

Д. С. Олійников<sup>1</sup>, А. Г. Каплаушенко<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ТОВ НВФ «МІКРОХІМ», Україна

93009, Україна, Луганська обл., м. Рубіжне, вул. Леніна, 33. E-mail: oleynikov@microkhim.com

<sup>2</sup> Запорізький державний медичний університет, Україна

## Розробка та валідація ВЕРХ-методики кількісного визначення ізосорбиду динітрату в матричних гранулах

Ізосорбиду динітрат – загальновизнаний засіб для купірування нападів стенокардії. На теперішній час великий інтерес представляють пролонговані форми ізосорбиду динітрату, зважаючи на їх високу антиангінальну ефективність та меншу частоту побічних ефектів, характерних для препаратів з негайним вивільненням.

**Мета.** Розробити методику кількісного визначення ізосорбиду динітрату в матричних гранулах з використанням високоефективної рідинної хроматографії та провести її валідацію.

**Результати.** Для визначення ізосорбиду динітрату методом високоефективної рідинної хроматографії з УФ-детектуванням були підібрані оптимальні хроматографічні умови з врахуванням впливу допоміжних речовин у складі лікарського засобу. Для доведення можливості застосування запропонованої методики у подальшому аналізі матричних гранул ізосорбиду динітрату було проведено її валідацію. Такі валідаційні параметри, як специфічність, лінійність, збіжність, правильність, внутрішньолабораторна точність, межа виявлення та межа кількісного визначення, робастність були оцінені за допомогою модельних розчинів.

**Експериментальна частина.** Хроматографічні дослідження проводили на рідинному хроматографі Shimadzu LC-20AD XR з діодно-матричним детектором за таких умов: хроматографічна колонка Supelco Discovery C18 (150 × 4,6 мм, 5 мкм); рухома фаза – вода Р – буферний розчин (рН 4,7) – метанол Р2 (35:10:55); режим елюювання – ізократичний; швидкість рухомої фази – 1,0 мл/хв; довжина хвилі детектування – 220 нм; програмне забезпечення – LCsolution, версія 1.24.SP.1.

**Висновки.** Розроблено нову методику кількісного визначення ізосорбиду динітрату в матричних гранулах з використанням високоефективної рідинної хроматографії. Проведено її валідацію і показано прийнятність для застосування.

**Ключові слова:** ізосорбиду динітрат; високоефективна рідинна хроматографія; валідація

**D. S. Oleynikov<sup>1</sup>, A. G. Kaplaushenko<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> RPF "MICROKHIM" LTD, Ukraine

<sup>2</sup> Zaporizhzhia State Medical University, Ukraine

### Development and validation of the HPLC-procedure for the quantitative determination of isosorbide dinitrate in matrix granules

Isosorbide dinitrate is a universally recognized drug for the relief of angina attacks. Today, prolonged forms of isosorbide dinitrate are of great interest due to their high antianginal efficacy and lower frequency of side effects that are characteristic for drugs with immediate release.

**Aim.** To develop the procedure for the quantitative determination of isosorbide dinitrate in matrix granules using high performance liquid chromatography and validate it.

**Results.** To determine isosorbide dinitrate by the method of high performance liquid chromatography with UV-detection the optimal chromatographic conditions were selected taking into account the effect of excipients in the composition of the medicine. To prove the possibility of applying the procedure proposed in the further analysis of matrix granules of isosorbide dinitrate its validation was carried out. Such validation parameters as specificity, linearity, repeatability, accuracy, intermediate precision, limit of detection and limit of quantification, robustness were assessed using model solutions.

**Experimental part.** The chromatographic researches were performed using liquid chromatograph Shimadzu LC-20AD XR with diode-array detector under the following conditions: chromatographic column – Supelco Discovery C18 (150 × 4.6 mm, 5 μm); mobile phase – water R – buffer solution with (pH 4.7) – methanol R2 (35:10:55); elution mode – isocratic; flow rate of the mobile phase – 1.0 mL/min.; detection wavelength – 220 nm; software – LCsolution, 1.24.SP.1 version.

**Conclusions.** A new procedure for the quantitative determination of isosorbide dinitrate in matrix granules has been developed using high performance liquid chromatography. Its validation has been carried out, and its acceptability has been proven.

**Key words:** isosorbide dinitrate; high performance liquid chromatography; validation

**Д. С. Олейников<sup>1</sup>, А. Г. Каплаушенко<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> ООО НПФ «МИКРОХИМ», Украина

<sup>2</sup> Запорожский государственный медицинский университет, Украина

### Разработка и валидация ВЭЖХ-методики количественного определения изосорбида динитрата в матричных гранулах

Изосорбида динитрат – общепризнанное средство для купирования приступов стенокардии. Сегодня большой интерес представляют пролонгированные формы изосорбида динитрата ввиду их высокой антиангинальной эффективности и меньшей частоты побочных эффектов, характерных для препаратов с немедленным высвобождением.

