



## Разработка и валидация аналитических методик количественного определения дабигатрана этексилата методами ВЭЖХ-ДМД и УФ-спектрофотометрии при проведении теста сравнительной кинетики растворения капсул дабигатрана в биорелевантной среде FaSSGF

Д. М. Девяткина<sup>1, 2</sup>✉, П. С. Машченко<sup>2, 3</sup>✉✉, А. Д. Внутских<sup>1</sup>, И. О. Девяткин<sup>1, 2</sup>,  
Н. А. Прозорова<sup>1, 3</sup>, А. В. Фотеева<sup>1, 2</sup>

<sup>1</sup> Общество с ограниченной ответственностью «Парма Клиникал». 614101, Россия, Пермский край, г. Пермь, ул. Причальная, д. 1Б, корп. 3

<sup>2</sup> Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации (ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России). 614990, Россия, Пермский край, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

<sup>3</sup> Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Пермский государственный национальный исследовательский университет» (ФГАОУ ВО «ПГНИУ», ПГНИУ). 614068, Россия, Пермский край, г. Пермь, ул. Букирева, д. 15

✉ Контактное лицо: Девяткина Дарья М. E-mail: drklsnkv@yandex.ru

✉✉ Контактное лицо: Машченко Петр Сергеевич. E-mail: petlya11@mail.ru

ORCID: Д. М. Девяткина – <https://orcid.org/0009-0009-1711-2862>;

П. С. Машченко – <https://orcid.org/0000-0002-2259-7659>;

А. Д. Внутских – <https://orcid.org/0009-0000-3557-8804>;

И. О. Девяткин – <https://orcid.org/0009-0001-0759-6121>;

Н. А. Прозорова – <https://orcid.org/0000-0001-5755-4184>;

А. В. Фотеева – <https://orcid.org/0000-0002-3752-7848>.

Статья поступила: 02.12.2025

Статья принята в печать: 10.02.2026

Статья опубликована: 13.02.2026

### Резюме

**Введение.** Венозные тромбозы и фибрилляция предсердий являются значимыми причинами сосудистой смертности. Антикоагулянтная терапия существенно снижает риск ишемического инсульта, а дабигатрана этексилат, относящийся к прямым ингибиторам тромбина, прочно вошел в клиническую практику. На российском рынке представлены воспроизведенные препараты дабигатрана этексилата в форме капсул, одним из наиболее критичных видов контроля качества для данной лекарственной формы является тест сравнительной кинетики растворения (ТСКР). Использование биорелевантных сред для растворения позволяет достоверно прогнозировать поведение капсул *in vivo*. Для проведения ТСКР капсул дабигатрана этексилата исходя из фармакокинетических свойств наиболее подходящей средой является Fasted State Simulated Gastric Fluid (FaSSGF).

**Цель.** Разработка и валидация аналитических методик количественного определения дабигатрана этексилата методами высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодно-матричным детектированием (ВЭЖХ-ДМД) и спектрофотометрии в ультрафиолетовой области (УФ-спектрофотометрия) при проведении ТСКР капсул, содержащих дабигатрана этексилат, в биорелевантной среде растворения FaSSGF.

**Материалы и методы.** Анализировали модельные растворы, содержащие пеллеты дабигатрана этексилата и вспомогательные вещества лекарственного препарата. Для хроматографического разделения использовали ВЭЖХ-ДМД Agilent 1260 Infinity II Series (США). Детектирование проводилось при длине волны 316 нм. Использовали колонку ZORBAX SB-C18, 150 × 4,6 мм, 5 мкм, предколонку ZORBAX SB-C18, 12,5 × 4,6 мм, 5 мкм (Agilent Technologies, США). Для разработки и валидации метода УФ-спектрофотометрии использовали спектрофотометр СФ-2000 (Россия). Обработку первичных данных проводили с помощью программного обеспечения Open Lab CDS v. 2.7 для ВЭЖХ, «Сканирование для спектрофотометра СФ-2000» от ООО «ОКБ Спектр», версия 4.06.

**Результаты и обсуждение.** Подобраны оптимальные условия пробоподготовки, хроматографические и спектрофотометрические условия для количественной оценки дабигатрана этексилата, высвобождаемого в среду растворения FaSSGF, проведена валидация разработанных аналитических методик в диапазоне от 0,13 до 14,67 мкг/мл.

**Заключение.** Аналитические методики обеспечивают воспроизводимые и достоверные результаты во всем заданном диапазоне и пригодны для количественного определения дабигатрана этексилата при проведении ТСКР в биорелевантной среде растворения FaSSGF.

**Ключевые слова:** дабигатрана этексилат, ВЭЖХ-ДМД, УФ-спектрофотометрия, ТСКР, биорелевантные среды растворения, валидация

**Конфликт интересов.** Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Вклад авторов.** Д. М. Девяткина и П. С. Мащенко придумали и руководили экспериментом. Д. М. Девяткина и И. О. Девяткин разработали и валидировали аналитические методики. Д. М. Девяткина и А. Д. Внутских участвовали в обработке данных и интерпретации результатов. Д. М. Девяткина, А. Д. Внутских, Н. А. Прозорова и А. В. Фотеева участвовали в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

**Для цитирования:** Девяткина Д. М., Мащенко П. С., Внутских А. Д., Девяткин И. О., Прозорова Н. А., Фотеева А. В. Разработка и валидация аналитических методик количественного определения дабигатрана этексилата методами ВЭЖХ-ДМД и УФ-спектрофотометрии при проведении теста сравнительной кинетики растворения капсул дабигатрана в биорелевантной среде FaSSGF. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2026;15(1):161–171. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2250>

## The development and validation of analytical methods for the quantitative determination of dabigatran etexilate by HPLC-DAD and UV spectrophotometry during a comparative dissolution kinetics test of dabigatran capsules in the biorelevant FaSSGF medium

