



DEVELOPMENT AND VALIDATION OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF DIHYDROATHISIN HYDROCHLORIDE UV-VIS SPECTROPHOTOMETRY

Ubaydullaev Q.A.

Abduraimova M.M.

Tashkent, Republic of Uzbekistan,

Tashkent Pharmaceutical Institute

abduraimova.moxlaroy@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.14167995>

ARTICLE INFO

Received: 10th November 2024

Accepted: 14th November 2024

Online: 15th November 2024

KEYWORDS

Dihydroathizine hydrochloride, diterpene alkaloids, spectrophotometry, antiarrhythmic drug, validation, quantitative determination.

ABSTRACT

The technique of quantitative determination of dihydroathizine hydrochloride substance by UV-visible spectrophotometry was developed. The validation parameters of the method were determined. The method meets the requirements to the methods of analysis of pharmaceutical substances.

РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДИГИДРОАТИЗИНА ГИДРОХЛОРИДА МЕТОДОМ УФ- СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Убайдуллаев К.А.

Абдураимова М.М.

Ташкент, Республика Узбекистан,

Ташкентский фармацевтический институт

abduraimova.moxlaroy@gmail.com

<https://doi.org/10.5281/zenodo.14167995>

ARTICLE INFO

Received: 10th November 2024

Accepted: 14th November 2024

Online: 15th November 2024

KEYWORDS

Дигидроатизина гидрохлорид, алкалоиды дитерпенового ряда, спектрофотометрия, антиаритмическое средство, валидация, количественное определение.

ABSTRACT

Разработана методика количественного определения субстанции дигидроатизина гидрохлорида методом спектрофотометрии в УФ-области. Определены валидационные параметры методики. Методика отвечает требованиям, предъявляемым к методикам анализа фармацевтических субстанций.

Введение. Алкалоиды - это группа органических соединений, содержащих азот, которые имеют значительную биологическую активность. Дитерпеновые алкалоиды - это подгруппа, которая включает алкалоиды с двумя терпеновыми единицами.



Основными источниками дитерпеновых алкалоидов в мире являются растения рода *Aconitum* (аконит или борец) и *Delphinium* (дельфиниум или живокость) [1]. *Aconitum zeravschanicum* Worosch. (борец зеравшанский) принадлежит к семейству Ranunculaceae и значительно интересует исследователей благодаря своему содержанию разнообразных алкалоидов. В этом растении содержатся различные алкалоиды, относящиеся к классу дитерпеновых, такие как: тангутизин, зераконин, атизин, изоатицин, гетизин, номинин, зеравшаницин, бензоилгетератицин, атидин, гетератицин, атизин-азометин. Каждый из них обладает противоаритмической активностью [2]. Из алкалоида атизин, путем его восстановления, получают дигидроатицин. Субстанция дигидроатицина гидрохлорид демонстрирует более высокую противоаритмическую активность по сравнению с другими алкалоидами этого растения [3-5].

Для стандартизации и контроля качества препарата дигидроатицина гидрохлорида, можно использовать один из широко применяемых и современных методов анализа - спектрофотометрию в УФ-области. Преимущество данного метода заключается в том, что для эксперимента затрачивается небольшое количество исследуемого вещества, и метод обладает достаточно простой техникой выполнения анализа.

Цель исследования. Доказать пригодность анализа, разработав методику количественного определения дигидроатицина гидрохлорида методом спектрофотометрии в УФ-области с последующей валидацией методики.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали производное атицина-дигидроатицина гидрохлорид [6]. Применили спектрофотометрический метод количественного определения дигидроатицина гидрохлорида.

0,12 г (точная навеска) дигидроатицина гидрохлорида поместили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворили в 20 мл воды очищенной, объем раствора довели до метки тем же растворителем (раствор А). 1 мл раствора А поместили в мерную колбу ёмкостью 50 мл и разбавили водой очищенной до метки.

Оптическую плотность раствора определили на спектрофотометре при длине волны 241 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве контрольного раствора использовали очищенную воду.

Одновременно определили оптическую плотность очищенного раствора дигидроатицина гидрохлорида.

Содержание дигидроатицина гидрохлорида в процентах рассчитали по следующей формуле:

$$X = \frac{D \cdot a_0 \cdot 100}{D_0 \cdot a}$$

Результаты и их обсуждение.

Провели статистическую обработку полученных результатов спектрофотометрии в УФ-области [7]. Провели валидацию методики по следующим критериям: специфичность, линейность, сходимость (прецизионность), правильность. Данные, полученные при статистической обработке результатов спектрофотометрии в УФ-области, представлены в таблице 1.