**Цель.** Разработать методику количественного определения изосорбида динитрата в матричных гранулах с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии и провести ее валидацию.

**Результаты.** Для определения изосорбида динитрата методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием были подобраны оптимальные хроматографические условия, учитывающие влияние вспомогательных веществ в составе лекарственного средства. Для доказательства возможности применения предложенной методики в дальнейшем анализе матричных гранул изосорбида динитрата была проведена ее валидация. Такие валидационные параметры, как специфичность, линейность, сходимость, правильность, внутрилабораторная точность, предел обнаружения и предел количественного определения, робастность были оценены с помощью модельных растворов.

**Экспериментальная часть.** Хроматографические исследования проводили на жидкостном хроматографе Shimadzu LC-20AD XR с диодно-матричным детектором в следующих условиях: хроматографическая колонка Supelco Discovery C18 (150 × 4,6 мм, 5 мкм) подвижная фаза – вода Р – буферный раствор (рН 4,7) – метанол Р2 (35:10:55); режим элюирования – изократический; скорость подвижной фазы – 1,0 мл/мин; длина волны детектирования – 220 нм; программное обеспечение – LCsolution, версия 1.24.SP.1.

**Выводы.** Разработана новая методика количественного определения изосорбида динитрата в матричных гранулах с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. Проведена ее валидация и доказана приемлемость ее применения.

**Ключевые слова:** изосорбида динитрат; высокоэффективная жидкостная хроматография; валидация

Органічні нітрати посідають провідне місце серед препаратів, що призначаються хворим на ішемічну хворобу серця, і вже майже півстоліття застосовуються лікарями для лікування хворих на стенокардію. Ізосорбід динітрат як представник органічних нітратів є перспективною субстанцією для поглиблених досліджень з метою створення інноваційних лікарських форм [1–4].

Зважаючи на те, що ізосорбід динітрат – загальноновизнаний засіб для купірування нападів стенокардії, великий інтерес представляють його пролонговані форми завдяки їх високій антиангінальній ефективності та меншій частоті побічних ефектів, характерних для препаратів з негайним вивільненням [5–8].

Найбільш надійними пролонгованими формами препарату з точки зору біофармацевтичної поведінки є оральні лікарські форми, що містять активні фармацевтичні інгредієнти, розділені на багато окремих частинок (матричних гранул або пелет) [9–10].

Метою даної роботи є розробка та валидація методики кількісного визначення ізосорбиду динітрату в матричних гранулах з використанням методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

Кількісне визначення ізосорбиду динітрату в матричних гранулах методом високоефективної рідинної хроматографії проводять методом стандарту, хроматографуючи випробовуваний розчин та розчин порівняння (методика приготування – див. експериментальну частину) за умов, наведених нижче. Вміст ізосорбиду динітрату  $X$  в 1 г матричних гранул розраховують за формулою:

$$X = \frac{S_i \cdot m_0 \cdot 200 \cdot 50 \cdot P}{S_0 \cdot m \cdot 500 \cdot 25 \cdot 100},$$

де:  $S_i$  – середня площа піку ізосорбиду динітрату, розрахована за хроматограмами випробовуваного розчину;  $S_0$  – середня площа піку ізосорбиду динітрату,

розрахована за хроматограмами розчину порівняння;  $m_0$  – маса наважки робочого стандартного зразка (РСЗ) ізосорбиду динітрату, г;  $m$  – маса наважки порошку матричних гранул, г;  $P$  – вміст ізосорбиду динітрату в РСЗ, %.

Вміст ізосорбиду динітрату в 1 г матричних гранул має становити від 0,38 г до 0,42 г.

Результати вважаються придатними, якщо виконуються такі умови:

- коефіцієнт симетрії піку ізосорбиду динітрату повинен бути не менше 0,8 та не більше 1,5;
- ефективність хроматографічної системи, розрахована за піком ізосорбиду динітрату з хроматограм випробовуваного розчину і розчину порівняння, повинна бути не менше 750 теоретичних тарілок;
- відносне стандартне відхилення площ піків ізосорбиду динітрату, розраховане за піком ізосорбиду динітрату з хроматограм випробовуваного розчину і розчину порівняння, має відповідати вимогам ДФУ (2.2.46) [11].

