

УДК 543.48:615.074

DOI: 10.17072/2223-1838-2018-2-177-183

**Ю.А. Пармонова, Е.Н. Иванцов**

Пермский государственный национальный исследовательский университет, Пермь, Россия

**ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ  
ЛИЗИНОПРИЛА В ТАБЛЕТКАХ**

*Представлены результаты валидации ранее разработанной спектрофотометрической методики количественного определения лизиноприла с сульфатом меди (II) в таблетках по следующим параметрам: специфичность, линейность, прецизионность и правильность. Полученные результаты подтверждают пригодность методики для количественного определения лизиноприла в таблетках методом спектрофотометрии.*

**Ключевые слова:** валидация; лизиноприл; спектрофотометрия; сульфат меди (II); таблетки**Yu.A. Paramonova, E.N. Ivantsov**

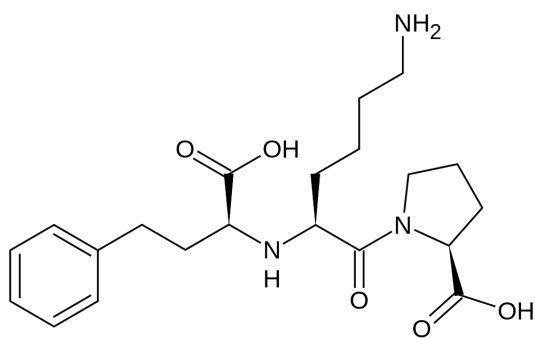
Perm State University, Perm, Russia

**VALIDATION OF THE METHOD OF QUANTITATIVE DETERMINATION  
FOR LISINOPRILE IN TABLETS**

*The results of the validation of the previously developed spectrophotometric procedure for the quantitative determination of lisinopril with copper (II) sulfate in tablets according to the following parameters are presented: specificity, linearity, precision and accuracy. The obtained results confirm the suitability of the method for quantitative determination of lisinopril in tablets by spectrophotometry.*

**Keywords:** validation; lisinopril; spectrophotometry; copper (II) sulphate; tablets

Лизиноприл ((S)-1-[N2-(1-карбокси-3-фенилпропил)-L-лизил]-L-пролин) широко используется для лечения заболеваний сердечно-сосудистой системы и заболеваний, связанных с повышенным артериальным давлением, как в виде монотерапии, так и в составе комбинированной антигипертензивной терапии [1, 2]. Фиксированные комбинации лизиноприла уже давно нашли отражение в международных и отечественных рекомендациях по лечению артериальной гипертензии [3, 4].



Ряд свойств лизиноприла отличают его от других ингибиторов АПФ: гидрофильность, длительный период полураспада, проникновение в ткани и отсутствие метаболизма в печени [5, 6].

Нами была исследована разработанная ранее спектрофотометрическая методика количественного определения лизиноприла с ионами Cu (II) в водной среде. Как известно, для перехода из состояния равновесия в сторону образования конечного продукта необходим избыток ионов меди. По данным [7] в водной среде образуется один конечный продукт комплексообразования. Максимум поглощения полученного комплексного соединения наблюдается при длине волны, равной 731 нм.

В соответствии с современными требованиями к производству лекарственных средств необходимо использование только валидированных аналитических методик анализа [8].

Валидация аналитической методики – это экспериментальное доказательство того, что методика пригодна для решения предполагаемых задач [9].

Практической ценностью валидации является то, что в процессе разработки новых методик можно своевременно выявить их недостатки и на ранних стадиях существенно улучшить методику [10].

Полагаем, необходимо доказать валидность разработанной ранее методики, т.е. оценить такие характеристики как линейность, специфичность, прецизионность и правильность.

Линейность – наличие линейной зависимости аналитического сигнала от концентрации или количества определяемого вещества в анализируемой пробе в пределах аналитической методики.

Специфичность – способность аналитической методики однозначно оценивать определяемое вещество в присутствии сопутствующих компонентов.

Прецизионность – степень близости (разброса) результатов для серии измерений, выполненных по данной методике на различных пробах одного и того же однородного образца [10].

Правильность – степень соответствия между известным истинным значением или справочной величиной и значением, полученным по данной методике.

Согласно требованиям ГФ XIII для вновь разработанного метода количественного определения, валидацию следует проводить по показателям специфичность, линейность, аналитическая область, правильность и прецизионность.

