

Н. О. Зарівна
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ
ORCID: 0000-0002-8522-4024

ВАЛІДАЦІЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ БІСОПРОЛОЛУ ФУМАРАТУ ІЗ БРОМКРЕЗОЛОВИМ ПУРПУРОВИМ У ТАБЛЕТКАХ

Вступ. Попередніми нашими дослідженнями оптимізовано умови пробопідготовки та розроблено методику кількісного визначення бісопрололу фумарату із бромкрезоловим пурпуровим у твердій лікарській формі – таблетках Бісопрол. Оскільки валідація – це експериментальний доказ того, що запропонована методика кількісного визначення бісопрололу є придатною для поставлених цілей і завдань, необхідно дослідити основні валідаційні параметри, результати яких вкажуть не лише на коректність представленої методики, а й на відповідність вимогам Національної фармакопеї, а також на її використання у практичній фармації.

Мета дослідження – проведення валідації методики кількісного визначення бісопрололу фумарату за реакцією із бромкрезоловим пурпуровим у таблетках.

Методи дослідження. Для проведення експерименту було використано прилад – спектрофотометр «Shimadzu UV1800» (UVProbe 2.62), кварцові кювети розміром 1 см, таблетки Бісопрол дозуванням 10 мг, фармакопейний стандартний зразок (ФСЗ) бісопрололу фумарату («SigmaAldrich», ≥ 98 %, високоефективна рідинна хроматографія), ацетонітрил Р (Сфера Сім ч.д.а.), бромкрезоловий пурпуровий (БКП) «Sigma – Aldrich» (≥ 98 %, HPLC), методи математичної статистики.

Результати й обговорення. Вивчення валідаційних характеристик здійснювали згідно з вимогами Державної фармакопеї України (ДФУ), II видання. Основні валідаційні параметри, що вивчалися, такі: лінійність, правильність, прецизійність, збіжність і робастність. Як результат проведених випробувань – розроблена методика виявилась лінійною, адже межа виявлення становила 0,9024, межа кількісного визначення – 2,7344, що відповідає зазначеним критеріям прийнятності. Значення величини Δz дорівнювало 0,21, що є меншим за критичне значення (1,6 %), отже, розроблена методика є збіжною. Систематична похибка становить 0,03 %, що теж менше за критичне значення і вказує на правильність даної методики кількісного визначення.

Висновки. У результаті вивчення основних валідаційних параметрів установлено, що розроблена методика визначення кількісного вмісту бісопрололу фумарату із бромкрезоловим пурпуровим є лінійною, збіжною, правильною, прецизійною та може бути використана на хіміко-фармацевтичних підприємствах лабораторіями з контролю якості лікарських препаратів для проведення фармацевтичного аналізу субстанції бісопрололу та медикamentів на його основі.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: бісопрололу фумарат; бромкрезоловий пурпуровий; спектрофотометрія; таблетки; валідація.

ВСТУП. У результаті проведеного аналізу наукових джерел [1–7] зазначимо, що відомо багато методик визначення бісопрололу фумарату в лікарських засобах (далі – ЛЗ), які представлені різними методами аналізу, проте існує низка проблем у їх розробленні: випробування є складними, тривалими, потребують використання вартісного обладнання і спеціальних реактивів. Навіть більше, відмічено невідповідність основним валідаційним параметрам і відповідним настановам якості, тому вирішено розробити спектрофотометричну методику кількісного визначення бісопрололу фумарату в ЛЗ з використанням сульфоталеїнових

барвників [8–13], яка б базувалася на реакції утворення іонних асоціатів із досліджуваним активним фармацевтичним інгредієнтом (далі – АФІ). У попередніх наших експериментах [14] було показано поведінку бісопрололу з такими сульфоталеїновими барвниками, як бромтимоловий синій (далі – БТС), тимоловий синій (далі – ТС), бромкрезоловий зелений (далі – БКЗ), крезоловий червоний (далі – КЧ), бромкрезоловий пурпуровий (далі – БКП). У результаті проведених випробувань щодо отримання максимальної абсорбції було обрано БКП, який утворював з досліджуваним АФІ стабільний іонний асоціат [14; 15].

Наступним етапом експерименту необхідно провести валідацію розробленої нами

методику визначення бісопрололу із БКП в таблетках, довести її придатність для рутинного контролю якості бісопрололу та ЛЗ на його основі.

