

УДК 543.544.5.068.7:543.062:615.281.8  
DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.1.9952>

## ВАЛІДАЦІЯ ВЕРХ-МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЕНІСАМІУМУ ЙОДИДУ В АКТИВНОМУ ФАРМАЦЕВТИЧНОМУ ІНГРЕДІЄНТІ

О. В. Бурмака

ПАТ «Фармак», Київ

[o.burmaka@farmak.ua](mailto:o.burmaka@farmak.ua)

**Мета роботи.** Валідація методики кількісного визначення енісаміуму йодиду в активному фармацевтичному інгредієнті із застосуванням методу ВЕРХ.

**Матеріали і методи.** Використано стандартний зразок енісаміуму йодиду та зразок активного фармацевтичного інгредієнта виробництва ПАТ «Фармак». Дослідження проведено із застосуванням рідинного хроматографа «Agilent 1200», який обладнано дегазатором, чотириканальним насосом, автоматичним вводом проби, термостатом хроматографічної колонки та діодноматричним детектором. Використано хроматографічну колонку Zorbax Eclipse XDB – C18 розміром 150 x 4,6 мм, заповнену октадецилсилільним сорбентом із розміром часток 5 мкм.

**Результати й обговорення.** У ході роботи досліджено оптимальні умови підготовки проби і хроматографування та встановлено вимоги до придатності хроматографічної системи.

Валідацію аналітичної методики проведено відповідно до рекомендацій Міжнародної конференції з гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських препаратів для людини (ICH). Зокрема, досліджено такі валідаційні характеристики аналітичної методики: специфічність, лінійність, правильність, прецизійність, робастність. Вивчення лінійності методики проведено на модельних сумішах, в яких концентрація енісаміуму йодиду змінювалася в діапазоні від 80 до 120 % відносно номінальної концентрації (0,4 мг/мл) енісаміуму йодиду у випробовуваному розчині. Коефіцієнт кореляції ( $r$ ) між введеним та знайденим значенням для енісаміуму йодиду склав 0,99995.

**Висновки.** Проведено валідацію методики кількісного визначення енісаміуму йодиду та експериментально доведено, що запропонована методика придатна для кількісного визначення енісаміуму йодиду в активному фармацевтичному інгредієнті.

**Ключові слова:** енісаміум йодид; активний фармацевтичний інгредієнт; кількісне визначення; ВЕРХ; валідація.

**Вступ.** Енісаміум йодид – антивірусний хіміотерапевтичний засіб для лікування грипу та ГРВІ [1, 2]. Відповідно до вимог ICH Q6 [3] активний фармацевтичний інгредієнт (АФІ) має контролюватися за вмістом основного компоненту, а відповідно до ICH Q2R [4] аналітична методика має бути валідована. Валідацію розробленої аналітичної методики необхідно проводити відповідно до рекомендацій Міжнародної конференції з гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських препаратів для людини (ICH) [4].

Мета роботи – валідація методики кількісного визначення енісаміуму йодиду в активному фармацевтичному інгредієнті із застосуванням методу високоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

**Матеріали і методи.** Умови хроматографування при кількісному визначенні енісаміуму йодиду в активному фармацевтичному інгредієнті ми досліджували на етапі розробки методики визначення супровідних домішок в АФІ [5, 6]. Для покращення характеристик другого піка енісаміуму йодиду оптимізовано об'єм інжекції – 10 мкл та довжину хвилі детектування – 225 нм.

Хроматографічні вимірювання виконано із застосуванням хроматографа фірми «Agilent Technologies»

(США), серії 1200. Для зважування стандартних зразків та реактивів використовували ваги електронні «Mettler Toledo AB54S» (Швейцарія). У роботі використано посуд класу А фірми «Simax» (Чехія).

У рамках валідації аналітичної методики використано субстанцію енісаміуму йодиду виробництва ПАТ «Фармак», серія 10416. Для приготування розчину порівняння та модельних сумішей використано стандартний зразок енісаміуму йодиду виробництва ПАТ «Фармак», серія 07–16.

