

Разработка и валидация методики количественного определения триметазида дигидрохлорида для исследовательских целей

Р. Альрухаие^{1, 2}, С.Н. Суслина¹

¹ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва, Россия

²Университет Дамаска, Дамаск, Сирия

АННОТАЦИЯ

В в е д е н и е . Методология фармацевтической разработки предусматривает получение и анализ экспериментальных образцов, в частности по количеству действующего вещества в среде растворения/высвобождения. Для стандартизации качества фармацевтических субстанций используют современные спектральные и хроматографические методы, что существенно усложняет тестирование образцов в эксперименте. Разработка и валидация доступной методики спектрофотометрического определения триметазида дигидрохлорида (ТМД) необходима для оценки кинетики высвобождения в исследуемых образцах.

Ц е л ь . Разработка и валидация спектрофотометрической методики количественного определения ТМД.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы . Фармацевтические субстанции ТМД и вспомогательных веществ соответствовали требованиям нормативных документов по качеству. Сертифицированные приборы, оборудование и используемые методики соответствовали требованиям Государственной Фармакопеи РФ XIV издания и рекомендациям ICH.

Р е з у л ь т а т ы . Для разработки методики спектрофотометрического определения ТМД установлен максимум поглощения при длине волны 269 ± 2 нм. В связи с необходимостью количественной оценки профилей кинетики высвобождения действующего вещества из экспериментальных образцов (грануляты и таблетки) ТМД в кислой среде и фосфатном буфере ($pH = 6.8 \pm 0.05$) валидацию методики проводили в соответствующих условиях. Построенная калибровочная кривая показала, что линейный диапазон предложенной методики составляет 5.0–25.0 мкг/мл с коэффициентом корреляции 0.9994 в кислой среде (HCl 0.1 М) и 10.0–50.0 мкг/мл с коэффициентом корреляции 0.9997 в фосфатном буфере. Такие характеристики разработанной методики, как специфичность, правильность и прецизионность, находились в допустимых пределах. Определение с помощью этой методики ТМД в модельных смесях в составе гранул и таблеток показало совпадение с теоретическими значениями в границах допустимых отклонений.

З а к л ю ч е н и е . Разработана и валидирована спектрофотометрическая методика количественного определения ТД при максимуме поглощения 269 ± 2 нм, что позволяет использовать ее в ходе фармацевтической разработки.

Ключевые слова: триметазидин, аналитический метод, количественное определение, спектрофотометрия, валидация.

Образец цитирования: Альрухаие Р., Суслина С.Н. Разработка и валидация методики количественного определения триметазида дигидрохлорида для исследовательских целей // Journal of Siberian Medical Sciences. 2024;8(1):64-74. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-64-74

Development and validation of an accessible analytical method for the quantification of trimetazidine dihydrochloride for research purposes

R. Alrouhayyah^{1, 2}, S.N. Suslina¹

¹Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

²Damascus University, Damascus, Syria

ABSTRACT

I n t r o d u c t i o n . The methodology of pharmaceutical development provides for the preparation and analysis of experimental samples, in particular by the amount of an active substance in the dissolution/release medium. Modern spec-

Поступила в редакцию 11.04.2023
Прошла рецензирование 12.05.2023
Принята к публикации 31.05.2023

Автор, ответственный за переписку

Альрухаие Ранам: ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (РУДН). 117198, г. Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6.

E-mail: alrukhaie-r@rudn.ru

Received 11.04.2023
Revised 12.05.2023
Accepted 31.05.2023

Corresponding author

Ranim Alrouhayyah: Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), 6 Miklukho-Maklaya str., Moscow, 117198, Russia.

E-mail: alrukhaie-r@rudn.ru

tral and chromatographic methods are used to standardize the quality of pharmaceutical substances, which significantly complicates testing samples. The development and validation of an accessible method for the spectrophotometric determination of trimetazidine dihydrochloride (TMD) is necessary to assess the release kinetics in the samples studied.

A i m . Development and validation of a spectrophotometric method for the quantitative determination of TMD.

M a t e r i a l s a n d m e t h o d s . Pharmaceutical substances of TMD and excipients met the quality requirements of regulatory documents. The certified devices, equipment and methods used complied with the requirements of the State Pharmacopoeia of the Russian Federation, 14th ed. and the recommendations of the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH).

R e s u l t s . To develop a method for the spectrophotometric determination of TMD, the maximum absorbance was detected at 269 ± 2 nm. Due to the need to quantify the release profiles of the active substance from experimental samples (granulates and tablets) of TMD in acidic medium and phosphate buffer ($\text{pH} = 6.8 \pm 0.05$), the method was validated under such conditions. The constructed calibration curve showed that the linear range of the method is $5.0\text{--}25.0$ $\mu\text{g/ml}$ with a correlation coefficient of 0.9994 in acidic medium (HCl 0.1 M) and $10.0\text{--}50.0$ $\mu\text{g/ml}$ with a correlation coefficient of 0.9997 in phosphate buffer. Such characteristics of the method as specificity, accuracy and precision were within reference limits. The determination of TMD using this method in mixture models formulated into granules and tablets showed coincidence with the reference values within the limits of acceptable deviations.

C o n c l u s i o n . A spectrophotometric method for the quantitative determination of TMD within the maximum absorbance at 269 ± 2 nm was developed and validated, which makes it possible to use it during pharmaceutical development.

Keywords: trimetazidine, analytical method, quantification, spectrophotometry, validation.

