

ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ УМОВ ПРОБОПІДГОТОВКИ ПРИ РОЗРОБЦІ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ ОДНОЧАСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ПЕРИНДОПРИЛУ АРГІНІНУ ТА БІСОПРОЛОЛУ ФУМАРАТУ В ТАБЛЕТКАХ

Вступ. Артеріальна гіпертензія – одне з найпоширеніших захворювань серцево-судинної системи. Згідно з існуючими рекомендаціями, для її лікування використовують препарати, що діють на ренін-ангіотензинову систему, блокатори β -адренорецепторів, антагоністи кальцію, діуретики та периферичні вазодилататори, які відрізняються між собою не лише активними фармацевтичними інгредієнтами, дозуванням, а також і механізмом дії. У протоколах лікування цього захворювання лікарі віддають перевагу препаратам із групи інгібіторів ангіотензинперетворювального ензиму. Також дуже часто у відповідні схеми лікування артеріальної гіпертензії включають лікарський засіб “Престилол” Servier Industries Ltd (Ireland) – фіксовану комбінацію периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату. Існуючі аналітичні методики визначення даної комбінації діючих речовин у лікарському засобі є трудомісткими, неселективними, а також вимагають використання дорогого обладнання, відповідних реактивів тощо. Пробопідготовка – дуже важливий етап у фармацевтичному аналізі, адже вона необхідна для покращення метрологічних характеристик аналізу, підвищення точності, правильності, розширення діапазону досліджуваних значень концентрацій і зменшення похибки результатів експерименту.

Мета дослідження – підібрати оптимальні умови пробопідготовки при розробці спектрофотометричної методики одночасного визначення периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату в таблетках.

Методи дослідження. Для проведення експериментів використовували: спектрофотометр Shimadzu UV1800 (Японія) з програмним пакетом Software UV-Probe 2.62, кварцові кювети (1 см), таблетки “Престилол” 5 мг/10 мг, фармакопейні стандартні зразки периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату (“SigmaAldrich”, $\geq 98\%$, високоефективна рідинна хроматографія), метанол Р (“Honeywell Riedelde Haen™”, 99,9 %).

Результати й обговорення. Беручи до уваги розчинність досліджуваних активних фармацевтичних інгредієнтів, враховуючи доступність і нетоксичність розчинників, ми проаналізували різні розчинники, серед них було обрано метанол, який проявляє відмінні властивості щодо поглинання периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату і є альтернативним та безпечним реагентом. Після цього отримували метанольні вилучення з фармакопейних стандартних зразків та досліджуваних таблеток і спектрофотометрували їх. Одержані спектри показали інтенсивно виражені смуги поглинання в УФ-ділянці спектра при довжинах хвилі 224 і 272 нм, що дало нам можливість розділити компоненти фіксованої комбінації та обрати їх оптимальними. Також підбирали концентрацію приготовлених розчинів та вивчали їх стабільність упродовж певного проміжку часу. Якщо останні будуть нестабільними, то подальша розробка методики кількісного визначення не можлива або можлива лише за умови додавання певних стабілізаторів, тому тим самим ускладнюється і сам процес пробопідготовки.

Висновки. У результаті проведених експериментів підібрано оптимальні умови пробопідготовки для розробки коректної методики одночасного визначення периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату в таблетках (розчинник – метанол Р, концентрація розчинів – $1,00 \times 10^{-3}$ М, довжини хвилі – 224 і 272 нм), встановлено стабільність розчинів упродовж 45 хв, що відповідає вимогам ДФУ.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: периндоприлу аргінін; бісопрололу фумарат; таблетки; пробопідготовка; спектрофотометрія.