Мета дослідження – проведення валідації методики спектрофотометричного визначення бісопрололу фумарату за реакцією із бромкрезоловим пурпуром у таблетках.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Дослідження виконували методом спектрофотометрії за допомогою спектрофотометра «Shimadzu UV1800», застосовували програмне забезпечення «Software UV-Probe 2.62». Також використовували ФСЗ бісопрололу фумарату (Sigma Aldrich 98 %, ВЕРХ), таблетки Бісопрол, 10 мг, ПАТ «Фармак» (Україна), БКП «Sigma – Aldrich» (≥ 98 %, HPLC), ацетонітрил Р (Сфера Сім ч.д.а.), кварцові кювети, розміром 1 см, ваги лабораторні електронні марки «RAD wAG AS 200/C», мірний посуд класу А, методи математичної статистики для виконання розрахунків. Приготування аналізованих розчинів наведено нижче.

Приготування визначуваного розчину таблеток Бісопрол, 10 мг: точну наважку порошку розтертих таблеток, еквівалентну 25,00 мг бісопрололу фумарату, поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл та розчиняють у 15,00 мл ацетонітрилу Р. Після чого доводять до мітки тим же розчинником і фільтрують розчин фільтрувальною нейлоною мембраною товщиною 0,2 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату.

2,50 мл фільтрату поміщають в колбу місткістю 25,00 мл і доводять ацетонітрилом Р до мітки. У мірну колбу на 10,00 мл відбирають 1,0 мл з розведеного розчину

таблеток Бісопрол, додають 1,0 мл розчину БКП (концентрація $2,25 \cdot 10^{-3}$ М) в ацетонітрилі Р, доводять до позначки тим же розчинником і перемішують. Вимірюють світлопоглинання отриманого комплексу бісопрололу фумарату із БКП за довжини хвилі 402 нм, вимірюючи проти компенсаційного розчину.

Приготування ФСЗ бісопрололу фумарату: 25 мг бісопрололу фумарату поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, розчиняють у 15,00 мл ацетонітрилу Р, пізніше доводять ацетонітрилом Р до мітки та перемішують. Після цього 2,5 мл розчину переносять у мірну колбу на 25,00 мл і доводять ацетонітрилом Р до мітки. У мірну колбу місткістю 10,00 мл відбирають 1,0 мл приготованого розчину бісопрололу фумарату та 1,0 мл $2,25 \cdot 10^{-3}$ М розчину БКП в ацетонітрилі Р, доводять тим же розчинником до мітки та перемішують.

Приготування компенсаційного розчину: 30,40 мг бромкрезолового пурпурового (БКП) поміщають у мірну колбу місткістю 25,00 мл, розчиняють у 15,00 мл ацетонітрилу Р, пізніше доводять до мітки тим же розчинником.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Згідно з редакцією ДФУ [16], лінійність – це валідаційна характеристика, яка показує залежність оптичної густини від концентрації. Її вивчали регресійним аналізом, методом найменших квадратів, з використанням модельних розчинів зразків у діапазоні концентрацій 7–13 мкг/мл. Графік залежності абсорбції комплексу бісопрололу фумарату – БКП від концентрації показано на рисунку 1.

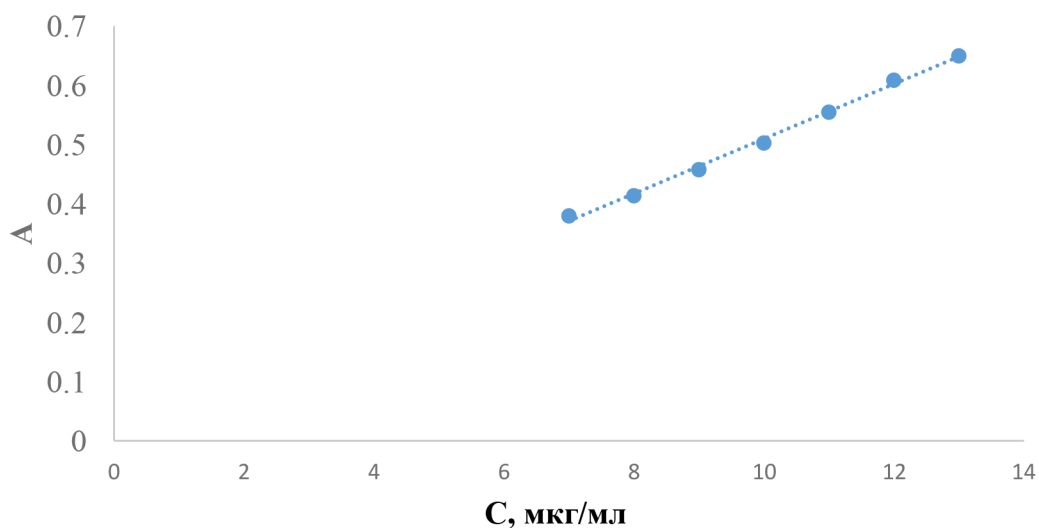


Рис. 1. Залежність абсорбції іонного асоціату бісопрололу фумарату із БКП від концентрації

Одержані значення вивчали за допомогою регресійного аналізу. Таким чином отримали відповідне рівняння регресії $y = 0,0463x + 0,0466$ і обчислили Δa (значення стандартного відхилення) та Δb . Одержані результати та критерії прийнятності наведені в таблиці 1.