#### **Валидація методики кількісного визначення ізосорбиду динітрату в матричних гранулах**

Валидацію методики проводили відповідно до рекомендацій Державної фармакопеї України (ДФУ) [11] та Керівництва СРМР/ICH/381/95 [12].

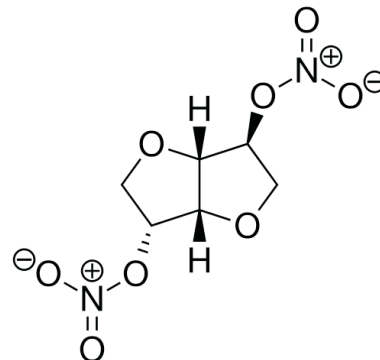


Рис. 1. Структурна формула ізосорбиду динітрату

Для методики кількісного визначення валідація проводиться за такими характеристиками: специфічність, правильність, прецизійність, лінійність, діапазон застосування і робастність, а також повинна бути розрахована повна невизначеність методики.

Вміст ізосорбиду динітрату в 1 г матричних гранул має становити від 0,38 г до 0,42 г (номінальний вміст 0,40 г в 1 г препарату), тобто  $\pm 5\%$  від номінального вмісту ( $B = 5$ ). Отже, максимально допустима невизначеність результатів кількісного визначення ізосорбиду динітрату повинна становити  $\Delta_{As} \leq B \cdot 0,32 = 1,6\%$ .

Невизначеність пробопідготовки повинна бути незначущою в порівнянні з максимально допустимою невизначеністю аналізу [11, 13]:  $\Delta_{Sp} \leq \Delta_{As} \cdot 0,32 = 1,6 \cdot 0,32 = 0,51\%$ .

#### Специфічність

Специфічність методики визначали шляхом вивчення впливу неактивних компонентів препарату (плацебо) на результати аналізу, порівнюючи хроматограми випробовуваного розчину, розчину порівняння, розчину плацебо та розчинника (рис. 2).

Критерії прийнятності:

- поділ додаткових піків (за умов присутності таких) з піком ізосорбиду динітрату на хроматограмі випробовуваного розчину;
- відсутність піків на хроматограмі розчину плацебо і розчинника з часом утримування, що збігається з часом утримування піку ізосорбиду динітрату.

Хроматограми, наведені на рис. 2, свідчать про задовільну специфічність методики кількісного визначення ізосорбиду динітрату.

#### Лінійність

Лінійність методики досліджували в діапазоні концентрацій від 80 % до 120 % [11] по відношенню до номінального значення; вимірювання проводили для 9 розчинів різної концентрації з кроком 5% ( $RSD_{range} = 13,69\%$ ) [13] в 3 паралельних визначеннях, за результатами яких будували залежність виду  $Y = b \cdot X + a$  в нормалізованій системі координат, де:

$$X = \frac{C_i}{C_{st}} \cdot 100\%; Y = \frac{S_i}{S_{st}} \cdot 100\%.$$

Отримана залежність має бути лінійною і для неї повинні виконуватися такі умови [13]:

1. Вільний член  $a$  повинен статистично не відрізнятися від нуля. Критерій статистичної незначущості – параметр  $a$  не повинен перевищувати свій довірчий інтервал, тобто:  $a \leq \Delta a = t(95\%, g - 2) \cdot s_a = 1,8946 \cdot s_a$ . Критерій практичної незначущості розраховують, якщо не виконується критерій статистичної незначущості, за формулою:

$$a \leq \frac{0,32 \cdot \Delta_{As}}{1 - (X_{min}/100)} = \frac{0,32 \cdot 1,6}{1 - (80/100)} = 2,56.$$

2. Відносне залишкове стандартне відхилення  $RSD_0$  не повинно перевищувати

$$RSD_0 \leq \frac{\Delta_{As}}{t(95\%, g - 2)} = \frac{1,6}{1,8946} = 0,8445.$$



а



б

Рис. 2. Типові хроматограми розчину РСЗ ізосорбиду динітрату (а), випробовуваного розчину (б), розчину плацебо (в), розчинника (г) (початок)