Вышеуказанные показатели должны соответствовать критериям приемлемости (табл.1).

Таблица 1

**Критерии приемлемости количественного определения лизиноприла в таблетках**

Критерий приемлемости	Значение
Специфичность	Отсутствие максимумов поглощения на спектре рабочего раствора «плацебо». Величина оптической плотности раствора «плацебо» должна быть не более 0,01. Спектры поглощения рабочего раствора, полученного из таблеток лизиноприла и рабочего стандартного раствора лизиноприла должны иметь максимум при одной и той же длине волны.
Линейность	Коэффициент корреляции – не менее 0,99
Прецизионность	Коэффициент вариации (CV) – не более 2,0 %
Правильность	Точность определения действующего вещества должна составлять 98–102 %

**Экспериментальная часть**

В работе использовали образцы лизиноприла дигидрат, производства «Юнимарк Ремедис Лтд», (Индия) с количественным содержанием 98,97%.

Стандартный раствор лизиноприла (0,01 моль/л) готовили растворением навески лизиноприла дигидрата в дистиллированной воде.

Рабочий стандартный раствор лизиноприла ( $2,0 \cdot 10^{-3}$  моль/л) готовили из стандартного раствора путем разбавления дистиллированной водой.

Стандартный раствор, полученный из таблеток лизиноприла (0,01 моль/л), готовили растворением порошка растертых таблеток в дистиллированной воде.

Рабочий раствор, полученный из таблеток лизиноприла ( $2,0 \cdot 10^{-3}$  моль/л), готовили из стандартного раствора, полученного из таблеток лизиноприла, путем разведения дистиллированной водой. Раствор перед измерением оптической плотности фильтровали через бумажный фильтр «синяя лента».

Стандартный раствор «плацебо» (раствор вспомогательных веществ без учета лизиноприла) готовили следующим образом: навеску смеси вспомогательных веществ массой 0,382 г помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляли 30 мл дистиллированной воды, перемешивали в течение 45 мин, объем раствора доводили дистиллированной водой до метки и перемешивали.

Рабочий раствор «плацебо» готовили из стандартного раствора «плацебо» путем разведения дистиллированной водой.

Холостой раствор ( $2,0 \cdot 10^{-3}$  моль/л) готовили разведением стандартного раствора сульфата меди (II) дистиллированной водой.

Определение лизиноприла с сульфатом меди (II) проводилось по разработанной ранее методике: аликвоты (2–9 мл) раствора лизиноприла с концентрацией 0,01 моль/л ( $0,8 \cdot 10^{-3}$ – $3,6 \cdot 10^{-3}$  моль/л) помещали в серию мерных колб вместимостью 25 мл, в каждую колбу добавляли по 5 мл раствора сульфата меди (II) с концентрацией 0,01 моль/л. Объем раствора доводили до метки дистиллированной водой,

перемешивали и измеряли оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 731 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 5 см. В качестве раствора сравнения использовали холостой раствор.

При подтверждении специфичности методики количественного определения лизиноприла снимали спектры рабочего раствора

«плацебо», рабочего стандартного раствора и рабочего раствора, полученного из таблеток лизиноприла. На рис. 1 видно, что вспомогательные вещества не мешают определению лизиноприла. Оптическая плотность раствора «плацебо» в максимуме поглощения комплексного соединения лизиноприл-Cu (II) составила 0,0087.