У результаті проведених обчислень МВ розробленої методики кількісного визначення (далі – КВ) становить 0,90 мкг/мл, МКВ – 2,73 мкг/мл, діапазон застосування дорівнює від 7 до 13 мкг/мл.

Правильність як валідаційна характеристика – це ступінь відповідності між теоретичним (істинним) і одержаним практичним значенням згідно з методикою КВ, а прецизійність показує, відповідно, ступінь розкиду одержаних результатів даного випробування. Для цього готували зразки з точно відомою концентрацією бісопрололу фумарату від 80 до 120 % від номінальної концентрації [16].

У таблиці 2 представлено результати даного експерименту.

Згідно з отриманими даними, розроблена нами методика кількісного визначення характеризується високою прецизійністю, адже значення Δz дорівнює 0,21, тобто менше за критичне значення 2,4 % для збіжності результатів дослідження, згідно з вимогами ДФУ [16], отже, відповідає критерію незначущості систематичної похибки методики. Остання становить 0,03 %, що вказує на наближеність одержаних значень оптичної густини до номінальних, а значить, є практично незначущою, тому запропонована нами спектрофотометрична методика кількісного визначення характеризується правильністю по всьому діапазону застосування від 80 до 120 %.

Наступним етапом експерименту є вивчення внутрішньолабораторної прецизійності, яку досліджували різні хіміки-аналітики

Таблиця 1 – Характеристики лінійності методики

Параметр	Значення	Критерій	Висновок
$b \pm (S_b)$	$0,0463 \pm (0,0012)$	–	Відповідає
$a \pm (S_a)$	$0,0466 \pm (0,0127)$	$ a \leq \Delta a = 2,78 \cdot S_a = 0,0353$	Відповідає
Δa	0,0310	–	Відповідає
Δb	0,0030	–	Відповідає
R^2	0,9964	$> 0,9980$	Відповідає
$MB, \text{ мкг/мл} = 3,3 S_a^*/b$	0,9024	–	Відповідає
$MKB, \text{ мкг/мл} = 10 S_a^*/b$	2,7344	–	Відповідає
Діапазон концентрацій, мкг/мл	7–13 мкг/мл	–	Відповідає

Таблиця 2 – Результати аналізу модельних розчинів для кількісного визначення бісопрололу фумарату із БКП в таблетках

Модельні розчини	Вміст бісопрололу фумарату, %		Відношення знайденого до введеного, $Z_i = (Y_i/X_i) \cdot 100 \%$
	Уведено, $X_i = (C_i/C_{\text{н}}) \cdot 100 \%$	Знайдено, $Y_i = (A_i/A_{\text{н}}) \cdot 100 \%$	
M_1	70,98	70,96	99,97
M_2	81,15	81,08	99,91
M_3	90,00	90,13	100,14
M_4	96,03	95,99	99,96
M_5	100,16	100,10	99,94
M_6	104,04	104,14	100,09
M_7	110,08	110,11	100,03
M_8	118,80	119,00	100,17
M_9	120,00	120,07	100,05
Значення, Z , %			100,03
Стандартне відхилення, S_z , %			0,09
Відносний довірчий інтервал $\Delta z = t(95 \%, 8) \cdot S_z = 2 \cdot 3060 S_z$, %			0,21
Критичне значення для збіжності результатів $\Delta z \leq \max \Delta_{As} = 2,4 \%$			Виконується ($0,21 < 2,40$)
Систематична похибка $\delta = Z - 100 $, %			0,03
Критерій невизначеності систематичної похибки $\delta \leq \max \delta$, %			Виконується ($0,03 < 0,51$)
Загальний висновок про методику			Коректна

в різні дні за допомогою різного мірного посуду, з використанням шести зразків однієї серії таблеток Бісопрол. Результати проведеного випробування наведено в таблиці 3.