У процесі приготування рухомої фази використано такі реактиви: вода очищена, яку отримано із установки Milli Q, виробництва «Millipore Corporation» (Німеччина); динатрію гідрогенфосфат безводний «Sigma-Aldrich», кат. № 04276; натрій октан-1-сульфонат моногідрат «Sigma-Aldrich», кат. № 74882; фосфорна кислота 85 % «Sigma-Aldrich», кат. № 04107; ацетонітрил «Sigma-Aldrich», кат. № 34851. Для приготування 0,1 М розчину натрію гідроксиду застосовано натрію гідроксид «Sigma-Aldrich», кат. № 06203.

*Буферний розчин pH 2,5.* 1,085 г натрію октан-1-сульфонату моногідрату та 1,000 г динатрію гідрогенфосфату безводного розчиняють в 900 мл води очищеної, доводять pH розчину фосфорною кислотою

до  $(2,5 \pm 0,05)$  та доводять об'єм розчину водою очищеною до 1000,0 мл.

**Рухома фаза.** До 300 мл *буферного розчину pH 2,5* додають 440 мл води очищеної та 260 мл ацетонітрилу, перемішують та фільтрують через фільтр із розміром пор 0,45 мкм.

**Випробовуваний розчин.** 0,0400 г субстанції розчиняють у рухомій фазі і доводять об'єм розчину рухомою фазою до 100,0 мл.

**Розчин порівняння.** 0,0400 г стандартного зразка, або робочого стандартного зразка розчиняють у рухомій фазі і доводять об'єм розчину рухомою фазою до 100,0 мл.

Умови хроматографування:

**Хроматографічна колонка:** Zorbax Eclipse XDB – C18 розміром 150 x 4,6 мм, заповнена сорбентом октадецилсилільним з розміром часток 5 мкм.

**Швидкість рухомої фази:** 0,5 мл/хв.

**Режим елювання:** ізократичний.

**Довжина хвилі детектування:** 225 нм.

**Температура термостату колонки:** 30 °C.

**Об'єм інжекції:** 10 мкл.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо для хроматограми розчину порівняння витримуються такі умови:

– відносне стандартне відхилення, розраховане для площ другого основного піка становить не більше 0,35 %;

– симетрія другого піка енісаміуму йодиду – від 0,8 до 1,5;

– число теоретичних тарілок для другого піка енісаміуму йодиду становить не менше 3000.

Вміст енісаміуму йодиду ( $X$ ) в АФІ, у %, у перерахунку на суху речовину, розраховують за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot 100 \cdot (100 - W_0) \cdot P_0}{S_0 \cdot 100 \cdot m_1 \cdot (100 - W_1) \cdot 100} \cdot 100 = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot (100 - W_0) \cdot P_0}{S_0 \cdot m_1 \cdot (100 - W_1)}$$

де  $S_1$  – середнє значення площ піків енісаміуму (других основних піків), розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  – середнє значення площ піків енісаміуму (других основних піків), розраховане з хроматограм розчину порівняння;

$m_1$  – маса наважки субстанції, взята для приготування випробовуваного розчину, в грамах;

$m_0$  – маса наважки стандартного зразка, або робочого стандартного зразка енісаміуму йодиду, взята для приготування розчину порівняння, в грамах;

$W_0$  – втрата в масі при висушуванні стандартного зразка енісаміуму йодиду, взятого для приготування розчину порівняння, у відсотках;

$W_1$  – втрата в масі при висушуванні зразка випробовуваної субстанції, взятої для приготування випробовуваного розчину, у відсотках;

$P_0$  – вміст основної речовини в енісаміуму йодиді, в перерахунку на суху речовину, взятого для приготування розчину порівняння, у відсотках.

**Результати й обговорення.** При дослідженні специфічності методики хроматографували розчин порівняння, випробовуваний розчин та розчинник (рухомою фазою), в результаті чого встановлено, що на хроматограмі рухомої фази відсутні піки при часі виходу енісаміуму йодиду. Таким чином, отримані результати доводять, що запропоновані умови хроматографування забезпечують специфічність визначення енісаміуму йодиду. Хроматограми рухомої фази, розчину порівняння та випробовуваного розчину наведено на рисунках 1–3.

Вивчення лінійності проводили на модельних сумішах, в яких концентрація енісаміуму йодиду лінійно змінювалася в діапазоні від 80 до 120 % відносно номінальної концентрації енісаміуму йодиду у випробовуваному розчині.

Розрахунок параметрів лінійної залежності проводили методом найменших квадратів [7]. Графік лінійної залежності наведено на рисунку 4.