Daria M. Devyatkina<sup>1,2</sup>✉, Petr S. Mashchenko<sup>2,3</sup>✉✉, Alena D. Vnutskikh<sup>1</sup>, Igor O. Devyatkin<sup>1,2</sup>, Nadezhda A. Prozorova<sup>1,3</sup>, Alexandra V. Foteeva<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Limited Liability Company "Parma Clinical". 1B/3, Prichalnaya str., Perm, Perm region, 614101, Russia

<sup>2</sup> Perm State Pharmaceutical Academy of the Ministry of Health of the Russian Federation (PSPA). 2, Poleyaya str., Perm, Perm region, 614990, Russia

<sup>3</sup> Perm State University (PSU). 15, Bukireva str., Perm, Perm region, 614068, Russia

✉ **Corresponding author:** Daria M. Devyatkina. **E-mail:** drklsnkv@yandex.ru

✉✉ **Corresponding author:** Petr S. Mashchenko. **E-mail:** petlya11@mail.ru

**ORCID:** Daria M. Devyatkina – <https://orcid.org/0009-0009-1711-2862>;  
Petr S. Mashchenko – <https://orcid.org/0000-0002-2259-7659>;  
Alena D. Vnutskikh – <https://orcid.org/0009-0000-3557-8804>;  
Igor O. Devyatkin – <https://orcid.org/0009-0001-0759-6121>;  
Nadezhda A. Prozorova – <https://orcid.org/0000-0001-5755-4184>;  
Alexandra V. Foteeva – <https://orcid.org/0000-0002-3752-7848>.

**Received:** 02.12.2025

**Accepted:** 10.02.2026

**Published:** 13.02.2026

### Abstract

**Introduction.** Venous thromboembolism and atrial fibrillation are significant causes of vascular mortality. Anticoagulant therapy significantly reduces the risk of ischemic stroke, and dabigatran etexilate, a direct thrombin inhibitor, has become firmly established in clinical practice. There are several generic drug products of dabigatran etexilate capsules in Russia. Comparative dissolution kinetics test (CDKT) is one of the most critical quality control method for this dosage form. The use of biorelevant dissolution media can reliably predict the *in vivo* dissolution of the capsules. Based on the pharmacokinetic properties of dabigatran etexilate capsules, the most suitable medium is Fasted State Simulated Gastric Fluid (FaSSGF).

**Aim.** Development and validation of analytical methods for the quantitative determination of dabigatran etexilate using high performance liquid chromatography with diode array detection (HPLC-DAD) and UV spectrophotometry during the CDKT of dabigatran etexilate capsules in the biorelevant dissolution medium FaSSGF.

**Materials and methods.** Model solutions containing dabigatran etexilate pellets and excipients of the drug product were analyzed. An Agilent 1260 Infinity II Series HPLC-DAD (USA) was used for chromatographic separation. Detection of dabigatran was performed at 316 nm wavelength. A ZORBAX SB-C18, 150 × 4.6 mm, 5 μm column with ZORBAX SB-C18, 12.5 × 4.6 mm, 5 μm guard column (Agilent Technologies, USA) were used. An SF-2000 spectrophotometer (Russia) was used for the development and validation of UV spectrophotometry analytical method. Data obtained was processed using Agilent OpenLab CDS v. 2.7 and OKB Spectr Scanning for spectrophotometer SF-2000 v. 4.06.

**Results and discussion.** Optimal conditions for sample preparation, chromatographic and spectrophotometric conditions were developed for the quantitative assessment of dabigatran etexilate released into the FaSSGF dissolution medium during CDKT. Developed analytical methods were validated in the range from 0.13 to 14.67 µg/ml.

**Conclusion.** Developed analytical methods provide reproducible and reliable results over the entire specified range thus are suitable for the quantitative determination of dabigatran etexilate during CDKT in the biorelevant FaSSGF dissolution medium.

**Keywords:** dabigatran etexilate, HPLC-DAD, UV-spectrophotometry, comparative dissolution kinetics test, biorelevant dissolution media, validation

**Conflict of interest.** The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

**Contribution of the authors.** Daria M. Devyatkina and Petr S. Mashchenko planned and manages the experiment. Daria M. Devyatkina and Igor O. Devyatkin developed and validated analytical methods. Daria M. Devyatkina and Alena D. Vnutschikh participated in data analysis and results interpretation. Daria M. Devyatkina, Alena D. Vnutschikh, Nadezhda A. Prozorova and Alexandra V. Foteeva wrote and edited the manuscript. Results were discussed by all authors.

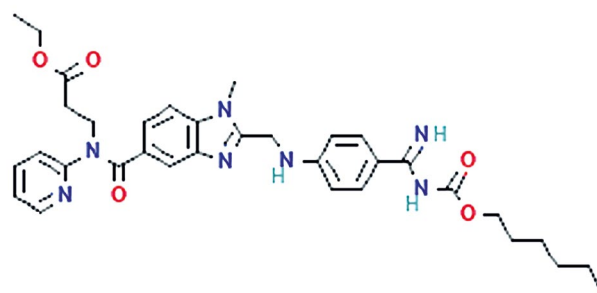
**For citation:** Devyatkina D. M., Mashchenko P. S., Vnutschikh A. D., Devyatkin I. O., Prozorova N. A., Foteeva A. V. The development and validation of analytical methods for the quantitative determination of dabigatran etexilate by HPLC-DAD and UV spectrophotometry during a comparative dissolution kinetics test of dabigatran capsules in the biorelevant FaSSGF medium. *Drug development & registration*. 2026;15(1):161–171. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2026-15-1-2250>

## ВВЕДЕНИЕ

Венозные тромбозы являются третьей по распространенности причиной сосудистой смертности после инфаркта миокарда и инсульта [1]. Для лечения и профилактики этих состояний применяются лекарственные препараты (ЛП) из группы антикоагулянтов.

