



УДК 615.073/.074:543.421.3:615.225:615.3

**STUDY OF SAMPLE PREPARATION CONDITIONS IN THE  
DEVELOPMENT OF UV SPECTROPHOTOMETRIC TECHNIQUE FOR  
THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF BISOPROLOL IN TABLETS  
ДОСЛІДЖЕННЯ УМОВ ПРОБОПІДГОТОВКИ ПРИ РОЗРОБЦІ УФ-  
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ  
БІСОПРОЛОЛУ В ТАБЛЕТКАХ**

**Rosil U.Y./ Росіл У.Ю.***student of higher education/здобувач вищої освіти***Zarivna N.O. / Зарівна Н.О.***s.pharm.s., as.prof. / к.фарм.н., доц.*

ORCID: 0000-0002-8522-4024

*Horbachevsky Ternopil national medical university,**Ternopil, Ruska,36, 46000**Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського,**Тернопіль, Руська,36, 46000*

**Анотація.** Гіпертонія – одне з найпоширеніших захворювань серцево-судинної системи. За даними офіційної статистики в Україні, на сьогодні, зареєстровано 12,3 мільйонів пацієнтів з артеріальною гіпертензією (АГ), що становить приблизно 30 % всього дорослого населення. Згідно з існуючих рекомендацій для лікування АГ, використовують лікарські засоби з різних фармакологічних груп, які відрізняються діючою речовиною, дозуванням і механізмом дії. Аналізуючи протоколи лікування АГ, лікарі досить часто розпочинають своє призначення із групи блокаторів  $\beta$ -адренорецепторів. У відповідні схеми лікування щодо цього захворювання, широко застосовують бісопролол – високоселективний  $\beta_1$ -адреноблокатор, який при застосуванні у терапевтичних дозах не має внутрішньої симпатоміметичної активності та клінічно виражених мембраностабілізуючих властивостей, а також проявляє антиангінальну та гіпотензивну дію. Доступні нам, в джерелах літератури, аналітичні методики визначення даної субстанції лікарської речовини не є селективними, вимагають використання дороговартісного обладнання та відповідних реактивів, останні можуть бути токсичними та не відповідати вимогам «зеленої» хімії. Тому, розробка нових, або модифікації існуючих методів визначення бісопрололу в готових лікарських засобах дасть змогу не тільки визначати його якісний склад та кількісний вміст, а й дозволить належно контролювати якість препаратів на його основі контрольними-аналітичними лабораторіями та хіміко-фармацевтичними підприємствами.

**Ключові слова:** пробопідготовка, бісопрололу фумарат, таблетки, спектрофотометрія.

**Вступ.**

Артеріальна гіпертензія – одне з найпоширеніших захворювань серцево-судинної системи. Згідно даних офіційної статистики в Україні, на сьогодні зареєстровано 12,3 мільйонів пацієнтів із артеріальною гіпертензією, це свідчить про те, що практично кожен третій хворіє цією хворобою. Її лікування налаштоване не лише на зниження цільового рівня артеріального тиску, а й власне, на – запобігання розвитку важких ускладнень з боку серцево-судинної системи, таких як: хронічна серцева недостатність, миготлива аритмія, цереброваскулярні порушення периферичних судин тощо. Аналізуючи протоколи лікування АГ, лікарі досить часто розпочинають своє призначення із



групи блокаторів  $\beta$ -адренорецепторів. Вони застосовуються для хворих, що страждають на стенокардію, які перенесли інфаркт міокарда в минулому, або серцеву недостатність. Також, їх приписують для контролю серцевого ритму. У відповідні схеми лікування щодо цього захворювання, широко застосовують – високоселективний  $\beta_1$ -адреноблокатор – бісопролол, який при застосуванні у терапевтичних дозах не має внутрішньої симпатоміметичної активності та клінічно виражених мембраностабілізуючих властивостей, а проявляє антиангінальну та гіпотензивну дію. Він зменшує потребу міокарду в кисні, завдяки зменшенню частоти серцевих скорочень і серцевого викиду, знижує, не лише артеріальний тиск, а збільшує й постачання міокарда киснем за рахунок зменшення кінцевого діастолічного тиску та подовження діастолі відповідно. Досліджуваний препарат належить до фармакотерапевтичної групи C07AB07, зареєстрований під такими торговими назвами як: «Бісопролол», «Бісопрол», «Біпролол», «Конкор» тощо. Згідно редакції Державної фармакопеї України (ДФУ) немає представлено монографії на активний фармацевтичний інгредієнт (АФІ) бісопрололу, однак він описаний у Британській фармакопеї. За її вимогами, ідентифікацію проводять спектрофотометрично, аналіз проводять методом ІЧ-спектрофотометрії, порівнюючи з фармакопейним стандартним зразком (ФСЗ) бісопрололу фумарату. Існуючі аналітичні методики визначення досліджуваного АФІ в лікарських засобах є трудоємними, не селективними, вимагають використання дороговартісного обладнання та відповідних реактивів. Оскільки, пробопідготовка є надважливим етапом у фармацевтичному аналізі, адже вона необхідна не лише для покращення метрологічних характеристик дослідження, а й власне, для підвищення саме точності, правильності та розширення діапазону досліджуваних значень концентрацій і тим самим – для зменшення, відповідно, й похибки результатів аналізу. Тому, метою нашої роботи є – дослідження умов пробопідготовки при розробці УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату в таблетках.

