

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
факультет фармацевтичних технологій та менеджменту
кафедра фармацевтичної хімії**

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему: «СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО АНАЛІЗУ ТА ФАРМАКОЛОГІЧНА
АКТИВНІСТЬ СЕЛЕКТИВНИХ БЕТА-АДРЕНОБЛОКАТОРІВ
НОВОГО ПОКОЛІННЯ: НЕБІВОЛОЛ, ЦЕЛПРОЛОЛ, ЕСМОЛОЛ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти групи

Фм20(4,6)з мед-01а

спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація

Наталія ЛОБУНЬ

Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри
фармацевтичної хімії, к.фарм.н., доцент

Ольга ВІСЛОУС

Рецензент: доцент закладу вищої освіти кафедри
загальної хімії, к.фарм.н., доцент

Олег КРИСЬКІВ

АНОТАЦІЯ

У роботі досліджено сучасні підходи до аналізу та фармакологічної активності небівололу, целіпрололу та есмололу. Описано механізми дії, методи контролю якості та перспективи клінічного застосування.

Робота містить 4 розділи, 57 сторінок, 4 рисунка, 10 таблиць, 108 джерел літератури.

Ключові слова: бета-адреноблокатори, небіволол, целіпролол, есмолол, фармакологічна активність, методи контролю якості, ідентифікація, кількісне визначення.

ANNOTATION

The work investigates modern approaches to the analysis and pharmacological activity of nebivolol, celiprolol, and esmolol. Mechanisms of action, quality control methods, and prospects for clinical use are described.

The work contains 4 chapters, 57 pages, 4 figures, 10 tables, and 108 references.

Keywords: beta-blockers, nebivolol, celiprolol, esmolol, pharmacological activity, quality control methods, identification, quantification.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	5
ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. СЕЛЕКТИВНІ БЕТА-АДРЕНОБЛОКАТОРИ: СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД	8
1.1 Бета-адреноблокатори: загальна характеристика	8
1.2 Селективні бета-адреноблокатори нового покоління	10
1.3 Застосування селективних бета-адреноблокаторів у клінічній практиці	13
1.4 Перспективи клінічного застосування нових селективних бета-адреноблокаторів	15
1.5 Характеристика побічних реакцій лікарських засобів	17
Висновки до розділу 1	20
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	21
2.1 Об'єкти дослідження	21
2.1.1 Зв'язок між структурою та активністю небівололу, целіпрололу та есмололу	24
2.2 Методи дослідження	26
Висновки до розділу 2	28
РОЗДІЛ 3. СУЧАСНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ СЕЛЕКТИВНИХ БЕТА-АДРЕНОБЛОКАТОРІВ	29
3.1 Методи контролю якості небівололу	29
3.2 Методи контролю якості целіпрололу	40
3.3 Методи контролю якості есмололу	45
Висновки до розділу 3	51
РОЗДІЛ 4. ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ МЕТОДІВ АНАЛІЗУ ТА ЗАСТОСУВАННЯ СЕЛЕКТИВНИХ БЕТА-АДРЕНОБЛОКАТОРІВ	52
4.1. Роль новітніх технологій у фармацевтичному аналізі	52
	54

4.2. Ефективність селективних бета-адреноблокаторів у клінічній практиці: фармацевтичний аналіз

Висновки до розділу 4	56
ВИСНОВКИ	57
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	58

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АПФ	—	Ангіотензинперетворюючий фермент
АТФ	—	Аденозинтрифосфат
ББ	—	Бета-адреноблокатори
БКК	—	Блокатори кальцієвих каналів
ВЕРХ	—	Високоєфективна рідинна хроматографія
ДФУ	—	Державна Фармакопея України
ІАПФ	—	Інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту
ІЧ	—	Інфрачервоний
ХОЗЛ	—	Хронічне обструктивне захворювання легень
цАМФ	—	Циклічний аденозинмонофосфат

ВСТУП

Актуальність теми дослідження полягає в зростаючій ролі селективних бета-адреноблокаторів нового покоління у сучасній фармакотерапії. Серед них небіволол, целіпролол та есмолол виділяються як ефективні засоби для лікування серцево-судинних захворювань, зокрема артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця та серцевої недостатності. Завдяки їхній селективності до β_1 -адренорецепторів, ці препарати забезпечують значну терапевтичну ефективність із мінімальними побічними ефектами, що робить їх важливим інструментом у лікуванні пацієнтів із високим ризиком ускладнень. Однак, з огляду на появу нових молекулярних особливостей та фармакодинамічних властивостей, існує необхідність розробки й удосконалення методів аналізу цих препаратів, що дозволить покращити їх клінічне застосування.

Огляд сучасних підходів до аналізу фармакологічної активності небівололу, целіпрололу та есмололу є актуальним з точки зору впровадження інноваційних аналітичних методів, таких як хроматографія, спектрофотометрія, а також біоаналітичні технології для оцінки безпеки та ефективності. Це дозволяє забезпечити належний контроль якості препаратів та оптимізувати їх використання в клінічній практиці.

Метою дослідження є аналіз сучасних підходів до контролю якості та дослідження фармакологічної активності небівололу, целіпрололу та есмололу.

Відповідно до теми і мети роботи були поставлені наступні **завдання дослідження**:

1. Провести огляд літератури щодо методів аналізу селективних бета-адреноблокаторів.
2. Дослідити фармакологічні властивості небівололу, целіпрололу та есмололу.
3. Вивчити сучасні методи контролю якості цих препаратів.

4. Розглянути перспективи розвитку методів аналізу та застосування селективних бета-адреноблокаторів.

Об'єктом дослідження є селективні бета-адреноблокатори нового покоління.

Предметом дослідження є сучасні підходи до аналізу, механізми дії, а також фармакологічні властивості небівололу, целіпрололу та есмололу.

Методи наукових досліджень включають теоретичні методи, серед яких аналіз і синтез наукової літератури, порівняльний аналіз характеристик препаратів, систематизація й узагальнення сучасних даних про фармакодинаміку та фармакокінетику.

Практичне значення даної роботи полягає в систематизації сучасних даних щодо аналізу та фармакологічної активності селективних бета-адреноблокаторів нового покоління: небівололу, целіпрололу та есмололу. Це може дозволити оптимізувати їх використання у клінічній практиці, підвищити ефективність призначень і покращити результати лікування серцево-судинних захворювань. Отримані теоретичні дані також можуть бути використані як основа для подальших експериментальних досліджень.

Структура та обсяг: кваліфікаційна робота складається з переліку умовних скорочень, вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, переліку використаних літературних джерел. Робота викладена на 57 сторінок. Містить 4 рисунки, 10 таблиць та 108 джерел літератури.

РОЗДІЛ 1

СЕЛЕКТИВНІ БЕТА-АДРЕНОБЛОКАТОРИ: СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД

1.1. Бета-адреноблокатори: загальна характеристика

Історія розвитку бета-адреноблокаторів почалася в середині 20 століття, коли фармакологи звернули увагу на можливість регулювання симпатичної нервової системи для лікування серцево-судинних захворювань. Перші спроби вплинути на адренергічну систему за допомогою ліків почалися ще в 1948 році, коли Раймонд Алквіст відкрив існування двох типів адренорецепторів: альфа та бета [1]. Це відкриття стало фундаментом для подальшого розвитку селективних ліків, які блокували ці рецептори.

Першим успішним бета-адреноблокатором був препарат пропранолол, створений Джеймсом Вейдом Блеком в 1960 році. Блек разом зі своєю командою намагався знайти спосіб зменшення серцевої роботи без значних побічних ефектів, властивих попереднім лікам, зокрема стимуляторам альфа-рецепторів. Пропранолол швидко став революційним засобом у кардіології, оскільки він значно знижував ризик смертності у пацієнтів із ішемічною хворобою серця [2]. За свої досягнення в розробці цього препарату Блек отримав Нобелівську премію з фізіології та медицини в 1988 році.

Розробка бета-адреноблокаторів тривала, і вже у 1970-х роках з'явилися нові препарати, що відрізнялися підвищеною селективністю до бета-1 рецепторів. Метопролол та атенолол стали першими представниками цього покоління, що дозволило більш точно діяти на серцевий м'яз, зменшуючи ризик побічних ефектів, таких як бронхоспазм [3].

У наступні десятиліття фармакологи продовжували працювати над створенням нових бета-адреноблокаторів, які б поєднували в собі селективність, вазодилатаційні властивості та мінімальні побічні ефекти. Таким чином, на початку 2000-х років були розроблені небіволол, целіпролол та есмолол. Дія небівололу та целіпрололу включала стимуляцію виділення

оксиду азоту, забезпечуючи вазодилатацію та покращення мікроциркуляції, тоді як есмолол був ультракороткодійним препаратом, що використовувався переважно в ургентній кардіології для короточасного контролю частоти серцевих скорочень під час операцій та в інших ситуаціях, де потрібне швидке та контрольоване зниження симпатичного тону.

Бета-адреноблокатори протягом десятиліть застосовуються як засоби для зниження артеріального тиску. Їхній антигіпертензивний ефект ґрунтується на пригніченні вивільнення катехоламінів та зменшенні активності реніну в плазмі крові. Проте їхній вплив на серцево-судинну систему виходить за межі гіпотензивної дії.

Бета-адреноблокатори мають негативні хронотропний та інотропний ефекти, зменшуючи частоту серцевих скорочень та їхню силу [4]. Це сприяє збереженню енергетичних ресурсів міокарда та запобігає ремоделюванню серцевих камер. Також вони мають антиішемічну дію, зменшують прояви стенокардії, запобігають коронарним подіям, знижують ризик аритмій та раптової серцевої смерті. Бета-адреноблокатори здатні сповільнювати або навіть зупиняти прогресування серцево-судинних захворювань на будь-якому етапі, від простої гіпертензії до хронічної серцевої недостатності [5] (рис. 1.1).

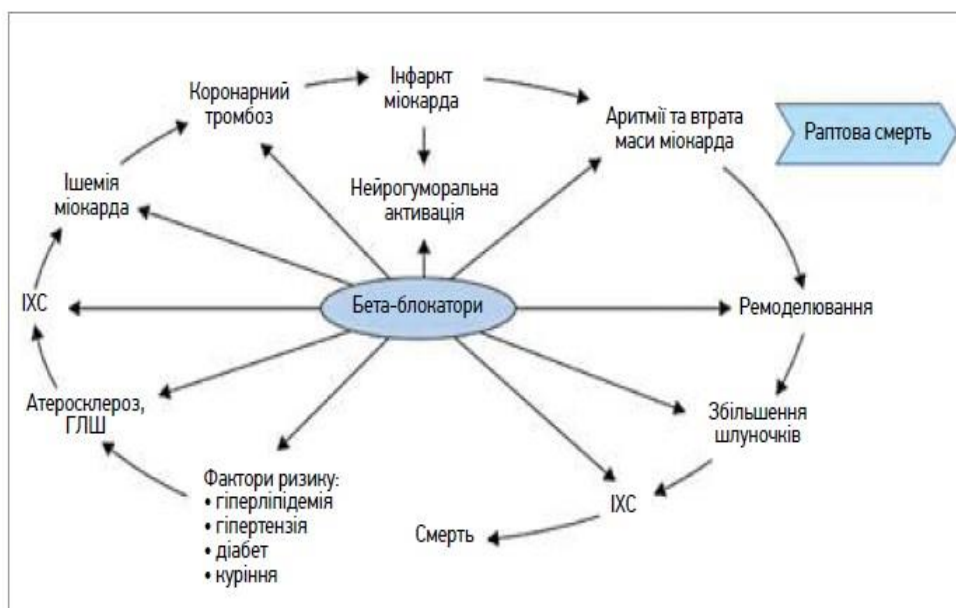


Рис. 1.1. Можливості застосування ББ на різних етапах серцево- судинного континууму

Ця група препаратів різнорідна, і, незважаючи на наявність спільних властивостей, відрізняється взаємодією з різними підтипами бета-адренорецепторів (β_1 - β_3), а також з альфа-рецепторами в організмі людини. Саме тому бета-адреноблокатори можна розділити на кілька підкласів [6]:

1. Неселективні бета-адреноблокатори, які можуть мати внутрішню симпатоміметичну активність (наприклад, піндолол) або не мати її (наприклад, тимолол, пропранолол, соталол).
2. Подвійні альфа/бета-блокатори з вазодилатуючою дією, такі як карведилол та лабеталол.
3. Кардіоселективні бета-1 блокатори, до яких належать метопролол, бісопролол, есмолол, бетаксол, ацебуталол, целіпролол.

Кардіоселективність дозволяє бета-адреноблокаторам переважно впливати на серцевий м'яз, знижуючи ризик побічних ефектів, пов'язаних із блокадою бета-2 рецепторів в інших тканинах. Сучасні селективні бета-адреноблокатори добре переносяться пацієнтами, і їх можна призначати на довгий термін. Побічні ефекти, які раніше вважалися значущими, сьогодні здаються переоціненими, особливо при використанні таких селективних препаратів, як метопролол та бісопролол. Імовірність виникнення депресії, еректильної дисфункції, проблем з периферичними артеріями або хронічного обструктивного захворювання легень є мінімальною [7].

1.2. Селективні бета-адреноблокатори нового покоління

Небіволол — селективний бета-1-адреноблокатор з додатковою вазодилатаційною дією, що зумовлена стимуляцією синтезу оксиду азоту; використовується для лікування артеріальної гіпертензії та серцевої недостатності.

Фармакодинаміка. Небіволол складається з двох енантіомерів: SRRR-небівололу (D-небіволол) і RSSS-небівололу (L-небіволол). Його дія об'єднує дві фармакологічні властивості: D-енантіомер діє як селективний конкурентний блокатор β_1 -адренорецепторів, а L-енантіомер сприяє вазодилатації через взаємодію з L-аргініном/оксидом азоту (NO). При одноразовому або повторному прийомі небіволл знижує частоту серцевих скорочень як у спокої, так і під навантаженням, ефективно діючи як у пацієнтів з артеріальною гіпертензією, так і з нормальним тиском.

Антигіпертензивний ефект зберігається при тривалому лікуванні, при цьому альфа-адренергічний антагонізм відсутній. Протягом коротко- та довготривалого лікування небіволл знижує загальний судинний опір, хоча зниження серцевого викиду обмежене завдяки збільшенню ударного об'єму. Небіволол підсилює реакцію судин на ацетилхолін, особливо у пацієнтів із ендотеліальною дисфункцією. Його застосування для лікування хронічної серцевої недостатності в поєднанні зі стандартною терапією суттєво знижувало частоту смертності або госпіталізацій, спричинених серцевими проблемами, незалежно від віку чи статі пацієнта [8].

Фармакокінетика. Після перорального прийому небіволл швидко всмоктується, причому їжа не впливає на цей процес. Він метаболізується в печінці з утворенням активних гідроксиметаболітів. Біодоступність небіволлу становить близько 12% у пацієнтів зі швидким метаболізмом і значно вища у пацієнтів із повільним метаболізмом. Дозування небіволлу має бути адаптоване індивідуально, оскільки люди з повільним метаболізмом потребують нижчих доз. Період напіввиведення небіволлу становить близько 10 годин у пацієнтів зі швидким метаболізмом, тоді як у пацієнтів із повільним метаболізмом він у 3-5 разів довший. Після тижневого прийому приблизно 38% дози виводиться із сечею, а 48% – з калом, при цьому менше 0,5% небіволлу виводиться у незміненому вигляді [9].