Citation example: Alrouhayyah R., Suslina S.N. Development and validation of an accessible analytical method for the quantification of trimetazidine dihydrochloride for research purposes. *Journal of Siberian Medical Sciences*. 2024;8(1):64-74. DOI: 10.31549/2542-1174-2024-8-1-64-74

ВВЕДЕНИЕ

Триметази́дина дигидрохлорид (ТМД) [1-(2,3,4-триметоксибензил)-пиперазина дигидрохлорид] (рис. 1), молекулярная масса – 339 г, является эффективным, хорошо переносимым препаратом, используемым в кардиологии для нормализации метаболических процессов [1]. Триметазидин – липофильное слабое основание с двумя значениями показателя константы кислотности (pK_a): $\text{pK}_{a1} = 4.45 \pm 0.02$ и $\text{pK}_{a2} = 9.14 \pm 0.02$ [2], с очень низкой растворимостью в воде по сравнению с однопротонированным или дважды протонированным триметазидином, образующимся в кислой среде. ТМД как соль представляет собой слегка гигроскопичный белый или почти белый кристаллический порошок, легко растворимый в воде и умеренно – в спирте [3].

Анализ литературы показал наличие значительного количества методик: спектрофотоме-

INTRODUCTION

Trimetazidine dihydrochloride (TMD) [1-(2,3,4-trimethoxybenzyl)-piperazine dihydrochloride] (Fig. 1), having molecular weight of 339 g, is an effective, well-tolerated drug used in cardiology to normalize metabolic processes [1]. Trimetazidine is a lipophilic weak base with two values of the acid dissociation constant (pK_a): $\text{pK}_{a1} = 4.45 \pm 0.02$ and $\text{pK}_{a2} = 9.14 \pm 0.02$ [2], with very low aqueous solubility compared with single-protonated or double-protonated trimetazidine formed in acidic medium. TMD as a salt is a slightly hygroscopic white or almost white crystalline powder, freely soluble in water and sparingly – in alcohol [3].

An analysis of the literature has shown a significant number of analytical methods (spectrophotometry in the ultraviolet (UV) and visible regions, chromatography (high-performance liquid, high-performance thin-layer and gas), electroanalytical and

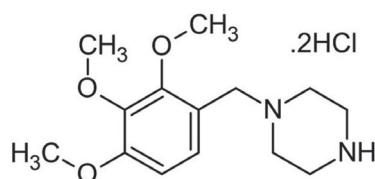


Рис. 1. Формула триметази́дина дигидрохлорида
Fig. 1. The chemical structure of trimetazidine dihydrochloride

трические в ультрафиолетовой (СФМ-УФ) и видимой областях, хроматографические: высокоэффективная жидкостная, высокоэффективная тонкослойная и газовая, электроаналитические и хемилюминесцентные методики и др. – для количественного определения фармацевтической субстанции ТМД [4]. Среди этих методик СФМ-УФ наиболее предпочтительна для исследовательской практики в связи с простотой проведения анализа, доступностью оборудования и расходных материалов и экономией времени [5].

Т.К. Murthy et al. предложены две простые и чувствительные спектрофотометрические методики для определения ТМД в промежуточных продуктах и лекарственных формах (ЛФ). Первая основана на окислительном связывании гидразингидрохлорида 3-метил-2-бензотиазолинона с ТМД в присутствии сульфата церия и аммония с получением окрашенного комплекса и измерением его поглощения при 520 нм. Вторая методика – по реакции окисления/восстановления ТМД с реактивом Фолина-Чокальтеу (Folin-Ciocalteu), с измерением оптической плотности окрашенного продукта при 745 нм [6]. ТМД также определяли в ЛФ с помощью методик, основанных на образовании окрашенных комплексов: с йодом в качестве σ -акцептора в сухом 1,2-дихлорэтано – абсорбция комплекса желтого цвета при длине волны 364 нм и с бромкрезоловым зеленым в сухом 1,2-дихлорэтано с образованием окрашенного комплекса в растворе, измеренном при 408 нм [7].

G. Krishnamoorthy, M. Ganesh разработали методику анализа ТМД, основанную на измерении оптической плотности водного раствора при 270 нм с диапазоном линейности от 400 до 700 мкг/мл, что также успешно применяется для определения действующего вещества в ЛФ [8]. При апробации этой методики установлена возможность ее использования в отношении фармацевтической субстанции ТМД с разным диапазоном линейности, однако она оказалась неприменима при оценке кинетики высвобождения или количественного определения в составе экспериментальных образцов ЛФ.

Е.В. Компанцевой и соавт. описана методика количественного определения ТМД в таблетках, покрытых оболочкой, в соответствии с общей фармакопейной статьей (ОФС) 1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Среда растворения и растворитель для определения стандартного раствора: HCl 0.1 M, $\lambda_{\max} = 233$ нм. Количество ТМД в образце определяется путем измерения оптические

chemiluminescence methods, etc.) for the quantitative determination of the pharmaceutical substance of TMD [4]. Among these methods, UV spectrophotometry is the most preferred for research practice due to the ease of analysis, affordability of equipment and supplies, and time savings [5].

Murthy et al. proposed two simple and sensitive spectrophotometric methods to determine TMD in bulk and in dosage forms (DFs). The first is based on the oxidative coupling of 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrazone hydrochloride with TMD in presence of ceric ammonium sulfate to form a colored product with $\lambda_{\max}$ at 520 nm. The second method is based on the oxidation/reduction reaction of TMD with Folin-Ciocalteu reagent to form a colored product with $\lambda_{\max}$ at 745 nm [6]. TMD was also determined in DFs using techniques based on the formation of colored complexes: with iodine as σ -acceptor in dry 1,2-dichloroethane – the maximum absorbance of a yellow colored complex at 364 nm and with bromocresol green in dry 1,2-dichloroethane with the formation of a yellow colored complex with the maximum absorbance at 408 nm [7].