*Джерело: [1-7].*

#### **Основний текст.**

Для виконання дослідження використовували спектрофотометр “Shimadzu UV-1800” (Японія) із застосуванням програмного пакета UV-Probe 2.62, кварцові кювети 1 см, таблетки «Бісопрол» 10 мг, фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) бісопрололу фумарату (“Sigma-Aldrich”,  $\geq 98\%$ , високоефективна рідинна хроматографія), метанол Р (“Honeywell Riedel-de Haen™”, 99,9 %)).

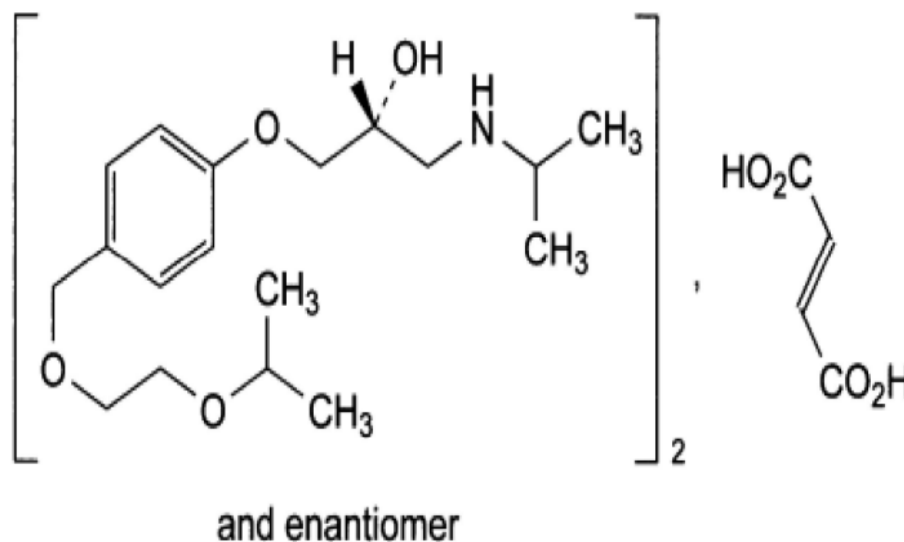
Для розробки методики кількісного визначення бісопрололу фумарату в таблетках, необхідно, спочатку дослідити умови пробопідготовки, що стосуються приготування випробовуваного, компенсаційного розчинів, їх концентрації та стабільності в часі, оптимального розчинника та довжини хвилі. За рахунок правильного підбору оптимальних умов пробопідготовки ми не лише, підвищимо точність і правильність аналізу, а й розширимо діапазон визначуваних значень концентрацій, а також зменшимо похибку результатів дослідження.