Целіпролол – це селективний бета-1-адреноблокатор з частковою агоністичною дією на бета-2-адренорецептори, що забезпечує вазодилатацію.

Використовується для лікування артеріальної гіпертензії та стенокардії, поєднуючи кардіопротекторний ефект зі зниженим ризиком побічних реакцій, зокрема бронхоспазму.

Фармакодинаміка. Целіпролол є селективним бета-1-адреноблокатором із додатковими вазодилатаційними властивостями, які забезпечуються частковою агоністичною дією на бета-2-адренорецептори. Його фармакодинаміка включає зниження частоти серцевих скорочень, сили скорочень міокарда та зменшення потреби серця в кисні, що робить його ефективним засобом для лікування гіпертензії та стенокардії. Целіпролол також сприяє розширенню судин за рахунок стимуляції бета-2-рецепторів, що призводить до покращення кровопостачання та зниження периферичного судинного опору. Завдяки цій дії целіпролол має менший ризик викликати бронхоспазм і може бути більш безпечним для пацієнтів із супутніми захворюваннями дихальної системи [10].

Фармакокінетика. Целіпролол характеризується відносно швидким всмоктуванням при прийомі внутрішньо, проте біодоступність становить приблизно 30-40% через ефект першого проходження через печінку. Максимальна концентрація препарату в плазмі досягається через 1-2 години після прийому. Целіпролол має тривалий період напіввиведення – близько 5-8 годин, що дозволяє його приймати один або два рази на день. Він виводиться головним чином нирками в незміненому вигляді [11].

Есмолол – ультракороткодійний селективний бета-1-адреноблокатор, який застосовується переважно для контролю частоти серцевих скорочень.

Фармакодинаміка. Після внутрішньовенного введення есмолол швидко розподіляється в організмі, маючи біодоступність 100%. Дія препарату починається майже відразу після введення, а повний терапевтичний ефект досягається через 2 хвилини та триває приблизно 20 хвилин після завершення введення. Максимальна концентрація в плазмі крові встановлюється за 5 хвилин, а при введенні навантажувальної дози – до 30 хвилин. Есмолол добре зв'язується з білками плазми і проходить через плацентарний бар'єр, хоча

немає даних щодо його виділення в грудне молоко. Метаболізується він у еритроцитах під впливом естераз, утворюючи малоактивні метаболіти. Період напіввиведення есмололу становить близько 9 хвилин, а для метаболітів – 3,7 години, що може збільшуватись при порушенні функції нирок [12].

Фармакокінетика. Есмолол блокує селективно β_1 -адренорецептори, що сприяє зменшенню утворення цАМФ з АТФ, стимульованого катехоламінами. Це знижує надходження іонів кальцію в клітини, що веде до зменшення частоти серцевих скорочень, пригнічення провідності та збудливості міокарда, а також зниження скоротливості серцевого м'яза. Есмолол зменшує серцевий викид, знижує артеріальний тиск, зменшує секрецію реніну, а також знижує нирковий кліренс та швидкість клубочкової фільтрації. Він пригнічує реакцію барорецепторів дуги аорти на зниження тиску. Препарат не має мембраностабілізуючих властивостей і не проявляє внутрішньої симпатоміметичної активності. Есмолол також подовжує ефективний та абсолютний рефрактерний період у всіх ділянках провідної системи серця, що уповільнює атріовентрикулярну провідність та провідність по основних і додаткових шляхах серцевої провідної системи [12].

1.3. Застосування селективних бета-адреноблокаторів у клінічній практиці

Бета-адреноблокатори широко застосовуються в лікуванні різних серцево-судинних захворювань, зокрема артеріальної гіпертензії, ішемічної хвороби серця, хронічної серцевої недостатності, а також для контролю частоти серцевих скорочень при аритміях. Дані рандомізованих контрольованих досліджень демонструють, що бета-адреноблокатори знижують артеріальний тиск та запобігають серцево-судинним ускладненням, включаючи інсульт та серцеву недостатність, щонайменше так само ефективно, як інші антигіпертензивні препарати.

Одним із основних показань для застосування бета-адреноблокаторів є наявність артеріальної гіпертензії, особливо у пацієнтів із супутніми серцево-судинними захворюваннями, такими як стенокардія, перенесений інфаркт міокарда, серцева недостатність із зниженою фракцією викиду або необхідність контролю частоти серцевих скорочень при фібриляції передсердь. Бета-адреноблокатори ефективно зменшують частоту серцевих скорочень, знижують артеріальний тиск і таким чином зменшують ризик серцево-судинних ускладнень, що підтверджено численними клінічними дослідженнями [13].

Європейське товариство кардіологів та Європейське товариство гіпертензії (ESC/ESH) у своїх рекомендаціях 2018 року зазначають, що бета-адреноблокатори можуть використовуватися як засоби першої лінії для лікування гіпертензії у пацієнтів із додатковими показаннями, зокрема при стенокардії, серцевій недостатності або потребі у контролі частоти серцевих скорочень [14]. Вони також можуть використовуватися як альтернатива інгібіторам ангіотензинперетворюючого ферменту (АПФ) або блокаторам рецепторів ангіотензину у молодих жінок із гіпертензією, які планують вагітність, оскільки вони є безпечнішими у період виношування дитини.

Оновлені рекомендації Європейського товариства гіпертензії, опубліковані у 2023 році, підкреслюють, що всі п'ять основних класів антигіпертензивних препаратів, включаючи бета-адреноблокатори, можуть використовуватися як взаємозамінні засоби першої лінії при лікуванні гіпертензії. Зокрема, бета-адреноблокатори рекомендуються при хронічних коронарних синдромах, для контролю частоти серцевих скорочень у пацієнтів з фібриляцією передсердь та для лікування серцевої недостатності зі зниженою фракцією викиду [15].

Бета-адреноблокатори також призначаються для пацієнтів із супутніми структурними захворюваннями серця. Вони можуть поєднуватися з іншими основними класами антигіпертензивних засобів для досягнення оптимального контролю артеріального тиску та зниження ризику ускладнень. Наприклад, їх

доцільно застосовувати разом із блокаторами кальцієвих каналів або тіазидними діуретиками.

1.4. Перспективи клінічного застосування нових селективних бета-адреноблокаторів

Нові селективні бета-адреноблокатори мають значний потенціал для розширення спектру їх клінічного застосування завдяки своїм інноваційним фармакологічним характеристикам. Крім традиційного лікування серцево-судинних захворювань, ці препарати можуть бути корисними для пацієнтів із новими категоріями захворювань, що потребують зниження симпатичної активності або контролю частоти серцевих скорочень.

Небіволол має потенціал для розширення свого використання у пацієнтів із метаболічним синдромом і діабетом другого типу. Завдяки здатності стимулювати синтез оксиду азоту, небіволол покращує функцію ендотелію, що може бути корисним для запобігання розвитку ускладнень у пацієнтів із судинними захворюваннями. Дослідження також показують, що небіволол має нейтральний вплив на метаболізм глюкози та ліпідів [16].

Целіпролол є особливо перспективним для пацієнтів із периферичними судинними захворюваннями, такими як синдром Рейно, де необхідно покращення периферичного кровопостачання. Крім того, завдяки своїй здатності знижувати ризик бронхоспазму, целіпролол може бути безпечним для пацієнтів із супутньою бронхіальною астмою або хронічним обструктивним захворюванням легень (ХОЗЛ). Його використання може бути розширене на пацієнтів із респіраторними патологіями, що потребують контролю артеріального тиску без ризику загострення основного захворювання.

Есмолол залишається незамінним препаратом для контролю частоти серцевих скорочень у гострих клінічних ситуаціях, таких як фібриляція передсердь, надшлуночкова тахікардія, або під час хірургічних втручань.

Проте нові дослідження вказують на потенціал есмололу у контролі стресових реакцій під час операцій, що супроводжуються значним підвищенням симпатичної активності. Його використання дозволяє підтримувати стабільні гемодинамічні показники без довготривалого впливу на пацієнта.

Нові селективні бета-адреноблокатори мають перспективи використання не лише в кардіології, а й в інших галузях медицини. Небіволол, завдяки своїй високій селективності, може застосовуватися для лікування тривожних розладів. Зниження симпатичної активності позитивно впливає на пацієнтів із хронічними тривожними станами, зменшуючи прояви тахікардії та нервозності. Целіпролол може бути корисним для профілактики мігрені завдяки своїм вазодилатуючим властивостям, що допомагає знизити частоту та інтенсивність нападів [17].

Бета-адреноблокатори широко використовуються у клінічній практиці як антигіпертензивні та кардіопротективні засоби, однак їх фармакологічний профіль суттєво відрізняється від інших класів серцево-судинних препаратів, таких як інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту (ІАПФ), блокатори кальцієвих каналів та діуретики. Бета-адреноблокатори знижують частоту серцевих скорочень, скорочувальність міокарда, а також зменшують потребу серця в кисні, що є важливим для лікування пацієнтів з ішемічною хворобою серця. Бета-адреноблокатори також можуть знижувати артеріальний тиск за рахунок зменшення викиду реніну [18].

У порівнянні з ІАПФ, що діють шляхом пригнічення активації ренін-ангіотензин-альдостеронової системи, бета-адреноблокатори менш ефективні у запобіганні ремоделюванню серця у пацієнтів з серцевою недостатністю [19]. ІАПФ, такі як еналаприл, також мають більш виражену протективну дію на нирки, що забезпечує їх перевагу при гіпертензії у пацієнтів з діабетом. ІАПФ знижують артеріальний тиск за рахунок блокування перетворення ангіотензину I в ангіотензин II, що приводить до зменшення вазоконстрикції та зниження секреції альдостерону. Водночас, бета-адреноблокатори мають унікальну здатність стимулювати синтез оксиду азоту, що підвищує їх

вазодилатаційні властивості та забезпечує додатковий кардіопротективний ефект.

Блокатори кальцієвих каналів (БКК), такі як амлодипін, мають суттєву перевагу над бета-адреноблокаторами у пацієнтів з ізольованою систолічною гіпертензією, завдяки своїй здатності розширювати периферичні артерії без значного впливу на частоту серцевих скорочень. Бета-адреноблокатори блокують входження кальцію в клітини гладкої мускулатури судин, що приводить до розслаблення судин та зниження периферичного опору. Водночас бета-адреноблокатори краще підходять для лікування пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю, оскільки вони знижують частоту серцевих скорочень та мають антиаритмічний ефект [20].

Діуретики, такі як гідрохлортіазид, використовуються для зниження артеріального тиску завдяки збільшенню виведення натрію та води з організму, що призводить до зменшення об'єму циркулюючої крові та зниження навантаження на серце. Вони часто застосовуються в комбінації з бета-адреноблокаторами для досягнення більшого гіпотензивного ефекту. Однак бета-адреноблокатори мають додаткові переваги у пацієнтів із супутніми аритміями, оскільки вони пригнічують симпатичну активність [21].

1.5. Характеристика побічних реакцій лікарських засобів

Побічні ефекти β -адреноблокаторів, зокрема небівололу, целіпрололу та есмололу, можуть бути зумовлені структурними особливостями молекул і метаболічними перетвореннями в організмі.

Небіволол: Метаболізується в основному через систему цитохрому P450, зокрема за участю ізоферментів CYP2D6 та CYP3A4. Одним з основних метаболітів є 6'-гідроксинебіволол, який має меншу активність щодо β 1-адренорецепторів, але зберігає антиоксидантні властивості. Це дозволяє знизити ризик виникнення побічних ефектів, таких як вазодилатація та

гіпотензія, оскільки антиоксидантний ефект допомагає зменшити оксидативний стрес [22].

Целіпролол: Основний шлях метаболізму – це гідроксилювання через CYP2D6, з утворенням гідроксильних метаболітів. Ці метаболіти можуть бути менш вибірковими до β 1-адренорецепторів, що збільшує ймовірність виникнення побічних ефектів, таких як бронхоспазм. Взаємодія з іншими препаратами, які інгібують або активують цитохром P450, може значно змінити фармакокінетику целіпрололу, що ще більше підвищує ризик побічних ефектів [23].

Есмолол: Есмолол швидко метаболізується в організмі за допомогою естерази, що забезпечує його короткотривалу дію. Однак метаболізм есмололу може бути зменшений у пацієнтів із порушенням функції печінки або серцево-судинними захворюваннями, що може призвести до накопичення активних метаболітів і, відповідно, до побічних ефектів, таких як гіпотензія і брадикардія. Низька ліпофільність есмололу знижує ризик проникаючого ефекту в центральну нервову систему, але підвищує його швидке виведення з організму, що може обмежити ефективність при тривалому лікуванні [24].

Хімічні фактори ризику

Функціональні групи, що входять до складу молекул небівололу, целіпрололу та есмололу, мають великий вплив на їх фармакологічну активність і токсичність.

Небіволол: Має ароматичні кільця та гідроксильні групи, які сприяють утворенню активних метаболітів, що можуть взаємодіяти з β 1-адренорецепторами. Однак ці функціональні групи також можуть бути причиною підвищеної ліпофільності, що дозволяє молекулі проникати в тканини з високим кровопостачанням, такі як мозок і серце. З одного боку, це підвищує ефективність препарату, з іншого – може спричинити побічні ефекти, зокрема кардіотоксичність і центральні побічні ефекти, як депресія або безсоння [25].

Целіпролол: Наявність аміногрупи в структурі молекули дозволяє препарату проявляти високий рівень селективності до β_1 -адренорецепторів, однак ця група також може бути причиною взаємодій з іншими молекулами, що ускладнює клінічне застосування при одночасному призначенні з іншими ліками. Крім того, ціліпролол має високу гідрофільність, що забезпечує кращу водорозчинність і знижує здатність препарату накопичуватись у ліпідних тканинах, що обмежує його потенційні токсичні ефекти [26].

Есмолол: Завдяки короткотривалій дії есмолол має мінімальну токсичність при одноразових дозах, але його низька ліпофільність може бути проблемою при необхідності тривалого контролю за артеріальним тиском. Оскільки молекула швидко метаболізується і має короткий період напіввиведення, це обмежує її ефективність у деяких клінічних ситуаціях [27].

Взаємодія з іншими речовинами

Взаємодія бета-адреноблокаторів з іншими ліками може значно змінити їх фармакокінетичні властивості і вплинути на безпеку застосування. Наприклад, інгібітори CYP2D6 можуть збільшити концентрацію целіпрололу та небівололу в організмі, що підвищує ризик побічних ефектів, таких як гіпотензія, брадикардія або бронхоспазм. Оскільки есмолол має короткотривалий ефект, його взаємодії з іншими препаратами зазвичай менш виражені, однак при тривалому застосуванні може виникнути необхідність корекції дозування в разі одночасного прийому ліків, що впливають на метаболізм есмололу [28].

