

DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2023.4.14116>

УДК 615.074:543:615.453.42

**ВАЛІДАЦІЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ДІАЦЕРЕЇНУ В ТЕСТІ «РОЗЧИНЕННЯ» ТВЕРДИХ ЖЕЛАТИНОВИХ КАПСУЛ**О. О. Салій<sup>1</sup>, В. І. Бессарабов<sup>1</sup>, О. В. Гречана<sup>2</sup>, Ю. В. Первун<sup>1</sup>*Київський національний університет технологій та дизайну<sup>1</sup>**Запорізький державний медико-фармацевтичний університет<sup>2</sup>**[saliy.oo@knutd.edu.ua](mailto:saliy.oo@knutd.edu.ua)*

## ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:  
20.07.2023Після доопрацювання / Revised:  
15.09.2023Прийнято до друку / Accepted:  
27.09.2023**Ключові слова:**діацереїн;  
розчинення тест;  
спектрофотометрія;  
кількісне визначення;  
валідаційні характеристики;  
лінійність;  
прецизійність;  
відтворюваність; специфічність.

## АНОТАЦІЯ

**Мета роботи.** Дослідження валідаційних характеристик спектрофотометричної методики визначення діацереїну в тесті «розчинення» з твердих желатинових капсул.**Матеріали і методи.** У роботі використовували субстанцію діацереїну фармакопейної якості (Taizhou Highsun Pharmaceutical Co., Ltd, Китай); капсули «Артродарин®», 50 мг, (TRB PHAR-MA S. A., Аргентина). Дослідження розчинення проводили в 6-станційному апараті з лопаттю, спектрофотометричні вимірювання проводили за допомогою УФ-спектрофотометра UV VIS Lambda 35 («PerkinElmer», USA) у кюветках з товщиною шару 10 мм.**Результати й обговорення.** Досліджено валідаційні характеристики: лінійність, правильність, специфічність, збіжність. Повна прогнозована невизначеність аналітичної методики становила 1,96 і не перевищувала гранично допустимої невизначеності 3%. Установлено, що лінійність методики витримується в діапазоні від 50 до 140 % від номінального значення. Вплив фонового поглинання «плацебо» на результати вимірювання абсорбції є незначним, методика характеризується належною специфічністю. Проведено статистичну обробку експериментальних даних, коефіцієнт кореляції лінійної залежності ( $r$ ) між введеним і знайденим значеннями становить  $>0,990$ , що свідчить про коректність методики.**Висновки.** Розроблена швидка, точна та селективна методика із застосуванням компонента натрію ацетату в якості гідротропної речовини для підвищення розчинності діацереїну у неводному розчиннику при проведенні спектрофотометричного аналізу визначення діацереїну в тесті «Розчинення». Спектр діацереїну характеризується максимумом поглинання за довжини хвилі 343 нм. Лінійність підтверджена в діапазоні концентрацій 50–140 % від номінального значення. Для запропонованої методики також виконуються критерії правильності та збіжності.

**Вступ.** Діацереїн (4,5-Bis(acetyloxy)9,10-dioxo-2-anthracenecarboxylic acid, DAC) при оральному прийомі має помірну протизапальну та знеболювальну активність, уповільнює розпад хрящової тканини і за-

стосовується як симптоматичний засіб пролонгованої дії для лікування остеоартрозу [1]. Діацереїн є похідним антрахінону, гетероциклічною сполукою з низькою молекулярною масою, хімічна структура мо-

лекули є плоскою, відповідно розчинність діацереїну низька у спиртах, складних ефірах, ацетоні, ацетонітрилі тощо [2]. Діацереїн практично нерозчинний у воді, не змочується водою – має поверхнево-гідрофобні властивості [3]. Дослідження розчинності субстанції діацереїну у буферних середовищах, які моделюють оральний прийом лікарського засобу, демонструють, що діацереїн практично не розчинний у буферному розчині з рН 1,2, має відносно низьку розчинність у буферному розчині з рН 4,5. Проте розчинність діацереїну збільшується із підвищенням рН середовища до 6,8 [4].

Після всмоктування діацереїн метаболізується до його активного метаболіту [5]. Всмоктування діацереїну з лікарської форми після перорального застосування залежить від вивільнення лікарського засобу з лікарської форми, розчинення та/або його солюбілізації за фізіологічних умов і проникності через шлунково-кишковий тракт. Аналітичний тест «Розчинення» діацереїну *in vitro* не описаний у провідних фармакопеях, тому актуальним напрямком є оцінка якості твердих лікарських форм валідованими аналітичними методиками, які дозволяють отримувати коректні результати щодо кількості вивільненої діючої речовини у буферні середовища та прогнозувати ефективність і кореляцію *in vivo* [6].