Таблиця 3 – Вивчення внутрішньолабораторної прецизійності для методики кількісного визначення бісопрололу фумарату із БКП в таблетках

Аналізований розчин	Аналізована величина (Z , %)		
	Дослід № 1	Дослід № 2	Дослід № 3
1	100,03	99,98	99,95
2	99,98	100,01	100,08
3	99,96	100,00	99,99
4	100,14	100,05	100,07
5	100,03	99,98	100,01
6	100,21	100,00	99,99
Середнє Z (%)	100,06	100,00	100,02
RSD_x , %	0,1	0,03	0,05
Відносне стандартне відхилення, RSD_z (%)	0,06		
Відносний довірчий інтервал, Δ_z	$0,06 \leq 2,4$		
Критичне значення збіжності результатів Δ_{As} , %	2,4		

Як видно з таблиці 3, одержані результати вказують на те, що величина відносного довірчого інтервалу для 6 паралельних дослідів 1-ї серії таблеток Бісопрол відповідає критерію прийнятності ($\leq 2,4$ %).

У розрахунок повної невизначеності аналітичної методики [16] входить Δ_{SP} – невизначеність пробопідготовки, Δ_{FAO} – кінцева аналітична операція. Як відомо, невизначеність кінцевої аналітичної операції для спектрофотометричного визначення становить 2,1 %.

Δ_{SP} для досліджуваного АФІ із БКП в таблетках Бісопрол становила 2,24 %. Як видно

з рисунку 2, максимальний внесок у невизначеність пробопідготовки роблять такі операції, як: 3-тя, 5-та, 6-та, 10-та, 12-та, 13-та, а саме: взяття аликвоти аналізованого розчину піпеткою (5 і 1 мл). Окрім цього, суттєвий вплив на невизначеність запропонованої методики мають операції 7-ма та 14-та (рис. 2).

За результатом проведення відповідних розрахунків, повна невизначеність методики KB Δ_{As} досліджуваних таблеток становить 2,3 %.

$$\Delta_{As} = 2,3 \% \leq \max \Delta_{As} = 2,4 \%$$

Отже, розроблена нами методика визначення кількісного вмісту бісопрололу фумарату за реакцією із БКП в таблетках Бісопрол даватиме коректні результати й в інших лабораторіях з контролю якості медикаментів, адже прогнозована повна невизначеність результатів експерименту не більша за критичне значення ($\max \Delta_{As}$).

Робасність вивчали шляхом оцінювання впливу доданої кількості БКП з концентрацією ($2,25 \cdot 10^{-3}$) на оптичну густину за довжини хвилі 402 нм. Результати проведення даного випробування наведені в таблиці 4.

Таблиця 4 – Дослідження робасності методики кількісного визначення

Об'єм розчину БКП $2,25 \cdot 10^{-3}$ М, мл	БКП, %	ΔA
0,90	90	0,503
0,95	95	0,506
1,00	100	0,509
1,05	105	0,512
1,10	110	0,515

У результаті проведення даного дослідження відмічено коливання кількості

Невизначеність пробопідготовки методики кількісного визначення бісопрололу із БКП в таблетках

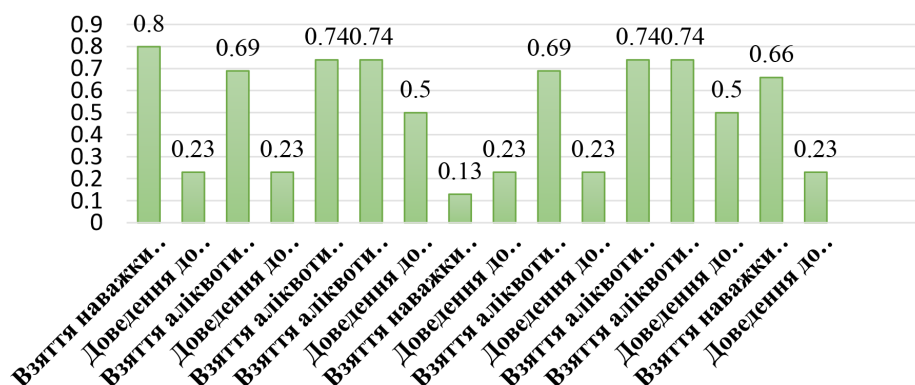


Рис. 2. Вивчення невизначеності пробопідготовки для розробленої методики кількісного визначення

доданого розчину БКП в межах $\pm 10\%$, що не значно впливає на значення оптичної густини та варіює в допустимих межах. Отже, методика є робасною, адже зміна оптичної густини від об'єму доданого БКП не чинить великого впливу на ефективність спектрофотометричного методу.