Krishnamoorthy and Ganesh developed a spectrophotometric method for detection of TMD based on measuring the absorbance at 270 nm with a concentration range from 400 to 700 $\mu\text{g/ml}$, which is also successfully used to determine the active substance in DFs [8]. During the testing of this method, the possibility of its use for the pharmaceutical substance of TMD with a different range of linearity was revealed; however, it turned out to be inapplicable when evaluating the release kinetics or quantification in the composition of experimental samples of DFs.

The method of quantitative determination of TMD in coated tablets, in accordance with the general pharmacopoeial monograph (GPM) 1.2.1.1.0003.15 Spectrophotometry in the UV and visible area is described by Kompantseva et al. The dissolution medium and solvent for the determination of the standard solution: HCl 0.1 M, $\lambda_{\max} = 233$ nm. The amount of TMD in the sample is determined by measuring the absorbance of the standard and test solutions [9].

Because of developing modified-release dosage forms of TMD involves a dissolution test in two different media: acidic medium (HCl 0.1 M) and phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05), it is necessary to develop and validate a technique for each of them.

AIM OF THE RESEARCH

Development and validation of a spectrophotometric method for the quantitative determination of TMD.

ской плотности стандартного и испытуемого растворов [9].

В связи с тем, что создание систем модифицированного высвобождения ТМД предполагает проведение теста растворения в двух разных средах: кислой среде (HCl 0.1 М) и фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05), необходимо разработать и валидировать методику для каждой из них.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Разработка и валидация спектрофотометрической методики количественного определения ТМД.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на кафедре общей фармацевтической и биомедицинской технологии Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» в соответствии с фармакопейными методиками [10].

Объект исследования: ТМД (Trimetazidine, CAS 5011-34-7, Alcon Biosciences Pvt. Ltd., Индия), Коллидон® SR (Kollidon® SR, CAS 9003-20-7, BASF, Германия), Эудрагит® RS30D (Eudragit® RS30D, CAS 33434-24-3) и Эудрагит® RSPO (Eudragit® RSPO CAS 33434-24-1) производства Evonik (Германия), Поливинилпирролидон-к25 (Povidone K25, CAS 9003-39-8, Boai NKY Pharmaceuticals Ltd, Китай).

Определение максимума поглощения ($\lambda_{\max}$). Точную навеску 100.0 мг ТМД растворяли в 100 мл 0.1 М HCl с получением исходного раствора (1000.0 мкг/мл). Аликвоты исходного раствора переносили в мерные колбы для получения концентраций 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0 мкг/мл соответственно. Растворы сканировали в УФ-диапазоне на спектрофотометре СФ-102 (Россия), максимум поглощения $\lambda_{\max}$ получен при длине волны 269 нм. По этой же схеме также была определена величина $\lambda_{\max}$ в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05), которая также составила 269 нм.

Предлагаемая методика оценивалась по аналитическим параметрам в кислой среде (HCl 0.1 М) и фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) в соответствии с ОФС 1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик», ОФС 1.2.1.1.0003.15 «Спектрофотометрия в УФ и видимой областях» и ОФС.1.4.2.0014.15 «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм» [10] и с рекомендациями ICH [11].

Апробация методики в HCl 0.1 М. Аналитическая область: для определения интервала

MATERIALS AND METHODS

The experiments were conducted at the Department of General Pharmaceutical and Biomedical Technology of the Medical Institute of the Peoples' Friendship University of Russia in accordance with pharmacopoeial techniques [10].

The object of research: TMD (Trimetazidine, CAS 5011-34-7, Alcon Biosciences Pvt. Ltd., India), Kollidon® SR (CAS 9003-20-7, BASF, Germany), Eudragit® RS30D (CAS 33434-24-3) and Eudragit® RSPO (CAS 33434-24-1, Evonik, Germany), Polyvinylpyrrolidone k25 (Povidone K25, CAS 9003-39-8, Boai NKY Pharmaceuticals Ltd, China).

Determination of the maximum absorbance ($\lambda_{\max}$). An accurately weighed quantity of 100.0 mg of TMD was dissolved in 100 ml of 0.1 M HCl to obtain a stock solution (1000.0 µg/ml). Aliquots of the stock solution were transferred to graduated flasks to obtain concentrations of 5.0, 10.0, 15.0, 20.0, 25.0, 30.0 µg/ml, respectively. The solutions were analyzed in the UV range using a SPH-102 spectrophotometer (Russia), $\lambda_{\max}$ was found at 269 nm. According to the similar manner, the $\lambda_{\max}$ value in phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05) was determined, which also amounted to 269 nm.

The proposed method was evaluated by analytical parameters in acidic medium (HCl 0.1 M) and phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05) in accordance with the GMP 1.1.0012.15 Validation of analytical techniques, GMP 1.2.1.1.0003.15 Spectrophotometry in the UV and visible area and GMP 1.4.2.0014.15 Dissolution of solid pharmaceutical dose forms [10] and with the recommendations of the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH) [11].

Approbation of the method in HCl 0.1 M. Analytical range: to determine the interval between the lower and upper concentration values, several concentrations of TMD in 0.1 M HCl in the range of 1.0–40.0 µg/ml were prepared and their absorption was recorded at 269 nm.

Linearity: to check linearity, the absorbance of 5 samples with different concentrations of TMD was measured. A calibration curve was constructed representing the absorbance at concentration, and an equation $y = bx + a$ with a correlation coefficient (R^2) was obtained.

