

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
КАФЕДРА АНАЛІТИЧНОЇ, ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

На тему «Розробка УФ – спектрофотометричної методики кількісного визначення еналаприл малеату у твердих лікарських формах».

Виконала: здобувач вищої освіти 3-го курсу, групи 138 Б1А
напряму підготовки 226 Фармація, промислова фармація
Сьома Віта Вікторівна

Керівник: Професор кафедри аналітичної, фізичної та
колоїдної хімії, кандидат хімічних наук, доктор педагогічних
наук

Рева Тетяна Дмитрівна

Рецензент: Доцентка кафедри хімії ліків та лікарської
токсикології, к.фарм.н., Нароха Віолета Петрівна

Київ – 2026

ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів.	4
Вступ.	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Еналаприл, фізико-хімічні властивості, методи ідентифікації та кількісного визначення.	8
1.1. Механізм дії та метаболізм еналаприл малеату.	9
1.2. Алкаліметричне титрування з наступним визначенням точки еквівалентності потенціометрією.	11
1.3. Ультрафіолетова спектрофотометрія.	12
Розділ 2. Експериментальна частина.	14
2.1. Матеріали та методи.	14
2.1.1. Мета дослідження.	14
2.1.2. Об'єкти дослідження.	14
2.1.3. Посуд та обладнання.	15
2.1.4. Реактиви.	17
2.1.5. Приготування розчинів.	17
2.1.6. Методики, які були використані у роботі.	18
Розділ 3. Результати та їх обговорення.	19
3.1. Результати УФ – спектрофотометричного визначення.	19
3.1.1. Градувальний графік ГГ та оцінка лінійності методики УФ – спектрофотометричного визначення.	21

3.1.2. Кількісне УФ – спектрофотометричне визначення еналаприл малеату у Зразках.	23
3.1.3. Вивчення стабільності розчинів у залежності від часу.	24
3.2. Результати алкаліметричного титрування.	26
Висновки.	27
Список використаних джерел.	28
Додатки.	35
Анотація (Summary).	41

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ЕРС – електрорушійна сила

ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок

АПФ – ангіотензинперетворюючий фермент

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт

ЛЗ – лікарський засіб

ГГ – градувальник графік

УФ- спектрофотометрія – ультрафіолетова спектрофотометрія

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

ДФУ – державна фармакопея України

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia

г – грам

мкг – мікрограм

мл – мілілітр

нм – нанометр

RSD,% - відносне стандартне відхилення

ВСТУП

Сполуки, які відносяться до інгібіторів ангіотензинперетворюючих ферментів (у подальшому АПФ) мають здатність знижувати дію ферменту пептидилдипептидаза, тобто проявляють гіпотензивний ефект [1].

Механізм дії інгібіторів АПФ може бути представлений як процес блокування перетворення ангіотензину I у потужний вазоконстриктор ангіотензин II. У результаті цього процесу судини розширюються, тиск зменшується, і, відповідно, навантаження на міокард послаблюється, Рисунок 1:

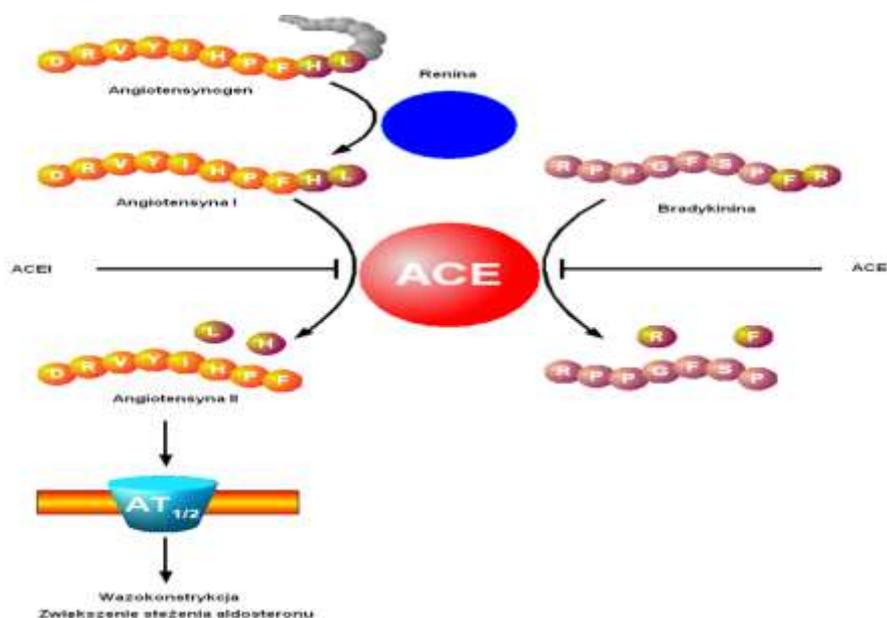


Рисунок 1. Механізм дії інгібіторів АПФ [1].

Найбільш поширеною класифікацією інгібіторів АПФ є класифікація сполук за хімічною будовою. Розрізняють інгібітори АПФ з сульфгідрильними групами (каптоприл, зофеноприл), з фосфонатними групами (фозиноприл) та з дикарбоксилатними групами (еналаприл, раміприл, квінаприл, периндоприл, лізиноприл, беназиприл) [2].

Еналаприл є базовим препаратом, який використовують при лікуванні гіпертонічних кризів, міжнародна хімічна назва сполуки(S)-1-[N-[1-(етоксикарбоніл)-3-фенілпропіл]-L-аланіл]-L-пролін [2], Рисунок 2:

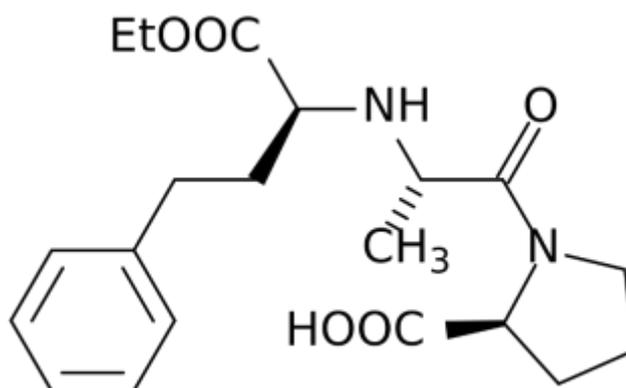


Рисунок 2. Структурна формула еналаприлу [2].

Актуальність теми: Враховуючи вищезазначене, розробка та апробація нових експресних методик кількісного визначення еналаприл малеату у лікарських засобах інструментальними методами є актуальними.

Мета: Розробити, виконати апробацію та часткову валідацію методики УФ – спектрофотометричного визначення еналаприл малеату у твердих лікарських формах.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати методики ідентифікації та кількісного визначення еналаприл малеату у субстанції та лікарських засобах.
2. Проаналізувати фізико-хімічні, фармакологічні, фармакокінетичні властивостей еналаприл малеату.

3. Розробити методику кількісного визначення еналаприл малеату методом УФ – спектрофотометрії, зробити її апробацію та часткову валідацію.

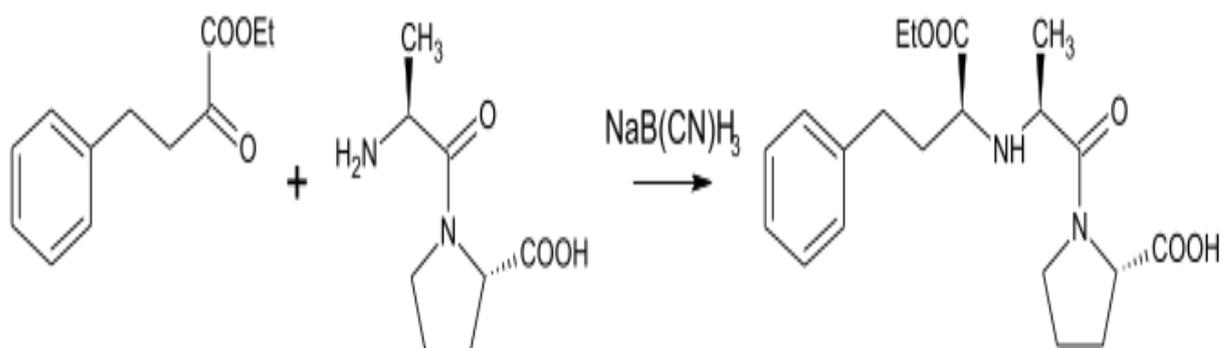
Методи дослідження: Бібліосемантичний аналіз, алкаліметричне титрування з потенціометричним визначенням точки еквівалентності, УФ – спектрофотометрія.

Апробація результатів дослідження. Результати роботи були представлені на VI Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Planta+. Наука, практика та освіта», Київ, Україна, 23 січня 2026 р.

Структура роботи. Робота представлена на 42 сторінках, додатків -2, рисунків- 10, таблиць- 5.

ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Еналаприл, фізико-хімічні властивості, методи ідентифікації та кількісного визначення.

У лікарських засобах еналаприл використовують у вигляді малеату. Напрямків синтезу цієї сполуки може бути декілька, найбільш відомий у фармацевтичній промисловості синтез базується на реакції алкілювання сполуки аланілпролін етиловим ефіром 2-оксо-4-фенілбутенової кислоти при наявності паладієвої сітки (каталізатор реакції) або з використанням при гідруванні солеподібної сполуки ціаноборгідрид [2]:



Вперше препарат був синтезований у 1980 році у лабораторії фармацевтичної компанії Merck, сіль еналаприл малеат є білим кристалічним порошком з поганою розчинністю у воді та метиленхлориді, сіль розчиняється у етиловому та метиловому спиртах, у гідроксидах лужноземельних металів. Плавиться при температурі 144⁰С. Зберігати сполуку рекомендовано без доступу повітря у захищеному від світла місці.

Ідентифікують еналаприл малеат фізико-хімічними методами, кількісні визначення проводять згідно ДФУ та Європейської фармакопеї (Додаток 1 та 2) об'ємним методом алкаліметрії з визначенням точки еквівалентності потенціометрично за нижче наведеною методикою:

0,100 г субстанції розчиняють у 30 мл деіонізованої води і титрують прямим титруванням 0,1 М розчином NaOH, 1 мл титранту відповідає 16,42 мг еналаприл малеату.

1.1. Механізм дії та метаболізм еналаприл малеату.

