शोध पत्र / Research Paper

ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण के मानकीकरण के लिए यूवी स्पेक्ट्रोस्कोपिक विधि का मान्यकरण

Validation of UV Spectroscopic Method for the Standardization of Jwarhara Kwatha Churna

राहुल कुमार मौर्य[1]',तिरुपतैय्या बी[1],लक्ष्मीनारायण मिश्रो[1],तुलसी आर[1],
रोहित केएस[1], गौरव पाण्डेय[1], सरिता कुशवाहा[2]
Rahul Kumar Maurya[1]*, Thirupataiah B[1], Lakshminarayana Misro[1],
Thulasi R[1], Rohit K S[1], Gaurav Pandey[1], Sarita Kushwaha[2]
[1]National Ayurveda Research Institute for Panchakarma,
Cheruthuruthy, Thrissur, Kerala, India, 679 531
[2]Government College Umranala, Chhindwara, MP, 480 111
mauryabrahul@gmail-com

सारांशः

शोध कार्य का उद्देश्य एक मानक के रूप में पाइपरिन (piperine) का उपयोग करके ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण के मानकीकरण के लिए पराबैंगनी वर्णक्रममापी विधि (UV spectroscopic method) का मान्यकरण (validation) करना है। विलायक (solvent) के रूप में मेथनॉल का उपयोग कर पराबैंगनी वर्णक्रममापी (UV spectrophotometer) द्वारा पाइपरिन का विश्लेषण (analysis) 343 nm के तरंगदैर्घ्य (wavelength) पर किया गया। पाइपरिन के लक्षणों (characters) को पराबैंगनी और एफटी–आईआर वर्णक्रममापी (FT-IR spectroscopy) से ज्ञात किया गया। पराबैंगनी वर्णक्रममापी विधि का मान्यीकरण रैखिकता (linearity), परिमाण ीकरण की सीमा (limit of quantification) और पता लगाने की सीमा (limit of detection), परिशुद्धता (accuracy) एवं सटीकता (precision), दृढ़ता (robustness) एवं कठोरता (ruggedness) के आधार पर किया गया। विकसित विधि की संवेदनशीलता (sensitivity) का अनुमान परिमाणीकरण की सीमा/limit of quantification (1.5298 µg/ml) और पता लगाने की सीमा/ limit of detection (0.5049 µg/ml) द्वारा लगाया गया। रैखिकता 0.999 के प्रतिगम गुणांक (regression coefficient) के साथ 2–10 µg/ml की सीमा में देखी गई। परिशुद्धता 99.08–101.78% पाई गयी, अन्तःदिवसीय और अंतर्दिवसीय परिशुद्धता (intra and inter day precision) क्रमशः 0.2255 और 0.0749% सापेक्षिक मानक विचलन/relative standard deviation प्राप्त हुई, इससे यह अनुमान लगता है कि विधि आईसीएच दिशानिर्देशों (ICH guideline) के अनुसार मान्य है, और सभी प्राप्त मापदंड सीमाओं के अंतर्गत हैं। ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण तथा अन्य सभी आयुर्वेदिक दवाइयाँ जिनमें पाइपरिन पाया जाता है, उन सभी में पाइपरिन का अनुमान लगाने के लिए विकसित विधि परिशुद्ध, रैखिक, मजबूत और सटीक है।

Abstract:

The objective of the research work is to validate the UV spectroscopic method for the standardization of Jwarhara Kwatha Churna by using Piperine as a marker. The analysis of Piperine was carried out by UV spectrophotometer at the wavelength of 343 nm and methanol was used as a solvent. Piperine was characterized by UV and FT-IR Spectroscopy. The UV spectroscopic method was validated by the value of linearity, limit of quantification & detection, precision, accuracy,

robustness, and ruggedness. The sensitivity of the developed method was estimated by the LOQ (1.5298 µg/ml) and LOD (0.5049 µg/ml). The linearity was observed in the range of 2-10 µg/ml with a regression coefficient of 0.999. The accuracy was 99.08-101.78%, Intra and Inter day precision was 0.2255 and 0.0749 % RSD respectively, it indicates that the method was validated as per ICH guidelines, and all the obtained parameters are under the limits.

The developed method was precise, linear, robust and accurate to estimate Piperine in Jwarhara Kwatha Churna and other ayurvedic preparations contain Piperine.

मुख्य शब्द : पाइपरिन, ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण, एफटी–आईआर और पराबैंगनी वर्णक्रममापी, मानकीकरण.

Keywords: Piperine, Jawarhara Kwatha churna, FT-IR, UV Spectroscopy, standardization.

परिचयः

आयुर्वेदिक औषधीय प्रणाली, विभिन्न नैदानिक अनुप्रयोग (clinical application) के लिए वैश्विक स्तर पर स्वीकृत प्राचीन विज्ञान है (1)। आयुर्वेदिक उत्पाद मुख्य रूप से विभिन्न प्रकार के प्राकृतिक स्रोतों से निर्मित होते हैं। बहुवानस्पतिक उत्पाद (polyherbal formulation) नैदानिक स्वास्थ्य (clinical health) और सुखद जीवन को बनाए रखने का अवसर प्रदान करते हैं (2)। आयुर्वेदिक औषधीय प्रणाली में, चूर्ण एक व्यापक रूप से इस्तेमाल किया जाने वाला हर्बल उत्पाद (formulation) है। ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण उन आयुर्वेदिक उत्पादों में से एक है, जिसका उपयोग बुखार (fever) और अन्य दीर्घकालिक बीमारियों (chronic diseases) के इलाज में किया जाता है। ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण के निर्माण में उपयोग किया जाने वाले पौधे का नैदानिक अनुप्रयोग तालिका 1 में वर्णित है।

