

К. Є. Пелешок, А. В. Миркевич, М. М. Горин, Л. С. Логойда
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО
МОЗ УКРАЇНИ

РОЗРОБКА УФ-СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ЕНАЛАПРИЛУ МАЛЕАТУ В ТАБЛЕТКАХ З ВИКОРИСТАННЯМ ПРИНЦИПІВ “ЗЕЛЕНОЇ” ХІМІЇ

Вступ. У науковій літературі описано досить багато спектрофотометричних методик кількісного визначення еналаприлу малеату в моно- та комбінованих лікарських засобах, однак вони мають ряд недоліків. Тому існує потреба в розробці модифікованих, простих у виконанні, експресних та екологічно безпечних методик кількісного визначення еналаприлу малеату в таблетках.

Мета дослідження – розробити просту, експресну, “зелену” та економічно доступну УФ-спектрофотометричну методику кількісного визначення еналаприлу малеату в таблетках.

Методи дослідження. Для виконання дослідження застосовували фармакопейний стандартний зразок еналаприлу малеату (“Sigma Aldrich”, чистота – 98,9 %), метанол Р (“Honeywell Riedel-de Haen™”, 99,9 %), таблетки 10 мг (двох різних виробників). Оптичну густину в УФ-ділянці визначали за допомогою спектрофотометра Shimadzu UV-1800 (Японія) у кварцових кюветах із товщиною шару 1 см. Для обробки отриманих спектрів використовували програмний пакет UV-Probe 2.62.

Результати й обговорення. Абсорбційні спектри поглинання метанольних вилучень з таблеток еналаприлу малеату та фармакопейного стандартного зразка еналаприлу малеату в метанолі мали виражені максимуми поглинання при довжині хвилі 212 нм. Отримано рівняння регресії – $y = 0,0264x - 0,0641$, коефіцієнт кореляції становив 0,9996. Параметри лінійності відповідали всім вимогам Державної Фармакопеї України на всьому діапазоні застосування (14–26 мкг/мл). Межа виявлення еналаприлу малеату становила 0,60 мкг/мл, межа кількісного визначення – 1,81 мкг/мл. Систематична похибка цієї методики – $\delta\% 0,09$, що свідчить про достатню близькість середнього результату отриманої оптичної густини до номінального значення. Під час вивчення робастності методики було встановлено, що досліджувані розчини стабільні впродовж 120 хв. Розрахунок екологічності методики проведено з використанням методів AGREE та аналітичної еко-шкали. Запропонована УФ-спектрофотометрична методика визначення еналаприлу малеату відповідає усім принципам “зеленої” хімії.

Висновки. Розроблено просту, експресну, “зелену” та економічно доступну УФ-спектрофотометричну методику кількісного визначення еналаприлу малеату в таблетках з використанням метанолу як розчинника з максимумом поглинання при довжині хвилі 212 нм. Запропоновану УФ-спектрофотометричну методику було успішно застосовано для кількісного визначення еналаприлу в таблетках.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: спектрофотометрія; еналаприлу малеат; валідація; кількісне визначення; таблетки.

ВСТУП. Еналаприл – лікарський засіб, який належить до класу інгібіторів ангіотензинперетворювального ензиму та є проліками, тому що фармакологічну активність проявляють продукти її біотрансформації (його метаболіти). Механізм дії полягає в тому, що еналаприлат – активний метаболіт еналаприлу, який має здатність пригнічувати ангіотензинперетворювальний фермент, що впливає на зниження рівня ангіотензину II, який звужує кровосносні судини, внаслідок чого підвищується артеріальний тиск. Інгібування цього ензиму призводить до зменшення периферичного опору без збільшення потреби

© К. Є. Пелешок, А. В. Миркевич, М. М. Горин, Л. С. Логойда, 2024.

в кисні та зниження артеріального тиску. Показаннями до застосування еналаприлу є артеріальна гіпертензія, серцева недостатність та дисфункція лівого шлуночка [1, 2]. Еналаприлу малеат – кристалічний порошок білого або майже білого кольору. Субстанція помірно розчиняється у воді, легко розчиняється в метанолі й практично не розчиняється в метиленхлориді. Молекулярна маса еналаприлу малеату становить 492,5 г/моль, коефіцієнти ліпофільності ($\log P$) – 0,19 та 0,59, константи кислотності (pK_a) – 3,67 (карбонова кислота), 5,2 (вторинний амін). Температура плавлення – від 129,6 до 158,4 °С. За хімічною будовою еналаприлу малеат – це (2S)-1-[(2S)-2-[[[1S]-1-(етоксикарбоніл)-