Для кількісної оцінки вмісту діацереїну в субстанції, згідно з монографією Європейської фармакопеї, використовується метод Рідинна хроматографія (2.2.29) [7]. Умови проведення тесту «Розчинення» для контролю якості лікарського засобу зазначені у провідних фармакопеях EP та USP, визначені швидкість обертів та буферний розчин з рН 6,8, встановлений критерій оцінки вивільнення для твердих форм – не менше ніж 75 % від зазначеної кількості діацереїну протягом 45 хв. Але при розробці твердих форм з діацереїном у науковій літературі описані умови проведення тесту, які суттєво впливають на швидкість розчинення, значно підвищуючи розчинність діацереїну, оскільки в дослідженнях ефективності лікарського засобу *in vivo* тест на розчинення має бути чутливим і надійним. Для оцінки кінетики вивільнення описані методи спектрофотометричного (СФ) визначення діацереїну, вивільненого з твердих форм у фосфатний буферний розчин з рН 7,4 [8], у 0,1 М розчин HCl, що містить 2 % лаурилсульфату натрію (рН 1,2) [9], у цитратний буферний розчин з рН 6,0 [10]. Для збільшення розчинності діацереїну у буферних розчинах вдаються до різних модифікацій складу середовища розчинення. Гідрофобність діацереїну приводить до спливання порошку на поверхню середовища розчинення і перешкоджає контакту його поверхні із середовищем та зумовлює малу швидкість розчинення. Для підвищення розчинення у буферне середовище додають поверхнево-активні речовини в різних концентраціях, як натрію лаурилсульфат [9]. Для збільшення розчинності діацереїну у воді засто-

совують механізми, що пов'язані з комплексоутворенням та гідротропією і включають слабку взаємодію між такими гідротропними речовинами як бензоат натрію, ацетат натрію, цитрат натрію, саліцилат натрію, аскорбат натрію, альгінат натрію [11, 12].

Літературний пошук валідаційних досліджень методик тесту «Розчинення» діацереїну з твердих форм показав, що такі дослідження дуже поодинокі для СФ-методик. Перевагою цього методу є експресність та відносно низька вартість рутинного контролю, порівняно з рідинною хроматографією [6]. Оскільки основною метою будь-якого аналітичного вимірювання є отримання правильних і надійних даних, то результати валідації методики можна використовувати для оцінки якості, надійності та узгодженості аналітичних результатів, що є невід'ємною частиною будь-якої належної аналітичної практики [14]. Тому метою дослідження були розробка і дослідження валідаційних характеристик спектрофотометричної методики визначення діацереїну в тесті «розчинення» з твердих желатинових капсул.

#### **Матеріали і методи. Матеріали та реактиви.**

Для аналізу були використані: субстанція діацереїну фармакопейної якості виробництва Taizhou Highsun Pharmaceutical Co., Ltd, Китай; «Артродарин®», капсули, 50 мг, виробництва TRB PHAR-MA S. A., Аргентина. Як стандартний зразок (СЗ) діацереїну використовували стандарт EP CRS, кат. № Y0001595 (Sigma-Aldrich) із заявленим вмістом основної речовини 99,5 %. В якості плацебо капсул з діацереїном застосовували лактозу моногідрат (Granulac 200) (Molkerei Meggle Wasserburg GmbH & Co. KG, Німеччина,); натрію кроскармелозу (Solutab A) (Blanver Farmoquímica, Ltd., Бразилія); кремнію діоксид колоїдний безводний (Орісіл 300) (ДП «Калуський дослідно-експериментальний завод ІХП НАН України» ТЗОВ «ОРИСІЛ», Україна), магнію стеарат (ООО НПП «Електрогазохім», Україна), β-циклодекстрин (Zibo Senlos Import & Export Co., Ltd, Китай).

При вивченні валідаційних характеристик застосовували реактиви: вода очищена, яку отримали з установки Milli Q, виробництва Millipore Corporation (Німеччина), етанол 40 % (об/об), натрію гідроксид, калій дигідрофосфат та натрію ацетат. Усі реагенти виробництва Sigma-Aldrich кваліфікації «чда».

**Обладнання.** Наважки субстанції діацереїну, стандартних зразків і реактивів зважували на аналітичних вагах AT261 Delta Range (Mettler Toledo, Швейцарія). Величину рН вимірювали рН-метром Seven Multi S40 (Mettler Toledo, Швейцарія). У роботі застосували посуд класу А фірми «Simax» (Чехія). Спектрофотометричні вимірювання проводили на спектрофотометрі UV VIS Lambda 35 («Perkin Elmer», USA) в кюветях  $l=10$  мм.

**Умови тесту «Розчинення».** Для тесту «Розчинення» використані наступні умови: середовище розчинення – фосфатний буферний розчин рН 6,8; об'єм

середовища розчинення – 900 мл; температура розчинення –  $37,0 \pm 0,5^\circ\text{C}$ ; тип приладу – прилад із лопаттю; швидкість обертання лопаті – 75 об/хв; об'єм відібраних проб – 10 мл.

**Досліджувана методика.** Визначення валідаційних характеристик проводили за умов максимально-го вивільнення діацереїну в буферний розчин з рН 6,8.

**Вихідний розчин.** Тверду желатинову капсулу з вмістом 50 мг діацереїну поміщали в металеву спіраль для утримання на дні склянки приладу, таким чином діюча речовина рівномірно розподіляється в об'ємі посудини, що сприяє кращому розчиненню речовини. Методика, що підлягала валідації, мала наступні параметри:

**Досліджуваний розчин.** Через 15, 30, 45 і 60 хв відбирали 10 мл із центру посудини для розчинення, фільтрували через паперовий фільтр «синя стрічка», перші порції фільтрату відкидали. До 5,0 мл отриманого фільтрату додавали 5,0 мл фосфатного буферного розчину рН 6,8.