Дабигатрана этексилат – широко распространенный антикоагулянт, относящийся к прямым ингибиторам тромбина [2]. Исследование, проведенное в Индии, показывает, что 72 % экспертов рекомендуют дабигатрана этексилат как наиболее предпочтительный антикоагулянт [3]. Лекарственный препарат был одобрен в США и Канаде для профилактики тромбозов у пациентов с фибрилляцией предсердий, в Европе и Канаде – для первичной профилактики венозной тромбозы после крупных ортопедических операций [2]. В клинических исследованиях дабигатрана этексилат в дозировке 150 мг/сут значительно снижал риск инсульта по сравнению с варфарином [4].

На фармацевтическом рынке лекарственный препарат, содержащий дабигатрана этексилат (рисунок 1) в качестве действующего вещества, представлен в форме капсул. Для подтверждения эквивалентности воспроизведенного ЛП оригинальному ЛП могут быть использованы биорелевантные среды растворения в качестве дополнительных сред растворения, что существенно повышает точность прогнозирования *in-vivo*-поведения твердых пероральных лекарственных форм [5]. Дабигатрана этексилат по био-



**Рисунок 1.** Структурная формула дабигатрана этексилата

**Figure 1.** Molecular structure of dabigatran etexilate

фармацевтической классификационной системе относится к классу IIb [6].

Результаты, полученные в ходе проведения клинических исследований, демонстрируют, что растворимость дабигатрана этексилата снижается на 70 % при повышении pH до 5,3 [7]. В исследовании по моделированию условий желудочно-кишечного тракта и их вариабельности при использовании биорелевантных сред растворения отмечено ухудшение растворимости препарата дабигатрана при pH выше 4 [8]. В связи с этим наиболее оптимальной биорелевантной средой растворения для контроля качества капсул, содержащих действующее вещество в виде дабигатрана этексилата, является Fasted State Simulated Gastric Fluid с pH 1,6 (FaSSGF, имитация желудочного сока натощак).

В связи с недавним появлением на российском рынке дженериков оригинального лекарственного препарата Прадакса® вопрос контроля качества воспроизведенных препаратов является актуальным.

**Целью исследования** является разработка и валидация аналитических методик количественного определения дабигатрана этексилата методами ВЭЖХ-ДМД и УФ-спектрофотометрии при проведении теста сравнительной кинетики растворения капсул, содержащих дабигатрана этексилат, в биорелевантной среде растворения FaSSGF.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Во время проведения исследования были использованы следующие реактивы: метанол (для хроматографии, ООО «АКВАМЕТРИЯ», Россия), ацетонитрил (для хроматографии, FTSCI, Китай), хлороводородная кислота (х.ч., АО «ЛенРеактив», Россия), аммония ацетат (для хроматографии, Sisco Research Laboratories Pvt. Ltd., Индия), натрия хлорид (х.ч., АО «ЛенРеактив», Россия), порошок ЗФ для приготовления биорелевантных сред (Biorelevant, QMB Innovation Centre, Великобритания, каталожный номер FFF02, содержит натрия таурохолат и фосфолипиды).

Объектами испытаний выступали таблетки, содержащие действующее вещество [дабигатрана этексилата мезилата таблетки, Zhejiang Huahai Pharmaceutical Co. Ltd., Китай, партия № 0000025816, срок годности до 09.2026, содержание дабигатрана этексилата после нанесения слоя действующего вещества на таблетки – 36,74 % (масс./масс.)] и вспомогательные вещества (плацебо).

Вспомогательные вещества были переданы производителем капсул.

Для разработки и валидации методики использовали стандартный образец дабигатрана этексилата мезилата EP CRS, каталожный номер Y0002393, batch 1, с содержанием действующего вещества «как есть» 99,5 %. На момент проведения испытаний срок годности стандартного образца был действительным и проверялся путем обращения на официальный сайт производителя.

Приготовление биорелевантной среды растворения FaSSGF осуществляли в соответствии с инструкцией, приведенной на сайте производителя<sup>1</sup>.

### Оборудование

Методика с применением метода УФ-спектрофотометрии была разработана и валидирована на спектрофотометре СФ-2000 (Россия).

Разработка и валидация методики с применением метода ВЭЖХ-ДМД проводилась на высокоэффективном жидкостном хроматографе с диодно-матричным детектором Agilent 1260 Infinity II Series (США).

<sup>1</sup> Biorelevant. Available at: <https://biorelevant.com/>  
Accessed: 02.12.2025.

Обработку первичных данных проводили с помощью программного обеспечения Open Lab CDS v. 2.7 для ВЭЖХ, «Сканирование для спектрофотометра СФ-2000» от ООО «ОКБ Спектр», версия 4.06. Для статистической обработки использовались валидированные электронные таблицы, расчет результатов проводили с применением программного обеспечения Microsoft® Office Excel® версии 2007.

### Условия УФ-спектрофотометрии

Кюветы кварцевые для спектрофотометра 10 × 10 мм. Измеряли оптическую плотность в максимуме поглощения при длине волны 323 нм и регистрировали УФ-спектр поглощения. В качестве раствора сравнения использовали 0,1 М хлороводородную кислоту.

### Условия хроматографического разделения

Хроматографическая колонка: ZORBAX SB-C18, 150 × 4,6 мм, 5 мкм, Agilent Technologies, США.

Предколонка: ZORBAX SB-C18, 12,5 × 4,6 мм, 5 мкм, Agilent Technologies, США.

Подвижная фаза: подвижная фаза А – ацетонитрил; подвижная фаза В – раствор аммония ацетата.

Режим элюирования: подвижная фаза А : подвижная фаза В (% , об./об.) = 55 : 45.

Скорость потока подвижной фазы: 1,0 мл/мин.

Температура термостата колонки: 40 °С.

Объем вводимой пробы: 20 мкл.

Детектор: диодно-матричный, с возможностью записи спектра в диапазоне от 190 до 400 нм.

Детектирование: при длине волны 316 нм.

Ожидаемое время удерживания пика дабигатрана этексилата: 6 мин.