Результати вивчення лінійності методики наведено в таблиці 1. Як впливає із представлених даних, метрологічні характеристики лінійності відповідають вимогам прийнятності, рекомендовані ДФУ [8].

Прецизійність методики вивчали на рівнях збіжності та внутрішньолабораторної прецизійності.

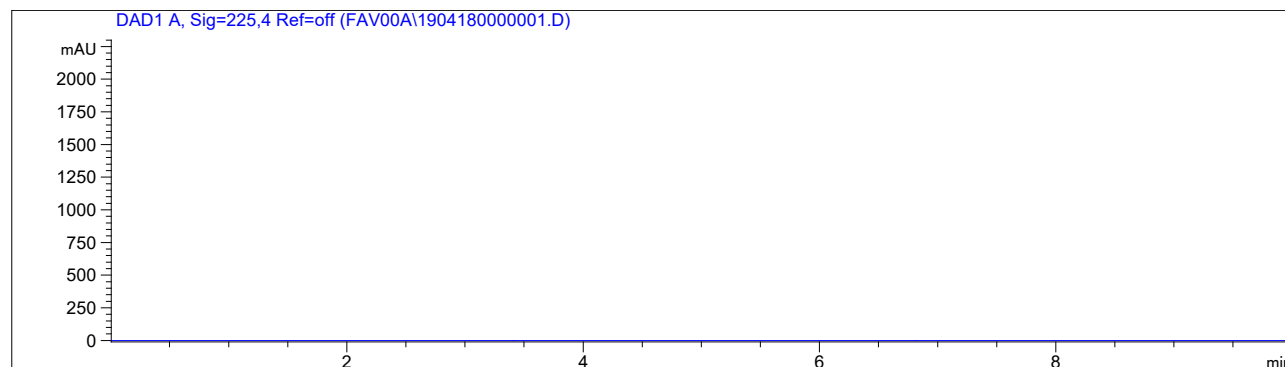


Рис. 1. Типова хроматограма рухомої фази.

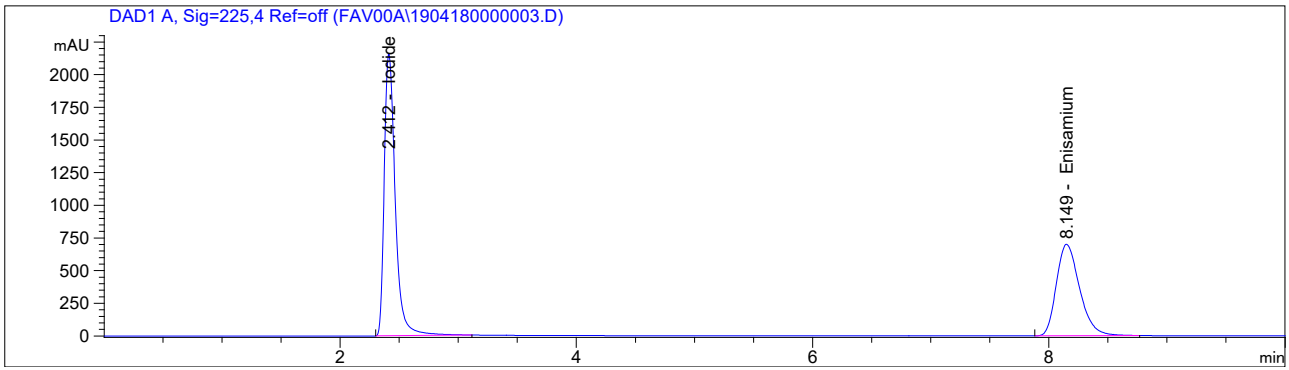


Рис. 2. Типова хроматограма розчину порівняння.