ВСТУП. На сьогодні гіпертензія є однією з найбільш важливих глобальних проблем у галузі охорони здоров'я. Незважаючи на наявність багатьох ефективних лікарських препаратів для лікування артеріальної гіпертензії, для досягнення терапевтичних цілей часто потрібно призначати комбіновані лікарські засоби. Комбінована терапія має ряд переваг порівняно з монотера-

пією, оскільки дозволяє використовувати менше дозування кожного препарату для досягнення необхідного терапевтичного ефекту і можливе зменшення виникнення побічних реакцій, що сприятиме більшій відповідальності пацієнта за своє лікування [1, 2]. На сьогодні досить часто у відповідні схеми лікування артеріальної гіпертензії включають лікарський засіб “Престилол” Servier Industries Ltd (Ireland) – фіксовану комбі-

© В. В. Клим, Н. О. Зарівна, 2024.

націю периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату. Саме це поєднання активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) рекомендують для лікування артеріальної гіпертензії та/або стабільної ішемічної хвороби серця, та/або стабільної хронічної серцевої недостатності зі зниженою систолічною функцією лівого шлуночка в дорослих пацієнтів [3, 4]. Дослідження препаратів групи АТХ С09В Х02 є вкрай важливим не лише для забезпечення відповідного рівня лікування есенціальної гіпертензії та запобігання її ускладненням (інфаркт, інсульт, стенокардія, набряк мозку), а й для фармацевтичного аналізу щодо розробки методик їх кількісного визначення [2, 5].

Мета дослідження – підібрати оптимальні умови пробопідготовки при розробці спектрофотометричної методики одночасного визначення периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату в таблетках.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під час досліджень використано такий метод, як спектрофотометрія в УФ-ділянці спектра, програмне забезпечення Software UV-Probe 2.62, фармакопейні стандартні зразки (ФСЗ) периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату ("Sigma-Aldrich", $\geq 98\%$, високоєфективна рідинна хроматографія), таблетки "Престилол" 5 мг/10 мг, Servier Industries Ltd (Ireland).

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для виконання експериментів використано двопробневу сканувальний спектрофотометр Shimadzu UV-1800 (Японія) з програмним пакетом Software UV-Probe 2.62, кварцові кювети (1 см), ваги лабораторні електронні RAD wAG AS 200/C, ультразвукову баню Sonorex Digitec DT100H, мірний посуд класу А.

Для розробки нової методики кількісного визначення досліджуваних АФІ першочергово необхідно підібрати оптимальні умови пробопідготовки, що стосуються приготування випробуваного, компенсаційного розчинів, їх концентрації і стабільності в часі, оптимального розчинника, довжини хвилі тощо, адже пробопідготовка

є надважливим етапом у проведенні фармацевтичного аналізу. За рахунок правильного підбору оптимальних умов пробопідготовки ми не лише підвищимо точність та правильність методики, розширимо діапазон досліджуваних значень, а й, тим самим, зменшимо похибку результатів експерименту.

Керуючись інформацією про будову АФІ (рис. 1, 2), їх фізико-хімічні властивості, можна попередньо спрогнозувати можливість використання УФ-спектрофотометрії для аналізу досліджуваних АФІ та готових лікарських засобів на їх основі.

У хімічному відношенні периндоприл є 2-метилпропан-2-амін (2S,3aS,7aS)-1-[(2S)-2-[[[(1S)-(етоксикарбоніл)бутил]аміно]пропаноїл]октагідро-1H-індол-2-карбоксилатом, хімічну формулу якого наведено нижче (див. рис. 1) [6].

У хімічному відношенні бісопролол є (RS)-1-[4-[[2-(1-Метилетокси)етокси]метил]фенокси]-3-[(1-метилетил)аміно]пропан-2-ол фумаратом, структурну формулу якого наведено нижче (див. рис. 2) [7].

Першочергово для дослідження оптимальних умов пробопідготовки вивчали поведінку таблеток "Престилол" у різних органічних розчинниках (рис. 3).