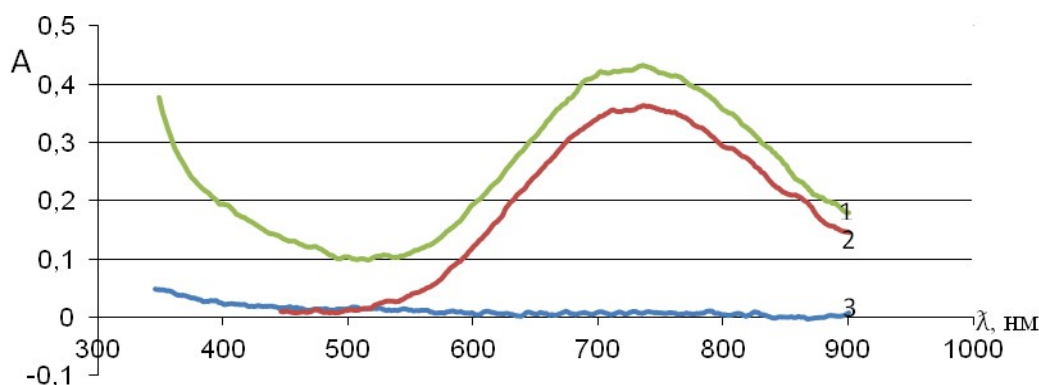


Рис. 1. Спектры растворов при подтверждении специфичности;  
1 – рабочий раствор, полученный из таблеток лизиноприла;  
2 – рабочий раствор стандартного образца лизиноприла;  
3 – рабочий раствор «плацебо»

Для определения линейности была приготовлена серия растворов в мерных колбах вместимостью 25 мл, в интервале концентраций  $0,8 \cdot 10^{-3}$ – $3,6 \cdot 10^{-3}$  моль/л. Измерение оптической

плотности проводилось в кювете с толщиной поглощающего слоя 5 см и при длине волны 731 нм.

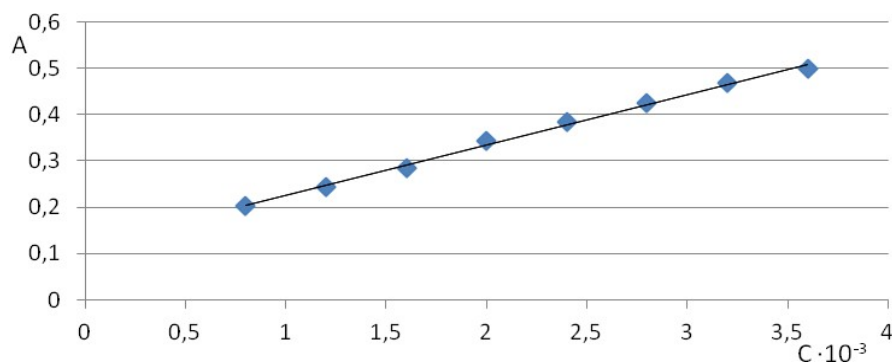


Рис. 2. График зависимости оптической плотности от концентрации лизиноприла (спектрофотометр СФ-2000;  $\lambda=731$  нм,  $l=5$  см; интервал концентраций:  $0,8 \cdot 10^{-3}$ – $3,6 \cdot 10^{-3}$  моль/л)

На основании полученных результатов оценки линейности можно сказать, что аналитическая область методики находится в интер-

вале концентраций  $0,8 \cdot 10^{-3}$ – $3,6 \cdot 10^{-3}$  моль/л и процентном диапазоне от 40 до 180 %. Коэффициент корреляции равен 0,9984.

Для определения прецизионности методики был использован рабочий стандартный раствор лизиноприла с концентрацией  $2,0 \cdot 10^{-3}$  моль/л. Проверка сходимости результатов проводилась по 9 последовательным измерениям оптической плотности данного раствора на спектрофлуориметре при длине волны 731 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя равного 5 см на фоне холостого раствора. Стандартное отклонение (S) и коэффициент вариации (CV) были рассчитаны по формулам:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A - \bar{A})^2}{n}} \quad CV = \frac{S}{\bar{X}} \times 100\%$$

Коэффициент вариации (CV) составил 0,12 %, среднеквадратичное отклонение (S) – 0,00049.

Правильность методики устанавливали путем анализа модельных смесей таблеток лизиноприла (20 мг/табл.) с содержанием лизиноприла в модельной смеси в диапазоне 80–120 % от его содержания в таблетке (табл. 2).

Таблица 2

**Результаты определения правильности количественного определения лизиноприла**

№ п/п	Масса навески модельной смеси таблеток (m, мг)	Концентрация лизиноприла в модельной смеси относительно его содержания в таблетке (20 мг/табл.)		Оптическая плотность (A)*	Полученное содержание вещества (X, мг)	Отклик, %
		C, %	C, моль/л			
1	162	80	0,008	0,3021	162,1	100,2
2	200	100	0,010	0,3759	201,7	100,9
3	243	120	0,012	0,4539	243,6	100,3

\* Среднее значение из n = 3 при P=0,95

**Результаты и их обсуждение**

Оптическая плотность раствора «плацебо» в максимуме поглощения комплексного соединения лизиноприл-Cu (II) составила 0,0087, т.е. не превышает критерий приемлемости равный 0,01. Из этого можно сделать вывод, что вспомогательные вещества не повлияют на результат определения.