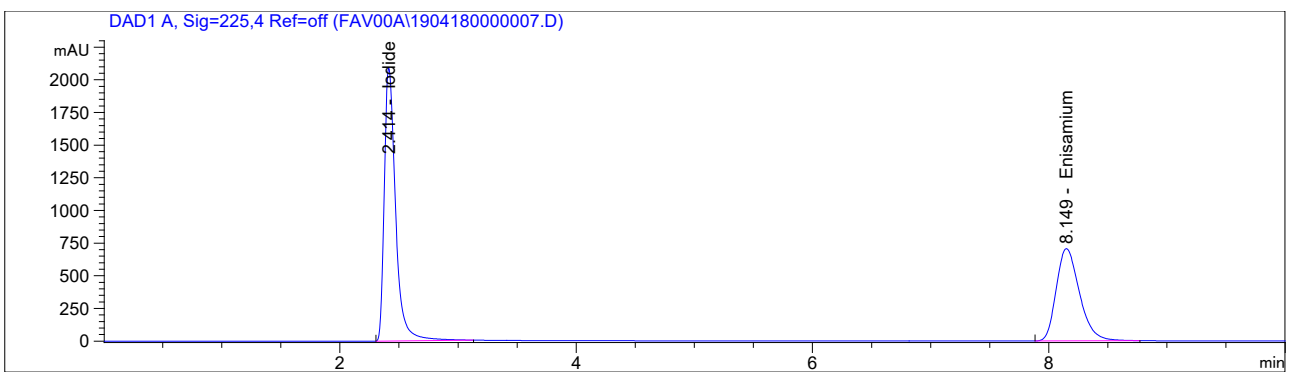


Рис. 3. Типова хроматограма випробовуваного розчину.

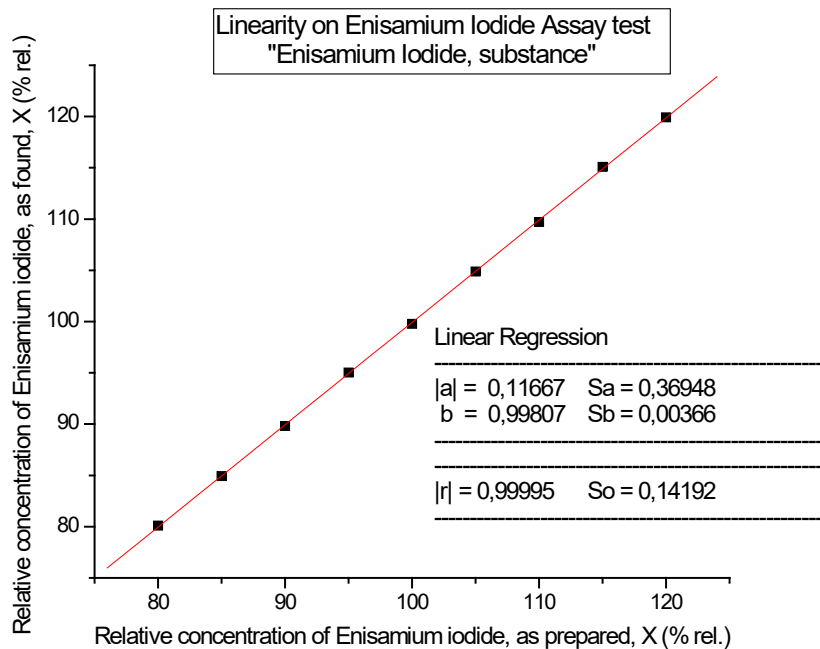


Рис. 4. Графік лінійної залежності площі другого піка енісаміуму від концентрації енісаміуму йодиду (в нормалізованих координатах).

**Таблиця 1.** Метрологічні характеристики лінійності методики кількісного визначення енісаміуму методом високоефективної рідинної хроматографії в активному фармацевтичному інгредієнті

Параметр	Отримане значення	Критерій прийнятності
$b$	0,99807	-
$s_b$	0,00366	-
$ a $	0,11667	$\leq 2,6$
$s_a$	0,36948	-
$s_o$	0,14192	-
$s_d/b$	0,14219	$\leq 0,84$
$ r $	0,99995	$\geq 0,99981$

**Примітки:**  $b$  – кутовий коефіцієнт для розрахованої лінійної залежності;

$s_b$  – стандартне відхилення константи  $b$ ;

$a$  – вільний член лінійної залежності;

$s_a$  – стандартне відхилення вільного члена лінійної залежності;

$s_o$  – залишкове стандартне відхилення;

$r$  – лінійний коефіцієнт кореляції.

Для оцінки збіжності готували та аналізували розчини порівняння та 6 випробовуваних розчинів із концентраціями діючої речовини на рівні 0,4 мг/мл. Розчини були приготовані із однієї і тієї ж серії АФІ.

Внутрішньолабораторну прецизійність досліджували порівнюючи отримані дані з результатами, отриманими іншим аналітиком, який наступного дня аналізував додаткові розчини порівняння та випробовувані розчини.

