

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ

О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ

(назва кафедри)

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Модифікація ВЕРХ методики підтвердження вмісту сорбіту та допустимих або недопустимих домішок у складі біологічно активної субстанції»

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи Б2А
напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»

(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Фармацевтичний факультет, заочна форма навчання

Освітньо-кваліфікаційний рівень «магістр»

«Фармація»

(назва освітньої програми)

Кривошей Марина Вікторівна

(прізвище та ініціали)

Керівник: ас. Бут І.О., д.х.н., ас. Левін М.Г.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: д.м.н., професор Ніженковська І.В.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2023-2024 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	8
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ШЕСТИАТОМНИХ СПИРТІВ.....	8
1.1. Особливості хімічної будови шестиатомних спиртів.....	8
1.2. Біологічна активність шестиатомних спиртів.....	10
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ СОРБІТУ.....	15
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості сорбіту.....	15
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	26
ВИСНОВКИ.....	37
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	38
SUMMARY.....	41
ДОДАТОК 1.....	42

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

г – грам

ГМДС – гексаметилдисилоксан

ГРХ – газо-рідинна хроматографія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамід

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкл – мікролітр

мкм – мікрометр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – нанометр

РХ – рідинна хроматографія

см⁻¹ – обернений сантиметр

Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу

ТМС – тетраметилсілан

ТГФ – тетрагідрофуран

T. кип. – температура кипіння

T. пл. – температура плавлення

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЦД – цукровий діабет

ЯМР ^1H – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

$^{\circ}\text{C}$ – градуси Цельсія

Hal – галоген

J, Гц – значення константи спінової взаємодії, герци

SD – тверді дисперсії

SOR – сорбітол

Tg – температура склування

ВСТУП

Актуальність теми. Сорбіт (глюцитол) – це органічна речовина, яка відноситься до шестиатомних спиртів. За хімічною номенклатурою ІЮПАК має назву (2S,3R,4R,5R)-гексан-1,2,3,4,5,6-гексол. Сорбіт зустрічається у природних джерелах (рослини, водорості), використовується як підсолоджувач у харчовій промисловості, у якості додаткової речовини фармацевтичних композицій. Використовується як нестимулюючий проносний засіб у вигляді пероральної суспензії або клізми. Сорбіт отримують гідруванням D-глюкози. В основному він складається з D-сорбіту. Відповідно до рівня D-глюкози, частина продуктів, яка не є D-сорбітом, складається з споріднених речовин, таких як манітол, ідітол, мальтитол. Сорбіт є діючою речовиною лікарських засобів Мікролакс, Сорбілакт, Реосорбілакт. Наприклад, лікарський засіб Реосорбілакт використовують для покращення капілярного кровообігу під час профілактики або лікування травматичного, токсичного або опікового шоку, при гострій втраті крові, при інтоксикаціях, лікуванні тромбозів, при хворобі Рейно. Тому, якість субстанції сорбіту є важливим фактором при виробництві цих ліків [1-7].

Сорбіт як хімічна речовина відноситься до класу поліолів, шестиатомних спиртів. Молекула сорбіту є хімічно активною, вступає у реакції заміщення, циклізації, за рахунок вільних гідрокси груп утворює водневі зв'язки. Кристалічні носії – декстроза, сахароза, галактоза, маніт, сорбіт та ізомальт здатні підвищувати розчинність та швидкість розчинення нерозчинних лікарських засобів за умови використанні їх як носіїв у твердих дисперсіях (SD) [8, 9]. Синтетичні полімери домінують у виробництві ліків. Створено допоміжні SD, але полімерні SD мають головний недолік перекристалізації під час зберігання. Використання полімерів з високою молекулярною масою та довгим ланцюгом викликає проблеми – підвищена в'язкість та об'ємність отриманої лікарської форми.