Отже, отримані результати експерименту вказують на відповідність розробленої спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату із БКП в таблетках основним валідаційним характеристикам, згідно з вимогами ДФУ [16]. Основними перевагами розробленої методики з іншими [17; 18] є: відсутність екстрагування продукту взаємодії бісопрололу фумарату із сульфоталейновими барвниками, що робить методику експресною та більш екологічною. Також варто зазначити, що в запропонованій нами методиці використано сучасні підходи до розроблення методик контролю якості ЛЗ, що полягають у використанні менш токсичного розчинника – ацетонітрилу, його кількості, порівняно з використанням кислоти хлористоводневої [19]. За показниками «зеленості» представлена методика є екологічнішою порівняно з іншими зазначеними методиками (бал за інструментом Agree становив 0,72, Eco-Scale – 89) [17; 20].

ВИСНОВКИ. 1. Проведено валідацію спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу із бромкрезоловим пурпуровим у таблетках за основними валідаційними параметрами, як-от: лінійність,

діапазон застосування, правильність, прецизійність, робасність.

2. Встановлено, що представлена методика кількісного визначення є лінійною в діапазоні від 7 до 13 мкг/мл.

3. Обчислено значення відносного довірчого інтервалу величини, що становить 0,21 %, а систематична похибка – 0,03 %, що вказує на правильність розробленої методики.

4. Невизначеність пробопідготовки (Δ_{sp}) для методики кількісного визначення становить 2,24 %, повна невизначеність аналітичної методики – 2,34 %, що менше за критичне значення ($\max \Delta_{As} = 2,4\%$) та відповідає вимогам ДФУ.

5. Розроблена методика кількісного визначення бісопрололу фумарату із БКП в готовому лікарському засобі може бути використана для рутинного аналізу в лабораторіях з контролю якості лікарських препаратів на його основі.

ІНФОРМАЦІЯ ПРО ФІНАНСУВАННЯ: без фінансування.

ВІДПОВІДНІСТЬ МАТЕРІАЛІВ СТАТТІ ЩОДО ПРОВЕДЕННЯ ОБСТЕЖЕНЬ/ДОСЛІДЖЕНЬ/ЛІКУВАННЯ НОРМАМ: біоетики (протокол комісії з біоетики) – не проводилось досліджень із тваринами.

ВНЕСОК КОЖНОГО З АВТОРІВ ЗГІДНО З ТАКСОНОМІЄЮ CRediT: одноосібна стаття.

ІНФОРМАЦІЯ ЩОДО КОНФЛІКТУ ІНТЕРЕСІВ: конфлікт інтересів відсутній.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Elonsy S. M., El Yazbi F. A., Shaalan R. A., Ahmed H. M., Belal T. S. Application of MEKC and UPLC with Fluorescence Detection for Simultaneous Determination of Amlodipine Besylate and Bisoprolol Fumarate. *J AOAC Int.* 2021. 104 (2). P. 339–347. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa136>
2. Mahmoud O. A., Omran A. A., Binsaleh A. Y., Almalki M. A., Mohamed M. A. Chromatographic Techniques for Assessment of Bisoprolol Fumarate and Perindopril Arginine in Solid Formulations under Various Stress Conditions and Application to Six Sigma, Content Uniformity, and Comparative Dissolution Approaches. *J AOAC Int.* 2023. 106 (5). P. 1165–1179. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsad077>
3. Manoj Verma, Swati Pandey, Bina Gidwani, Ravindra Kumar Pandey, Shiv Shankar Shukla. Bisoprolol Fumarate: An Exploration on its Properties and Analytical

Methods. *Palestinian Medical and Pharmaceutical Journal.* 2024. 9 (4). P. 483–496. DOI: <https://doi.org/10.59049/2790-0231.1272>

4. Shaheen H. A., Bahaffi S. O., Khedr A. M. A Sensitive Liquid Chromatography-Mass Spectrometric Method for Determination of Bisoprolol in Rat Serum after Pre-Column Derivatization. *J Chromatogr Sci.* 2023. DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmad056>.

5. Pawar S., Tamboli A., Patil S. RP-HPLC method development and validation for simultaneous estimation of Bisoprolol fumarate and Cilnidipine in pharmaceutical dosage form. *J Pharm Sci Biosci Res.* 2020. 10 (2). P. 149–155. URL: http://www.jpsbr.org/volume_10/Issue_1_hm_files/JPSBR20RS2010.pdf

6. Eman Yossri Frag, Marwa ELbadry Mohamed, Hanaa A. El-Boraey, Safa S. EL-Sanafery. Carbon Potentiometric Sensors Modified with Beta-cyclodextrin as a Carrier for the Determination of Bisoprolol Fumarate.