**Розчин порівняння.** 22 мг СЗ діацереїну та 0,3 г натрію ацетату Р поміщали у мірну колбу місткістю 200 мл, додавали 40 мл 40 % етанолу (об/об), розчиняли і доводили об'єм розчину до позначки фосфатним буферним розчином з рН 6,8.

5,0 мл отриманого розчину доводили фосфатним буферним розчином з рН 6,8 до 20,0 мл. Натрію ацетат додавали для підвищення розчинності діацереїну в етанолі.

**Компенсаційний розчин.** Фосфатний буферний розчин рН 6,8.

Вимірювали абсорбцію досліджуваного розчину і розчину порівняння за довжини хвилі 343 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм відносно компенсаційного розчину. Розраховували у відсотках кількість діацереїну (ХЗ), що вивільнився у фосфатний буферний розчин рН 6,8.

**Валідаційні характеристики.** Валідаційні характеристики обрані відповідно до вимог ДФУ та ре-

комендацій FDA [14, 15], а саме для методики кількісного визначення діацереїну експериментально досліджували характеристики: специфічність, лінійність, правильність, збіжність. Також проводили розрахунок прогнозованої повної невизначеності результатів аналізу  $\Delta A_s$ . Розрахунки та статистичну обробку проводили згідно з вимогами ДФУ [16].

**Результати й обговорення.** При застосуванні спектрофотометричної методики, у варіанті методу стандарту, основним джерелом невизначеності результатів є пробопідготовка. Для валідаційних досліджень використано розрахунок прогнозованої повної невизначеності аналізу та її порівняння з максимально допустимою повною відносною невизначеністю. Максимально допустима невизначеність результату аналізу  $\Delta A_s$  при допусках вмісту  $B = 5\%$ , розрахована відповідно до встановлених вимог ДФУ, становить  $\Delta A_s \leq 3,0\%$ . Результати прогнозування невизначеності пробопідготовки наведені в таблиці 1.

Розрахунок невизначеності пробопідготовки:

$$\Delta_{SP} = \sqrt{0,9 + 0,08^2 + 0,6^2 + 0,2^2 + 0,5^2 + 0,6^2 + 0,6^2} = 1,834\%$$

Розрахунок прогнозованої невизначеності кінцевої аналітичної операції становить:

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2} \times \frac{RSD_A \times 1,645}{\sqrt{3}} = 1,34 \times RSD_A = 1,34 \times 0,52 = 0,70\%$$

Розрахунок повної прогнозованої невизначеності кінцевої аналітичної операції становить:

$$\Delta_{As} = \sqrt{\Delta_{FAO}^2 + \Delta_{SP}^2} = 1,96, \quad 1,96 \leq 3,0\%$$

Отже, повна прогнозована невизначеність аналітичної методики визначення діацереїну не перевищує гранично допустимої невизначеності результатів, вимоги до невизначеності методики витримуються.

Таблиця 1

Результати розрахунку невизначеності пробопідготовки для кількісного визначення вивільненого діацереїну

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Значення невизначеності
1. Взяття наважки РСЗ діацереїну	22	0,2 мг/50 мг $\times 100\% = 0,9\%$
2. Доведення до об'єму в мірній колбі 200,0 мл	200	0,08 %
3. Взяття аліквоти 5 мл вихідного розчину порівняння	5	0,6 %
4. Доведення до об'єму в мірній колбі 20,0 мл	20	0,2 %
5. Об'єм середовища розчинення 900,0 мл	900	0,5%
6. Взяття аліквоти 5 мл випробовуваного розчину	5	0,6 %
7. Взяття аліквоти 5 мл буферного розчину	5	0,6 %

Специфічність методики кількісного визначення діацереїну перевіряли порівнюючи спектри поглинання розчинів порівняння та розчинів плацебо. Вимірювання проводили тричі з вийманням кювет за довжини хвилі (343±2) нм, в кюветах з товщиною шару 10 мм. При перевірці невизначеності фонові абсорбції має виконуватися співвідношення:

$$\frac{A_{blank}}{A_{st}} \times 100 \leq 0,32 \times \Delta_{As} = 0,32 \times 3,0 = 0,96 \%$$

Результати досліджень представлено в таблиці 2 та на рисунку 1.

З наведених у таблиці 2 даних випливає, що вплив абсорбції «плацебо» на результати вимірювання є статистично незначущим, методика характеризується достатньою специфічністю.

У спектрі розчину плацебо не спостерігається абсорбції, характерної для діацереїну. Спектри випробовуваних розчинів відповідають спектру стандарту та мають максимум поглинання за довжини хвилі (343±2) нм. Вимоги до специфічності витримуються.