Specificity: shows that the presence of related excipients does not affect the result of the analysis in an unintended way. For this purpose, various solutions of TMD at a certain concentration (HCl 0.1 M) were prepared and their absorbance values were measured using the spectrophotometer at

Таблица 1. Оценка правильности методики в кислой среде (HCl 0.1 M)
Table 1. Assessment of the accuracy of the method in acidic medium (HCl 0.1 M)

Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Среднее значение ± SD, мкг/мл Mean value ± SD, µg/ml	Восстановление ± RSD, % Recovery ± RSD, %
7.5	7.44 ± 0.07	99.15 ± 0.95
10.0	9.95 ± 0.19	99.46 ± 1.94
12.5	12.40 ± 0.24	99.23 ± 1.96
15.0	15.01 ± 0.26	100.09 ± 1.73
17.5	17.3 ± 0.30	98.86 ± 1.71

Примечание. SD – стандартное отклонение; RSD – относительное стандартное отклонение.
 Note. SD – standard deviation; RSD – relative standard deviation.

между нижним и верхним значениями концентрации готовили ряд концентраций ТМД в HCl 0.1 M в диапазоне 1.0–40.0 мкг/мл и фиксировали их поглощение при 269 нм.

Линейность: для проверки линейности измеряли оптическую плотность 5 образцов с различными концентрациями ТМД. Калибровочную кривую строили, представляя оптическую плотность при концентрации, и получали уравнение в форме $y = bx + a$ с коэффициентом корреляции (R^2).

Специфичность: показывает, что наличие сопутствующих компонентов не влияет на результат анализа непредусмотренным образом. Для этого готовили различные растворы ТМД определенной концентрации в HCl 0.1 M и получали значения их поглощения на спектрофотометре при $\lambda_{\max} = 269$ нм. Затем процедуру повторяли с добавлением используемых вышеупомянутых вспомогательных веществ (ВВ).

Правильность: устанавливали с использованием 5 повторов для каждого из 5 уровней концентрации, включенных в диапазон линейности, растворов ТМД в HCl 0.1 M. Оптическую плотность измеряли на спектрофотометре при 269 нм для каждого уровня концентрации, затем по калиброванному графику определяли концентрацию ТМД в растворе и рассчитывали среднее значение концентрации (табл. 1).

Прецизионность: изучается на однородных выборках и может оцениваться как повторяемость (сходимость) и как внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность. Повторяемость можно определить путем анализа 4 повторов для каждого из 5 уровней концентрации (5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0 мкг/мл) в тот же день, затем анализ повторяли в течение трех разных дней для оценки промежуточной прецизионности, путем определения ее воспроизводимости (табл. 2).

$\lambda_{\max} = 269$ nm. The procedure was then repeated with the addition of the abovementioned excipients.

Accuracy: it was assessed using 5 replications for each of 5 concentrations included in the linearity range of TMD solutions in HCl 0.1 M. The absorbance was measured using the spectrophotometer at 269 nm for each concentration level, then the concentration of TMD in the solution was determined using a calibration plot and the mean concentration value was calculated (Table 1).

Precision: it is studied using homogeneous samples and can be assessed as repeatability and as intermediate precision. Repeatability can be determined by analyzing in 4 replications for each of 5 concentrations (5.0, 7.5, 10.0, 12.5, 15.0 µg/ml) on the same day, then the analysis was repeated over three different days to assess intermediate precision by determining its reproducibility (Table 2).

Approbation of the method in phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05). Analytical range: several TMD concentrations of TMD were prepared in phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05) in the range of 1.0–70.0 µg/ml and absorbance values were determined at 269 nm.

Linearity: the absorbance of 5 samples with different concentrations of TMD in the analytical range was determined and a calibration curve was constructed.

Specificity: solutions of TMD and various excipients were prepared at known concentrations, and their absorbance values were determined at $\lambda_{\max} = 269$ nm. TMD concentrations were calculated using the equation of a calibration plot.

Accuracy: the absorbance was measured using the spectrophotometer at 269 nm for 5 levels included in the linearity range. The concentrations of TMD solutions and the concentration of TMD in solution were determined using the calibration plot. This procedure was repeated 5 times for each con-

Таблица 2. Оценка повторяемости и промежуточной прецизионности методики в кислой среде (HCl 0.1 M)
Table 2. Assessment of repeatability and intermediate precision of the method in acidic medium (HCl 0.1 M)

Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Восстановление ± RSD, % / Recovery ± RSD, %	
	В течение одного дня / Within one day	В течение трех дней / Over three days
5.0	99.72 ± 1.76	99.69 ± 1.68
7.5	99.79 ± 1.13	99.20 ± 1.81
10.0	99.90 ± 1.12	100.16 ± 1.44
12.5	99.40 ± 0.89	99.17 ± 1.41
15.0	99.83 ± 1.39	100.03 ± 1.19

Примечание. RSD – относительное стандартное отклонение.
 Note. RSD – relative standard deviation.

Апробация методики в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05). Аналитическая область: готовили ряд концентраций ТМД в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) в диапазоне 1.0–70.0 мкг/мл и определяли величины поглощения при 269 нм.

Линейность: определяли поглощение 5 проб с различными находящимися в аналитической области концентрациями ТМД и строили калибровочную кривую.

Специфичность: готовили растворы ТМД и разных ВВ в известных концентрациях и определяли значения их поглощения при $\lambda_{\max} = 269$ нм. С использованием уравнения калиброванного графика рассчитывали концентрации ТМД.

Правильность: поглощения измеряли с помощью спектрофотометра при 269 нм для 5 уровней, включенных в диапазон линейности. Концентрации растворов ТМД и концентрацию ТМД в растворе определяли с использованием калиброванного графика. Эту процедуру повторяли 5 раз для каждого уровня концентрации и рассчитывали среднее значение (табл. 3).

Прецизионность: 5 концентраций (15.0, 20.0, 30.0, 40.0, 45.0 мкг/мл) ТМД в фосфатном буфере анализировали при 269 нм 4 раза в один и тот же день (повторяемость (сходимость)), затем анализ

concentration level and the average value was calculated (Table 3).

