



DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2026.3.16517>

УДК 615.07:543.422.3:615.225.2:615.453.6

ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ ПРОБОПІДГОТОВКИ ДЛЯ РОЗРОБКИ ТА СТАНДАРТИЗАЦІЇ МЕТОДИКИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ БІСОПРОЛОЛУ ФУМАРАТУ В ТАБЛЕТКАХ ЗА РЕАКЦІЄЮ ІЗ БРОМТИМОЛОВИМ СИНІМ

Н. О. Зарівна¹, М. І. Сулима²

¹Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського
Міністерства охорони здоров'я України

²ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького»
zarivna@tdmu.edu.ua

ІНФОРМАЦІЯ

Дата першого надходження
рукопису до видання / Received:
17.06.2026

Дата прийняття статті до друку
після рецензування / Accepted:
25.08.2026

Дата публікації статті / Published:
16.10.2026



Стаття поширюється на умовах
ліцензії відкритого доступу
(CC BY 4.0)

Ключові слова:

бісопрололу фумарат,
бромтимоловий синій,
пробопідготовка,
кількісне визначення,
спектрофотометрія.

АНОТАЦІЯ

Мета роботи – оптимізація параметрів пробопідготовки для розробки стандартизованої процедури спектрофотометричного визначення вмісту бісопрололу фумарату в таблетках «Бісопрол» за реакцією з бромтимоловим синім.

Матеріали і методи. Для проведення експерименту використовували: спектрофотометр “Shimadzu UV1800” із використанням програмного пакету UVProbe 2.62, кювети з кварцу (1 см), таблетки «Бісопрол» 10 мг, фармакопейний стандартний зразок бісопрололу фумарату (“SigmaAldrich”, ≥98 %, HPLC), БТС («Sigma – Aldrich» (≥ 98%, HPLC)); ацетонітрил Р (“Honeywell Riedelde Haen™”, 99,9%).

Результати й обговорення. З огляду на будову, фізико-хімічні властивості бісопрололу фумарату, а також БТС, доступність і нетоксичність розчинників нами проаналізовано різні, серед яких було вибрано ацетонітрил, який проявляє відмінні властивості щодо поглинання бісопрололу фумарату по реакції утворення іонних асоціатів з БТС та виступає альтернативним і нетоксичним реагентом. Після чого отримували їх ацетонітрильні вилучення, які спектрофотометрували та отримали відповідні спектри поглинання, що показують інтенсивно виражені смуги поглинання у видимій ділянці спектра за довжини хвилі 400 нм, що дало можливість вибрати її оптимальною і визначити кількісний вміст бісопрололу фумарату в готовій лікарській формі (таблетки). Додатково було обґрунтовано робочі концентрації розчинів, вивчено стабільність їх у часі. Якщо останні не будуть стабільними, то подальша розробка методики є неможливою або можливою лише за рахунок додавання стабілізаторів, що ускладнить сам процес пробопідготовки.

Висновок. У результаті проведених досліджень підібрано оптимальні умови пробопідготовки для розробки раціональної і коректної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату в таблетках «Бісопрол» (розчинник – ацетонітрил Р, кінцева концентрація розчинів 2.26×10^{-5} М з БТС (2.26×10^{-4} М)), довжина хвилі 400 нм, стабільність розчинів впродовж 45 хвилин, що відповідає вимогам ДФУ.

Вступ. Артеріальна гіпертензія (АГ) належить до кардіоваскулярних патологій і виступає ключовим чинником розвитку або прогресування серцево-судинних порушень [1; 2]. Цей патологічний стан, спричинений стійким зростанням артеріального тиску (АТ), є однією з провідних причин стійкої втрати працездатності, інвалідності та передчасної смертності населення в Україні [2; 3]. Згідно з літературними джерелами [3; 4] для лікування АГ прийнято використовувати монопрепарати або їх комбінації з іншими субстанціями лікарських речовин. Відзначено, що бета-адреноблокатори є одними з основних класів препаратів у лікуванні гіпертонії [4]. Лікарський засіб, який широко призначається хворим і наявний давно на фармацевтичному ринку з незначними проявами побічних реакцій, – це «Бісопрол», який належить, згідно з АТХ класифікацією, до групи C07A B07, активним фармацевтичним інгредієнтом (АФІ) в якому є бісопрололу фумарат, який завдяки блокуванню β_1 -адренорецепторів буде проявляти антигіпотензивну та антиангінальну активності. Більше того, він знижує потребу міокарда в кисні, що позитивно впливає на його оксигенацію [4; 5].