Перевірка лінійності, правильності і збіжності методики проведена методом «введено-знайдено». Враховуючи, що для вивільнення діацереїну Q=75, то діапазон концентрацій для дослідження лінійності,

Таблиця 2

Результати перевірки специфічності

$A_{blank}$	$A_{st}$	$A_{blank} / A_{st}$	Вимоги
0,0019	0,4420	–	–
0,0023	0,4415	–	–
0,0026	0,4410	–	–
Середнє: 0,0023	Середнє: 0,441	0,52	≤0,96

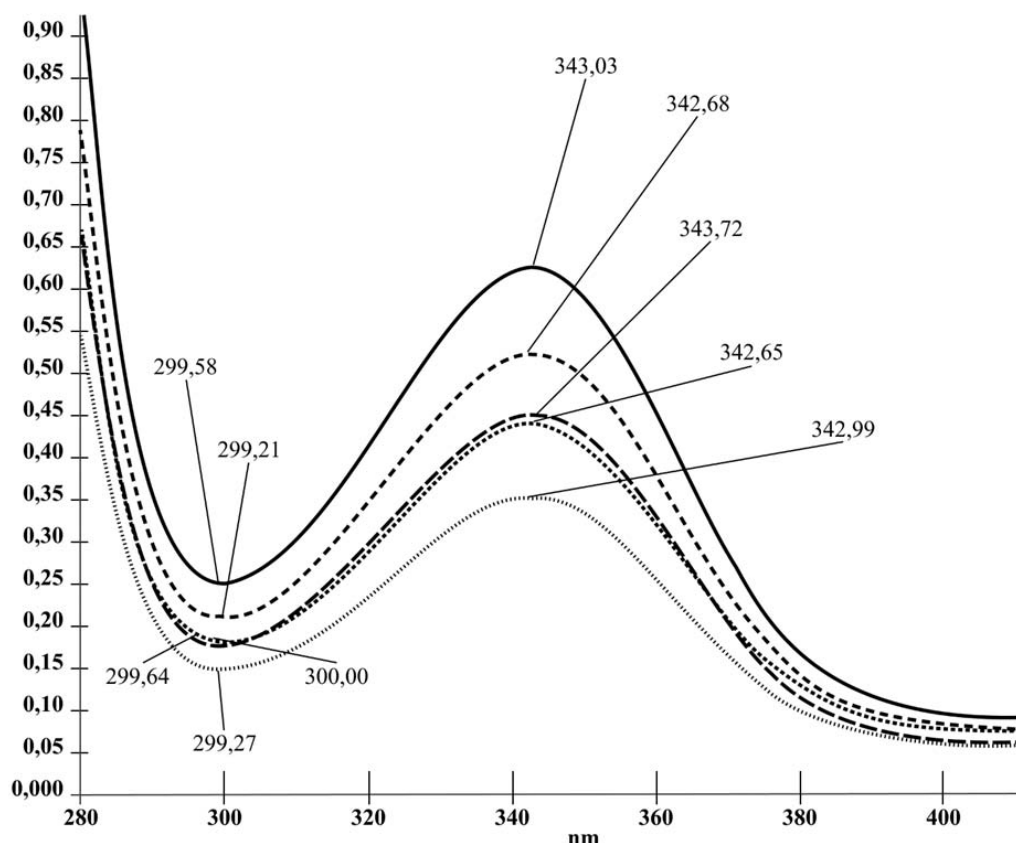


Рис. 1. Абсорбційні спектри випробовуваних розчинів діацереїну (концентрації 70 % – 140 %), отримані у дослідженні специфічності методики.

правильності і збіжності склав від 50 % до 140 % із кроком 10 %. Вимірювання проводили згідно з умовами методики, наведеної вище. В таблиці 3 представлені результати розрахунку концентрацій діацереїну, значень абсорбції ( $A_1$ ), а також значень фактично отриманих концентрацій діацереїну. Були визначені такі статистичні параметри, як вільний член лінійної

залежності  $|a|$ , кутовий коефіцієнт  $|b|$ , коефіцієнт кореляції  $|r|$ , стандартне відхилення, відносне стандартне відхилення та похибка.

У таблиці 4 наведено результати розрахунку параметрів лінійної залежності  $Y_i=b \cdot X_i+a$  для діацереїну методом найменших квадратів за даними таблиці 3.

**Таблиця 3**

Результати дослідження лінійної залежності аналітичного сигналу від концентрації діацереїну в модельних розчинах

№	Концентрація діацереїну, мг/мл «введено»	Назва розчину % від номінальної концентрації розчину	Абсорбція $A_1$	Концентрація діацереїну, мг/мл «знайдено»
1	–	RS	0,4420	0,0275
2	–	RS	0,4415	0,0275
3	–	RS	0,4410	0,0275
4	0,014	50 %	0,2247	0,0140
5		50 %	0,2244	0,0140
6		50 %	0,2257	0,0140
7	0,0168	60 %	0,2712	0,0168
8		60 %	0,2704	0,0168
9		60 %	0,2704	0,0168
10	0,0196	70 %	0,3164	0,0196
11		70 %	0,3152	0,0196
12		70 %	0,3161	0,0196
13	0,0224	80 %	0,3579	0,0224
14		80 %	0,3573	0,0224
15		80 %	0,3567	0,0224
16	0,0252	90 %	0,4014	0,0252
17		90 %	0,4016	0,0252
18		90 %	0,4025	0,0252
19	0,0280	100 %	0,4446	0,0280
20		100 %	0,4427	0,0280
21		100 %	0,4446	0,0280
22	0,0308	110 %	0,4881	0,0308
23		110 %	0,4867	0,0308
24		110 %	0,4869	0,0308
25	0,0336	120 %	0,5305	0,0336
26		120 %	0,5304	0,0336
27		120 %	0,5301	0,0336
28	0,0364	130 %	0,5793	0,0364
29		130 %	0,5817	0,0364
30		130 %	0,5793	0,0364
31	0,0392	140 %	0,6313	0,0392
32		140 %	0,6324	0,0392
33		140 %	0,6304	0,0392

