

**“ДАРМОН” ШАХМАЛ ЭМЭНД НИЙЛБЭР ИРИДОИДИЙН ХЭМЖЭЭГ ТОДОРХОЙЛОХ  
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЙН АРГЫН БАТАЛГААЖИЛТ**

Б.Сэлбэнчал<sup>1\*</sup>, Б.Сугармаа<sup>2</sup>, Б.Одчимэг<sup>2</sup>, Г.Ганчимэг<sup>2</sup>, Б.Баттулга<sup>2</sup>,  
С.Бадамцэцэг<sup>2</sup>, А.Баянмөнх<sup>2</sup>, С.Цэцэгмаа<sup>2</sup>, Л.Лхагва, Л.Хүрэлбаатар<sup>3</sup>, Р.Лхаасүрэн<sup>2</sup>

<sup>2</sup>Эм судлалын хүрээлэн

<sup>1</sup>“Монос фарм” ХХК

<sup>3</sup>Монос групп

\*Цахим хаяг: [selbenchal@monos.mn](mailto:selbenchal@monos.mn)

**METHOD VALIDATION OF TOTAL IRIDOIDS IN “DARMON” TABLETS  
BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD**

Selbenchal B.<sup>1\*</sup>, Sugarmaa B.<sup>2</sup>, Odchimeg B.<sup>2</sup>, Ganchimeg G.<sup>2</sup>, Battulga B.<sup>2</sup>, Badamtsetseg S.<sup>2</sup>,  
Bayanmunkh A.<sup>2</sup>, Tsetsegmaa S.<sup>2</sup>, Lkhagva L., Khurelbaatar L.<sup>3</sup>, Lkhaasuren R.<sup>2</sup>.

<sup>2</sup>Drug research institute

<sup>1</sup>“Monos pharma” Co., LTD

<sup>3</sup>Monos Group

\*E-mail: [selbenchal@monos.mn](mailto:selbenchal@monos.mn)

**Abstract**

**Introduction Introduction:** A joint research team of the Drug Research Institute and Monos pharm Co.ltd is conducting an experiment to produce of “Darmon” tablets. Iridoids are one of the predominant biological active compound in “Darmon” tablets and will be an important indicator of the quality of the drug.

**Objectives:** This is the first report on the determination of iridoids by spectrophotometric method in “Darmon” tablets.

**Methods:** The amount of total iridoids of “Darmon” tablets was confirmed by spectrophotometry and the absorbance was measured at 238 nm. Geniposide (98%, Xilong Scientific Co., Ltd) was used as the standard substance.

**Results:** The developed spectrophotometric method showed good linearity ( $R^2=0.9989$ ), high precision (RSD<2%) and a good recovery (96.01-104.48%). All the validation parameters of the spectrophotometric method were found to be within the permissible limits according to the ICH guidelines.

**Conclusions:** The method was robust, accurate and reliable for the quality control of “Darmon” tablets.

**Key words:** traditional medicine, tsblets, geniposide

**Түлхүүр үг:** Уламжлалт эм, шахмал эм, генипозид

**Үндэслэл**

2019 оны байдлаар Монгол Улсын хүн амын өвчлөлийн тэргүүлэх 5 шалтгаанд амьсгалын тогтолцооны өвчин орсон байдаг ба амьсгалын замын зарим цочмог халдварт өвчин нийт халдварт өвчний 36.8%-ийг эзэлж<sup>1</sup> байгаа нь амьсгалын замын өвчний үед хэрэглэх чанар сайтай, баталгаат эмийн хэрэгцээ

шаардлагатай байна. Дэлхийн улс орнуудад уламжлалт анагаах ухаанд хэрэглэгдэж ирсэн эм танг орчин үеийн анагаах ухааны практикт нэвтрүүлэх хандлага хурдацтайгаар нэмэгдэж байна. ДЭМБ-ын “Ургамлын эм үйлдвэрлэлийн зохистой дадлын удирдамж”-д ургамлын гаралтай эмийн чанар, аюулгүй байдал, үр нөлөө, хэрэглээг үнэлэх бүх шатанд GMP

(Good manufacturing Practices)<sup>2</sup> -г баримтлахыг зөвлөдөг. Ургамлын эмийн түүхий эд болон эмийн чанар, аюулгүй үзүүлэлтийн шинжилгээг баталгаат арга, аргазүйн дагуу хийх ба үр дүн нь улсын стандарт, фармакопейн үзүүлэлтүүдтэй тохирсон байх ёстой<sup>6</sup>.

