

7universum.com
UNIVERSUM:
ХИМИЯ И БИОЛОГИЯ

UNIVERSUM: ХИМИЯ И БИОЛОГИЯ

Научный журнал
Издается ежемесячно с ноября 2013 года
Является печатной версией сетевого журнала
Universum: химия и биология

Выпуск: 7(97)

Июль 2022

Часть 1

Москва
2022

ХИМИЧЕСКИЕ НАУКИ**АНАЛИТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ**

DOI - 10.32743/UniChem.2022.97.7.13882

**КОЛИЧЕСТВЕННОЕ СОДЕРЖАНИЕ N-ДЕЗАЦЕТИЛЛАППАКОНИТИНА
ВО ВТОРИЧНЫХ ПРОДУКТАХ ПРОИЗВОДСТВА АЛЛАПИНИНА****Муталова Дилноза Каримбердиевна***мл. науч. сотр.**Института химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент
E-mail: nozga-gold@mail.ru***Отаева Шахзода Ахтамовна***начальник**отдел контроля и качества Опытного производства
Института химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент***Ботиров Рўзали Анварович***д-р философии по техн. наук,**ст. науч. сотр. экспериментально-технологической лаборатории
Института химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент***Алимджан Заирович Садиков***д-р техн. наук,**вед. науч. сотрудник экспериментально-технологической лабораторией
Института химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент***Сагдуллаев Шамансур Шахсаидович***д-р техн. наук, проф. зав. Отделом технологии**Института химии растительных веществ Академии наук Республики Узбекистан,
Республика Узбекистан, г. Ташкент***QUANTITATIVE CONTENT N-DEACETYLLAPPACONITINE IN SECONDARY PRODUCTS
OF ALLAPININ PRODUCTION****Dilnoza Mutalova***Junior researcher of the,**Institute of the Chemistry of Plant Substances,
Academy of science of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent***Shaxzoda Otayeva***Head of Control and Quality Department Pilot production**Institute of the Chemistry of Plant Substances,
Academy of science of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

Ro'zali Botirov

*Doctor of philosophy in technical sciences,
senior researcher of the experimental technological laboratory,
Institute of the Chemistry of Plant Substances,
Academy of science of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

Alimdjan Sadykov

*Doctor of technical sciences,
Leading Researcher of the Experimental-technological laboratory
of the Institute of Chemistry of Plant Substances
Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

Shamansur Sagdullayev

*Doctor of technical sciences, Professor,
Institute of the Chemistry of Plant Substances,
Academy of sciences of the Republic of Uzbekistan,
Republic of Uzbekistan, Tashkent*

АННОТАЦИЯ

Целью настоящей работы являются исследования по обоснованию подходов к химической стандартизации лекарственного растительного сырья (ЛРС) и препаратов, содержащих алкалоиды. Стандартизация ЛРС и ЛРП является гарантией их качества и обеспечивает эффективность и безопасность их применения.

Основная цель исследования заключалась в определении количества N-деацетиллаппаконитина, основного действующего алкалоида препарата Антиаритмина, из вторичных продуктов производства препарата Аллапинин, производимого в Институте химии растительных веществ. Для определения N-деацетиллаппаконитина в сырье, использовали метод ВЭЖХ. Рассчитаны метрологические характеристики анализа.

ABSTRACT

The purpose of this work is to study the substantiation of approaches to the chemical standardization of medicinal plant materials (MPs) and preparations containing alkaloids. The standardization of MMR and MRP is a guarantee of their quality and ensures the effectiveness and safety of their use.

The main goal of the study was to determine the amount of N-deacetylappaconitine, the main active alkaloid of the Antiarrhythmia drug, from the secondary products of the production of the Allapinin drug, produced at the Institute of Chemistry of Plant Substances. To determine N-deacetylappaconitine in raw materials, the HPLC method was used. The metrological characteristics of the analysis are calculated.

Ключевые слова: стандартизация, N-деацетиллаппаконитин, алкалоид, ВЭЖХ, метод, метрология.

Keywords: standardization, N-dezacylappaconitine, alkaloid, HPLC, method, metrology.

Введение. Среди широкого спектра лекарственных средств, применяемых в медицинской практике, особое место занимают препараты на основе лекарственного растительного сырья.