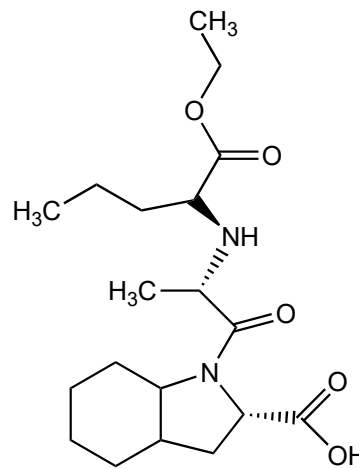


Рис. 1. Хімічна структура периндоприлу.

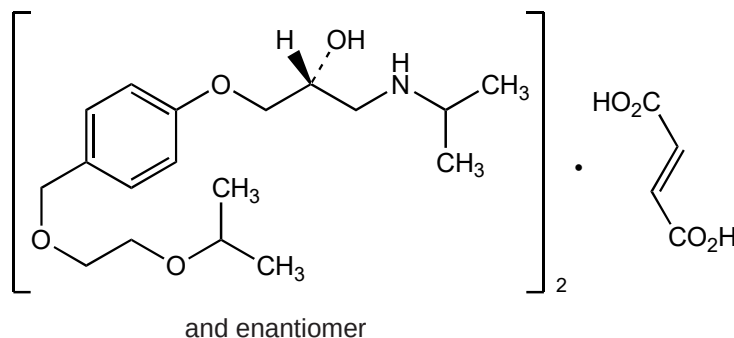
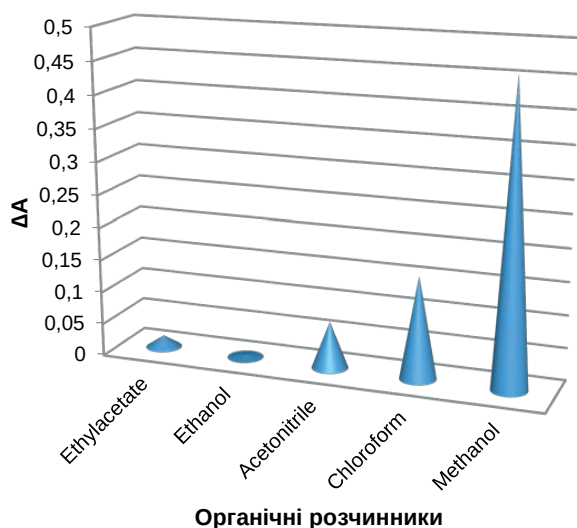


Рис. 2. Хімічна структура бісопрололу.



Органічні розчинники

Рис. 3. Значення поглинання таблеток "Престилол" у різних розчинниках.

Одержані результати, наведені на рисунку 3, свідчать про те, що оптимальним розчинником виявився метанол, який проявляє відмінні властивості щодо поглинання периндоприлу аргініну і біспрололу фумарату та є альтернативним реагентом. Після цього отримували метанольні вилучення з ФСЗ та досліджуваних таблеток і спектрофотометрували їх. Відповідні спектри поглинання ФСЗ та досліджуваних таблеток наведено на рисунках 4–6.

Як впливає з одержаних спектрів поглинання (див. рис. 4–6), отримані УФ-спектри метанольного вилучення з досліджуваних таблеток і ФСЗ периндоприлу аргініну та біспрололу фумарату мають інтенсивно виражені смуги поглинання при оптимальних довжинах хвилі

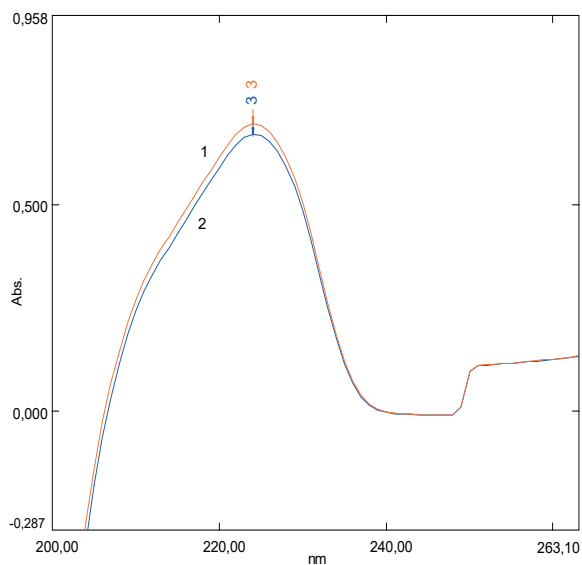


Рис. 4. Електронні спектри поглинання: червоний (1) – ФСЗ периндоприлу аргініну в метанолі; синій (2) – випробовуваний розчин таблеток "Престилол" у метанолі.