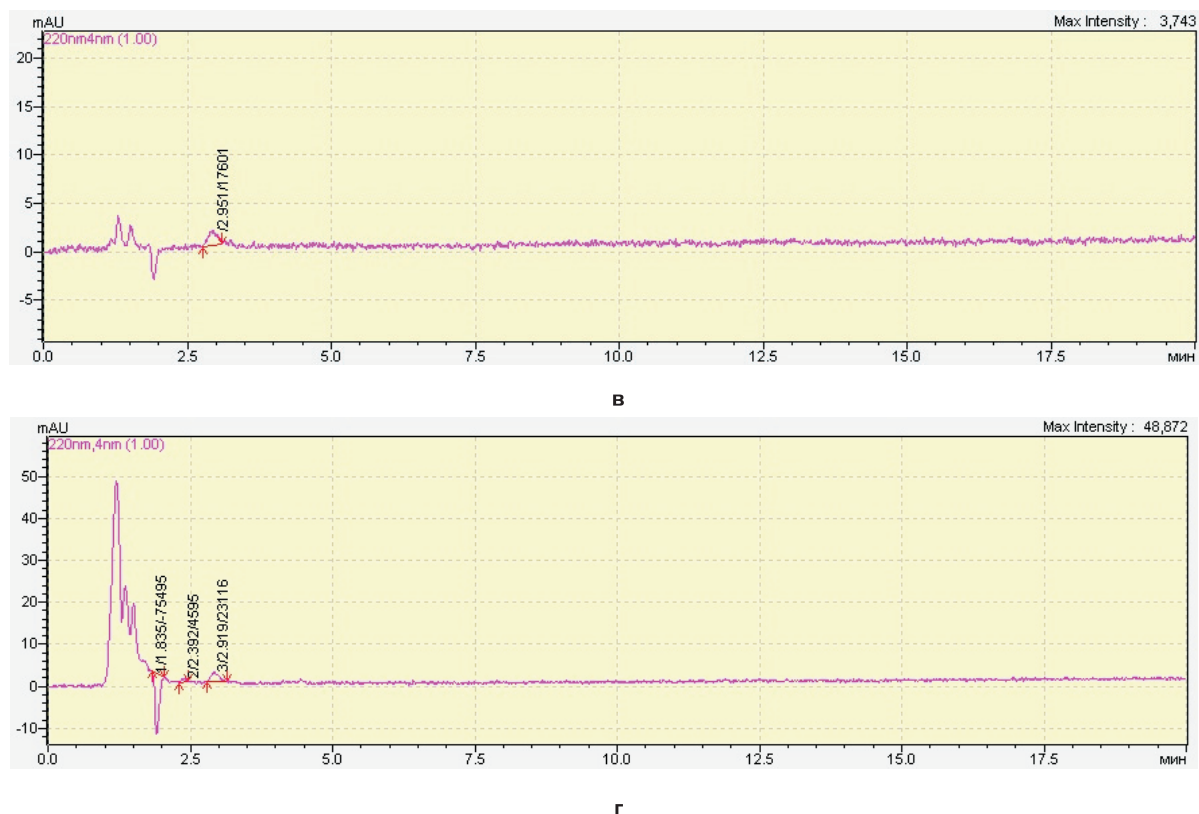


Рис. 2. Типові хроматограми розчину РСЗ ізосорбиду динітрату (а), випробовуваного розчину (б), розчину плацебо (в), розчинника (г) (закінчення)

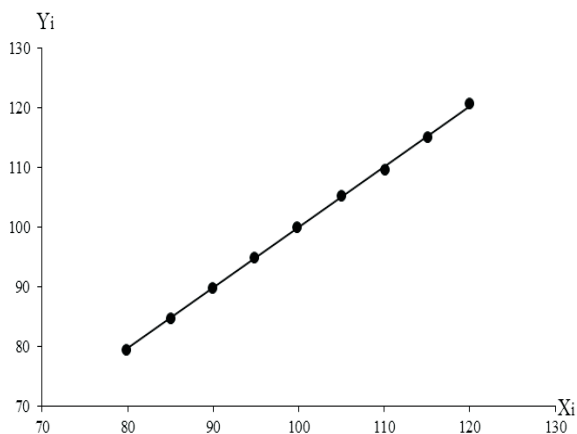


Рис. 3. Лінійна залежність площі піку від концентрації ізосорбиду динітрату в нормалізованих координатах

3. Коефіцієнт кореляції не повинен перевищувати:

$$R_c \geq \sqrt{1 - \frac{RSD_0^2}{RSD_{range}^2}} =$$

$$= \sqrt{1 - \frac{0,8445^2}{13,69^2}} = 0,9981.$$

Результати розрахунків параметрів отриманої лінійної залежності – величини  $b$ ,  $s_b$ ,  $a$ ,  $s_a$ ,  $RSD_0$  і  $R_c$  наведені в табл. 1, а отримана в нормалізованих координатах пряма – на рис. 3.