Уламжлалт анагаах ухааны “Дарву-5” талх эм нь исгэлэн амттай, халуун чанартай, хурц, сэрүүн эрдэм бүхий ханиахыг зогсоох, цэрийг ховхлох, бадганыг арилгах үйлдэлтэй чацарганаар голлогч эм болгож, уушгины халууныг арилган, ханиах, амьсгаадахыг намдаах, уушгины сүвийг нээх зорилгоор үзэм, чихэр өвс, рудаг туслагч болгон, цусны халууныг арилгахад жүр үрийг үйлчлүүлэн найруулсан байна<sup>7,8</sup>. Уламжлалт тан, талх эм нь хадгалалт, тээвэрлэлт болон хэрэглээний үед уутнаас асгарсаны улмаас тунгийн хэмжээ хорогдох мөн хадгалалтын явцад хөгц мөөгөнцөр үүсэх, биологийн бохирдол болох, механик үйлчлэлд орох, тогтвортой чанараа алдах зэрэг чанар аюулгүй байдлын эрсдэлүүд байдаг.

Бид Монгол улсын эмийн зах зээлд өргөнөөр хэрэглэгддэг ханиалга намдаах үйлдэлтэй “Дарву-5” талх эмийг стандартын шаардлага хангасан түүхий эд ашиглан, чийгтэй мөхлөгжүүлэх аргаар шахмал эмийн хэлбэрт шилжүүлэх технологийн судалгааг гүйцэтгэсэн бөгөөд “Дармон” хэмээн нэрлэв. Дармон эмийн найрлагад агуулагдах биологийн идэвхт нэгдлийн нэг нь иридоиууд юм.

Иймээс “Дармон” шахмал эмэнд агуулагдах нийлбэр иридоидийн хэмжээг тодорхойлох спектрофотометрийн арга зүйг баталгаажуулах зорилгоор үнэмшилт чанар, нарийвчлал, шугаман чанар, илрүүлэх хязгаар, тодорхойлогдох хязгаар зэрэг үзүүлэлтийг тодорхойлов.-

## Судалгааны хэрэглэгдэхүүн ба материал

Эм судлалын хүрээлэнгийн Туршилт үйлдвэрлэлийн цехийн судалгааны баазыг ашиглан “Дармон” шахмал эмийг судлагдахуун болгон ашигласан. Стандарт бодис генипозид (99 %)-ыг БНХАУ-ын Xilong Scientific Co., Ltd 98 %), Метанол (Xilong Scientific Co., Ltd-ээс авсан. Судалгаанд UV-M51 BEL photonics маркийн спектрофотометр болон аналитик жин, эргэх хөргөгч, усан халаагуур ашиглав.

### Арга зүй

Дээж уусмал **бэлтгэх**: “Дармон” шахмалаас 1 г (0.001 нарийвчлалтай)-ыг жинлэн 50 мл-ийн нэрлэгийн колбонд авч 20 мл метанол нэмж эргэх хөргөгчтэй холбон 70°-80°С-ийн хэмийн усан халаагуурт 1 цаг хандална. Уг хандыг тасалгааны хэмд хөргөөд, цаасан шүүлтүүрээр 50 мл-ийн хэмжээст колбо руу шүүнэ. Нэрлэгийн колбо дахь үлдэгдэл дээр 20 мл метанол нэмж 30 минут хандлаад, өмнөх 50 мл-ийн хэмжээст колбо дахь дээж рүү шүүж, шүүлтийн цаасыг 5 мл метанолоор угааж, хандтай нийлүүлэх ба хэмжээс хүртэл метанол нэмнэ (А уусмал).

Бэлтгэсэн А уусмалаас 1 мл-ийг хэмжин 25 мл-ийн хэмжээст колбонд авч, хэмжээс хүртэл метанол нэмж, тасалгааны хэмд 10 мин байлгана. Уусмалын гэрэл шингээлтийг долгионы уртын 238 нм-ын утганд метанолтой харьцуулж спектрофотометрээр хэмжинэ.

Стандарт бодисын уусмал бэлтгэх: Стандарт бодис генипозидоос 0.01 г-ыг нарийвчлалтай жинлэн авч бага хэмжээний метанолтой шилэн яаганд хийж, хэт авианы усан халаагуурт тавьж сайтар уусгаад, дараа нь уусмалыг 50 мл-ийн хэмжээст колбо руу шилжүүлж, хэмжээс хүртэл метанол нэмнэ. (А<sub>1</sub> уусмал).