Результати перевірки прецизійності аналітичної методики наведено в таблиці 2.

Дані таблиці 2 підтверджують, що відносне стандартне відхилення (RSD) отриманих результатів для першого та другого аналітика, а також відносна різниця середніх значень результатів не перевищує 1,0 %, що свідчить про належну відтворюваність результатів.

При вивченні правильності запропонованої методики готували 3 серії модельних розчинів із концентрацією енісаміуму йодиду 80 %, 100 % та 120 % від-

носно концентрації енісаміуму йодиду в розчині порівняння в трьох повторностях для кожного концентраційного рівня. Результати визначення наведено в таблиці 3.

Довірчий інтервал ( $\Delta_z$ ) становить 0,38 %, критерій статистичної незначущості ( $\delta$ ) – 0,13 %, критерій практичної незначущості ( $\delta$ ) – 0,64 %. Систематична похибка ( $\delta$ ) аналітичної методики становить 0,03 %.

Систематична похибка нижче критерію статистичної та практичної незначущості ( $0,03 < 0,13$ ;  $0,03 < 0,64$ ), тому можна стверджувати, що правильність аналітичної методики достатня.

Робастність вивчали за стабільністю досліджуваних розчинів та надійністю хроматографічної процедури.

Стабільність випробовуваного розчину та розчину порівняння вивчали за зміною площ піків під час зберігання розчинів при температурі 25 °С. Було встановлено, що розчини порівняння та випробовувані розчини стабільні щонайменше протягом 24 год.

**Таблиця 2.** Результати вивчення прецизійності методики визначення енісаміуму методом високоефективної рідинної хроматографії

Розчин	Знайдено енісаміуму йодиду від введеного, %	
	1-й аналітик	2-й аналітик
1	100,1	100,0
2	99,8	99,8
3	100,2	100,2
4	100,1	100,1
5	100,3	99,6
6	100,4	100,1
Середнє	100,1	100,0
RSD <sub>x</sub> , %	0,20	0,23
RSD внутрішньолабораторної прецизійності, %	0,23	
Відносна різниця середніх значень, %	0,15	

Таблиця 3. Результати вивчення правильності методики визначення енісаміуму методом вискоефективної рідинної хроматографії

Розчин	Концентрація енісаміуму йодиду			
	Введено у модельну суміш (відносно концентрації у розчині порівняння), % $X_i = \frac{C_i}{C_s} \times 100$	Знайдено у модельній суміші (на підставі площ піків відносно концентрації у розчині порівняння), % $Y_i = \frac{S_i}{S_s} \times 100$	Розрахована щодо введеної кількості, % $Z_i = \frac{Y_i}{X_i} \times 100$	RSD ( $Z_i$ ), %
1	80,0	80,31	100,39	0,3
2	80,0	80,02	100,03	
3	80,0	79,81	99,76	
4	100,0	99,98	99,98	0,1
5	100,0	100,03	100,03	
6	100,0	100,12	100,12	
7	120,0	120,13	100,11	0,2
8	120,0	119,64	99,70	
9	120,0	120,16	100,13	
Середнє значення за всіма концентраційними рівнями			100,03	0,20

**Примітка:**  $X_i$  та  $Y_i$  – нормалізовані значення «знайдено/введено»;  
 $Z_i$  – відношення «знайдено/введено» енісаміуму йодиду, у %;  
 $C_i$  – концентрація енісаміуму йодиду в  $i$ -ому аналізованому розчині;  
 $C_{st}$  – концентрація енісаміуму йодиду в розчині порівняння;  
 $S_i$  – середня площа піків для  $i$ -того аналізованого розчину;  
 $S_{st}$  – середня площа піків для розчину порівняння.

Надійність хроматографічної процедури перевіряли за варіабельністю швидкості потоку рухомої фази, температури термостату колонки, складу рухомої фази, рН буферного розчину та застосування альтернативної хроматографічної колонки (колонки з іншим серійним номером). Відповідно до цього проводили хроматографування розчину порівняння та випробовуваного розчину з подальшою оцінкою кількісного вмісту енісаміуму йодиду.

В таблиці 4 наведено дані щодо робастності аналітичної методики.