Int J Electrochem Sci. 2019. 14 (7). P. 6603–6616. DOI: <https://doi.org/10.20964/2019.07.40>.

7. Elshaprawy D. S., Elmosallmy M. F., Elgendy K. Spectrophotometric Determination of Bisoprolol Fumarate and Levobunolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Forms. *Eurasian J Anal Chem.* 2020. 15. P. 20–31.

8. Kryskiw L., Horyn M., Kucher T., Zarivna N., Poliak O., Logoyda L. Novel eco-friendly spectrophotometric determination of lercanidipine hydrochloride in tablets using methyl red. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2024. 3 (49). P. 47–53.

9. Halka L., Kucher T., Piponski M., Kryskiw L., Zarivna N., Horyn M., Horlachuk N., Duve K., Logoyda L. Four ecofriendly spectrophotometric methods for the determination of perindopril through derivatization with sulphophtalein dyes: application to tablet analysis. *BMC Chemistry.* 2024. 18.

10. Horyn M., Kryskiw L., Kucher T., Poliak O., Zarivna N., Zahrychuk H., Korobko D., Peleshok K., Logoyda L. Development of the spectrophotometric method for the determination of metoprolol in tablets by using bromophenol blue. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2022. 6 (40). P. 36–42.

11. Horyn M., Kucher T., Kryskiw L., Poliak O., Zarivna N., Peleshok K., Logoyda L. Development of the spectrophotometric method for the determination of metoprolol tartrate in tablets by using bromocresol green. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2022. 5 (39). P. 55–63.

12. Shulyak N., Protsyk S., Kucher T., Kryskiw L., Poliak O., Zarivna N., Logoyda L. Development of the spectrophotometric method for the determination of atorvastatin in tablets by using bromothymol blue. *ScienceRise: Pharmaceutical Science.* 2022. 4 (38). P. 89–97.

REFERENCES

1. Elonsy, S. M., El Yazbi, F. A., Shaalan, R. A., Ahmed, H. M., & Belal, T. S. (2021). Application of MEKC and UPLC with Fluorescence Detection for Simultaneous Determination of Amlodipine Besylate and Bisoprolol Fumarate. *JAOAC Int – Journal of the AOAC International*, 104 (2), 339–347. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsaa136> [in English].

2. Mahmoud, O. A., Omran, A. A., Binsaleh, A. Y., Almalki, M. A., & Mohamed, M. A. (2023). Chromatographic Techniques for Assessment of Bisoprolol Fumarate and Perindopril Arginine in Solid Formulations under Various Stress Conditions and Application to Six Sigma, Content Uniformity, and Comparative Dissolution Approaches. *J AOAC Int – Journal of the AOAC International*, 106 (5), 1165–1179. DOI: <https://doi.org/10.1093/jaoacint/qsad077> [in English].

3. Verma, M., Pandey, S., Gidwani, B., Pandey, R. K., & Shukla, S. S. (2024). Bisoprolol Fumarate: An Exploration on its Properties and Analytical Methods. *Palestinian Medical and Pharmaceutical Journal – Palestinian Medical and Pharmaceutical Journal*, 9 (4),

13. Bromocresol purple. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=%22BROMCRESOL%20PURPLE%22>

14. Ярчук Б., Килюшик І., Журавель С., Поляк О., Зарівна Н. Перспективи розробки методик кількісного визначення бісопрололу із сульфоталеїновими барвниками в готових лікарських засобах. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали Х Науково-практичної конференції з міжнародною участю, присвяченої пам'яті завідувача кафедри управління та економіки фармації з технологією ліків, доктора фармацевтичних наук, професора Т. А. Грошового, 17–18 жовтня 2024 р. Тернопіль : ТНМУ, 2024. С. 109–110.

15. Зарівна Н. Оптимізація умов пробопідготовки для розробки спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату за реакцією бромкрезоловим пурпуровим у таблетках. *Медична та клінічна хімія.* 2025. № 3. С. 68–74.

16. Державна фармакопея України : у 3 т. 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

17. El-Didamony A. M., Hafeez S. M., Saad A. A. Application of bromocresol green and bromothymol blue for the extractive spectrophotometric determination of anti-hypertensive drugs. *J Appl Pharm Sci.* 2015. 5 (7). P. 122–129.

18. Жук Ю., Васюк С., Антипенко Л. Вивчення будови продукту взаємодії бісопрололу з тимоловим синім. *Фармаком.* 2018. № 1. С. 82–87.

19. Panainte A. D., Bibire N., Tantar G., Apostu M., Vieriu M., Dorneanu V. A new method for the assay of bisoprolol using bromocresol green. *Rev Chim (Bucharest).* 2014. 65 (8). P. 916–920.