Після прийому препарату і процесу абсорбції відбувається процес гідролізу солі до утворення сполуки еналаприлат, який має здатність гальмувати АПФ. Наслідком цього процесу є зниження у крові тиску, також збільшується активність реніну плазми та зменшується секреція альдостерону, блокується розщеплення брадикініну[3-10]. Помітний ефект пригнічення настає через 4 години, але препарат починає діяти після 2 годин з початку прийому, антигіпертензивний ефект триває добу. Після застосування препарату зростає нирковий кровотік, ознак затримки води не фіксується. Пацієнти, які страждають на цукровий діабет, повинні приймати препарат під наглядом лікаря оскільки можливе зменшення альбумінурії.

При одночасному прийомі препарату з серцевими глікозидами та діуретиками у пацієнтів з серцевою недостатністю знижується периферичний опір та тиск крові, збільшується серцевий викид, покращується переносимість фізичного навантаження [3-10]. Якщо хворий страждає на легку або помірну серцеву недостатність, препарат зменшує прогресування дилатації, покращується фракція викиду лівого шлуночка міокарду. Якщо у пацієнта діагностовано дисфункція лівого шлуночка, терапія еналаприлом знижує ризик інфаркту міокарду. При пероральному прийомі відмічається швидке всмоктування препарату і максимальна концентрація у крові досягається протягом 60 хвилин, ступінь всмоктування досягається на 60 %, прийом їжі не впливає на механізм дії препарату, виводиться препарат з організму нирками, при необхідності препарат можна вивести із загального кровообігу гемодіалізом [3-10].

Протипоказаннями до прийому препарату є:

- Підвищена чутливість у пацієнта до інгібіторів АПФ;
- Ангіоневротичні набряки;
- Вагітність.

Взаємодія з іншими ліками.

З нітрогліцерином посилюється гіпотензивний ефект еналаприлу;

З калійзберігаючими діуретиками або дієтичними добавками, які містять калій, одночасний прийом препарату призводить до підвищення концентрації калію у сироватці крові;

Одночасний прийом препарату з тiazидними або петльовими діуретиками призводить до підвищення ризику артеріальної гіпотензії;

Одночасний прийом з проти діабетичними препаратами призводить до розвитку гіпоглікемії;

З літєвими препаратами збільшується концентрація літію у сироватці крові і зростає ризик появи токсичності;

З трициклічними антидепресантами та нейролептиками додатково знижується артеріальний тиск;

Одночасний прийом з нестероїдними протизапальними препаратами призводить до послаблення гіпотензивного ефекту;

Небажано приймати препарат пацієнтам з гострою нирковою недостатністю;

Небажано приймати препарат з аліскереном;

Одночасний прийом препарату з препаратами золота може привести до проявів нітритоїдних реакцій;

З симпатоміметиками знижується антигіпертензивний ефект;

Алкоголь підсилює гіпотензивний ефект.

Побічними реакціями при лікуванні еналаприлом можуть бути запаморочення та головний біль, нудота, пронос, судоми та висипи. Іноді у літературі знаходиться інформація про ангіоневротичні набряки у пацієнтів, кашель, синдром порушення секреції антидіуретичного гормону, стенокардія, феномен Рейно, панкреатит, гепатит, стоматит, депресивні стани і інші розлади, які пов'язані з нервовою системою та психікою, бронхоспазм та інші порушення з боку системи дихання, пітливість та інші порушення з

боку шкіри, нечіткість зору, розвиток складного симптомокомплексу та інші небажані побочні ефекти [3-10].

1.2. Алкаліметричне титрування з наступним визначенням точки еквівалентності потенціометрією.

Алкаліметричним титруванням називають метод титриметричного (об'ємного) аналізу, у якому титрантами обирають луги. Відповідно, кількісно визначати можна кислоти (сильні та слабкі електроліти) та солі, які проявляють кислотні властивості [11-15]. Кінець реакції (точку еквівалентності) фіксують або за допомогою кислотно-основних індикаторів (індикаторне визначення) або за допомогою певних фізико-хімічних методів, наприклад, потенціометрично (потенціометричне титрування). Сутність потенціометричного титрування може бути описана так:

У контакту колбу для титрування (наприклад, хімічний стакан) вміщують індикаторний електрод (система, потенціал якої залежить від активності речовин, які вступають у реакцію) та сполучають його з електродом порівняння (система, потенціал якої не залежить від активності речовин, які вступають у реакцію) через сольовий місток. Електроди (гальванічний елемент) приєднують до потенціометра, Рисунок 3:

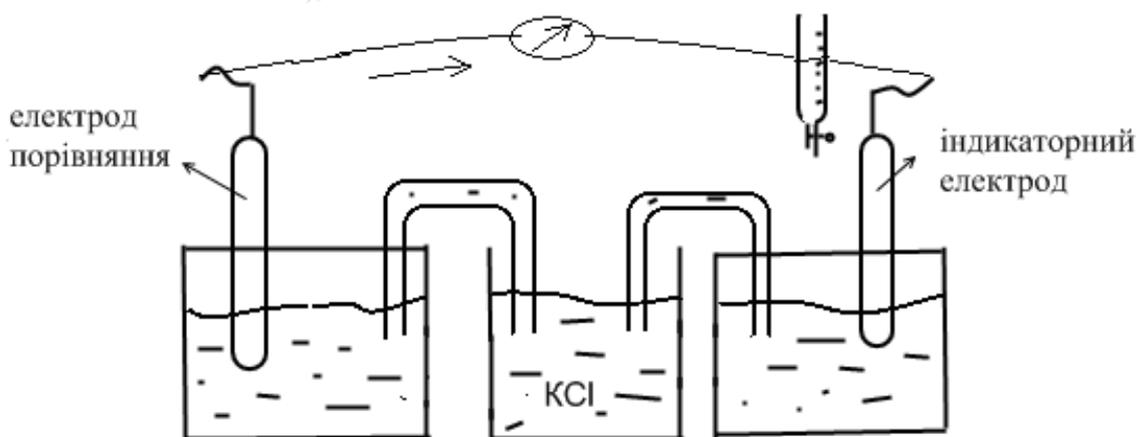


Рисунок 3. Схема проведення потенціометричного титрування[15].

При перемішуванні розпочинають процес титрування і фіксують постійно зміну ЕРС. Аналізують графічну залежність (інтегральні та

диференційні криві титрування, Рисунок 4) ЕРС від об'єму титранту, при проведенні потенціометричного титрування точка еквівалентності фіксується за різкою зміною величини потенціалу індикаторного електрода:

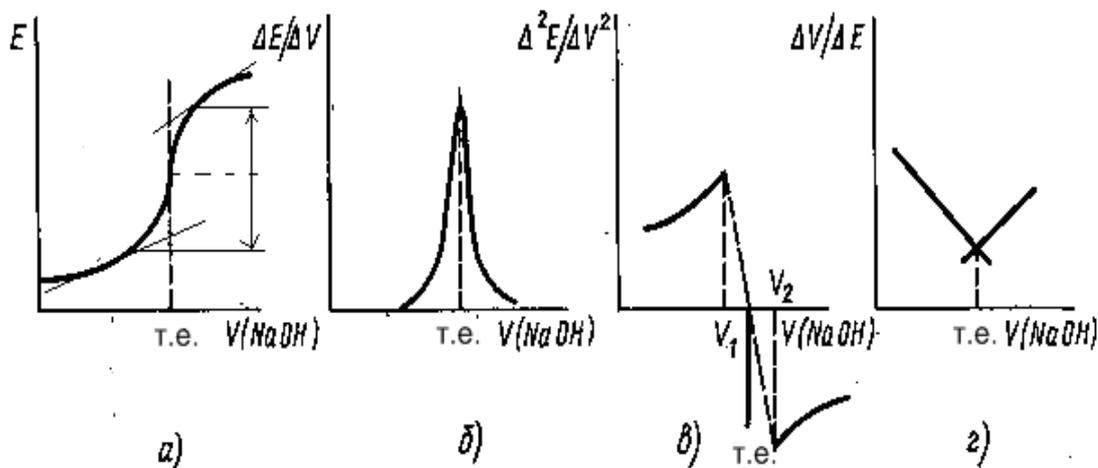


Рисунок 4. Криві потенціометричного титрування[15].

Вимоги до реакцій, що використовуються при виконанні потенціометричного титрування:

Реакція повинна бути стехіометричною;

Висока швидкість протікання;

Відсутність у розчині побічних реакцій.

Швидкість реакції можна збільшити шляхом змін певних параметрів системи (зміною температури, зміною кислотності середовища, присутністю каталізатора).

Перевагою потенціометричного титрування, на відміну від індикаторного титрування є те, що процес титрування можна проводити у каламутних та забарвлених розчинах, метод має високу точність та чутливість, простий у виконанні [14-15].

1.3. Ультрафіолетова спектрофотометрія.

Метод УФ – спектрофотометрії відноситься до фізичних методів дослідження, який ґрунтується на дослідженні процесів абсорбції монохроматичного світла на поверхні хімічних речовин при довжині світла 0-400 нм. УФ -спектрофотометрію можна використовувати при проведенні як

якісного, так і кількісного аналізу [13-15]. В основі методу кількісного визначення лежать постулати основного Закону світлопоглинання, який пов'язує визначений аналітичний сигнал методу (оптичну густину A) з концентрацією досліджуваної речовини, на поверхні якої адсорбується світловий потік:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l \quad (\varepsilon - \text{молярний коефіцієнт абсорбції; } l - \text{товщина шару речовини}).$$

Аналітичний сигнал методу (оптичну густину A) вимірюють за допомогою спектрофотометрів, типова схема приладу представлена на Рисунку 5[15]:

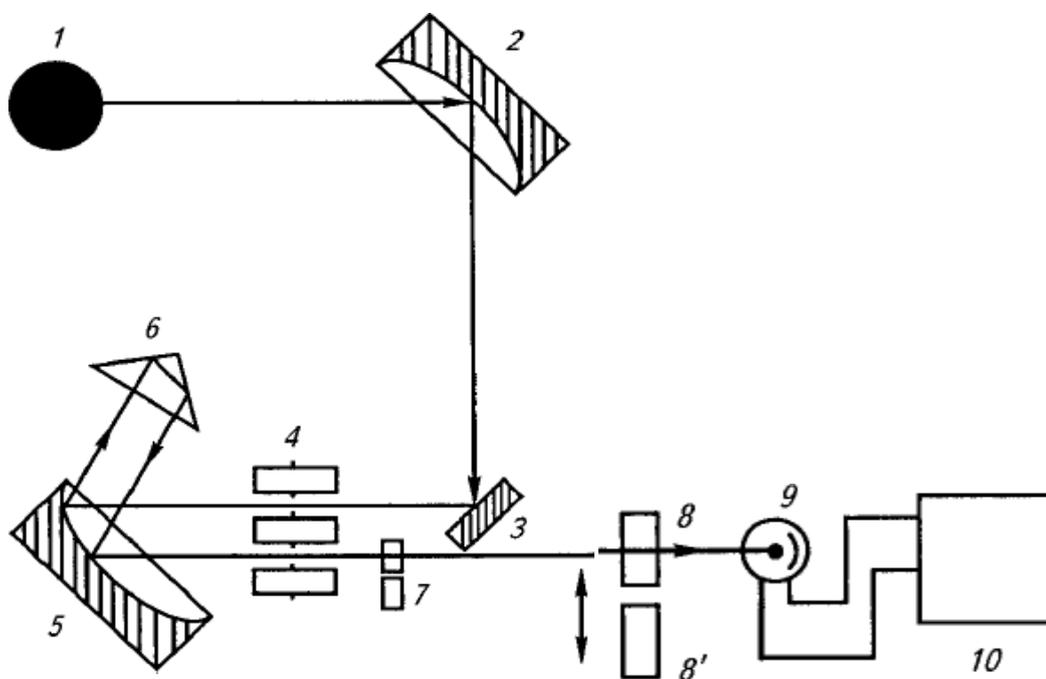


Рисунок 5. Типова схема спектрофотометра (1-джерела світла, 2,3,5- дзеркала, 4 – щілина для світла, 6 – призма, 7 – світлофільтри, 8- кювети для аналізованої речовини та компенсаційного розчину, 9-фотоелемент, 10- підсилювач).