В многообразии современных физико-химических методов хроматография занимает одно из ведущих мест, так как позволяет осуществить разделение веществ, их идентификацию и количественное определение. Среди хроматографических методов высокоэффективная жидкостная хроматография занимает прочную позицию как селективный высокоточный метод анализа многокомпонентных лекарственных препаратов [1,2].

Данная работа посвящена определению N-деацетиллаппаконитина гидробромида во вторичных продуктах производства антиаритмического препарата Аллапинина. Это соединение является действующим веществом препарата Антиаритмин [3].

При изучении фармакологических и токсикологических свойств было выявлено, что главный метаболит

лаппаконитина (Аллапинина) – N-деацетиллаппаконитин (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, Антиаритмин менее токсичен, обладает большей терапевтической широтой, превосходит аллапинин по скорости развития противоаритмического эффекта [4,5,6].

Сырье для получения Антиаритмина – высушенный вторичный продукт производства после перекристаллизации технического аллапинина – представляет собой измельченное порошкообразное вещество коричневого цвета, которое помимо бромоводородной соли алкалоида N-деацетиллаппаконитина содержит еще ряд других дитерпеновых алкалоидов и их производных (ранаконитин, сепаконитин, N-ацетилсепаконитин и др.).

Для разработки технологии производства субстанции препарата Антиаритмин изучали по стадиям технологический процесс производства субстанции препарата Аллапинин, с целью изучения накопления алкалоида N-дезацетиллапоконитина в полупродуктах, техническом и конечном продуктах.

Экспериментальная часть. Качество анализа напрямую зависит от правильного выбора условий хроматографического разделения. Выбор хроматографической колонки основывается на физико-химических свойствах анализируемых веществ. На

хроматографическое разделение также влияет рН подвижной фазы, соотношение органических и водных компонентов, наличие ионов-модификаторов для образования ионных пар в случае необходимости.

Выбор аналитической длины волны. В качестве аналитической выбрана длина волны 330 ± 2 нм, поскольку в данной области спектра изучаемые вещества характеризуются максимальным поглощением (рис. 1.), что в итоге обеспечит наибольшую чувствительность методики при определении примесей.

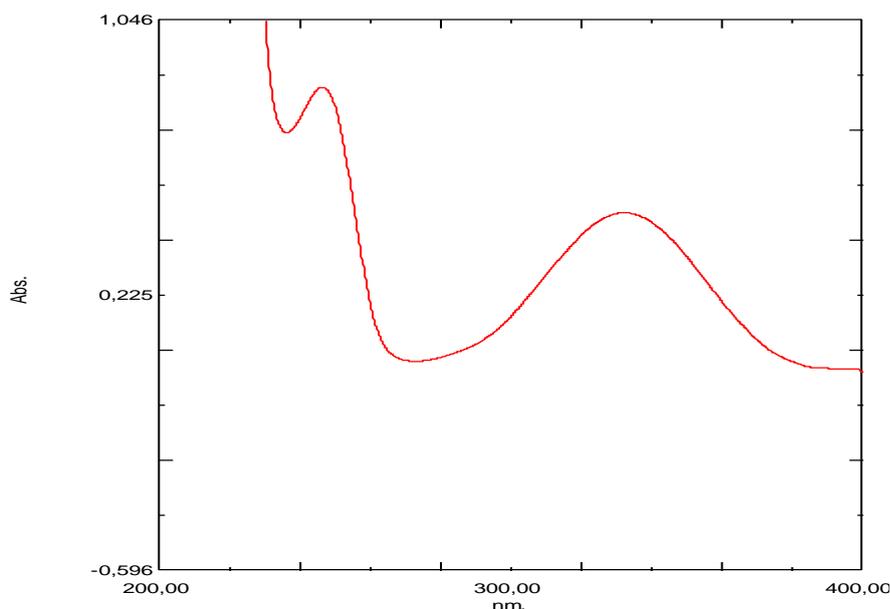


Рисунок 1. УФ-спектр стандартного образца алкалоида N-дезацетиллапоконитина

Условия хроматографического разделения

Определения N-дезацетиллапоконитина методом ВЭЖХ, проводимые на жидкостном хроматографе высокого давления системе Shimadzu, снабженной спектрофотометрическим детектором, разделение

проводилось с колонкой Shimadzu C18, $4,6 \times 250$ мм, с размером частиц 5 мкм. на обращённо-фазной колонке.

