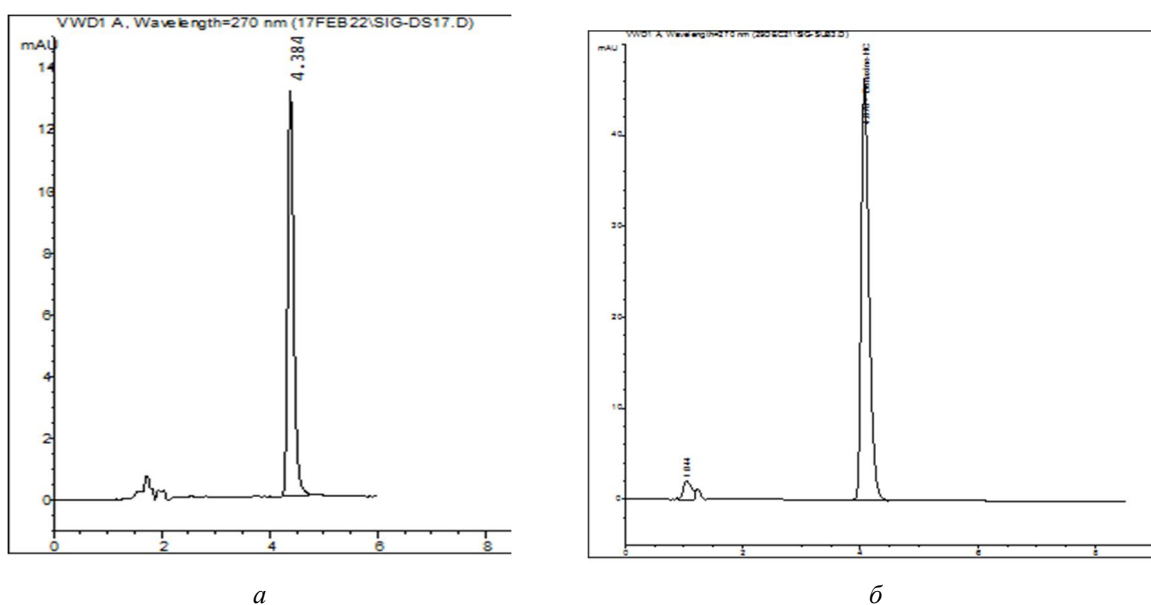


Рис. 4. Хроматограмма растворов стандартного Донаксина (а) и анализируемой пробы субстанции Донаксина гидрохлорида (б) (в.у. 4.38 мин).

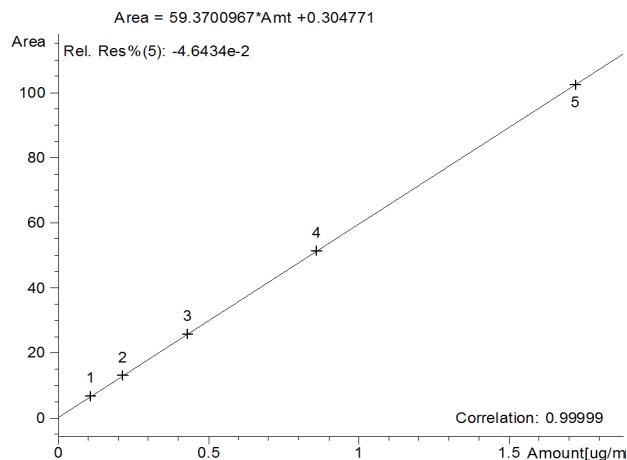


Рис. 5. График линейной зависимости площади пика (S) от концентрации (C) раствора стандартного образца Донаксина гидрохлорида

Результаты количественного определения Донаксина гидрохлорида в субстанции препарата «Донаксина гидрохлорид» показаны в таблице 2.

Для оценки прецизионности (сходимости) результатов был рассчитан коэффициент вариации (RSD), не превышающий 1% (0.029%).