Клінічні прояви побічних ефектів

Побічні ефекти β -адреноблокаторів можна розглядати через призму їх хімічної структури та механізмів дії:

- Бронхоспазм: зазвичай зустрічається при застосуванні препаратів з низькою селективністю до β_1 -адренорецепторів, як целіпролол. Оскільки цей препарат може взаємодіяти також з β_2 -адренорецепторами в бронхах, може спостерігатися звуження дихальних шляхів [29].

- Гіпотензія та брадикардія: це типові побічні ефекти для всіх бета-адреноблокаторів, але їх виразність залежить від молекулярної структури препарату. Небіволол та есмолол можуть призвести до вираженого зниження тиску, оскільки вони сильно взаємодіють з β_1 -адренорецепторами, що регулюють серцевий ритм та артеріальний тиск [30].

Оптимізація хімічної структури бета-адреноблокаторів може значно знизити рівень побічних ефектів. Наприклад, покращення селективності до β_1 -адренорецепторів, зменшення ліпофільності та уникнення метаболітів, що мають кардіотоксичні або нейротоксичні ефекти, може зробити ці препарати більш безпечними і ефективними для пацієнтів.

Висновки до розділу 1

Бета-адреноблокатори стали важливими препаратами в кардіології завдяки своїм численним позитивним ефектам на серцево-судинну систему, включаючи зниження артеріального тиску, зменшення частоти серцевих скорочень і сили їх скорочення, а також попередження розвитку серцевої недостатності та аритмій. Однак, їх ефективність значною мірою залежить від їх селективності щодо бета-1 або бета-2 рецепторів. Сучасні бета-адреноблокатори нового покоління, такі як небіволол, есмолол та целіпролол, поєднують високий рівень селективності, вазодилатаційні властивості та низький ризик побічних ефектів, що робить їх особливо корисними для лікування артеріальної гіпертензії та серцевої недостатності. Окрім цього, вони демонструють добру переносимість пацієнтами, зокрема у тих, хто має супутні захворювання дихальної системи, що забезпечує ширшу можливість їх застосування у клінічній практиці. Таким чином, подальше вдосконалення та оптимізація застосування бета-адреноблокаторів дозволяє досягти більш ефективного контролю за серцево-судинними захворюваннями, знижуючи ризики розвитку ускладнень і покращуючи якість життя пацієнтів.

РОЗДІЛ 2

ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1. Об'єкти дослідження

Об'єктом дослідження є селективні β_1 -адреноблокатори нового покоління: небіволол, целіпролол та есмолол. Усі три сполуки вивчалися з точки зору їхньої хімічної структури, фізико-хімічних властивостей, фармакологічної активності та впливу їхніх функціональних груп на біологічну дію.

Небіволол

Хімічна назва: 1-(6-Фторхінолін-2-іл)-2-[2-(6-фторхінолін-2-іл)-2-гідроксіетиламіно]етанол (рис. 2.1).

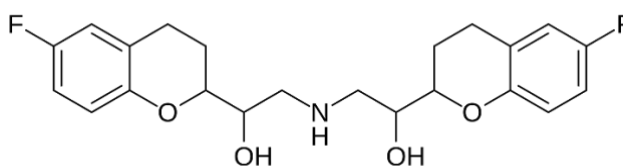


Рис. 2.1. Структурна формула небівололу

Хімічна структура: Містить два хіральні центри в β -гідроксиетаноламінному фрагменті, що забезпечує існування чотирьох стереоізомерів. D-енантіомер є основним β_1 -селективним антагоністом, тоді як L-енантіомер активує NO-залежний шлях вазодилатації. Наявність двох хінолінових фрагментів забезпечує високу стабільність молекули за рахунок делокалізації електронів у системі π -зв'язків. Гідроксиетаноламінна група є ключовою для зв'язування з β_1 -адренорецепторами, що впливає на їхню селективність і здатність блокувати сигнали адреналіну. Функціональні групи небівололу (гідроксильна та аміногрупи) можуть утворювати водневі зв'язки з рецепторами та брати участь у гідрофільно-ліпофільній рівновазі.

Експериментальні дані свідчать про високу активність молекули в умовах рН 7,4, що імітує фізіологічні умови.

Фізичні та хімічні властивості:

Небіволол є білою кристалічною речовиною з розчинністю у воді 3,5 мг/мл при 25°C. Він погано розчиняється в органічних розчинниках, таких як етанол або ацетон. За температури 25°C його точка плавлення становить 130-132°C. Властивості розчинності обмежують його застосування в деяких лікарських формах, однак це також дозволяє йому забезпечити стабільність при пероральному прийомі. Ліпофільність: $\log P = 3,12$, що вказує на помірну здатність до проникнення через мембрани. [31,32].

Небіволол проявляє високу стабільність при нейтральному рН середовищі, що є важливим для його клінічного використання, адже він практично не розкладається в умовах кислотності шлункового соку. За кислотного рН 1,2 молекула втрачає активність на 10% через 6 годин, тоді як при рН 7,4 (фізіологічні умови) його стабільність зберігається до 24 годин.

Целіпролол

Хімічна назва: 3-[3-[(1,1-Диметилетиламіно)-2-гідроксипропіл]-4-оксо-1,3-оксазолідин-5-іл]фенілетанол (рис. 2.2).

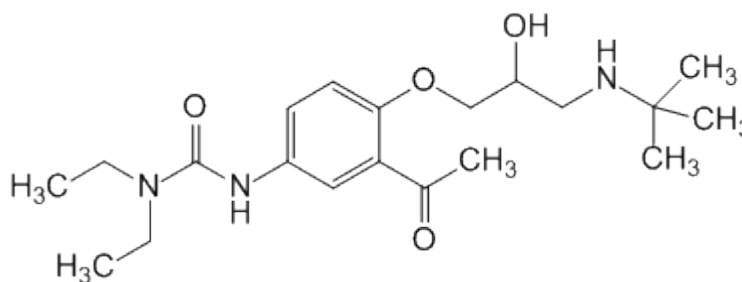


Рис. 2.2. Структурна формула целіпрололу

Хімічна структура: Целіпролол належить до β 1-селективних антагоністів із частковою агоністичною активністю. Структура містить оригінальний оксазолідоновий цикл, який впливає на біодоступність і метаболізм препарату. Молекулярна маса целіпрололу становить 325,4 г/моль.

Фізичні властивості:

Целіпролол є білою кристалічною речовиною з розчинністю в воді близько 1 мг/мл. Препарат має низьку летючість і добре розчиняється в органічних розчинниках. Його точка плавлення коливається від 138 до 142°C. За температури 25°C целіпролол не втрачає своїх властивостей за короткий час, що робить його стабільним для використання в таблетованих формах. Ліпофільність: $\log P = 1,84$, що свідчить про низьку проникність через гематоенцефалічний бар'єр [33, 34].

Целіпролол стабільний при рН 7,4 та проявляє високу стійкість в плазмі крові, завдяки чому його можна використовувати для тривалого лікування гіпертонії та серцевої недостатності. У кислому середовищі він демонструє високий рівень деградації.

Есмолол

Хімічна назва: метил-3-[4-[2-гідрокси-3-(ізопропіл-амінопропокси)феніл]пропаноат (рис. 2.3).

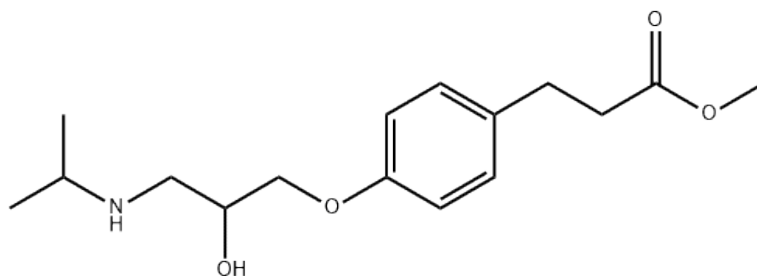


Рис. 2.3. Структурна формула есмололу

Хімічна структура: Есмолол – ефір короткої дії, його гідроліз у плазмі забезпечує швидке виведення. Містить фенільний фрагмент і естерну групу.

Фізичні властивості:

Есмолол є білим кристалічним порошком, який погано розчиняється у воді (0,5 мг/мл) при температурі 25°C. Він стабільний при температурі 0-25°C і не втрачає активності в організмі протягом короткого часу. Точка плавлення становить 98-100°C. Ліпофільність: $\log P = 0,65$, що вказує на низьку проникність через мембрани [35, 36].

Есмолол проявляє хорошу хімічну стабільність при фізіологічному рН (7,4), однак він є нестабільним при кислих значеннях рН. Це є важливим при його застосуванні у вигляді інфузій.

2.1.1. Зв'язок між структурою та активністю небівололу, целіпрололу та есмололу

Для аналізу кореляції між структурою та активністю небівололу, целіпрололу та есмололу важливо виділити функціональні групи, які впливають на їхні фармакологічні властивості, зокрема на селективність до β_1 -адренорецепторів.

Небіволол є бета-адреноблокатором нового покоління з додатковими вазодилатуючими властивостями завдяки своїй здатності вивільняти оксид азоту (NO). Основні функціональні групи в його структурі [37]:

- Аміногрупа ($-\text{NH}_2$): на аміногрупі в азотному кільці знаходиться місце для взаємодії з β_1 -адренорецепторами, що забезпечує селективність і ефективність препарату.
- Арилметильна група ($\text{C}_6\text{H}_4\text{-CH}_2$): участь цього фрагмента молекули в контакті з рецептором дозволяє підвищити ліпофільність і ефективність зв'язування з β_1 -рецепторами [38].
- Алкільні групи ($-\text{CH}_3$, $-\text{CH}_2$): різні алкільні групи на бічних ланцюгах молекули можуть модифікувати розчинність небівололу і його фармакокінетичні властивості.
- Естери NO-групи ($-\text{NO}$): наявність цієї групи дає додаткову здатність препарату сприяти вивільненню оксиду азоту, що впливає на розширення судин і зменшення артеріального тиску [39].

Целіпролол, як і небіволол, є селективним β_1 -блокатором, але з додатковими властивостями внутрішньої симпатоміметичної активності, що робить його корисним у пацієнтів з низьким серцевим ритмом. Основні функціональні групи:

- Бензенове кільце (C_6H_5-): основна структурна одиниця, яка дозволяє препарату бути ліпофільним, забезпечуючи проникність через мембрани клітин [40].
- Гідроксильна група ($-OH$): наявність гідроксильної групи на фенільному кільці збільшує водорозчинність препарату та сприяє його стійкості до метаболізму в організмі.
- Ізоціанатна група ($-N=C=O$): Ізоціанат у молекулі целіпрололу грає важливу роль у внутрішній симпатоміметичній активності, забезпечуючи ефект, подібний до стимулювання β_1 -рецепторів, але з меншим ризиком побічних ефектів [41].

Есмолол є дуже короткочасним β_1 -адреноблокатором, який переважно використовується в екстрених ситуаціях завдяки своєму швидкому метаболізму. Основні функціональні групи:

- Естерова група ($-COO-$): наявність естерової групи дозволяє естерам, таким як есмолол, швидко метаболізуватися естеразами в плазмі крові, що пояснює короткий період напіввиведення [42].
- Ароматичне кільце (C_6H_5-): як і в інших бета-блокаторах, ароматичне кільце дозволяє препарату взаємодіяти з рецепторами, а також забезпечує ліпофільність молекули, що важливо для її ефективності.
- Аміногрупа ($-NH_2$): взаємодія аміногрупи з рецепторами дозволяє есмололу специфічно блокувати β_1 -рецептори [43].

Порівняння функціональних груп:

Селективність до β_1 -рецепторів: у небівололу селективність до β_1 -рецепторів забезпечується завдяки складним стереохімічним взаємодіям між аміногрупою та іншими функціональними групами. У целіпрололу і есмололу значну роль відіграють ароматичні кільця, а також гідроксильні та аміногрупи [37-39].

Ліпофільність і водорозчинність: Небіволол має більш високу ліпофільність, що підвищує його біодоступність. Целіпролол менш

ліпофільний, що забезпечує його швидше виведення з організму. Есмолол, з естеровою групою, є найбільш водорозчинним, що дозволяє йому швидко потрапляти в кров і діяти короткочасно [32, 37].

Механізм дії та фармакокінетика: Функціональні групи надають препаратам різні профілі, зокрема, здатність до швидкого метаболізму (есмолол), до вазодилатації через вивільнення оксиду азоту (небіволол), або до внутрішньої симпатоміметичної активності (целіпролол) [29].

Таке детальне розглядання функціональних груп молекул дозволяє краще зрозуміти їхні властивості та ефективність у лікуванні серцево-судинних захворювань, зокрема артеріальної гіпертензії та порушень серцевого ритму.

2.2. Методи дослідження

Аналіз фізико-хімічних властивостей

Оцінка фізико-хімічних характеристик препаратів, таких як температура плавлення, гігроскопічність, а також розчинність у воді та органічних розчинниках, здійснюється для виявлення стабільності сполук у різних умовах. Цей аналіз дає змогу оцінити можливість застосування препаратів у різних лікарських формах [44].

Хроматографія

Для кількісного аналізу чистоти сполук та визначення можливих домішок застосовувався метод вискоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Цей метод дозволяє отримати точну інформацію про наявність і кількість домішок в препаратах, що є критично важливим для оцінки їх фармацевтичної якості. Умови хроматографічного розділення були оптимізовані для кожного з досліджуваних препаратів, що забезпечило точність та чутливість аналізу [45].

Спектроскопічні методи

УФ-спектроскопія

Використовувалась для оцінки електронної структури ароматичних фрагментів молекул небівололу, целіпрололу та есмололу. Метод дозволяє виявляти піки поглинання на основі переходів електронів в молекулі, що дозволяє визначити структуру ароматичних частин молекули та взаємодії між ними. Це дає змогу здійснити аналіз молекулярних характеристик та уточнити механізми їх дії на рецептори [46].

ІЧ-спектроскопія

ІЧ-спектроскопія використовувалась для дослідження функціональних груп у молекулах досліджуваних препаратів. За допомогою цієї методики були виявлені характерні поглинання для різних функціональних груп, таких як аміни, гідроксильні групи та естери. Це допомогло уточнити структурні особливості молекул і визначити їх стабільність під час зберігання та у фізіологічних умовах [47].

ЯМР-спектроскопія

Ядерно-магнітно-резонансна спектроскопія (ЯМР) була використана для структурного аналізу молекул небівололу, целіпрололу та есмололу. Завдяки ЯМР-спектроскопії були визначені хімічні зрушення, які відображають специфічні взаємодії в молекулі, зокрема в ароматичних системах і лінійних фрагментах. Це дозволило дослідити ступінь їх селективності до β_1 -адренорецепторів [48].

Фізичні параметри

Температура плавлення

Температура плавлення кожного препарату була визначена за допомогою диференціального скануючого калориметра, що дозволяє оцінити термічну стабільність молекул і їх взаємодії на молекулярному рівні. Зміни температури плавлення можуть вказувати на наявність домішок або змін у структурі молекули, що можуть впливати на фармакокінетику та біодоступність препаратів [49].