На сьогодні описано численні підходи до визначення бісопрололу фумарату, зокрема із застосуванням хроматографічних і спектрофотометричних методів [6–8]. Проте більшість із них є тривалими, трудомісткими (складна пробопідготовка [7], вимагають високоякісного апаратурного забезпечення – високоефективної рідинної хроматографії (ізократичного елювання із застосуванням трихлороцтової кислоти як рухомої фази, що чинить корозійний вплив на хроматографічне оснащення [6] та застосування токсичних реагентів (таких як церій (IV) амонію сульфату, сульфатна кислота [8], трихлороцтова кислота [6]), а також тривалої дериватизаційної обробки проб, що збільшує похибку аналізу та підвищує собівартість досліджень [8]. Це зумовлює актуальність розробки альтернативних арбітражних спектрофотометричних методик, що базуються на реакції комплексоутворення іонних асоціатів із сульфоталеїновими барвниками. На основі попереднього скринінгу сульфоталеїнових барвників [9]: бромкрезолового зеленого, крезолового червоного, бромтимолового синього, бромкрезолового пурпурового, встановлено особливості їхньої взаємодії з бісопрололу фумаратом, максимальне світлопоглинання та стійкість комплексу виявлено за рахунок БТС [10]. Це й зумовило його вибір як основного реагенту для створення іонних забарвлених асоціатів для розробки нової методики його кількісного визначення.

Мета роботи – оптимізувати умови пробопідготовки для розробки та стандартизації методики кількісного визначення бісопрололу фумарату в таблетках із використанням бромтимолового синього (БТС).

Матеріали і методи. Спектрофотометрія у видимій ділянці спектра, двопроменевий сканувальний спектрофотометр “Shimadzu UV-1800”, програмне забезпечення Software UV-Probe 2.62, ФСЗ бісопрололу фумарату (Sigma Aldrich 98%, ВЕРХ), таблетки

«Бісопрол» 10 мг, Фармак (Україна), БТС («Sigma – Aldrich» ($\geq 98\%$, HPLC)); ацетонітрил Р (“Honeywell Riedel–de Haen™”, 99,9%), кювети з кварцу (1 см), мірний посуд класу А, ваги лабораторні електронні марки “RAD wAG AS 200/C”, ультразвукова баня “Sonorex Digitec DT100H”.

Результати й обговорення.

Валідна оцінка вмісту бісопрололу фумарату в готовому лікарському засобі (ГЛЗ) критично залежить від етапу пробопідготовки, яка передбачає вибір раціонального розчинника, встановлення оптимальних концентрацій, обґрунтування процедури приготування випробовуваного й компенсаційного розчинів, вивчення їхньої стабільності у часі, а також визначення аналітичної довжини хвилі. Раціональний підбір цих параметрів є запорукою мінімізації аналітичної похибки, підвищення точності й правильності результатів, а також розширення меж кількісного визначення.

Для оптимізації пробопідготовки першочергово було досліджено розчинність таблеток «Бісопрол» у низці органічних розчинників (рис. 1).

Вибір розчинників базувався насамперед на полярності досліджуваної речовини (добре розчиняється у полярних розчинниках: воді, метанолі, етанолі, ацетонітрилі). Також враховували спектральні характеристики розчинників, доступність, економічну доцільність та принципи «зеленої» хімії. Зважаючи на хімічну структуру та фізико-хімічні властивості бісопрололу фумарату, а також з урахуванням вищенаведеного оцінено вплив розчинників на ефективність утворення іонних асоціатів аналіту з БТС. Дослідження залежності інтенсивності світлопоглинання та аналітичної довжини хвилі отриманих сполук від природи середовища (рис. 1) дозволило вибрати оптимальним розчинником ацетонітрил Р, який виступає безпечним альтернативним реагентом. Із таблеток «Бісопрол» 10 мг отримали ацетонітрильні вилучення, які спектрофотометрували, результати проведеного аналізу наведено на рис. 1.