Из полученного графика (рис. 2) видно, что график линеен в интервале концентраций лизиноприла от  $0,8 \cdot 10^{-3}$  до  $3,6 \cdot 10^{-3}$  моль/л, что подтверждается величиной коэффициента корреляции, который равен 0,9984.

На основании полученных результатов оценки линейности можно сказать, что аналитическая область методики находится в интер-

вале концентраций  $0,8 \cdot 10^{-3}$ – $3,6 \cdot 10^{-3}$  моль/л и процентном диапазоне от 40 до 180 %.

Полученный коэффициент вариации (CV) составляет 0,12 % и соответствует критерию приемлемости (не более 2,0 %), что подтверждает пригодность данной методики для количественного определения лизиноприла.

Согласно литературным данным, при определении правильности методики, найденное содержание действующего вещества (отклик) должно находиться в интервале 98–102 % от заложенного значения. Полученные результаты находятся в указанном интервале и соответствуют критерию приемлемости, что подтверждает правильность данной методики.

### Заклучение

Мы можем утверждать, что вспомогательные вещества, входящие в состав таблетки, не мешают количественному определению лизиноприла. График зависимости оптической плотности раствора от концентрации лизиноприла валидируемой методики линейен в интервале концентраций от  $0,8 \cdot 10^{-3}$  до  $3,6 \cdot 10^{-3}$  моль/л, что соответствует аналитической области определения от 40 до 180 % от содержания лизиноприла в лекарственном препарате. Коэффициент вариации и погрешность количественного определения лизиноприла (отклик) не превышают указанные критерии приемлемости, что говорит о возможном применении разработанной методики при анализе лекарственного препарата.

### Библиографический список

1. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Изд. 16. М.: Новая волна, 2014. 1216 с.
2. Zaky M., El-Sayedl M.Y., El-Megharbel S.M., et al. Synthesis, chemical structure elucidation and biological studies on the effect of some vital metal ions on Lisinopril // J. Mex. Chem. Soc. 2014. Vol. 58, № 2. P. 142–151.
3. Бабьяк А.В. Компанцева Е.В. Валидация методик количественного определения лизиноприла дигидрата в гранулах // Современные проблемы науки и образования. Пятигорск, 2012. № 6. 6 с.
4. Raza A. Spectrophotometric Determination Of Lisinopril In Pharmaceutical Preparations Assisted By Microwave Oven // ACAIJ – 2006. Vol. 3. P. 31–37.
5. Sbarcea L., Udrescu L., Dragan L., et al. Method validation for spectrophotometric determination of Lisinopril in pharmaceuticals using copper sulphate // Clujul Medical. 2010. Vol. 83. P. 625–630.
6. Jamakhandi C.M., Disouza J.I., Chougule U.S., et al. Newer spectrophotometric method

of determination for Lisinopril dosage forms // Int. J. Pharm. Pharm. Sci. 2011. Vol. 3, № 4. P. 255–257.

7. Иванцов Е.Н., Новикова А.С. Исследование состава комплекса Cu (II) – лизиноприл методом спектрофотометрии // Современные достижения химических наук: материалы Всерос. юбилейной конф. с междунар. участием, посвященной 100-летию Пермского университета (г. Пермь, 19–21 окт. 2016 г.); Перм. гос. нац. исслед. ун-т. Пермь, 2016. с. 104–105
8. Sakar M., Popovic G. Determination of lisinopril in pharmaceuticals by a kinetic spectrophotometric method // J. Serb. Chem. Soc. 2012. № 77 (10), P. 1437–1442.
9. Государственная Фармакопея РФ XIII изд. Т. 1. М., 2015. С. 222–234.
10. Писарев В.В. Валидация аналитических методов [Электронный ресурс] URL:<http://www.probiotech.ru/images/article/s/Валидацияаналитическихметодовпрактическоеприменение.pdf>