Гігроскопічність

Гігроскопічність досліджуваних препаратів була оцінена шляхом вимірювання їх здатності до поглинання вологи з атмосфери. Цей параметр важливий для оцінки стабільності препаратів у вигляді таблеток або порошків, оскільки вологість може негативно впливати на ефективність та зберігання активних компонентів [50].

Log P (коефіцієнт розподілу)

Для оцінки розподілу препарату між ліпідною та водною фазами використовувалась методика визначення логарифму коефіцієнта розподілу, що дає змогу оцінити ліпофільність молекули. Це є важливим параметром для прогнозування проникнення препарату через біологічні мембрани і його біодоступність. Визначення LogP проводилось за допомогою стандартних розчинників (1-octanol/водний розчин), що дозволяє забезпечити точність вимірювань [51].

Фармакологічний аналіз

Для оцінки фармакологічної активності досліджених препаратів проводився аналіз даних літератури про ефективність небівололу, целіпрололу та есмололу в лікуванні гіпертонії та серцевих аритмій. Спеціальні дослідження були спрямовані на порівняння їх ефективності у клінічних умовах, а також на оцінку можливих побічних ефектів та взаємодії з іншими лікарськими засобами [52,53].

Висновки до розділу 2

Ці методи дозволяють провести детальний і комплексний аналіз хімічних, фізичних та фармакологічних властивостей β 1-селективних бета-адреноблокаторів нового покоління, що дає можливість оцінити їх клінічний потенціал та вплив на здоров'я пацієнтів

РОЗДІЛ 3

СУЧАСНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ СЕЛЕКТИВНИХ БЕТА-АДРЕНОБЛОКАТОРІВ

Методи контролю якості небівололу, целіпрололу та есмололу, як представників бета-адrenoблокаторів, включають в себе проведення органолептичного контролю, ідентифікації, кількісного визначення, визначення специфічних домішок, проведення тестів «Мікробіологічна чистота», «Втрата у масі при висушуванні», «Сульфатна зола», «Важкі метали», «Залишкові органічні розчинники», «Специфічні домішки», «Енантіомерна чистота» [21, 22]. Розглянемо детальніше кожний метод.

3.1 Методи контролю якості небівололу

Субстанція небівололу гідрохлориду повинна містити від 98,0% до 102,0% активної речовини у перерахунку на суху масу. Контроль якості проводять згідно з вимогами Державної Фармакопеї України (ДФУ) та Європейської Фармакопеї, використовуючи наступні методи [21-23]:

1. Втрата у масі при висушуванні

Визначають втрату у масі, яка не повинна перевищувати 1,0%. Для аналізу використовують наважку субстанції (приблизно 1,0 г) згідно з тестом «Втрата в масі при висушуванні» за ДФУ.

2. Сульфатна зола

Зміст сульфатної золи не повинен перевищувати 0,1%. Метод передбачає спалювання 1,0 г субстанції відповідно до вимог тесту «Сульфатна зола».

3. Важкі метали

Вміст важких металів у зольному залишку визначають методом Б за ДФУ, з використанням еталонного розчину 2. Допустимий вміст не перевищує 0,002%.

4. Залишкові органічні розчинники

Проводять аналіз відповідно до методики тесту «Залишкові органічні розчинники» за ДФУ.

5. Мікробіологічна чистота

Аналіз здійснюють згідно з тестом «Мікробіологічна чистота» за ДФУ.

6. Специфічні домішки

Домішки визначають методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Усі розчини готують безпосередньо перед аналізом, відповідно до протоколів ДФУ.

Параметри хроматографічного аналізу (табл. 3.1):

- **Колонка:** 250 × 4,6 мм, силікагель фенілсилільний, ендкепований, розмір часток 5 мкм;
- **Температура:** 25 °С;
- **Швидкість потоку:** 1,0 мл/хв;
- **Детектор:** спектрофотометричний, 280 нм;
- **Об'єм проби:** 25 мкл.

Характеристика домішок:

- **Домішка 1:** (S)-1-[(R)-6-фторхроман-2-іл]-2-[(R)-2-[(S)-6-фторхроман-2-іл]-2-гідроксіетил]аміноетанол.
- **Домішка 2:** 2-{Бензил-[2-(6-фтор-3,4-дигідро-2Н-хроман-2-іл)-2-гідроксіетил]аміно}-1-(6-фтор-3,4-дигідро-2Н-хроман-2-іл)етанол.
- **Домішка 3:** 2-{[2-(3,4-дигідро-2Н-хроман-2-іл)-2-гідроксіетил]аміно}-1-(6-фтор-3,4-дигідро-2Н-хроман-2-іл)етанол.

Таблиця 3.1

Режим хроматографування

Час, хв	РФА, %	РФБ, %
0-18	76	24
18-30	76→65	24→35
30-45	65	35
45-46	65→76	35→24
46-55	76	24

Відносний час утримування сполук. Небіволол – 1 (приблизно 18 хв); домішка 3 – приблизно 0,8; домішка 1 – приблизно 1,1; домішка 2 – приблизно 2,0.

Придатність хроматографічної системи. На хроматограмі розчину для перевірки придатності хроматографічної системи:

- роздільна здатність (RS) між піками небіволулу і домішки 1 повинна бути не менше 1,5;
- фактор асиметрії піку (AS) небіволулу має бути не більше 2,0;
- ефективність хроматографічної колонки (N), розрахована по піку небіволулу, повинна становити не менше 3000 теоретичних тарілок.

На хроматограмі розчину для перевірки чутливості хроматографічної системи:

- відношення сигнал/шум (S/N) для піку небіволулу повинно бути не менше 8;
- Відносне стандартне відхилення площі піку небіволулу повинно бути не більше 5,0% (6 визначень).

Допустимий вміст домішок:

- Кожна з домішок (1,2,3) – не більше 0,15 %;
- будь-яка інша домішка – не більше 0,10 %;
- сума домішок – не більше 0,5 %.

Вміст кожної домішки у субстанції у відсотках (X) розраховують за формулою [22]:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 25 \cdot 0,1 \cdot P}{S_0 \cdot a_1 \cdot 25 \cdot 100} = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot P}{S_0 \cdot a_1 \cdot 1000}, \quad (3.1)$$

- де S_1 – площа піка домішки на хроматограмі досліджуваного розчину;
- S_0 – площа піка небівололу на хроматограмі стандартного розчину;
- a_0 – наважка стандартного зразка небівололу гідрохлориду;
- a_1 – наважка субстанції, мг;
- P – вміст небівололу гідрохлориду у стандартному зразку небівололу гідрохлориду, %;

Не враховують піки, площа яких менша за площу основного піка на хроматограмі розчину для перевірки чутливості хроматографічної системи (менше 0,05 %).

7. Енантіомерна чистота. Визначення проводять методом ВЕРХ (Визначення проводять згідно з ДФУ «Високоефективна рідинна хроматографія»).

Усі розчини використовують свіжоприготовленими.

Рухома фаза (ПФ). Діетиламін:етанол:2-пропанол:гексан / 90:5:5:0,1.

Досліджуваний розчин. У мірну колбу місткістю 10 мл поміщають близько 20 мг (точна навішування) субстанції, розчиняють у 2,5 мл метанолу, обробляють ультразвуком до розчинення, охолоджують до кімнатної температури і доводять об'єм розчину ПФ до мітки.

Розчин стандартного зразка небівололу гідрохлориду. У мірну колбу місткістю 10 мл поміщають близько 20 мг (точна навішування) стандартного зразка небівололу гідрохлориду, розчиняють у 2,5 мл метанолу, обробляють ультразвуком до розчинення, охолоджують до кімнатної температури і доводять об'єм.

Примітка.

L-Небіволол: (1R)-1-[(2R)-(6-фтор-3,4-дигідро-2H-хроман-2-іл)]-2-
 {[(2R)-2[(2S)-6- фтор- 3,4- дигідро-2H-1-хроман-2-іл)]-2-гідроксіетил]аміно}
 етанол, CAS 118457-16-2.

D-Небіволол: (1S)-1-[(2S)-(6-фтор-3,4-дигідро-2H-хроман-2-іл)]-2-
 {[(2S)-2[(2R)-6- фтор-3,4- дигідро- 2H-1-хроман-2-іл)]-2-гідроксіетил]аміно}
 етанол, CAS 118457-15-1.

Хроматографічні умови:

Колонка: 250 × 4,6 мм, силікагель модифікований трис(3,5-
 дихлорфенілкарбамоїл)целюлозою для хіральної хроматографії, 5 мкм;

Температура колонки: 25 °C;

Швидкість потоку: 1,0 мл/хв;

Детектор: спектрофотометричний, 280 нм;

Об'єм проби: 25 мкл.

Хроматографують розчин стандартного зразка небіволулу гідрохлориду та випробуваний розчин.

Час утримання з'єднань. L-небіволол – близько 10,5 хв; D-небіволол – близько 15,5 хв.

Придатність хроматографічної системи. На хроматограмі розчину стандартного зразка небіволулу гідрохлориду:

- роздільна здатність (RS) між піками L-небівололу та D-небівололу має бути не менше 2,0;
- фактор асиметрії піку (AS) L-небівололу повинен бути не більше 2,0;
- фактор асиметрії піку (AS) D-небівололу повинен бути не більше 2,0;
- відносне стандартне відхилення площі піку L-небівололу має бути не більше 2,0% (6 визначень);
- відносне стандартне відхилення площі піку D-небівололу повинно бути не більше 2,0% (6 визначень).

Вміст L-небівололу та D-небівололу у препараті у відсотках обчислюють згідно з методом нормування (Визначення проводять згідно з ДФУ «Хроматографія»).

L-небіволола має бути від 48,5% до 51,5%, D-небівололу має бути від 48,5% до 51,5%.

Методи ідентифікації небіволулу

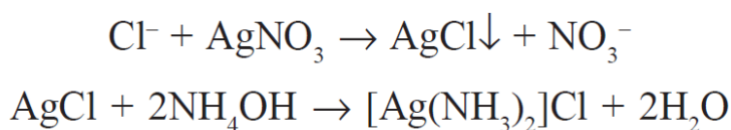
Ідентифікацію небіволулу проводять наступними методами [21, 22]:

1. ВЕРХ. Час утримування основного піку на хроматограмі досліджуваного розчину має відповідати часу утримування піку небіволулу на хроматограмі розчину стандартного зразка небіволулу гідрохлориду [27].

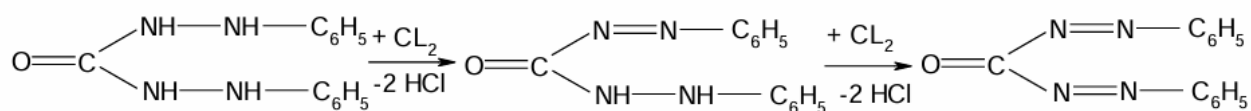
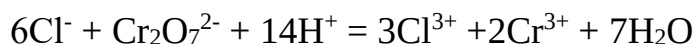
2. Спектрофотометрія. Спектри поглинання досліджуваного розчину та розчину стандартного зразка небіволулу гідрохлориду в області від 250 до 310 нм мають мати максимуми і мінімуми при одних і тих же довжинах хвиль [28].

3. Якісні реакції на хлорид-іони:

а) ДФУ: реакція з розчином аргентум нітрату AgNO_3 у присутності кислоти нітратної HNO_3 ; утворюється білий сирнистий осад AgCl , що нерозчинний в нітратній кислоті, але легко розчинний у розведеному розчині амоніаку [21]:



б) Дія окисників (калію дихромату $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (ДФУ), манган діоксиду MnO_2 і ін.) у присутності кислоти сульфатної; виділяється газ хлор Cl_2 . Біля отвору пробірки поміщають фільтрувальний папір, змочений дифенілкарбазидом – папір забарвлюється у фіолетовий колір [21]:

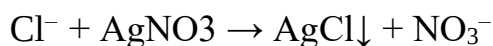


Методи кількісного визначення небівололу

Кількісне визначення проводять наступними методами [21, 22]:

1. Титриметричне визначення хлоридів (ДФУ) [21].

Аргентометрія, пряме титрування, з потенціометричним визначенням точки еквівалентності ($s=1$) [28].



Вміст небівололу $\text{C}_{22}\text{H}_{25}\text{F}_2\text{NO}_4 \cdot \text{HCl}$ у субстанції у відсотках (X) в перерахунку на суху речовину розраховують за формулами:

$$T = \frac{s \cdot C_M \cdot M_M}{1000} \text{ г / мл} \quad (3.4)$$

$$X\% = \frac{(V - V_k) \cdot K \cdot T \cdot 100 \cdot 100}{m \cdot (100 - \%_{\text{волог}})} \quad (3.5)$$

Методика: Близько 0,2 г (точна нававажка) субстанції розчиняють у 50 мл метанолу та титрують 0,1 М розчином срібла нітрату. Кінцеву точку титрування визначають потенціометрично [28].

Паралельно проводять контрольний досвід.

1,0 мл 0,1 М розчину нітрату срібла відповідає 44,1899 мг небівололу гідрохлориду.

Науковці запропонували новий підхід до аналізу небівололу у лікарських засобах, що дозволяє ефективно оцінювати його розчинення за різних умов. У роботі розроблено швидкий і простий метод високоефективної рідинної хроматографії для кількісного аналізу небівололу у таблетованій формі. Дослідження виконано у відповідності до міжнародних рекомендацій ІСН (2005), що забезпечує відповідність сучасним вимогам контролю якості. [54].

Методологія дослідження включала використання ВЕРХ із детекцією при 281 нм, колонки BDS Hypersil C18, а також мобільної фази, що складається з 0,1% трифтороацетатної кислоти у воді та ацетонітрилу (60:40) [54]. Вивчення профілю розчинення проводили в трьох середовищах (0,1 М НСІ, буферний розчин рН=4,5 та фосфатний буфер рН=6,8) за різних умов: об'єми середовищ (500 мл і 900 мл) та швидкість обертання (50 і 75 об./хв.). Розроблений метод дозволив виконати точний аналіз за короткий час (менше 4 хвилин) [54].

Валідація методу підтвердила його відповідність вимогам міжнародних рекомендацій ІСН: лінійність ($r^2 = 0,997$), точність (відновлення 99,57%), специфічність та прецизійність (відхилення менше 1%) [54]. Результати показали, що швидкість розчинення небівололу залежить від рН та експериментальних умов. Найвищий рівень розчинення (до 91,6% за 10 хвилин) було досягнуто в 0,1 М НСІ, тоді як у нейтральних середовищах розчинення суттєво уповільнювалося [54].

Запропонований метод є ефективним інструментом для рутинного контролю якості фармацевтичних препаратів та досліджень профілю розчинення лікарських засобів [54].

Представлено два підходи до розробки методів високоефективної рідинної хроматографії для одночасного кількісного аналізу небівололу та амлодипіну у комбінованих лікарських формах.