Таблиця 4

Метрологічні характеристики лінійної залежності для діацереїну

Параметри	Значення	Вимога 1	Вимога 2	Висновок
b	0,9879	–	–	–
Sb	0,0089	–	–	–
a	0,55407	<=   1,6888	<=   2,0013	Витримуються по першому критерію
Sa	0,9082	–	–	–
RSD <sub>0</sub>	0,8312	–	–	–
RSD <sub>0</sub> /b	0,8413	<=   1,6133	–	Витримуються
RSD <sub>y</sub>	31,870	–	–	–
r	0,9996	>   0,9987	–	Витримуються

Коефіцієнт Стьюдента  $t(95,1,8)=1,8595$

З даних таблиці 4 випливає, що вимоги до параметрів лінійної залежності виконуються в обраному діапазоні концентрацій, що доводить лінійність методики визначення діацереїну в даному діапазоні. Коефіцієнт кореляції лінійної залежності сигналу від концентрації (r) між введеними та знайденими значеннями становив  $r=0,9996$  (за умови критерію прийнятності  $r=0,99870$ ). Таким чином, підтверджена ліній-

ність СФ-методики визначення діацереїну в діапазоні концентрацій від 50 до 140 % від номінальної кількості діацереїну в ЛЗ, визначених для тесту «Розчинення».

На рисунку 2 наведено графік залежності абсорбції від концентрації діацереїну в нормалізованих координатах при дослідженні лінійної залежності ( $Y = a + b \times C$ ).

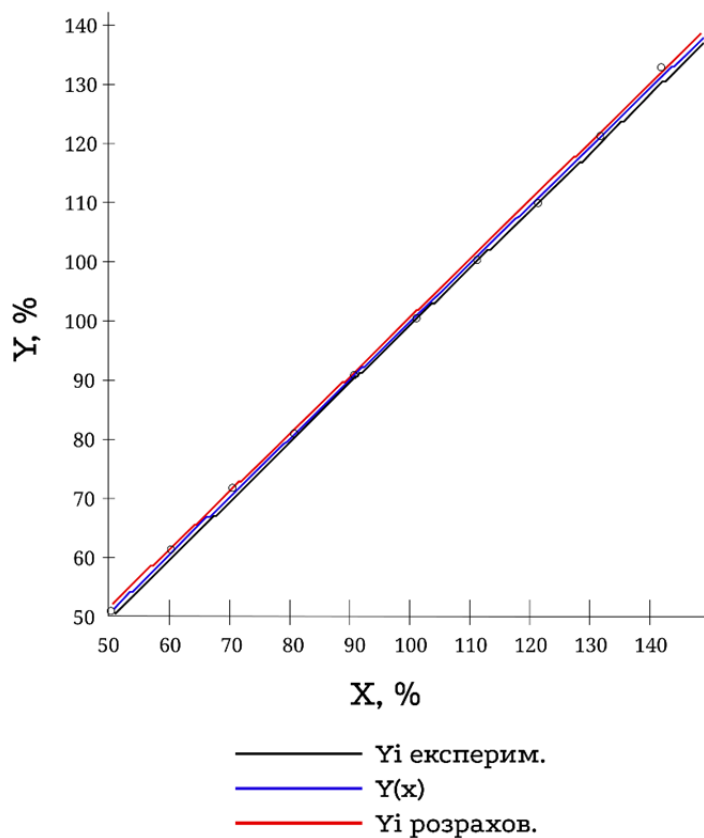


Рис. 2. Графік лінійної залежності  $Y = a + b \times C$ .

Встановлено, що методика в діапазоні концентрацій від 50 до 140 % від номінального значення для діацереїну є лінійною.

Результати дослідження і розрахунку критеріїв правильності та збіжності для СФ-методики визначення діацереїну наведені в таблиці 5.

З даних таблиці 5 видно, що методика характеризується достатньою збіжністю та правильністю в усьому діапазоні досліджуваних концентрацій.

Прецизійність розробленої методики визначалася повторюваністю та проміжною точністю. Для визначення повторюваності випробування проводили з ви-

Таблиця 5

Результати дослідження правильності та збіжності СФ-методики визначення діацереїну

Модельний розчин, %	Введено в % до концентрації розчину порівняння ( $X_i$ , %)	Середні оптичні густини ( $A_i$ )	Знайдено в % до концентрації порівняння ( $Y_i$ , %)	RSD <sub>i</sub>	Визначено у % до введеного $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100$
50	50,90	0,2249	50,94	0,30260	100,07
60	61,09	0,2706	61,30	0,17065	100,35
70	71,27	0,3159	71,55	0,19769	100,39
80	81,45	0,3573	80,92	0,16793	99,35
90	91,63	0,4018	91,01	0,14582	99,32
100	101,81	0,4439	100,55	0,24710	98,76
110	112,0	0,4872	110,35	0,15541	98,53
120	122,18	0,5303	120,12	0,03925	98,31
130	132,36	0,5801	131,39	0,23890	99,26
140	142,54	0,6313	143,00	0,15865	100,32
Відношення «знайдено/введено», середнє, $Z_{cp}$ , %					99,47
Характеристика	Параметр	Значення	Вимога 1	Вимога 2	Висновок
Правильність	$\Delta_d$	1,43	$\leq 3$	–	Вимоги витримуються
Збіжність	$ d_{cp} - 100 $	$ -0,5626 $	$\leq 0,4539$	$\leq 0,948$	Вимоги витримуються за другим критерієм