Як видно з отриманих результатів, що представлені на рис. 1, найвищу інтенсивність світлопоглинання проявляє комплекс бісопрололу фумарату з кінцевою концентрацією розчинів $2,26 \times 10^{-5}$ М та з БТС ($2,26 \times 10^{-4}$ М) в ацетонітрилі Р. Проте в інших органічних розчинниках значення оптичних густин коливалися в межах 0,05–0,1, мінімальний показник світлопоглинання спостерігався у разі використання метанолу Р.

Одержані спектри поглинання ФСЗ та таблеток «Бісопрол» наведені на рис. 2.

Аналізуючи рис. 2, варто відзначити максимум світлопоглинання за довжини хвилі 400 нм, що зумовило її вибір як оптимальної для подальших досліджень. Крім цього, експериментально було встановлено й оптимальні концентрації випробовуваних розчинів з урахуванням молекулярної маси досліджуваного АФІ, БТС і середньої маси таблеток «Бісопрол» 10 мг.

Наступним етапом експерименту є вивчення стехіометричних співвідношень між взаємодіючими

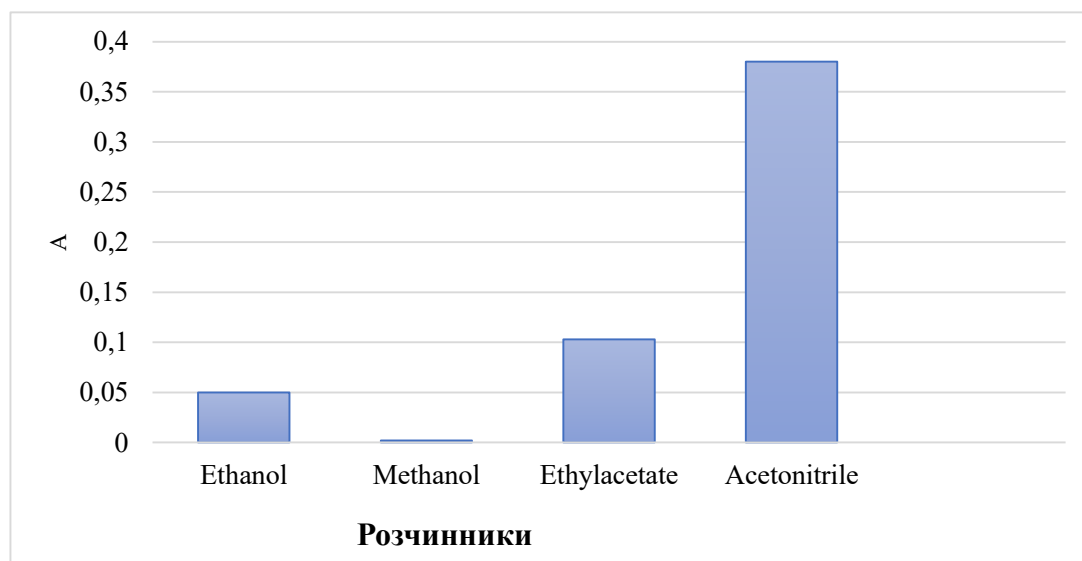


Рис. 1. Абсолютні значення світлопоглинання бісопрололу фумарату з БТС у різних розчинниках