Концентрацію досліджуваного розчину можна визначати декількома способами, а саме: за градувальним графіком, за визначенням молярного коефіцієнту світлопоглинання, за методом добавок. У фармації метод УФ - спектрофотометрії знаходиться у царині методів кількісного дослідження оскільки є простим, точним, безпечним та недорогим [13-15].

Розділ 2. Експериментальна частина.

Випускна кваліфікаційна робота була виконана на кафедрі аналітичної, фізичної та колоїдної хімії НМУ імені О.О. Богомольця.

2.1. Матеріали та методи.

2.1.1. Мета дослідження.

Метою дослідження була розробка, апробація та часткова валідація методики кількісного УФ – спектрофотометричного визначення діючої речовини еналаприл у твердих лікарських формах.

2.1.2. Об'єкти дослідження.

Об'єктами дослідження (Рисунок 6) ми обрали тверді лікарські форми, які випускаються фармацевтичною промисловістю України та Польщі, а саме:

Зразок №1. Тверда лікарська форма. До складу таблетки входить 10 мг еналаприл малеату. Допоміжними речовинами є лактози моногідрат, целлюлоза, натрій кроскармелоза, коповідон, кальцію стеарат.

Виробник – Україна.

Зразок №2. Тверда лікарська форма. До складу таблетки входить 10 мг еналаприл малеату. Допоміжними речовинами є лактози моногідрат, крохмаль кукурудзяний, тальк, натрію гідрокарбонат, гідроксипропілцеллюлоза, магнію стеарат.

Виробник - Польща.

Зразок 1



Зразок 2



Рисунок 6. Об'єкти дослідження, які були використані у роботі, фото з сайту <https://tabletki.ua>.

2.1.3. Посуд та обладнання.

1. Хімічний лабораторний посуд класу А.
2. Ваги лабораторні Mettler ToledoXS204.
3. Порцелянова ступка з товкачиком.

Для об'ємного алкаліметричного титрування з наступним визначенням кінця реакції методом потенціометрії:

1. Іонімір лабораторний «И-130» (Рисунок 7).
2. Хлоридосрібний електрод.
3. Індикаторний платиновий електрод ЕПВ -1.
4. Магнітний змішувач.

Для проведення кількісного УФ – спектрофотометричного визначення:

1. Ультразвукова баня.
2. Спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214 (Рисунок 8).



Рисунок 7. Ионімір лабораторний «И-130».



Рисунок 8. УФ – спектрофотометр SPECORD 200-222 U 214.

2.1.4. Реактиви.

1. Фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) Enalapril maleate, каталожний номер E0145 реєстраційний номер 7609516-4, чистота 98,8%.
2. Спирт метиловий концентрації 99,9 %.
3. Титрант для алкаліметричного титрування NaOH концентрації 0,1 М.

2.1.5. Приготування розчинів.

Приготування аналізованих розчинів Зразків для УФ – спектрофотометричного визначення концентрації 20 мкг/мл.

Одну таблетку (кожного зразка окремо) розтирали у порцеляновій ступці, переносили у мірну колбу на 100 мл, розчиняли у метанолі, витримували в ультразвуковій бані 5 хвилин, фільтрували. Потім стандартними методиками розведення [13-15] готували розчини, концентрація яких становила 20 мкг/10 мл.

Приготування аналізованих розчинів Зразків для алкаліметричного титрування.

П'ятнадцять таблеток (кожного зразка окремо) розтирали у порцеляновій ступці, потім розчиняли у 30 мл води, фільтрували.

Приготування вихідного стандартного розчину Enalapril maleate концентрації 0,0985 г/л (98,5 мкг/мл).

Зважували 25 мг ФСЗ та поступово розчиняли у 250 мл метилового спирту концентрації 99,9 %.

Приготування розведених стандартних розчинів Enalapril maleate для побудови градувального графіка концентрації 15-25 мкг/мл.

Відбирали аліквоти (Таблиця 1) стандартного розчину Enalapril maleate, концентрація якого 98,5 мкг/мл, вміщували у мірну колбу на 10 мл, доводили до позначки етанолом:

Таблиця 1. Приготування розведених стандартних розчинів Enalapril maleate.

№	Аліквоти розчину Enalapril maleate, концентрація якого 98,5 мкг/мл, мл	Концентрація розведеного стандартного розчину, мкг/мл
1	1,52	15,0
2	1,78	17,5
3	2,03	20,0
4	2,28	22,5
5	2,44	24,0
6	2,53	25,0

2.1.6. Методики, які були використані у роботі.

Методика УФ – спектрофотометричного кількісного визначення.

У мірну колбу місткістю 10 мл вміщували аліквоту розчину (аналізованого чи стандартного) для УФ – спектрофотометричного кількісного визначення та доводили метанолом Р до позначки, вимірювали величину абсорбції (оптичну густину розчину А) при довжині хвилі 212 нм, товщина шару (кювети) 10 мм. Концентрацію аналізованого розчину встановлювали за допомогою ГГ.

Методика алкаліметричного потенціометричного титрування.

Аліквоту приготованого розчину титрували 0,1М розчином NaOH, точку еквівалентності фіксували графічно, концентрацію еналаприл малеату встановлювали за традиційними співвідношеннями, які використовують у об'ємних методах дослідження.

Розділ 3. Результати та їх обговорення.

Однією із задач, яка була нами поставлена перед початком розробки методики кількісного визначення еналаприл малеату у лікарських засобах був аналіз (літературний огляд) попередніх наукових розвідок у цьому напрямку. Проаналізувавши наукові публікації [16-47], ми дійшли висновку, що кількісно еналаприл малеат у таблетках та субстанції можна визначити багатьма методами, але найбільш ефективними можна виділити метод ВЕРХ, алкаліметрію та УФ – спектрофотометрію. Останній метод нам найбільш імпонує, оскільки при виконанні спектрофотометричних визначень, результати не містять систематичної помилки, методики проведення експерименту прості і обладнання не є високовартісним. При розробці власної методики ми спиралися на висновки українських вчених [47], оскільки методика, яка була запропонована у роботі [47], базується на екологічних принципах, є точною, простою у виконанні та експресною.

3.1. Результати УФ – спектрофотометричного визначення.

При розробці методики УФ – спектрофотометричного визначення першим основним питанням є знаходження довжини хвилі λ , при якій абсорбція монохроматичного світла буде найбільш інтенсивною. Для вирішення цієї задачі необхідно проаналізувати спектр поглинання, тобто вивчити залежність максимальної абсорбції (величини оптичної густини A) від зміни довжини хвилі ($A = f(\lambda)$). Ми аналізували спектр поглинання сполуки еналаприл малеат використовуючи стандартний розведений розчин, концентрація якого становила 20 мкг/мл у інтервалі 200-240 нм, результати нами були представлено графічно, Рисунок 9:

λ	200	202	204	206	208	210	212	220	230	240
A	0,02	0,03	0,04	0,06	0,062	0,070	0,088	0,01	0,01	0,01

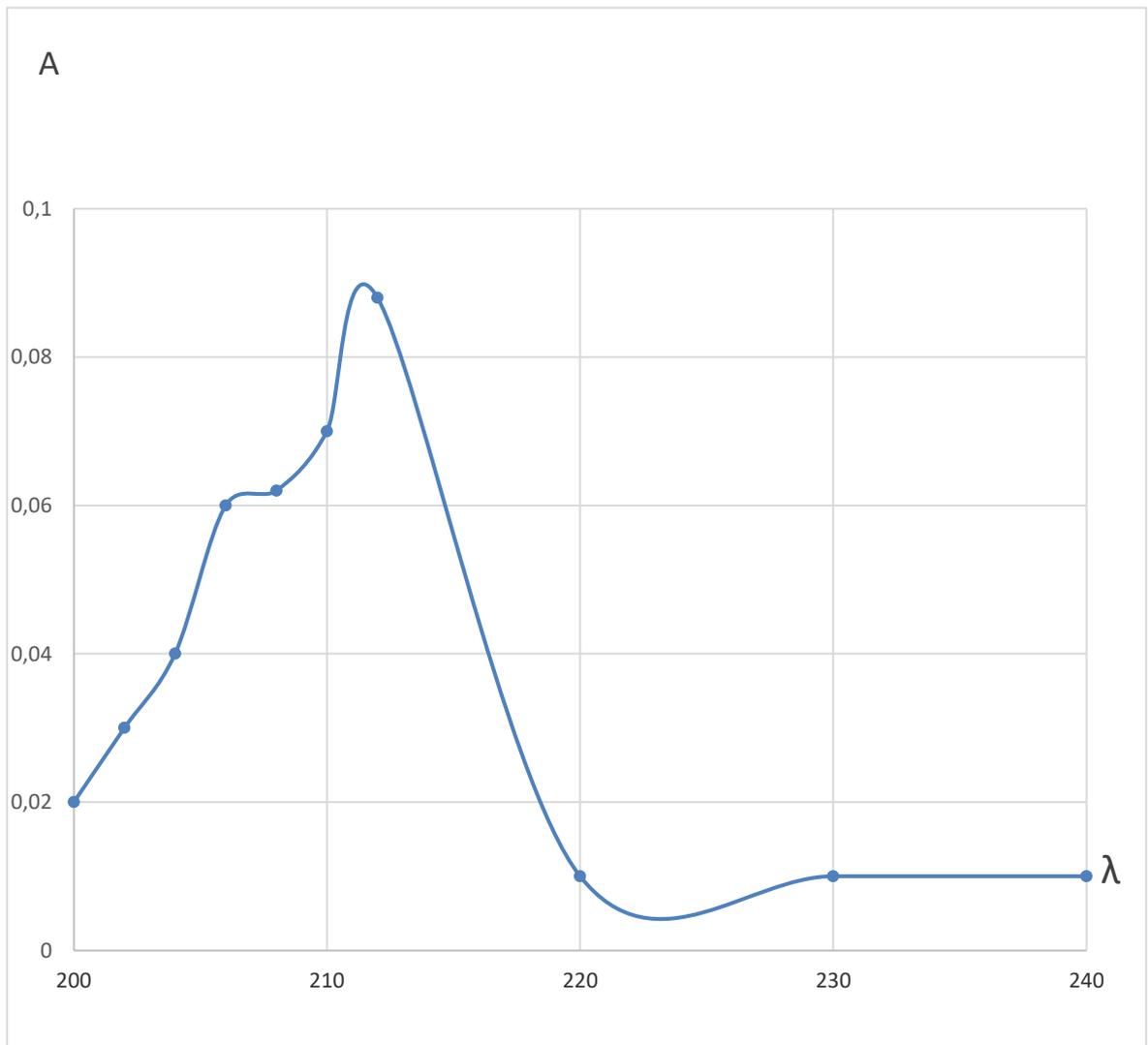


Рисунок 9. Спектр поглинання стандартного розведеного розчину еналаприл малеату, концентрація розчину 20 мкг/мл.