Таблица 1

Показатели статистического анализа УФ-спектрофотометрии дигидроатизина гидрохлорида.

n	a	D	x%	\bar{x}	S ²	S	Δx	$\Delta \bar{x}$	ε	$\bar{\varepsilon}$	RSD
5	0,0992	0,52	98,86	99,47	0,5375	0,7599	2,1125	0,9431	2,18%	0,975%	0,764
	0,1011	0,53	98,88								
	0,1023	0,54	99,08								
	0,1056	0,56	100,18								
	0,1072	0,57	100,35								

Специфичность данной аналитической методики доказывалась путем сравнения анализируемого вещества и стандартного образца. УФ-спектры анализируемого вещества и стандартного образца идентичны, то есть имеют максимум поглощения при длине волны детектора 241±2 нм. Интерференция не превысила 2%, что отвечает критериям приемлемости [8].

УФ-спектры испытуемого образца имеют максимум поглощения при длине волны 241±2 нм (Рис. 1).

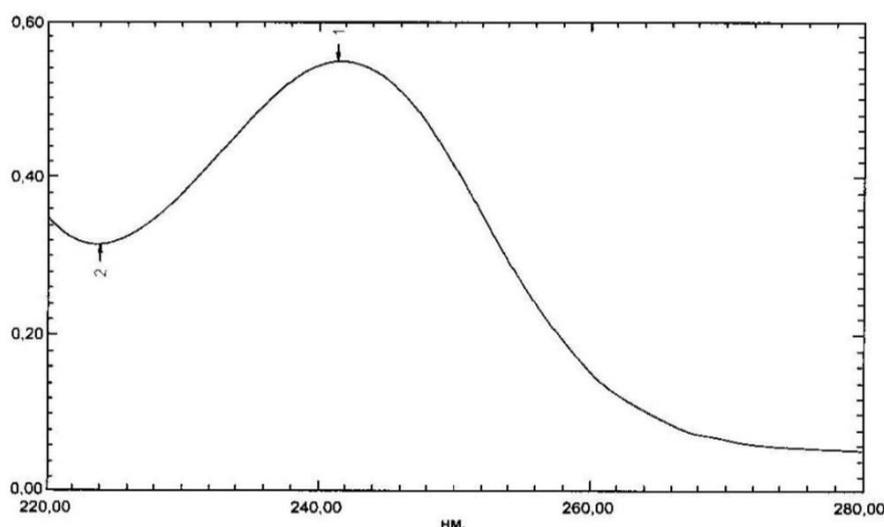


Рис. 1. УФ-спектр анализируемого раствора дигидроатизина гидрохлорида

Для определения линейности методики были получены спектры растворов дигидроатизина гидрохлорида различной концентрации и построен график зависимости оптической плотности (при соответствующей длине волны) от концентрации раствора лекарственного вещества (Рис. 2). Из построенного графика следует, что коэффициент корреляции отвечает критерию приемлемости и равен 0,9981. Соответственно, данная методика анализа обладает выраженной линейной зависимостью.