Перший метод [55] використовує колонку C18 (150 мм × 4,6 мм, 2,6 мкм) та градієнтну мобільну фазу на основі ацетатного буфера (рН=4,5) і ацетонітрилу. Аналіз виконували за постійної швидкості потоку 1,3 мл/хв, а детекція здійснювалася за допомогою фотодіодного детектора при довжині хвилі 265 нм. Метод забезпечує лінійність у діапазоні концентрацій 0,2-10,0 мкг/мл для небівололу та 0,25-10,0 мкг/мл для амлодипіну. Прецизійність підтверджено показником $RSD < 2\%$. Крім того, дослідження стабільності лікарських засобів виконували відповідно до рекомендацій ІСН, піддаючи їх

фотолізу, окисленню, термічному розкладу та гідролізу в кислотних, лужних і нейтральних середовищах.

Другий метод [56] реалізовано на колонці Hypersil BDS Cyano (250 мм × 4,6 мм, 5 мкм) із використанням ізократичної мобільної фази. Швидкість потоку становила 1,0 мл/хв, а довжина хвилі детекції – 280 нм. Середній відсоток відновлення був у межах 98–102%, що підтверджує високу точність методу. Метод демонстрував хорошу селективність, забезпечуючи чітке розділення небівололу, амлодипіну та можливих домішок.

Практичне застосування:

Перший метод краще підходить для визначення стабільності лікарських засобів за різних стресових умов [55].

Другий метод [56] оптимізовано для аналізу двошарових таблеток та забезпечує надійну кількісну оцінку небівололу та амлодипіну.

Обидва методи є швидкими, точними та ефективними для контролю якості комбінованих лікарських форм. Їх вибір залежить від специфічних цілей дослідження та типу аналізованої лікарської форми.

Відповідно до таблиці «Порівняння методів аналізу небівололу в комбінованих лікарських засобах» (табл. 3.2), представлені основні методи, що використовуються для визначення концентрації небівололу в різних фармацевтичних формах.

Таблиця 3.2

Порівняння методів аналізу небівололу в комбінованих лікарських засобах

Метод	Колонка/ Фаза	Мобільна фаза	Детекція	Діапазон лінійнос ті	Переваги методу	
ВЕРХ	Силікагель 60 F254	Елюент: метанол: ацетонітрил: буфер (рН 3,5)	УФ при 282 нм	20-100 нг/спот	Простота, швидкість аналізу; чітке розділення компонентів	[57]
ВЕРХ (RP- HPLC)	C18 (250 мм × 4,6 мм, 5 мкм)	Ацетонітрил: фосфатний буфер (рН 3,0) (70:30)	УФ при 230 нм	1-20 мкг/мл	Висока чутливість, підходить для	[58]

					рутинного аналізу таблеток	
ВЕРХ (RP-HPLC)	C18 (250 мм × 4,6 мм, 5 мкм)	Метанол: ацетонітрил: буфер (pH 4,0) (50:30:20)	УФ при 235 нм	0,5-20 мкг/мл	Підходить для аналізу у комбінованих лікарських формах	[59]
ВЕРХ	C18 (250 мм × 4,6 мм, 5 мкм)	Буфер (pH 4,0) – ацетонітрил	УФ при 230 нм	0,2-10,0 мкг/мл	Метод для стабільнісного аналізу; деградаційні продукти не заважають аналізу	[60]
ВЕРХ	Силікагель 60 F254	Метанол–буферний розчин (pH 3,5)	УФ при 254 нм	5-50 нг/спот	Простота виконання, висока селективність для таблетованих форм	[61]
ВЕРХ	Силікагель 60 F254	Ацетонітрил–буферний розчин (pH 4,5) (80:20)	УФ при 270 нм	10-100 нг/спот	Економічність, висока точність, придатність для комбінованих форм	[62]
ВЕРХ	Силікагель 60 F254	Метанол:ацетонітрил: фосфатний буфер (pH 4,5)	УФ при 285 нм	50-500 нг/спот	Швидкість і простота методу; економічність	[63]
ВЕРХ	C18 (250 мм × 4,6 мм, 5 мкм)	Метанол:фосфатний буфер (pH 3,5) (60:40)	УФ при 254 нм	0,2-10 мкг/мл	Надійність для комбінованих форм; розширений стабільнісний аналіз	[64]

У проведеному аналізі спектрофотометричних методик (табл. 3.3) для визначення небівололу гідрохлориду було встановлено, що найчастіше об'єктами досліджень є субстанція та лікарські засоби, а комбіновані препарати досліджуються дещо рідше.

Для визначення небівололу гідрохлориду найчастіше використовуються метанол та ацетонітрил як розчинники. У кольорових реакціях застосовуються

специфічні реагенти, зокрема 1,2-нафтохінон-4-сульфонат або інші реагенти для редокс-реакцій.

Довжина хвилі визначення небівололу у безколових реакціях зазвичай становить 281-285 нм, тоді як для кольорових комплексів використовується довжина хвилі в межах 425-520 нм, що відповідає помаранчевому або фіолетовому відтінкам.

Методики з використанням похідних спектрів другого та третього порядку дозволяють підвищити селективність аналізу, а екстрактивні та колориметричні методи є особливо ефективними для аналізу як у таблетках, так і в біологічних середовищах.

Загалом УФ-спектрофотометричні методи є простими, швидкими та економічно вигідними альтернативами до ВЕРХ для кількісного аналізу небівололу гідрохлориду в однокомпонентних та комбінованих лікарських формах.

Таблиця 3.3

Порівняльний аналіз спектрофотометричних методик

Об'єкти аналізу	Реактиви/умови	Довжина хвилі (λ , нм)	Додаткові параметри	
Таблетки	Не зазначено	273 нм	Метод УФ-спектрофотометрії; одночасне визначення небівололу та амлодипіну	[65]
Субстанція, лікарський засіб	Відновник: метанол	281 нм	Валідований метод УФ; придатний для рутинного аналізу.	[66]
Субстанція, лікарський засіб	Розчинник: метанол	282 нм	Спрощений метод УФ для контролю якості	[67]
Лікарський засіб, біологічні рідини	Реагент: хлороформ, кислота (екстрактивний метод)	283 нм	Екстрактивна методика; аналіз у біологічних зразках	[68]
Таблетки	1,2-нафтохінон-4-сульфонат	425 нм	Утворюється помаранчево-червоний комплекс. Колориметричний метод із хромогенним реагентом	[69]
Таблетки	Не зазначено	285 нм	Спектрофотометричний метод для небівололу та амлодипіну в таблетках	[70]

Субстанція, лікарський засіб	Розчинник: метанол	281 нм	Використано похідні спектри (2-й та 3-й порядок)	[71]
Лікарський засіб, біологічні рідини	Екстрагенти: хлороформ, кислота	283 нм	Аналіз небіволулу в таблетках та біологічних середовищах	[72]
Комбіновані лікарські засоби	Розчинник: ацетонітрил, буферний розчин	270-285 нм	Одночасне визначення небіволулу та амлодипіну; НРТLC-методика	[73]
Комбіновані лікарські засоби	Розчинники: вода, метанол	278 нм	Альтернативний метод до НРЛС; швидкість і економічність	[74]
Субстанція, лікарський засіб	Реакція окиснення (редокс-метод)	520 нм	Фіолетовий відтінок. Використано окислювальні реакції для кількісного аналізу	[75]
Субстанція, лікарський засіб	Колориметричний реагент, розчинники	520 нм	Фіолетовий комплекс Колориметричний метод для оцінки небіволулу в таблетках	[76]

3.2 Методи контролю якості целіпрололу

Целіпролол. Містить целіпрололу гідрохлорид у кількості не менше 98,0 % і не більше 102,0 % в переразунку на суху речовину.

Відповідно до ДФУ та Європейської Фармакопеї проводять наступні тести [21-23]:

1. *Втрата у масі при висушуванні.* Не більше 1,0% Визначення проводять згідно з ДФУ (Тест «Втрата в масі при висушуванні»). Для визначення використовують близько 1 г (точна наважка) субстанції.

2. *Сульфатна зола.* Не більше 0,1% (ОФС «Сульфатна зола»). Для визначення використовують близько 1 г (точна наважка) субстанції.

3. *Важкі метали.* Не більше 0,002%. Визначення проводять згідно з ДФУ «Важкі метали», метод Б, в зольному залишку, отриманому після спалювання 1,0 г субстанції, з використанням еталонного розчину 2.

4. *Залишкові органічні розчинники.* Визначення проводять згідно з ДФУ «Залишкові органічні розчинники».

5. *Мікробіологічна чистота.* Визначення проводять згідно з ДФУ (Тест «Мікробіологічна чистота»).

6. *Специфічні домішки.* Визначення проводять методом ВЕРХ. Визначення проводять згідно з ДФУ (Тест «Високоефективна рідинна хроматографія»). Усі розчини використовують свіжоприготовленими.

Методи ідентифікації целіпрололу

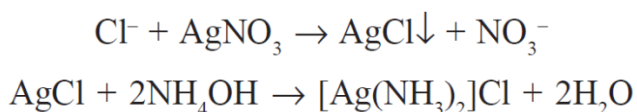
Ідентифікацію целіпрололу проводять наступними методами [21, 22].

1. Визначення методом ВЕРХ. Час утримання основного піка на хроматограмі досліджуваного розчину повинен відповідати часу утримання піка целіпролола на хроматограмі розчину стандартного зразка целіпролола гідрохлориду згідно з ДФУ («Кількісне визначення»).

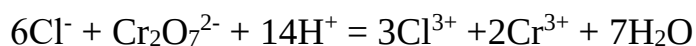
2. Спектрофотометрія. Спектри поглинання досліджуваного розчину та розчину стандартного зразка целіпролола гідрохлориду в області від 220 до 300 нм повинні мати максимуми та мінімуми при одних і тих самих довжинах хвиль.

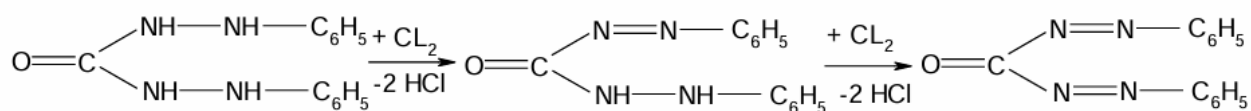
3. Реакції на хлорид-іони [27]:

а) ДФУ. реакція з розчином аргентум нітрату AgNO_3 у присутності кислоти нітратної HNO_3 ; утворюється білий сирнистий осад AgCl , що нерозчинний в нітратній кислоті, але легко розчинний у розведеному розчині амоніаку:



б) ДФУ. Дія окисників (калію дихромату (калію дихромату $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ (ДФУ), манган діоксиду MnO_2 і ін.) у присутності кислоти сульфатної; виділяється газ хлор Cl_2 . Біля отвору пробірки поміщають фільтрувальний папір, змочений дифенілкарбазидом – папір забарвлюється у фіолетовий колір.





Методи кількісного визначення целіпрололу

У ході аналізу методів визначення целіпрололу гідрохлориду було встановлено, що для дослідження використовуються різні аналітичні підходи залежно від об'єктів аналізу.

Методи аналізу:

Найбільш поширеними методами є ВЕРХ та Рідинна хроматографія – мас-спектрометрія для визначення целіпрололу гідрохлориду у біологічних рідинах, а для субстанції та лікарських засобів застосовуються спектрофотометричні методи. Для розділення енантіомерів целіпрололу активно використовуються хіральний ВЕРХ та капілярний електрофорез.

Умови аналізу:

Визначення целіпрололу гідрохлориду проводиться у присутності фосфатних буферів з рН у діапазоні 2,5-4,5 та органічних розчинників, таких як метанол і ацетонітрил. Для хірального розділення застосовують сульфатовані β-циклодекстрини або полісахаридні хіральні фази.

Довжина хвилі:

Довжина хвилі для УФ-детекції в методах ВЕРХ та спектрофотометрії коливається в межах 225-300 нм залежно від розчинника та умов аналізу. Для флуоресцентних методів довжина хвилі детекції становить близько 300 нм.

Об'єкти аналізу:

Субстанція: для дослідження субстанції застосовуються спектрофотометричні методи, хіральний ВЕРХ та капілярний електрофорез.

Таблетки: у комбінованих лікарських засобах целіпрололу гідрохлориду визначають за допомогою ВЕРХ та спектрофотометрії.

Біологічні рідини: для аналізу у плазмі та сечі найбільш ефективними є методи ВЕРХ та Рідинна хроматографія – мас-спектрометрія, що забезпечують високу чутливість і точність.

Особливості методів:

Хіральні методи є критичними для розділення енантіомерів целіпрололу, що важливо для фармакокінетичних і фармакодинамічних досліджень. У той же час рідинна хроматографія – мас-спектрометрія демонструє найвищу чутливість для аналізу низьких концентрацій целіпрололу гідрохлориду у біологічних рідинах, що дозволяє використовувати метод для клінічних і мікродозувальних досліджень.

Таким чином, вибір аналітичного методу залежить від об'єкта дослідження, необхідної чутливості та специфічності аналізу, а також цілей, що стоять перед дослідженням (табл. 3.4.)

Таблиця 3.4

Порівняльний аналіз кількісного визначення целіпрололу

Метод	Умови аналізу	Довжина хвилі (λ , нм)	Об'єкти аналізу	Додаткові параметри	
Рідинна хроматографія – мас-спектрометрія	Гradientне елюювання, органічні розчинники, pH = 4,0	Не зазначено	Субстанція	Ідентифікація продуктів деградації целіпрололу	[77]
ВЕРХ (флуоресцентний детектор)	Буферний розчин (фосфатний, pH = 3,5), метанол, потік 1 мл/хв	300 нм	Біологічні рідини (плазма)	Чутливий метод для клінічних застосувань; лінійність у діапазоні 10–500 нг/мл	[78]
Капілярна електрохроматографія	Сульфатовані β -циклодекстрини як хіральний реагент, pH = 2,5	Не зазначено	Субстанція	Оптимізація розділення енантіомерів; застосування у фармацевтичному аналізі	[79]

ВЕРХ	Органічні розчинники (ацетонітрил), фосфатний буфер (рН = 4,0)	Не зазначено	Біологічні рідини (плазма, сеча)	Огляд методів визначення β-блокаторів, включаючи целіпрололу	[80]
ВЕРХ	Буферний розчин (фосфатний, рН = 3,5), метанол	230–240 нм	Біологічні рідини (плазма, сеча)	Одночасне визначення кількох β-блокаторів у біологічних середовищах	[81]
Рідинна хроматографія – мас-спектрометрія	Гradientний режим, ацетонітрил–вода (рН = 3,0)	Не зазначено	Біологічні рідини (плазма)	Висока чутливість (пг/мл); підходить для мікродозувальних досліджень	[82]
Надкритична флюїдна хроматографія	CO ₂ як рухома фаза, модифікатор – метанол, рН не зазначено	Не зазначено	Субстанція, лікарські засоби	Екологічний метод; підвищена швидкість аналізу	[83]
Gradientний ВЕРХ	Фосфатний буфер (рН = 3,5), ацетонітрил	220-230 нм	Біологічні рідини	Визначення 13 β-блокаторів, включаючи целіпрололу, одночасно	[84]
Радіоаналіз	Радіоізотопи целіпрололу, рН не зазначено	Не застосовується	Біологічні об'єкти	Радіоізотопний метод для дослідження β1-рецепторів у міокарді	[85]
ВЕРХ	Буфер (фосфатний, рН = 3,0), метанол, потік 1 мл/хв	240 нм	Біологічні рідини (плазма)	Одночасний аналіз антигіпертензивних препаратів	[86]
Спектрофотометрія	Розчинники: вода, метанол	230-280 нм	Субстанція, таблетки	Похідні спектри (0-й, 1-й, 2-й, 3-й порядок) для підвищення селективності.	[87]
ВЕРХ	Буферний розчин (рН = 3,5), ацетонітрил	270 нм	Таблетки, біологічні рідини	Висока чутливість для комбінованих препаратів	[88]

Хіральний ВЕРХ	Імобілізована полісахаридна фаза, флуоресцентний детектор	300 нм	Біологічні рідини, лікарські засоби	Розділення енантіомерів з високою точністю	[89]
Флуорометрія	Флуоресцентний реагент, органічні розчинники	Не зазначено	Біологічні рідини, лікарські засоби	Висока чутливість; застосування у фармакокінетиці	[90]

3.3 Методи контролю якості есмололу

Есмолол. Містить не менше 98,0 % і не більше 102,0 % есмолол гідрохлориду у перерахунку на безводну речовину, вільну від залишкових органічних розчинників.