$S_{d,r} (\%) = 0,7831$

Коефіцієнт  $t(95, 1, 9) = 1,8331$

користанням шести посудин для тесту «Розчинення» за однакових умов і порівнювали результати. Проміжну точність визначали внутрішньолабораторними дослідженнями, де тест «Розчинення» проводили в 3 різні дні різні хіміки-аналітики з використанням різно-

го мірного посуду і порівнювали результати. Значення RSD менше 2 % обрано за критерій про точність розробленої методики. Результати повторюваності та перевірки внутрішньолабораторної прецизійності визначення діацереїну підсумовано в таблицях 6, 7.

Таблиця 6

Результат тесту повторюваності розчинення діацереїну на точку відбору 30 хв

Посудина для розчинення	Ступінь вивільнення діацереїну, % (n=3)	RSD, %
1	90,52± 0.81	0,81
2	93,25±0,62	0,62
3	93,56±0,45	0,44
4	92,41±0,77	0,77
5	90,46±0,43	0,42
6	91,34±0.94	0,93
Об'єднане середнє	91,92	0,665

Таблиця 7

Результат тесту на точність розчинення (міждобовий) для діацереїну на точку відбору 30 хв

Дні	Ступінь вивільнення діацереїну, % (n=3)	RSD, %
День 1	92,31±0,81	0,81
День 2	89,54±0,72	0,71
День 3	92,87±0,57	0,57
Об'єднане середнє	91,58	0,697

Установлено, що значення RSD менше 1 % свідчить про точність розробленої методики розчинення та її задовільну прецизійність.

**Висновок.** Досліджено валідаційні характеристики (специфічність, правильність, збіжність, лінійність) експресної і селективної спектрофотометричної методики визначення діацереїну, придатної для виконання випробування «Розчинення» твердих желатинових капсул діацереїну. Специфічність, лінійність,

правильність і прецизійність підтверджені в діапазоні 50–140 % від номінального вмісту діацереїну.

Запропоновано додавання натрію ацетату в якості гідротропної речовини як спосіб підвищення розчинності діацереїну у неводному розчиннику для проведення спектрофотометричного аналізу.

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

## VALIDATION OF THE SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF DIACEREIN IN THE "DISSOLUTION" TEST OF SOLID GELATIN CAPSULES

O. O. Saliy<sup>1</sup>, V. I. Bessarabov<sup>1</sup>, O. V. Grechana<sup>2</sup>, Yu. V. Pervun<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Kyiv National University of Technologies and Design

<sup>2</sup>Zaporizhzhia State Medical and Pharmaceutical University

saliy.oo@knutd.edu.ua

**The aim of the work.** To investigate the validation characteristics of a spectrophotometric method for the dissolution of diacerein from solid gelatin capsules.

**Materials and Methods.** For the analysis, the following materials were utilized: diacerein of pharmacopoeial quality produced by Taizhou Highsun Pharmaceutical Co., Ltd., China; «Arthrodarin®» capsules, 50 mg, manufactured by TRB PHAR-MA S.A., Argentina. Dissolution studies were conducted in a 6-station paddle apparatus with the use of a phosphate buffer solution with a pH of 6.8. The amount of released diacerein was analyzed using a UV-VIS Lambda 35 spectrophotometer (Perkin Elmer, USA) in 10 mm cuvettes.

**Results and Discussion.** Validation characteristics were confirmed, including linearity, accuracy, specificity, and precision. The total predicted uncertainty of the analytical method was 1.96 %, which did not exceed the acceptable uncertainty limit of 3 %. Linearity was established for the quantitative determination of diacerein content in the range of 50 % to 140 % of the nominal value. The influence of "placebo" background absorption on optical density measurements was minimal, indicating sufficient specificity of the method. Statistical analysis of experimental data revealed a correlation coefficient (*r*) for the linear relationship between the introduced and found values for the quantitative content of diacerein, which was >0.990, indicating the correctness of the methodology.

**Conclusions.** A rapid, accurate, and selective method was developed using the sodium acetate component as a hydrotropic substance to increase the solubility of diacerein in a non-aqueous solvent during the spectrophotometric analysis of the determination of diacerein in the «Dissolution» test. The diacerein spectrum exhibited absorption maxima at 343 nm. Linearity for the proposed method is confirmed in the concentration range of 50–140 % of the nominal value. The precision and repeatability as validations criteria are also fulfilled for the proposed method.

**Key words:** diacerein; dissolution test; spectrophotometry; quantitative determination; validation characteristics; linearity; precision; repeatability; specificity.