Бэлтгэсэн  $A_1$  уусмалаас 1 мл-ийг 10 мл-ийн хэмжээст колбонд авч, хэмжээс хүртэл метанол нэмж тасалгааны хэмд 10 минут байлгасны дараа гэрэл шингээлтийг долгионы уртын 238 нм-ын утганд метанолтой харьцуулан хэмжинэ.

Нийлбэр иридоидийн тоог генипозидод шилжүүлэн дараах томъёогоор тооцоолж нэгж бүтээгдэхүүнд агуулагдах иридоидийг г-аар илэрхийлнэ.

$$X = \frac{D_x \times a_{st} \times V_1 \times V_3 \times V_5}{D_{st} \times a_x \times V_2 \times V_4 \times V_6} \times \frac{A\%}{100\%} \times P$$

X – Нэгж бүтээгдэхүүнд агуулагдах нийлбэр иридоидийн хэмжээ, г

$a_x$  – Шинжилгээнд авсан дээжийн хэмжээ, г

$a_{st}$  – Стандарт бодисын хэмжээ, г

$D_x$  – Шинжилж буй дээж уусмалын гэрэл шингээлт

$D_{st}$  – Стандарт бодисын уусмалын гэрэл шингээлт

$V_1, V_2, V_3$  – Дээж уусмалын сулруулалт, мл (50, 1, 25)

$V_4, V_5, V_6$  – Стандарт бодисын уусмалын сулруулалт, мл (50, 1, 10)

$A\%$  - Стандарт бодис генипозидийн цэвэршилт, %

P – Нэгж бүтээгдэхүүний дундаж жин, г

Статистик боловсруулалт

Шинжилгээний аргын баталгаажуулалтын үр дүнг тайлбарлахад ашигладаг үндсэн үзүүлэлтүүд болох дундаж утга (mean or average), стандарт хазайлт (SD), харьцангуй стандарт хазайлт (RSD), үнэмшилт интервал (confidence intervals), регрессийн шинжилгээг үнэлэх дисперсийн шинжилгээ R (корреляцийн коэффициент) ба R квадрат (тодорхойлох коэффициент) буюу шугаман регрессийг хэмжиж тогтоов (ANOVA)<sup>11</sup>. Жишиг муруйд регрессийн дүн шинжилгээ хийж шулууны тэгшитгэлийг ашиглан уг аргын тодорхойлох хязгаар, илрүүлэх хязгаарыг тогтоов<sup>12,13</sup>.

### Үр дүн

“Дармон” шахмал эмэнд гол үйлчлэгч бодисын нэг болох иридоидыг спектрофотометрийн аргаар тодорхойлж аргын баталгаажилтыг хийж гүйцэтгэв.

### Үнэмшилт чанар

“Дармон” шахмал эмийн нийлбэр иридоидийн тооны шинжилгээний үнэмшилт чанарыг 3 өөр концентрацитай дээж бэлтгэн стандарт бодис генипозидтой харьцуулан тодорхойлов. 3-туршилтын RSD 0.88%, 1.43%, 0.3% байгаа нь шаардлага хангаж байна (Хүснэгт 1).

Table 1. Accuracy of quantitative analysis of “Darmon” tablets

No	Sample concentration	Result, µg/ml	Recovery, %	Mean value %	Qualified	RSD %	Qualified
1	50%	3.169447	105.64	106.72	Yes	0.88	Yes
2		3.238348	107.94				
3		3.197008	106.56				
Permissible amount				90-110%		Not more than 2.0%	
1	100%	6.297554	104.95	107.02	Yes	1.43	Yes
2		6.449136	107.48				
3		6.518037	108.63				
Permissible amount				90-110%		Not more than 2.0%	

1			9.839066	109.32	109.16			
2	150%	9 µg/ml	9.852846	109.47		Yes	0.3	Yes
3				9.783945	108.71			
			Permissible amount		90-110%	Not more than 2.0%		

**Нарийвчлал**

“Дармон” шахмал эмийн нийлбэр иридоидийн тооны шинжилгээний нарийвчлалыг аргын нарийвчлал, дундаж утгын нарийвчлал гэсэн зүүлэлтээр тодорхойлсон ба үр дүнг Хүснэгт 2, 3–т үзүүлээ.