Ідеальний носій SD повинен бути гідрофільним, негігроскопічним, здатністю до утворення водневих зв'язків, мати високу температуру склування (T_g), бути безпечним. Цукри та поліоли є придатними носіями для SD, оскільки мають декілька ідеальних характеристик. Останнім часом використання низькомолекулярних допоміжних речовин викликало великий інтерес у розробці СД. Однак, у зв'язку із потребою у доступних обмежених безпечних низькомолекулярних наповнювачів, то виникла зацікавленість працювати з цукрами і поліолами. Оскільки цукри та поліоли є найбільш придатними для приготування SD, то їх активно досліджують. Головною їх перевагою є підвищення розчинності погано розчинних у воді лікарських засобів [10, 11]. Під час синтезу сорбіту можливе утворення побічних продуктів, ізомери та продукти їх взаємодії, тому важливим завданням фармацевтичного аналізу є виявлення неприпустимих речовин у складі субстанції сорбіту, оскільки низка якість субстанції та лікарських засобів сорбіту будуть негативно впливати на здоров'є пацієнтів.

Досить часто сорбіт застосовують у комбінації з іншими лікарськими речовинами. Як реакційно здатний спирт, сорбіт може вступати у хімічну взаємодію із іншими компонентами суміші, що призведе до утворення додаткових речовин, вміст яких не регламентований Фармакопеею. Розробка та адаптація хроматографічних умов методом ВЕРХ субстанції сорбіту є актуальним завданням фармацевтичного аналізу для виявлення незадекларованих виробником субстанції неспецифікованих домішок та неприпустимих речовин [12-15].

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є розробка хроматографічних умов при аналізі методом ВЕРХ субстанції сорбіту, які дозволять виявити у її складі супровідні домішки та зберегти структуру компонентів хімічної суміші.

Завдання експериментального дослідження:

- розробити коректні умови хроматографування методом ВЕРХ субстанції сорбіту, які дозволять виявити у її складі супровідні домішки та зберегти структуру компонентів хімічної суміші;
- розробити методику хроматографування методом ВЕРХ та методики приготування досліджуваних розчинів сорбіту;
- провести дослідження методом ВЕРХ випробувальних зразків у порівнянні зі стандартними за розробленою методикою та інтерпретувати отримані результати.

Методи дослідження. Високоєфективна рідинна хроматографія на хроматографі Agilent 1200 з рефрактометричним детектором, колонка – SUPELCOGEL Ca, 300x7,80x9; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у розробці спеціальних умов хроматографування методом ВЕРХ субстанції сорбіту, які дозволять виявити супровідні домішки.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на міжнародній конференції «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвячена 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р.

Публікації: За матеріалами дослідження подані до публікації 1 тези доповіді.

Структура роботи: загальну кількість сторінок – 42, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 22.

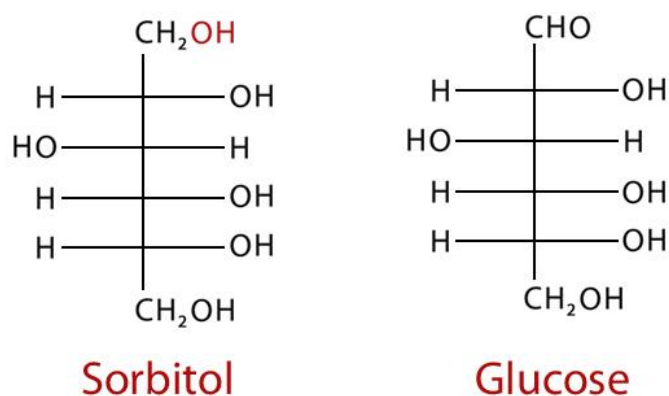
ОСНОВНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ШЕСТИАТОМНИХ СПИРТІВ

1.1. Особливості хімічної будови шестиатомних спиртів

Сорбіт – цукровий спирт, який використовується як допоміжна речовина в рецептурах різних лікарських засобів. Присутність сорбітолу в лікарських формах не викликає занепокоєння. Однак, сорбітол у лікарських формах може змінювати пероральне всмоктування та біодоступність певних препаратів (рис. 1.1.1).