Время хроматографирования: 10 мин.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

### Разработка условий пробоподготовки

В качестве растворителя для получения исходных растворов действующего вещества была выбрана смесь ацетонитрила и метанола в соотношении 1:1 в связи с высокой растворимостью дабигатрана этексилата мезилата в органических растворителях [9].

При проведении ТСКР важным фактором является стабильность растворов, так как при проведении испытаний ЛП получают длительные аналитические циклы, поэтому в процессе разработки было принято решение отказаться от органического растворителя и смеси воды с органическими растворителями в связи с тем, что наблюдалась неустойчивость растворов в процессе хранения.

Приготовление модельных растворов при проведении валидации осуществлялось в 3 стадии, которые имитировали получение испытуемого раствора при проведении ТСКР. Первое разведение представ-

ляло собой высококонцентрированный раствор дабигатрана этексилата в смеси ацетонитрила и метанола 1:1.

Для второго разведения готовили раствор плацебо: вспомогательные вещества лекарственного препарата и капсулу из гипромеллозы помещали в колбу вместимостью 1 л, колбу на 2/3 заполняли биорелевантной средой FaSSGF, термостатированной до  $(37,0 \pm 1,0)$  °C. Затем колбу помещали на перемешивающее устройство орбитального типа и перемешивали в течение 45 мин. В мерную колбу переносили аликвоту первого разведения раствора дабигатрана этексилата, объем раствора доводили термостатированной биорелевантной средой FaSSGF. Концентрация второго разведения была подобрана таким образом, что конечная концентрация растворов соответствовала концентрации дабигатрана этексилата в стакане при теоретическом высвобождении действующего вещества на 100 % при проведении ТСКР капсул дозировкой 150 мг. Для расчетов объем среды растворения в стакане принимали за 900 мл, что рекомендовано производителем биорелевантной среды.

Так как дозировка препарата является высокой, для получения точных и воспроизводимых результатов было предусмотрено третье разведение. Для доведения объема растворов третьего разведения использовали 0,1 М хлороводородную кислоту, так как при доведении растворов средой растворения была затруднена работа с растворами на СФ-2000. Квар-

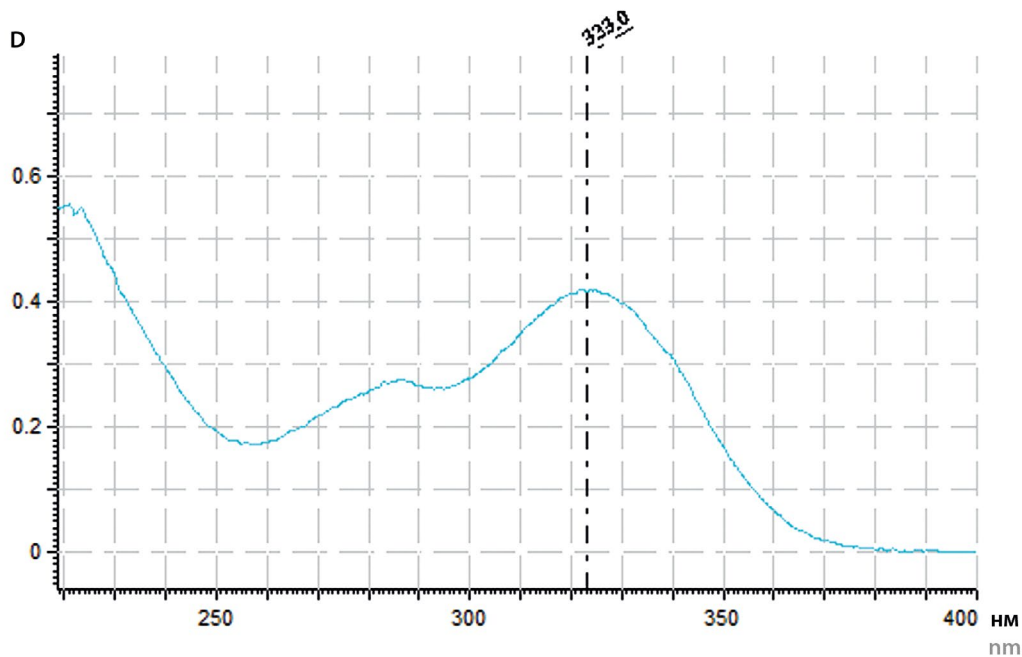
цевые кюветы были подвержены быстрому загрязнению, что могло привести к искажению результатов и в дальнейшем к низкой воспроизводимости результатов анализов.

Объемы мерных колб и аликвот для второго и третьего разведения не изменялись, различные концентрации для обеспечения диапазона аналитической методики получались путем подбора навесок стандартного образца или пеллет дабигатрана этексилата. Состав модельной смеси для получения растворов с уровнем концентрации 100 % от номинальной концентрации испытуемых растворов соответствовал составу разрабатываемой лекарственной формы.

### Разработка хроматографической и спектрофотометрической методики

Для разработки спектрофотометрической методики экспериментально определяли спектр поглощения дабигатрана этексилата в УФ-области. На серии стандартных растворов была подобрана конечная концентрация третьего разведения, которая обеспечивала необходимый уровень оптической плотности. На полученном спектре была выбрана длина волны, при которой поглощение оказалось максимальным – 323 нм (рисунок 2).

При подборе хроматографических условий руководствовались физико-химическими свойствами действующего вещества (таблица 1).