3-феніл-пропіл]-аміно]пропаноїл]піролідин-2-карбонова кислота (Z)-бутендіонат (рис. 1) [3]. Державна Фармакопея України (ДФУ) [4] та Європейська Фармакопея (Ph. Eur.) [5] регламентують проводити кількісне визначення еналаприлу малеату за допомогою алкаліметрії з потенціометричним фіксуванням точки еквівалентності, а Фармакопея США (USP) [6] – методом ВЕРХ-УФ. Провівши аналіз джерел літератури щодо кількісного аналізу еналаприлу малеату в лікарських формах, можна зазначити, що науковці описали доволі багато спектрофотометричних [7–13] та хроматографічних методик [14–31]. Порівняно з ВЕРХ спектрофотомет-

ричні методики менш специфічні, але на сьогодні вони є експресними, простими у виконанні та економічно доступними для лабораторій з обмеженим бюджетом. Тому існує необхідність у розробці вищеописаних методик кількісного визначення еналаприлу малеату в таблетках з урахуванням усіх принципів “зеленої” хімії, які, у свою чергу, підтверджують терапевтичну ефективність і безпеку препарату. Це є дуже важливим та актуальним завданням на сьогодні.

Мета дослідження – розробити просту, експресну, “зелену” та економічно доступну УФ-спектрофотометричну методику кількісного визначення еналаприлу малеату в таблетках.

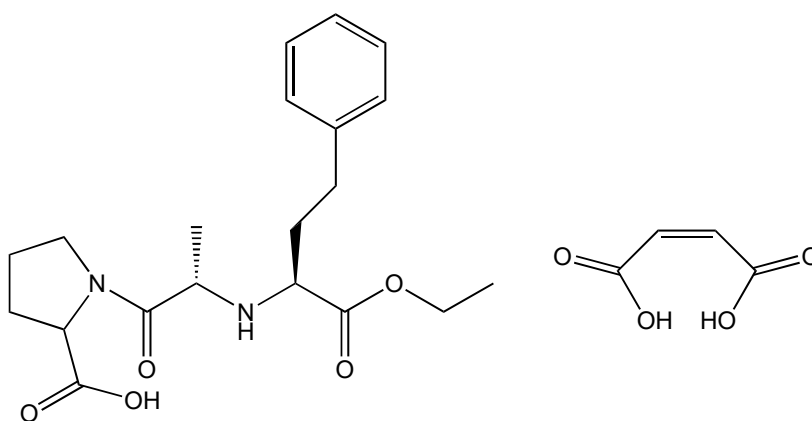


Рис. 1. Структурна формула еналаприлу малеату.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Для виконання дослідження застосовували фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) еналаприлу малеату (“Sigma Aldrich”, чистота – 98,9 %), метанол Р (“Honeywell Riedel-de Haen™”, 99,9 %), таблетки 10 мг (двох різних виробників).

Обладнання: спектрофотометр Shimadzu UV-1800 (Японія), ваги лабораторні електронні RAD WAG AS 200/C, ультразвукова баня Sonorex Digitec DT100H, рН-метр И-160МИ, мірний посуд класу А. Для обробки отриманих спектрів використовували програмний пакет UV-Probe 2.62. Статистичну обробку та валідацію аналітичної методики було проведено відповідно до вимог ДФУ.

Приготування випробовуваного розчину таблеток розувастатину.

Точну наважку порошку розтертих таблеток, еквівалентну 2,5 мг еналаприлу, переносять у мірну колбу місткістю 25,00 мл, доводять метанолом Р до мітки та витримують в ультразвуковій бані впродовж 2 хв. Потім розчин фільтрують через паперовий фільтр і доводять метанолом Р до мітки. Відбирають аліквоту (2,0 мл) та переносять у мірну колбу місткістю 10,00 мл, доводять метанолом Р до мітки (отримують розчин

з концентрацією 20,0 мкг/мл). Вимірюють абсорбцію розчину на фоні компенсаційного розчину при довжині хвилі 212 нм. Розрахунок вмісту діючої речовини проводять за загальноприйнятою формулою.

Приготування розчину ФСЗ розувастатину кальцію.

Точну наважку ФСЗ еналаприлу малеату (25,0 мг) зважують та розчиняють у 250,0 мл метанолу Р для приготування вихідного розчину з концентрацією $2,0 \times 10^{-4}$ М. Далі відбирають аліквоти з робочого стандартного розчину (1,4, 1,6, 1,8, 2,0, 2,2, 2,4, 2,6 мл) у мірні колби місткістю 10,00 мл та доводять до мітки метанолом Р, що відповідає 14,0–26,0 мкг/мл. Вимірюють абсорбцію розчинів на фоні компенсаційного розчину при довжині хвилі 212 нм.