## Перелік бібліографічних посилань

1. Kaur D., Kaur J., Kamal S. S. Diacerein, its beneficial impact on chondrocytes and notable new clinical applications. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019. Vol. 54(4). P. e17534. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000417534>.
2. Dissolution behavior and preferential solvation of diacerein in mixtures of (ethyl acetate/acetonitrile + ethanol) at several temperatures. Cunbin Du, Yang Cong, Zhouyu Jiang et al. 2021. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, Volume 160, 106482. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2021.106482>.
3. Physico-chemical and structural characterization of diacerein. Massimo Bambiotti-Alberti, Gianluca Bartolucci, Bruno Bruni et al. 2009. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* Volume 49, Issue 4, P. 1065–1069 <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.01.018>.
4. Development of composition and evaluation of equivalence of diacerein hard gelatin capsules. O. O. Saliy, O. V. Los, O. P. Baula, V. U. Turchyna. *Farmatsevtichnyi Zhurnal*. 2021. Vol. (6). 62–72. [doi.org/10.32352/0367-3057.6.21.06](https://doi.org/10.32352/0367-3057.6.21.06).
5. Diacerein: A potential multi-target therapeutic drug for COVID-19. De P. G. Oliveira, L. Termini, E. L. Durigon et al. *Medical Hypotheses*. 2020. Vol. 144. P. 109920. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109920>.
6. Development and Validation of a Dissolution Method with Spectrophotometric Analysis for Diacerein Capsules. S. Borgmann, L. Parcianello, M. Arend et al. *Scientia Pharmaceutica*. 2008. Vol. 76 (3). – P. 541–554. <https://doi.org/10.3797/scipharm.0804-17>.
7. Diacerein (2409). *European Pharmacopoeia*. 9th Edition. – European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2016. – 4016 p.
8. Azza Hasan, Abd El hakim Ramadan, Mahmoud Abd Elghany, Shereen Sabry. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2020. Vol. 10 (06). P. 044–053 <https://doi.org/10.7324/JAPS.2020.10607>.
9. Jain S., Nagori B. P., Yadav S. K. Improvement of the Dissolution Behavior of the Poorly Water Soluble Drug Diacerein by Solid Dispersion Technology and its Formulation into Tablet Dosage Form. *Madridge Journal of Novel Drug Research*, 2018. Vol. 2, Issue 1. P. 79–89. <https://doi.org/10.18689/mjndr-1000112>.
10. Mukhopadhyay S., Roy T., Chatterjee T. K. Formulation Development and Evaluation of Diacerein Loaded Microsphere by Spray Coating (Wurster Method), *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 2019. Vol. 9 (4). P. 454–460 <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v9i4.3082>.
11. Quantitative estimation of diacerein in bulk and in capsule formulation using hydrotropic solubilizing agents by UV-spectrophotometry and the first order derivative using the area under curve method. R. Pandey, P. O. Patil, M. U. Patil. *Pharmaceutical Methods*. 2012. Vol. 3 (1). P. 4–8. <https://doi.org/10.4103/2229-4708.97703>.
12. Sandeepa Bhoir, Shashikant Dhole, Nilesh Kulkarni, Prajakta Sangole, Sonal Thorat, Dhanashree Bhoite. Novel and validated spectrophotometric estimation of diacerein in bulk and capsule formulation using mixed hydrotropic solubilisation approach. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2012. Vol. 4, Suppl.4, P. 501–504. [Електронний ресурс] режим доступу: <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol4Suppl4/4574.pdf>.
13. Novel and validated spectrophotometric estimation of diacerein in bulk and capsule formulation using mixed hydrotropic solubilization approach. S. Bhoir, S. Dhole, N. Kulkarni, P. Sangole. *Int. J Pharm Sci*. 2012. Vol. 4(5). P. 501–504.
14. Валідація аналітичних методик і випробувань // Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. С. 910–929.
15. Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics: Guidance for Industry. FDA CDER etc. U.S. Department of Health and Human Services, 2015, 18p. Електронний ресурс] режим доступу: <https://www.fda.gov/media/87801/download>.
16. Статистичний аналіз результатів хімічного експерименту. Державна Фармакопея України. Т. 1 / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» 2-е вид. Харків: Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр», 2015. С. 881–909.

## References

1. Kaur D, Kaur J, Kamal SS. Diacerein, its beneficial impact on chondrocytes and notable new clinical applications. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2019;54(4):e17534. <https://doi.org/10.1590/s2175-97902018000417534>.
2. Cunbin Du, Yang Cong, Zhouyu Jiang, Meng Wang, Mingliang Wang. Dissolution behavior and preferential solvation of diacerein in mixtures of (ethyl acetate/acetonitrile + ethanol) at several temperatures. *The Journal of Chemical Thermodynamics*. 2021;160:106482. <https://doi.org/10.1016/j.jct.2021.106482>.
3. Massimo Bambiotti-Alberti, Gianluca Bartolucci, Bruno Bruni, Silvia A. Coran, Massimo Di Vaira. Physico-chemical and structural characterization of diacerein. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2009;49(4):1065-1069 <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2009.01.018>.
4. Saliy OO, Los OV, Baula OP, Turchyna VU. Development of composition and evaluation of equivalence of diacerein hard gelatin capsules. *Farmatsevtichnyi Zhurnal*. 2021;(6):62-72. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.6.21.06>.