Таблица 2. Результаты количественного определения Донаксина гидрохлорида методом ВЭЖХ в субстанции препарата Донаксин

№	Взято, мкг/мл (C1)	Найдено, мкг/мл (C2)	Абсолютная ошибка, мг/мл (d = C2 – C1)	Относительная ошибка, % (Y = d·100 / C1)	Найдено, %	Метрологические характеристики* (P=95%, n=7)
1	10.20	10.06944	-0.13056	-1.28	98.72	X _{ср} =98.71
2	10.50	10.368	-0.131	-1.25	98.75	S ² =0.0103
3	10.50	10.361	-0.138	-1.32	98.68	S=0.1711
4	10.20	10.067	-0.132	-1.3	98.70	P, %=95
5	10.60	10.463	-0.136	-1.29	98.71	t(P,f)=2.78
6	10.70	10.558	-0.141	-1.32	98.68	F(P,f ₁ ,f ₂)=4.21
7	10.50	10.368	-0.131	-1.25	98.75	±Δx=0.140
						ε, %=0.41
						ξ, %=0.145
						RSD, %=0.029

* – наименование метрологических характеристик см. в таблице 1

Предел обнаружения (LOD) Донаксина гидрохлорида был установлен на уровне 0.047 мкг/мл. Предел количественного определения (LOQ) составил 0.106 мкг/мл. Пределы устанавливались согласно отклонениям сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика.

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

$$F_{\text{табл. 4.21}} (P=95\%, f_1=7 \text{ и } f_2=6)$$

$$F_{\text{рассч.}} = s_1^2/s_2^2 = 0.123^2/0.0103^2 = 11.94$$

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

Внутрилабораторную прецизионность оценивали по результатам определения Донаксина гидрохлорида: 2 раствора, приготовленные разными химиками-аналитиками. Анализ проводили по методике количественного определения Донаксина гидрохлорида в субстанции методом ВЭЖХ. Каждый химик хроматографировал исследуемые образцы 7 раз по три повторности, в приведенной ниже таблице 3 приведены средние значения результатов.

Таблица 3. Расчет определения внутрилабораторной прецизионности количественного определения алкалоида Донаксина в субстанции препарата Донаксина гидрохлорида методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

	Значение содержания: X _i , %	Среднее значение содержания: X _{ср} , %	Дисперсия: S ²	Стандартное отклонение: S	Граничные значения: ±Δx, %	Относительная ошибка: ξ, %	Модуль разности средних значений: X _{ср1} - X _{ср2}	$\sqrt{2} \cdot (0.95; f) \cdot \frac{S_0}{\sqrt{n}}$ (t(P,f)=2.45)
1	98.84 98.69 98.78 98.80 98.82 98.80 98.80	98.79	0.018	0.22	0.202	0.205	0.03	0.56
2	98.84 98.79 98.82 98.79 98.80 98.85 98.85	98.82	0.010	0.16	0.152	0.154		

На основании данных, представленных в таблице 3, 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 $f=6$ и доверительной вероятности 95% равен 2.45, т.е. $t_{\text{выч}} < t_{\text{табл}}$.

Таким образом, результаты, полученные данным методом, являются правильными и не отягощены систематической ошибкой.

Выводы

1. Проведена оценка количественного определения Донаксина гидрохлорида в субстанции методом безводного титрования. В результате валидации установлены линейность, прецизионность и метрологические характеристики метода.

2. Разработан ВЭЖХ метод количественного определения Донаксина гидрохлорида. Установлены его специфичность, линейность, прецизионность и правильность. Низкая относительная ошибка количественного определения Донаксина в субстанции препарата методом ВЭЖХ указывает на его высокую точность.

3. Сравнение воспроизводимости двух методов количественного определения Донаксина гидрохлорида по критерию Фишера показало, что разработанный ВЭЖХ метод более эффективен, чем метод безводного титрования, включенный в ВФС.