Беручи до уваги будову діючої речовини (рис.1), її фізико-хімічні



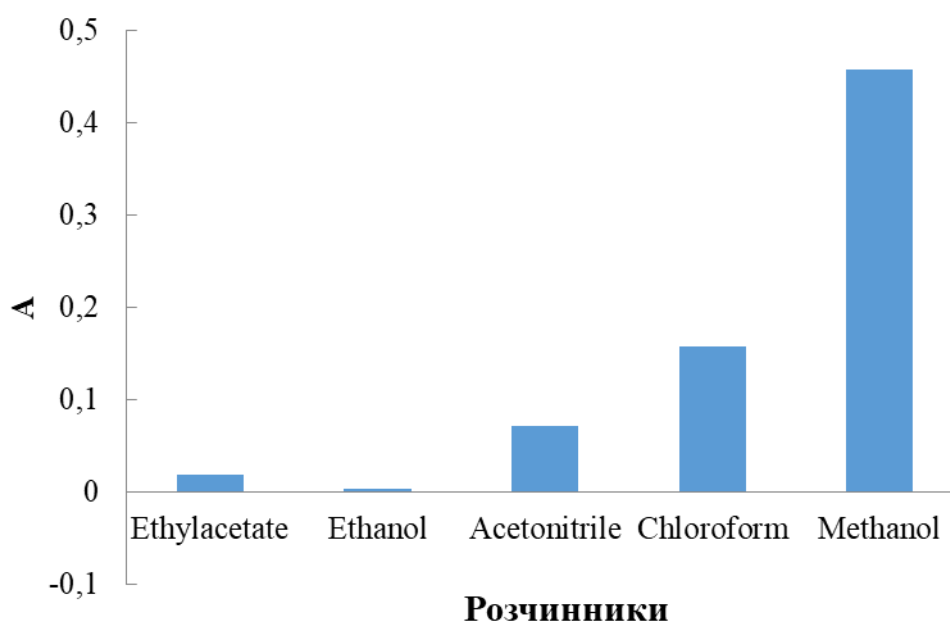
властивості, можна попередньо спрогнозувати можливість використання УФ-спектрофотометрії для кількісного визначення даного АФІ, яка широко використовується в аналізі лікарських засобів і має ряд суттєвих переваг серед інших методів аналізу [6, 7].

У хімічному відношенні біспролол фумарат є (RS)-1-[4-[[2-(1-Метилетокси)етокси]метил]фенокси]-3-[(1-метилетил)аміно]пропан-2-ол фумарат, структурна формула якого наведена нижче [7].



**Рисунок 1 – Хімічна структура біспрололу фумарату**

Першим етапом дослідження умов пробопідготовки був підбір оптимального розчинника, який обирали експериментальним шляхом, враховуючи доступність і нетоксичність розчинників (етилацетат, етанол, ацетонітрил, хлороформ, метанол), а також поглинання біспрололу фумарату.