З Рисунку 9 можна зробити висновок, що найоптимальнішою довжиною хвилі, при якій бажано проводити УФ - спектрофотометричні визначення є 212 нм (максимальне поглинання монохроматичного світла).

3.1.1. Градувальний графік ГГ та оцінка лінійності методики УФ – спектрофотометричного визначення.

Для побудови ГГ (Рисунок 10) ми визначали оптичну густину А розведених стандартних розчинів (Таблиця 2), концентрація яких представлена у Таблиці 1, та аналізували графічну залежність $A = f(c)$:

Таблиця 2. Значення оптичної густини А розведених стандартних розчинів.

№	Концентрація стандартного розведеного розчину, мг/ мл	Оптична густина А
1	0	0
2	15,0	0,008
3	17,5	0,049
4	20,0	0,088
5	22,5	0,134
6	24,0	0,160
7	25,0	0,181

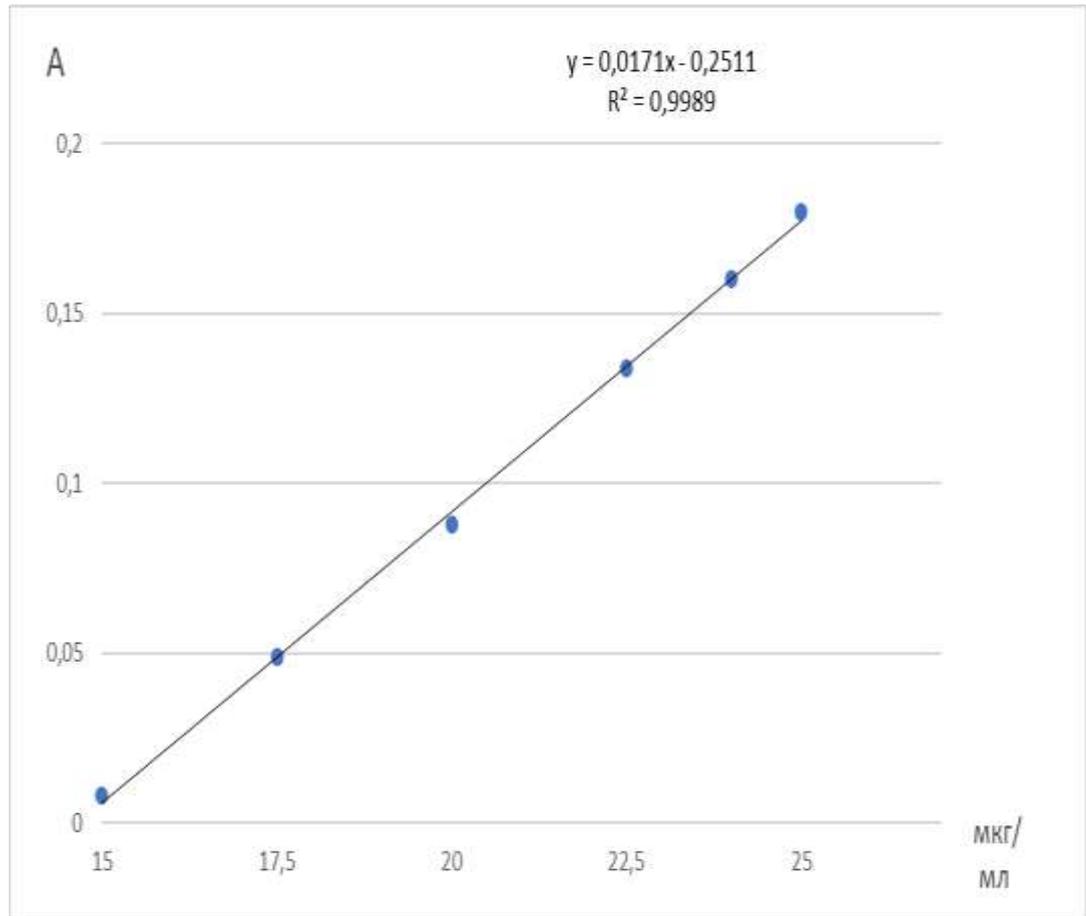


Рисунок 10. Градувальний графік.

Оцінка параметрів лінійної залежності.

Функція лінійної регресії описується рівнянням $y = 0,0171 \cdot x - 0,2511$, коефіцієнт кореляції $R^2 = 0,9989$.

Розрахунок стандартних відхилень $s_a = \sqrt{s_a^2}$, $s_b = \sqrt{s_b^2}$ та довірчих інтервалів (довірча ймовірність $P = 0,95$ та ступені свободи $\nu = 4 - t(0,95; 4) = 2,7764$):

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{\nu} = 7,36625 \cdot 10^{-6}$$

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2} = 9,71374 \cdot 10^{-8}$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 = 4,27162 \cdot 10^{-5}$$

$$s_b = \sqrt{s_b^2} = 0,000311669$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2} = 0,00653576$$

$$a \pm s_a \cdot t(0,95; 4) = 0,2511 \pm 0,01814$$

$$b \pm s_b \cdot t(0,95; 4) = 0,0171 \pm 0,000865$$

Аналізуючи параметри лінійної залежності можна зробити висновок, що результати відповідають ДФУ[48-49].

3.1.2. Кількісне УФ – спектрофотометричне визначення еналаприл малеату у Зразках.

Визначення проводили так: вимірювали величину абсорбції (оптичну густину А) за методикою, яка представлена у п. 2.1.6. аналізованого розчину, за допомогою ГГ визначали концентрацію аналізованого розчину, перераховували концентрацію, враховуючи приготування (розведення) аналізованого розчину за загальновідомими співвідношеннями. Результати кількісного визначення діючої речовини еналаприл малеат у Зразках представлено у Таблиці 3. Кількісно діючу речовину еналаприл малеат знаходили безпосередньо у ЛЗ, результати знайденої концентрації відповідали заявленої концентрації, допоміжні речовини не впливали на визначення, тому розроблену методику можна вважати специфічною.

Таблиця 3. Результати кількісного УФ – спектрофотометричного визначення еналаприл малеату у Зразках.

Об'єкти дослідження	Маса діючої речовини еналаприл малеат, мг, враховуючи розведення	
	Зразок 1	Зразок 2
	10,19	10,32
	10,16	10,21
	11,02	11,17
	11,09	11,13
	9,96	9,45
Середнє значення,	10,48	10,46
Стандартне відхилення, s	0,53	0,72
Дисперсія, s^2	0,28	0,52
Відносне стандартне відхилення, %	2,05	2,86
Довірчий інтервал,	$10,48 \pm 0,66$	$10,46 \pm 0,89$
Відносна похибка середнього значення, , %	2,27	2,50

Аналізуючи величину відносної похибки середнього значення, відносне стандартне відхилення та довірчий інтервал, можна вважати, що методика УФ – спектрофотометричного визначення еналаприл малеату у ЛЗ є цілком придатною та відповідає вимогам ДФУ[48-49].

3.1.3. Вивчення стабільності розчинів у залежності від часу.

Стабільність розчинів як функцію від часу вивчали через зміну оптичної густини А через кожні 10 хвилин, результати наведено у Таблиці 4:

Таблиця 4.

Вивчення стабільності розчину еналаприл малеату як функція часу, концентрація модельного розчину 20 мкг/мл.

								Середнє	RSD,%	Довірчий інтервал	Відносна похибка середнього значення	Дисперсія
t, хв.	0	10	20	30	40	50	60					
A	0,088	0,092	0,091	0,091	0,092	0,091	0,090	0,091	1,52	0,091 ± 0,0013	1,41	1,90·10 ⁻⁶

Аналізуючи результати експерименту та статистичні дані, які представлено у Таблиці 4 (RSD%, довірчий інтервал, відносну похибку середнього значення та величину дисперсії) можна зробити висновок, що розчини еналаприл малеату є стабільними у часі [48-49].

3.2. Результати алкаліметричного титрування.

Методика кількісного алкаліметричного визначення еналаприл малеату у субстанції з наступним фіксуванням точки еквівалентності потенціометрично регламентована у ДФУ (Додаток 1). Спираючись на статтю ДФУ, ми провели експеримент щодо визначення концентрації АФІ у Зразках, результати представлено у Таблиці 5:

Таблиця 5. Алкаліметричне потенціометричне визначення АФІ еналаприл малеату у Зразках.

Титрування	Маса еналаприл малеату у Зразках, мг, враховуючи розведення	
	Зразок 1	Зразок 2
№		
1	10,31	10,42
2	10,24	10,16
3	10,09	10,63
4	9,86	9,94
5	9,73	9,81
Середнє значення	10,05	10,19
Стандартне відхилення, s	0,25	0,34
Дисперсія, s^2	0,062	0,12
Відносне стандартне відхилення, RSD, %	2,46	3,30
Довірчий інтервал	10,05 ± 0,31	10,19 ± 0,42
Відносна похибка середнього значення, %	3,05	4,10

Аналізуючи експериментальні дані, можна зробити висновок, що методика алкаліметричного потенціометричного визначення АФІ еналаприл малеат за ДФУ (Додаток 1) може бути також придатною для визначення маси діючої речовини у ЛЗ оскільки RSD, % не перебільшує 3,3% [48-49].