**Рисунок 2.** УФ-спектр поглощения раствора стандартного образца дабигатрана этексилата, полученный на СФ-2000

**Figure 2.** UV absorption spectrum of standard sample solution of dabigatran etexilate obtained at an SF-2000 spectrophotometer

**Таблица 1. Физико-химические свойства дабигатрана этексилата мезилата**

**Table 1. Physico-chemical properties of dabigatran etexilate mesylate**

Свойство Property	Значение Value
LogP	3,8
Молекулярная масса, г/моль Molecular weight, g/mol	627,7
pKa	4,25
Растворимость в воде, мг/мл Solubility in water, mg/ml	1,8

При разработке методики за основу были взяты условия из статьи [10]. Условия хроматографирования были доработаны исходя из требований к высокой чувствительности методики. Была подобрана другая хроматографическая колонка меньшей длины с аналогичным типом сорбента. Концентрация аммония ацетата в буферном растворе была повышена до 14 мМ. Соотношение подвижной фазы А и подвижной фазы В было изменено до 55:45 соответственно. Температура термостата колонки была увеличена до 40 °С. Детектирование велось при длине волны 316 нм (рисунок 3).

В условиях пробоподготовки были заменены растворители. Использовали те же растворы, которые анализировали на СФ-2000. При получении растворов путем разбавления второго разведения раствори-

телем, представляющим из себя смесь компонентов подвижной фазы, форма пика была хуже, чем при использовании 0,1 М хлороводородной кислоты.

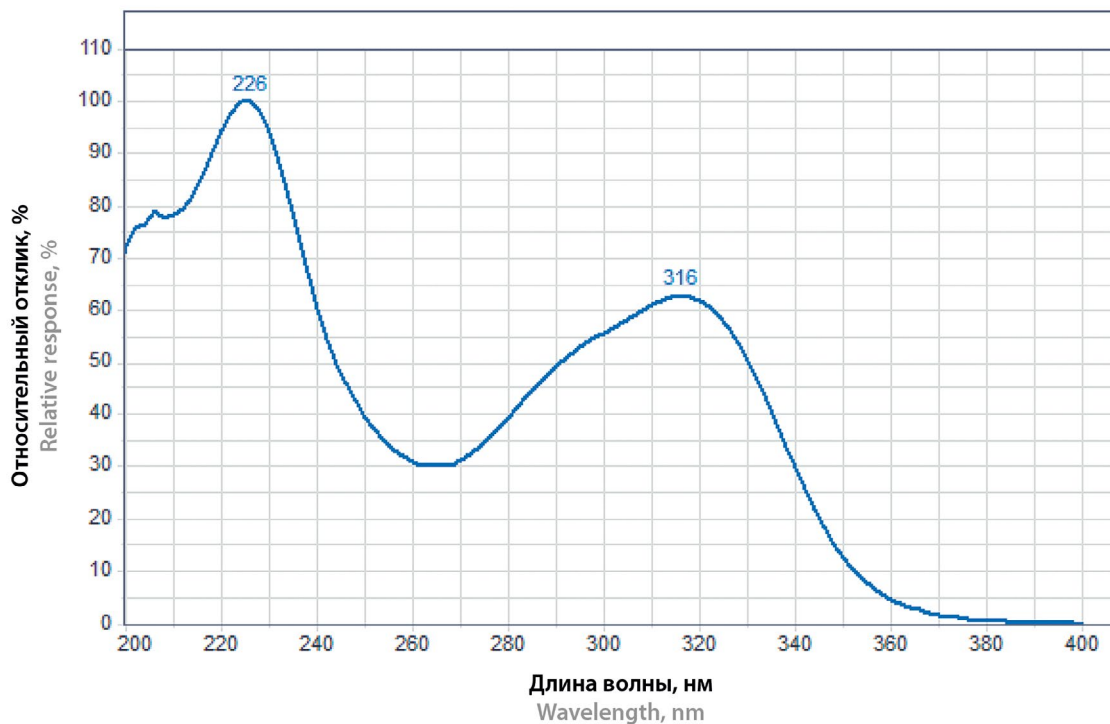
### Валидация методик

Валидацию проводили согласно решению Совета Евразийской экономической комиссии от 03.11.2016 г. (ред. от 12.04.2024 г.) № 85 «Об утверждении Правил проведения исследований биоэквивалентности лекарственных препаратов в рамках Евразийского экономического союза», приложение 7, раздел 2, пункт 20. Были оценены валидационные характеристики: селективность, градуировочные кривые (линейность методики), правильность и повторяемость в течение 1 дня, правильность и прецизионность в разные дни, робастность, стабильность растворов при хранении.

### Селективность

Для оценки селективности измеряли оптическую плотность и хроматографировали растворитель (0,1 М хлороводородную кислоту), растворы плацебо, раствор биорелевантной среды FaSSGF, рабочие градуировочные растворы (РГР) и рабочие растворы для контроля качества (РПКК) с теоретической концентрацией дабигатрана этексилата 100 %.

Оптическая плотность растворителя, раствора плацебо, биорелевантной среды растворения не превышала 0,0060.



**Рисунок 3. УФ-спектр поглощения, снятый в максимуме пика дабигатрана на хроматограмме раствора стандартного образца дабигатрана этексилата**

**Figure 3. UV absorption spectrum obtained at the maximum of the dabigatran peak on a chromatogram of standard sample solution of dabigatran etexilate**

На хроматограммах аналогичных растворов отсутствовали значимые пики со временем удерживания, близким ко времени удерживания дабигатрана этексилата (таблица 2).

Методика является селективной, так как компоненты растворителя, биорелевантной среды растворения и плацебо не мешают определению дабигатрана этексилата.

**Таблица 2.** Типичные хроматограммы и средние оптические плотности испытуемых растворов для определения селективности методики

**Table 2.** Typical chromatograms and average optical densities of the test solutions tofor determinnatioe ofthe selectivity of the techniquemethod's selectivity

Наименование пробы Name of the sample	Хроматограмма Chromatogram	Средняя оптическая плотность Average optical density
Растворитель (0,1 М хлороводородная кислота) Solvent (0.1 M hydrochloric acid)		0,0021
Раствор плацебо Placebo solution		0,0054
Раствор биорелевантной среды растворения FaSSGF Solution of a biorelevant dissolution medium FaSSGF		0,0049
РГР с концентрацией дабигатрана этексилата 100 % Working calibration solution with 100 % concentration of dabigatran etexilate		0,4134
РРК с концентрацией дабигатрана этексилата 100 % Working solution for quality control with 100 % concentration of dabigatran etexilate		0,4194

### Линейность

Диапазон валидации методик задавали таким образом, чтобы охватить фактический диапазон применения методики. Восемь градуировочных уровней обеспечивали диапазон от 1,11 до 122,22 % (таблица 3).