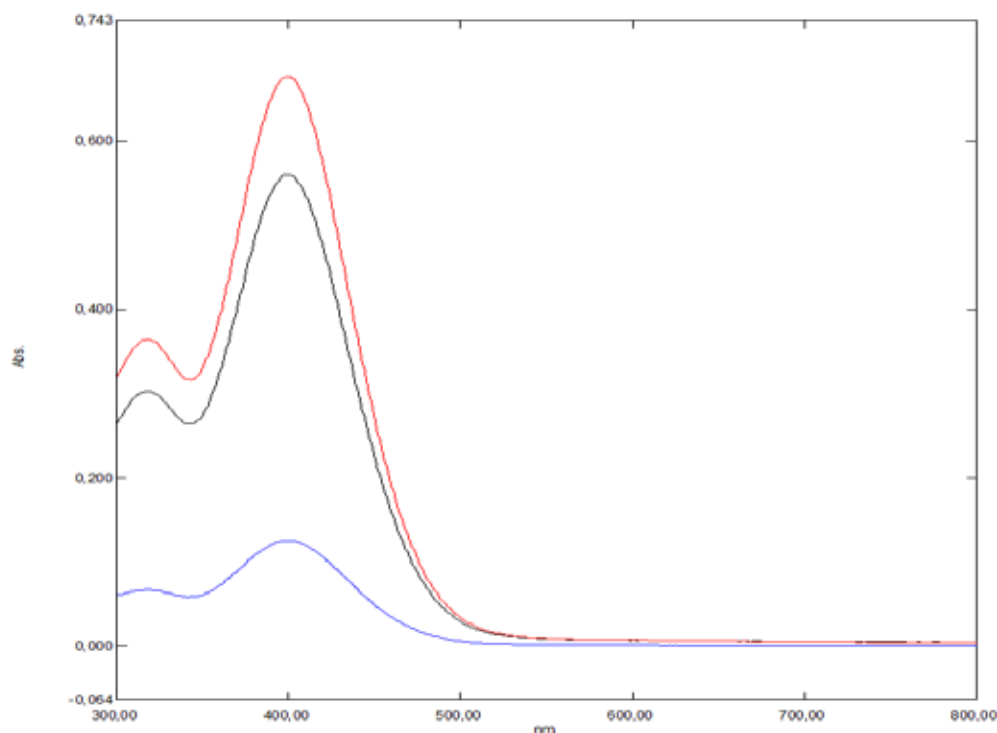


Рис. 2. Електронні спектри поглинання утвореного іонного асоціату бісопрололу фумарату $2.26 \times 10^{-5} \text{ M}$ з БТС $2.26 \times 10^{-4} \text{ M}$ проти ацетонітрилу (червоний), проти БТС (чорний) та БТС проти ацетонітрилу (синій)

компонентами реакції, для цього було застосовано метод ізомолярних серій, так званий метод Жоба. Для цього готували розчини бісопрололу фумарату та БТС в однакових концентраціях, які надалі використовували для вимірювання безперервної варіації об'ємів. За результатами досліджень встановлено, що ізомолярна концентрація розчинів бісопрололу фумарату та БТС становить $1,13 \times 10^{-3} \text{ M}$. Стехіометричні коефіцієнти взаємодії визначали методом

ізомолярних серій, змішуючи розчини досліджуваного АФІ та барвника у різних об'ємних співвідношеннях. Початковий розчин містив 0,2 мл бісопрололу фумарату та 0,8 мл БТС, розчином порівняння використовували аліквоту барвника об'ємом 0,8 мл. Надалі пропорції компонентів (АФІ : барвник) змінювали таким чином: 0,3 : 0,7; 0,4 : 0,6; 0,5 : 0,5; 0,6 : 0,4; 0,7 : 0,3 та 0,8 : 0,2. Загальний об'єм кожної проби був сталим і доводився до мітки ацетонітрилом Р (рис. 3).

Згідно з отриманою кривою (рис. 3), максимум абсорбції спостерігається у разі співвідношення об'ємів бісопрололу фумарату та БТС 0,5:0,5 мл. Це підтверджує, що взаємодія між компонентами реакції відбувається у стехіометричному співвідношенні 1:1. Після цього визначали кількісні показники чутливості реакції, а саме: молярний показник поглинання – (ϵ) $1,53 \times 10^4$; питома поглинання (a) – $3,5 \times 10^{-2}$; коефіцієнт Сендела (Ws) – 0,02886 відповідно. Всі зазначені показники вивчення чутливості реакції відповідають критеріям прийнятності.