Table 2. Method precision (results of repeatability)

Injection Number	Absorption	The amount of total iridoids, mg
Replicate 1	0.476	10.79
Replicate 2	0.483	10.95
Replicate 3	0.469	10.63
Replicate 4	0.480	10.88
Replicate 5	0.462	10.47
Replicate 6	0.465	10.54
Replicate 7	0.481	10.90
Replicate 8	0.476	10.79
Replicate 9	0.468	10.61
Replicate 10	0.462	10.47
Mean	0.472	10.7
ST DEV	0.0075	0.17
RSD %	1.6	1.6

“Дармон” шахмал эмийн нийлбэр иридоидийн тооны шинжилгээний аргын нарийвчлалыг 10 удаагийн давталттай хэмжилтээр шалгахад харьцангуй стандарт хазайлт 2.0 %-иас ихгүй байгаа нь шаардлага хангаж байна. Мөн дундаж утгын нарийвчлал нь RSD 1.61% шаардлага хангаж байна.-

Table 3. Results for determining intermediate precision

№	Sample	The amount of total iridoids, mg	
		First analyzer/ Day 1	Second analyzer/ Day 2
1	“Darmon” tablets	10.79	10.54
2	“Darmon” tablets	10.95	10.9
3	“Darmon” tablets	10.63	10.79
4	“Darmon” tablets	10.88	10.61
5	“Darmon” tablets	10.47	10.47
6	Mean (n = 5)	10.74	10.66
7	RSD % (n = 10)	1.61	
8	Permissible amount (n = 10)	Not more than 2.0%	
9	Qualified	Yes	

**Шугаман чанар**

“Дармон” шахмал эмийн нийлбэр иридоидийн тооны шинжилгээний шугаман чанарыг стандарт бодисын 200 мкг/мл концентрацитай ажлын уусмалаас 25% - 200% ялгаатай уусмалууд бэлтгэн тус бүрийн гэрлийн шингээлтийг хэмжин тодорхойлж, үр дүнг Хүснэгт 4, зураг 1 –т тус тус үзүүллээ.

Table 4. Linearity of standard geniposide

№	Nominal concentration of standard, µg/ml	Absorption	Real concentration of solution, µg/ml	Recovery, %
1	5	0.117	4.8	96.01
2	10	0.235	9.69	96.97
3	15	0.379	15.67	104.48
4	20	0.469	19.40	97.03
5	30	0.725	30.02	100.09
6	40	0.963	39.90	99.76
Mean /n=6/				99.06
Intercept				0.0013
Slope				0.0241
SE of intercept				0.0091
SD of intercept				0.022

Судалгааны үр дүнд–жиших муруйн корреляцийн коэффициент  $R^2=0.9989$  байгаа нь шугаман хамааралтай болохыг баталж байна.

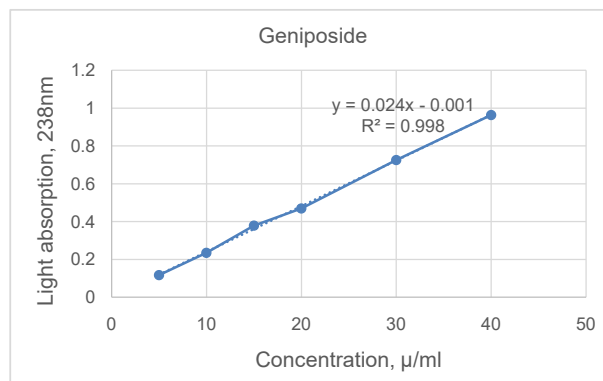


Figure 1. Linearity of standard geniposide

**Илрүүлэх хязгаар**

Илрүүлэх хязгаарыг жиших муруйн шулууны тэгшитгэл ашиглан тооцоолж, хамгийн бага илрүүлэх концентрацийг тогтоолоо.

$$LOD = \frac{3.3 * \sigma}{S} = \frac{3.3 * 0.022408505}{0.0241} = 3.068 \text{ мкг/мл}$$

Энд:  $\sigma$  – Стандарт хазайлт (SD of intercept); S – Налуу (Slope)

### Тодорхойлогдох хязгаар

Тодорхойлогдох хязгаарыг жиших муруйн шулууны тэгшитгэл ашиглан тооцоолж, хамгийн бага тодорхойлогдох концентраци болохыг тогтоолоо.

$$LOQ = \frac{10 * \sigma}{S} = \frac{10 * 0.022408505}{0.0241} = 9.298 \text{ мкг/мл}$$

Энд:  $\sigma$  – Стандарт хазайлт (SD of intercept); S – Налуу (Slope)

**Хэлцэмж:** Энэхүү судалгаагаар “Дармон” шахмал эмэнд нийлбэр иридоидийг тодорхойлох шинжилгээний арга зүйг батлах зорилгоор аргын баталгаажилтыг спектрофотометрийн аргаар анх удаа гүйцэтгэв. Нийлбэр иридоидийг спектрофотометрийн аргаар тодорхойлохдоо гэрэл шингээлтийг долгионы уртын 238 нм утганд хэмжсэн ба үр дүнг нарийвчлалтайгаар боловсруулав. Энэхүү арга нь шугаман чанартай ( $R^2=0.9989$ ), өндөр нарийвчлалтай ( $RSD < 2\%$ ), сэргээгдэх утга сайтай (96.01-104.48%) болохыг шинжилгээний дүн харуулав.