**Таблица 3. Итоги оценки РГР одного аналитического цикла**

**Table 3. Results of the evaluation of working calibration solutions of one analytical run**

Номер РГР Number of the working calibration solution	Номинальная концентрация, мкг/мл Nominal concentration, mcg/ml	Номинальная концентрация, % Nominal concentration, %	Фактическая концентрация, мкг/мл Actual concentration, mcg/ml	Средняя площадь пика Average peak area	Средняя оптическая плотность раствора Average optical density of the solution
1	0,13	1,11	0,13	5,57	0,0049
2	0,33	2,78	0,33	13,78	0,0118
3	0,67	5,56	0,67	27,53	0,0235
4	3,33	27,78	3,33	137,52	0,1165
5	6,67	55,56	6,66	275,12	0,2318
6	10,00	83,33	9,99	412,51	0,3496
7	12,00	100,00	11,98	495,06	0,4182
8	14,67	122,22	14,64	605,12	0,5112

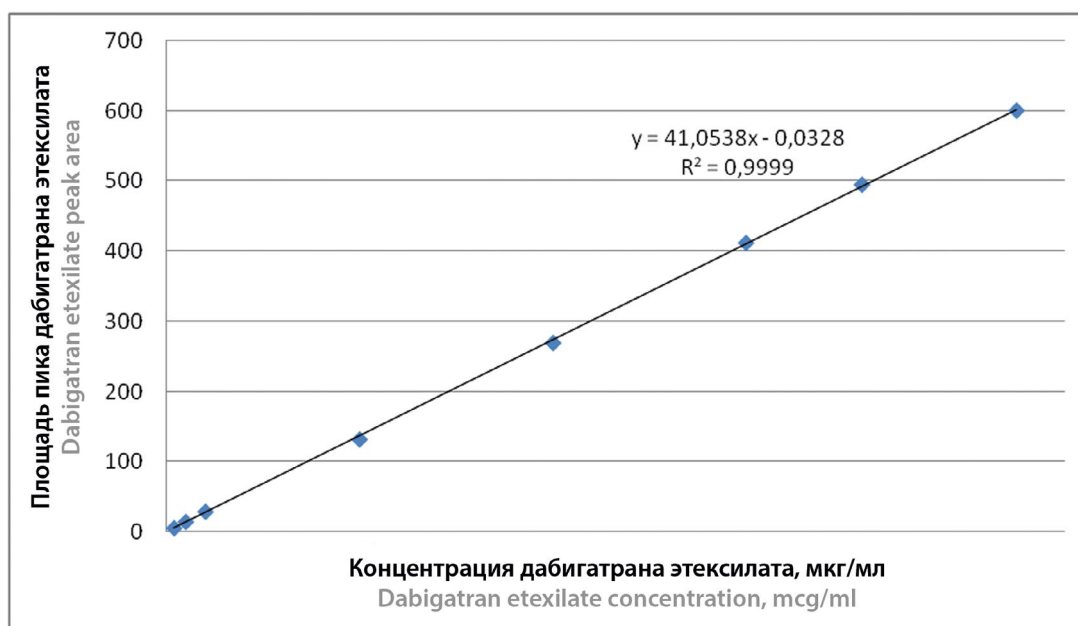
РГР готовили с использованием стандартного образца дабигатрана этексилата мезилата аналогично модельным испытуемым растворам без участия компонентов плацебо и капсулы.

Для каждого аналитического цикла была построена линейная зависимость отклика (площади пика или оптической плотности) от концентрации раствора (рисунки 4–5). Линейность методики считалась удовлетворительной, так как для каждого аналитического цикла коэффициент корреляции составил более 0,99 (таблицы 4–5).

**Таблица 4. Результаты оценки линейности аналитической методики ВЭЖХ-ДМД**

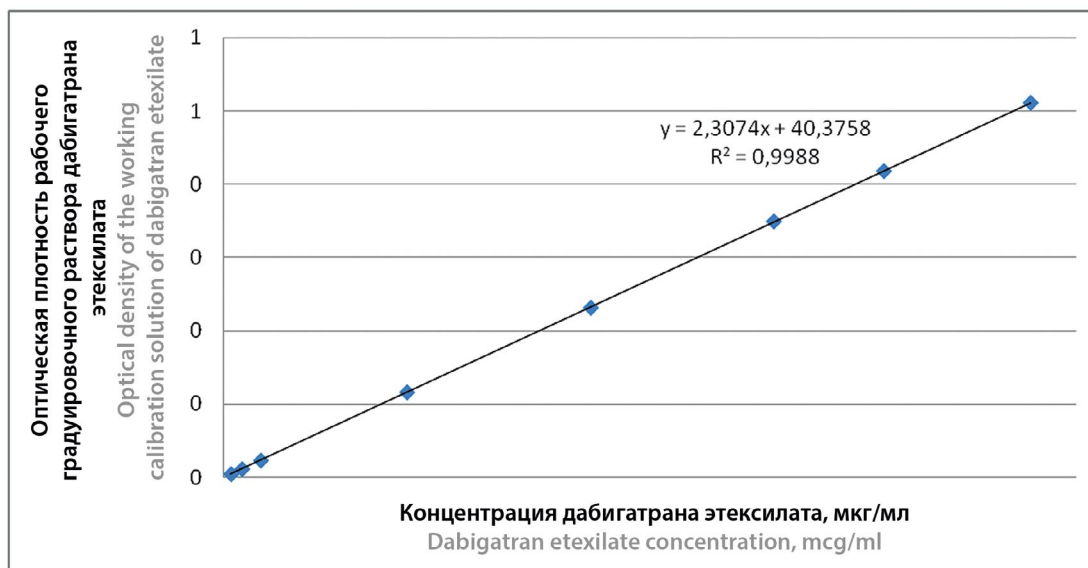
**Table 4. Results of the evaluation of the HPLC-DAD analytical method's linearity**