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано методики ідентифікації та кількісного визначення еналаприл малеату у субстанції та лікарських засобах.
2. Проаналізовано фізико-хімічні, фармакологічні, фармакокінетичні властивості еналаприл малеату.
3. Розроблена методика кількісного визначення еналаприл малеату методом УФ – спектрофотометрії у лікарських засобах, виконана її апробація та часткова валідація (лінійність, специфічність, стабільність розчинів у часі), виконана оцінка статистичних величин.
4. Кількісний вміст еналаприлу малеату знайдено методом алкаліметричного титрування за ДФУ, виконана оцінка статистичних величин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. <https://uk.wikipedia.org/wiki/> Інгібітори АПФ.
2. <https://www.sciencedirect.com/topics/pharmacology-toxicology-and-pharmaceutical-science/enalapril>.
3. Довідник лікарських препаратів Компендіум [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <https://compendium.com.ua/>
4. Фармакологія за Рангом і Дейлом, пер.9-го англ.вид. у 2-х томах Т.1/Джеймс М.Рітер, Род Флавер, ГремГендерсон, Юн Конг Лоук, Девід Мак К,юн, Гемфрі П Ранг; наук.ред.перекл. Ганна Зайченко, Микола Хайтович.-К.ВСВ ”Медицина“, 2021-588 с.
5. Фармакологія з основами патології / Колесник Ю.М.,Чекман І.С., Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Нагорна О.О., Бухтіярова Н.В., Моргунцова С.А., Зайченко Г.В. : підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. – 572 с.
6. Побічна дія ліків: підручник для студентів вищих навчальних закладів медичної освіти/Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Бухтіярова Н.В, Самура Т.А., Бухтіярова Т.А., Нагорна О.О., Моргунцова С.А., Єгоров А.А., Риженко О.В., Тихоновський О.В. Запоріжський державний медичний Університет. Вінниця: Нова книга, 2021. – 360 с.
7. Фармакологія. Підручник для медичних і стоматологічного факультетів Вищих медичних навчальних закладів освіти. І.С.Чекман, В.М.Бобирьов, В.В.Кресюн, В.В.Годован, Н.О.Горчакова, Л.І.Казак, Т.В.Кава, Г.Ю.ОстровськаТ.А.Петрова, Л.М.Рябушко Вінниця: Нова книга, 2020. – 472 с.
8. Довідник еквівалентності лікарських засобів Rxindex Спеціалізоване медичне видання / за ред І.А. Зупанця, В.П. Черних 4 вид. Перероблене К.: Фармацевт практик- 2020. – 2033 с.
9. Pharmacology / [M. A. Clark, R. Finkel, J. A. Rey et al.]. – [7th ed.]. – Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 2018. – 638 p.

10. www.pharma-center.com.ua. веб-сайт ДЦФ МОЗ України [web-page] URL.
11. Фармацевтична хімія: Підручник. Ред. П.О. Безуглий. – Вінниця: Нова Книга, 2008 – 560с.
12. Курс лекцій з фармацевтичної хімії : для студентів мед. ф-ту спец. "Фармація". Кн. 2 / Г. В. Різак. - Ужгород : ФОП Сабов А. М., 2022.- 284 с.
13. Базель Я.Р., Шкумбатюк Р.С., Воронич О.Г., Сухарева О.Ю., Мага І.М.. Навчальний посібник з курсу «Аналітична хімія». Частина 2. Кількісний хімічний аналіз. - Ужгород: в-во ПП «Штеф», 2012. - ч. 2. -87 с
14. Практикум з аналітичної хімії. Навч. Посіб. Для студ. вищ. навч. закл. / В.В.Болотов, Ю.В.Сич, О.М.Свєчнікова та ін.; За аг. Ред.. В.В.Болотова. - Х: Вид-во НФаУ: Золоті сторінки.2003.- 240с.
15. Аналітична хімія. Підручник для вищих навчальних закладів / А.С. Алемасова, В.М. Зайцев, Л.Я. Єнальєва, Н.Д. Щепіна, С.М. Гождзінський / Під ред. В.М. Зайцева. – Донецьк: ДонНУ, 2009. – 415 с.
16. Mohammad, M.A.A. & Elharati, N.S. (2021). Simultaneous determination of enalapril maleate and nitrendipine in tablets using spectrophotometric methods manipulating ratio spectra. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 244, 118894. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118894>
17. Prasad, N. & Roy R.K. (2016). A simple UV Spectrophotometric method for Quantitative Estimation of Enalapril maleate. *Current Research in Pharmaceutical Sciences*, 21-26.
18. Mohammad Afrin Roshanara, Mekala Indu Bhavani & Rama Rao Nadendla. (2019). Development and validation of uv spectrophotometric method for analysis of enalapril maleate in bulk and pharmaceutical dosage form. *Indo American journal of pharmaceutical sciences*, 6(2), 4049–4053.

19. Phoujdar, M.S., Patil P.S., & Vassa, S.P. (2016). Development and validation of uv spectrophotometric method for analysis of enalapril maleate in bulk and tablet dosage form. *World Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*, 7(5), 835-842.
20. Merey, H.A., Ramadan, N.K., Diab, S.S., & Moustafa, A.A. (2017). Validated spectrophotometric methods for simultaneous determination of lercanidipine HCl and enalapril maleate in their binary mixture. *Der Pharma Chemica*, 9, 33-41.
21. Sharma, D., Gupta, M.M. & Tailor, C.S.(2022). Standardized Analytical Procedure for Routine Testing of Amlodipine Besilate and Enalapril Maleate Simultaneously in In-vitro Samples. *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance*, 13(3):247-250. DOI: <https://doi.org/10.25258/ijpqa.13.3.04>
22. Gherman, S., Zavastin, D., Şpac, A. D. R. I. A. N., & Dorneanu, V. (2015). Development and validation of UV spectrophotometric method for determination of enalapril maleate from commercial dosage forms. *Farmacia*, 36(6), 934-937.
23. Swamy, D.K., Guduru, S.K., & Prashanthi, C. (2021). Development and validation of RP-HPLC and UV methods for simultaneous estimation of enalapril maleate and hydrochlorothiazide in bulk and pharmaceutical dosage form. *World Journal of pharmacy and pharmaceutical research*, 11(1), 1521-1533.
24. Hammouda, M.E. & El-Ashry, S.M. (2015). Simultaneous determination of enalapril and hydrochlorothiazide in pharmaceutical preparations using microemulsion liquid chromatography. *Journal of chromatographic science*, 53(1), 90-96. DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmu024>
25. Koppala, S., Ranga Reddy, V., & Anireddy, J.S. (2017). User-friendly HPLC method development and validation for determination of enalapril maleate and its impurities in enalapril tablets. *Journal of chromatographic science*, 55(10), 979-988. DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx060>

26. Diren Sarısaltık Yaşın, Alev Arslantürk Bingül, Alptuğ Karaküçük Zeynep & Şafak Teksin. (2021). Using an Experimental Design for Analysis of Amlodipine Besylate and Enalapril Maleate in a Fixed-dose Combination. *Turk J Pharm Sci*, 18(3), 306-318. DOI: <https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2020.89725>
27. Eid, M., El-Shabrawy, Y., & El-Shaheny, R. (2017). Green micellar HPLC analysis of three angiotensin-converting enzyme inhibitors in their mixtures with hydrochlorothiazide and modeling of their retention behavior by fitting to Foley's model. *Journal of separation science*, 40(18), 3646-3654. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201700622>
28. Li, J., Guo, Z., Zhao, X., Ma, Y., Han, P., & Feng, S. (2015). Simultaneous determination of four drugs for kidney diseases in urine by high performance liquid chromatography. *Se pu= Chinese Journal of Chromatography*, 33(11), 1210-1213. DOI: <https://doi.org/10.3724/SP.J.1123.2015.07022>
29. Nawaz, M., Arayne, M.S., Sultana, N., & Abbas, H.F. (2015). Investigation of interaction studies of cefpirome with ACE-inhibitors in various buffers. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 137, 1050-1054. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.saa.2014.08.152>
30. Zheng, S., Luo, S.B., Mei, Y.B., Guo, J., Tong, L.J., Zhang, Q., & Ye, X.Y. (2019). Simultaneous determination of rivaroxaban and enalapril in rat plasma by UPLC–MS/MS and its application to a pharmacokinetic interaction study. *European journal of drug metabolism and pharmacokinetics*, 44, 229-236. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13318-018-0504-8>
31. Magiera, S., & Baranowska, I. (2014). A new and fast strategy based on semiautomatic microextraction by packed sorbent followed by ultra high performance liquid chromatography for the analysis of drugs and their metabolites in human urine. *Journal of separation science*, 37(22), 3314-3315. DOI: <https://doi.org/10.1002/jssc.201400599>

32. Bevz, N., Myhal, A., Ivanauskas, L., Gorokhova, O., Grynenko, V., & Zhuravel, I. (2021). The use of liquid chromatography method for quantitative determination of active substances in Enalapril-H tablets. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 29 (1), 39–50. DOI: <https://doi.org/10.15587/2519-4852.2021.225569>
33. Magiera, S., & Kusa, J. (2015). Evaluation of a rapid method for the therapeutic drug monitoring of aliskiren, enalapril and its active metabolite in plasma and urine by UHPLC–MS/MS. *Journal of Chromatography B*, 980, 79-87. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2014.12.025>
34. Siddiqui, F. A., Sher, N., Shafi, N., & Bahadur, S. S. (2017). Concurrent determination of Metformin and some ACE inhibitors: its application to pharmacokinetics. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, 2979-2987. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.11.035>
35. Gherman, S., Zavastin, D., Şpac, A., & Panainte, A.D. (2021). Determination of Enalapril maleate from tablets using a new HPLC method. *Ovidius University Annals of Chemistry*, 32(1), 70-75. DOI: <https://doi.org/10.2478/auoc-2021-0010>
36. Sharma, I.R. (2014). Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of Aliskiren and Enalapril in Bulk and Synthetic Mixture by Reversed Phase High Performance Liquid Chromatographic Method. *International Research Journal*, 5(2), 239.
37. Dave, V.M., & Maheshwari, D.G. (2015). RP-HPLC method for simultaneous estimation of enalapril maleate and chlorthalidone in synthetic mixture. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 6(4), 666-673.
38. Masih M. (2016). Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of Amlodipine Besylate and Enalapril Maleate Amlodipine Besylate and Lisinopril Amlodipine Besylate and Losartan Potassium in Tablet Dosage from Using Spectrophotometry and HPLC.