Критичним етапом оптимізації пробопідготовки є оцінка стабільності аналізованих розчинів у часі. Для цього фіксували значення їхньої абсорбції впродовж 45-хвилинного інтервалу. Стабільність оптичної густини протягом цього періоду (рис. 4) підтвердила відповідність критеріям ДФУ [11] та виключила потребу у застосуванні допоміжних речовин-стабілізаторів. Крім того, розроблена процедура пробопідготовки бісопрололу фумарату з БТС не потребує

специфічного регулювання pH середовища, що значно оптимізує та спрощує аналітичний процес.

З урахуванням оптимізації умов пробопідготовки нижче представлено редакцію запропонованої нами методики визначення кількісного вмісту бісопрололу фумарату з БТС у таблетках.

Приготування випробовуваного розчину таблеток «Бісепрол», 10 мг: точну наважку розтертих таблеток, еквівалентну 25,00 мг бісопрололу фумарату, поміщують у мірну колбу місткістю 25,00 мл, розчиняють у 15,00 мл ацетонітрилу Р. Після того доводять до мітки тим же розчинником і струшують в ультразвуковій бані впродовж 2 хвилин. Одержаний розчин фільтрують через фільтрувальну нейлонову мембрану товщиною 0,2 мкм, відкидаючи перші порції фільтрату. 2,50 мл фільтрату поміщують у колбу місткістю 25,00 мл та доводять ацетонітрилом Р до мітки. У мірну колбу 10,00 мл відбирають аліквоту 1,0 мл з отриманого розчину досліджуваних таблеток, додають 1,0 мл розчину бромтимолового

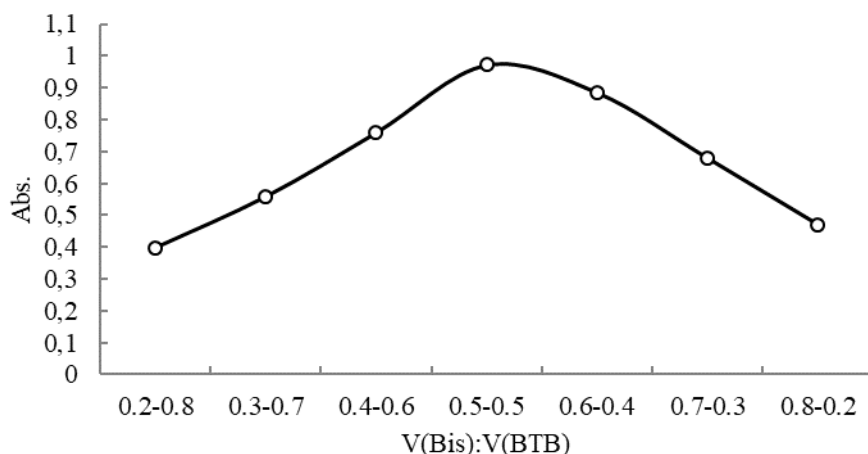


Рис. 3. Графік залежності світлопоглинання від складу розчинів бісопрололу фумарату та БТС з концентрацією $1,13 \times 10^{-3}$ М.