आयुर्वेदिक औषधीय प्रणाली में दीर्घकालिक बीमारियों (chronic diseases) के इलाज की काफी संभावनाएं हैं, लेकिन मानकीकरण (standardization) की कमी के कारण यह व्यापक रूप से प्रचलित नहीं हो पाई है। आयुर्वेदिक दवाइयों की सुरक्षा (safety), प्रभावकारिता (efficacy) और विषाक्तता (toxicity) नैदानिक अनुप्रयोग के दौरान एक प्रमुख चिंता का विषय है। आयुर्वेदिक उत्पादों के मानकीकरण के लिए, विभिन्न गुणवत्ता नियंत्रण मानक (quality control parameters) स्थापित किए गए हैं। क्वाथ और चूर्ण के गुणात्मक विश्लेषण के लिए मानक (qualitative analysis parameters) आयुर्वेदिक फार्माकोपिया (ayurvedic pharmacopoeia) में दिए गए हैं (3)। शुष्कीकरण क्षय (loss on drying), ठोस अवशेष (solid residue) और कुल घुलनशीलता (total solubility) आदि जैसे भौतिक रासायनिक मापदंड (physicochemical parameters) आयुर्वेदिक उत्पादों को पूरी तरह से मानकीकृत (standardize) करने के लिए पर्याप्त नहीं हैं। अतः सक्रिय पादप घटक (phytoconstituent) के मात्रात्मक अनुमान (quantitative estimation) की आवश्यकता है। आयुर्वेदिक उत्पाद के सक्रिय यौगिकों (active compounds) के गुणात्मक और मात्रात्मक (qualitative and quantitative) अनुमान (estimation) तथा मानकीकरण के लिए नवीन विश्लेषणात्मक विधियाँ उपलब्ध हैं (4)। इस कार्य में ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण को पराबैंगनी वर्णक्रममापी विधि द्वारा मानकीकृत करने के लिए उत्पाद के प्रमुख सक्रिय घटक (active constituent) पाइपरिन का उपयोग मानक (reference) के रूप में किया गया है (5)। इस मान्य विधि (validated method) का उपयोग भविष्य में पाइपरिनयुक्त एक और बहु वानस्पतिक उत्पाद (polyherbal formulation) को मानकीकृत करने के लिए किया जा सकेगा ।

2. प्रयोग (experiment)

2.1. रसायन और अभिकर्मक (chemicals and reagents)

पाइपरिन; विश्लेषणात्मक ग्रेड (Analytical grade) (शुद्धता–98%) को सिग्मा एल्ड्रिच (sigma aldrich) (लुई, यूएस) से खरीदा गया है। एचपीएलसी ग्रेड (HPLC grade) मेथनॉल (methanol) एसआरएल (मुंबई, भारत) से खरीदा गया है। ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण फार्मेसी विभाग, एनएआरआईपी, त्रिशूर, केरल, भारत से प्राप्त किया गया है।

2.2. उपकरण स्थितियां (instrumental conditions)

मानक पदार्थ पाइपरिन (marker compound piperine) की विशेषता का एफटी–आईआर वर्णक्रममापी (FT-IR spectrophotometer) (एगिलेंट, CARY630, मलेशिया) द्वारा पता लगाने के लिए इसका 4000–600 cm^{-1} की सीमा में विश्लेषण किया गया। पराबैंगनी वर्णक्रममापी (UV spectrophotometer, Shimadzu, 1800, जापान) द्वारा 200–800 nm की तरंगदैर्घ्य (wavelength) सीमा में प्रयोग किए गए। क्वाट्र्ज नमूना धारक (quartz sample holder) में 1.5 ml नमूना रखा गया। पाइपरिन का विश्लेषण करने के लिए को नोट किया गया।

2.3. नमूना तैयार करना (Sample Preparation)

मानक विलयन (standard solution): मेथनॉल में पाइपरिन का 10 µg/ml मानक स्टॉक विलयन तैयार किया गया। इसके अलावा, प्राथमिक स्टॉक विलयन मेसे 2 से 10 µg प्रति ml के विभिन्न तनुकरण (dilution) तैयार किए गए थे।

नमूना विलयन (sample solution): सटीक रूप से तौला गया (1 ग्राम) ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण रात भर 20 ml मेथनॉल में भिगोकर रखा गया, प्राप्त मिश्रण को फ़िल्टर किया गया और अग्रिम विश्लेषण के लिए 10 µg/ml तक पतला किया गया।

2.4. विधि का मान्यकरण (validation of method)