Precision: samples in 5 concentrations (15.0, 20.0, 30.0, 40.0, 45.0 µg/ml) of TMD in phosphate buffer were analyzed at 269 nm 4 times on the same day (repeatability), then the analysis was repeated more over three different days (intermediate precision) (Table 4).

Analysis of trimetazidine dihydrochloride in experimental samples. To test the developed UV spectrophotometric method developed for the quantification of TMD, the quantitative detection of the active substance was performed: (a) in experimental samples of TMD solid dispersions using various polymers; (b) in immediate-release tablets (Trimetazidine 20 mg, film-coated tablets, Ozon LLC, Russia) (T20) and in prolonged-release (Deprenorm MV 35 mg, prolonged-release film-coated tablets, Canonpharma Production CJSC, Russia) (T35).

In solid dispersions: an accurately weighed quantity of crushed TMD samples (TD1, TD2 and TD3) containing 10.0 mg of the active substance of TMD were placed in 100 ml graduated flasks, and dissolved in HCl 0.1 M, diluted to volume, then filtered. Standard solutions with concentrations in the range of 5.0–25.0 µg/ml were prepared from

Таблица 3. Оценка правильности методики в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05)
Table 3. Accuracy assessment of the method in phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05)

Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Среднее значение ± SD, мкг/мл Mean value ± SD, µg/ml	Восстановление ± RSD, % Recovery ± RSD, %
15.0	15.01 ± 0.23	100.04 ± 1.52
20.0	19.89 ± 0.16	99.46 ± 0.82
30.0	29.72 ± 0.35	99.07 ± 1.17
40.0	39.57 ± 0.45	98.92 ± 1.14
45.0	44.75 ± 0.45	99.44 ± 0.99

Примечание. SD – стандартное отклонение; RSD – относительное стандартное отклонение.
 Note. SD – standard deviation; RSD – relative standard deviation.

Таблица 4. Оценка повторяемости и промежуточной прецизионности в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05)
Table 4. Assessment of repeatability and intermediate precision in phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05)

Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Восстановление ± RSD, % / Recovery ± RSD, %	
	В течение одного дня / Within one day	В течение трех дней / Over three days
15.0	99.48 ± 0.92	99.82 ± 0.84
20.0	99.93 ± 0.94	99.92 ± 0.81
30.0	99.43 ± 1.25	99.11 ± 1.37
40.0	98.92 ± 1.67	98.7 ± 1.74
45.0	99.38 ± 0.7	98.97 ± 0.86

Примечание. RSD – относительное стандартное отклонение.
 Note. RSD – relative standard deviation.

повторяли еще в течение трех других дней (внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность) (табл. 4).

Анализ триметазида дигидрохлорида в составе экспериментальных образцов.

Для испытания разработанной СФМ-УФ методики количественного определения ТМД проведен анализ количественного содержания действующего вещества: а) в экспериментальных образцах твердых дисперсий ТМД с использованием различных полимеров; б) в таблетках немедленного высвобождения (Триметазидин 20 мг, таблетки, покрытые пленочной оболоч-

the obtained filtrates using the same solvent. The absorbance of the obtained solutions was measured at 269 nm, and the concentration was calculated according to the calibration curve, taking into account dilution (Table 5).

In tablets: an accurately weighed quantity of a sample of crushed tablets containing 10.0 mg of TMD was dissolved in HCl 0.1 M and analyzed according to the above procedure (Table 5).

RESULTS AND DISCUSSION

When assessing the specificity of the technique developed, it was found that there was no effect of

Таблица 5. Результаты анализа триметазида дигидрохлорида в экспериментальных образцах
Table 5. The results of the analysis of trimetazidine dihydrochloride in experimental samples

Образец Sample	Концентрация, мкг/мл Concentration, µg/ml	Среднее значение ± SD, мкг/мл Mean value ± SD, µg/ml	Восстановление ± RSD, % Recovery ± RSD, %
<i>В твердых дисперсиях / In solid dispersions</i>			
ТД1 / TD1	5.0	4.99 ± 0.10	99.73 ± 1.91
ТД1 / TD1	15.0	14.84 ± 0.24	98.91 ± 1.65
ТД1 / TD1	20.0	19.99 ± 0.33	99.93 ± 1.64
ТД2 / TD2	5.0	5.06 ± 0.07	101.27 ± 1.43
ТД2 / TD2	15.0	14.99 ± 0.18	101.27 ± 1.43
ТД2 / TD2	20.0	20.01 ± 0.16	100.03 ± 0.78
ТД3 / TD3	5.0	4.97 ± 0.08	99.40 ± 1.61
ТД3 / TD3	15.0	15.03 ± 0.15	100.20 ± 1.02
ТД3 / TD3	20.0	19.95 ± 0.22	99.73 ± 1.11
<i>В таблетках / In tablets</i>			
T20	10.0	9.89 ± 0.19	98.87 ± 1.88
T20	20.0	19.84 ± 0.35	99.18 ± 1.78
T20	25.0	24.72 ± 0.38	98.88 ± 1.52
T35	10.0	10.01 ± 0.12	100.13 ± 1.17
T35	20.0	19.84 ± 0.24	99.22 ± 1.22
T35	25.0	24.89 ± 0.30	99.57 ± 1.19

Примечание. SD – стандартное отклонение; RSD – относительное стандартное отклонение.
 Note. SD – standard deviation; RSD – relative standard deviation.

кой, ООО «Озон», Россия) (Т20) и пролонгированного высвобождения (Депренорм МВ 35 мг, таблетки пролонгированного действия, покрытые пленочной оболочкой, ЗАО «Канонфарма Продакшн», Россия) (Т35).