Компенсаційний розчин. Метанол Р.

Для вивчення лінійності використовують 1,4–2,6 мл випробовуваного розчину.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Абсорбційні спектри поглинання метанольного розчину ФСЗ еналаприлу малеату і метанольних вилучень з таблеток еналаприлу малеату мають виражені максимуми при довжині хвилі 212 нм.

На рисунку 2 наведено спектри поглинання метанольних розчинів еналаприлу малеату під час вивчення лінійності.

Валідацію розробленої УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення еналаприлу малеату проводили відповідно до вимог ДФУ за основними валідаційними характеристиками: специфічністю, лінійністю, діапазоном застосування, правильністю, прецизійністю, робасністю.

Для підтвердження специфічності УФ-спектрофотометричної методики протестовано розчин допоміжних речовин ("плацебо"). Результати дослідження специфічності для таблеток еналаприлу малеату наведено в таблиці 1. Отримані дані свідчать про те, що при довжині хвилі 212 нм поглинання розчину "плацебо" було незначним (одержане значення δ_{noise} , %), воно не перевищувало критерію прийнятності – не більше 0,5 %.

Лінійність УФ-спектрофотометричної методики було досліджено в діапазоні концентрацій 14–26 мкг/мл методом найменших квадратів відповідно до вимог ДФУ. Метрологічні характеристики рівняння регресійної залежності наведено в таблиці 2. Також було розраховано межу виявлення (МВ) і межу кількісного визначення (МКВ), які становили 0,60 та 1,81 мкг/мл відповідно.

Для підтвердження правильності та прецизійності аналітичної методики готували суміші, які містили точно відому кількість еналаприлу малеату, що охоплювала весь діапазон застосування, з відомою концентрацією 80–30 % від номінальної. Результати випробувань наведено в таблиці 3.

УФ-спектрофотометрична методика кількісного визначення еналаприлу малеату є достатньо прецизійною. Значення відносного довірчого інтервалу – $\Delta z = 0,53$ %, що є нижчим за критичний поріг збіжності результатів (2,4 %). Критерій незначущості систематичної похибки методики виконано. Систематична похибка становила $\delta\%$ 0,09, і це підтверджує те, що середній результат отриманої оптичної густини достатньо близький до номінального значення.

Дослідження внутрішньолабораторної прецизійності проводили на шести зразках з однієї серії в різні дні різні аналітики, використовуючи різний мірний посуд, шляхом розрахунку значення відносного довірчого інтервалу, який повинен бути нижчим за максимально допустиму невизначеність результатів аналізу ($\Delta z \leq 2,4$ (при $V = 5$ %)) (табл. 4). Розраховане значення відносного довірчого інтервалу для шести паралельних визначень однієї серії препарату відповідало критеріям прийнятності ($\leq 2,4$ %).

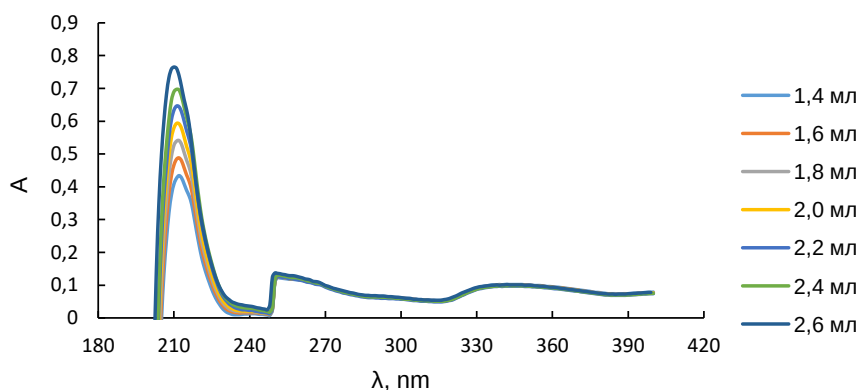


Рис. 2. Спектри поглинання метанольних розчинів еналаприлу малеату під час вивчення лінійності (14–26 мкг/мл).