39. Arayne, M.S., Sultana, N., Zuberi, M.H., Siddiqui, F.A., & Haroon, U. (2013). Simultaneous determination of metformin, captopril, lisinopril, and enalapril by RP-HPLC: its applications in dosage formulations and in human serum. *Medicinal Chemistry Research*, 22, 5717-5722. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00044-013-0501-z>
40. Al Mahmud, M. A., Bhadra, S., Haque, A., Al Mamun, M. E., & Haider, S. S. (2014). Development and validation of HPLC method for simultaneous determination of Gliclazide and Enalapril maleate in tablet dosage form. *Dhaka Uni J Pharm Sci*, 13(1), 51-56. DOI: <https://doi.org/10.3329/dujps.v13i1.21859>
41. DeVieno Kreuder, A. & Nelowet Grice, L. (2017). A Method for Assessing Greener Alternatives between Chemical Products Following the 12 Principles of Green Chemistry. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 5(4), 2927-2935. DOI: <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.6b02399>
42. United States Environmental Protection Agency. (n.d.). Basics of Green Chemistry. Retrieved from <https://www.epa.gov/greenchemistry/basics-green-chemistry>
43. O'Neil, N.J., Scott, S., Relph, R., & Ponnusamy, E. (2021) Approaches to Incorporating Green Chemistry and Safety into Laboratory Culture. *Journal of Chemical Education*, 98(1), 84-91. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.0c00134>
44. Hafez, E.A.A. & Elnagdi, M.H. (2013). Green methodologies in organic synthesis: recent developments in our laboratories. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 6(3), 189-210. DOI: <https://doi.org/10.1080/17518253.2012.740078>
45. Pena-Pereira, F., Wojnowski, W., & Tobiszewski, M. (2020). AGREE – Analytical GREENness metric approach and software. *Analytical chemistry*, 92(14), 10076-10082. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c01887>
46. Gałuszka, A., Migaszewski, Z.M., Konieczka, P., & Namieśnik, J. (2012). Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures.

TrAC Trends in Analytical Chemistry, 37, 61-72.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.trac.2012.03.013>

47. Пелешок, К. Є., Миркевич, А. В., Горин, М. М., & Логойда, Л. С. (2024). Розробка уф-спектрофотометричної методики визначення еналаприлу малеату в таблетках з використанням принципів “зеленої” хімії. *Медична та клінічна хімія*, (2), 132–140. <https://doi.org/10.11603/mcch.2410-681x.2024.i2.14777>.
48. Валідація аналітичних методик і випробувань. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е видання. Харків : РІРЕГ, 2001. С.58 – 67. Доповнення 1. 2004. С. 2 – 4.
49. Георгіянц В.А. Валідація аналітичних методик у фармації : теорія, нормативні аспекти, проблеми практики. В.А. Георгіянц. О.А. Євтіфєєва. *Фармацевтичний часопис*. 2007. №2. С.13 – 18.

ДОДАТКИ

Додаток 1. Витяг з Державної Фармакопеї.

Еналаприду малеат

- домішки А, В, С: площа піка кожної домішки не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.2 %);
- неспецифіковані домішки: площа піка кожної домішки не має перевищувати 0.5 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.10 %);
- сума домішок: сума площ піків не має перевищувати 1.5 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.3 %);
- не враховують піки, площа яких становить менше 0.25 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (0.05 %); не враховують пік нітрат-іону, що виходить на початку хроматограми.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 0.5 %. 1.000 г субстанції сушать при температурі 105 °С протягом 4 год.

Сульфатна зола (2.4.14). Не більше 0.1 %. Визначення проводять з 1.0 г субстанції.

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

0.400 г субстанції розчиняють у 50 мл оцтової кислоти безводної Р і титрують 0.1 М розчином хлорної кислоти Р потенціометрично (2.2.20).

Паралельно проводять контрольний дослід.

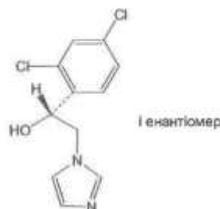
1 мл 0.1 М розчину хлорної кислоти Р відповідає 44.47 мг $C_{18}H_{16}Cl_2N_2O_4$.

ЗБЕРІГАННЯ

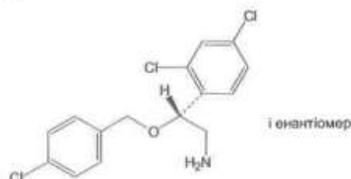
У захищеному від світла місці.

ДОМІШКИ

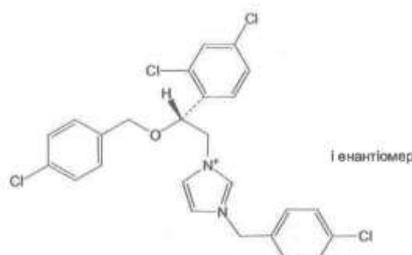
Специфіковані домішки: А, В, С.



А. (1RS)-1-(2,4-дихлорфеніл)-2-(1H-імідазол-1-іл)етанол,



В. (2RS)-2-[(4-хлорбензил)окси]-2-(2,4-дихлорфеніл)-етанамін,

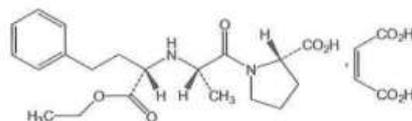


С. 1-(4-хлорбензил)-3-[(2RS)-2-[(4-хлорбензил)окси]-2-(2,4-дихлорфеніл)етил]імідазол.

ЕНАЛАПРИЛУ МАЛЕАТ

Enalaprili maleas

ENALAPRIL MALEATE



$C_{24}H_{32}N_2O_7$
[76095-16-4]

М.м. 492.5

(2S)-1-[(2S)-2-[(1S)-1-(Етоксикарбоніл)-3-фенілпропіл]-аміно]пропанол]піролідин-2-карбонова кислота (Z)-бутендіоат.

Вміст: не менше 98.5 % і не більше 101.5 %, у перерахунку на суху речовину.

ВЛАСТИВОСТІ

Опис. Кристалічний порошок білого або майже білого кольору.

Розчинність. Помірно розчинний у воді Р, легко розчинний у метанолі Р, практично не розчинний у метиленхлориді Р.

Розчиняється в розведених розчинах гідроксидів лужних металів.

Плавиться при температурі близько 144 °С.

ІДЕНТИФІКАЦІЯ

Абсорбційна спектрофотометрія в інфрачервоній області (2.2.24).

Еналаприлу малеат

Відповідність: спектру ФСЗ еналаприлу малеату.

ВИПРОБУВАННЯ

Розчин S. 0.25 г субстанції розчиняють у воді, вільній від вуглецю діоксиду, Р і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 25.0 мл.

Прозорість розчину (2.2.1). Розчин S має бути прозорим.

Кольоровість розчину (2.2.2, метод II). Розчин S має бути безбарвним.

pH (2.2.3). Від 2.4 до 2.9. Вимірюють pH розчину S.

Питоме оптичне обертання (2.2.7). Від -48 до -51 , у перерахунку на суху речовину. Визначення проводять, використовуючи розчин S.

Супровідні домішки. Рідинна хроматографія (2.2.29).

Буферний розчин А. 2.8 г натрію дигідрофосфату моногідрату Р розчиняють у 950 мл води Р, доводять рН до 2.5 фосфорною кислотою Р і доводять об'єм розчину водою Р до 1000 мл.

Буферний розчин В. 2.8 г натрію дигідрофосфату моногідрату Р розчиняють у 950 мл води Р, доводять рН до 6.8 натрію гідроксиду розчином концентрованим Р і доводять об'єм розчину водою Р до 1000 мл.

Суміш для розчинення. Змішують 50 мл ацетонітрилу Р1 і 950 мл буферного розчину А.

Випробовуваний розчин. 30.0 мг субстанції розчиняють у суміші для розчинення та доводять об'єм розчину сумішшю для розчинення до 100.0 мл.

Розчин порівняння (а). 1.0 мл випробовуваного розчину доводять сумішшю для розчинення до об'єму 100.0 мл.

Розчин порівняння (б). 3.0 мг ФСЗ еналаприлу для перевірки придатності хроматографічної системи (містить домішку А) розчиняють у суміші для розчинення та доводять об'єм розчину сумішшю для розчинення до 10.0 мл.

Розчин порівняння (с). Вміст віали ФСЗ еналаприлу суміші домішок (домішки В, С, D, Е та Н) розчиняють у 1.0 мл суміші для розчинення.

Колонка:

- розмір: 0.15 м × 4.1 мм;
- нерухома фаза: сополімер стирол-дивінілбензолу Р (5 мкм);
- температура: 70 °С.

Рухома фаза:

- рухома фаза А: суміш 50 мл ацетонітрилу Р1 і 950 мл буферного розчину В;
- рухома фаза В: суміш 340 мл буферного розчину В і 660 мл ацетонітрилу Р1;

Час (хв)	Рухома фаза А (% об/об)	Рухома фаза В (% об/об)
0 - 20	95 → 40	5 → 60
20 - 25	40	60

Швидкість рухомої фази: 1.0 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 215 нм.

Інжекції: 50 мкл.

Ідентифікація домішок:

- використовують хроматограму, що надається до ФСЗ еналаприлу суміші домішок і хроматограму розчину порівняння (с) для ідентифікації піків домішок В, С, D, Е та Н;
- використовують хроматограму розчину порівняння (б) для ідентифікації піка домішки А.

Відносні утримування до еналаприлу (час утримування еналаприлу близько 11 хв): домішки С — близько 0.2; домішки В — близько 0.8; домішки А — близько 1.1; домішки Н — близько 1.3; домішки Е — близько 1.5; домішки D — близько 2.1.

Придатність хроматографічної системи: розчин порівняння (б):

- відношення пік/западина: не менше 10, де H_p — висота піка домішки А над базовою лінією; H_b — висота над базовою лінією найнижчої точки хроматограми між даним піком і піком еналаприлу.

Нормування:

- домішка А: площа піка не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (а) (1.0 %);
- домішки В, С, D, Е, Н: площа кожної домішки не має перевищувати 0.3 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (а) (0.3 %);
- неспецифіковані домішки: площа кожної домішки не має перевищувати 0.1 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (а) (0.10 %);
- сума домішок, крім домішки А: сума площ піків не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (а) (1.0 %);
- не враховують: піки, площа яких становить менше 0.05 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (а), та пік, що відповідає малеїновій кислоті.

Важкі метали (2.4.8, метод С). Не більше 0.001 % (10 ppm).

2.0 г субстанції мають витримувати випробування на важкі метали. Еталон готують із використанням 2 мл свинцю еталонного розчину (10 ppm Рb) Р.

Втрата в масі при висушуванні (2.2.32). Не більше 1.0 %. 1.000 г субстанції сушать при температурі 105 °С протягом 3 год.