Экспериментально установленные оптимальные условия хроматографического разделения представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Параметры хроматографического разделения

Параметры	
Насос	
-состав подвижной фазы	А-буферный раствор рН $8,0 \pm 0,1$ В-ацетонитрил
-режим элюирования	Изократическое элюирование А:В (40:60)
-скорость потока	1,0 мл/мин
Инжектор	
-объём ввода	20 мкл
Термостат колонок	
-Температура	40°C
Детектирование	УФ-спектрофотометрическое при $\lambda = 330 \pm 2$ нм
Хроматографические характеристики методики	
- примерное время удерживания, мин. (t_R)	4,4 мин

В конечном итоге проведенных исследований, разработан метод определения N-дезацетиллаппаконитина гидробромида во вторичных продуктах производства (далее сырье) субстанции препарата Аллапинина. Маточного раствора, полученного после перекристаллизации Аллапинина из метанола сгущают и упаривают досуха. Полученный сухой остаток измельчают на мельнице. Измельченное порошкообразное вещество является сырьем для получения Антиаритмина.

Определение N-дезацетиллаппаконитина гидробромида в сырье проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе. В качестве стандартного образца использовали Антиаритмин-стандартный образец (ВФС 42 Уз-3259-2017). Приготовление испытуемого раствора сырья и стандартного раствора Антиаритмина проводили следующим образом:

Около 10 мг (точная навеска) порошка сырья помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводили объем водой до метки, перемешивали. 5,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем подвижной фазой до метки и перемешивали (испытуемый раствор).

Около 5 мг (точная навеска) стандартного образца Антиаритмина помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем водой до метки, перемешивали. 5,0 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем подвижной фазой до метки и перемешивали (раствор СО).

Содержание N-дезацетиллаппаконитина в сырье в процентах (X) в пересчете на безводное вещество вычисляли по формуле:

$$X = \frac{S_{ис} \times m_{ст} \times V_{ис} \times P \times 100}{S_{ст} \times m_{ис} \times V_{ст} \times (100 - W)}$$

где $S_{ис}$ – площадь пика N-дезацетиллаппаконитина на хроматограмме испытуемого раствора;

$S_{ст}$ – площадь пика N-дезацетиллаппаконитина на хроматограмме раствора СО;

$m_{ст}$ – навеска СО N-дезацетиллаппаконитина, в граммах;

$m_{ис}$ – навеска сырья, в граммах;

P – содержание N-дезацетиллаппаконитина в СО, в процентах;

W – суммарное содержание воды, в процентах.

Хроматографировали раствор стандартного образца и испытуемый раствор, получая не менее трёх хроматограмм для каждого (рис. 1,2).