पराबैंगनी वर्णक्रममापी विधि का मान्यकरण (validation) इंटरनेशनल कान्फ्रेंस ऑन हार्मोनाइजेशन (ICH) Q2 (R1) दिशानिर्देशों के अनुसार किया गया। सत्यापन, उत्पाद में संबंधित मानक के व्यवस्थित विश्लेषण को सुनिश्चित करता है। आईसीएच दिशानिर्देशों के अनुसार विधि के मान्यकरण के लिए विभिन्न मापदंडों जैसे– रैखिकता (linearity), परिमाणीकरण की सीमा और जांच (limit of quantification and detection), परिशुद्ध ता (accuracy) और सटीकता (precision), दृढ़ता (robustness) और कठोरता (ruggedness) का चयन किया गया (6)। रैखिकता को विश्लेषण सांद्रता की सीमा के रूप में परिभाषित किया जा सकता है, जिसमें मापांकन वक्र (calibration curve), रैखिक संबंध (linear relation) दिखाता है। पाइपरिन विलयन (2–10 µg/ml) का मापांकन वक्र बनाया गया तथा उसका रैखिक प्रतिगम विश्लेषण (linear regression analysis) किया गया। यह अध्ययन विश्लेषणात्मक पद्धति की विश्वसनीयता (reliability of the analytical procedure) को दर्शाता है। पाइपरिन के तीन अलग–अलग सांद्र विलयनों (4, 6 और 8 µg/ml) का तीन अलग–अलग समय अवधि में अनुमानित कर अन्तःदिवसीय और अन्तर दिवसीय सटीकता का मूल्यांकन किया। परिशुद्धता को औसत मूल्य के प्रतिशत मानक विचलन सहित (% of mean with standard deviation) के रूप में व्यक्त किया जा सकता है। परिमाणीकरण की सीमा (limit of quantification) और पता लगाने की सीमा (limit of detection) को दिए गए समीकरणों द्वारा ज्ञात किया गया (7) ।

यहाँ, σ मानक विचलन (standard

$$LOD = \frac{3.3\sigma}{S} - - - - - - eq.(01)$$

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S} - - - - - - eq.(02)$$

deviation), S ढाल (slope), LOD पता लगाने की सीमा (limit of detection), और LOQ परिमाणीकरण की सीमा (limit of quantification) है।

कठोरता (ruggedness) को विभिन्न विश्लेषकों द्वारा किए गए एक ही प्रयोग से प्राप्त परिणाम के पुनरुत्पादकता (reproducibility) की श्रेणी के रूप में परिभाषित किया जा सकता है। दो अलग–अलग विश्लेषकों द्वारा पाइपरिन के तीन अलग–अलग विलयनों (4, 6, और 8 µg/ml) का विश्लेषण किया गया। सभी प्रयोग तीन बार आयोजित किए गए। प्राप्त परिणाम को सापेक्षिक मानक विचलन % (% RSD) के रूप में व्यक्त किया गया। विभिन्न प्रायोगिक स्थितियों (experimental conditions) में पुनरुत्पादन की श्रेणी को विकसित पद्धति की दृढ़ता (robustness) के रूप में व्यक्त किया जाता है। तीन अलग–अलग विलयनों (4, 6, और 8 µg/ml) का दो चर (variable) तापमान (कमरे का तापमान / ambient temperature और 18 डिग्री सेल्सियस) पर तीन बार विश्लेषण किया गया। विश्लेषण विधि की दृढ़ता सापेक्षिक मानक विचलन % (% RSD of Robustness) द्वारा व्यक्त की गई।

2.5. विधि का अनुप्रयोग (application of method)

विकसित विधि का उपयोग ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन के मात्रात्मक अनुमान (quantitative estimation) के लिए किया गया। पाइपरिन के अनुमान से ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण की खुराक के निर्धारण (dose determination) में मदद मिलेगी। प्रयोगात्मक त्रुटि (experimental error) को कम करने के लिए अध्ययन तीन बार किया गया। ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन की मात्रा निम्नलिखित समीकरण द्वारा निर्धारित की गई।

$$\text{Piperine (mg)} = \text{Amount of JKC weighed (g)} \frac{Absorbance\ of\ sample}{Absorbance\ of\ standard} \times 100 - (03)$$

$$\text{पाइपरिन(मिग्रा)} = \text{ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण का भार(ग्रा.)} \frac{\text{नमूने का अवशोषणांक}}{\text{मानक का अवशोषणांक}} \times 100 - (03)$$

3. परिणाम और चर्चा (result and discussion)

3.1. उपकरण स्थितियों का अनुकूलन (optimization of instrumental conditions)

पाइपरिन मानक (piperine marker) 10 µg/ml को विभिन्न विलायकों (टाल्यूईन / toluene, मेथनॉल / methanol और इथाइल एसीटेट / ethyl acetate) में तैयार किया गया और 200–800 nm की सीमा में वर्णक्रम (spectrum) लिया गया। 343 nm पर अन्य विलायकों (solvents) की तुलना में पाइपरिन के मेथनॉल यूवी स्पेक्ट्रम में अधिकतम अवशोषण (maximum absorption) दिखाया। इसलिए, ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन के विधि विकास और मान्यकरण (method development and validation) के लिए मेथनॉल विलायक का चयन किया गया। प्रस्तावित कार्य के अंतर्गत पाइपरिन युक्त ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण के मानकीकरण के लिए सरल, तीव्र, सटीक और परिशुद्ध विधि (simple, rapid, precise and accurate method) का मान्यकरण शामिल है। पाइपरिन के विभिन्न कार्यात्मक समूहों (different functional groups) का विश्लेषणात्मक वर्णक्रम शिखरों (characteristics peak of spectra) को एफटी–आईआर (चित्र 1) में दिखाया गया है और पराबैंगनी वर्णक्रममापी ने 343 nm (चित्र 2ए) पर अधिकतम अवशोषण (absorption) प्रदर्शित किया, जोकि यौगिक (compound) के पाइपरिन होने की पुष्टि करता है।

3.2. विधि मान्यकरण (method validation)