Як видно з даних, наведених на рис. 3 і в табл. 1, запропонована методика задовольняє всім роз-

Таблиця 1

Метрологічні характеристики лінійної залежності  $Y = b \cdot X + a$

Величина	Значення	Критерій прийнятності	Висновок (відповідає чи ні)
$b$	1,0146	–	–
$s_b$	0,0076	–	–
$a$	1,4758	1) $\leq 1,45 (1,8946 \cdot s_a)$ ; 2) якщо не виконується (1), $\leq 2,56$	не відповідає відповідає
$s_a$	0,7642	–	–
$RSD_0$	0,2952	$\leq 0,84$	відповідає
$R_c$	0,99943	$\geq 0,9981$	відповідає

Таблиця 2

## Результати аналізу модельних сумішей та їх статистична обробка

Модельний розчин	Наважки суміші, г ( $m_0 = 0,1200$ г)	Введено у % до концентрації розчину порівняння, $X_i$ , %	Середні площі піків ( $S_0 = 2607816$ )	Знайдено у % до концентрації розчину порівняння, $Y_i$ , %	Знайдено у % до введеного, $Z_i$ , % = $100 \cdot (Y_i/X_i)$
1	0,0958	79,80	2071581	79,44	99,55
2	0,1020	85,00	2208594	84,69	99,64
3	0,1080	89,90	2343500	89,86	99,96
4	0,1138	94,85	2473612	94,85	100,00
5	0,1198	99,80	2606308	99,94	100,14
6	0,1260	105,00	2743906	105,22	100,21
7	0,1320	110,05	2860474	109,69	99,67
8	0,1382	115,10	2998780	114,99	99,91
9	0,1440	120,00	3147780	120,71	100,59
Середнє $\bar{Z}$ , %					99,96
Відносне стандартне відхилення $s_z$ , %					0,33
Відносний довірчий інтервал $\Delta_z$ , % = $t(95\%, 8) \cdot s_z = 1,8596 \cdot s_z$					0,61
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta_z$ , % $\leq 1,6$					виконується
Систематична похибка $\delta =  \bar{Z} - 100 $					0,04
Критерій незначущості систематичної похибки: 1) $\delta \leq \Delta_z / 3 = 0,61 / 3 = 0,20$ ; 2) якщо не виконується 1), то $\delta \leq \max \delta = 0,51$					виконується виконується

рахованим критеріям; методика лінійна в досліджуваному діапазоні концентрацій – від 80 % до 120 % по відношенню до номінального вмісту ізосорбиду динітрату.

*Межа виявлення*

$MV = (3,3 \cdot s_a) / b = (3,3 \cdot 0,7642) / 1,0146 = 2,49$  % від номінальної концентрації ізосорбиду динітрату, що відповідає 0,00598 мг/мл.

*Межа кількісного визначення*

$MKB = (10 \cdot s_a) / b = (10 \cdot 0,7642) / 1,0146 = 7,53$  % від номінальної концентрації ізосорбиду динітрату, що відповідає 0,01807 мг/мл.

*Збіжність та правильність*

Для оцінки збіжності використовують відносний довірчий інтервал, який повинен бути менше за максимально допустиму невизначеність результатів аналізу:  $\Delta_{As} \leq 1,6$  %.

Для оцінки правильності визначають ступінь відповідності між відомим істинним значенням і значенням, отриманим за запропонованою методикою, тобто методика не повинна мати значущої систематичної похибки  $\delta$ , і величина  $\delta = |\bar{Z} - 100|$  не повинна значуще відрізнятися від нуля.

Для параметра «правильність» повинні виконуватися такі умови:

1. Критерій статистичної незначущості:  $\delta, \% \leq \Delta_z / \sqrt{n}$ .
2. Критерій практичної незначущості:  $\delta, \% \leq 0,32 \cdot 1,6 = 0,51$  %.

Правильність та збіжність методики було перевірено методом «введено/знайдено». Результати кількісного визначення ізосорбиду динітрату в досліджуваній області концентрацій і розрахунок відповідних метрологічних характеристик наведено у вигляді зведеної табл. 2.

Дані, наведені в табл. 2, свідчать, що методика кількісного визначення ізосорбиду динітрату характеризується достатньою правильністю і збіжністю у всьому діапазоні концентрацій (від 80 % до 120 %), оскільки отримані значення довірчого інтервалу і систематичної похибки не перевищують розрахованих критичних величин. Методика є коректною і не має значущої систематичної похибки.

*Внутрішньолабораторна прецизійність*

Дослідження внутрішньолабораторної прецизійності проводили в різні дні з різними працівниками з використанням різного мірного посуду на 5 пробах однієї серії препарату. Кожну пробу аналізували згідно з методикою аналізу, виконуючи по 5 паралельних вимірювань для кожного з розчинів.