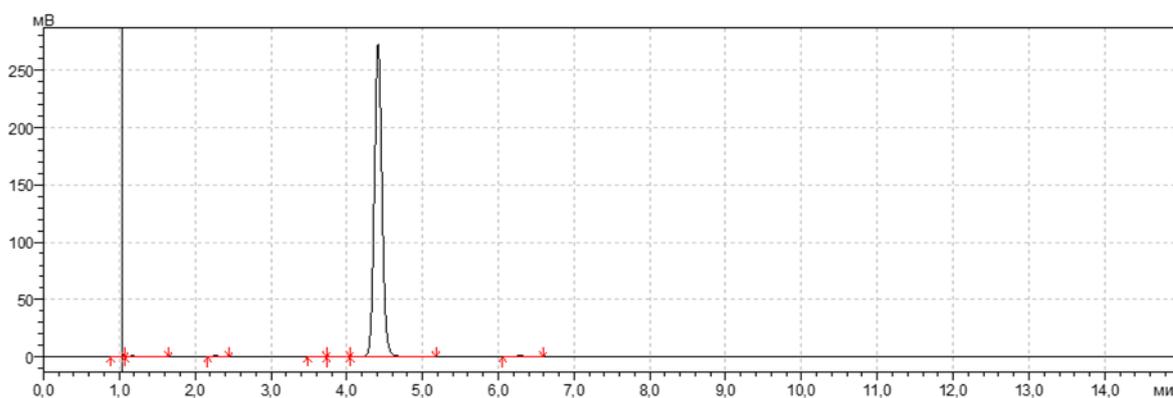


Рисунок 2. Хроматограмма стандартного образца препарата Антиаритмин

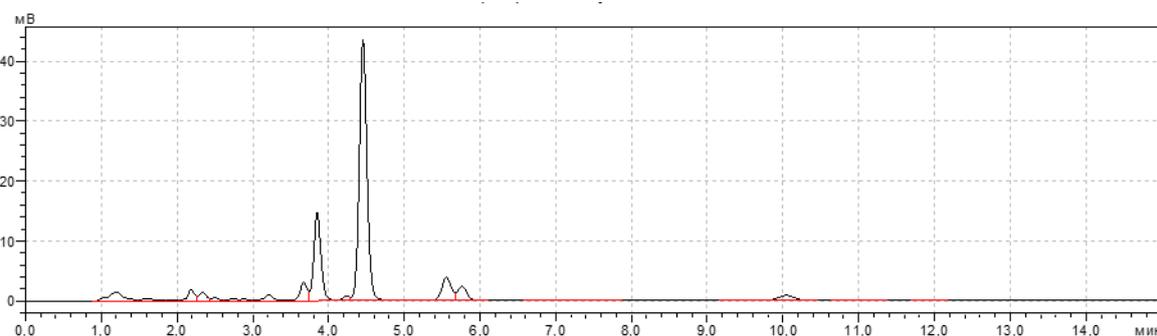


Рисунок 3. Хроматограмма вторичного продукта (сырья) препарата Антиаритмин

На рисунке 2 и 3 представлены хроматограммы СО и сырья препарата Антиаритмин. Показано что в сырье основным по содержанию является N-дезацетиллаппаконитин.

Результаты количественного содержания N-дезацетиллаппаконитина в сырье и метрологические характеристики результатов приведены в таблице 2.

Таблица 2.

Результаты статистической обработки анализа образцов сырья

№	Взято, мкг/мл (С1)	Найдено, %	Метрологические характеристики (P=95%, n=7)
1	10,50	32,55	$X_{cp} = 32,52$ $S^2 = 0,008$ $S = 0,14$ $P, \% = 95$ $t(P, f) = 2,45$ $\pm \Delta x = 0,16$ $\varepsilon, \% = 1,1$ $\delta, \% = 0,49$ $RSD, \% = 0,066$
2	10,60	32,54	
3	10,20	32,52	
4	10,40	32,55	
5	10,70	32,5	
6	10,70	32,5	
7	10,50	32,52	

Нами было исследовано несколько образцов сырья препарата Антиаритмина. Содержание N-дезацетиллаппаконитина в сырье варьировалось от 25,0 до 45,0% в зависимости от исходного сырья. На основании полученных данных предложено нормировать содержание N-дезацетиллаппаконитина в сырье не менее 22,0%.

Вывод

1. Выбраны условия определения N-дезацетиллаппаконитина методом ВЭЖХ, проводимые на жидкостном хроматографе высокого давления в системе Shimadzu, снабженной спектрофотометрическим детектором, разделение проводилось с колонкой Shimadzu C18, 4,6×250 мм, с размером

частиц 5 мкм. на обращенно-фазной колонке. Изократическое элюирование подвижной фазой состава: буферный раствор с pH 8,0– ацетонитрил (40:60) при скорости потока 1,0 мл/мин позволяет эффективно разделять исследуемые соединения.

2. Разработанная методика успешно используется для изучения постадийного контроля производства субстанции препарата Антиаритмин.

3. С помощью разработанных условий произведено исследование серийных субстанций Антиаритмин. По результатам предложено нормировать содержание N-дезацетиллаппаконитина гидробромида в сырье не менее 25,0%.

Список литературы:

1. 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;8(3):170-178. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2018-8-3-170-178>
2. Kazakevich Y., Lobrutto R. HPLC for pharmaceutical scientists. – New Jersey: John Wiley, 2007. – 1135 p.
3. Патент РУз №IAP 04858. Способ получения N-дезацетил-лаппаконитина гидробромида, обладающего антиаритмическим действием / Садиков А.З., Сагдуллаев Ш.Ш., Валиев Н.В., Джахангиров Ф.Н., Абдуллаев Н.Д., Турсунходжаева Ф.М., Усманова С.К. // Расмий ахборотнома. – 2014. – № 4.
4. 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):19-24. <https://doi.org/10.37489/2587-7836-2021-2-19-24>.
5. 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 - p.108.
6. Джахангиров Ф.Н., Ташходжаев Б., Султанходжаев М.Н., Салимов Б.Т. Дитерпеноидные алкалоиды – как новый класс антиаритмических средств // Химия природ. соед. - 1997. – № 5. - С. 254.
7. ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента».