

УДК 615.07:543.48

А. В. Єгорова¹, Ю. В. Скрипинець¹, І. І. Леоненко¹, Д. І. Александрова¹,
С. М. Кашуцький², І. В. Умецька²

¹Фізико-хімічний інститут ім. О.В. Богатського НАН України,
Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна

²ТДВ «ІНТЕРХІМ», Люстдорфська дорога, 86, Одеса, 65080, Україна

РОЗРОБКА ТА ВАЛІДАЦІЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ФАБОМОТИЗОЛУ ДИГІДРОХЛОРИДУ ДЛЯ ВИВЧЕННЯ ПРОФІЛІВ РОЗЧИНЕННЯ

Встановлення біофармацевтичної еквівалентності препаратів-генериків є необхідною складовою відповідного досьє на лікарський препарат. Визначення еквівалентності *in vitro* – це випробування, яке призначене для оцінки еквівалентності профілів розчинення досліджуваного і референтного лікарських препаратів в трьох середовищах розчинення зі значеннями рН 1,2; 4,5 і 6,8.

Розроблено методику кількісного визначення фабомотизолу дигідрохлориду спектрофотометричним методом, придатну для дослідження профілів розчинення таблеток лікарського засобу БАФАЗОЛ ІС, таблетки по 10 мг. Методику валідовано за показниками специфічність, точність, правильність, лінійність у вивченому діапазоні концентрацій. Коефіцієнти лінійних залежностей в досліджуваних концентраційних діапазонах відповідають допустимим значенням. Підтверджено стабільність випробовуваних розчинів та розчинів порівняння у разі їх зберігання за кімнатної температури протягом 8 год., так як зміни оптичних параметрів у подальшому не відбувалися.

Вивільнення більше 85% фабомотизолу дигідрохлориду за 15 хв у всіх середовищах розчинення говорить про подібність профілів розчинення та не вимагає розрахунку фактора подібності f_2 .

Ключові слова: спектрофотометрія, профілі розчинення, фабомотизолу дигідрохлорид

Ефективність фармацевтичної розробки має бути підтверджена дослідженнями біоеквівалентності методами *in vivo* та *in vitro*. У дослідженнях *in vivo* проводиться дослідження фармакокінетики лікарського засобу оригінального препарату та генерику з визначенням його вмісту в біологічних рідинах, у дослідженнях *in vitro*. – моделюються системи, схожі на біологічні, і досліджуються профілі вивільнення [1, 2].

Визначення еквівалентності *in vitro*. – це випробування, яке призначене для оцінки еквівалентності профілів розчинення досліджуваного і референтного лікарських препаратів в трьох середовищах розчинення зі значеннями рН 1,2; 4,5 і 6,8. Значення f_2 в межах від 50 до 100 гарантує схожість або еквівалентність двох профілів та еквівалентність фармакологічної дії випробовуваного препарату і препарату порівняння [3, 4].

За допомогою профілів розчинення можна оцінити вплив розміру частинок АФІ/допоміжних речовин на швидкість вивільнення АФІ. Зміни можуть стосуватися не тільки допоміжних речовин, а й запровадження альтернативного виробника АФІ, технології виготовлення ГЛФ тощо [5]. До того ж, за допомогою профілів

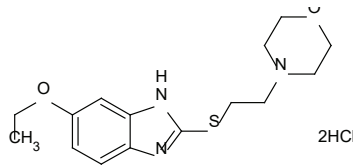
розчинення можна оцінити відтворюваність продукту під час масштабування та у разі виготовлення препарату від серії до серії.

Багато аспектів проведення тесту кінетики розчинення, наведені в наукових статтях, розрізняються за вимогами до методології проведення випробування – вибору досліджуваного і референтного препарату, вибору оптимальних середовищ розчинення, тимчасових точок відбору проб і багатьох інших. Внаслідок різноманітності лікарських субстанцій, їх хімічних та фізико-хімічних властивостей, особливостей і механізму дії єдиного алгоритму для розробки методик не існує.

Слід зазначити, що в останні роки зростає кількість публікацій по вивченню якості генериків з використанням тесту «Розчинення» [6. – 14]. У ряді наукових робіт показана ефективність використання методу спектрофотометрії у вивченні профілів розчинення *in vitro* деяких препаратів: ранітидину гідрохлориду [15], теофіліну [16], офлоксацину [17].

Важливими є питання валідації аналітичних методик кількісного визначення вивільненої діючої речовини при проведенні саме порівняльного тесту кінетики розчинення, а не фармакопейного тесту «Розчинення». Тому розробка ефективних підходів до створення методологічних основ досліджень еквівалентності *in vitro* є актуальною науковою задачею.

На етапі розробки препарату-генерика, що містить фабомотизол дигідрохлорид, необхідно встановити подібність профілів розчинення. Фабомотизолу дигідрохлорид – селективний небензодіазепіновий анксиолітик, який підвищує біоенергетичний потенціал нейронів та чинить нейропротекторну дію.



5-етокси-2-[(2-морфолін-4-іл-етил)тіо]-1H-бензімідазолу дигідрохлорид (фабомотизолу дигідрохлорид, ФД)

Метою цієї роботи було розроблення та валідація спектрофотометричної методики кількісного визначення фабомотизолу дигідрохлориду, придатної для дослідження профілів розчинення таблеток лікарського засобу БАФАЗОЛ ІС, таблетки по 10 мг.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В роботі використовували реактиви кваліфікації не нижче ч.д.а. Для приготування розчинів застосовували дистильовану воду. У роботі використовували РСЗ фабомотизолу дигідрохлориду (ТДВ «ІНТЕРХІМ»).

Визначення було виконано відповідно до вимог Державної фармакопеї України (ДФУ) [18] за пунктами 2.9.3 та 2.2.29. Як середовища розчинення використовували буферні розчини з рН 1,2; 4,5; 6,8, що приготовані відповідно до ДФУ.

У роботі використовували ваги лабораторні електронні AUX220 (SHIMADZU, Японія) і магнітну мішалку ARE (VELP Scientifica, Італія). рН буферних розчинів

вимірювали на рН-метрі серії Seven Easy фірми Mettler Toledo. Електронні спектри поглинання реєстрували на спектрофотометрі UV-2401 PC Shimadzu (Японія).

Об'єктом дослідження був препарат БАФАЗОЛ ІС, таблетки по 10 мг (виробник – ТДВ «ІНТЕРХІМ», Україна) та референтний препарат Афобазол® (виробник – ОАО ФАРМСТАНДАРТ-ЛЕКСРЕДСТВА, Росія).

Об'єм середовища розчинення становив 900 мл, швидкість обертання кошика – 50 об/хв, час розчинення. – 45 хв з точками відбору: 10, 15, 30, 45 хв.

Використано систему для визначення ступеня розчинення твердих дозованих форм ERWEKA DT1612 (Німеччина).

Випробовуваний розчин. У циліндричну посудину напівавтоматичного приладу з лопаттю-мішалкою поміщають 1 таблетку. Через 10, 15, 30, 45 хв після початку розчинення проби об'ємом 10,0 мл автоматично відбираються та фільтруються крізь мембранні фільтри (0,20 мкм) у пробірки місткістю 10,0 мл.

Розчин порівняння. 100,0 мг РСЗ фабомотизолу дигідрохлориду поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, розчиняють в 30 мл води, доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником та перемішують.

0,5 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, доводять об'єм розчину відповідним буферним розчином до позначки та перемішують.

Розчини використовують свіжоприготованими.

Компенсаційний розчин. Відповідний буферний розчин.

Визначення проводять методом абсорбційної спектрофотометрії в ультрафіолетовій області. Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину та розчину порівняння в кюветі з товщиною шару 1 см щодо компенсаційного розчину при довжині хвилі: 302 нм для 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти та 296 нм для ацетатного буферного розчину рН 4,5 та фосфатного буферного розчину рН 6,8.

Кількість фабомотизолу дигідрохлориду (X_n), яка перейшла до розчину з таблетки в кожній часовій точці пробовідбору, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X_n = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 0,5 \cdot V_{n-1} \cdot (100 - W_0) \cdot P \cdot 100}{A_0 \cdot 50 \cdot 100 \cdot (a - \sum_1^n b_n) \cdot 100 \cdot 100} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot V_n \cdot (100 - W_0) \cdot P}{A_0 \cdot (a - \sum_1^n b_n) \cdot 1000000},$$

де:

n . – порядковий номер пробовідбору;

A_0 . – оптична густина розчину порівняння;

A_1 . – оптична густина випробовуваного розчину;

m_0 . – маса наважки РСЗ фабомотизолу дигідрохлориду, у міліграмах;

a . – вміст фабомотизолу дигідрохлориду в одній таблетці, у міліграмах;

W_0 . – вміст води в РСЗ фабомотизолу дигідрохлориду, у відсотках;

V_n . – об'єм розчинника в n точці пробовідбору, у мілілітрах;

P . – вміст основної речовини в РСЗ фабомотизолу дигідрохлориду, у відсотках;

b_n . – зменшення кількості речовини при здійсненні пробовідбору, що обчислюється за формулою:

$$b_n = \frac{a \cdot X_{n-1} \cdot d \cdot 0,01}{V_{n-1}},$$

де: d – об'єм аліквоти, у мілілітрах (у даному випадку – 10,0 мл).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Валідацію методики проводили у 3 середовищах розчинення – 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти, ацетатному буферному розчині рН 4,5, фосфатному буферному розчині рН 6,8 – за такими показниками: специфічність, лінійність та діапазон застосування методики, правильність, внутрішньолабораторна прецизійність.

Для прикладу наведено рисунки для валідації методики у 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти.

Специфічність методу заснована на можливості однозначно оцінювати аналізовану речовину в присутності інших компонентів і підтверджується шляхом використання зовнішніх стандартів.

Ультрафіолетовий спектр поглинання розчину допоміжних речовин (плацебо) у 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти представлений на рис. 1, а. «Плацебо» не заважає визначенню фабомотизолу дигідрохлориду. Спектри поглинання випробовуваного розчину і розчину порівняння співпадають за характером і положенню максимуму. Це також підтверджує специфічність методики.

Лінійна залежність методу характеризує здатність отримання аналітичних сигналів, прямо пропорційних вмісту визначуваних речовин у випробовуваному зразку. Лінійність досліджували на модельних сумішах в різних середовищах розчинення в інтервалі 10. – 130 %. В якості 100% точки обрана концентрація 10 мкг/мл.

Побудова градуувального графіка

Вихідний розчин РСЗ фабомотизолу дигідрохлориду. 20,0 мг РСЗ фабомотизолу дигідрохлориду поміщують у мірну колбу місткістю 200,0 мл, розчиняють у 150 мл води P , доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішують.

Випробовувані розчини. У мірні колби місткістю 20,0 мл вносять 0,2; 0,6; 1,0; 1,4; 1,6; 2,0; 2,2; 2,4; і 2,6 мл вихідного розчину РСЗ фабомотизолу дигідрохлориду, доводять об'єми розчинів до позначки відповідним середовищем розчинення та перемішують.

Розчини використовують свіжоприготованими.

Компенсаційний розчин. Відповідне середовище розчинення.

Вимірюють оптичну густину випробовуваних розчинів (рис. 1а) відносно компенсаційного розчину для 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти за довжини хвилі 302 нм в кюветі з товщиною шару 1 см.

В нормалізованих координатах вміст фабомотизолу дигідрохлориду (X), у відсотках, розраховували за формулою:

$$X = \frac{C_n \cdot 100\%}{C_0},$$

де: C_n – концентрація фабомотизолу дигідрохлориду в n-ому аналітичному розчині; C_0 – концентрація фабомотизолу дигідрохлориду в розчині порівняння.

Оптичну густина фабомотизолу дигідрохлориду (A), у відсотках, розраховували за формулою:

$$A = \frac{A_n \cdot 100\%}{A_0},$$

де: A_n – оптична густина n-ого аналітичного розчину;

A_0 – оптична густина розчину порівняння.

На рис. 1б представлена лінійна залежність для визначення фабомотизолу дигідрохлориду в 0,1 М розчині хлористоводневої кислоти в нормалізованих координатах, яка описується рівнянням виду:

$$A = 0,78802 + 0,98948 \cdot x,$$

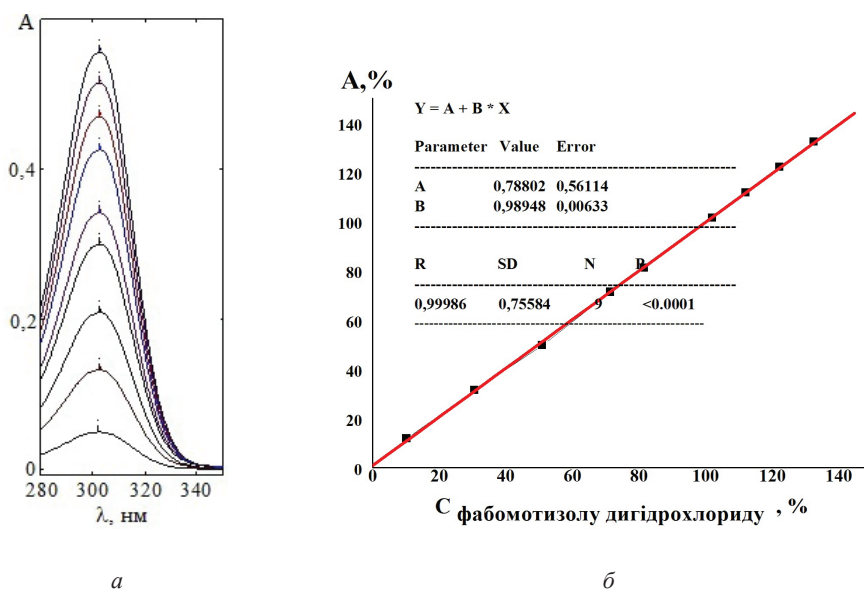


Рис. 1. Ультрафіолетові спектри поглинання (а) модельних розчинів фабомотизолу дигідрохлориду різних концентрацій та лінійна залежність оптичної густини від концентрації в нормалізованих координатах (б)

Fig: 1. Ultraviolet absorption spectra (a) of model solutions of fabomotisol dihydrochloride of different concentrations and linear dependence of optical density on concentration in normalized coordinates (b)

Метрологічні характеристики лінійної залежності відповідають вимогам прийнятності, що рекомендовані ДФУ [18], дані наведено в табл. 1.

Таблиця 1

Метрологічні характеристики лінійності методики

Table 1

Metrological characteristics of the linearity of the method

Величина	Критерії прийнятності параметрів лінійної залежності	Отримані значення		
		середовище рН 1,2	середовище рН 4,5	середовище рН 6,8
b	Близко к 1	0,98948	0,98356	0,97379
a	≤1,07	0,78802	0,15221	0,94409
R	≥0,99930	0,99986	0,99982	0,99972

Для оцінки збіжності готували та аналізували розчини порівняння та 6 випробуваних розчинів із концентраціями діючої речовини на рівні 100% вивільнення АФІ (45 хв). Розчини готували з однієї серії препарату.

Згідно з [18] значення \bar{X} для різних днів повинні статистично не відрізнятися, що свідчить про задовільну внутрішньолабораторну прецизійність.

Для з'ясування цього розраховують середньозважене стандартне відхилення S_0 :

$$S_0 = \sqrt{\frac{S_1^2 + S_2^2}{2}},$$

де: S_1 – стандартне відхилення результатів першого дня; S_2 – стандартне відхилення результатів другого дня; 2. – кількість днів вимірювань.

Модуль різниці між середніми значеннями \bar{X} для різних днів повинен задовольняти співвідношенню:

$$|\bar{X}_1 - \bar{X}_2| \leq \sqrt{2} \cdot t(0,95; f) \cdot \frac{S_0}{\sqrt{n}},$$

де: $f = 2(n-1)$; n – число паралельних вимірювань.

Результати перевірки внутрішньолабораторної прецизійності представлені в табл. 2 (зроблені в різні дні одним аналітиком).

Наведені розрахунки свідчать про задовільну внутрішньолабораторну прецизійність.

Правильність визначали в трьох буферних розчинах в межах діапазону використання аналітичної методики із застосуванням методу «введено-знайдено» на модельних розчинах (три наважки по три паралельних визначення). Отримані результати наведено в табл. 3.

Як видно з приведених розрахунків вимоги до статистичної незначущості систематичної похибки виконуються для усіх середовищ розчинення. Таким чином, правильність методики задовольняє необхідним вимогам.

Таблиця 2

Результати перевірки внутрішньолабораторної прецизійності

Table 2

The results of testing intra-laboratory precision

День	Знайдений вміст ФД, %			
	№ зразка	середовище рН 1,2	середовище рН 4,5	середовище рН 6,8
Перший	1	93,76	99,35	90,66
	2	99,85	100,78	85,77
	3	96,28	95,77	87,55
	4	86,01	98,88	91,11
	5	91,88	96,01	91,11
	6	96,07	94,82	90,66
	Середнє значення	93,98	97,60	89,48
	Другий	1	97,42	98,63
2		103,49	99,82	86,17
3		98,50	95,08	87,51
4		88,30	98,87	91,29
5		94,16	96,25	91,29
6		98,72	94,82	91,52
Середнє значення		96,77	97,25	89,95
S_0		4,93	2,26	2,32
$ \bar{X}_1 - \bar{X}_2 \leq \sqrt{2} \cdot t(0,95; f) \cdot \frac{S_0}{\sqrt{n}}$		2,79 < 6,35	0,35 < 2,91	0,37 < 2,99

Таблиця 3

Результати вивчення правильності

Table 3

The results of the study of accuracy

Концентрація ФД						
X _p , %	Y _i , %			Z _i , %		
	pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8	pH 1,2	pH 4,5	pH 6,8
5,00	4,99	4,96	4,91	99,80	4,96	98,20
5,00	5,05	5,01	5,01	101,00	5,01	100,20
5,00	4,96	4,98	4,98	99,20	4,98	99,60
10,00	9,95	9,94	9,85	99,50	9,94	98,50
10,00	9,97	9,94	9,85	99,70	9,94	98,50
10,00	9,97	9,87	10,01	99,70	9,87	100,10
13,00	13,15	12,87	12,79	101,15	12,87	98,38
13,00	13,19	12,87	12,99	101,46	12,87	99,92
13,00	13,21	12,85	12,93	101,62	12,85	99,46
Середнє Z _i , %				100,35	99,26	99,21
SD _z , %				0,94	0,46	0,81
Критерій $\delta\% \leq \frac{\Delta_z}{\sqrt{n}}$				0,35 ≤ 0,58	0,74 ≤ 0,96	0,79 ≤ 0,96
Висновок				Відповідає	Відповідає	Відповідає

Стабільність розчину порівняння

Для підтвердження терміну придатності розчинів порівняння вивчена залежність оптичної густини розчинів фабомотизолу дигідрохлориду від часу в інтервалі 0, 2, 4, 6 і 8 години. Розчини зберігалися при кімнатній температурі. Дані представлені в табл. 4.

Підтверджено стабільність випробовуваних розчинів та розчинів порівняння у разі їх зберігання за кімнатної температури протягом 8 год.

Профілі розчинення препаратів фабомотизолу дигідрохлориду наведені на рис. 2.

Результати дослідження профілів розчинення підтверджують ідентичність профілів розчинення препаратів Афобазол[®], таблетки по 10 мг та БАФАЗОЛ ІС, таблетки по 10 мг. Вивільнення більше 85% фабомотизолу дигідрохлориду за 15 хв у всіх середовищах розчинення говорить про подібність профілів розчинення і не вимагає розрахунку фактора подібності f_2 .

Таблиця 4

Результати визначення стабільності розчинів порівняння

Table 4

The results of determining the stability of the reference solutions

Значення оптичної густини ФД	рН	Час проведення вимірювання, год					\bar{A}	RSD
		0	2	4	6	8		
	рН 1,2	0,414	0,413	0,413	0,413	0,413	0,413	0,108
	рН 4,5	0,361	0,361	0,362	0,362	0,362	0,362	0,151
	рН 6,8	0,384	0,384	0,384	0,386	0,386	0,385	0,285

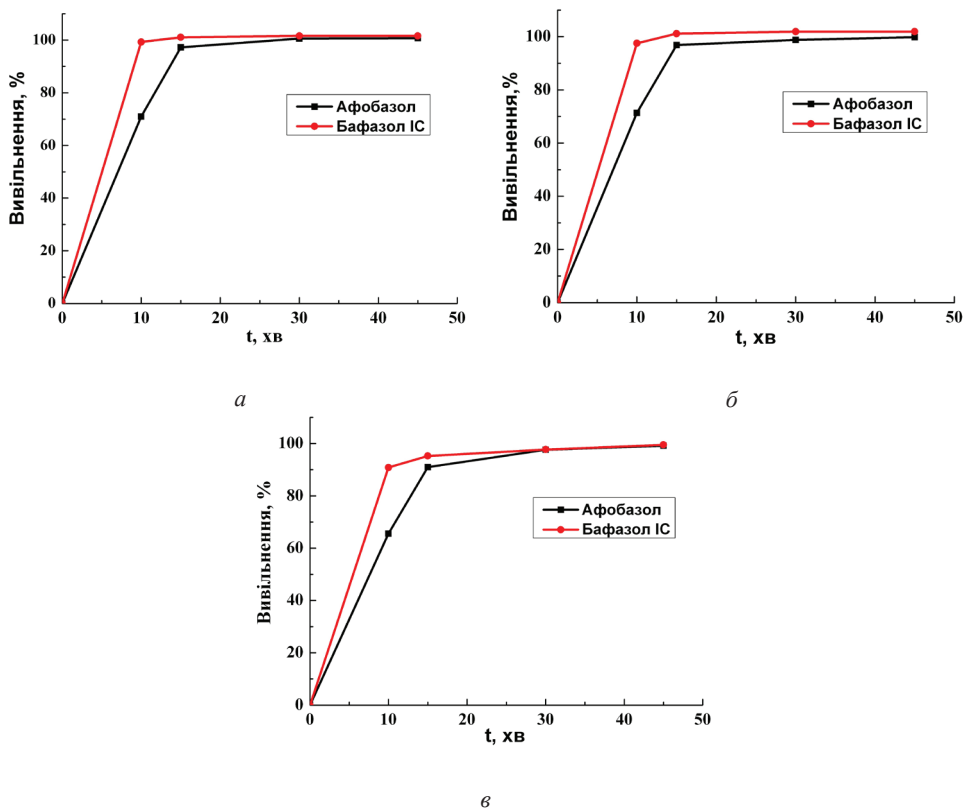


Рис. 2. Криві профілів розчинення фабомотизолу дигідрохлориду для двох досліджуваних серій препарату: *a* – 0,1 М розчин хлористоводневої кислоти рН 1,2; *б* – ацетатний буферний розчин рН 4,5; *в* – фосфатний буферний розчин рН 6,8 (n=12)

Fig. 2. Curves of dissolution profiles of fabomotisol dihydrochloride for the two studied series of the drug: *a* – 0.1 M hydrochloric acid solution pH 1.2; *б* – acetate buffer solution pH 4.5; *в* – phosphate buffer solution pH 6.8 (n = 12)

ВИСНОВКИ

За результатами валідації встановлено, що наведена методика є специфічною, характеризується коректною точністю, правильністю, лінійною залежністю в вивченому діапазоні концентрацій, що дозволяє використовувати її для вивчення профілів розчинення лікарського препарату БАФАЗОЛ ІС, таблетки по 10 мг.

Результати дослідження профілів розчинення підтверджують ідентичність профілів розчинення препарату БАФАЗОЛ ІС та референтного препарату Афобазол®.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Reflection paper on the dissolution specification for generic solid oral immediate release products with systemic action*, EMA. – 2017. – 10 p.
2. *U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: Waiver of in vivo bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System.* – 2017. – 19 p.
3. *Freitag G. Guidelines on dissolution profile comparison // Drug Inform. J.* – 2001. – Vol. 35, N 3. – P. 865-874. <http://dx.doi.org/10.1177/009286150103500325>
4. *Guidance on the Investigation of Bioequivalence.* European Medicines Agency (EMA). Committee for Medicinal Products of Human Use (CHMP). – 2010. – 27 p.
5. *Бурмака О.В.* Розробка та валідація методики визначення енісаміуму йодиду для вивчення профілів розчинення протівірусного засобу // *Фармацевтичний журнал.* – 2018. – № 3-4. – С. 38-46. <http://dx.doi.org/10.32352/0367-3057.3-4.18.06>
6. *Medina J.R., Salazar D.K., Hurtado M., Cortes A.R., Dominguez-Ramirez A.M.* Comparative in vitro dissolution study of carbamazepine immediate-release products using the USP paddles method and the flow-through cell system // *Saudi Pharm. J.* – 2014. – Vol. 22. – P. 141-147. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2013.02.001>
7. *Vignaduzzo S.E., Opertoa M.A., Castellano P.M.* Development and validation of a dissolution test method for albendazole and praziquantel in their combined dosage form // *J. Braz. Chem. Soc.* – 2015. – Vol. 26, N 4. – P. 729-735. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150033>
8. *Arregui J.R., Kovvasu S.P., Kunamaneni P., Betageri G.V.* Carvedilol solid dispersion for enhanced oral bioavailability using rat model // *J. Appl. Pharm. Sci.* – 2019. – Vol. 9, N 12. – P. 42-50. <http://dx.doi.org/10.7324/JAPS.2019.91207>
9. *Cavalheiro de Meira R.Z., Maciel A.B., Murakami F.S., Renato de Oliveira P., Bernardi L.S.* In vitro dissolution profile of dapagliflozin: development, method validation, and analysis of commercial tablets // *Inter. J. Anal. Chem.* – 2017. – Vol. 2017. – P. 1-6. <https://doi.org/10.1155/2017/2951529>
10. *Mircioiu C., Anuta V., Mircioiu I., Nicolescu A., Fotaki N.* In Vitro–In Vivo correlations based on In Vitro dissolution of parent drug diltiazem and pharmacokinetics of its metabolite // *Pharmaceutics.* – 2019. – Vol. 11, N 7. – P. 1-15. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11070344>
11. *Singh H., Jaiswal P., Gupta S., Singh S.* Formulation of rizatriptan benzoate sublingual tablets prepared by direct compression with different bioadhesive polymer: in vitro and ex vivo evaluation // *Asian J. Pharm. Clinical Res.* – 2017. – Vol. 10, N 16. – P. 36-42. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10s4.21334>
12. *Simionato L.D., Petrone L., Baldut M., Bonafede S.L., Segall A.I.* Comparison between the dissolution profiles of nine meloxicam tablet brands commercially available in Buenos Aires, Argentina // *Saudi Pharma. J.* – 2018. – Vol. 26, N 4. – P. 578-584. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.01.015>
13. *Chaudhari R.K., Ganorkar A.V., Dixit M.P., Umekar M.J.* Comparative evaluation of dissolution profile of drug in its formulation by UV spectrophotometry // *Int. J. Pharm. Chem. Anal.* – 2020. – Vol. 7, N 1. – P. 26-31. <https://doi.org/10.18231/ijpc.2020.004>
14. *Шохин І.Е., Багаєва Н.С., Малащенко Е.А., Кузіна В.Н.* Методи оцінки еквівалентності профілей розчинення: сучасний погляд (обзор) // *Разработка и регистрация лекарственных средств.* – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 145-150. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-2-145-150>
15. *Степанова Е.В., Антонов С.А., Дорофеев В.Л., Арзамасцев А.П.* Использование теста «Растворение» для сравнительной оценки препаратов-дженериков ранитидина // *Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.* – 2008. – № 5. – С. 49-51.

16. Maswaden H.M., Semreen M.H., Abdulhalim A.A. In vitro dissolution kinetic study of theophylline from hydrophilic and hydrophobic matrices // Drug Research. – 2006. – Vol. 63, N 1. – P. 63-67. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.26658>
17. Дорофеев В.Л., Титов И. В., Кочин В. Ю., Арзамасцев А.П. Использование теста «Растворение» для изучения воспроизведенных лекарственных средств на примере препаратов офлоксацина // Хим. журн. – 2004. – Т. 38, № 5. – С. 35-37.
18. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 4. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2020. – С. 123-236.

Стаття надійшла до редакції 15.01.2022

**A. V. Yegorova¹, Yu. V. Scrypynets¹, I. I. Leonenko¹, D. I. Aleksandrova¹,
S. N. Kashutskyy², I. V. Umetskaya²**

¹A.V. Bogatsky Physico-Chemical Institute of the National Academy of Sciences of Ukraine, Lustdorfskaya doroga, 86, Odessa, 65080, Ukraine

²"INTERCHEM", Lustdorfskaya doroga, 86, Odessa, 65080, Ukraine

DEVELOPMENT AND VALIDATION OF SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR DETERMINATION OF FABOMOTIZOLE DIHYDROCHLORIDE FOR STUDY OF DISSOLUTION PROFILES

Establishing the biopharmaceutical equivalence of generic drugs is a necessary component of the relevant drug dossier. Determination of *in vitro* equivalence is a test designed to assess the equivalence of the dissolution profiles of the study and reference drugs in three dissolution media with pH values of 1.2; 4.5 and 6.8. A value of f_2 in the range from 50 to 100 guarantees the similarity or equivalence of the two profiles and the equivalence of the pharmacological action of the test drug and the reference drug.

A method for the quantitative determination of the fabomotizole dihydrochloride by spectrophotometric method has been developed, which is suitable for studying the dissolution profiles of BAFAZOL IC tablets, 10 mg tablets. Measure the absorbance of the test solution and the reference solution in a 1 cm cell relative to the compensation solution at wavelength: 302 nm for 0.1 M hydrochloric acid solution and 296 nm for acetate buffer pH 4.5 and phosphate buffer pH 6.8.

The method was validated on the parameters of specificity, accuracy, correctness, linearity in the studied range of concentrations. Excipients do not interfere on the determination of the fabomotizole dihydrochloride. The absorption spectra of the test solution and the reference solution coincide in nature and position of the maximum. This also confirms the specificity of the method. Linearity was investigated on model mixtures in different dissolution media in the range of 10. – 130%. The coefficients of linear dependences in the studied concentration ranges correspond to the allowable values. The stability of the tested solutions and reference solutions in the case of their storage at room temperature for 8 hours was confirmed.

The release of more than 85% of fabomotizole dihydrochloride in 15 min in all dissolution media indicates the similarity of the dissolution profiles and does not require the calculation of the similarity factor f_2 .

Keywords: spectrophotometry, dissolution profiles, fabomotisol dihydrochloride.

REFERENCES

1. *Reflection paper on the dissolution specification for generic solid oral immediate release products with systemic action*, EMA, 2017, 10 p.
2. U.S. Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research. Guidance for industry: Waiver of *in vivo* bioavailability and bioequivalence studies for immediate-release solid oral dosage forms based on a Biopharmaceutics Classification System. 2017, 19 p.
3. Freitag G. *Guidelines on dissolution profile comparison*. Drug Inform. J., 2001, vol. 35, no 3, pp. 865 – 874. <http://dx.doi.org/10.1177/009286150103500325>
4. Guidance on the Investigation of Bioequivalence. European Medicines Agency (EMA). Committee for Medicinal Products of Human Use (CHMP). 2010
5. Burmaka O.V. *Rozrobka ta validaciya metodiki viznachennya enisamiumu iodidu dlya vivchennya profiliv rozchinennya protivirusnogo zasobu*. Farmaceutichnii zhurnal, 2018, no 3-4, pp. 38-46. <http://dx.doi.org/10.32352/0367-3057.3-4.18.06> (in Russian)
6. Medina J.R., Salazar D.K., Hurtado M., Cortes A.R., Dominguez- Ramirez A.M. *Comparative in vitro dissolution study of carbamazepine immediate-release products using the USP paddles method and the flow-through cell system*. Saudi Pharm. J., 2014, vol. 22, pp. 141-147. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jsps.2013.02.001>
7. Vignaduzzo S.E., Opertoa M.A., Castellano P.M. *Development and validation of a dissolution test method for albendazole and praziquantel in their combined dosage form*. J. Braz. Chem. Soc., 2015, vol. 26, no 4, pp. 729-735. <http://dx.doi.org/10.5935/0103-5053.20150033>
8. Arregui J.R., Kovvasu S.P., Kunamaneni P., Betageri G.V. *Carvedilol solid dispersion for enhanced oral bioavailability using rat model*. J. Appl. Pharm. Sci., 2019, vol. 9, no 12, pp. 42-50. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.91207>
9. Cavalheiro de Meira R.Z., Maciel A.B., Murakami F.S., Renato de Oliveira P., Bernardi L.S. *In vitro dissolution profile of dapagliflozin: development, method validation, and analysis of commercial tablets*, Inter. J. Anal. Chem., 2017, vol. 2017, pp. 1-6. <https://doi.org/10.1155/2017/2951529>
10. Mircioiu C., Anuta V., Mircioiu I., Nicolescu A., Fotaki N. *In Vitro–In Vivo correlations based on In Vitro dissolution of parent drug diltiazem and pharmacokinetics of its metabolite*. Pharmaceutics, 2019, vol. 11, no 7, pp. 1 – 15. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics11070344>
11. Singh H., Jaiswal P., Gupta S., Singh S. *Formulation of rizatriptan benzoate sublingual tablets prepared by direct compression with different bioadhesive polymer: in vitro and ex vivo evaluation*. Asian J. Pharm. Clinical Res., 2017, vol. 10, no 16, pp. 36 – 42. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10s4.21334>
12. Simonato L.D., Petrone L., Baldut M., Bonafede S.L., Segall A.I. *Comparison between the dissolution profiles of nine meloxicam tablet brands commercially available in Buenos Aires, Argentina*. Saudi Pharma. J., 2018, vol. 26, no 4, pp. 578 – 584. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2018.01.015>
13. Chaudhari R.K., Ganorkar A.V., Dixit M.P., Umekar M.J. *Comparative evaluation of dissolution profile of drug in its formulation by UV spectrophotometry*. Int. J. Pharm. Chem. Anal., 2020, vol. 7, no 1, pp. 26-31. <https://doi.org/10.18231/j.ijpca.2020.004>
14. Shohin I.E., Bagaeva N.S., Malashenko E.A., Kuzina V.N. *Metodi ochenki ekvivalentnosti profilei rastvoreniya: sovremennii vzglyad (obzor)*. Razrabotka i registraciya lekarstvennih sredstv, 2020, vol. 9, no 2, pp. 145-150. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-2-145-150> (in Russian)
15. Stepanova E.V., Antonov S.A., Dorofeev V.L., Arzamascev A.P. *Ispolzovanie testa «Rastvorenie» dlya sravnitelnoi ochenki preparatov-dzhenerikov ranitidine*. Voprosi biologicheskoi, medicinskoi i farmacevticheskoi himii, 2008, no 5, pp. 49-51. (in Russian)
16. Maswaden H.M., Semreen M.H., Abdulhalim A.A. *In vitro dissolution kinetic study of theophylline from hydrophilic and hydrophobic matrices*. Drug Research, 2006, vol. 63, no 1, pp. 63-67. <https://doi.org/10.4103/0250-474X.26658>
17. Dorofeev V.L., Titov I. V., Kochin V. YU., Arzamascev A.P. *Ispolzovanie testa «Rastvorenie» dlya izucheniya vosproizvedennih lekarstvennih sredstv na primere preparatov ofloksacina*. Him. zhurn., 2004, vol. 38, no 5, pp. 35-37. (in Russian)
18. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv». 2-e vyd. Dopovnennia 4, Kharkiv, Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv», 2020, 123-236. (in Ukrainian)