“Дармон” эмэнд нийлбэр иридоид тодорхойлсон энэхүү аргын баталгаажилтын үзүүлэлтүүд нь International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH)-н удирдамж, мөн олон улсад баримталдаг аргын баталгаажилтыг үнэлэх бусад удирдамжийн<sup>11-13,15</sup> зөвшөөрөгдөх хязгаарт байна. “Дармон” шахмал эмэн дэх үйлчлэгч бодисуудын нэг нийлбэр иридоидийн тоо хэмжээг дээрх арга зүйгээр хийхэд тохиромжтой болохыг баталлаа.

**Дүгнэлт:** “Дармон” шахмал эмэнд агуулагдах нийлбэр иридоидийн тоо хэмжээг спектрофотометрийн аргаар, стандарт бодис генипозидод шилжүүлэн тодорхойлоход тохиромжтой болохыг баталгаажуулсан ба цаашид энэхүү аргаар чанарын хяналтын шинжилгээг хийж гүйцэтгэх боломжтой болохыг анх удаа тогтоолоо.

**Талархал:** Энэхүү судалгааг хийж гүйцэтгэхэд судалгааны бааз нөхцөлөөр хангаж, дэмжсэн Эм судлалын хүрээлэн, “Монос фарм” ХХК-ын хамт олонд талархал илэрхийлье.

Ном зүй:

1. Эрүүл мэндийн үзүүлэлт. 2019. х115
2. WHO guidelines for Good Manufacturing Practices (GMP) for herbal medicines. Geneva, World Health Organization, 2007.
3. Монгол улсын стандарт. Уламжлалт эмийн үйлдвэрт тавих ерөнхий шаардлага. MNS 5524-1:2014.
4. Монгол улсын стандарт. Уламжлалт эмийн үйлдвэрт тавих ерөнхий шаардлага. MNS 5524-3:2015.
5. Эрүүл мэндийн сайдын 2019 оны А/295 дугаар тушаал “Эм эмийн түүхий эд, биологийн идэвхт бүтээгдэхүүнийг бүртгэх журам”
6. Updated edition of Quality control methods for medicinal plant materials, 1998. sections 16–22. х1-187
7. Монголын уламжлалт анагаах ухааны эм найрлагын судлал. 2014. х174-175.
8. Монголын уламжлалт анагаах ухаанд хэрэглэгддэг түүхий эд, эмийн фармакопей. 2017. х11.
9. Biswanath Dinda, Debashis Roy Chowdhury, Bikas Chandra Mohanta. Naturally Occurring Iridoids, Secoiridoids and Their Bioactivity. An Updated Review, Part 3. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2009. Vol. 57. No. 8 / Bibliography. х765-796.

10. Biswanath Dinda, Sudhan Debnath, Yoshihiro Harigaya. Naturally Occurring Secoiridoids and Bioactivity of Naturally Occurring Iridoids and Secoiridoids. A Review, Part 2. Chemical and Pharmaceutical Bulletin. 2007. Vol. 55. No. 5 / Bibliography. x689-728.
11. Soumia Belouafa\*, Fatima Habti, Saïd Benhar, Bouchaïb Belafkih, Souad Tayane, Souad Hamdouch, Ahmed Benamara and Abdelmjid Abourriche. Statistical tools and approaches to validate analytical methods: methodology and practical examples. Int. J. Metrol. Qual. Eng. 2017. Volume 8, x9-10.
12. Register UFF. Text on Validation of Analytical Procedures. Definitions and Terminology. 1995. x60.
13. Register UFF. International Conference on Harmonization (ICH), Q2B: Validation of Analytical Procedures. Methodology. 1997. x62
14. Монголын уламжлалт анагаах ухаанд хэрэглэгддэг түүхий эд, эмийн фармакопей, 2017. Иридоид таних болон тоо. x20.
15. Validation of Compendial Methods, <1225> U.S. Pharmacopoeia 26-National Formulary 21, United States Pharmacopoeial Convention, Rockville MD, 2003. Volume No.31(2) x549

*Уншин танилцаж, нийтлэх санал өгсөн:  
АШУ-ы доктор, профессор Г.Одонтуяа*