Сульфатна зола (2.4.14). Не більше 0.1 %. Визначення проводять з 1.0 г субстанції.

Еналаприду малеат

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ

0.100 г субстанції розчиняють у воді, вільній від вуглецю діоксиду, *P*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 30 мл і титрують 0.1 *M* розчином натрію гідроксиду потенціометрично (2.2.20) до другого стрибка потенціалів на кривій титрування.

1 мл 0.1 *M* розчину натрію гідроксиду відповідає 16.42 мг $C_{24}H_{32}N_2O_9$.

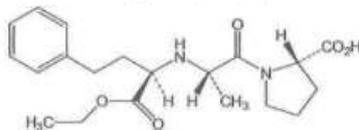
ЗБЕРІГАННЯ

У захищеному від світла місці.

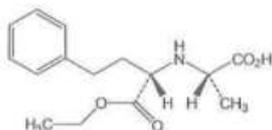
ДОМІШКИ

Специфіковані домішки: А, В, С, D, Е, Н.

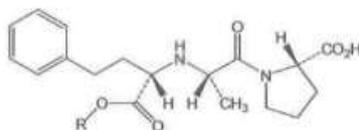
Інші домішки, що виявляються (дані домішки, якщо вони наявні у достатній кількості, можуть визначатися тим або іншим випробуванням монографії. Їх вміст нормується загальноприйнятими критеріями для інших/неспецифікованих домішок і/або загальною монографією Субстанції для фармацевтичного застосування. Тому немає необхідності їх ідентифікувати, щоб показати відповідність вимогам. Див. також 5.10. Контроль домішок у субстанціях для фармацевтичного застосування): F, G, I.



A. (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*R*)-1-(етоксикарбоніл)-3-фенілпропіл]аміно]пропанойл]піролідин-2-карбонова кислота,



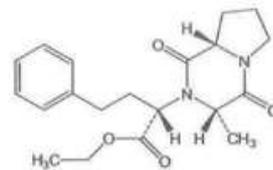
B. (2*S*)-2-[(1*S*)-1-(етоксикарбоніл)-3-фенілпропіл]аміно]пропанова кислота,



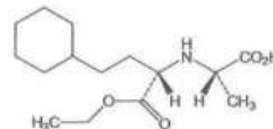
C. R = H: (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*S*)-1-карбокси-3-фенілпропіл]аміно]пропанойл]піролідин-2-карбонова кислота,

E. R = $CH_2-CH_2-C_6H_5$: (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*S*)-3-феніл-1-[(2-фенілетокси)карбоніл]пропіл]аміно]пропанойл]піролідин-2-карбонова кислота,

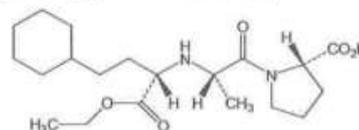
F. R = C_4H_9 : (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*S*)-1-(бутоксикарбоніл)-3-фенілпропіл]аміно]пропанойл]піролідин-2-карбонова кислота,



D. етил (2*S*)-2-[(3*S*,8*a*,*S*)-3-метил-1,4-діоксо-октагідропіроло[1,2-*a*]піразин-2-іл]-4-фенілбуаноат,



G. (2*S*)-2-[(1*S*)-3-циклогексил-1-(етоксикарбоніл)пропіл]аміно]пропанова кислота,



H. (2*S*)-1-[(2*S*)-2-[(1*S*)-3-циклогексил-1-(етоксикарбоніл)пропіл]аміно]пропанойл]піролідин-2-карбонова кислота,



I. 1*H*-імідазол.

Додаток 2. Витяг з Європейської фармакопеї.

Enalapril maleate

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0

Monographs
D-E**Related substances.** Liquid chromatography (2.2.29).

Buffer solution A. Dissolve 2.8 g of sodium dihydrogen phosphate monohydrate R in 950 mL of water R. Adjust to pH 2.5 with phosphoric acid R and dilute to 1000 mL with water R.

Buffer solution B. Dissolve 2.8 g of sodium dihydrogen phosphate monohydrate R in 950 mL of water R. Adjust to pH 6.8 with strong sodium hydroxide solution R and dilute to 1000 mL with water R.

Dissolution mixture. Mix 50 mL of acetonitrile R1 and 950 mL of buffer solution A.

Test solution. Dissolve 30 mg of the substance to be examined in the dissolution mixture and dilute to 100.0 mL with the dissolution mixture.

Reference solution (a). Dilute 1.0 mL of the test solution to 100.0 mL with the dissolution mixture.

Reference solution (b). Dissolve 3 mg of enalapril for system suitability CRS (containing impurity A) in the dissolution mixture and dilute to 10.0 mL with the dissolution mixture.

Reference solution (c). Dissolve the contents of a vial of enalapril impurity mixture CRS (impurities B, C, D, E and H) in 1.0 mL of the dissolution mixture.

Column:

- size: $l = 0.15$ m, $\varnothing = 4.1$ mm;
- stationary phase: styrene-divinylbenzene copolymer R (5 μ m);
- temperature: 70 °C.

Mobile phase:

- mobile phase A: mix 50 mL of acetonitrile R1 and 950 mL of buffer solution B;
- mobile phase B: mix 340 mL of buffer solution B and 660 mL of acetonitrile R1;

Time (min)	Mobile phase A (per cent V/V)	Mobile phase B (per cent V/V)
0 - 20	95 → 40	5 → 60
20 - 25	40	60

Flow rate: 1.0 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 215 nm.

Injection: 50 μ L.

Identification of impurities:

- use the chromatogram supplied with enalapril impurity mixture CRS and the chromatogram obtained with reference solution (c) to identify the peaks due to impurities B, C, D, E and H;
- use the chromatogram obtained with reference solution (b) to identify the peak due to impurity A.

Relative retention with reference to enalapril (retention time = about 11 min): impurity C = about 0.2; impurity B = about 0.8; impurity A = about 1.1; impurity H = about 1.3; impurity E = about 1.5; impurity D = about 2.1.

System suitability: reference solution (b):

- peak-to-valley ratio: minimum 10, where H_p = height above the baseline of the peak due to impurity A and H_v = height above the baseline of the lowest point of the curve separating this peak from the peak due to enalapril.

Limits:

- impurity A: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (1.0 per cent);
- impurities B, C, D, E, H: for each impurity, not more than 0.3 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.3 per cent);

- unspecified impurities: for each impurity, not more than 0.1 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.10 per cent);
- sum of impurities other than A: not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (1.0 per cent);
- disregard limit: 0.05 times the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.05 per cent); disregard the peak due to maleic acid.

Heavy metals (2.4.8): maximum 10 ppm.

2.0 g complies with test C. Prepare the reference solution using 2 mL of lead standard solution (10 ppm Pb) R.

Loss on drying (2.2.32): maximum 1.0 per cent, determined on 1.000 g by drying in an oven at 105 °C for 3 h.

Sulfated ash (2.4.14): maximum 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

Dissolve 0.100 g in carbon dioxide-free water R and dilute to 30 mL with the same solvent. Titrate with 0.1 M sodium hydroxide determining the end-point potentiometrically (2.2.20). Titrate to the 2nd point of inflexion.

1 mL of 0.1 M sodium hydroxide is equivalent to 16.42 mg of $C_{21}H_{32}N_2O_5$.

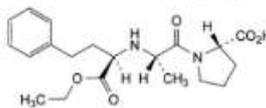
STORAGE

Protected from light.

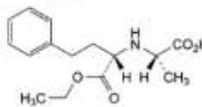
IMPURITIES

Specified impurities: A, B, C, D, E, H.

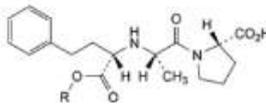
Other detectable impurities (the following substances would, if present at a sufficient level, be detected by one or other of the tests in the monograph. They are limited by the general acceptance criterion for other/unspecified impurities and/or by the general monograph *Substances for pharmaceutical use* (2034). It is therefore not necessary to identify these impurities for demonstration of compliance. See also 5.10. *Control of impurities in substances for pharmaceutical use*): F, G, I.



A. (2S)-1-[(2S)-2-[[[(1R)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,



B. (2S)-2-[[[(1S)-1-(ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoic acid,



C. R = H; (2S)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-carboxy-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,

E. R = $CH_2-CH_2-C_6H_5$; (2S)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-3-phenyl-1-[(2-phenylethoxy)carbonyl]propyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,

F. R = C_4H_9 ; (2S)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-(butoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,

dimethoxy-1,3,4,6,7,11b-hexahydro-2H-benzo[*a*]quinolizine dihydrochloride, calculated with reference to the dried substance.

CHARACTERS

A white or slightly yellowish, crystalline powder, freely soluble in water and in alcohol.

IDENTIFICATION

First identification: A, E.

Second identification: B, C, D, E.

- A. Examine by infrared absorption spectrophotometry (2.2.24), comparing with the spectrum obtained with *emetine hydrochloride CRS*.
- B. Examine the chromatograms obtained in the test for related substances in ultraviolet light at 365 nm. The principal spot in the chromatogram obtained with the test solution is similar in position, fluorescence and size to the spot in the chromatogram obtained with reference solution (a).
- C. Dissolve about 10 mg in 2 mL of *dilute hydrogen peroxide solution R*, add 1 mL of *hydrochloric acid R* and heat. An orange colour develops.
- D. Sprinkle about 5 mg on the surface of 1 mL of *sulfomolybdc reagent R2*. A bright-green colour develops.
- E. It gives reaction (a) of chlorides (2.3.1).

TESTS

Solution S. Dissolve 1.25 g in *carbon dioxide-free water R* and dilute to 25 mL with the same solvent.

Appearance of solution. Solution S is clear (2.2.1) and not more intensely coloured than reference solution Y₅ or BY₅ (2.2.2, *Method II*).

pH (2.2.3). Dilute 4 mL of solution S to 10 mL with *carbon dioxide-free water R*. The pH of the solution is 4.0 to 6.0.

Specific optical rotation (2.2.7). Dissolve in *water R* a quantity of the substance to be examined corresponding to 1.250 g of dried substance and dilute to 25.0 mL with the same solvent. The specific optical rotation is + 16 to + 19, calculated with reference to the dried substance.

Related substances. Examine by thin-layer chromatography (2.2.27), using a *TLC silica gel G plate R*. Prepare the solutions immediately before use.

Test solution. Dissolve 50 mg of the substance to be examined in *methanol R* containing 1 per cent V/V of *dilute ammonia R2* and dilute to 100 mL with the same solvent.

Reference solution (a). Dissolve 50 mg of *emetine hydrochloride CRS* in *methanol R* containing 1 per cent V/V of *dilute ammonia R2* and dilute to 100 mL with the same solvent.