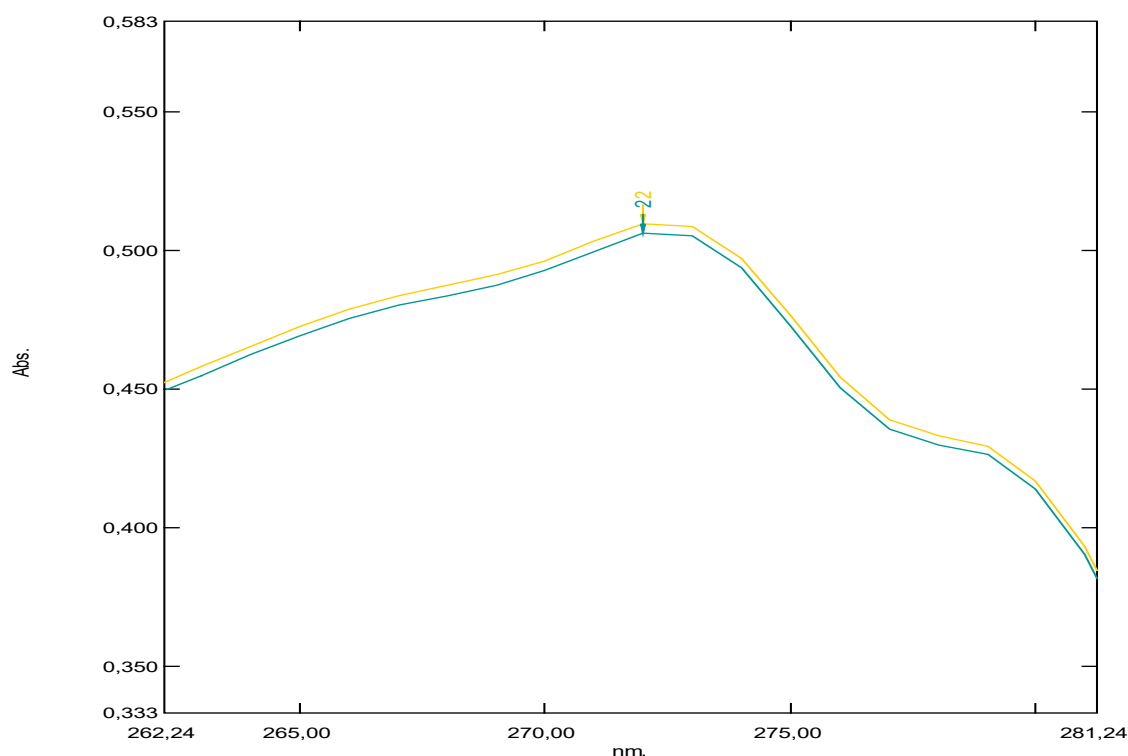


**Рисунок 2 – Значення поглинання біспрололу фумарату в різних розчинниках**



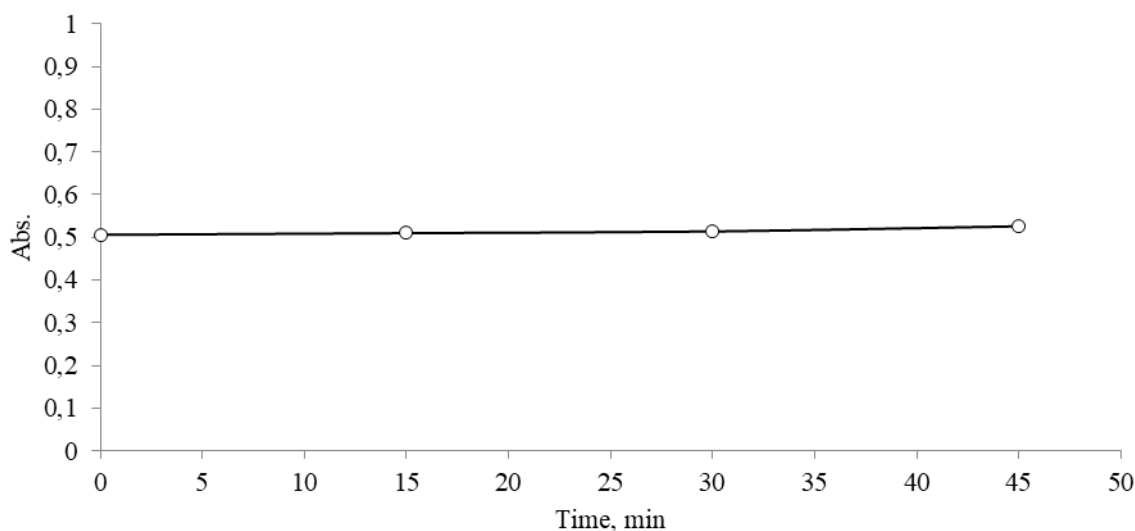
В результаті проведеного експерименту, був обраний метанол, оскільки він проявляє відмінні властивості щодо поглинання досліджуваної речовини та виступає альтернативним і безпечним реагентом (рис. 2).

В результаті підбору оптимального розчинника спостерігався чіткий спектр поглинання, отриманий з метанольного вилучення таблеток. Як видно, із отриманих спектрів поглинання, УФ-спектри метанольного вилучення з досліджуваних таблеток та ФСЗ бісопрололу фумарату (рис.3) мають інтенсивно виражену смугу поглинання при довжині хвилі 272 нм, яка обрана оптимальною і буде використана для проведення наступних досліджень.



**Рисунок 3 – Електронні спектри поглинання: червоний – ФСЗ бісопрололу фумарату в метанолі, синій – випробовуваний розчин таблеток «Бісопрол» у метанолі**

Наступним етапом дослідження пробопідготовки є підбір оптимальної концентрації випробовуваного розчину, для цього враховували молекулярну масу бісопрололу фумарату та середню масу таблеток «Бісопрол» в дозі 10 мг. Оптимальною концентрацією розчинів виявилась концентрація  $1.00 \times 10^{-3}$  М, яка буде використана для проведення розробленої нами методики. Також, проводили дослідження стабільності в часі приготовлених розчинів. Якщо останні виявляються нестабільними, то подальша розробка методики кількісного визначення є неможливою, або можливою лише за рахунок додавання відповідних стабілізаторів, що утруднить сам процес пробопідготовки. Згідно вимог ДФУ стабільність розчинів досліджували вимірюванням абсорбції впродовж 45 хвилин [6]. На рисунку 4 показано залежність поглинання бісопрололу фумарату в таблетках відносно певного проміжку часу.



**Рисунок 4 – Графік залежності поглинання бісопрололу фумарату в таблетках відносно часу**

Як видно, з одержаних результатів проведеного дослідження, максимум поглинання спостерігався на 45 хвилині проведення аналізу, підтверджено, що приготовлені розчини виявились стабільними впродовж 45 хвилин без використання регуляторів рН, буферних розчинів, додаткових реагентів, це суттєво полегшує виконання даного аналізу.

Наступним етапом експерименту буде дослідження валідаційних параметрів при проведенні валідації УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату в таблетках.

**Висновки.** В результаті проведених досліджень, підбрано оптимальні умови пробопідготовки при розробці УФ-спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату в таблетках.