Результати перевірки внутрішньолабораторної прецизійності наведено в табл. 3.

*Прогноз повної невизначеності методики*

Для підтвердження коректності методики при її відтворенні в інших лабораторіях було розраховано повну невизначеність методики  $\Delta_{As}$ , яка

Таблиця 3

Результати перевірки  
внутрішньолабораторної прецизійності

Розчин, №	Величини $X_i$ , г		
	1 дослід	2 дослід	3 дослід
1	0,0419	0,0416	0,0417
2	0,0418	0,0417	0,0419
3	0,0417	0,0416	0,0418
4	0,0418	0,0416	0,0419
5	0,0417	0,0417	0,0419
Середнє	0,0418	0,0416	0,0418
Об'єднане середнє $\bar{Z}_{intra}$ , %	0,0418		
$RSD_Z$ , %	0,26	0,13	0,20
$RSD_{intra}$ , %	0,20		
$\Delta_{intra}$ , %	$1,7613 \cdot 0,20 / \sqrt{5} = 0,15$		
$\Delta_{intra} \leq \max \Delta_{As} = 1,6\%$	виконується		

включає в себе невизначеність прободготовки  $\Delta_{SP}$  і невизначеність кінцевої аналітичної операції  $\Delta_{FAO}$ :

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

Розрахована повна невизначеність методики не повинна перевищувати максимально допустиму невизначеність результатів аналізу:  $\Delta_{As} \leq 1,6\%$ .

У табл. 4 наведено результати оцінки невизначеності прободготовки:

$$\begin{aligned} \Delta_{SP} &= \\ &= \sqrt{0,17^2 + 0,07^2 + 0,083^2 + 0,1^2 + 0,15^2 + 0,17^2} = \\ &= 0,32\% \end{aligned}$$

Таким чином, невизначеність прободготовки є незначущою.

Невизначеність кінцевої аналітичної операції ( $n = 3$ ) становила 0,58 %, тобто фактичне значення збіжності для 3 паралельних хроматограм істотно менше за критичне значення, і тому методика з високою надійністю повинна відтворюватися в інших лабораторіях.

#### Робастність методики

Робастність методики, тобто вплив невеликих змін умов аналізу на результати визначення було перевірено шляхом хроматографування ізосорбиду динітрату за умов зміни швидкості рухомої фази ( $\pm 10\%$ ), температури колонки ( $\pm 50\text{ }^\circ\text{C}$ ) і рН рухомої фази ( $\pm 0,1$  одиниця рН); показано, що зазначені зміни не чинять помітного впливу на результати кількісної оцінки ізосорбиду динітрату в матричних гранулах.

В рамках оцінки робастності методики було вивчено стабільність розчину порівняння і ви-

Таблиця 4

Розрахунок невизначеності прободготовки  
для методики кількісного визначення  
ізосорбиду динітрату

Операція прободготовки	Невизначеність, %
Розчин порівняння	
Взяття наважки РСЗ ізосорбиду динітрату (120 мг)	$\frac{0,2 \cdot 100}{120} = 0,17$
Доведення до позначки в мірній колбі (500,0 мл)	0,07
Випробовуваний розчин	
Взяття наважки (240 мг)	$\frac{0,2 \cdot 100}{240} = 0,083$
Доведення до позначки в мірній колбі (200,0 мл)	0,1
Аліквота (25,00 мл)	0,15
Доведення до позначки в мірній колбі (50,0 мл)	0,17

пробовуваного розчину препарату (визначення проводилося з використанням модельної суміші). Результати показали, що досліджувані розчини стабільні принаймні впродовж 12 годин, тому в методиці рекомендовано використовувати свіжоприготовані розчини.

Порівняння результатів кількісного визначення ізосорбиду динітрату, отриманих на колонках Supelco Discovery C18, Agilent ZORBAX StableBond SB-C18 та Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 з використанням  $F$ -критерію показало, що результати відрізняються незначно, отже, вищевказані колонки є взаємозамінними. На підставі проведених валідаційних досліджень було розроблено і запропоновано критерії для придатності хроматографічної системи.

#### Експериментальна частина

##### Реактиви та розчини

В роботі було використано:

- РСЗ ізосорбиду динітрату водного ( $P = 100,0\%$ ), відкалібрований за фармакопейним стандартним зразком ДФУ ізосорбиду динітрату водного;
- субстанція ізосорбиду динітрату водного (вміст основної речовини 93,8 %), що була надана ТОВ НВФ «МІКРОХІМ»;
- допоміжні речовини: Eudragit NE30D, лактози моногідрат, мікрокристалічна целюлоза, гідроксипропілцелюлоза (відповідають вимогам, що висуваються до них у ЄФ);
- реактиви (вода Р; метанол Р2; амонію ацетат Р; кислота оцтова льодяна Р);
- матричні гранули, що містять ізосорбиду динітрат (40 %) і допоміжні речовини, отримані методом екструзії-сферонізації.