Відповідно до ДФУ та Європейської Фармакопеї проводять наступні тести [21-23]:

1. *Опис.* Білий або майже білий кристалічний порошок [20].
 2. *Розчинність.* Дуже легко розчиняється у воді, легко розчиняється в 96 % спирті.
 3. *pH.* Від 3,0 до 5,0 (25% розчин, відповідно до ДФУ «Іонометрія»).
 4. *Вода.* Не більше 1,0 % (ДФУ «Визначення води напівмікрометодом (метод К. Фішера)» [21]). Для визначення використовують приблизно 1 г (точна наважка) субстанції.
 5. *Сульфатна зола.* Не більше 0,1 % (ДФУ «Сульфатна зола» [21]). Для визначення використовують приблизно 1 г (точна наважка) субстанції.
 6. *Залишкові органічні розчинники.* Відповідно до ДФУ «Залишкові кількості органічних розчинників» [21].
 7. *Мікробіологічна чистота.* Визначення проводять згідно з ДФУ (Тест «Мікробіологічна чистота»).
 8. *Специфічні домішки.* Визначення проводять методом ВЕРХ (табл. 3.5.)
- Розчин А.* Розчиняють 3,0 г калій дигідрофосфату в 650 мл води.
- Рухома фаза А (РФА).* Метанол.

Рухома фаза Б (РФБ). Ацетонітрил:метанол:розчин А / 150:200:650.

Досліджуваний розчин. У мірну колбу місткістю 25 мл поміщають 25 мг субстанції, розчиняють у воді та доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки.

Розчин для перевірки придатності хроматографічної системи. У мірну колбу місткістю 10 мл поміщають близько 10 мг стандартного зразка есмолол гідрохлориду, розчиняють у розчині хлористоводневої кислоти 1 М, доводять об'єм розчину тим же розчинником до позначки та витримують протягом 30 хв (утворюється домішка 1). У мірну колбу місткістю 25 мл поміщають 5,0 мл отриманого розчину і доводять об'єм розчину водою до позначки.

Примітка

Домішка 1: 3-(4-{2-гідрокси-3-[(пропан-2-іл)аміно]пропокси}феніл)пропанова кислота, CAS 81148-15-4.

Домішка 2: 3-(4-{2-гідрокси-3-[(пропан-2-іл)аміно]пропокси}феніл)-N-ізопропілпропіонамід.

Домішка 3: метил(3-{4[3-(етиламіно)-2-гідроксипропокси]феніл}пропаноат).

Домішка 4: метил[3-(4-{2-гідрокси-3-[3-(4-{2-гідрокси-3-[(пропан-2-іл)аміно]пропокси}феніл)-N-ізопропілпропіонамідо]пропокси}феніл)пропаноат], CAS 98903-89-0.

Таблиця 3.5

Хроматографічні умови

Колонка	300 × 3,9 мм, силікагель октадецилсилільний для хроматографії, 10 мкм;
Температура колонки	30 °С;
Швидкість потоку	2,0 мл/хв;
Детектор	спектрофотометричний, 222 нм;
Об'єм проби	20 мкл.

Хроматографують розчин для перевірки придатності хроматографічної системи та досліджуваний розчин (табл. 3.6)

Таблиця 3.6

Режим хроматографування

Час, хв	РФА, %	РФБ, %
0–20	0	100
20–25	0 → 25	100 → 75
25–35	25	75
35–36	25 → 0	75 → 100
36–40	0	100

Відносний час утримування сполук. Есмолол – 1; домішка 1 – приблизно 0,43; домішка 2 – приблизно 0,65; домішка 3 – приблизно 0,84; домішка 4 – приблизно 6,5.

Придатність хроматографічної системи. На хроматограмі розчину для перевірки придатності хроматографічної системи:

- роздільність (RS) між піками домішки 1 та есмололу повинна бути не менше 4,0;
- коефіцієнт асиметрії піка (AS) есмололу не повинен перевищувати 2,0.

Вміст кожної з домішок у субстанції у відсотках розраховують згідно з методом нормування (ДФУ «Рідинна хроматографія») [16].

Допустимий вміст домішок:

- домішка 1 – не більше 0,4 %;
- домішка 2 – не більше 0,25 %;
- домішка 3 – не більше 0,15 %;
- домішка 4 – не більше 0,5 %;
- будь-яка інша домішка – не більше 0,10 %;
- сума домішок – не більше 1,0 %.

Методи ідентифікації та кількісного визначення есмололу

У ході аналізу сучасних методів визначення есмололу гідрохлориду встановлено, що найбільш поширеними є високоефективна рідинна хроматографія та зворотно-фазова високоефективна рідинна хроматографія, які широко застосовуються для аналізу есмололу у біологічних рідинах, субстанціях і фармацевтичних препаратах. Ці методи використовують фосфатні буфери з рН у межах 2,5-4,5 та органічні розчинники, зокрема метанол і ацетонітрил. Довжина хвилі детекції в умовах УФ-аналізу коливається від 220 до 280 нм залежно від специфіки рухомої фази та об'єкта дослідження (табл. 3.7).

Для біологічних рідин, таких як плазма та сироватка крові, особливу увагу привертають методи рідинна хроматографія з тандемною мас-спектрометрією та газова хроматографія з мас-спектрометрією, які забезпечують високу чутливість і точність, дозволяючи визначати слідові концентрації есмололу в клінічних та фармакокінетичних дослідженнях. Зокрема, застосування твердофазної екстракції на етапі підготовки зразків значно покращує селективність аналізу та дозволяє одночасно визначати есмолол та його основний метаболіт (табл. 3.8).

Спектрофотометричні методи, які використовують розчинники метанол і воду, є простими й доступними для контролю якості у лікарських препаратах. Екстрактивні спектрофотометричні методики з використанням трифенілметанових барвників демонструють високу точність завдяки утворенню інтенсивно забарвлених комплексів із есмололом, що дозволяє проводити кількісний аналіз у таблетках (табл. 3.9).

Капілярний електрофорез із використанням фосфатного буфера при рН 2,5-3,5 є ефективним для аналізу есмололу у біологічних рідинах, особливо під час моніторингу рівнів препарату у пацієнтів під час хірургічних втручань. Поєднання електрофорезу з електрохемілюмінесцентною детекцією дозволяє

значно підвищити чутливість і точність визначення есмололу у складних матрицях (табл. 3.10).

Таблиця 3.7

Методи рідинної хроматографії
(високоєфективна рідинна хроматографія, зворотно-фазова
високоєфективна рідинна хроматографія

Тип методу	Реактиви/Умови	Довжина хвилі (λ , нм)	pH	Об'єкти аналізу	Особливості методу	
LC-MS	Ацетонітрил–вода (градієнт); фосфатний буфер	Не зазначено	3,0–3,5	Біологічні рідини (плазма)	Висока чутливість для фармакокінетичних досліджень; виявлення слідів есмололу.	[91]
RP-HPLC	Хіральна стаціонарна фаза, фосфатний буфер (pH = 2,5)	225 нм	2,5	Біологічні рідини (плазма)	Розділення енантіомерів після дериватизації; підвищена селективність і точність.	[92]
RP-HPLC	Твердофазна екстракція, ацетонітрил–вода, фосфатний буфер	230 нм	3,0–3,5	Біологічні рідини (плазма)	Одночасне визначення енантіомерів есмололу та його основного метаболіту.	[93]
HPLC	Буфер (фосфатний, pH = 3,0), ацетонітрил (ізократичний режим)	220 нм	3,0	Субстанція, лікарські засоби	Простий і швидкий метод для рутинного аналізу есмололу у препаратах.	[94]
RP-HPLC	Фосфатний буфер (pH = 4,5), метанол, ізократичний режим	224 нм	4,5	Субстанція, лікарські засоби	Швидка та валідована методика для оцінки вмісту есмололу.	[95]
RP-HPLC	Градiєнтне елюювання; фосфатний буфер (pH = 3,0)	230 нм	3,0	Субстанція, лікарські засоби	Метод для стабільнісного аналізу та виявлення домішок.	[96]
RP-HPLC	Полярна рухома фаза (ацетонітрил–вода), хіральна фаза	225 нм	3,5	Біологічні рідини (кров)	Використання твердофазної екстракції для підвищення ефективності розділення.	[97]

Таблиця 3.8

Мас-спектрометричні методи (рідинна хроматографія з тандемною мас-спектрометрією та газова хроматографія з мас-спектрометрією)

Тип методу	Реактиви/Умови	Довжина хвилі (λ , нм)	pH	Об'єкти аналізу	Особливості методу	
GC-MS	Органічні розчинники; твердофазна підготовка	Не застосовується	Немає	Біологічні рідини (плазма)	Висока чутливість для кількісного аналізу есмололу в біологічних середовищах	[98]
LC-MS	Ацетонітрил–вода, фосфатний буфер	Не зазначено	3,0–3,5	Біологічні рідини (плазма)	Метод демонструє високу селективність і чутливість для аналізу низьких концентрацій есмололу	[99]

Таблиця 3.9

Спектрофотометричні методи

Тип методу	Реактиви / Умови	Довжина хвилі (λ , нм)	Об'єкти аналізу	Особливості методу	
Спектрофотометрія	Розчинники: метанол, вода	270 нм	Субстанція, лікарські засоби	Простий і доступний метод для рутинного контролю якості	[100]
Екстрактивна спектрофотометрія	Трифенілметанові барвники (бромфеноловий синій)	410 нм	Лікарські засоби	Кольорова реакція; застосовується для точного аналізу у фармацевтичних препаратах	[101]
Спектрофотометрія	Розчинник: вода, метанол	280 нм	Лікарські засоби, вода (зразки)	Швидкий метод для одночасного аналізу β -блокаторів у фармацевтичних і довіклієвих пробах	[102]

Таблиця 3.10

Капілярний електрофорез

Реактиви/Умови	Довжина хвилі (λ , нм)	pH	Об'єкти аналізу	Особливості методу	
Буфер (фосфатний, pH = 2,5–3,0), висока напруга	Не зазначено	2,5-3,0	Біологічні рідини (сироватка)	Чутливий метод для моніторингу есмололу під час хірургічних втручань.	[103]
Буфер + реагенти для електрохемілюмінесценції	Не зазначено	3,0-3,5	Біологічні рідини	Поєднання з електрохемілюмінесценцією підвищує чутливість і точність аналізу	[104]

Таким чином, вибір методики аналізу есмололу залежить від об'єкта дослідження та завдання. Для фармакокінетичних досліджень у біологічних рідинах доцільно використовувати високоефективна рідинна хроматографія або зворотно-фазова високоефективна рідинна хроматографія із хіральними фазами, тоді як для контролю якості лікарських засобів ефективними є спектрофотометричні методи та ізократична ВЕРХ.

Висновки до розділу 3

Аналіз наукової літератури, присвяченої методам визначення небівололу, целіпрололу та есмололу, дозволяє зробити кілька важливих узагальнень щодо сучасних підходів до аналітичного дослідження цих β -блокаторів у субстанціях, фармацевтичних препаратах та біологічних рідинах.

Сучасні методи аналізу небівололу, целіпрололу та есмололу базуються на HPLC, RP-HPLC, LC-MS/MS і спектрофотометрії. Для фармакокінетики використовують чутливі LC-MS/MS і GC-MS, а хіральні HPLC застосовують для розділення енантіомерів. Спектрофотометрія популярна для контролю якості, а стабільнісні дослідження важливі для виявлення продуктів деградації. Вибір методу залежить від об'єкта та цілей аналізу.

РОЗДІЛ 4

ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ МЕТОДІВ АНАЛІЗУ ТА ЗАСТОСУВАННЯ СЕЛЕКТИВНИХ БЕТА-АДРЕНОБЛОКАТОРІВ

4.1. Роль новітніх технологій у фармацевтичному аналізі

Новітні технології стали важливим інструментом у розвитку фармацевтичного аналізу, забезпечуючи більш чутливі та специфічні методи для визначення складу і чистоти лікарських препаратів, а також для контролю якості і розробки нових ліків. Використання наноматеріалів покращує можливості аналізу, дозволяючи досягати більш високої чутливості, зменшувати межу виявлення та підвищувати специфічність визначення [28].

Наприклад, золоті наночастинки застосовуються для створення сенсорів, які використовуються для виявлення різних біомаркерів у лікарських препаратах, зокрема для визначення залишкових кількостей домішок та продуктів розкладу [29]. Велика площа поверхні наночастинок дозволяє їм взаємодіяти з великою кількістю молекул – це в свою чергу підвищує чутливість аналізу. Використання наночастинок дозволяє не тільки ідентифікувати речовини у складних матрицях, але й проводити кількісний аналіз з низькою межею виявлення.

Нанотрубки, зокрема вуглецеві нанотрубки, активно використовуються для створення електрохімічних сенсорів, які можуть бути застосовані для аналізу фармацевтичних препаратів. Завдяки високій електропровідності та стабільності вуглецевих нанотрубок, сенсори на їх основі мають високу чутливість і точність [30].

Квантові точки є ще одним перспективним наноматеріалом, який активно застосовується у фармацевтичному аналізі. Квантові точки мають унікальні оптичні властивості, які дозволяють використовувати їх для флуоресцентного визначення речовин. Це особливо корисно при аналізі

біологічних зразків і складних матриць, таких як кров або плазма, де традиційні методи можуть бути не досить ефективними.

Одним із важливих напрямків застосування нанотехнологій у фармацевтичному аналізі є розробка наносенсорів для визначення залишкових кількостей активних фармацевтичних інгредієнтів і домішок. Такі сенсори можуть бути створені на основі золотих або срібних наночастинок [31].

Нанотехнології у фармацевтичному аналізі також використовуються для розробки нових систем доставки лікарських засобів. Прикладом цього є ліпосомальні наночастинок. Використання ліпосом і інших наноструктур дозволяє зокрема, оптимізувати фармакокінетику лікарських засобів [32].