Таблиця 1 – Результати дослідження специфічності УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення еналаприлу малеату в таблетках

Абсорбція "плацебо" (A "плацебо")	Абсорбція розчину порівняння (A _{st})	Одержане значення δ_{noise} , %	Критерій прийнятності
0,001	0,542	0,18	Не більше 0,5 %

Таблиця 2 – Метрологічні характеристики лінійної залежності

Величина	Значення	Критерій	Висновок (відповідає або не відповідає)
$b \pm (S_b)$	0,0264 ± (0,0002)	–	–
$a \pm (S_a)$	0,0641 ± (0,0048)	$ a \leq 2,6$	Відповідає
R^2	0,9996	$> 0,9980$	Відповідає
МВ, мкг/мл	0,60	–	–
МКВ, мкг/мл	1,81	–	–
Діапазон застосування, мкг/мл	14–26	–	–

Таблиця 3 – Результати аналізу модельних сумішей та їх статистична обробка для кількісного визначення еналаприлу малеату

Модельний розчин	Вміст еналаприлу малеату, %		Відношення знайденого до введеного, $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100 \%$
	введено, $X_i = (m/m_{cs}) \cdot 100 \%$	знайдено, $Y_i = (A_i/A_{rs}) \cdot 100 \%$	
M ₁	78,05	77,91	99,82
M ₂	83,99	84,21	100,26
M ₃	89,87	90,04	100,19
M ₄	95,07	95,46	100,41
M ₅	102,09	101,98	99,89
M ₆	111,16	110,89	99,76
M ₇	112,21	112,56	100,32
M ₈	119,85	120,01	100,13
M ₉	130,03	130,07	100,03
Середнє значення, Z , %			100,09
Стандартне відхилення, S_z , %			0,23
Відносний довірчий інтервал $\Delta z = t(95 \%, 8) \cdot S_z = 2,3060 S_z$, %			0,53
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta z \leq \max \Delta_{As} = 2,4$ %			Виконується (<2,4)
Систематична похибка $\delta = Z - 100 $, %			0,09
Критерій невизначеності систематичної похибки $\delta \leq \max \delta$ %			Виконується (0,09 < 0,51)
Загальний висновок про методику			Коректна

Таблиця 4 – Результати перевірки внутрішньолaboratorної прецизійності

Номер розчину	Величина Z_i , %			
	1-й дослід	2-й дослід	3-й дослід	
1	99,98	100,12	99,89	
2	99,85	100,06	99,79	
3	100,84	99,79	100,43	
4	100,66	100,09	100,08	
5	99,88	99,97	99,98	
6	100,64	100,52	99,87	
Середнє Z , %		100,30	100,09	100,01
RSD _x , %		0,45	0,24	0,23
Відносне стандартне відхилення, RSD _z , %		0,31		
Відносний довірчий інтервал, Δz		0,33 ≤ 2,4		
Критичне значення збіжності результатів Δ_{As} , %		2,4		

Розрахунок невизначеності пробопідготовки для визначення еналаприлу малеату в таблетках за УФ-спектрофотометричною методикою наведено в таблиці 5. Невизначеність кінцевої аналітичної операції та невизначеність пробопідготовки становлять повну прогнозовану відносну невизначеність. Для спектрофотометричного аналізу невизначеність кінцевої аналітичної операції дорівнює 0,70 %.

Згідно з результатами розрахунків, невизначеність пробопідготовки (Δ_{SP}) становила 1,53 %. Найбільша невизначеність була властива операціям 1, 4, 8 (див. табл. 5).

Повна невизначеність аналітичної методики (Δ_{As}) визначення еналаприлу малеату в таблетках становила 1,88 %:

$$\Delta_{As} = 1,88 \% \leq \max \Delta_{As} = 2,4 \%$$

Таблиця 5 – Розрахунок невизначеності пробопідготовки методики

Операція пробопідготовки	Параметр розрахункової формули	Невизначеність, %
Розчин порівняння		
1. Взяття наважки ФСЗ еналаприлу	m_0	0,2 мг/25,0 мг × 100 % = 0,8 %
2. Доведення до об'єму в мірній колбі місткістю 250,00 мл	250	0,08 %
3. Взяття аліквоти піпеткою 2,0 мл	2,0	0,57 %
4. Доведення до об'єму в мірній колбі місткістю 10,00 мл	10	0,5 %
Випробовуваний розчин		
5. Взяття наважки таблеток	m_1	0,2 мг/25,8 мг × 100 % = 0,7 %
6. Доведення до об'єму в мірній колбі місткістю 25,00 мл	25	0,23 %
7. Взяття аліквоти піпеткою 2,0 мл	2,0	0,57 %
8. Доведення до об'єму в мірній колбі місткістю 10,00 мл	10	0,5 %

Таким чином, УФ-спектрофотометрична методика є коректною та може відтворюватися в інших лабораторіях з необхідною точністю.