पराबैंगनी वर्णक्रममापी विधि का मान्यकरण विभिन्न मापदंडों जैसे–रैखिकता, परिशुद्धता, पता लगाने की सीमा, परिमाणीकरण की सीमा, कठोरता, दृढ़ता और सटीकता से प्राप्त मूल्यों पर किया गया।

रैखिकता (linearity): मेथनॉल में पाइपरिन का अधिकतम अवशोषण 343 nm पर पाया गया (चित्र 2ए)। रैखिकता का अनुमान 2–10 μg/ml की सीमा में मापांकन वक्र द्वारा लगाया गया। अवशोषण बनाम सांद्रता (absorption Vs concentration) के बीच ग्राफ बनाया गया जिससे प्रतिगम गुणांक (regression coefficient) (r^2) 0.9995 प्राप्त हुआ, यह प्रदर्शित करता है कि चयनित सांद्रता, रैखिक संबंध दिखाती है, और इस सीमा में बीयर के नियम का पालन करती है (चित्र 3)। पूर्व शोध में, सीधी रेखाओं का प्रतिगम गुणांक ($r^2 > 0.998$) बताया था (8), जबकि, प्राप्त परिणाम ने प्रदर्शित किया कि विकसित विधि उपयुक्त है और पाइपरिन के मानकीकरण के लिए मान्य है।

परिशुद्धता (precision): बार–बार परीक्षणों से प्राप्त परिणाम की पुनरावृत्ति परिशुद्धता (precision) को दर्शाती है। न्यूनतम सापेक्षिक मानक विचलन % (% RSD), परिशुद्धता (accuracy) को इंगित करता है। अन्तःदिवसीय और अन्तर दिवसीय परिशुद्धता (intra and inter day accuracy) का अध्ययन कर परिणाम को तालिका 2 और 3 में इंगित किया गया। सापेक्षिक मानक विचलन % क्रमशः अन्तःदिवसीय और अन्तर दिवसीय परिशुद्धता के लिए 0.2255 और 0.0749 प्राप्त हुई। सापेक्षिक मानक विचलन % मान 0.5 से कम है, यह दर्शाता है कि प्राप्त सापेक्षिक मानक विचलन % पर विकसित विधि की पुनरावृत्ति और विश्वसनीयता (repeatability and reliability) की क्षमता अधिकतम है।

पता लगाने की सीमा और परिमाणीकरण की सीमा (LOD and LOQ): पता लगाने की सीमा और परिमाणीकरण की सीमा मान क्रमशः 0.5049 और 1.5298 μg/ml प्राप्त हुये। प्राप्त मान यह दर्शाता है कि मापांकन वक्र की मदद से किसी भी आयुर्वेदिक उत्पाद में पाइपरिन की 0.5049 μg या उससे अधिक मात्रा को देखा जा सकता है तथा 1.5298 μg/ml या उससे ज्यादा मात्रा का सरलता से परिमाणीकरण किया जा सकता है। यह विधि आयुर्वेदिक उत्पाद में पाइपरिन के मानकीकरण के लिए विश्वसनीय है।

कठोरता और दृढ़ता (ruggedness and robustness): विभिन्न विश्लेषकों (different analyst) द्वारा स्थिर स्थितियों (constant condition) में किए प्रयोगों से प्राप्त परिणामों की निकटता (closeness) को कठोरता द्वारा व्यक्त किया जाता है। प्राप्त परिणाम तालिका 4 में दिया गया है। विश्लेषक 1 और विश्लेषक 2 की सापेक्षिक मानक विचलन % क्रमशः 0.1166 और 0.1675 पाई गई। दोनों सापेक्षिक मानक विचलन % मान निकट हैं, यह दर्शाता है कि विकसित विधि कठोर (rugged) है। दो अलग–अलग तापमानों पर एक समान प्रयोग करके दृढ़ता संबन्धित आंकड़ों को तालिका 4 में दर्शाया गया है। कमरे के तापमान और 18 °C पर सापेक्षिक मानक विचलन % का मान क्रमशः 0.05325 और 0.10693 प्राप्त हुआ। सापेक्षिक मानक विचलन % में न्यूनतम अंतर देखा गया, यह दर्शाता है कि विकसित विधि परिवर्तनीय परिस्थितियों (variable conditions) में भी मजबूत और भरोसेमंद (robust and reliable) है और इसका उपयोग पाइपरिन समाहित उत्पादों के मानकीकरण के लिए किया जा सकता है।

परिशुद्धता : विभिन्न तनुकरणों (dilution) के माध्य और मानक विचलन (mean and standard deviation) से प्राप्त परिणाम तालिका 5 में दर्शाये गए हैं। विधि (method) की परिशुद्धता 99.08–101.78% है, यह दर्शाता है कि ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन के मानकीकरण के लिए विधि उपयुक्त है।

3.3. विकसित विधि की ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण के लिए उपयोगिता (use of developed method for jwarhara kwatha churna)

विकसित विधि का उपयोग ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण

में पाइपरिन की मात्रा निर्धारित करने के लिए किया जायेगा। पराबैंगनी वर्णक्रम में 343 nm पर प्रदर्शित अवशोषण शिखर (absorption peak) पाइपरिन की उपस्थिति की पुष्टि करती है (चित्र 2बी)। ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण का गुणात्मक और मात्रात्मक विश्लेषण एफटी–आईआर और पराबैंगनी वर्णक्रममापी द्वारा किया गया। एफटी–आईआर वर्णक्रम (FT-IR spectrum) (चित्र 1) पाइपरिन, 2940 cm^{-1} (असममितिक खिंचाव/asymmetrical stretching –CH2 समूह), 1632 cm^{-1} (एमाइड/amide – C=O समूह), 1609 (डाइन/diene C=C सममित खिंचाव), 1579 cm^{-1} और 1490 cm^{-1} (बेंजीन/benzene C=C समूह) पर विश्लेषणात्मक पीक को प्रदर्शित करता है, जोकि पूर्व वर्णित साहित्य से मेल खाता है (9)। 1434 cm^{-1} (एलीफैटिक/aliphatic -CH समूह),1248 cm^{-1} (झुकाव/bending CN समूह) 994 cm^{-1} (ऑर्थो/ortho, पैरा/para, और मेटा/meta प्रतिस्थापित सुगंधित वलय समूह/substituted aromatic group) की स्थिति को इंगित करता है। इन विश्लेषणात्मक वर्णक्रम शिखरों (characteristics peak of spectra) को ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण के एफटी–आईआर वर्णक्रम में देखा गया (चित्र 1)। यह इंगित करता है कि ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन है। इसके अलावा, इस आंकड़े की पुष्टि अन्य शोध कार्यों द्वारा भी की गई है (10)। मानक पाइपरिन और ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण के पराबैंगनी वर्णक्रम (चित्र 2ए और 2बी) में 343 nm पर अधिकतम अवशोषण दिखाया, जिससे ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन की उपस्थिति की पुष्टि हुई। ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन का मात्रात्मक विश्लेषण विकसित यूवी स्पेक्ट्रोस्कोपिक विधि द्वारा किया गया (तालिका 5)। ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण के अवशोषण (0.273) का विश्लेषण पाइपरिन के मानक मापांकन वक्र (चित्र 3) द्वारा किया गया। 10 µg/ml ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण घोल में मौजूद पाइपरिन की मात्रा 2.256 µg/ml पाई गई। प्राप्त मान यह प्रदर्शित करता है कि विकसित विधि ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन को चिह्नित करने के लिए संवेदनशील (sensitive) है। इस विधि में मानकीकरण के लिए ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण की 0.1 मिलीग्राम से कम मात्रा की जरूरत होगी। इस विकसित विधि की विशेषता है कि पाइपरिन के माध्यम से ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण का मानकीकरण करने के लिए नमूने की न्यूनतम मात्रा (minimum amount of sample) आवश्यक होगी।

4. निष्कर्ष

पराबैंगनी वर्णक्रममापी विधि द्वारा ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन के मानकीकरण का विश्लेषण किया गया। विकसित विधि सटीक, विश्वसनीय, सुनिश्चित, पुनरावृत्ति योग्य, संवेदनशील, तीव्र और आईसीएच दिशानिर्देशों का अनुपालन करती है। भौतिक रासायनिक अध्ययन के अलावा, विकसित विधि का उपयोग ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में पाइपरिन के गुणात्मक और मात्रात्मक विश्लेषण के लिए किया जा सकता है। इस विधि में 1 ग्राम ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण में 220 मिलीग्राम पाइपरिन की मात्रा प्राप्त हुई। इस अध्ययन से दवा के रूप में ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण की उपयुक्त मात्रा (dose) निर्धारित की जा सकती है और नैदानिक अनुप्रयोगों में ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण की सुरक्षा और प्रभावकारिता भी आश्वासित की जा सकेगी।

5. स्वीकृतियाँ

लेखक, निदेशक (संस्थान), राष्ट्रीय आयुर्वेद पंचकर्म अनुसंधान संस्थान, चेरुतुरुत्ति (एनएआरआईपी), केरल, भारत–679531, केंद्रीय आयुर्वेद विज्ञान अनुसंधान परिषद (सीसीआरएएस), आयुष मंत्रालय, नई दिल्ली, भारत को प्रोत्साहन और प्रेरणा एवं इस कार्य में निरंतर सहयोग के लिए महानिदेशक, सीसीआरएएस, आयुष मंत्रालय, नई दिल्ली, भारत–110058 के आभारी हैं।

हितों के टकरावः कोई नहीं

वित्तीय सहायताः कोई नहीं

नैतिकता कथनः कोई नहीं

तालिकाओं एवं चित्रों की सूची

तालिका 1–ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण अवयवों की सूची (पौधे के भागों के नाम और उनके नैदानिक अनुप्रयोग)

क्र.सं.	पौधे का नाम (संस्कृत)	वानस्पतिक नाम	उपयोग किया गया भाग	नैदानिक उपयोग
1	मुस्तकम, क्रोडेस्टा	साइपरुस रोटुंडस लिन्न *Cyperus rotundus Linn*	जड़ (Root)	रोगाणुरोधी (antimicrobial), कवकरोधी (antifungal) और एंटी–ऑक्सीडेंट (antioxidant) गतिविधि
2	पिप्पली	पाइपर लोंगम *Piper longum*	फल (Fruit)	एंटी–ऑक्सीडेंट, मलेरिया–रोधी (antimalarial), कृमिनाशक क्रिया (Anthelmintic action)
3	मारीचा	पाइपर नाइग्रम *Piper nigrum*	फल	ज्वरनाशक (antipyratic), और अवसादरोधी गतिविधि (anxiolytic)
4	शुंटी	जिंजीबर ऑफिसिनेल *Zingiber officinale*	प्रकंद (Rhizome)	एंटी इंफलामेट्री anti-inflamatory), दर्द निवारक (anti-analgesic), मोटापा–रोधी (anti-obesity), रोगाणुरोधी गतिविधि
5	परपटा	हेडयोटिस कोरीमबोसा *Hedyotis corymbosa*	सम्पूर्ण पौधा	एंटीप्रोटोज़ोअल (Anti-protozoal), रोगाण ुरोधी, एंटीस्पास्मोडिक (antispasmodic) और ब्रोन्कोडायलेटर गतिविधि (Bronchodilator activity)
6	करंजा	एंड्रोग्राफिस पैनीकुलाटा *Andrographis paniculata*	सम्पूर्ण पौधा (Whole Plant)	ज्वरनाशक, एनाल्जेसिक, घाव भरने की गतिविधि (Wound healing activity)
7	कटुकुरोहिणी	पिक्रोरहिज़ा कुररो *Picrorhiza kurroa*	जड़ / प्रकंद	मलेरिया–रोधी (antimalarial), रोगाणुरोधी (antimicrobial), गतिविधि