224 і 272, що дало можливість розділити компоненти фіксованої комбінації.

Наступним етапом експерименту були підбір оптимальної концентрації випробовуваних розчинів та дослідження їх стабільності в часі. Концентрацію підбирали, виходячи з молекулярної маси досліджуваних АФІ та середньої маси таблеток "Престилол" у дозі 5 мг/10 мг. У результаті проведених розрахунків оптимальною концентрацією розчинів виявилась $1,00 \times 10^{-3}$ М, яку буде використано в подальшому для застосування розробленої методики. Згідно з вимогами ДФУ [8], стабільність розчинів досліджували шляхом вимірювання абсорбції впродовж 45 хв.

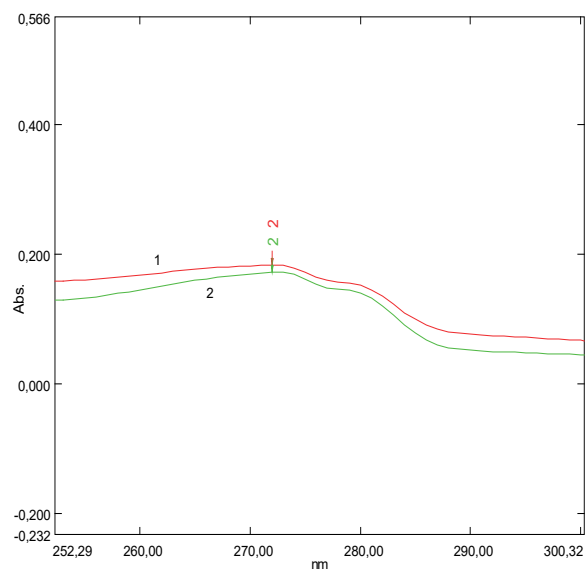


Рис. 5. Електронні спектри поглинання: червоний (1) – ФСЗ біспрололу фумарату в метанолі; зелений (2) – випробовуваний розчин таблеток "Престилол" у метанолі.

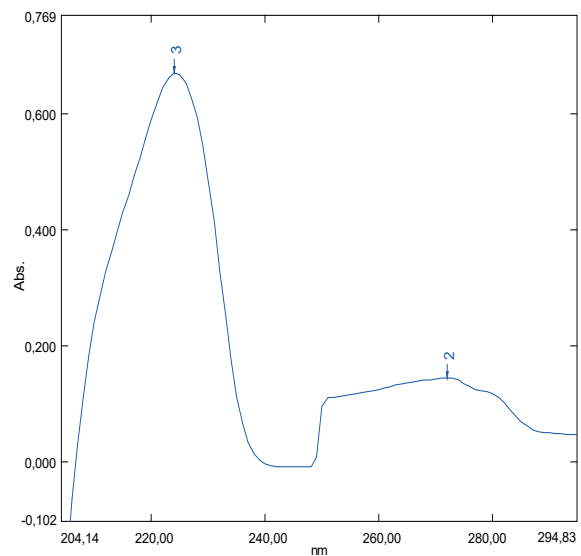


Рис. 6. Електронний спектр поглинання таблеток "Престилол" у метанолі.

На рисунках 7, 8 показано залежність поглинання периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату в таблетках відносно часу.