483–496. DOI: <https://doi.org/10.59049/2790-0231.1272> [in English].

4. Shaheen, H. A., Bahaffi, S. O., & Khedr, A. M. (2023). A Sensitive Liquid Chromatography-Mass Spectrometric Method for Determination of Bisoprolol in Rat Serum after Pre-Column Derivatization. *J Chromatogr Sci – Journal of Chromatographic Science*. DOI: <https://doi.org/10.1093/chromsci/bmad056> [in English].

5. Pawar, S., Tamboli, A., & Patil, S. (2020). RP-HPLC Method Development and Validation for Simultaneous Estimation of Bisoprolol Fumarate and Cilnidipine in Pharmaceutical Dosage Form. *J Pharm Sci Biosci Res – Journal of Pharmaceutical Sciences and Biosciences Research*, 10 (2), 149–155. Retrieved from: http://www.jpsbr.org/volume_10/Issue_1_hm_files/JPSBR20RS2010.pdf [in English].

6. Frag, E. Y., Mohamed, M. E., El-Boraey, H. A., & EL-Sanafery, S. S. (2019). Carbon Potentiometric Sensors Modified with Beta-Cyclodextrin as a Carrier for the Determination of Bisoprolol Fumarate. *Int J Electrochem Sci – International Journal of*

Electrochemical Science, 14 (7), 6603–6616. DOI: <https://doi.org/10.20964/2019.07.40> [in English].

7. Elshaprawy, D. S., Elmosallmy, M. F., & Elgendy, K. (2020). Spectrophotometric Determination of Bisoprolol Fumarate and Levobunolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Forms. *Eurasian J Anal Chem – Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, 15, 20–31. [in English].

8. Kryskiw, L., Horyn, M., Kucher, T., Zarivna, N., Poliak, O., & Logoyda, L. (2024). Novel Eco-Friendly Spectrophotometric Determination of Lercanidipine Hydrochloride in Tablets Using Methyl Red. *ScienceRise: Pharmaceutical Science – ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 3 (49), 47–53. [in English].

9. Halka, L., Kucher, T., Piponski, M., Kryskiw, L., Zarivna, N., Horyn, M., Horlachuk, N., Duve, K., & Logoyda, L. (2024). Four Ecofriendly Spectrophotometric Methods for the Determination of Perindopril through Derivatization with Sulphophthalein Dyes: Application to Tablet Analysis. *BMC Chemistry – BMC Chemistry*, 18. [in English].

10. Horyn, M., Kryskiw, L., Kucher, T., Poliak, O., Zarivna, N., Zahrychuk, H., Korobko, D., Peleshok, K., & Logoyda, L. (2022). Development of the Spectrophotometric Method for the Determination of Metoprolol in Tablets by Using Bromophenol Blue. *ScienceRise: Pharmaceutical Science – ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 6 (40), 36–42. [in English].

11. Horyn, M., Kucher, T., Kryskiw, L., Poliak, O., Zarivna, N., Peleshok, K., & Logoyda, L. (2022). Development of the Spectrophotometric Method for the Determination of Metoprolol Tartrate in Tablets by Using Bromocresol Green. *ScienceRise: Pharmaceutical Science – ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 5 (39), 55–63. [in English].

12. Shulyak, N., Protsyk, S., Kucher, T., Kryskiw, L., Poliak, O., Zarivna, N., & Logoyda, L. (2022). Development of the Spectrophotometric Method for the Determination of Atorvastatin in Tablets by Using Bromothymol Blue. *ScienceRise: Pharmaceutical Science – ScienceRise: Pharmaceutical Science*, 4 (38), 89–97. [in English].

13. Bromocresol Purple [Bromocresol Purple]. *PubChem – PubChem*. Retrieved from: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=%22BROMOCRESOL%20PURPLE%22> [in English].

14. Yarchuk, B., Kilyushyk, I., Zhuravel, S., Poliak, O., & Zarivna, N. (2024). Perspektivy rozrobky metodyk kilkisnoho vyznachennia bisoprololu z sulfoftaleinovymy barvnykamy v hotovykh likarskykh zasobakh [Prospects of Developing Quantitative Determination Methods of Bisoprolol Using Sulphophthalein Dyes in Finished Medicinal Products]. *Naukovotekhnichniy progres i optymizatsiia tekhnolohichnykh protsesiv stvorennia likarskykh preparativ – Scientific and Technical Progress and Optimization of Technological Processes of Drug Production*, 17–18 October 2024, 109–110. [in Ukrainian].