Результати кількісного визначення вмісту еналаприлу малеату в таблетках наведено в таблиці 6, і вони демонструють, що кількісне визначення еналаприлу малеату в лікарських засобах двох різних виробників є точним та надійним.

Робасність УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення еналаприлу малеату в таблетках оцінювали на стадії розробки шляхом вивчення стабільності випробовуваного розчину та розчину порівняння протягом 120 хв. Результати дослідження стабільності наведено в таблиці 7. Отримані результати свідчать про те, що розчини є стабільними протягом 120 хв.

Таблиця 6 – Результати кількісного визначення еналаприлу малеату в таблетках

Лікарський засіб	Знайдено, г	Метрологічні характеристики
Таблетки еналаприлу малеату (виробник 1) 10 мг	0,0102	$\bar{m} = 0,0104$ г $S = 1,72 \times 10^{-4}$ $t = 2,57$ $\Delta x = 1,98 \times 10^{-4}$ RSD = 1,65 % $\varepsilon = 1,90$ %
	0,0104	
	0,0105	
	0,0103	
	0,0107	
	0,0104	
Таблетки еналаприлу малеату (виробник 2) 10 мг	0,0106	$\bar{m} = 0,0107$ г $S = 1,41 \times 10^{-4}$ $t = 2,57$ $\Delta x = 1,63 \times 10^{-4}$ RSD = 1,32 % $\varepsilon = 1,52$ %
	0,0109	
	0,0107	
	0,0108	
	0,0105	
	0,0107	

Таблиця 7 – Результати вивчення стабільності випробовуваного розчину еналаприлу малеату (1) та розчину порівняння еналаприлу малеату (2)

№	t, хв						A _{сеп}	RSD _t , %
	0	20	40	60	80	120		
1	0,644	0,643	0,641	0,640	0,640	0,638	0,641	0,34
2	0,649	0,647	0,647	0,646	0,644	0,643	0,646	0,34

Під час розробки УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення еналаприлу малеату в таблетках було враховано всі принципи “зеленої” хімії [32–37]. Оцінювали “зеленість” аналітичної методики відповідно до аналітичної еко-шкали (табл. 8) та методу AGREE (рис. 3). Бал аналітичної еко-шкали становив 89, що є відмінним “зеленим” результатом.

На рисунку 3 операцію 7 позначено помаранчевим кольором, і це свідчить про значні аналітичні відходи, які необхідно мінімізувати під час розробки аналітичної методики. На початку експерименту ми використовували точну наважку порошку розтертих таблеток, яка була еквівалентна 2,5 мг еналаприлу малеату, з подальшим

розчиненням у 25 мл метанолу. Однак така пробопідготовка погано впливає на повну невідомість аналітичної методики, і вона перевищує $\max \Delta_{AS} = 2,4$, що є незадовільним результатом. Тому було вирішено збільшити кількість еналаприлу малеату і розчинника в 10 разів – до 25 та 250 мл відповідно. “Зеленість” запропонованої аналітичної методики визначали

Таблиця 8 – Аналітична еко-шкала для оцінки “зеленості” розробленої методики

Параметр	Пенальті бали
Метанол	6
Споживання енергії	0
Професійні шкідливості	0
Відходи	5
Загальна кількість пенальті балів	11
Бал аналітичної еко-шкали	89
Висновок	Відмінний “зелений” аналіз



Рис. 3. Результати визначення “зеленості” аналітичної методики з використанням методу AGREE.

з урахуванням повної невизначеності, було застосовано метод AGREE. У результаті одержали оцінку 0.85, що є відмінним результатом.

Отримані результати свідчать про те, що розроблена УФ-спектрофотометрична методика є відмінною відповідно до всіх принципів “зеленої” хімії.

ВИСНОВКИ. 1. Розроблено просту, експресну, “зелену” та економічно доступну УФ-спектрофотометричну методику кількісного визначення еналаприлу maleату в таблетках з використанням метанолу як розчинника з максимумом поглинання при довжині хвилі 212 нм.

2. Аналітична методика валідована за основними валідаційними характеристиками, а саме:

специфічністю, лінійністю, правильністю, прецизійністю, робастністю, що, у свою чергу, підтверджує її коректність. Отримано рівняння регресії – $y = 0,0264x - 0,0641$ та коефіцієнт кореляції – 0,9996. Параметри лінійності відповідали всім вимогам ДФУ на всьому діапазоні застосування УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення еналаприлу (14–26 мкг/мл). Межа виявлення еналаприлу maleату становила 0,60 мкг/мл, межа кількісного визначення – 1,81 мкг/мл. Систематична похибка цієї методики – $\delta\%$ 0,09.