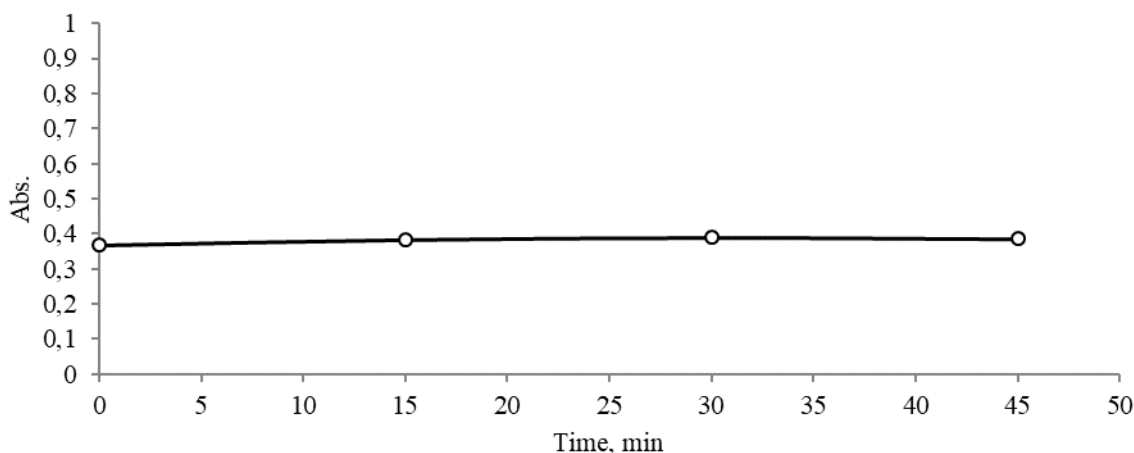


Рис. 4. Графік залежності світлопоглинання досліджуваного АФІ з БТС у таблетках стосовно часу

синього з концентрацією $2,26 \times 10^{-4}$ М в ацетонітрилі Р та доводять до позначки тим же розчинником, перемішують. Для вивчення лінійності готували розчини з аліквотами 0,70–1,30 мл.

Максимум абсорбції отриманого комплексу бісопрололу фумарату з БТС вимірювали у разі 400 нм, вимірюючи проти компенсаційного розчину.

Приготування ФСЗ бісопрололу фумарату: 25 мг бісопрололу фумарату поміщають у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у 15,00 мл ацетонітрилу Р. Одержаний розчин витримують в ультразвуковій бані впродовж 2 хв, доводять ацетонітрилом Р до мітки, перемішують. 2,5 мл розчину переносять у мірну колбу ємністю 25,00 мл, доводять ацетонітрилом Р до мітки. У мірну колбу 10,00 мл відбирають аліквоту 1,0 мл приготованого розчину бісопрололу фумарату та 1,0 мл $2,25 \times 10^{-3}$ М розчину бромтимолового синього в ацетонітрилі Р і доводять ним до позначки, перемішують.

Приготування компенсаційного розчину: 41 мг бромтимолового синього поміщають у мірну колбу ємністю 25,00 мл, розчиняють у 15,00 мл ацетонітрилу Р, струшують в ультразвуковій бані, доводять до мітки ацетонітрилом Р.

Результати оптимізації пробопідготовки свідчать про раціональність і коректність запропонованої методики аналізу таблеток «Бісопрол» з БТС. Це дозволяє перейти до чергового кроку експерименту – комплексного проведення валідації, що буде наступним етапом нашого дослідження.

Висновки.

1. За результатами проведених досліджень оптимізовано параметри пробопідготовки для розробки та подальшої стандартизації спектрофотометричної методики кількісного визначення бісопрололу фумарату з БТС у таблетованій формі.

2. Вивчено поведінку таблеток «Бісопрол» у різних органічних розчинниках, вибрано раціональний – ацетонітрил Р.

3. Встановлено оптимальні концентрації аналізованих розчинів, довжину хвилі для розробки методики визначення кількісного вмісту бісопрололу фумарату з БТС.

3. Визначено стехіометричне співвідношення компонентів реакції у складі досліджуваної речовини та барвника, що становить 1:1, та кількісні характеристики чутливості компонентів хімічної взаємодії: молярний показник поглинання, питома поглинання, коефіцієнт Сендєла (WS).

4. Підтверджено стабільність випробуваних розчинів у часі впродовж 45 хвилин, що відповідає вимогам Державної Фармакопеї України.

5. Представлено редакцію запропонованої методики кількісного визначення бісопрололу фумарату з БТС у таблетках.

Обмеження дослідження. Головним обмеженням цього дослідження є те, що оптимізацію методики було проведено для обмеженого переліку допоміжних речовин, типових для таблеток бісопрололу фумарату промислового виробництва. Застосування розробленої методики до лікарських форм різних виробників з іншим складом допоміжних речовин може вимагати додаткової перевірки на відсутність «матричного ефекту».