5. De Oliveira PG, Termini L, Durigon EL. et al. Diacerein: A potential multi-target therapeutic drug for COVID-19. Medical hypotheses. 2020;144:109920. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2020.109920>.
6. Borgmann S, Parciannelo L, Arend M, Bajerski L, Cardoso S. Development and Validation of a Dissolution Method with Spectrophotometric Analysis for Diacerein Capsules. Scientia Pharmaceutica. 2008; 76(3):541-554. <https://doi.org/10.3797/scipharm.0804-17>.
7. Diacerein (2409). European Pharmacopoeia. 9th Edition. – European Directorate for the Quality of Medicines (EDQM). – Council of Europe, 67075 Strasbourg Cedex, France 2016;4016.
8. Azza Hasan, Abd El hakim Ramadan, Mahmoud Abd Elghany, Shereen Sabry. Journal of Applied Pharmaceutical Science. 2020;10(06):044-053 <https://doi.org/10.7324/JAPS.2020.10607>.
9. Jain S., Nagori B.P., Yadav S.K. Improvement of the Dissolution Behavior of the Poorly Water Soluble Drug Diacerein by Solid Dispersion Technology and its Formulation into Tablet Dosage Form. Madridge Journal of Novel Drug Research. 2018;2(1):79-89. <https://doi.org/10.18689/mjndr-1000112>.
10. Mukhopadhyay S, Roy T, Chatterjee TK. Formulation Development and Evaluation of Diacerein Loaded Microsphere by Spray Coating (Wurster Method), Journal of Drug Delivery and Therapeutics. 2019;9(4):454-60 <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v9i4.3082>.
11. Pandey R, Patil PO, Patil MU, Deshmukh PK, Bari SB. Quantitative estimation of diacerein in bulk and in capsule formulation using hydrotropic solubilizing agents by UV-spectrophotometry and the first order derivative using the area under curve method. Pharmaceutical methods. 2012; 3(1):4–8. <https://doi.org/10.4103/2229-4708.97703>.
12. Sandeepa Bhoir, Shashikant Dhole, Nilesh Kulkarni, Prajakta Sangole, Sonal Thorat, Dhanashree Bhoite. Novel and validated spectrophotometric estimation of diacerein in bulk and capsule formulation using mixed hydrotropic solubilisation approach. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2012;4(1.4):501-4. <https://innovareacademics.in/journal/ijpps/Vol4Suppl4/4574.pdf>.
13. Bhoir S, Dhole S, Kulkarni N, Sangole P. Novel and validated spectrophotometric estimation of diacerein in bulk and capsule formulation using mixed hydrotropic solubilization approach. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. 2012;4(5):501-504.
14. Validation of Analytical Methods and Tests. State Pharmacopoeia of Ukraine: 1 Vol. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center of Quality of Medicinal Products. Ed.2. Vol.1. [Державна Фармакопея України: в 3 т./ Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид., Т.1]: Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center of Quality of Medicinal Products; 2015;910-29. Ukrainian.
15. Analytical Procedures and Methods Validation for Drugs and Biologics: Guidance for Industry. FDA CDER, etc. U.S. Department of Health and Human Services, 2015;18. [Online resource] Available at: <https://www.fda.gov/media/87801/download>.
16. Statistical Analysis of Chemical Experiment Results. State Pharmacopoeia of Ukraine. Vol. 1. State Enterprise «Scientific-Expert Pharmacopoeial Center» 2nd edition. Kharkiv: State Enterprise «Scientific-Expert Pharmacopoeial Center», 2015:881–909. Ukrainian

**Відомості про авторів:**

**Салій О. О.** – канд. фармацевт. наук, доцент кафедри промислової фармації, Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, Україна, E-mail: [saliy.oo@knutd.edu.ua](mailto:saliy.oo@knutd.edu.ua), ORCID 0000-0001-7103-2083.

**Бессарабов В. І.** – д. техн. наук, професор, професор кафедри промислової фармації, Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, Україна. E-mail: [v.bessarabov@kyivpharma.eu](mailto:v.bessarabov@kyivpharma.eu), ORCID: 0000-0003-0637-1729.

**Гречана О. В.** – канд. фармацевт. наук, доцент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки, Запорізький державний медичний університет, Запоріжжя, Україна. E-mail: [1310grechanaya@ukr.net](mailto:1310grechanaya@ukr.net), ORCID 0000-0002-1756-6372.

**Первун Ю. В.** – магістр кафедри промислової фармації, Київський національний університет технологій та дизайну, Київ, Україна, E-mail: [yulia162001@gmail.com](mailto:yulia162001@gmail.com), ORCID 0009-0009-1574-2166.

**Information about the authors:**

**Saliy O. O.** – PhD (Pharmacy) Associate Professor of the Department of Industrial Pharmacy, Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, Ukraine, E-mail: [saliy.oo@knutd.edu.ua](mailto:saliy.oo@knutd.edu.ua), ORCID 0000-0001-7103-2083.

**Bessarabov V. I.** – DSc (Technical Sciences), Professor, Professor of the Department of Industrial Pharmacy, Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, Ukraine. E-mail: [v.bessarabov@kyivpharma.eu](mailto:v.bessarabov@kyivpharma.eu), ORCID: 0000-0003-0637-1729.

**Grechana O. V.** – PhD (Pharmacy), Associate Professor of the Department of Pharmacognosy, Pharmacology, and Botany, Zaporizhzhia State Medical University, Zaporizhzhia, Ukraine. E-mail: [1310grechanaya@ukr.net](mailto:1310grechanaya@ukr.net), ORCID 0000-0002-1756-6372.

**Pervun Yu. V.** – Master's graduate of the Department of Industrial Pharmacy, Kyiv National University of Technologies and Design, Kyiv, Ukraine, E-mail: [yulia162001@gmail.com](mailto:yulia162001@gmail.com), ORCID 0009-0009-1574-2166.