Список литературы

1. Аналитическая химия в создании, стандартизации и контроле качества лекарственных средств / под ред. В.П. Георгиевского. Харьков, 2011. Т. 1. 464 с.
2. Саканян Е.И., Ковалева Е.Л., Фролова Л.Н., Шелестова В.В. Современные требования к качеству лекарственных средств растительного происхождения // Вестник Научного центра экспертизы средств медицинского применения. 2018. Т. 8(3). С. 170–178. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-3-170-178.
3. Kazakevich Y., Lobrutto R. HPLC for pharmaceutical scientists. New Jersey, 2007. 1135 p.
4. Гризодуб А.И. Стандартные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств // Фармаком. 2006. №1–2. С. 35–44.
5. Ahuja S., Dong M.W. Handbook of pharmaceutical analysis by HPLC. Amsterdam: Elsevier science, 2005. 679 p.
6. Арипова С.Ф., Хужаев В.У., Жалолов И.Ж., Сагдуллаев Ш.Ш. Алкалоиды гигантского злака *Arundo donax* L.: химия, структура, свойства, технология: монография. Ташкент, 2017. 256 с.
7. Нумонов М.А., Содиков У.Х. Извлечение донаксина из растения *Arundo donax* L. и синтез его производных на основе донаксина // Universum: технические науки: электронный научный журнал. 2020. №8(77). URL: <https://7universum.com/ru/tech/archive/item/10644>.
8. Al-Snafi A.E. The constituents and biological effects of *Arundo donax* – A review // International journal of phyto-pharmacy research. 2015. Vol. 6. N1. Pp. 34–40.
9. Shirvani A., Mozaffari M., Zarei M. Antimicrobial effects of 14 medicinal plant species of dashti in Bushehr province // Iranian south Medical Journal. 2014. Vol. 17(1). Pp. 49–57.
10. Хужаев В.У., Арипова С.Ф., Шакиров Р.Ш. Динамика накопления алкалоидов *Arundo donax* // Химия природных соединений. 1994. №5. С. 687–688.
11. Мирзаев Ю.Р., Саноев З.И., Садиков А.З., Арипова С.Ф., Сагдуллаев Ш.Ш., Нигматуллаев Б.А., Каримов У.Т., Абдуллаев Н.Д., Ботиров Р.А. Средство, обладающее афродизийной активностью №IAP 20140283 // Расмий ахборотнома. 2016. №1. С. 17–18.
12. Ботиров Р.А., Муталова Д.К., Садиков А.З., Арипова С.Ф., Сагдуллаев Ш.Ш. Донаксина гидрохлорид – новый лекарственный препарат, обладающий афродизийной активностью из наземной части *Arundo donax* L. // «Лекарственные препараты на основе природных соединений»: тезисы докладов Международной конференции. Ташкент, 2018. С. 191.
13. Хужаев В.У. Алкалоиды дикорастущего и культивируемого вида *Arundo donax* L. строение новых оснований: автореф. дисс. ... канд. хим. наук. Ташкент, 1996. 20 с.
14. Mirzaev Yu.R., Sanoev Z.I. About aphrodisiac activity of donaxine, on male white rats // The Fifth European Conference on Biology and Medical Sciences. Vienna, 2015. Pp. 141–145.
15. Муталова Д.К. и др. Контроль производства субстанции донаксина гидрохлорида // Universum: химия и биология: электронный научный журнал. 2019. №10 (64). URL: <https://7universum.com/ru/nature/archive/item/7861>.
16. Жданов Д.А., Куркин В.А., Браславский В.Б., Агапов А.И. Актуальные аспекты контроля качества и стандартизации плодов шиповника // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2021. Т. 10(3). С. 167–175. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-3-167-175.
17. Жерносок А.К. Фармацевтическая химия: практическое руководство: учебно-методическое пособие. Ч. 1. Витебск, 2010. 198 с.

18. Березкин В.Г. О вкладе Н.А. Измайлова и М.С. Шрайбер в развитие тонкослойной хроматографии // Журнал аналитической химии. 2008. Т. 63. №4. С. 438–443.
19. Новый справочник химика и технолога. Аналитическая химия. Ч. II. СПб, 2003. 982 с.
20. Хохлова Е.А., Здорик А.А., Георгиянц В.А., Вишневская Л.И. Разработка и валидация методики идентификации календулозидов в настойке календулы. Сообщение 2. // Химия растительного сырья. 2015. №2. С. 195–199.
21. Zdoryk O.A., Khokhlova K.O., Savchenko L.P., Georgiyants V.A. Method for TLC-identification test for ointment with herbal tinctures // The 17-th International Congress Phytopharm. Vienna, 2013. P. 51.
22. Reich E., Schibli A. High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants. New York, 2006.
23. Хохлова Е.А., Здорик А.А., Георгиянц В.А. Разработка и валидация методики идентификации флавоноидов в настойке календулы // Химия растительного сырья. 2015. №1. С. 133–139. DOI: 10.14258/jcrpm.201501397.