Відомо, що сорбітол не впливає на абсорбцію при пероральному прийомі та біодоступність деяких лікарських засобів, таких, як теофілін, метопролол. Для таких лікарських засобів, як рисперидон (BCS клас II) та ламівудин, ранітидин (BCS клас III), розчини мають знижену пероральну біодоступність у присутності сорбітолу. Циметидин та ацикловір (BCS клас III) не показали жодних змін у фармакокінетичних профілях у присутності сорбіту. Присутність активованого вугілля з сорбітолом продемонструвала різні фармакокінетичні результати для лікарських засобів BCS I та II класу.



©Nutrientsreview.com

Рисунок 1.1.1. Хімічна формула сорбіту та продукту його окислення – ГЛЮКОЗИ.

Фрукти *Rubus* (ожина, малина) мають невисокий вміст цукрового спирту. Численні дослідження повідомили про нульову кількість цукрового спирту в стиглих плодах рубуса, за винятком плодів рубуса (морозка 0,01 г/100 г, червона малина 0,03 г/100 г та ожина 4,8 г/100).

Сорбіт привертає великий промисловий інтерес як підсолоджувач, зволожувач, текстуратор і пом'якшувач. Він виробляється хімічним шляхом. Бактерія *Zytoponas mobilis* здатна продукувати сорбітол разом з глюконоювою кислотою із фруктози та глюкози. Утворення відбувається за допомогою одностадійної реакції за допомогою ферменту глюкозо-фруктозооксидоредуктази. Можливості виробництва сорбіту за допомогою *Z. mobilis* обговорюється як промисловий процес [16-20].

Крім того, сорбіт використовують у якості кристалічного носія у твердих дисперсіях (SD) під час створення лікарських засобів, оскільки йому притаманні дуже корисні властивості: підвищує розчинність та швидкість розчинення не розчинних лікарських засобів (рис. 1.1.2).