3. Запропоновану УФ-спектрофотометричну методику було успішно застосовано для кількісного визначення еналаприлу в таблетках.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Enalapril [Electronic resource]. – Access mode : <https://go.drugbank.com/drugs/DB00584>.

2. Enalapril - StatPearls - NCBI Bookshelf. National Center for Biotechnology Information [Electronic resource]. – Access mode : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557708/>.

3. Enalapril [Electronic resource]. – Access mode : <https://go.drugbank.com/salts/DBSALT001036>.

4. Державна Фармакопея України / Держ. п-во “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-ге вид. – Харків : Держ. п-во “Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2016. – 2. – 222 с.

5. European Pharmacopoeia (2023). European Pharmacopoeia ed. 11 [Electronic resource]. – Access mode : <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-11-edition>.

6. U.S. Pharmacopoeia (2023). USP Monographs, Enalapril Maleate [Electronic resource]. – Access mode : http://www.pharmacopoeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m29200.html.

7. Mohammad M. A. A. Simultaneous determination of enalapril maleate and nitrendipine in tablets using spectrophotometric methods manipulating ratio spectra / M. A. Mahrouse E. A. H. Amer, N. S. Elharati // *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. – 2021. – No. 244 (1). – P. 118894.

8. Prasad N. A simple UV Spectrophotometric method for Quantitative Estimation of Enalapril maleate / R. Kumar, V. Kumar, & R. K. Roy // *Current Research in Pharmaceutical Sciences*. – 2016. – No. 6 (1). – P. 21–26.

9. Mohammad Afrin Roshanara. Development and validation of uv spectrophotometric method for analysis of enalapril maleate in bulk and pharmaceutical dosage form / Mekala Indu Bhavani, A. Elphine Prabakar and Rama Rao Nadendla // *Indo American journal of pharmaceutical sciences*. – 2019. – No. 06 (02). – P. 4049–4053.

10. Manisha S. Phoujdar. Development and validation of uv spectrophotometric method for analysis of

enalapril maleate in bulk and tablet dosage form / Prachi S. Patil and Shwetal P. Vassa // *World Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences*. – 2016. – No. 7 (5). – P. 835–842.

11. Validated spectrophotometric methods for simultaneous determination of lercanidipine HCl and enalapril maleate in their binary mixture / H. A. Merey, N. K. Ramadan, S. S. Diab, A. A. Moustafa // *Der Pharma Chemica*. – 2017. – No. 9. – P. 33–41.

12. Standardized Analytical Procedure for Routine Testing of Amlodipine Besylate and Enalapril Maleate Simultaneously in In-vitro Samples / D. Sharma, M. M. Gupta, C. S. Tailor [et al.] // *International Journal of Pharmaceutical Quality Assurance*. – 2022. – No. 13 (3). – P. 247–250.

13. Development and validation of UV spectrophotometric method for determination of enalapril maleate from commercial dosage forms / S. Gherman, D. Zavastin, A. D. R. I. A. N. Şpac, V. Dorneanu [et al.] // *Farmacia*. – 2015. – No. 36 (6). – P. 934–937.

14. Development and validation of rp-hplc and uv methods for simultaneous estimation of enalapril maleate and hydrochlorothiazide in bulk and pharmaceutical dosage form / D. K. Swamy, S. K. Guduru, C. K. Prashanthi [et al.] // *World Journal of pharmacy and pharmaceutical research*. – 2021. – No. 11 (1). – P. 1521–1533.

15. Hammouda M. E. Simultaneous determination of enalapril and hydrochlorothiazide in pharmaceutical preparations using microemulsion liquid chromatography / M. A. Abu El-Enin, D. T. El-Sherbiny, D. R. El-Wasseef [et al.] // *Journal of chromatographic science*. – 2015. – No. 53 (1). – P. 90–96.

16. Koppala, S. User-friendly HPLC method development and validation for determination of enalapril maleate and its impurities in enalapril tablets / V. Ranga Reddy, J. S. Anireddy // *Journal of chromatographic science*. – 2017. – No. 55 (10). – P. 979–988.

17. Using an Experimental Design for Analysis of Amlodipine Besylate and Enalapril Maleate in a Fixed-dose Combination / Diren Sarısaltık Yaşın, Alev Arslantürk

Bingül, Alptuğ Karaküçük, Zeynep Şafak Teksin // Turk J Pharm Sci. – 2021. – No. 18 (3). – P. 306–318.