В твердых дисперсиях: точные навески измельченных образцов ТМД (ТД1, ТД2 и ТД3), содержащие по 10.0 мг действующего вещества ТМД, помещали в мерные колбы вместимостью 100 мл и растворяли в HCl 0.1 М, доводя до метки, затем фильтровали. Из полученных фильтратов готовили рабочие растворы с концентрациями в диапазоне 5.0–25.0 мкг/мл с использованием того же растворителя. Абсорбцию полученных растворов фиксировали при 269 нм и рассчитывали концентрацию по калибровочной кривой с учетом разбавления (табл. 5).

В таблетках: точную навеску образца измельченных таблеток, соответствующую 10.0 мг ТМД, растворяли в HCl 0.1 М и проводили анализ согласно изложенной выше методике (см. табл. 5).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

При оценке специфичности разработанной методики установлено отсутствие влияния ВВ на результаты анализа количественного определения ТМД, а полученные результаты совпадали с теоретическим содержанием ТМД в исследованных образцах. Аналитическая область составляла от 4.0 до 35.0 мкг/мл в HCl 0.1 М, а в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) – от 5.0 до 65.0 мкг/мл. Построенная кривая оказалась линейной в диапазоне концентраций от 5.0 до 25.0 мкг/мл в HCl 0.1 М и от 10.0 до 50.0 мкг/мл в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05), с коэффициентом корреляции 0.9994 и 0.9997 соответственно (рис. 2, 3).

Из данных, представленных в табл. 1 и 3, видно, что восстановление разных образцов при определении правильности находилось в пределах 97.15–101.82 % в HCl 0.1 М и 97.78–101.56 % в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) со значениями RSD меньше 2 % в обеих средах, т.е. истинные значения концентрации лежат внутри доверительных интервалов соответствующих средних экспериментально полученных результатов. Кроме того, свободный член в уравнении линейности статистически значимо не отличается от нуля. Таким образом, использование разработанной методики дает результаты без систематической ошибки.

Значения восстановления, представленные в табл. 2 и 4 (оценка повторяемости), указывают в значительной степени на высокую воспроизво-

димость на результаты количественного определения ТМД, и результаты совпали с содержанием ТМД в исследованных образцах. Аналитический диапазон был от 4.0 до 35.0 мкг/мл в HCl 0.1 М, а в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) – от 5.0 до 65.0 мкг/мл. Калибровочная кривая была линейной в диапазоне концентраций от 5.0 до 25.0 мкг/мл в HCl 0.1 М и от 10.0 до 50.0 мкг/мл в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05), с коэффициентом корреляции 0.9994 и 0.9997, соответственно (рис. 2 и 3).

Данные, представленные в табл. 1 и 3, показывают восстановление разных образцов при оценке точности в диапазоне 97.15–101.82% в HCl 0.1 М и 97.78–101.56% в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05) с RSD менее 2% в обеих средах, т.е. истинные значения концентрации находятся в пределах доверительных интервалов соответствующих средних результатов, что мы получили экспериментально. Кроме того, свободный член уравнения линейности не отличается существенно от нуля. Таким образом, использование разработанной методики дает результаты без смещения.

Значения восстановления, представленные в табл. 2 и 4, при оценке повторяемости, указывают в значительной степени на высокую воспроиз-

водимость на результаты количественного определения ТМД в экспериментальных образцах ДФ, средние значения восстановления были в диапазоне 97.26–102.70% в экспериментальных образцах твердых дисперсий и 96.99–101.30% в сравнителях (табл. 5), что указывает на возможность использования разработанной методологии для количественного определения ТМД в ДФ.

CONCLUSION

Мы разработали спектрофотометрический метод для количественного определения триметазидина дигидрохлорида с максимальной абсорбцией при 269 ± 2 нм с хорошей линейностью ($R^2 = 0.999$) и аналитическим диапазоном от 4.0–35.0 мкг/мл в кислой среде и 5.0–65.0 мкг/мл в щелочной среде. Валидация подтвердила специфичность, точность и точность метода. Предложенный спектрофотометрический метод для определения триметазидина дигидрохлорида может использоваться во время фармацевтического развития для оценки высвобождения активного вещества как в кислой, так и в щелочной среде из таблеток и экспериментальных образцов с различными эксципиентами.

Acknowledgments. The publication was supported by the Strategic Academic Leadership Program of the Peoples' Friendship University of Russia (Moscow, Russia). The authors express their