Reference solution (b). Dissolve 10 mg of *isoemetine hydrobromide CRS* in *methanol R* containing 1 per cent V/V of *dilute ammonia R2* and dilute to 100 mL with the same solvent. Dilute 5 mL of this solution to 50 mL with *methanol R* containing 1 per cent V/V of *dilute ammonia R2*.

Reference solution (c). Dissolve 10 mg of *cephaeline hydrochloride CRS* in *methanol R* containing 1 per cent V/V of *dilute ammonia R2* and dilute to 100 mL with the same solvent. Dilute 5 mL of this solution to 50 mL with *methanol R* containing 1 per cent V/V of *dilute ammonia R2*.

Reference solution (d). Dilute 1 mL of reference solution (a) to 100 mL with *methanol R* containing 1 per cent V/V of *dilute ammonia R2*.

Reference solution (e). To 1 mL of reference solution (a) add 1 mL of reference solution (b) and 1 mL of reference solution (c).

Apply to the plate 10 µL of the test solution and each of reference solutions (a), (b), (c) and (d) and 30 µL of reference solution (e). Develop over a path of 15 cm using a mixture of 0.5 volumes of *diethylamine R*, 2 volumes of *water R*, 5 volumes of *methanol R*, 20 volumes of *ethylene glycol monomethyl*

ether R and 100 volumes of *chloroform R*. Allow the plate to dry in air until the solvent has evaporated. In a well-ventilated fume cupboard, spray with *chloroformic iodine solution R* and heat at 60 °C for 15 min. Examine in ultraviolet light at 365 nm. In the chromatogram obtained with the test solution, any spots corresponding to isoemetine and cephaeline are not more intense than the spots in the chromatograms obtained with reference solutions (b) and (c) respectively (2.0 per cent); any spot, apart from the principal spot and the spots corresponding to isoemetine and cephaeline, is not more intense than the spot in the chromatogram obtained with reference solution (d) (1.0 per cent). The test is not valid unless the chromatogram obtained with reference solution (e) shows three clearly separated spots.

Loss on drying (2.2.32). 11.0 per cent to 15.0 per cent, determined on 1.00 g by drying in an oven at 105 °C for 3 h.

Sulfated ash (2.4.14). Not more than 0.1 per cent, determined on 1.0 g.

ASSAY

Dissolve 0.200 g in a mixture of 5.0 mL of 0.01 M *hydrochloric acid* and 50 mL of *alcohol R*. Carry out a potentiometric titration (2.2.20), using 0.1 M *sodium hydroxide*. Read the volume added between the two points of inflexion.

1 mL of 0.1 M *sodium hydroxide* is equivalent to 27.68 mg of C₂₃H₃₁N₃O₅.

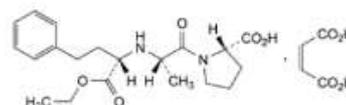
STORAGE

Store protected from light.

07/2010:1420

ENALAPRIL MALEATE

Enalaprili maleas



C₂₃H₃₁N₃O₅
[76095-16-4]

M_r 492.5

DEFINITION

(2S)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-1-(Ethoxycarbonyl)-3-phenylpropyl]-amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid (Z)-butenedioate.

Content: 98.5 per cent to 101.5 per cent (dried substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, crystalline powder.

Solubility: sparingly soluble in water, freely soluble in methanol, practically insoluble in methylene chloride. It dissolves in dilute solutions of alkali hydroxides.

mp: about 144 °C.

IDENTIFICATION

Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Comparison: *enalapril maleate CRS*.

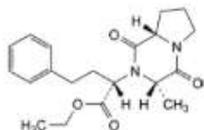
TESTS

Solution S. Dissolve 0.25 g in *carbon dioxide-free water R* and dilute to 25.0 mL with the same solvent.

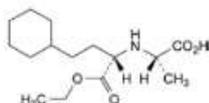
Appearance of solution. Solution S is clear (2.2.1) and colourless (2.2.2, *Method II*).

pH (2.2.3): 2.4 to 2.9 for solution S.

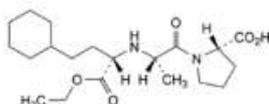
Specific optical rotation (2.2.7): – 48 to – 51 (dried substance), determined on solution S.



D. ethyl (2S)-2-[(3S,8aS)-3-methyl-1,4-dioxo-octahydropyrrolo[1,2-a]pyrazin-2-yl]-4-phenylbutanoate,



G. (2S)-2-[(1S)-3-cyclohexyl-1-(ethoxycarbonyl)propyl]amino]propanoic acid,



H. (2S)-1-[(2S)-2-[(1S)-3-cyclohexyl-1-(ethoxycarbonyl)propyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid,

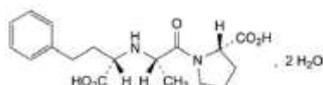


I. 1H-imidazole.

01/2008:1749
corrected 7.0

ENALAPRILAT DIHYDRATE

Enalaprilatum dihydricum



$C_{18}H_{24}N_2O_7 \cdot 2H_2O$
[84680-54-6]

M_r 384.4

DEFINITION

(2S)-1-[(2S)-2-[(1S)-1-Carboxy-3-phenylpropyl]amino]propanoyl]pyrrolidine-2-carboxylic acid dihydrate.

Content: 98.5 per cent to 101.5 per cent (anhydrous substance).

CHARACTERS

Appearance: white or almost white, hygroscopic, crystalline powder.

Solubility: very slightly soluble or slightly soluble in water, sparingly soluble in methanol, practically insoluble in acetonitrile.

It shows pseudopolymorphism (5.9).

IDENTIFICATION

A. Specific optical rotation (see Tests).

B. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

Preparation: mulls in liquid paraffin R.

Comparison: enalaprilat dihydrate CRS.

If the spectra obtained show differences, expose the substance to be examined and the reference substance to a 98 per cent relative humidity for 3 days using a chamber conditioned with a saturated solution of calcium sulfate R. Record new spectra.

TESTS

Appearance of solution. The solution is clear (2.2.1) and colourless (2.2.2, Method II).

Dissolve 0.10 g in water R and dilute to 100.0 mL with the same solvent.

Specific optical rotation (2.2.7): – 53.0 to – 56.0 (anhydrous substance).

Dissolve 0.200 g in methanol R and dilute to 20.0 mL with the same solvent.

Related substances. Liquid chromatography (2.2.29). Use freshly prepared solutions.

Buffer solution. Dissolve 1.36 g of potassium dihydrogen phosphate R in 950 mL of water R. Adjust to pH 3.0 with phosphoric acid R and dilute to 1000 mL with water R.

Solvent mixture. Buffer solution, acetonitrile R1, methanol R1 (1:2:2 V/V/V).

Dissolution mixture. Solvent mixture, buffer solution (8:9:2 V/V).

Test solution. Dissolve 25.0 mg of the substance to be examined in 2.5 mL of methanol R1 and dilute to 25.0 mL with the dissolution mixture.

Reference solution (a). Dilute 1.0 mL of the test solution to 100.0 mL with the dissolution mixture. Dilute 5.0 mL of this solution to 10.0 mL with the dissolution mixture.

Reference solution (b). Dissolve 5 mg of enalaprilat for system suitability CRS (containing impurity C) in 0.5 mL of methanol R1 and dilute to 5 mL with the dissolution mixture.

Reference solution (c). Dissolve the contents of a vial of enalaprilat impurity G CRS in 1 mL of the test solution.

Column:

– size: $l = 0.25$ m, $\varnothing = 4.6$ mm;

– stationary phase: end-capped octadecylsilyl silica gel for chromatography R (5 μ m);

– temperature: 70 °C.

Mobile phase:

– mobile phase A: solvent mixture, buffer solution (10:90 V/V);

– mobile phase B: acetonitrile R1;

Time (min)	Mobile phase A (per cent V/V)	Mobile phase B (per cent V/V)
0 - 25	100	0
25 - 50	100 → 90	0 → 10
50 - 80	90	10

Flow rate: 2.0 mL/min.

Detection: spectrophotometer at 210 nm.

Injection: 20 μ L.

Identification of impurities: use the chromatogram supplied with enalaprilat for system suitability CRS and the chromatogram obtained with reference solution (b) to identify the peak due to impurity C; use the chromatogram obtained with reference solution (c) to identify the peak due to impurity G.

Relative retention with reference to enalaprilat (retention time = about 21 min): impurity C = about 1.2; impurity G = about 2.9.

System suitability: reference solution (b):

– peak-to-valley ratio: minimum 2.0, where H_z = height above the baseline of the peak due to impurity C and H_v = height above the baseline of the lowest point of the curve separating this peak from the peak due to enalaprilat.

Limits:

– impurities C, G: for each impurity, not more than the area of the principal peak in the chromatogram obtained with reference solution (a) (0.5 per cent);

Анотація (Summary)

Introduction. Enalapril maleate is an API that is part of drugs used in the treatment of hypertension and are considered basic.

Research objective. Based on previous scientific research, develop a method for quantitative UV spectrophotometric determination of the API enalapril maleate in tablets.

Research methods. Bibliosemantic, UV spectrophotometry.

Results. When familiarizing with the conclusions of scientists regarding the methods for quantitative determination of the API enalapril maleate in solid dosage forms, it can be stated that the active substance can be determined by HPLC, neutralization method and spectrophotometry. The method for quantitative UV determination, which was developed by Ukrainian scientists [1], from our point of view, is the most express, environmentally friendly and inexpensive, taking into account the above, we developed our own method, based on the experience of Ukrainian colleagues.

The objects of the study were solid dosage forms (the mass of the active ingredient in one tablet is 10 mg) produced by pharmaceutical companies in Ukraine and Poland. Methanol was chosen as the solvent. The absorption spectrum for the enalapril maleate solution (we used a pharmacopoeial standard sample of Enalapril maleate with a concentration of 20 µg/ml, which was prepared by standard dilution methods from a previously prepared solution with a concentration of 98.5 µg/ml, the sample was weighed on a Mettler ToledoXS204 laboratory balance) was analyzed in the range of 200-240 nm. The optical density of the solution was measured using a SPECORD 200-222 U 214 spectrophotometer. The concentration of the active ingredient enalapril maleate was determined using the calibration graph method. Analyzing the results of UV-spectrophotometric determination of API in tablets, it can be concluded that the results meet the

requirements of the State Pharmaceutical Institute, the relative error of the average value does not exceed 2.5%.

Conclusions. A method for quantitative UV-spectrophotometric determination of API enalapril maleate in tablets has been developed and tested, the results correlate with the concentrations specified by the manufacturer in the instructions for medical use.