Поступила в редакцию 1 июня 2022 г.

После переработки 26 августа 2022 г.

Принята к публикации 15 марта 2023 г.

Для цитирования: Муталова Д.К., Ботиров Р.А., Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш. Количественное определение алкалоида Донаксин в субстанции Донаксина гидрохлорида // Химия растительного сырья. 2023. №3. С. 253–261. DOI: 10.14258/jcrpm.20230311441.

*Mutalova D.K.**, *Botirov R.A.*, *Sadikov A.Z.*, *Sagdullaev Sh.Sh.* QUANTITATIVE DETERMINATION OF THE ALKALOID DONAXIN IN THE SUBSTANCE DONAXINE HYDROCHLORIDE

Institute of Bioorganic Chemistry of the Uzbek Academy of Sciences, ul. M. Ulugbeka, 83, Tashkent, 100125 (Republic of Uzbekistan), e-mail: ibchem@uzsci.net

The development of analytical methods for the standardization of a substance, as well as dosage forms based on it, is an actual task in the production of pharmacological preparations. In connection with the increasing requirements for the quality of active pharmaceutical ingredients, it is advisable to include modern chromatographic methods (HPLC and GLC) in them. In addition, the prospect of introducing drugs into medical practice determines the need to develop highly sensitive methods for determining active substances in substances for pharmacokinetic studies. The aerial part of *Arundo donax* L. is the main raw material for the industrial production of the drug substance Donaxin hydrochloride. Donaxin is an alkaloid of the indole group and has the chemical structure of 3-(dimethylaminomethyl) indole. Previously, for the quantitative determination of donaxin hydrochloride in the substance of the drug of the same name, the titrimetry method was used, according to the results of which the content of the active substance was at least 98.0%. The aim of this study was to develop and validate a new modern technique that exceeds the titration method in selectivity, reproducibility and precision. We have developed and validated a new method for the quantitative determination of Donaxin hydrochloride using high performance liquid chromatography (HPLC). This technique is simple and well reproduced. The developed method was validated according to the following indicators: specificity, linearity, precision, limit of detection and limit of quantitation. A comparative evaluation of the developed method for the quantitative determination of Donaxin hydrochloride in the substance by HPLC with the method included in the temporary pharmacopoeia article (titrimetric) was carried out in terms of the Fisher criterion.

Keywords: aerial part of *Arundo donax* L., diterpenoid alkaloids, Donaxin hydrochloride, HPLC, quantitative determination, titration, comparison of both methods.

References

1. *Analiticheskaya khimiya v sozdanii, standartizatsii i kontrole kachestva lekarstvennykh sredstv*. [Analytical chemistry in the creation, standardization and quality control of medicines], ed. V.P. Georgievsky. Kharkov, 2011, vol. 1, 464 p. (in Russ.).
2. Sakanyan Ye.I., Kovaleva Ye.L., Frolova L.N., Shelestova V.V. *Vedomosti Nauchnogo tsentra ekspertizy sredstv meditsinskogo primeneniya*, 2018, vol. 8(3), pp. 170–178. DOI: 10.30895/1991-2919-2018-8-3-170-178. (in Russ.).
3. Kazakevich Y., Lobrutto R. *HPLC for pharmaceutical scientists*. New Jersey, 2007, 1135 p.
4. Grizodub A.I. *Farmakom*, 2006, no. 1–2, pp. 35–44. (in Russ.).
5. Ahuja S., Dong M.W. *Handbooh of pharmaceutical analysis by HPLC*. Amsterdam: Elsevier science, 2005, 679 p.
6. Aripova S.F., Khuzhayev V.U., Zhalolov I.Zh., Sagdullayev Sh.Sh. *Alkaloidy gigantского zlaka Arundo donax L. khimiya, struktura, svoystva, tekhnologiya: monografiya* [Alkaloids of the giant cereal *Arundo donax* L.: chemistry, structure, properties, technology: monograph]. Tashkent, 2017, 256 p. (in Russ.).

* Corresponding author.