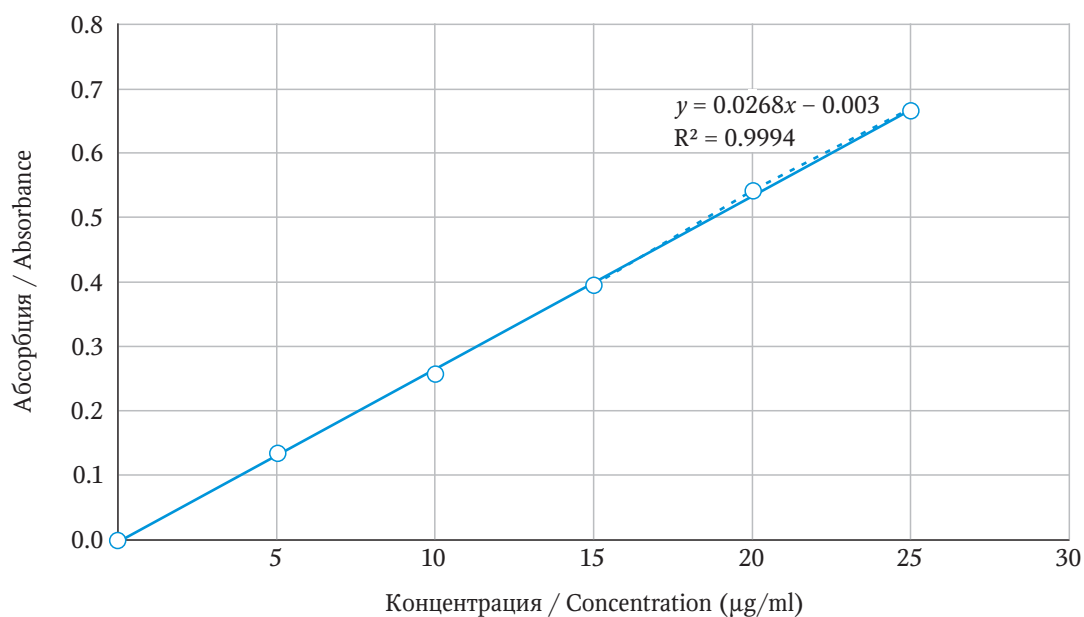


Рис. 2. Калибровочный график для анализа в кислотной среде (HCl 0.1 M)
Fig. 2. The calibration plot for analysis in acidic medium (HCl 0.1 M)

димось и точность разработанной методики в обеих средах.

При определении содержания ТМД в экспериментальных образцах ЛФ средние значения восстановления находились в пределах 97.26–102.70 % в экспериментальных образцах твердых дисперсий и 96.99–101.30 % – в препаратах срав-

gratitude to the Mirpharm pharmaceutical company for providing samples of pharmaceutical substances.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

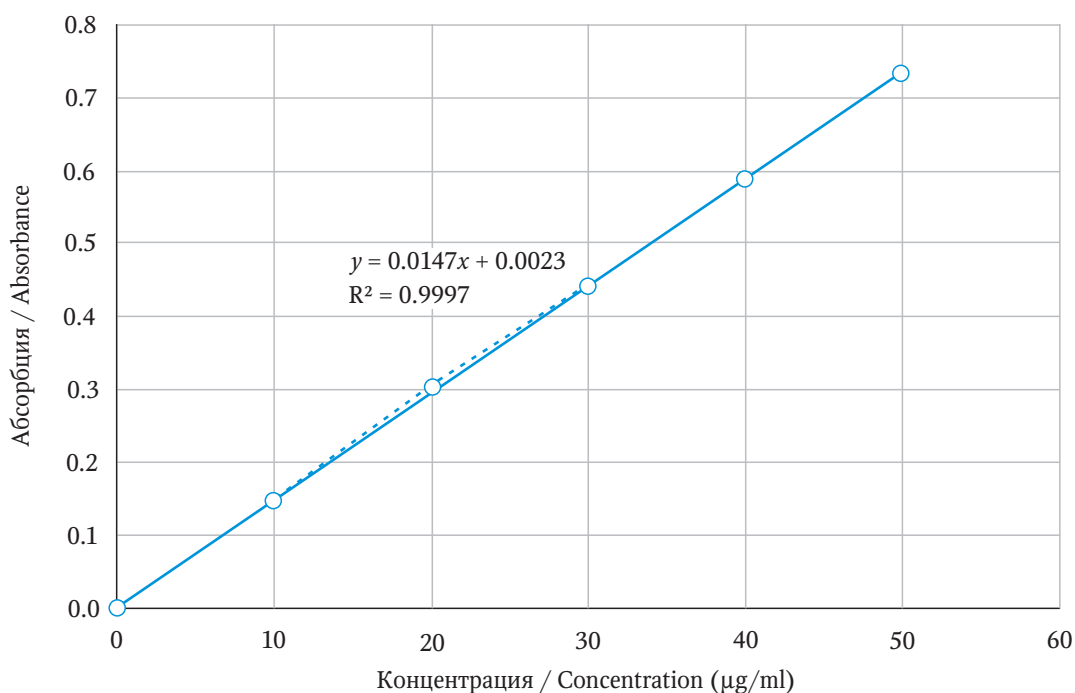


Рис. 3. Калибровочный график для анализа в фосфатном буфере (pH 6.8 ± 0.05)
Fig. 3. The calibration plot for analysis in phosphate buffer (pH 6.8 ± 0.05)

нения (см. табл. 5), что указывает на возможность применения разработанной методики для количественного определения ТМД в ЛФ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения триметазидина дигидрохлорида при максимуме поглощения 269 ± 2 нм с хорошей линейностью ($R^2 = 0.999$) и диапазоном анализа 4.0–35.0 мкг/мл в кислой среде и 5.0–65.0 мкг/мл в щелочной среде. Валидация доказала специфичность, правильность и прецизионность методики. Предложенная спектрофотометрическая методика определения триметазидина дигидрохлорида может быть использована в ходе фармацевтической

разработки для оценки высвобождения действующего вещества в кислой и щелочной среде из таблеток и экспериментальных образцов с различными вспомогательными веществами.