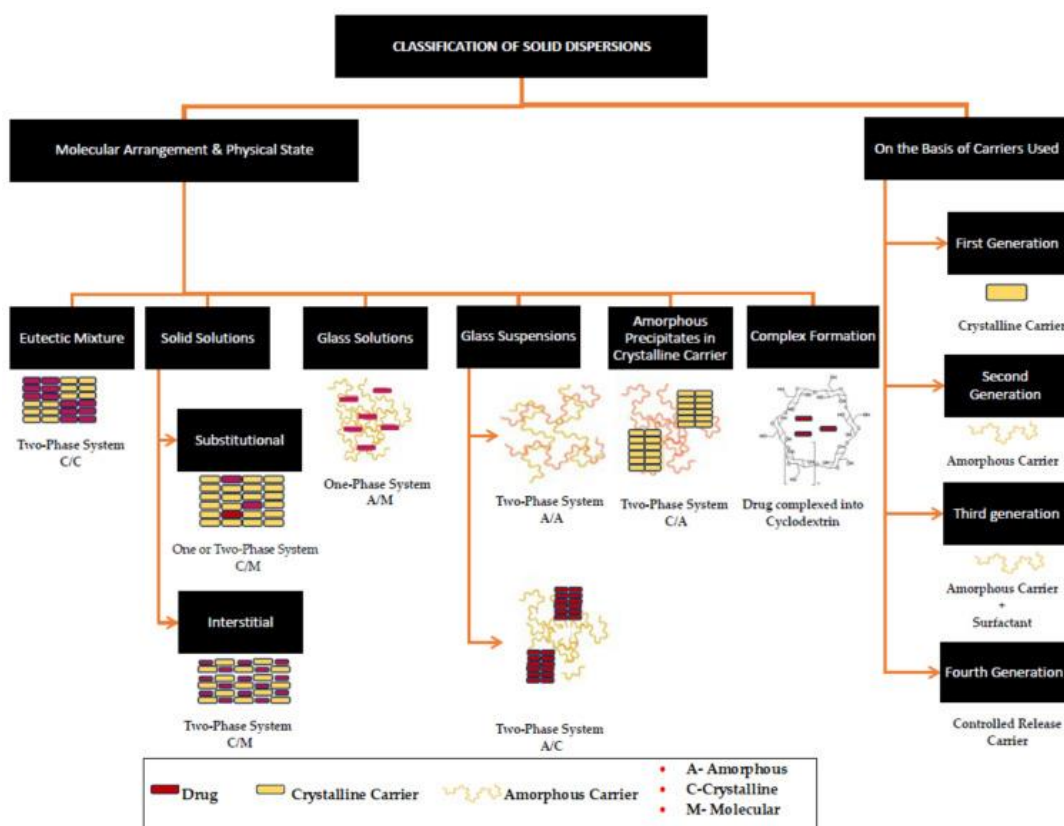


Рисунок 1.1.2. Класифікація твердих дисперсій.

Метаболізм сорбіту відбувається за наступною схемою (рис. 1.1.3): глюкоза відновлюється під впливом ферментативної системи до сорбіту, а сорбіт окислюється до фруктози по позиції C2.

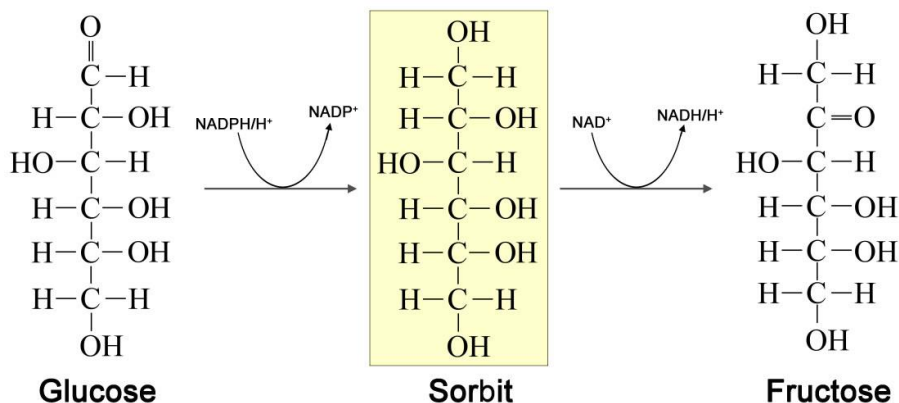


Рисунок 1.1.3. Схема метаболізму сорбіту.

1.2. Біологічна активність шестиатомних спиртів

Сорбіт відноситься до багатоатомних спиртів. З одного боку, молекула є поліолом, з другого боку – це моносахарид з притаманними йому хімічними та біологічними властивостями.

Хімічні властивості багатоатомних спиртів аналогічні до хімічних властивостей одноатомних насичених спиртів. Хімічні властивості молекули базуються на реакційній здатності вільних гідрокси груп. Чим більше гідрокси груп у такій молекулі, тим хімічно активніша вона в реакціях.

Приймати участь у реакціях може одна гідрокси група або декілька груп одночасно.

Кількість гідроксильних груп позначається на хімічній активності сполук. Чим більше гідрокси груп у молекулі, тим сильніше її кислотні властивості. Багатоатомні спирти легко реагують з лужними металами, з лугами, з гідроксидами важких металічних елементів.

Сорбіт, отриманий з глюкози, є відомим цукровим спиртом. Цей білий кристалічний порошок має солодкість. Він міститься у фруктах: яблука, груші, чорнослив, у морських водоростях. Сорбітол використовується як замітник цукру в ряді продуктів та напоїв без цукру, при виробництві жувальної гумки, цукерок, фармацевтичних препаратів. Сорбітол забезпечує солодкість, але має менше калорій і нижчий глікемічний індекс. Сорбітол є ідеальним вибором для людей із ЦД.

Окрім ролі замітника цукру, сорбіт демонструє виняткову розчинність у воді, надає освіжаючий ефект у ротовій порожнині. Сорбіт демонструє зволожуючі властивості, і це допомагає утримувати вологу, подовжує термін придатності окремих продуктів.