Перспективи подальших досліджень полягають у проведенні валідації для стандартизації методики кількісного визначення бісопрололу фумарату з БТС у таблетках за основними валідаційними параметрами згідно з вимогами національної фармакопеї.

Дотримання етичних норм. Дотримано етичні норми.

Інформація про фінансування. Без фінансування.

Інформація щодо конфлікту інтересів. Немає конфлікту інтересів.

Внесок кожного з авторів згідно з таксономією Credit:

Сулима М. І. – огляд літератури і частина експериментальної роботи.

Зарівна Н. О. – частина експерименту і написання, оформлення статті.

Використання штучного інтелекту. Штучний інтелект не використовувався.

Первинні дані та матеріали. Первинні експериментальні дані, включаючи спектри поглинання, оптичні густини, максимум поглинання, поведінка бісопрололу в різних органічних розчинниках, вибір концентрацій і стабільність приготовлених розчинів для оптимізації пробопідготовки наведені у відповідних таблицях, що представлені по тексту цієї статті. Експериментальні дослідження проводилися на кафедрі фармацевтичної хімії ТНМУ імені І. Я. Горбачевського, про що є відповідний запис у журналі реєстрації вимірювань на спектрофотометрі "Shimadzu UV-1800".

Подяка. Щира подяка Збройним силам України за змогу виконувати експеримент і написати статтю.

OPTIMIZATION OF SAMPLE PREPARATION CONDITIONS FOR THE DEVELOPMENT AND STANDARDIZATION OF A METHOD FOR THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF BISOPROLOL FUMARATE IN TABLETS BY REACTION WITH BROMOTHYMOLOL BLUE

N. O. Zarivna¹, M. I Sulyma²

¹Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health

²State Non-Profit Enterprise «Danylo Halytsky Lviv National Medical University»

zarivna@tdmu.edu.ua

The aim of the work is the optimization of sample preparation parameters for the development of a standardized procedure for spectrophotometric determination of bisoprolol fumarate content in "Bisoprol" tablets by reaction with bromothymol blue.

Materials and Methods. The experiment was conducted using the following: a Shimadzu UV1800 spectrophotometer together with UVProbe 2.62 software package, quartz cuvettes (1 cm), 10 mg Bisoprol tablets, a pharmacopoeial standard sample of bisoprolol fumarate ("SigmaAldrich", ≥98%, HPLC), BTS ("Sigma – Aldrich" (≥ 98%, HPLC)); acetonitrile R ("Honeywell Riedel Haen™", 99.9%).

Results and Discussion. Considering the structure, physicochemical properties of bisoprolol fumarate, as well as BTS, the availability and non-toxicity of extractants, it was analyzed various solvents, among which acetonitrile was selected, which exhibits excellent properties in terms of absorption of bisoprolol fumarate by the reaction of formation of ionic associates with BTS and acts as an alternative and safe reagent.

After that, their acetonitrile extracts were obtained, which were spectrophotometrically measured and the corresponding absorption spectra were obtained, showing intensely pronounced absorption bands in the visible region of the spectrum at a wavelength of 400 nm, which made it possible to choose the optimal one and simultaneously determine the quantitative content of bisoprolol fumarate in the finished dosage form (tablets). Additionally, the working concentrations of the solutions were justified, and their stability over time was studied. If the latter are not stable, then further development of the method is impossible, or possible only by adding stabilizers, which will complicate the sample preparation process itself.

Conclusions. As a result of the conducted research, optimal sample preparation conditions were selected for the development of a rational and correct method for the quantitative determination of bisoprolol fumarate in "Bisoprol" tablets (solvent – acetonitrile R, final concentration of solutions 2.26×10^{-5} M with BTS (2.26×10^{-4} M)), wavelength 400 nm, stability of solutions for 45 minutes, which meets the requirements of the State Pharmacopoeia of Ukraine.

Keywords: bisoprolol fumarate, bromothymol blue, sample preparation, quantitative determination, spectrophotometry.