### References

1. Mashkovskii M.D. Lekarstvennye sred-stva. izd. 16. M.: Novaia volna, 2014. 1216 s.
2. Zaky, M., El-Sayedl, M.Y., El-Megharbel, S.M., Taleb, S.A. and Moamen, S. (2014), “Synthesis, chemical structure elucidation and biological studies on the effect of some vital metal ions on Lisinopril”, *Journal of Mexico Chemical Society*. Vol. 58. No. 2. pp. 142-151.
3. Babyak, A.V. and Kompanceva, E.V. (2012), “Validaciya metodik kolichestvennogo opredeleniya lizinoprila digidrata v granulax”. *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya. Pyatigorsk*. no. 6. (In Russ.).
4. Raza, A. (2006), “Spectrophotometric Determination Of Lisinopril In Pharmaceutical Preparations Assisted By Microwave Oven”, *Analytical Chemistry: An Indian Journal*. Vol. 3. pp. 31–37.
5. Sbarcea, L., Udrescu, L., Dragan, L., Trandafirescu, C., Szabadai, Z. and Bojita, M. (2010), “Method validation for spectrophotometric determination of

- Lisinopril in pharmaceuticals using copper sulphate”, *Clujul Medical*. Vol. 83. pp. 625-630.
6. Jamakhandi, C.M., Disouza, J.I., Chougule, U.S. and Mahanthsh, M.C. (2011), “Newer spectrophotometric method of determination for Lisinopril dosage forms”, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. Vol. 3, no. 4. pp. 255-257.
  7. Ivantsov, E.N. and Novikova, A.S. (2016), “Issledovaniye sostava kompleksa Cu (II) - lizinopril me-todom spektrofotometrii”, *Sovremennyye dostizheniya khimicheskikh nauk: Materialy vserossiyskoy yubileynoy konferentsii s mezhdunarodnym uchastiyem, posvyashchennoy 100-letiyu Permskogo universiteta*. pp.104-105. (In Russ.).
  8. Cakar, M. and Popovic, G. (2012), “Determination of lisinopril in pharmaceuticals by a kinetic spectrophotometric method”, *Journal of Serbian Chemical Society*. no. 77 (10). pp. 1437–1442.
  9. *Gosudarstvennaya farmakopeya RF XIII izd. Tom 1*. (2015), pp. 222–234 (In Russ.).
  10. Pisarev, V.V. Validaciya analiticheskix metodov [Elektronnyj resurs] Rezhim dostupa: <http://www.probiotech.ru/images/articles/Валидацияаналитическихметодоввпрактическоеприменение.pdf>

#### Об авторах

Парамонова Юлия Аркадьевна,  
студент,  
ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»  
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15.  
[paramonova-yulechka@mail.ru](mailto:paramonova-yulechka@mail.ru)

Иванцов Евгений Николаевич,  
кандидат фармацевтических наук, старший преподаватель кафедры аналитической химии и экспертизы  
ФГБОУ ВО «Пермский государственный национальный исследовательский университет»  
614990, г. Пермь, ул. Букирева, 15.  
[eni80@rambler.ru](mailto:eni80@rambler.ru)

#### About the authors

Paramonova Yulia Arkad'evna,  
student,  
614990, Perm State University. 15, Bukireva st.,  
Perm, Russia  
[paramonova-yulechka@mail.ru](mailto:paramonova-yulechka@mail.ru)

Ivantsov Evgenyi Nikolaevich,  
candidate of pharmacy, senior lecturer of the Department of analytical chemistry and expertise  
614990, Perm State University. 15, Bukireva st.,  
Perm, Russia  
[eni80@rambler.ru](mailto:eni80@rambler.ru)

#### Информация для цитирования

Парамонова Ю.А., Иванцов Е.Н. Валидация методики количественного определения лизиноприла в таблетках // Вестник Пермского университета. Серия «Химия». 2018. Т. 8, вып. 2. С. 177–183. DOI: 10.17072/2223-1838-2018-2-177-183.

Paramonova Yu.A., Ivantsov E.N. *Validatsiya metodiki kolichestvennogo opredeleniya lizinoprila v tabletkakh* [Validation of the method of quantitative determination for lysinopriole in tablets] // Vestnik Permskogo universiteta. Seriya «Khimiya» = Bulletin of Perm University. Chemistry. 2018. Vol. 8. Issue 2. P. 177–183 (in Russ.). DOI: 10.17072/2223-1838-2018-2-177-183