तालिका 2. अन्तःदिवसीय परिशुद्धता (Intraday precision)

सांद्रता (µg/ml)	अवशोषण 1 (सुबह 10:00 बजे)	अवशोषण 2 (दोपहर 12: 00)	अवशोषण 3 (दोपहर 2:00 बजे)	औसत %आरएसडी (Average % RSD)	अंतिम माध्य %आरएसड (Overall mean % RSD)
4	0.359	0.355	0.367	0.052357	0.225536
4	0.359	0.355	0.367		
4	0.359	0.355	0.368		
%आरएसडी	0	0	0.15707		
6	0.624	0.627	0.637	0.141707	
6	0.623	0.626	0.634		
6	0.623	0.626	0.636		
%आरएसडी	0.09263	0.09212	0.24037		
8	0.860	0.878	0.861	0.482543	
8	0.860	0.877	0.860		
8	0.861	0.879	0.864		
%आरएसडी	0.06711	1.1389	0.24162		

तालिका 3. अन्तर दिवसीय परिशुद्धता (Inter day precision)

सांद्रता (Dilution) (µg/ml)	अवशोषण (दिन 1)	अवशोषण (दिन 2)	अवशोषण (दिन 3)	औसत %आरएसडी (Average % RSD)	अंतिम माध्य %आरएसडी (Overall mean % RSD)
4	0.359	0.375	0.363	0.05138	0.07492
4	0.359	0.374	0.363		
4	0.359	0.374	0.363		
%आरएसडी	0	0.15414	0		
6	0.624	0.665	0.604	0.0627	
6	0.623	0.665	0.603		
6	0.623	0.665	0.603		
%आरएसडी	0.09263	0	0.09563		
8	0.860	0.887	0.832	0.1107	
8	0.860	0.884	0.833		
8	0.861	0.884	0.833		
%आरएसडी	0.06711	0.195706	0.069297		

तालिका 4. कठोरता (robustness) और मजबूती (ruggedness) का परिणाम

सांद्रता (µg / ml)	अवशोषण (absorbance)			
मापदंड	विश्लेषक 1 (Analyst 1)	विश्लेषक 2 (Analyst 2)	18 डिग्री सेल्सियस तापमान पर	कमरे के तापमान पर (ambient temperature)
4	0.375	0.365	0.359	0.359
4	0.374	0.363	0.359	0.359
4	0.374	0.364	0.359	0.359
6	0.665	0.625	0.624	0.624
6	0.665	0.623	0.623	0.623
6	0.665	0.624	0.623	0.623
8	0.887	0.855	0.860	0.860
8	0.884	0.856	0.860	0.860
8	0.884	0.856	0.861	0.861
%आरएसडी	0.1166	0.167477	0.10693	0.05325

तालिका 5. सत्यापन मापदंड

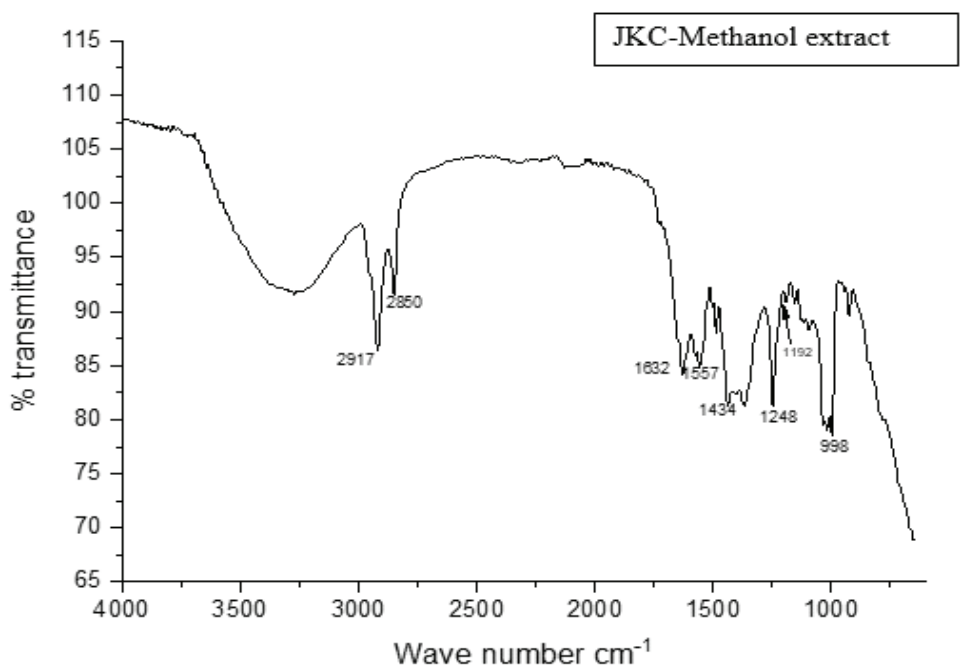
मापदंड	परिणाम
अवशोषण अधिकता (Absorption Maxima)	343 nm
बीयर के नियम की सीमा (Beer's law range) (पाइपरिन सांद्रता)	2–10 µg/ml
प्रतिगम गुणांक (regression coefficient)	0.9995
प्रतिगम समीकरण (Regression equation)	Y = 0.1211X
ढलान (Slope)	0.1211
अवरोधन (Intercept)	0