Аналитический цикл Analytical run	Коэффициент корреляции (R) Correlation coefficient (R)	Свободный член линейной зависимости (a) Intercept (a)	Угловой коэффициент линейной зависимости (b) Slope (b)
1	0,9999	-0,2002	41,1322
2	0,9996	-0,8075	40,9771
3	0,9999	0,4072	41,2874
4	0,9995	1,9016	40,3229
5	0,9996	2,4508	40,1601



**Рисунок 4. Градуировочный график зависимости отношения площади пика к концентрации дабигатрана этексилата**

**Figure 4. Calibration graph of the ratio of the peak area to the concentration of dabigatran etexylate**



**Рисунок 5.** Градуировочный график зависимости отношения оптической плотности растворов к концентрации дабигатрана этексилата

**Figure 5.** Calibration graph of the ratio of the optical density of solutions to the concentration of dabigatran etexilate

**Таблица 5.** Результаты оценки линейности аналитической методики с применением УФ-спектрофотометрии

**Table 5.** Results of the evaluation of UV spectrophotometry analytical method's linearity

Аналитический цикл Analytical run	Коэффициент корреляции (R) Correlation coefficient (R)	Свободный член линейной зависимости (a) Intercept (a)	Угловой коэффициент линейной зависимости (b) Slope (b)
1	0,9994	2,3074	40,3758
2	0,9994	2,5344	40,3512
3	0,9994	2,9781	40,3044
4	0,9998	1,4837	41,2690
5	0,9996	0,8763	41,1138

### Правильность, повторяемость и прецизионность

Правильность методики оценивали по показателю «открываемость» для серии РРКК. Готовили по 3 раствора каждой концентрации. Открываемость (R) должна находиться в пределах 95–105 %. Для оценки повторяемости и внутрилабораторной прецизионности рассматривали относительное стандартное отклонение (RSD) полученных значений открываемости среди растворов одного уровня концентрации, а также оценивали значение RSD между аналитическими циклами. Во всех случаях относительное стандартное отклонение не превышало 3 % (таблицы 6–7).

### Робастность

Устойчивость методик оценивали путем анализа раствора стандартного образца дабигатрана этексилата мезилата с уровнем концентрации 100 % от номинальной концентрации, изменяя условия проведения анализа. Параметрами для оценки устойчивости в случае метода ВЭЖХ-ДМД были выбраны: скорость потока подвижной фазы, температура термостата колонки, длина волны, соотношение органической и водной фаз. Для УФ-спектрофотометрии оценивали изменение длины волны. Методики анализа являются устойчивыми, изменения условий не оказывают значительного влияния на полученные результаты (таблица 8).

### Стабильность растворов

Для оценки стабильности анализировали по три РГР и РРКК с уровнем концентрации дабигатрана этексилата 100 % до и после хранения. Исходные и рабочие растворы хранили при комнатной температуре в течение 24 ч, что превышает среднюю длительность аналитического цикла при проведении ТСКР лекарственного препарата по разработанной методике, затем анализировали и сравнивали полученные значения с результатами свежеприготовленных растворов. Относительное стандартное отклонение полученных концентраций для одних и тех же растворов до и после хранения составляло менее 3 % (таблица 9). Испытуемые растворы стабильны в течение 24 ч.

**Таблица 6.** Результаты оценки параметров «правильность и повторяемость в течение 1 дня» и «правильность и прецизионность в разные дни» методом ВЭЖХ-ДМД

**Table 6.** Results of the evaluation of the parameters "accuracy and repeatability within 1 day" and "accuracy and precision on different days" using the HPLC-DAD analytical method

Уровень концентрации, % от номинальной Concentration level (relative to nominal), %	Найдено, мкг Found, mcg	Найдено другим химиком, мкг Found by another chemist, mcg	$R_{\text{ср. химиком}}$ , % $R_{\text{avg. by the first chemist}}$ , %	$R_{\text{ср. вторым химиком}}$ , % $R_{\text{avg. by another chemist}}$ , %	RSD первого аналитического цикла, % RSD of the first analytical run, %	RSD между аналитическими циклами, % RSD between analytical runs, %
1,11	0,14	0,14	104,21	104,56	1,20	0,82
5,56	0,67	0,67	99,92	99,88	1,06	1,97
27,78	3,34	3,34	101,01	100,22	0,37	0,99
83,33	9,88	9,94	98,86	99,49	1,59	0,76
100,00	11,93	11,99	99,59	100,13	0,33	0,34
122,22	14,59	14,41	99,65	98,43	1,55	1,66

**Таблица 7.** Результаты оценки параметров «правильность и повторяемость в течение 1 дня» и «правильность и прецизионность в разные дни» методом УФ-спектрофотометрии

**Table 7.** Results of the evaluation of the parameters "accuracy and repeatability within 1 day" and "accuracy and precision on different days" using the UV spectrophotometry analytical method

Уровень концентрации, % от номинальной Concentration level (relative to nominal), %	Найдено, мкг Found, mcg	Найдено другим химиком, мкг Found by another chemist, mcg	$R_{\text{ср. первым химиком}}$ , % $R_{\text{avg. by the first chemist}}$ , %	$R_{\text{ср. вторым химиком}}$ , % $R_{\text{avg. by another chemist}}$ , %	RSD первого аналитического цикла, % RSD of the first analytical run, %	RSD между аналитическими циклами, % RSD between analytical runs, %
1,11	0,13	0,13	101,92	102,36	1,82	1,20
5,56	0,67	0,67	101,21	100,15	0,25	0,68
27,78	3,34	3,33	101,13	100,76	0,79	0,30
83,33	9,89	9,91	99,06	99,03	0,12	0,61
100,00	11,79	12,01	98,45	100,86	0,16	1,97
122,22	14,25	14,84	97,16	101,19	0,12	1,77