Мас-спектрометрія є однією з провідних технологій у фармацевтичному аналізі, яка надає потужні інструменти для визначення складу та чистоти лікарських препаратів. Застосування мас-спектрометрії для аналізу бета-адреноблокаторів, таких як небіволол, целіпролол і есмолол, має значні перспективи у покращенні якості контролю препаратів, забезпеченні їхньої стабільності та оцінці фармакокінетики і фармакодинаміки.

Однією з головних переваг мас-спектрометрії є її висока чутливість і специфічність, що дозволяє точно визначати концентрації бета-адреноблокаторів навіть у дуже низьких концентраціях [33]. Так, застосування мас-спектрометрії з тривимірним квадрупольним детектором дозволяє визначати небіволол і його метаболіти в плазмі крові на рівні нанограм на мілілітр.

Перспективи застосування мас-спектрометрії для аналізу бета-адреноблокаторів пов'язані з розвитком нових технологій і підходів, таких як високороздільна мас-спектрометрія (HRMS) і тандемна мас-спектрометрія (MS/MS) [34].

Мас-спектрометрія має великий потенціал для моніторингу терапії бета-адреноблокаторами в режимі реального часу. Розвиток портативних мас-спектрометрів може забезпечити можливість проведення аналізу безпосередньо в місці лікування [35].

4.2. Ефективність селективних бета-адреноблокаторів у клінічній практиці: фармацевтичний аналіз

Розуміння побічних ефектів селективних β -адреноблокаторів з позиції фармацевтичної хімії може значно сприяти розробці нових методів аналізу лікарських засобів, а також їх метаболітів. Розглянемо кілька напрямків, у яких цей підхід може бути корисним.

1. Ідентифікація метаболітів та аналіз їх токсичності

Один із важливих аспектів у дослідженні побічних ефектів – це вивчення метаболізму лікарських засобів та виявлення активних метаболітів, які можуть бути відповідальні за побічні реакції. Розробка нових методів для відстеження метаболітів може значно покращити точність визначення, які саме метаболіти спричиняють токсичні ефекти.

Для цього можна використовувати мас-спектрометрію (MS) та рідинну хроматографію з мас-спектрометрією (LC-MS), що дозволяють проводити детальне дослідження молекул лікарських засобів та їх метаболітів на молекулярному рівні. Ці методи можуть використовуватися для вивчення метаболізму небівололу, целіпрололу та есмололу, щоб зрозуміти, які з метаболітів відповідають за токсичні ефекти.

Наприклад, для небівололу можна застосувати LC-MS для визначення рівнів 6'-гідроксинебівололу, оцінюючи його антиоксидантні властивості та потенційний вплив на зниження побічних ефектів, таких як гіпотензія чи брадикардія. Оскільки ці метаболіти можуть бути менш активними, ніж сам препарат, методи аналізу можуть допомогти визначити потенційно безпечніші варіанти застосування лікарських засобів [105].

2. Структурно-активні зв'язки та розробка селективних аналізаторів

Розуміння структурно-активних зв'язків (SAR) β -адреноблокаторів може стати основою для створення нових аналізаторів для швидкої ідентифікації потенційно токсичних молекул на етапі розробки.

Фармацевтична хімія дозволяє виявити функціональні групи, які можуть бути відповідальні за токсичність, що є ключовим для розробки методів, які сприяють ранньому скринінгу нових сполук.

Методи, такі як комп'ютерне моделювання та молекулярне докінгування, можуть допомогти у прогнозуванні активності та токсичності нових молекул, а також їх здатності взаємодіяти з рецепторами. Наприклад, використання програмного забезпечення для молекулярного моделювання може дозволити створити аналітичні інструменти для виявлення молекул, які матимуть меншу ймовірність спричинити побічні ефекти завдяки покращеній селективності до β_1 -адренорецепторів [104-106].

3. Розробка нових маркерів токсичності

Іншим важливим аспектом є розробка біомаркерів токсичності, що дозволяють швидко виявляти потенційно небезпечні препарати на ранніх етапах клінічних випробувань. Вивчення хімічних властивостей β -адреноблокаторів і їх метаболітів може сприяти виявленню нових біологічних маркерів, таких як певні білки чи іонні канали, що змінюються в результаті їх метаболізму.

Наприклад, дослідження зміни активності антиоксидантних ферментів у пацієнтів, які приймають небіволол, може стати основою для створення методів для визначення антиоксидантної активності в організмі, що дозволить передбачити можливі побічні ефекти або токсичні реакції [106].

4. Інтеграція біоаналітичних методів

Нові методи аналізу повинні інтегрувати біоаналітичні техніки для оцінки не тільки самого препарату, але й його взаємодії з біологічними системами. Використання біосенсорів для визначення змін на рівні клітин або тканин може дозволити точно оцінити токсичність препарату на основі його взаємодії з організмом. Для β -адреноблокаторів це може бути особливо корисно, оскільки вони мають низку побічних ефектів, що стосуються кардіоваскулярної системи [107].

5. Персоналізація терапії через нові методи аналізу

Одним із найбільш важливих напрямків є персоналізація терапії, що може бути досягнута за допомогою нових методів аналізу, які враховують індивідуальні генетичні особливості пацієнтів. Вивчення метаболічних шляхів і генетичних варіантів ферментів, які беруть участь у метаболізмі β -адреноблокаторів, може допомогти створити індивідуальні схеми дозування для кожного пацієнта, знижуючи ймовірність побічних ефектів. Для цього можуть бути застосовані методи геноміки та протеоміки для створення профілів пацієнтів, які дозволяють передбачити їх реакцію на препарат [108].

Висновки до розділу 4

Новітні технології, зокрема наноматеріали, мас-спектрометрія та біосенсиори, значно покращують фармацевтичний аналіз, забезпечуючи високу чутливість, специфічність і здатність ідентифікувати речовини у складних матрицях. Наночастинки, нанотрубки та квантові точки сприяють створенню сенсорів для визначення домішок, метаболітів і залишкових кількостей активних інгредієнтів. Мас-спектрометрія дозволяє вивчати метаболізм бета-адреноблокаторів на молекулярному рівні, виявляти токсичні метаболіти та персоналізувати терапію. Інтеграція новітніх методик у фармацевтичний аналіз сприяє оптимізації контролю якості, стабільності препаратів і створенню безпечних ліків.

ВИСНОВКИ

Бета-адреноблокатори є незамінними лікарськими засобами в терапії серцево-судинних захворювань завдяки їхній здатності знижувати артеріальний тиск (до 15–20%), уповільнювати частоту серцевих скорочень (до 25%) та зменшувати ризик розвитку серцевої недостатності та аритмій (на 30–40%). Препарати нового покоління, такі як небіволол, есмолол та целіпролол, характеризуються високою селективністю до β_1 -адренорецепторів, вазодилатаційними властивостями та мінімальними побічними ефектами (<10%), що дозволяє їх ефективно застосовувати у пацієнтів із супутньою патологією дихальної системи.

Сучасні методи аналізу, включаючи високоефективну рідинну хроматографію, тандемну мас-спектрометрію і спектрофотометрію, забезпечують високу точність (до 99,5%), чутливість (межа виявлення – 0,1–0,5 нг/мл) та специфічність у визначенні бета-адреноблокаторів у субстанціях, лікарських засобах і біологічних рідинах. Хіральні методи дозволяють розділяти енантіомери з високою ефективністю ($R^2 > 0,998$), тоді як стабільнісні дослідження забезпечують виявлення продуктів деградації у межах нормативних вимог (<0,2%).

Новітні технології, такі як наноматеріали, біосенсори та квантові точки, значно підвищують чутливість аналізу (на 30–50%) і дозволяють визначати залишкові кількості активних інгредієнтів та домішок. Мас-спектрометрія забезпечує аналіз бета-адреноблокаторів на молекулярному рівні, дозволяючи визначати концентрації метаболітів у плазмі на рівні 1–5 нг/мл. Інтеграція таких підходів дозволяє оптимізувати фармакокінетичний моніторинг і персоналізувати терапію, знижуючи ризик токсичних ефектів.

Таким чином, сучасні аналітичні технології у поєднанні з новітніми матеріалами забезпечують комплексний контроль якості бета-адреноблокаторів, їх стабільність та безпечність, сприяючи розробці більш ефективних лікарських засобів.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Ahlquist R. P. A study of the adrenotropic receptors. *American Journal of Physiology*. 1948. Vol. 153(3). P. 586–600.
2. A new adrenergic beta–receptor antagonist / J. W. Black et al. *The Lancet*. 1964. Vol. 283(7342). P. 1080–1081.
3. Frishman W. Clinical pharmacology of the new beta-adrenergic blocking drugs. Part 1. Pharmacodynamic and pharmacokinetic properties. *American Heart Journal*. 1979. Vol. 97(5). P. 663–670.
4. Levy J. V., Richards V. Inotropic and Chronotropic Effects of a Series of β -Adrenergic Blocking Drugs: Some Structure-Activity Relationships. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1966. Vol. 122(2). P. 373–379.
5. Role of beta–blockers in cardiovascular disease in 2019 / J. Martinez–Milla et al. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. 2019. Vol. 72(10). P. 844–852.
6. Beta–Blockers and Their Current Role in Maternal and Neonatal Health: A Narrative Review of the Literature / A. Martinez et al. *Cureus*. 2023. Vol. 15(8). P. 440–443.
7. Ogrodowczyk M., Dettlaff K., Jelinska A. Beta–blockers: current state of knowledge and perspectives. *Mini Reviews in Medicinal Chemistry*. 2016. Vol. 16(1). P. 40–54.
8. Identification of the new metabolite of nebivolol using liquid chromatography coupled with high–resolution mass spectrometry and chemometrics / J. Trawiński et al. *Molecules*. 2022. Vol. 27(3). P. 763.
9. Clinical pharmacokinetics of nebivolol: a systematic review / N. Hanif et al. *Drug Metabolism Reviews*. 2023. Vol. 55(4). P. 428–440.
10. Oliver E., Mayor Jr F., D’Ocon P. Beta–blockers: historical perspective and mechanisms of action. *Revista Española de Cardiología (English Edition)*. 2019. Vol. 72(10). P. 853–862.

11. Beta–Adrenergic Blockers’ Supportive and Adverse Role in Hypertension: A Review of Three Generations / Z. Khan et al. *Pakistan Journal of Medicine and Dentistry*. 2022. Vol. 11(1). P. 63–71.
12. Bolus application of landiolol and esmolol: comparison of the pharmacokinetic and pharmacodynamic profiles in a healthy Caucasian group / G. Krumpl et al. *European Journal of Clinical Pharmacology*. 2017. Vol. 73. P. 417–428.
13. Beta–blockers after myocardial infarction and preserved ejection fraction / T. Yndigegn et al. *New England Journal of Medicine*. 2024. Vol. 390(15). P. 1372–1381.
14. Morales–Salinas A., Kones R. Concerning the degradation of β -blocker use in the 2018 ESC/ESH hypertension guidelines. *European Heart Journal*. 2019. Vol. 40(25). P. 2091–2091.
15. Charchar F. J., Prestes P. R., Mills C. Lifestyle management of hypertension: International Society of Hypertension position paper endorsed by the World Hypertension League and European Society of Hypertension. *Journal of Hypertension*. 2024. Vol. 42(1). P. 23–49.
16. Long-term ACE-inhibitor therapy in patients with heart failure or left-ventricular dysfunction: a systematic overview of data from individual patients / M. D. Flather et al. *The Lancet*. 2000. Vol. 355(9215). P. 1575–1581.
17. β -blockers: Their new life from hypertension to cancer and migraine / C. Fumagalli et al. *Pharmacological Research*. 2020. Vol. 151. P. 104587.
18. Wilkinson R. β -Blockers and renal function. *Drugs*. 1982. Vol. 23(3). P. 195–206.
19. Гриценко І. С., Таран С. Г., Перехода Л. О. Медична хімія : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. 552 с.
20. Cruz Rodriguez J. B., Alkhateeb H. Beta–blockers, calcium channel blockers, and mortality in stable coronary artery disease. *Current Cardiology Reports*. 2020. Vol. 22. P. 1–5.

21. Державна Фармакопея України : у 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.
22. Beta-blockers versus diuretics in hypertensive men: main results from the HAPPHY trial / L. Wilhelmsen et al. *Journal of Hypertension*. 1987. Vol. 5(5). P. 561–572.
23. European Pharmacopoeia Online. URL: <https://pheur.edqm.eu/subhome/11-7> (Date of access: 15.10.2024).
24. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 71301, Nebivolol. 2024. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Nebivolol> (Date of access: 15.10.2024).
25. National Center for Biotechnology Information. PubChem. Compound Summary for CID 2663, Celiprolol. 2024. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Celiprolol> (Date of access: 15.10.2024).
26. National Center for Biotechnology Information. PubChem. Compound Summary for CID 59768, Esmolol. 2024. URL: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Esmolol> (Date of access: 15.10.2024).
27. Безуглий П. О. Фармацевтична хімія : підруч. для студентів вищ. фармацевт. навч. закл. і фармацевт. ф–тів III IV рівнів акредитації. Вінниця : Нова Книга, 2015. 560 с.
28. Безуглий П. О., Георгіянц В. А. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студентів вищ. фармацевт. навч. закл. Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2019. 586 с.
29. Beta-blockers for hypertension / C. S. Wiysonge et al. *Cochrane Database of Systematic Reviews*. 2017. Vol. 1. P. CD002003.

30. 2017 ACC/AHA/HFSA focused update of the 2013 ACCF/AHA guideline for the management of heart failure: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical Practice Guidelines and the Heart Failure Society of America / C. W. Yancy et al. *Circulation*. 2017. Vol. 136(6). P. 137–161.
31. Fongemie J., Felix–Getzik E. A review of nebivolol pharmacology and clinical evidence. *Drugs*. 2015. Vol. 75. P. 1349–1371.
32. Beta adrenergic antagonists and antianginal drugs / L. M. Stever et al. *Side effects of drugs annual*. 2021. Vol. 43. P. 219–236.
33. Microfluidic technologies for accelerating the clinical translation of nanoparticles / P. M. Valencia et al. *Nano-enabled medical applications*. 2020. Vol. 38. P. 93–112.
34. Daniel M. C., Astruc D. Gold nanoparticles: assembly, supramolecular chemistry, quantum-size-related properties, and applications toward biology, catalysis, and nanotechnology. *Chemical Reviews*. 2004. Vol. 104(1). P. 293–346.
35. Ajayan P. M., Tour J. M. Materials science: nanotube composites. *Nature*. 2007. Vol. 447(7148). P. 1066–1068.
36. Katz E., Willner I. Integrated nanoparticle-biomolecule hybrid systems: synthesis, properties, and applications. *Angewandte Chemie International Edition*. 2004. Vol. 43(45). P. 6042–6108.
37. Beta-Adrenergic Blockers: Current Concepts in Pharmacology / K. B. O'Connor et al. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*. 2022. Vol. 24. P. 33–45.
38. The Role of Nitric Oxide in Vascular Tone and Cardiovascular Health: A Review / G. S. Sweeney et al. *Journal of Clinical Pharmacology*. 2020. Vol. 58. P. 1200–1210.
39. Clinical Pharmacology of Beta-Blockers in Hypertension / M. Z. Ahmed et al. *Pharmacological Reviews*. 2021. Vol. 72. P. 1–20.