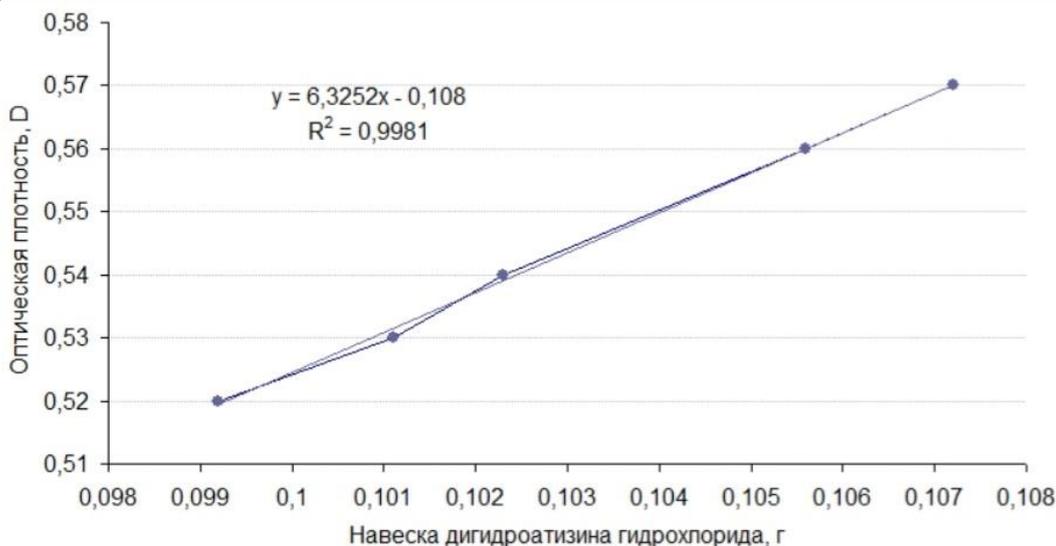


Рис. 2. График линейности методики

Определение правильности и сходимости (прецизионности) метода было выполнено путем получения УФ-спектров 3 параллельных образцов, приготовленных из одной серии исследуемого раствора. Анализ проводили два химика в течение 3 дней. Относительное стандартное отклонение (RSD, %) рассчитанное для определения содержания дигидроатизина гидрохлорида в исследуемом растворе и полученное в условиях повторяемости, составило 0,37%, что соответствует критерию приемлемости - не более 2,0%.

Таблица 2

Определение параметров правильности и сходимости (прецизионности) методики на модельных растворах

Уровень	№	Навеска, г (Xi)	Оптическая плотность, (Ai)	Найдено, г (Yi)	Найдено, % (Zi=Yi·100/Xi)
1	1	0,0995	0,52	0,0998	100,30
	2	0,1010	0,53	0,1007	99,70
	3	0,1020	0,53	0,1016	99,60
2	4	0,1011	0,53	0,0999	98,81
	5	0,1030	0,54	0,1028	99,80
	6	0,0998	0,52	0,0990	99,20
3	7	0,1022	0,53	0,1020	99,80
	8	0,1012	0,53	0,1013	100,10
	9	0,0999	0,52	0,1002	100,30
Среднее, \bar{Z} (%)					99,73
Стандартное отклонение, S					0,37
Относительное стандартное отклонение, RSD_z (%)					0,37
Относительный доверительный интервал, $\Delta Z = t(95\%, n-1) \cdot RSD_{z\Delta}$					0,85
Систематическая погрешность, $\delta = Z - 100 $					0,27
Критерий статистической незначимости, $\Delta Z/3$					0,28

Вывод. Разработан метод количественного определения дигидроатизина гидрохлорида в субстанции с использованием их УФ-спектров поглощения. Полученные математические характеристики подтверждают пригодность метода для стандартизации дигидроатизина гидрохлорида в субстанции. Валидационные параметры метода, такие как, правильность, точность, сходимость, воспроизводимость



и линейность, находятся в пределах нормы, RSD = 0,37. Относительный доверительный интервал равен 0,85.

References:

1. Юнусов М.С. Дитерпеновые алкалоиды. Структура, свойства, применение // Научно-практический журнал «Фармацевтический бюллетень». – Караганда, 2014, №3-4, С. 34.
2. Кодирова М.Ш., Турсунходжаева Ф.М., Салимов Б.Т., Джахангиров Ф.Н., Режепов Ж. Атизин ва гетизин қатори алкалоидларининг антиаритмик таъсири ва кимёвий тузилишфаоллик муносабатлари // Farmatsevtika jurnali. – 2010, №4, Б. 72.
3. Валиев Н.В. Технологии производства субстанций препаратов антиаритмина и дигидроатизина гидрохлорида: Автореф. дисс. д-ра филос. по техн. наукам. – Ташкент, 2018, С. 44.
4. Валиев Н.В., Юсупова Д.М., Салимов Б.Т. Aconitum Zeravschanicum – сырье для производства препарата дигидроатизина гидрохлорида и анатомо-морфологическое строение его надземных органов // Фармацевтический журнал. - Ташкент, 2016, № 3, С. 24-27.
5. Джахангиров Ф.Н., Кадилова М.Ш., Режепов Ж., Турсунходжаева Ф.М. К фармакологии дитерпеноидного алкалоида дигидроатизина // Сборник тезисов конференции «Актуальные проблемы химии природных соединений». - Ташкент, 2009, С. 233, 247.
6. Ботиров Р.А., Валиев Н.В., Жураев О.Т., Азизова М.А., Саноев А.И. Оптимизация процесса получения дигидроатизина // Universum: Химия и биология: электрон. научн. журн. 2019. № 3(57), С.2-3.
7. П.С. Зориков, В.М. Колдаев Спектрофотометрические параметры некоторых алкалоидов // Тихоокеанский медицинский журнал, 2013, № 2, С. 28-30.
8. Убайдуллаев К.А., Абдуллабекова В.Н., Хусаинова Р.А., Умарова Г.К. Дори воситаларини иш-лаб чиқариш валидацияси – Тошкент, «Янги нашр» - 2017, Б. 22-28