Варіабельність результатів кількісного вмісту енісаміуму йодиду для кожної із умов відповідно до початкових умов становить не більше 1,0 %. Таким чином, аналітичну методику можна вважати робасною.

Розрахунок сумарної невизначеності операції прободготовки було проведено з огляду на дані, наведені в таблиці 5.

Розрахунок сумарної невизначеності для розчину порівняння:

$$\sqrt{0,5^2 + 0,12^2} = 0,51 \%$$

Розрахунок сумарної невизначеності для випробовуваного розчину:

$$\sqrt{0,5^2 + 0,12^2} = 0,51 \%$$

Сумарна прогнозована невизначеність прободготовки становить:

$$\Delta_{sp} = \sqrt{0,51^2 + 0,51^2} = 0,72 \%$$

Загальну невизначеність аналізу  $\Delta_{As}$  розраховували за наступним співвідношенням:

$$\Delta_{As} = \Delta_{SP}^2 + \Delta_{FAO}^2,$$

де  $\Delta_{SP}$  – невизначеність прободготовки;

$\Delta_{FAO}$  – невизначеність кінцевої аналітичної операції (в даному випадку – хроматографування), яку розраховували за рівнянням:

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2} \times \frac{RSD_{\max} \times t_{95\%,n-1}}{\sqrt{n}},$$

де  $\sqrt{2}$  – враховує наявність розчину порівняння та випробовуваного розчину;

$RSD_{\max}$  – відносне стандартне відхилення (%), що описане у вимогах до придатності хроматографічної системи;

$t_{95\%,n-1}$  – односторонній коефіцієнт Стюдента для імовірності 95 %;

$n$  – число паралельних хроматограм.

Таким чином, з огляду на дані RSD,  $\Delta_{FAO}$  становить:

$$\Delta_{FAO} = \sqrt{2} \times \frac{0,35 \times 2,92}{\sqrt{3}} = 0,83 \%$$

Тоді,  $\Delta_{As}$  складає  $\sqrt{0,72^2 + 0,83^2} = 1,1 \% < 1,5 \%$ .

Оскільки допустимі межі за кількісним визначенням субстанції становлять 98,5 – 101,5 %, то критерій

загальної невизначеності аналізу ( $\Delta_{As}$ ) становить 1,5 %.

Прогноз загальної невизначеності аналізу  $\Delta_{As}$  не перевищує критичного значення (1,5 %), тому методику вважають коректною та може відтворюватися в інших лабораторіях з необхідною прецизійністю.

**Таблиця 4.** Результати вивчення робасності методики визначення енісаміуму методом вискоефективної рідинної хроматографії

Умови, що змінювались	Результати вмісту енісаміуму йодиду в АФІ, %	
Швидкість потоку рухомої фази, в мл/хв	0,45	99,8
	0,50	100,2
	0,55	100,1
	RSD, %	0,21
Температура термостату колонки, в °С	25	100,3
	30	100,1
	35	99,7
	RSD, %	0,31
Склад рухомої фази: буферний розчин рН 2.5 : вода : ацетонітрил (об/об/об)	28:44:28	100,0
	30:44:26	100,3
	32:44:24	99,9
	RSD, %	0,21
рН буферного розчину	рН 2,4	99,7
	рН 2,5	100,2
	рН 2,6	100,1
	RSD, %	0,26
Серійний номер хроматографічної колонки	B16099	100,3
	USYT001583	99,8
	RSD, %	0,35

**Таблиця 5.** Вихідні дані для розрахунку невизначеності пробопідготовки

Операція	Дані для розрахунку	Невизначеність, %
<b>Розчин порівняння</b>		
Зважування стандартного зразка	З точністю до $\pm 0,0002$ г	Невизначеність зважування, при наважці 40 мг складає: (0,2 мг/40 мг $\times 100 = 0,5$ )
Доведення об'єму розчину до 100,0 мл	Колба на 100,0 мл	0,12
<b>Випробовуваний розчин</b>		
Зважування випробовуваної субстанції	З точністю до $\pm 0,0002$ г	Невизначеність зважування, при наважці 40 мг складає: (0,2 мг/40 мг $\times 100 = 0,5$ )
Доведення об'єму розчину до 100,0 мл	Колба на 100,0 мл	0,12

**Висновки.** Проведено валідацію методики кількісного визначення енісаміуму йодиду в АФІ із застосуванням методу ВЕРХ. Підтверджено специфічність аналітичної методики. Коефіцієнт кореляції лінійної залежності (r) між введеним та знайденим значенням для енісаміуму

йодиду становить 0,99995. Підтверджено правильність, прецизійність та робасність аналітичної методики.