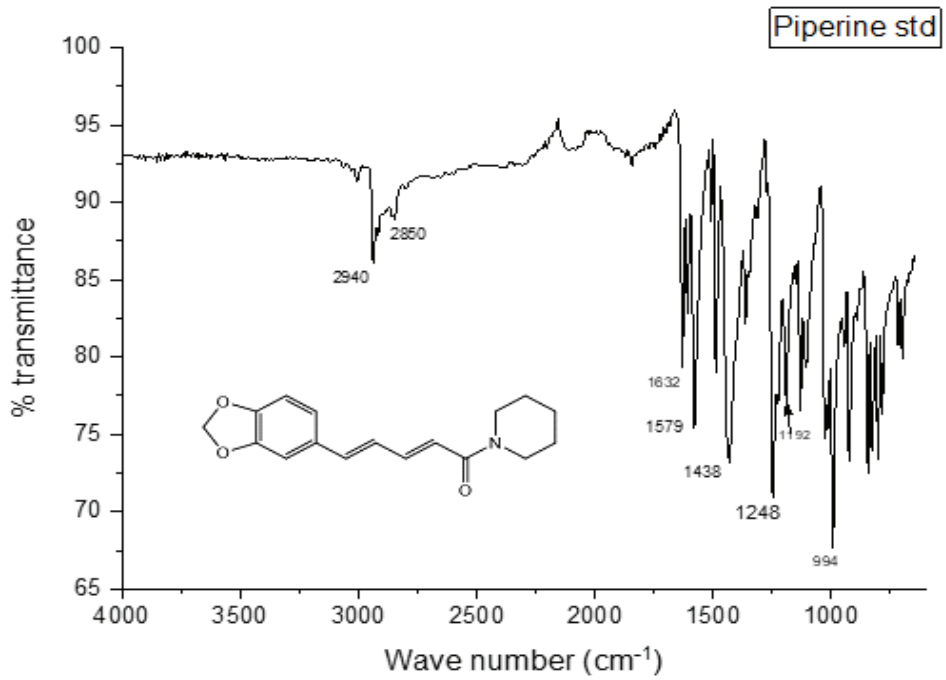
मापदंड	परिणाम
शुद्धता (माध्य + एसडी) (Accuracy mean+SD)	(100.43 ± 1.35)%
परिशुद्धता (सापेक्षिक मानक विचलन %) (Precision % RSD)	अन्तःदिवसीय (0. 22553) अन्तर दिवसीय (0. 07492)
LOD (µg/ml)	0.504823
LOQ (µg/ml)	1.529768
नमूना अवशोषण (sample absorption) 10 (µg/ml) @343 nm	0.273

Table of the Hindi equivalents for the technical terms

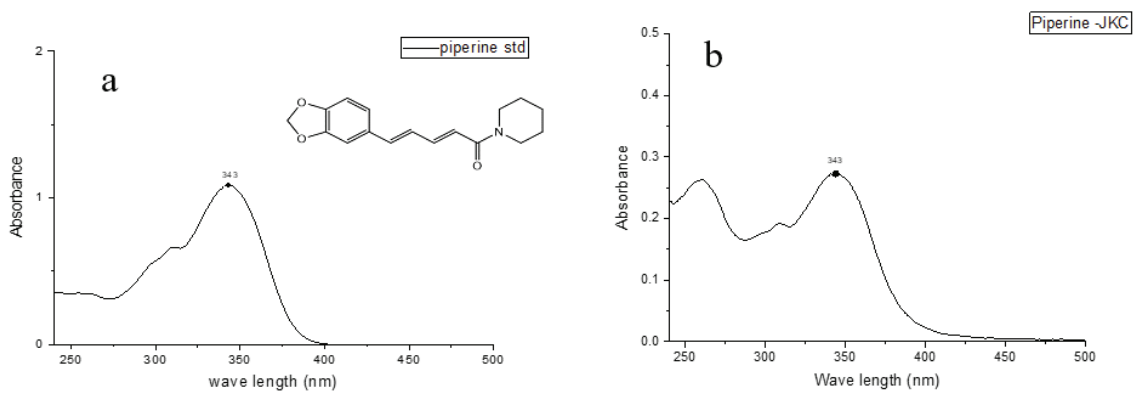
Absorption	अवशोषण
Analysis	विश्लेषण
Asymmetrical stretching	असममित खिंचाव
Bending	झुकाव
Clinical Application	नैदानिक अनुप्रयोग
Concentration	सांद्रता
Dilution	तनुकरण
Dose	खुराक
Limit of detection and quantification	परिमाणीकरण की सीमा और जांच
Linearity	रैखिकता