18. Eid M. 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 / Y. El-Shabrawy, R. El-Shaheny // Journal of separation science. – 2017. – **40** (18). – P. 3646–3654.

19. Simultaneous determination of four drugs for kidney diseases in urine by high performance liquid chromatography / Li J. Guo, Z. Zhao, X. Ma [et al.] // Sepu= Chinese Journal of Chromatography. – 2015. – No. 33 (11). – P. 1210–1213.

20. Nawaz M. Investigation of interaction studies of cefpirome with ACE-inhibitors in various buffers / M. S. Arayne, N. Sultana, H. F. Abbas // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2015. – No. 137. – P. 1050–1054.

21. Simultaneous determination of rivaroxaban and enalapril in rat plasma by UPLC–MS/MS and its application to a pharmacokinetic interaction study / S. Zheng, S. B. Luo, Y. B. Mei [et al.] // European journal of drug metabolism and pharmacokinetics. – 2019. – No. 44 (2). – P. 229–236.

22. Magiera S. 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 / I. Baranowska // Journal of separation science. – 2014. – No. 37 (22). – P. 3314–3315.

23. The use of liquid chromatography method for quantitative determination of active substances in Enalapril-H tablets / N. Bezv, A. Myhal, L. Ivanauskas [et al.] // ScienceRise: Pharmaceutical Science. – 2021. – No. 29 (1). – P. 39–50.

24. Magiera S. 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 / J. Kusa // Journal of Chromatography B. – 2015. – No. 980. – P. 79–87.

25. Siddiqui F. A. Concurrent determination of Metformin and some ACE inhibitors: its application to pharmacokinetics / N. Sher, N. Shafi, S. S. Bahadur // Arabian Journal of Chemistry. – 2017. – No. 10. – P. 2979–2987.

26. Gherman S. Determination of Enalapril maleate from tablets using a new HPLC method / D. Zavastin, A. Şpac, A. D. Panainte // Ovidius University Annals of Chemistry. – 2021. – No. 32 (1). – P. 70–75.

27. Sharma I. R. 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. – 2014. – No. 5 (2). – P. 239.

28. Dave V. M. RP-HPLC method for simultaneous estimation of enalapril maleate and chlorthalidone in synthetic mixture / D. G. Maheshwari // International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. – 2015. – No. 6 (4). – P. 666–673.

29. Masih M. 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. – 2016.

30. Simultaneous determination of metformin, captopril, lisinopril, and enalapril by RP-HPLC: its applications in dosage formulations and in human serum / M. S. Arayne, N. Sultana, M. H. Zuberi [et al.] // Medicinal Chemistry Research. – 2013. – No. 22. – P. 5717–5722.

31. Development and validation of HPLC method for simultaneous determination of Gliclazide and Enalapril maleate in tablet dosage form / M. A. Al Mahmud, S. Bhadra, A. Haque // Dhaka Uni J Pharm Sci. – 2014. – No. 13 (1). – P. 51–56.

32. DeVierno Kreuder A. A Method for Assessing Greener Alternatives between Chemical Products Following the 12 Principles of Green Chemistry / House-Knight T., Whitford J., Ponnusamy E. [et al.] // ACS Sustainable Chemistry & Engineering. – 2017. – No. 5 (4). – P. 2927–2935.

33. Basics of Green Chemistry. United States Environmental Protection Agency [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <https://www.epa.gov/greenchemistry/basics-green-chemistry>.

34. O'Neil N.J. Approaches to Incorporating Green Chemistry and Safety into Laboratory Culture / S. Scott, R. Relph, E. Ponnusamy // Journal of Chemical Education. – 2021. – No. 98 (1). – P. 84–91.

35. Green methodologies in organic synthesis: recent developments in our laboratories / E. A. A. Hafez, S. M. Al-Mousawi, M. S. Moustafa [et al.] // Green Chemistry Letters and Reviews. – 2013. – No. 6 (3). – P. 189–210.

36. Pena-Pereira F. AGREE – Analytical GREENness metric approach and software / W. Wojnowski, M. Tobiszewski // Analytical chemistry. – 2020. – **92** (14). – P. 10076–10082.

37. Gałuszka A. Analytical Eco-Scale for assessing the greenness of analytical procedures / Z. M. Migaszewski, P. Konieczka, J. Namieśnik // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2012. – No. 37. – P. 61–72.

REFERENCES

1. Enalapril (n.d.). Retrieved from <https://go.drug-bank.com/drugs/DB00584>.

2. National Center for Biotechnology Information. (n.d.). Enalapril - StatPearls - NCBI Bookshelf. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557708/>.