Підтверджено стабільність випробовуваного розчину та розчину порівняння при їх зберіганні при кімнатній температурі щонайменше протягом 24 год.



Методика ВЕРХ кількісного визначення енісаміуму йодиду є придатною для контролю якості АФІ енісаміуму йодиду за показником «Кількісне визначення».

**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** author has no conflict of interest to declare.

## ВАЛИДАЦИЯ ВЭЖХ-МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЭНИСАМИУМА ИОДИДА В АКТИВНОМ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ИНГРЕДИЕНТЕ

**А. В. Бурмака**

ПАО Фармак, Киев

*a.burmaka@farmak.ua*

**Цель работы.** Валидация методики количественного определения энисамиума иодида в активном фармацевтическом ингредиенте с использованием ВЭЖХ.

**Материалы и методы.** Использовано стандартный образец энисамиума иодида и образец активного фармацевтического ингредиента производства ПАО «Фармак». В ходе работы было установлено оптимальный объем инъекции пробы 10 мкл, длину волны детектирования 225 нм, другие условия хроматографирования и требования к пригодности хроматографической системы.

Исследования проводили с использованием жидкостного хроматографа «Agilent 1200», оснащенного дегазатором, четырехканальным насосом, автоматическим вводом пробы, термостатом хроматографической колонки и диодноматричным детектором. Использовано хроматографическую колонку Zorbax Eclipse XDB – C18 размером 150 x 4,6 мм, заполненную октадецилсилильным сорбентом с размером частиц 5 мкм.

**Результаты и обсуждение.** Подтверждена селективность аналитической методики. Проведено валидацию аналитической методики в соответствии с рекомендациями Международной конференции по гармонизации технических требований к регистрации лекарственных препаратов для человека (ICH).

Изучение линейности проводили на модельных смесях, в которых концентрация энисамиума иодида линейно изменялась в диапазоне от 80 до 120 % относительно номинальной концентрации (0,4 мг/мл) энисамиума иодида в испытуемом растворе.

Подтверждены такие валидационные характеристики, как специфичность, правильность, прецизионность, робастность. Коэффициент корреляции (r) между введенным и найденным значением для энисамиума иодида составил 0,99995.

**Выводы.** Экспериментально подтверждено, что предложенная методика может использоваться для количественного определения энисамиума иодида в активном фармацевтическом ингредиенте.

**Ключевые слова:** энисамиум иодид; активный фармацевтический ингредиент; количественное определение; ВЭЖХ; валидация.

## VALIDATION OF THE HPLC ANALYTICAL PROCEDURE FOR ENISAMIUM IODIDE QUANTITATIVE DETERMINATION IN ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENT

**O. V. Burmaka**

Farmak JSC, Kyiv

*a.burmaka@farmak.ua*

**The aim of the work.** The work is devoted to validation of the analytical procedure for enisamium iodide quantitative determination in active pharmaceutical ingredient by the HPLC method.

**Materials and Methods.** The reference standard of enisamium iodide and the sample of active pharmaceutical ingredient produced by Farmak JSC were used. During the work, an optimal sample injection volume of 10  $\mu$ l, a detection wavelength of 225 nm, chromatographic conditions and requirements for the suitability of the chromatographic system were established. The study was carried out using Agilent 1200 liquid chromatograph equipped with a degasser, a four-channel pump, automatic sampler, a chromatographic column thermostat and a diode array detector. The Zorbax Eclipse XDB-C18 chromatographic column, 150 x 4.6 mm size, filled with octadecylsilyl sorbent, with a particle size of 5  $\mu$ m, was used.

**Results and Discussion.** The selectivity of the analytical method was confirmed.

Validation of the analytical procedure was carried out in accordance with the recommendations of the International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use (ICH).

Linearity studies were performed on model solutions in which the concentration of enisamium iodide varied linearly in the range from 80 % to 120 % relative to the nominal concentration (0.4 mg/ml) of enisamium iodide in the test solution.

Validation characteristics such as specificity, accuracy, precision, and robustness were confirmed.