References

1. Pinto IC, Martins D. Prevalence and risk factors of arterial hypertension: a literature review. *J Cardiovasc Med Ther.* 2017;1(2):1–7.
2. Williams B, Mancia G, Spiering W, Agabiti Rosei E, Azizi M, Burnier M, et al. ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension: The Task Force for the management of arterial hypertension of the European Society of Cardiology (ESC) and the European Society of Hypertension (ESH). *European heart journal.* 2018;39(33):3021–104.
3. Navchuk IV, Navchuk HV, Sobko DI. Features of primary prevention technologies for arterial hypertension in rural populations. *Colloquium-journal.* 2025;(52):64–68. DOI: 10.5281/zenodo.15650511.
4. Cruickshank JM. Beta-blockers and heart failure. *Indian Heart J.* 2010;62(2):101–10.
5. Maclean E, Zheng S, Nabeebaccus A, O'Gallagher K, Stewart A, Webb I. Effect of early bisoprolol administration on ventricular arrhythmia and cardiac death in patients with non-ST elevation myocardial infarction. *Heart Asia.* 2015;7(2):46–51. DOI: 10.1136/hearta-sia-2015-010675.
6. Shaheen HA, Bahaffi SO, Khedr AM. A sensitive liquid chromatography-mass spectrometric method for determination of bisoprolol in rat serum after pre-column derivatization. *J Chromatogr Sci.* 2024;62(7):668–75. DOI: 10.1093/chromsci/bmad056.
7. Ramzy S, Abdelazim AH, Shahin M. Quantitative analysis of two pharmaceutical combinations containing amlodipine with either bisoprolol or candesartan using different UV spectrophotometric methods. *J AOAC Int.* 2022;105(4):1200–4. DOI: 10.1093/jaoacint/qsac018.
8. Elshaprawy DS, Elmosallmy MF, Elgendy K. Spectrophotometric Determination of Bisoprolol Fumarate and Levobunolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Forms. *Eurasian J Anal Chem.* 2020;15:20–31.
9. Yarchuk B, Kyliushyk I, Zhuravel S, Poliak O, Zarivna N. Prospects for the development of methods for the quantitative determination of bisoprolol with sulfophthalein dyes in finished medicinal products. In: Scientific and technical progress and optimization of technological processes for the creation of medicinal products: materials of the scientific and practical conference with international participation, dedicated to the memory of the head of the Department of Pharmaceutical Management and Economics of Pharmaceutical Technology, Dr Pharm Sci, Prof TA Hroshovyi; 2024 Oct 17–18; Ternopil. Ternopil: TNMU; 2024. p. 109–10.
10. Bromthymol blue. Available at: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/#query=%22BROMTHYMOL%20BLUE%22>.
11. State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 volumes. 2nd ed. Vol. 1. Kharkiv: State Enterprise "Ukrainian Scientific and Expert Pharmacopoeial Center for the Quality of Medicinal Products"; 2015. 1128 p.

Відомості про авторів

Зарівна Н. О. – канд. фарм. наук, доцент кафедри фармацевтичної хімії, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського Міністерства охорони здоров'я України, Тернопіль, Україна. E-mail: zarivna@tdmu.edu.ua, ORCID: 0000-0002-8522-4024

Сулима М. І. – канд. фарм. наук, доцент кафедри загальної, медичної і токсикологічної хімії, ДНТ «Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького», Львів, Україна. E-mail: sumarta145@gmail.com, ORCID: 0000-0002-4613-080X

Information about the authors

Zarivna N. O. – PhD (Pharmacy), Associate Professor at the Department of Pharmaceutical Chemistry, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Ternopil, Ukraine. E-mail: zarivna@tdmu.edu.ua, ORCID: 0000-0002-8522-4024

Sulyma M. I. – PhD (Pharmacy), Associate Professor at the Department of General, Medical and Toxicological Chemistry, State Non-Profit Enterprise “Danylo Halytsky Lviv National Medical University”, Lviv, Ukraine. E-mail: sumarta145@gmail.com ORCID: 0000-0002-4613-080X