Сорбітол є універсальним інгредієнтом у різноманітних галузях промисловості. У харчових продуктах та напоях сорбітол використовується як наповнювач, стабілізатор і текстуратор. У фармації сорбітол відіграє роль допоміжної речовини, яка сприяє доставці активних інгредієнтів у лікарські засоби.

Загалом сорбітол визнано безпечним для споживання. Але необхідно дотримуватися помірності, оскільки він має потенційний проносний ефект, викликає травний дискомфорт, діарею. Тому, сорбітол треба споживати помірно, пам'ятаючи про рівні особистої переносимості.

Біосинтез сорбітолу відбувається за допомогою поліолового шляху або сорбітол-альдозоредуктазного шляху. Він включає перетворення глюкози на сорбіт.

Етапи біосинтезу сорбіту:

- Глюкоза перетворюється на глюкозо-6-фосфат (фермент гексокіназа).
- Глюкозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-6-фосфат (фермент глюкозо-6-фосфат-ізомераза).
- Фруктозо-6-фосфат перетворюється на фруктозо-1,6-бісфосфату (фермент фосфофруктокіназа). Це – етап гліколітичного шляху.

- Фруктозо-1,6-бісфосфат розщеплюється альдолазою на гліцеральдегід-3-фосфат і дигідроксіацетонфосфат.
- Гліцеральдегід-3-фосфат перетворюється на гліцерин-3-фосфат (фермент гліцеральдегід-3-фосфатдегідрогеназа). Гліцерол-3-фосфат перетворюється на сорбіт (фермент сорбітол-6-фосфатдегідрогенази з окисленням NADH (нікотинамідаденіндинуклеотид, відновлена форма) до NAD+.

Шлях розпаду сорбіту: включає розщеплення сорбіту, цукрового спирту. У біологічних системах розпад сорбітолу відбувається під дією сорбітолдегідрогенази (SDH).

Сорбітолдегідрогеназа (SDH) каталізує окислення сорбіту до фруктози (коензим NAD+ (нікотинамідаденіндинуклеотид, окислена форма): сорбіт + NAD+ → Фруктоза + NADH + H+.

Фруктоза, продукт реакції SDH, може увійти в гліколітичний шлях для подальшого метаболізму.

Фруктоза фосфорилується до фруктозо-1-фосфату (фермент фруктокіназа).

Фермент альдолаза В розщеплює фруктозо-1-фосфат на гліцеральдегід та дигідроксіацетонфосфат.

Гліцеральдегід можна перетворити на гліцеральдегід-3-фосфат.

Фактори, що впливають на розпад сорбіту

Кінетику розпаду сорбітолу, в контексті шляху сорбітолдегідрогенази (SDH), - це шлях вивчення швидкості ферментативної реакції, який каталізується сорбітолдегідрогеназою.

Одним із факторів є концентрація субстрату: швидкість деструкції сорбіту залежить від його концентрації, доступної для дії ферменту SDH.

Зі збільшенням концентрації субстрату швидкість деструкції сорбіту збільшується, оскільки фермент повинен насититися субстратом. У момент насичення швидкість реакції сягає максимуму.

Концентрація ферменту SDH впливає на швидкість деструкції сорбіту. Вищі концентрації SDH каталізують реакцію з більшою швидкістю.

На кінетику розкладання сорбітолу впливають рН та температурні умови. Ферменти мають оптимальний рН і температуру, при якій вони проявляють максимальну активність. Відхилення від оптимального рН або температури впливають на швидкість ферментативної реакції.

Певні речовини можуть бути інгібіторами або активаторами ферменту SDH, впливаючи на швидкість розпаду сорбітолу. Ці молекули зв'язуються з ферментом, змінюють його конформацію, перешкоджають каталітичному процесу. Наявність коферментів (NAD^+ (окислена форма) і NADH (відновлена форма) впливають на кінетику розпаду сорбітолу. Коферменти приймають участь в окисно-відновних реакціях, тобто у перетвореннях сорбіту на фруктозу (рис. 1.2.1).