The correlation coefficient ( $r$ ) between the fitted and observed value ( $r$ ) for enisamium iodide was 0.99995.

**Conclusions.** It was experimentally established that the described analytical procedure can be used for enisamium iodide assay test of active pharmaceutical ingredient.

**Key words:** enisamium iodide; active pharmaceutical ingredient; assay; HPLC; validation.

### Список літератури

1. Antiviral activity of enisamium against influenza viruses in differentiated normal human bronchial epithelial cells / D. Boltz, X. Peng, M. Muzzio [et al.] // The 3rd Antivirals Congress, 12–14 October 2014. – Amsterdam, 2014. – P. 46.
2. Противовирусная активность энисамиума (Амизона) в отношении вирусов гриппа в дифференцированных нормальных клетках эпителия бронхов человека / Д. Болц, С. Пен, М. Музцио [и др.] // Русский медицинский журнал. – 2015. – № 2. – С. 72–74.
3. Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substance and New Drug Products: Chemical Substances Q6A ICH Harmonised Tripartite Guideline 1999. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use.
4. Validation of analytical procedures: text and methodology / ICH Expert Working Group. ICH Harmonised Tripartite Guideline Q2 (R1). Step 4 version. – Guideline of European Medicines Agency. – London, 1995. – 13 p.
5. Бурмака А. В. Разработка методики контроля сопутствующих примесей субстанции энисамиума йодида / А. В. Бурмака, С. Н. Гуреева, В. М. Маргитич // Фармаком. – 2017. – № 3. – С. 17–25.
6. Бурмака О.В. Валідація методики визначення супровідних домішок в активній речовині противірусного засобу енिसаміуму йодиду / О. В. Бурмака, С. М. Гуреева, В. М. Маргітич // Запорозький медичинський журнал. – 2018. – № 5. – С. 708–716.
7. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – С. 891-893.
8. Державна Фармакопея України / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – С. 924-925.

### References

1. Boltz D, Peng X, Muzzio M, Dash P, Thomas P, Mehta R, et al. Antiviral activity of enisamium against influenza viruses in differentiated normal human bronchial epithelial cells. Proceedings of the 3rd Antivirals Congress; 2014 Oct 12-14; Amsterdam, Netherlands.
2. Bolts D, Pen S, Muzzio M, Dash P, Tomas P, Mekhta R, et al. Antiviral activity of enisamium (Amizon) against influenza viruses in differentiated normal human bronchial epithelial cells. [Противовирусная активность энисамиума (Амизона) в отношении вирусов гриппа в дифференцированных нормальных клетках эпителия бронхов человека]. Russkiy meditsinskiy zhurnal. 2015;2:72-4. Russian.
3. International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use (Chemical Substances Q6A). (1999). Specifications: Test Procedures and Acceptance Criteria for New Drug Substance and New Drug Products
4. European Medicines Agency (Guideline Q2 (R1)). (1995). Validation of analytical procedures: text and methodology.
5. Burmaka AV, Hureyeva SN, Marhitich VM. (2017). [Development of HPLC method for the determination of related substances in API enisamium iodide]. Farmakom. 3, 17-25. Russian.
6. Burmaka OV, Hureyeva, SM, Marhitich VM. (2018). [Validation of the method for determination of related substances in active antiviral ingredient of enisamium iodide]. Zaporozhskiy meditsinskiy zhurnal.
7. Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines. State Pharmacopoeia of Ukraine. [Державна Фармакопея України]. 2nd ed. Vol. 1. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines; 2015. Ukrainian.
8. Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines. State Pharmacopoeia of Ukraine. [Державна Фармакопея України]. 2nd ed. Vol. 1. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines; 2015. Ukrainian.

Надійшла до редакції / Received: 23.01.2019

Після доопрацювання / Revised: 18.02.2019

Прийнято до друку / Accepted: 20.02.2019

### Відомості про авторів:

**Бурмака О.В.** – начальник сектору міжнародної регуляції відділу фармацевтичної регуляції ПАТ «Фармак», Київ, Україна. E-mail: o.burmaka@farmak.ua, ORCID 0000-0003-4550-4010

### Information about authors:

**Burmaka O.V.** – head of International Regulation Division, Pharmaceutical Regulatory Department of Farmak JSC, Kyiv, Ukraine. E-mail: o.burmaka@farmak.ua, ORCID 0000-0003-4550-4010