7. Numonov M.A., Sodikov U.Kh. *Universum: tekhnicheskiye nauki: elektronnyy nauchnyy zhurnal*, 2020, no. 8(77), URL: <https://7universum.com/ru/tech/archive/item/10644>. (in Russ.).
8. Al-Snafi A.E. *International journal of phytopharmacy research*, 2015, vol. 6, no. 1, pp. 34–40.
9. Shirvani A., Mozaffari M., Zarei M. *Iranian south Medical Journal*, 2014, vol. 17(1), pp. 49–57.
10. Khuzhayev V.U., Aripova S.F., Shakirov R.SH. *Khimiya proyavleniya soyedineniy*, 1994, no. 5, pp. 687–688. (in Russ.).
11. Mirzayev Yu.R., Sanoyev Z.I., Sadikov A.Z., Aripova S.F., Sagdullayev Sh.Sh., Nigmatullayev B.A., Karimov U.T., Abdullayev N.D., Botirov R.A. *Rasmiy akhborotnoma*, 2016, no. 1, pp. 17–18. (in Russ.).
12. Botirov R.A., Mutalova D.K., Sadikov A.Z., Aripova S.F., Sagdullayev Sh.Sh. «*Lekarstvennyye preparaty na osnove prirodnikh soyedineniy*»: *teziy dokladov mezhdunarodnoy konferentsii*. [“Medicines based on natural compounds”: abstracts of reports of the international conference]. Tashkent, 2018, p. 191. (in Russ.).
13. Khuzhayev V.U. *Alkaloidy dikorastushchego i kul'tivirovannogo vida Arundo donax L. stroyeniye novykh osnovaniy: avtoref. diss. ... kand. khim. nauk*. [Alkaloids of the wild and cultivated species *Arundo donax* L. structure of new bases: abstract diss. ... cand. chem. sciences]. Tashkent, 1996, 20 p. (in Russ.).
14. Mirzaev Yu.R., Sanoev Z.I. *The Fifth European Conference on Biology and Medical Sciences*. Vienna, 2015, pp. 141–145.
15. Mutalova D.K. i dr. *Universum: khimiya i biologiya: elektronnyy nauchnyy zhurnal*, 2019, no. 10 (64), URL: <https://7universum.com/ru/nature/archive/item/7861>. (in Russ.).
16. Zhdanov D.A., Kurkin V.A., Braslavskiy V.B., Agapov A.I. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2021, vol. 10(3), pp. 167–175. DOI: 10.33380/2305-2066-2021-10-3-167-175. (in Russ.).
17. Zhernosek A.K. *Farmatsevticheskaya khimiya: prakticheskoye rukovodstvo: uchebno-metodicheskoye posobiye. Ch. 1*. [Pharmaceutical chemistry: a practical guide: educational and methodological manual. Part 1]. Vitebsk, 2010. 198 p. (in Russ.).
18. Berezkin V.G. *Zhurnal analiticheskoy khimii*, 2008, vol. 63, no. 4, pp. 438–443. (in Russ.).
19. *Novyy spravochnik khimika i tekhnologa. Analiticheskaya khimiya. Ch. II*. [New reference book for chemist and technologist. Analytical chemistry. Part II]. St. Petersburg, 2003, 982 p. (in Russ.).
20. Khokhlova Ye.A., Zdorik A.A., Georgiyants V.A., Vishnevskaya L.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2015, no. 2, pp. 195–199. (in Russ.).
21. Zdoryk O.A., Khokhlova K.O., Savchenko L.P., Georgiyants V.A. *The 17-th International Congress Phytopharm*. Vienna, 2013, p. 51.
22. Reich E., Schibli A. *High-Performance Thin-Layer Chromatography for the Analysis of Medicinal Plants*. New York, 2006.
23. Khokhlova Ye.A., Zdorik A.A., Georgiyants V.A. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2015, no. 1, pp. 133–139. DOI: 10.14258/jcprm.201501397. (in Russ.).

Received June 1, 2022

Revised August 26, 2022

Accepted March 15, 2023

For citing: Mutalova D.K., Botirov R.A., Sadikov A.Z., Sagdullaev Sh.Sh. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2023, no. 3, pp. 253–261. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.20230311441.