**Випробовуваний розчин:** Близько 0,24 г (точна наважка) порошку розтертих матричних гра-

нул вносять до мірної колби місткістю 200,0 мл, додають 100 мл метанолу Р2 і витримують на ультразвуковій бані впродовж 30 хвилин при 40–50 °С, доводять об'єм розчину до позначки метанолом Р2 і ретельно перемішують. 25,00 мл отриманого розчину переносять до мірної колби місткістю 50,0 мл і доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки, ретельно перемішують і фільтрують крізь шприцевий фільтр PES ( $d = 25$  мм, 0,45 мкм) або аналогічний, відкидаючи перші порції фільтрату.

**Розчин порівняння:** 0,120 г (точна наважка) РСЗ ізосорбиду динітрату вносять до мірної колби місткістю 500,0 мл, додають 300 мл метанолу Р2 і витримують на ультразвуковій бані впродовж 10 хвилин, доводять об'єм розчину до позначки метанолом Р2 і ретельно перемішують.

**Моделльні розчини** готували за такою самою методикою, як і розчин порівняння, використовуючи наважки РСЗ ізосорбиду динітрату, що відповідають 80 %, 85 %, 90 %, 95 %, 100 %, 105 %, 110 %, 115 % та 120 % від наважки, яку взято для приготування розчину порівняння.

**Розчин плацебо** готували за такою ж методикою, як і випробовуваний розчин, використовуючи замість 0,24 г наважки порошку розтертих матричних гранул 0,144 г суміші допоміжних речовин у відповідних співвідношеннях.

**Буферний розчин (рН 4,7):** 15,4 г амонію ацетату Р вносили до мірної колби місткістю 1000,0 мл, додавали 300,0 мл води Р, 11,5 мл кислоти оцтової льодяної Р, перемішували і доводили об'єм розчину водою до позначки. рН розчину за необхідності коригували кислотою оцтовою льодяною Р.

#### Перелік використаних джерел інформації

- Жиляєв, Е. В. Нитраты в лечении стабильной стенокардии : новые горизонты / Е. В. Жиляєв // Consilium Medicum. – 2010. – № 12 (1). – С. 14–18.
- Лупанов, В. П. Терапия нитратами больных хронической ишемической болезнью сердца (вопросы и ответы) / В. П. Лупанов // Справ. поликлини. врача. – 2009. – № 9. – С. 13–19.
- Терещенко, С. Н. Нитраты при стабильных формах ИБС : работают ли старые авторитеты? / С. Н. Терещенко, И. В. Жиров // Сердце. – 2009. – № 8 (1). – С. 9–11.
- Munzel, T. Nitrate Therapy : New Aspects Concerning Molecular Action and Tolerance / T. Munzel, A. Daiber, T. Gori // Circulation. – 2011. – Vol. 123. – P. 2132–2144. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.110.981407>
- Олійников, Д. С. Обґрунтування підходу до розроблення технології виготовлення таблеток ізосорбиду динітрату з модифікованим вивільненням / Д. С. Олійников, А. Г. Каплаушенко // Актуал. питання фармацевт. і мед. науки та практики. – 2019. – Т. 12, № 2. – С. 160–165. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.2.170982>
- Современные направления в технологии твердых лекарственных средств : уч. пособ. для студентов высш. фармацев. учеб. учрежд. / Е. А. Рубан, Л. Н. Хохлова, Л. А. Бобрицкая, С. В. Спиридонов; под ред. Е. А. Рубан. – Х. : НФаУ, 2016. – 88 с.
- Lee, P. I. Evolution of Oral Controlled Release Dosage Forms / Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery : Theory to Practice / P. I. Lee, J.-X. Li. – Hoboken, NJ, USA : John Wiley & Son, Inc., 2010. – P. 21 – 32. <https://doi.org/10.1002/9780470640487.ch2>
- Controlled Release System A Review / M. S. Wani, S. A. Polshettiwar, V. V. Chopade et al. // Pharm. Rev. – 2008. – Vol. 6 (1). – P. 41–46.
- Могилюк, В. Мультипартикулярные таблетки / В. Могилюк // Фармацевт. отрасль. – 2014. – № 2 (43). – С. 36–39.
- Roy, P. Multiparticulate formulation approach to pulsatile drug delivery : current perspectives / P. Roy, A. Shahiwala // J. Control. Release. – 2009. – Vol. 134 (2). – P. 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.11.011>
- Державна фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – 1128 с.
- Настанова СРМР/ICH/381/95 Q2(R1) Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology, 1995. [Електронний ресурс]. – Режим доступу : [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf)
- Гризодуб, А. И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств / А. И. Гризодуб. – Х. : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 396 с.