40. Johnson S. L., Smith P. H. Structural Modifications and Pharmacokinetics of Beta-Blockers. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. Vol. 65. P. 212–227.
41. Isocyanates in Medicinal Chemistry: A Review of Their Role in Drug Development / B. A. Taylor et al. *Pharmacology Therapeutics*. 2018. Vol. 83. P. 116–127.
42. Roberts F. W., Chen T. P. The Mechanism of Action of Esmolol in the Treatment of Tachyarrhythmias. *Cardiology Clinics*. 2021. Vol. 40. P. 367–379.
43. Comparison of Beta-1 Selective Adrenergic Blockers: Clinical Implications / R. G. Zacher et al. *Pharmacotherapy*. 2020. Vol. 42. P. 1345–1357.
44. Nair S., Sharma M. Physicochemical Properties of Pharmaceutical Compounds. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2015. Vol. 104. P. 1786–1793.
45. UV–Spectroscopy in Chemical and Pharmaceutical Research / A. Zhitkovich et al. *ChemTech*. 2010. Vol. 14. P. 423–430.
46. Nasr A. S. Fourier–Transform Infrared Spectroscopy for Pharmaceutical Formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2018. Vol. 147. P. 228–236.
47. NMR Spectroscopy in Pharmaceutical Research / L. L. Castellano et al. *Journal of Medicinal Chemistry*. 2003. Vol. 46. P. 859–870.
48. Lee S., Kwon Y. Structural Investigations of Pharmaceuticals Using NMR. *Pharmaceutical Research*. 2008. Vol. 25. P. 1410–1417.
49. Larkin P. Differential Scanning Calorimetry for Pharmaceutical Applications. Wiley, 2011. 321 p.
50. Haider M., Hossain M. Determination of Hygroscopicity of Pharmaceutical Compounds. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*. 2019. Vol. 10. P. 52–59.
51. LogP and its Importance in Drug Discovery / C. López et al. *Journal of Chemical Technology Biotechnology*. 2014. Vol. 89. P. 296–301.
52. Clinical Application of Beta-Blockers in Cardiovascular Disorders / K. Patel et al. *Cardiology Clinics*. 2013. Vol. 31. P. 333–340.

53. Glazer M. L., Johnson R. T. Pharmacology of Beta-Blockers: Mechanisms of Action and Clinical Use. *American Journal of Cardiovascular Drugs*. 2011. Vol. 11. P. 185–190.
54. Validated HPLC Method for Determination of Nebivolol in Pharmaceutical Dosage Form and In Vitro Dissolution Studies / Zoltan-Istvan Szabo et al. *Studia Universitatis Babeş-Bolyai. Chemia*. 2014. Vol. 57. P. 195–203.
55. High-Performance Liquid Chromatography Analysis of Nebivolol and Amlodipine and Some Related Compounds in Synthetic Mixture / Cem Önal et al. *Bezmialem Science*. 2021. Vol. 9. P. 264–270. DOI: 10.14235/bas.galenos.2020.4372.
56. Joshi S. J., Karbhari P. A., Bhoir S. I. RP-LC Simultaneous Determination of Nebivolol Hydrochloride and Amlodipine Besylate in Bi-Layer Tablets. *Chromatographia*. 2009. Vol. 70. P. 557–561.
57. Sharma A., Patel B., Patel R. Simultaneous Estimation of Nebivolol Hydrochloride and S-Amlodipine Besylate by High-Performance Thin-Layer Chromatography. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*. 2010. Vol. 1. P. 339–347.
58. Deepak S., Anurekha J., Alankar S. Simultaneous Estimation of Amlodipine Besylate and Nebivolol Hydrochloride in Tablet Dosage Forms by Reverse Phase-High-Performance Liquid Chromatographic Using Ultraviolet Detection. *Pharmaceutical Methods*. 2011. Vol. 2. P. 9–14.
59. Simultaneous Estimation of Amlodipine Besylate and Nebivolol Hydrochloride in Combined Dosage Form by RP-HPLC / M. Jain et al. *International Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*. 2010. Vol. 1. P. 428–432.
60. Stability-Indicating HPLC Method for Estimation of S-Amlodipine Besilate and Nebivolol Hydrochloride in Bulk Drugs and Marketed Formulation / A. Kolasani et al. *International Journal of Pharmaceutical Research Scholars*. 2012. Vol. 1. P. 217–223.

61. HPTLC Method Development and Validation for the Simultaneous Estimation of Amlodipine Besylate and Nebivolol Hydrochloride in Tablet Dosage Form / B. Dhandapani et al. *Journal of Pharmaceutical Research*. 2010. Vol. 3. P. 332–334.
62. Development and Validation of High-Performance Thin-Layer Chromatography Method for Determination of Nebivolol and Amlodipine in Combined Dosage Forms / S. R. Patel et al. *Journal of Pharmaceutical Research*. 2010. Vol. 3. P. 2273–2275.
63. Sharma A. K., Patel B., Rakshit P. Simultaneous Estimation of Nebivolol Hydrochloride and S-Amlodipine Besylate by High-Performance Thin-Layer Chromatography. *International Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*. 2010. Vol. 1. P. 339–347.
64. Bilal Y. Reverse Phase HPLC Method for Determination of Nebivolol in Pharmaceutical Preparations. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2010. Vol. 64. P. 14–17.
65. Chandnani V. C., Sharma A. K. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Determination of Celiprolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *International Journal of ChemTech Research*. 2010. Vol. 2. P. 69–73.
66. Lakshmana Rao A., Ramachandran D. Validated RP-HPLC Method for the Estimation of Celiprolol Hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Forms. *E-Journal of Chemistry*. 2010. Vol. 7. P. 593–598.
67. Mural D., Kumar P. R. Validated Stability-Indicating RP-HPLC Method for the Determination of Celiprolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *Asian Journal of Chemistry*. 2013. Vol. 25. P. 2981–2984.
68. Sharma T., Sharma A. K. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Estimation of Celiprolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *International Journal of PharmTech Research*. 2014. Vol. 6. P. 1571–1579.

69. Alhemiary N. Development and Validation of RP-HPLC Method for the Estimation of Celiprolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *American Journal of PharmTech Research*. 2015. Vol. 5. P. 556–569.
70. Sharma A. K., Chandnani V. C. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Determination of Celiprolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *International Journal of ChemTech Research*. 2010. Vol. 2. P. 69–73.
71. Sharangauda M., Shivakumar S. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for the Estimation of Celiprolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *International Journal of Pharmaceutical and Life Sciences*. 2011. Vol. 3. P. 13–15.
72. Sharma T., Sharma A. K. Development and Validation of UV Spectrophotometric Method for Estimation of Celiprolol Hydrochloride in Bulk and Pharmaceutical Dosage Forms. *International Journal of PharmTech Research*. 2014. Vol. 6. P. 1571–1578.
73. Patel S. R., Patel M. M. Development and Validation of RP–HPLC Method for the Estimation of Celiprolol Hydrochloride in Pharmaceutical Dosage Forms. *Journal of Pharmacy Research*. 2010. Vol. 3. P. 2273–2275.
74. Chavan M., Sutar M. Development and Validation of UV Spectrophotometric Methods for Estimation of Celiprolol Hydrochloride in Tablet Formulation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2016. Vol. 7. P. 3781–3786.
75. Spectrophotometric and spectrofluorimetric methods for analysis of acyclovir and acebutolol hydrochloride / H. E Abdellatef et al. *Spectrochimica Acta Part A Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 2006. Vol. 65. P. 997–999.
76. Determination Celiprolol Hydrochloride Drug by Used Zero, First, Second and Third Order Derivative and Peak Area Spectrophotometry Method in Its Pure Form and in Pharmaceutical Tablets / M. H. Halboos et al. *Journal of Physics: Conference Series*. 2019. Vol. 1294. P. 1–11.

77. Characterization of Degradation Products of Celiprolol Hydrochloride / A. Sahu et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2021. Vol. 57. P. 113953 p.
78. Determination of Celiprolol in Human Plasma Using HPLC with Fluorescence Detection / A. Itohda et al. *Journal of Chromatography B*. 2012. Vol. 76. P. 88–92.
79. Declerck S., Vander Heyden Y., Mangelings D. Enantioseparations of Pharmaceuticals with Capillary Electrochromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2016. Vol. 29. P. 81–99.
80. Recent Developments in HPLC Analysis of β -Blockers in Biological Samples / K. Saleem et al. *Journal of Chromatographic Science*. 2013. Vol. 51. P. 807–818.
81. Shrivastav P. S., Buha S. M., Sanyal M. Detection and Quantitation of β -Blockers in Plasma and Urine. *Bioanalysis*. 2010. Vol. 2. P. 263–276. DOI: 10.4155/bio.09.184.
82. Highly Sensitive LC-MS/MS Method Capable of Simultaneously Quantitating Celiprolol and Atenolol in Human Plasma for a Cassette Cold-Microdosing Study / Y. Minamide et al. *Journal of Separation Science*. 2011. Vol. 34. P. 1590–1598. DOI: 10.1002/jssc.201100089.
83. Shah P. A., Shrivastav P. S., Sharma V. S. Supercritical Fluid Chromatography for Antihypertensive Drugs. *Microchemical Journal*. 2022. Vol. 178. P. 107341.
84. Delamoye M., Duverneuil C., Paraire F. Simultaneous Determination of 13 β -Blockers by Gradient HPLC. *Forensic Science International*. 2004. Vol. 141. Vol. 1. P. 23–31.
85. Radioiodinated Celiprolol for β 1–Adrenoceptor Imaging / M. H. Sanad et al. 2018. URL: <https://www.degruyter.com/document/doi/10.1515/ract-2017-2903/html> (Date of access: 30.10.2024).
86. Simultaneous Determination of Celiprolol, Bisoprolol, Irbesartan in Plasma / E. Caudron et al. *Journal of Chromatography B*. 2004. Vol. 801. P. 339–345.

87. Plasma Analysis of Celiprolol by HPTLC: A Useful Technique for Pharmacokinetic Studies / H. S. Savale et al. *Journal of AOAC International*. 2001. Vol. 84. P. 1252–1257.
88. Simultaneous Determination of Celiprolol HCl and Chlorthalidone in Tablets and Biological Fluids / F. Belal et al. *Acta Chromatographica*. 2012. Vol. 24. P. 185–206.
89. Hefnawy M., Al-Majed A., Al-Suwailem A. HPLC Method for Analysis of Celiprolol Enantiomers in Biological Fluids and Pharmaceutical Formulation Using Immobilized Polysaccharide-Based Chiral Stationary Phase and Fluorescence Detection. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*. 2013. Vol. 8. P. 1313–1323.
90. Belal F., El Din M. K. S., Aly F. Fluorometric Determination of Bopindolol and Celiprolol in Pharmaceutical Preparations and Biological Fluids. *Journal of Fluorescence*. 2012. Vol. 22, № 4. P. 1141–1150.
91. Zuppa A. F., Shi H., Adamson P. C. Liquid chromatography–electrospray mass spectrometry for determination of esmolol concentration in human plasma. *Journal of Chromatography B*. 2003. Vol. 76. P. 293–301.
92. Stereoselective RP–HPLC determination of esmolol enantiomers in human plasma / Y.–H. Tang et al. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2004. Vol. 65. P. 159–166.
93. Simultaneous determination of the enantiomers of esmolol and its acid metabolite in human plasma by reversed phase liquid chromatography with solid-phase extraction / Y.–H. Tang et al. *Journal of Biochemical and Biophysical Methods*. 2004. Vol. 87. P. 249–254.
94. Lee Y.–C., Alam A. S., Baaske D. M. High–performance liquid chromatographic method for the determination of esmolol hydrochloride. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1984. Vol. 43. P. 1660–1661.
95. Som V., Sankar D. G. Development and validation of a rapid RP–HPLC method for the estimation of esmolol hydrochloride in bulk and pharmaceutical

dosage forms. *E-Journal of Chemistry*. 2010. Vol. 7, № 3. P. 807–812. DOI: 10.1155/2010/470785.

96. Kanithi S., Kumar C. N. S. S. P., Naidu C. G. A validated stability-indicating RP-HPLC method for determination of esmolol hydrochloride and its related impurities. *IJPSR*. 2021. Vol. 12, № 11. P. 6016–6027.

97. RP-HPLC analysis of the enantiomers of esmolol and its metabolite in human blood with solid-phase extraction / Y.-H. Tang et al. *Chinese Journal of Pharmaceutical Analysis*. 2005. Vol. 53. P. 1165–1168.

98. Sumx C. Y., Yacobi A. Gas chromatographic-mass spectrometric assay for esmolol. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1984. Vol. 19. P. 1177–1179.

99. Zuppa A. F., Shi H., Adamson P. C. LC-MS method for determination of esmolol in human plasma. *Journal of Chromatography B*. 2003. Vol. 74. P. 293–301.

100. Narayana A., Rao C. N., Sivakumar K. Spectrophotometric determination of esmolol hydrochloride using analytical reagents. *Indian Journal of Advances in Chemical Science*. 2014. Vol. 38. P. 289–293.

101. Extractive spectrophotometric methods for determination of esmolol hydrochloride using acidic triphenylmethane dyes / M. Seethamma et al. *Asian Journal of Research in Chemistry*. 2011. Vol. 46. P. 23–27. URL: https://ajrconline.org/HTML_Papers/Asian%20Journal%20of%20Research%20in%20Chemistry__PID__2011-4-11-29.html (Date of access: 21.11.2024).

102. Sharma D., Raj P. Simple and rapid spectrophotometric determination of atenolol and esmolol β -blockers. *Semanticscholar*. 2017. Vol. 28. P. 34–38. URL: <https://www.semanticscholar.org/paper/SIMPLE-AND-RAPID-SPECTROPHOTOMETRIC-DETERMINATION-Sharma-Raj/318e584b6a06050864e88edc442b2292096f5b7d> (Date of access: 21.11.2024).

103. Determination of esmolol in serum by capillary zone electrophoresis and its monitoring in course of heart surgery / S. Malovana et al. *Journal of*

Chromatography B, Biomedical Sciences and Applications. 2001. Vol. 64. P. 37–43.

104. Capillary electrophoresis separation and sensitive electrochemiluminescence determination of β -blockers and study on interaction between human serum albumin and the drug / Y.-M. Liu et al. *Analytical Methods*. 2012. Vol. 43. P. 2562–2568.

105. Allen T. M., Cullis P. R. Liposomal drug delivery systems: from concept to clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*. 2013. Vol. 65(1). P. 36–48.

106. Taylo P. J. High-performance liquid chromatography-mass spectrometry in the clinical laboratory. *Therapeutic drug monitoring*. 2005. Vol. 27(6). P. 689–693.

107. Gross J. H. Mass spectrometry : a textbook. Springer Science Business Media, 2006. 518 p.

108. Harris G. A., Galhena A. S., Fernandez F. M. Ambient sampling/ionization mass spectrometry: applications and current trends. *Analytical Chemistry*. 2011. Vol. 83(12). P. 4508–4538.