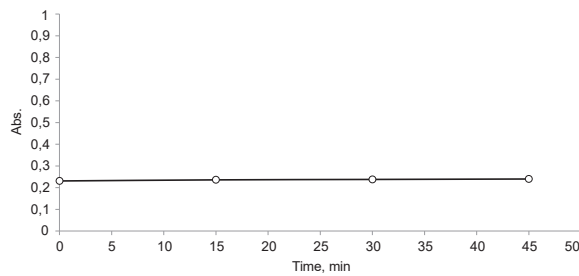


Рис. 7. Графік залежності поглинання периндоприлу аргініну в таблетках відносно часу.

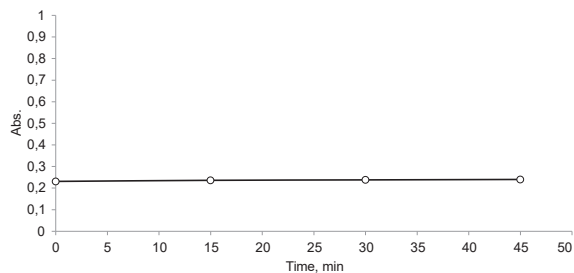


Рис. 8. Графік залежності поглинання бісопрололу фумарату в таблетках відносно часу.

У результаті проведеного експерименту підтверджено, що приготовлені розчини є стабільними протягом 45 хв, не вимагають додавання стабілізаторів, що суттєво полегшує виконання цього аналізу.

Наступним етапом дослідження буде проведення валідації розробленої спектрофотометричної методики одночасного визначення периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату в таблетках.

ВИСНОВКИ. 1. У результаті проведених експериментів підібрано оптимальні умови прободготовки для розробки спектрофотометричної методики одночасного визначення периндоприлу аргініну та бісопрололу фумарату в таблетках.

2. Вивчено поведінку препарату "Престилол" у різних органічних розчинниках.

3. Підібрано оптимальний розчинник, оптимальну концентрацію аналізованих розчинів, довжини хвилі для розділення фіксованої комбінації.

4. Вивчено стабільність приготовлених розчинів у часі, встановлено їх стабільність упродовж 45 хв, що відповідає вимогам ДФУ.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. 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.

2. Коваль С. М. Сучасна стратегія лікування артеріальної гіпертензії та профілактики її ускладнень у світлі нових європейських рекомендацій 2018 року / С. М. Коваль, І. О. Снігурська // *Раціональна фармакотерапія*. – 2019. – № 1, 2 (50–51). – С. 11–18.

3. Stability-Indicating RP-HPLC and CE Methods for Simultaneous Determination of Bisoprolol and Perindopril in Pharmaceutical Formulation: A Comparative Study / S. A. Hassan, N. W. Nashat, M. R. Elghobashy [et al.] // *J. Chromatogr Sci*. – 2020. – No. 58 (8). – P. 747–758.

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

5. Prevalence and risk factors of arterial hypertension: A literature review/ I. C. Pinto, D. Martins // *Journal of Cardiovascular Medicine and Therapeutics*. – 2017. – No. 1 (2). – P. 1–7.

6. European Pharmacopoeia (2022). *European Pharmacopoeia 11st edn.* – Access mode: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition>

7. British Pharmacopoeia (2009). *The British Pharmacopoeia Secretariat, London.* – 1. – P. 10952. – Access mode: <http://www.vek-com.ru/78022.html>

8. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во "Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів". – 2-ге вид. – Харків : Держ. п-во "Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів", 2015. – 1. – 1128 с.

REFERENCES

1. 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.

2. Koval, S., Snihurska I. (2019). A modern strategy for the treatment of arterial hypertension and the prevention of its complications in the light of the new European recommendations of 2018. *Rational Pharmacotherapy*, 1-2 (50-51), 11-18 [in Ukrainian].