Loss on drying	शुष्कीकरण क्षय
Method development	विधि विकास
Qualitative and quantitative	गुणात्मक और मात्रात्मक
Solid residue	ठोस अवशेष
Standardization	मानकीकरण
Substituted aromatic ring	प्रतिस्थापित सुगंधित वलय
Symmetrical stretching	सममित खिंचाव
Toxicity	विषाक्तता
Validation	मान्यीकरण / सत्यापन
Wavelength	तरंगदैर्घ्य

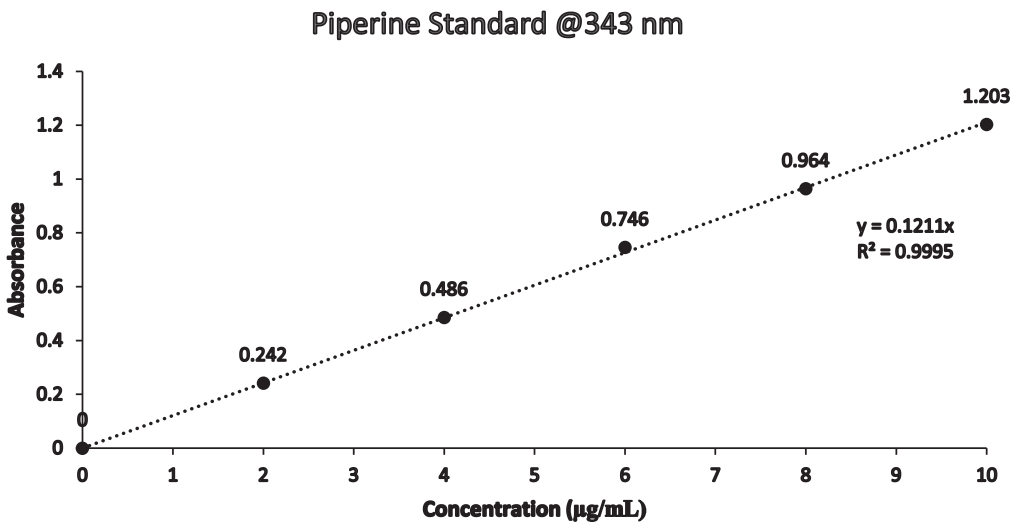




चित्र 1. ज्वरहरा क्वाथ चूर्ण और मानक पाइपरिन (marker piperine) का एफटी–आईआर वर्णक्रम (FT-IR spectrum)



चित्र 2. (ए) मेथनॉल में पाइपरिन का पराबैंगनी वर्णक्रम, (बी) ज्वरहारा क्वाथा चूर्ण मेथनॉलिक अर्क (methanolic extract) का पराबैंगनी वर्णक्रम (UV spectrum)



चित्र 3. मेथनॉल में 343 nm पर पाइपरिन का मापांकन वक्र (Calibration curve)

संदर्भ (Reference)

1) Thomford NE, Senthebane DA, Rowe A, Munro D, Seele P, Maroyi A, Dzobo K. Natural products for drug discovery in the 21st century: innovations for novel drug discovery. IntJ Mol Sc. 2018 Jun;19(6):1-29.
2) Mukherjee PK, Harwansh RK, Bahadur S, Banerjee S, Kar A, Chanda J, Biswas S, Ahmmed SM, Katiyar CK. Development of Ayurveda–tradition to trend. J Ethnopharmacol. 2017 Feb; 2(197):10-24.
3) Joshi VK, Joshi A, Dhiman KS. The Ayurvedic Pharmacopoeia of India, development and perspectives. Journal of ethnopharmacology. 2017 Feb; 2(197):32-8.
4) Maurya R, Boini T, Lakshminarayana M, Radhakrishnan T, & Sudayadas R K., Recent Trends in Medical Pharmaceutical Different aspects of quality control in the standardization of Ayurvedic formulation, innovatpublisher, 2022 May; 5(1):106-120.
5) Shah U, Patel S, Raval M, Desai P. Chemometric assisted spectrophotometric methods for the simultaneous determination of Rifampicin and Piperinee in bulk and capsule. Indian J Ph Edu Res. 2015 Sep; 49(3):200-07.
6) Singh A, Avupati VR. Development and validation of UV-spectrophotometric method for the estimation of curcumin in standardisedpolyherbal formulations. J Young Pharm. 2017 Oct; 9(4):491-95.
7) Ashwinder S, Rao VA. Development and Validation of UV-Spectrophotometric method for the Estimation of Curcumin in Standardized Polyherbal Formulations. J Young Pharm 2017 Dec; 9(4):491–495.
8) Bhairy S, Shaikh A, Nalawade V, Hirlekar R. Development and validation of bivariate UV-visible spectroscopic method for simultaneous estimation of curcumin and Piperinee in their combined nanoparticulate system. J Appl Pharm Sci. 2021 May; 11(05):64–70.
9) Bhairy S, Shaikh A, Nalawade V, Hirlekar R. Development and validation of bivariate UV-visible spectroscopic method for simultaneous estimation of curcumin and Piperinee in their combined nanoparticulate system. J Appl Pharm Sci. 2021 May; 11(05):64–70.
10) Gorgani L, Mohammadi M, Najafpour GD, Nikzad M. Sequential microwave-ultrasound-assisted extraction for isolation of Piperinee from black pepper (Piper nigrum L.). Food Biop Tech. 2017 Dec; 10(12):2199-207.