Вивчено поведінку лікарського препарату «Бісопрол» в різних органічних розчинниках.

Підбрано оптимальний розчинник, оптимальні концентрації досліджуваних розчинів, оптимальну довжину хвилі.

Вивчено стабільність приготовлених розчинів у часі, підтверджено їхню стабільність впродовж 45 хвилин, що відповідає вимогам ДФУ.

### **Література:**

1. Nandhini S. Essential hypertension-a review article. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2014;6(9):305-7.
2. Management of Hypertension With a Fixed-Dose (Single-Pill) Combination of Bisoprolol and Amlodipine / U. Gottwald-Hostalek, N. Sun, C. Barho [et al.] // *Clinical Pharmacology in Drug Development*. – 2017. – No. 6. – P. 9-18.
3. Pinto IC, Martins D. Prevalence and risk factors of arterial hypertension: A literature review. *Journal of Cardiovascular Medicine and Therapeutics*. 2017;1(2):1-
4. Рекомендації Української Асоціації кардіологів з профілактики та лікування артеріальної гіпертензії. Посібник до Національної програми профілактики і лікування артеріальної гіпертензії. – К.: ПП ВМБ; 2008. – 80 с. 4-е видання, виправлене і доповнене.



5. Effects of Celiprolol and Bisoprolol on Blood Pressure, Vascular Stiffness, and Baroreflex Sensitivity /K. Eguchi, S. Hoshide, K. Kario// American Journal of Hypertension. – 2015. – No. 7 (28). – P. 858–867.

6. Державна фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство „Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Харків: Державне підприємство „Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2014. Т.2 – 724 с.

7. British Pharmacopoeia. – London: HMCO, 2009. – V. 1–4. – 10952 p. <https://www.pharmacopoeia.com/>.

#### References.

1. Nandhini S. (2014) Essential hypertension-a review article. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 6(9):305-7.

2. Gottwald-Hostalek, U., Sun, N., Barho, C., Hildemann, S. (2017). Management of Hypertension With a Fixed-Dose (Single-Pill) Combination of Bisoprolol and Amlodipine. *Clinical Pharmacology in Drug Development*, 6, 9-18.

3. Pinto, I.C, Martins, D. (2017) Prevalence and risk factors of arterial hypertension: A literature review. *Journal of Cardiovascular Medicine and Therapeutics*, 1 (2), 1-7.

4. Recommendations of the Ukrainian Association of Cardiology on the prevention and treatment of arterial hypertension (2008). Manual to the National Program for the Prevention and Treatment of Arterial Hypertension. – K.: PP VMB; 4th edition, corrected and supplemented. – 80 p [in Ukrainian].

5. Eguchi, K., Hoshide, S., Kario, K. (2015) Effects of Celiprolol and Bisoprolol on Blood Pressure, Vascular Stiffness, and Baroreflex Sensitivity. *American Journal of Hypertension*, 7 (28), 858–867.

6. Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. (2015) State Pharmacopoeia of Ukraine:in 3 vol.]. State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality Medicines " [in Ukrainian].

7. British Pharmacopoeia. (2009). The British Pharmacopoeia Secretariat. – London, Vol. 1. – P. 10952. Retrieved from: <http://www.vek-com.ru/78022.html>9.

**Abstract.** Hypertension is one of the most common diseases of the cardiovascular system. According to official statistics, 12.3 million patients with arterial hypertension are registered in Ukraine, which is approximately 30% of the total adult population. According to existing recommendations, drugs from different pharmacological groups are used for the treatment of hypertension, which differ in the active substance, dosage and mechanism of action. When analyzing hypertension treatment protocols, doctors often begin their prescription with a group of  $\beta$ -adrenergic receptor blockers. In the appropriate treatment regimens for this disease, bisoprolol is widely used, a highly selective  $\beta_1$ -adrenergic blocker, which, when used in therapeutic doses, does not have intrinsic sympathomimetic activity and clinically pronounced membrane-stabilizing properties, and also exhibits antianginal and hypotensive effects. The analytical methods available to us, in the literature sources, for determining this substance of a medicinal substance are not selective, require the use of expensive equipment and appropriate reagents, the latter may be toxic and do not meet the requirements of "green" chemistry. Therefore, the development of new or modification of existing methods for the determination of bisoprolol in finished medicinal products will allow not only to determine its qualitative composition and quantitative content, but also to allow proper control of the quality of drugs based on it by control and analytical laboratories and chemical and pharmaceutical enterprises.

**Key words:** sample preparation, bisoprolol fumarate, tablets, spectrophotometry.