3. Hassan, S.A, Nashat, N.W., Elghobashy, M.R, Abbas, S.S, Moustafa, A.A. (2020). Stability-Indicating RP-HPLC and CE Methods for Simultaneous Determination of Bisoprolol and Perindopril in Pharmaceutical Formulation: A Comparative Study. *J Chromatogr Sci.*, 58 (8), 747-758.
4. 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.
5. 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.
6. European Pharmacopoeia. (2022). European Pharmacopoeia (11st edn.). Retrieved from: <https://www.edqm.eu/en/european-pharmacopoeia-ph.-eur.-11th-edition>
7. British Pharmacopoeia. (2009). The British Pharmacopoeia Secretariat. – London, Vol. 1. – P. 10952. Retrieved from: <http://www.vek-com.ru/78022.html>
8. (2015) State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 vol.]. State Enterprise “Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality Medicines” [in Ukrainian].

Отримано 08.02.2024

Адреса для листування: Н. О. Зарівна, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Воли, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: zarivna@tdmu.edu.ua.

V. V. Klym, N. O. Zarivna

I. HORBACHEVSKY TERNOPII NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

SELECTION OF OPTIMAL CONDITIONS OF SAMPLE PREPARATION IN THE DEVELOPMENT OF A SPECTROPHOTOMETRIC TECHNIQUE FOR THE SIMULTANEOUS DETERMINATION OF PERINDOPRIL ARGININE AND BISOPROLOL FUMARATE IN TABLETS

Summary

Introduction. Arterial hypertension (AH) is one of the most common diseases of the cardiovascular system. According to existing recommendations, drugs that act on the renin-angiotensin system, β -adrenergic receptor blockers, calcium antagonists, diuretics and peripheral vasodilators are used for its treatment, which differ not only in active pharmaceutical ingredients (APIs), dosage, but also in the mechanism of action. In the treatment protocols for this disease, doctors prefer drugs from the group of angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors. Also, very often, the appropriate regimens for the treatment of hypertension include the drug (drug) "Prestylol" Servier Industries Ltd (Ireland) – this is a fixed combination of perindopril arginine and bisoprolol fumarate. The existing analytical methods for determining this combination of active substances in drugs are labor-intensive, not selective, and also require the use of expensive equipment and appropriate reagents, etc. Sample preparation is a very important stage in pharmaceutical analysis, because it is necessary to improve the metrological characteristics of the analysis, to increase the accuracy, correctness, expand the range of studied concentration values and reduce the error of the experimental results.

The aim of the study – to select the optimal conditions of sample preparation in the development of a spectrophotometric technique for the simultaneous determination of perindopril arginine and bisoprolol fumarate in tablets.

Research Methods. For the experiment we used: spectrophotometer Shimadzu UV1800 (Japan) with the use of the software package UV-Probe 2.62, quartz cuvettes (1 cm), tablets "Prestylol" 5 mg/10 mg, pharmacopoeial reference samples (PhRS): perindopril arginine, bisoprolol fumarate ("SigmaAldrich", ≥ 98 %, high-performance liquid chromatography), methanol P ("Honeywell Riedel Haen™", 99.9 %).

Results and Discussion. Taking into account the solubility of the studied APIs, the availability and non-toxicity of solvents, we analyzed various solvents, among them we chose methanol, which exhibits excellent properties for the absorption of perindopril arginine and bisoprolol fumarate and acts as an alternative and safe reagent. After that, methanol extractions from the PhRS and the studied tablets were obtained and spectrophotometred. The obtained spectra show intensely pronounced absorption bands in the UV region of the spectrum at wavelengths of 224 and 272 nm, which gave us the opportunity to separate the components of the fixed combination. Also, the optimal concentration of the prepared solutions was selected and their stability over a certain period of time was studied. If the latter are not stable, then further development of the method of quantitative determination is impossible, or possible, only if certain stabilizers are added, therefore, the process of sample preparation itself is complicated.

Conclusions. As a result of the experiments, the optimal conditions for sample preparation were selected for the development of a correct method for the simultaneous determination of perindopril arginine and bisoprolol fumarate in tablets (solvent – methanol P, solution concentration 1.00×10^{-3} M, wavelengths: 224 and 272 nm), stability of solutions for 45 minutes, which meets the requirements of DFU.

KEY WORDS: perindopril arginine; bisoprolol fumarate; tablets; sample preparation; spectrophotometry.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