#### Обладнання

Хроматографічні дослідження проводили на рідинному хроматографі Shimadzu LC-20AD XR з діодно-матричним детектором за таких умов:

- хроматографічні колонки Supelco Discovery C18 (150 × 4,6 мм, 5 мкм), Agilent ZORBAX Eclipse XDB-C18 (150 × 4,6 мм, 5 мкм), Agilent ZORBAX StableBond SB-C18 (150 × 4,6 мм, 5 мкм);
- рухома фаза: вода Р – буферний розчин (рН 4,7) – метанол Р2 (35:10:55), режим елюювання – ізократичний;
- швидкість рухомої фази – 1,0 мл/хв;
- довжина хвилі детектування – 220 нм;
- програмне забезпечення – LCsolution, версія 1.24.SP.1.

Значення рН буферного розчину контролювали потенціометрично за допомогою рН метра-кондуктометра HI 255.

#### Висновки

Розроблено методику кількісного визначення ізосорбиду динітрату в матричних гранулах методом вискоефективної рідинної хроматографії. При проведенні валідації методики визначено такі валідаційні параметри, як специфічність, лінійність, збіжність, правильність, внутрішньолaborаторна точність, межа виявлення та межа кількісного визначення, робастність, значення яких не перевищують закладених критеріїв прийнятності, тобто методика кількісного визначення ізосорбиду динітрату в матричних гранулах валідована і придатна для аналізу.

**Конфлікт інтересів:** роботу виконано на замовлення ТОВ НВФ «МІКРОХІМ» (Україна).

**References**

1. Zhiljaev, E. V. (2010). *Consilium Medicum*, 12(1), 14–18.
2. Lupanov, V. P. (2009). *Spravochnik poliklinicheskogo vracha*, 9, 13–19.
3. Tereshchenko, S. N., Zhiron, I. V. (2009). *Serdtshe*, 8(1), 9–11.
4. Münzel, T., Daiber, A., Gori, T. (2011). Nitrate Therapy. *Circulation*, 123(19), 2132–2144. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.110.981407>
5. Oliinykov, D. S., Kaplaushenko, A. H. (2019). [Substantiation of manufacture technology development for the tablets of isosorbide dinitrate with modified release]. *Current Issues in Pharmacy and Medicine: Science and Practice*, 12 (2), 160–165. <https://doi.org/10.14739/2409-2932.2019.2.170982>
6. Ruban, E. A., Khokhlova, L. N., Bobritckaia, L. A., Spiridonov, S. V. (2016). *Sovremennye napravleniia v tekhnologii tverdykh lekarstvennykh sredstv*. Kharkiv: NFAU, 88.
7. Lee, P. I., Li, J.-X. (2010). Evolution of Oral Controlled Release Dosage Forms. *Oral Controlled Release Formulation Design and Drug Delivery*, 21–31. <https://doi.org/10.1002/9780470640487.ch2>
8. Wani, M. S., Polshettiwar, S. A., Chopade, V. V., Joshi, R. N., Dehghan, M. H. G., Gadkari, A. A., Chepurwar, S., Mute, V. (2008). Controlled Release System A Review. *Pharmaceutical Reviews*, 6(1), 41–46.
9. Mogiliuk, V. (2014). *Farmatsevticheskaia otrasl*, 2(43), 36–39.
10. Roy, P., Shahiwala, A. (2009). Multiparticulate formulation approach to pulsatile drug delivery: Current perspectives. *Journal of Controlled Release*, 134(2), 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2008.11.011>
11. Grizodub, A. I. (2016). *Standartizovannye protsedury validatsii metodik kontroliia kachestva lekarstvennykh sredstv*. Kharkiv: DP «Ukrainskii naukovii farmakopeinii tcentr yakosti likarskikh zasobiv», 396.
12. CPMP/ICH/381/95 Q2(R1) Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology. (1995). Available at: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf)
13. *Derzhavna farmakopeia Ukrainy*. (2015). Vols. 1–3. Vol. 1. 2nd ed. Derzhavne pidpriemstvo «Ukrainskyi naukovyi ekspertnyi farmakopeinyi tsestr yakosti likarskykh zasobiv». Kharkiv, 1128.

Надійшла до редакції 02.08.2019 р.