**Таблица 8.** Влияние изменения хроматографических условий и условий спектрофотометрирования на получаемые результаты

**Table 8.** Effect of changes in chromatographic and spectrophotometry conditions on the obtained results

Изменяемый параметр анализа, ед.изм. Modified analysis parameter, UOM	Расчитанная концентрация раствора, мкг/мл Calculated concentration of the solution, mcg/ml
Метод ВЭЖХ-ДМД HPLC-DAD method	
Стандартные условия Standard conditions	
-	12,07
Изменение скорости потока, мл Flow rate, ml	
0,9	12,05
1,1	12,04
Изменение температуры термостата колонки, °С Column thermostat temperature, °C	

38	12,08
42	12,07
Изменение длины волны при детектировании, нм Wavelength, nm	
314	12,10
318	12,05
Изменение соотношения органической и водной фаз Ratio of organic and aqueous phases	
53:47 (% об./об.) 53:47 (% v/v)	12,06
57:43 (% об./об.) 57:43 (% v/v)	12,01
Метод УФ-спектрофотометрии UV spectrophotometry method	
Стандартные условия Standard conditions	
-	12,04
Изменение длины волны, нм Wavelength, nm	
321	12,01
325	12,03

**Таблица 9. Результаты изучения стабильности растворов**

**Table 9. Results of solutions stability study**

Анализируемый раствор Solution	Найдено до хранения, мкг/мл Found before storage, mcg/ml	Найдено после хранения, мкг/мл Found after storage, mcg/ml	RSD, %
РГР № 1 Calibration solution № 1	11,91	12,06	1,77
РГР № 2 Calibration solution № 2	12,08	12,07	1,79
РГР № 3 Calibration solution № 3	12,04	12,08	1,51
РПК № 1 Calibration solution № 1	12,06	11,93	1,40
РПК № 2 Calibration solution № 2	11,99	12,14	0,43
РПК № 3 Calibration solution № 3	11,97	12,01	0,29

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, подобраны оптимальные условия пробоподготовки, хроматографические и спектрофотометрические условия для количественной оценки дабигатрана этексилата, высвобождаемого в среду растворения FaSSGF.

Проведена валидация аналитической методики в диапазоне от 1,11 до 122,22 % от номинального содержания дабигатрана этексилата в испытуемых растворах. Аналитические методики обеспечивают воспроизводимые и достоверные результаты в заданном диапазоне и пригодны для количественного определения дабигатрана этексилата при проведении ТСРР в биорелевантной среде растворения FaSSGF.

## ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Lutsey P. L., Zakai N. A. Epidemiology and prevention of venous thromboembolism. *Nature Reviews Cardiology*. 2023;20(4):248–262. DOI: 10.1038/s41569-022-00787-6.
- Cheng J. W. M., Vu H. Dabigatran Eteixilate: An Oral Direct Thrombin Inhibitor for the Management of Thromboembolic Disorders. *Clinical Therapeutics*. 2012;34(4):766–787. DOI: 10.1016/j.clinthera.2012.02.022.
- Manjula S., Krishna Kumar M. Expert Opinion on the Usage of Novel Oral Anticoagulants in Clinical Conditions in Indian Settings. *Asian Journal of Research in Cardiovascular Diseases*. 2024;6(1):16–24.
- Gunawardena T. Direct Oral Anticoagulants: A Review for the Non-Specialist. *Hematology Reports*. 2021;13(4):9239. DOI: 10.4081/hr.2021.9239.
- Bourderi-Cambon A., Fadhlououi K., Garrait G., Lainé E., Dhifallah I., Rossano M., Caisse P., Beyssac E. Improving In Vitro–In Vivo Correlation (IVIVC) for Lipid-Based Formulations: Overcoming Challenges and Exploring Opportunities. *Pharmaceutics*. 2025;17(10):1310. DOI: 10.3390/pharmaceutics17101310.
- Chai F., Sun L., Ding Y., Liu X., Zhang Y., Webster T. J., Zheng C. A Solid self-nanoemulsifying System of the BCS Class IIb Drug Dabigatran Eteixilate to Improve Oral Bioavailability. *Nanomedicine*. 2016;11(14):1801–1816. DOI: 10.2217/nnm-2016-0138.
- Harada A., Ikushima I., Haranaka M., Yanagihara A., Nakayama D. Bioequivalence of a Newly Developed Dabigatran Eteixilate Tablet Versus the Commercial Capsule and Impact of Rabepazole-Induced Elevated Gastric pH on Exposure in Healthy Subjects. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 2019;20(3):249–258. DOI: 10.1007/s40256-019-00377-x.
- Staniszewska M., Myslińska D., Romański M., Polak S., Garbacz G., Dobosz J., Smoleński M., Paszkowska J., Danielak D. In Vitro Simulation of the Fasted Gastric Conditions and Their Variability to Elucidate Contrasting Properties of the Marketed Dabigatran Eteixilate Pellet-Filled Capsules and Loose Pellets. *Molecular Pharmaceutics*. 2024;21(5):2456–2472. DOI: 10.1021/acs.molpharmaceut.4c00025.
- Yan Y., Li A., Si Z., Zhang X. Solubility measurement, correlation and molecular simulation of dabigatran eteixilate mesylate polymorphs in five mono-solvents. *Journal of Molecular Liquids*. 2020;314:113676. DOI: 10.1016/j.molliq.2020.113676.
- Bernardi R. M., D'Avila F. B., Todeschini V., Fröhlich P. E., Bergold A. M. A comparative study on the analytical performance of a charged aerosol detector and an ultraviolet detector for the RP-LC analysis of dabigatran eteixilate in capsules. *Analytical Methods*. 2013;5(18):4777. DOI: 10.1039/c3ay40938d.