15. Zarivna, N. O. (2025). Optymizatsiia umov probopidhotovky dlia rozrobky spektrofotometrichnoi metodyk kilkisnoho vyznachennia bisoprololu fumaratu za reaktsiieiu bromkrezolovym purpurovym u tabletkakh [Optimization of Sample Preparation Conditions for the Development of a Spectrophotometric Method for Quantitative Determination of Bisoprolol Fumarate Using Bromocresol Purple in Tablets]. *Medychna ta klinichna khimiia – Medical and Clinical Chemistry*, 3, 68–74. [in Ukrainian].

16. Derzhavna farmakopeia Ukrainy [State Pharmacopoeia of Ukraine]. (2015). Kyiv : Derzhavne pidpriemstvo “Ukrainskyi nauково-ekspertnyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv”, 2nd ed., Vol. 1, 1128 p. [in Ukrainian].

17. El-Didamony, A. M., Hafeez, S. M., & Saad, A. A. (2015). Application of Bromocresol Green and Bromothymol Blue for the Extractive Spectrophotometric Determination of Anti-Hypertensive Drugs [Application of Bromocresol Green and Bromothymol Blue for the Extractive Spectrophotometric Determination of Anti-Hypertensive Drugs]. *J Appl Pharm Sci – Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5(7), >122–129. [in English].

18. Zhuk, Yu. M., Vasiuk, S. O., & Antypenko, L. M. (2018). Vyvchennia budovy produktu vzaimodii bisoprololu z tymolovym synim [Study of the Structure of the Product of Interaction of Bisoprolol with Thymol Blue]. *Farmakom – Pharmacom*, 1, 82–87. [in Ukrainian].

19. Panainte, A. D., Bibire, N., Tantar, G., Apostu, M., Vieru, M., & Dorneanu, V. (2014). A New Method for the Assay of Bisoprolol Using Bromocresol Green. *Rev Chim (Bucharest) – Chemical Review (Bucharest)*, 65 (8), 916–920. [in English].

Адреса для листування: zarivna@tdmu.edu.ua

N. O. Zarivna

IVAN HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY
OF THE MINISTRY OF HEALTH OF UKRAINE

VALIDATION OF SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF BISOPROL FUMARATE WITH BROMOCRESOL PURPLE IN TABLETS

Summary

Introduction. Our previous studies optimized the conditions of sample preparation and developed a method for the quantitative determination of bisoprolol fumarate with bromocresol purple in a solid dosage form – “Bisoprol” tablets. Since validation is experimental proof that the proposed method for quantitative determination of bisoprolol is suitable for the set goals and objectives. Therefore, it is necessary to investigate the main validation

parameters, the results of which will indicate not only the correctness of the presented methodology, but also its compliance with the requirements of the National Pharmacopoeia, as well as its use in practical Pharmacy.

The Aim of the Study. The aim of the research – validation of the method for quantitative determination of bisoprolol fumarate by reaction with bromocresol purple in tablets.

Research Methods. The experiment was conducted using a device – a spectrophotometer “Shimadzu UV1800” (UVProbe 2.62), quartz cuvettes 1 cm in size, “Bisoprol” tablets with a dosage of 10 mg, a pharmacopoeial standard sample (PSS) of bisoprolol fumarate (“SigmaAldrich”, $\geq 98\%$, high-performance liquid chromatography), acetonitrile R (Sphera Seven p.a.), bromocresol purple (BCP) “Sigma – Aldrich” ($\geq 98\%$, HPLC), methods of mathematical statistics.

Results and Discussion. The study of validation characteristics was carried out in accordance with the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine (SFU) 2nd edition. The main validation parameters studied were: linearity, accuracy, precision, convergence and robustness. As a result of the tests conducted, the developed method turned out to be linear, since the detection limit was 0,9024, the quantification limit was 2,7344, which corresponds to the specified acceptance criteria. The value of Δz was equal to 0,21, which is less than the critical value (1,6 %), and therefore the developed method is convergent. The systematic error is 0,03 %, which is also less than critical and indicates the correctness of this quantification method.

Conclusions. As a result of studying the main validation parameters, it was found that the developed method for determining the quantitative content of bisoprolol fumarate from BCP is linear, convergent, correct, and precise and can be used at chemical and pharmaceutical enterprises by laboratories for quality control of medicinal products to conduct pharmaceutical analysis of the substance bisoprolol and medicines based on it.

KEY WORDS: bisoprolol fumarate; bromocresol purple; spectrophotometry; dosage form; validation.

Стаття надійшла до редакції 15.11.2025

Стаття прийнята 05.12.2025

Статтю опубліковано 31.12.2025