3. Enalapril (n.d.). Retrieved from <https://go.drug-bank.com/salts/DBSALT001036>.

4. State Pharmacopoeia of Ukraine (2016). State enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality of Medicinal Products". 2nd edition Kharkiv:

State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products", Volume 2, 222.

5. European Pharmacopoeia (2023). European Pharmacopoeia ed. 11. Retrieved from <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph-eur-11-edition>.

6. U.S. Pharmacopoeia (2023). USP Monographs, Enalapril Maleate. Retrieved from http://www.pharmacopoeia.cn/v29240/usp29nf24s0_m29200.html.

7. 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.

8. Prasad, N. & Roy R.K. (2016). A simple UV Spectrophotometric method for Quantitative Estimation of Enalapril maleate. *Current Research in Pharmaceutical Sciences*, 21-26.

9. 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.

10. 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.

11. 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.

12. 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.

13. 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.

14. 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.

15. 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.

16. 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.

17. 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.

18. 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.

19. 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.

20. 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.

21. 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.

22. 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.

23. Bezv, 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.

24. 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.

25. 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.

26. 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.

27. 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.

28. 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.

29. 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.

30. 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.

31. 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.

32. DeVierno 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.

33. United States Environmental Protection Agency. (n.d.). Basics of Green Chemistry. Retrieved from <https://www.epa.gov/greenchemistry/basics-green-chemistry>

34. 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.

35. 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.

36. Pena-Pereira, F., Wojnowski, W., & Tobiszewski, M. (2020). AGREE – Analytical GREENness metric approach and software. *Analytical chemistry*, 92(14), 10076-10082.

37. 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.

Отримано 17.04.2024

Адреса для листування: К. Є. Пелешок, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, вул. Руська, 36, Тернопіль, 46002, Україна, e-mail: peleshok@tdmu.edu.ua.

K. Ye. Peleshok, A. V. Myrkevych, M. M. Horyn, L. S. Logoyda
I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

DEVELOPMENT OF THE UV SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR THE DETERMINATION OF ENALAPRIL MALEATE IN TABLETS USING THE PRINCIPLES OF GREEN CHEMISTRY

Summary

Introduction. There are many spectrophotometric methods available in the scientific literature for the quantitative determination of enalapril maleate in mono- and combination medicinal products. However, it should be noted that not all developed methods meet the validation characteristics, set of guidelines and quality standards that would indicate their high efficiency and safety. Therefore, there is a need to develop modified, easy-to-use, rapid and environmentally friendly methods for the quantitative determination of enalapril maleate in tablets

The aim of the study – to develop a rapid, simple, «green» and economical UV- spectrophotometric method for the quantitative determination of enalapril maleate in tablets.

Research Methods. For the study, a pharmacopoeial standard sample of enalapril maleate (Sigma- Aldrich, purity 98.9%), methanol P (“Honeywell Riedel-de Haen™”, 99.9%), 10 mg tablets (from two different manufacturers) were used. The optical density in the UV region was measured using a Shimadzu UV-1800 spectrophotometer (Japan) in quartz cuvettes with a layer thickness of 1 cm. The UV-Probe 2.62 software package was used to process the obtained spectra.

Results and Discussion. The absorbance spectra of methanol extracts from enalapril maleate tablets and enalapril maleate FSS in methanol have pronounced absorption maxima at 212 nm. The regression equation was obtained – $y = 0.0264x - 0.0641$ and the correlation coefficient was 0.9996. The linearity parameters met all the requirements of the PFC over the entire range of application (14–26 µg/ml). The limit of detection of enalapril maleate was 0.60 µg/ml and the limit of quantification was 1.81 µg/ml. The systematic error of this method is $\delta \% = 0.09$, which indicates a sufficient closeness of the average result of the obtained optical density to the nominal value. During the study of the robustness of the method, it was found that the studied solutions were stable for 120 min. The environmental friendliness of the method was calculated using the AGREE method and the analytical eco-scale. The proposed UV-spectrophotometric method for the determination of enalapril maleate meets all the principles of «green» chemistry.

Conclusions. An express, simple, “green” and economical UV-spectrophotometric method for the quantitative determination of enalapril maleate in tablets using methanol as a solvent with an absorbance maximum at 212 nm was developed. The proposed UV-spectrophotometric method was successfully applied to determine the quantitative content of enalapril in tablets.

KEY WORDS: spectrophotometry; enalapril maleate; validation; quantification; tablets.