Благодарность. Публикация осуществлена при поддержке Программы стратегического академического лидерства ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы» (Москва, Россия). Авторы выражают благодарность фармацевтической компании «Мир-Фарм» за предоставленные образцы фармацевтических субстанций.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aksun M., Aksun S., Kestelli M. et al. The postoperative effects of use of trimetazidine before the coronary artery bypass graft surgery // *Niger. J. Clin. Pract.* 2019;22(7):997-1001. DOI: 10.4103/njcp.njcp_587_18.
2. Zhu M., Liu X., Zhang R. et al. Effectiveness of trimetazidine in patients with chronic heart failure stratified by the expression of soluble suppression of tumorigenicity-2 (sST2): A prospective cohort study // *Adv. Ther.* 2022;39(12):5514-5529. DOI: 10.1007/s12325-022-02315-x.
3. Акатова Е.В. Триметазидин (обзор последних зарубежных публикаций) // *Consilium Medicum.* 2018;20(10):53-58. DOI: 10.26442/2075-1753_2018.10.53-58.
4. Onay-Besikci A., Özkan S. Trimetazidine revisited: A comprehensive review of the pharmacological effects and analytical techniques for the determination of trimetazidine // *Cardiovasc. Ther.* 2008;26(2):147-165. DOI: 10.1111/j.1527-3466.2008.00043.
5. Qarah N., El-Maaiden Ez. Spectrophotometric/titrimetric drug analysis // R. Shukla, A. Kuznetsov, A. Ali (eds.). *Drug Formulation Design.* 2023. 328 p. DOI: 10.5772/intechopen.109364.
6. Murthy T.K., Sankar G.D., Svinivasa Rao Y. Visible spectrophotometric methods for the determination of trimetazidine dihydrochloride in pharmaceutical formulations // *Indian Drugs.* 2002; 39(4):230-233.
7. Issa Y.M., Abou-Attia F.M., Abdel-Gawad F.M., Abdel-Hamid S.M. Spectrophotometric determination of some pharmaceutical piperazine derivatives by charge-transfer and ion-pair complexation methods // *Sci. Pharm.* 2002;70(3):253-269. DOI: 10.3797/scipharm.aut-02-24.
8. Krishnamoorthy G., Ganesh M. Spectrophotometric determination of trimetazidine dihydrochloride in bulk and solid dosage forms // *Indian J. Pharm. Sci.* 2001;63:436-437.
9. Компанцева Е.В., Мартиросова Г.А., Цыбулина М.Г. Валидация методик количественного определения триметазидина дигидрохлорида в таблетках по 0,02 г // *Вестник Воронежского государственного*

REFERENCES

1. Aksun M., Aksun S., Kestelli M. et al. The postoperative effects of use of trimetazidine before the coronary artery bypass graft surgery. *Niger. J. Clin. Pract.* 2019;22(7):997-1001. DOI: 10.4103/njcp.njcp_587_18.
2. Zhu M., Liu X., Zhang R. et al. Effectiveness of trimetazidine in patients with chronic heart failure stratified by the expression of soluble suppression of tumorigenicity-2 (sST2): A prospective cohort study. *Adv. Ther.* 2022;39(12):5514-5529. DOI: 10.1007/s12325-022-02315-x.
3. Akatova E.V. Trimetazidine (review of the latest foreign publications). *Consilium Medicum.* 2018;20(10):53-58. DOI: 10.26442/2075-1753_2018.10.53-58. (In Russ.)
4. Onay-Besikci A., Özkan S. Trimetazidine revisited: A comprehensive review of the pharmacological effects and analytical techniques for the determination of trimetazidine. *Cardiovasc. Ther.* 2008;26(2):147-165. DOI: 10.1111/j.1527-3466.2008.00043.
5. Qarah N., El-Maaiden Ez. Spectrophotometric/titrimetric drug analysis. In Shukla R., Kuznetsov A., Ali A. (eds.). (2023). *Drug Formulation Design.* 328 p. DOI: 10.5772/intechopen.109364.
5. Murthy T.K., Sankar G.D., Svinivasa Rao Y. Visible spectrophotometric methods for the determination of trimetazidine dihydrochloride in pharmaceutical formulations // *Indian Drugs.* 2002; 39(4):230-233.
7. Issa Y.M., Abou-Attia F.M., Abdel-Gawad F.M., Abdel-Hamid S.M. Spectrophotometric determination of some pharmaceutical piperazine derivatives by charge-transfer and ion-pair complexation methods. *Sci. Pharm.* 2002;70(3):253-269. DOI: 10.3797/scipharm.aut-02-24.
8. Krishnamoorthy G., Ganesh M. Spectrophotometric determination of trimetazidine dihydrochloride in bulk and solid dosage forms. *Indian J. Pharm. Sci.* 2001;63:436-437.
9. Kompantseva E.V., Martirosova G.A., Tsibulina M.G. Validation of methods of quantitative definition of trimetazidine dihydrochloride tablets of 0,02 g. *Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy.* 2006;2:271-275. (In Russ.)

- университета. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2006;2:271-275.
10. Государственная Фармакопея РФ. XIV изд. М., 2018. Т. 1. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/> (дата обращения: 23.03.2023).
 11. ICH Q2(R2) guideline on validation of analytical procedures. URL: https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf (дата обращения: 07.02.2023).
 10. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. 14th ed. (2018). Moscow. Vol. 1. URL: <https://docs.rucml.ru/feml/pharma/v14/vol1/> (accessed 23.03.2023). (In Russ.)
 11. ICH Q2(R2) guideline on validation of analytical procedures. URL: https://www.ema.europa.eu/documents/scientific-guideline/ich-guideline-q2r2-validation-analytical-procedures-step-2b_en.pdf (accessed 07.02.2023).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Альрухаие Раним – аспирант кафедры общей фармацевтической и биомедицинской технологии Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва, Россия; кафедра аналитической и пищевой химии, факультет фармации, Университет Дамаска, Дамаск, Сирия. ORCID: 0000-0001-9651-2913.

Суслина Светлана Николаевна – д-р фармацевт. наук, доцент, заведующий кафедрой общей фармацевтической и биомедицинской технологии Медицинского института ФГАОУ ВО «Российский университет дружбы народов им. Патриса Лумумбы», Москва, Россия. ORCID: 0000-0002-7333-2263.

ABOUT THE AUTHORS

Ranim Alrouhayyah – Postgraduate Student, Department of General Pharmaceutical and Biomedical Technology, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia; Department of Analytical and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, Damascus University, Damascus, Syria. ORCID: 0000-0001-9651-2913.

Svetlana N. Suslina – Dr. Sci. (Pharmaceut.), Associate Professor, Head, Department of General Pharmaceutical and Biomedical Technology, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia. ORCID: 0000-0002-7333-2263.