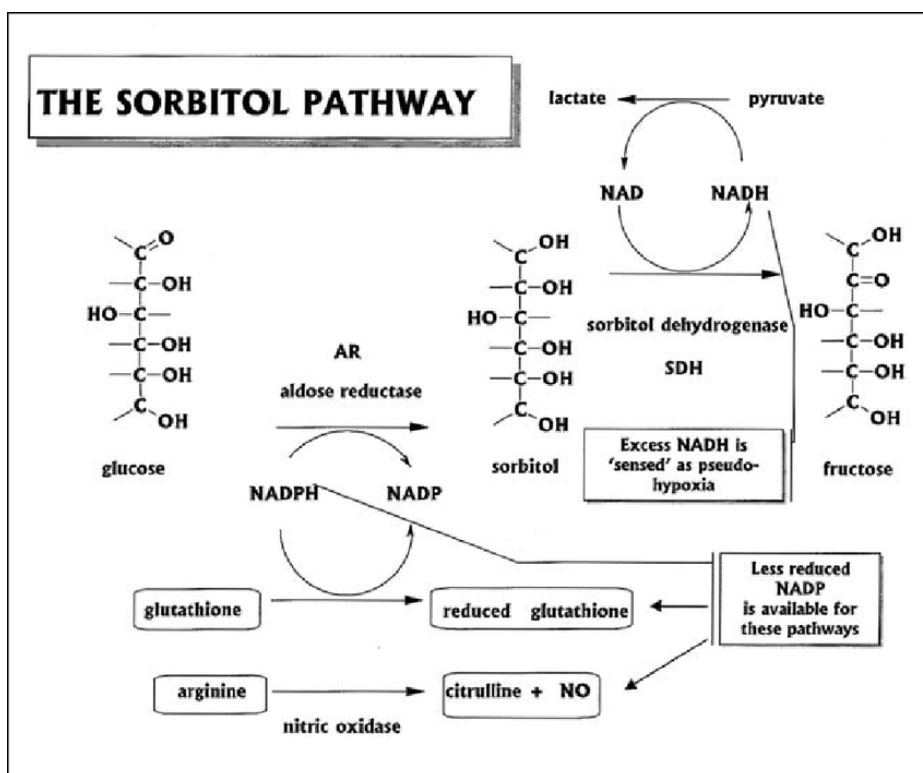


Рисунок 1.2.1. Схема біосинтезу сорбіту.

Широке використання сорбіту у різних областях виробництва представлено на рисунку 1.2.2:

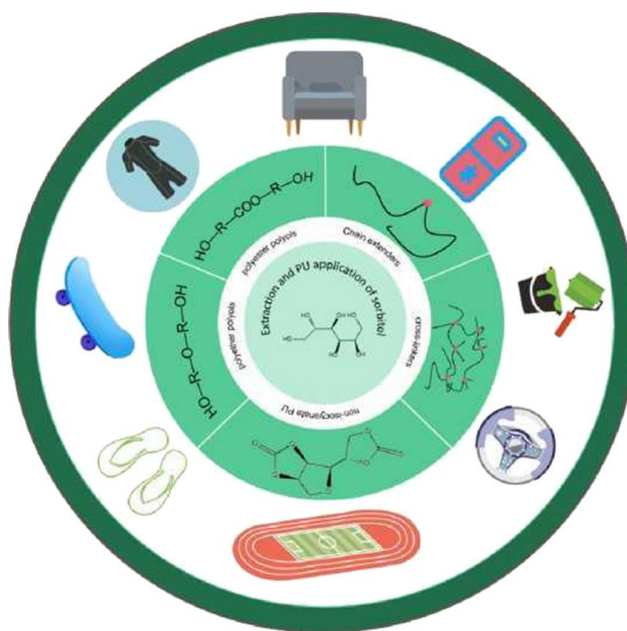


Рисунок 1.2.2. Схема використання сорбіту.

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ СОРБІТУ

2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості сорбіту

Сорбітол синтезують реакцією відновлення натрійборгідридом NaBH_4 у метанолі (рис.2.1.1).

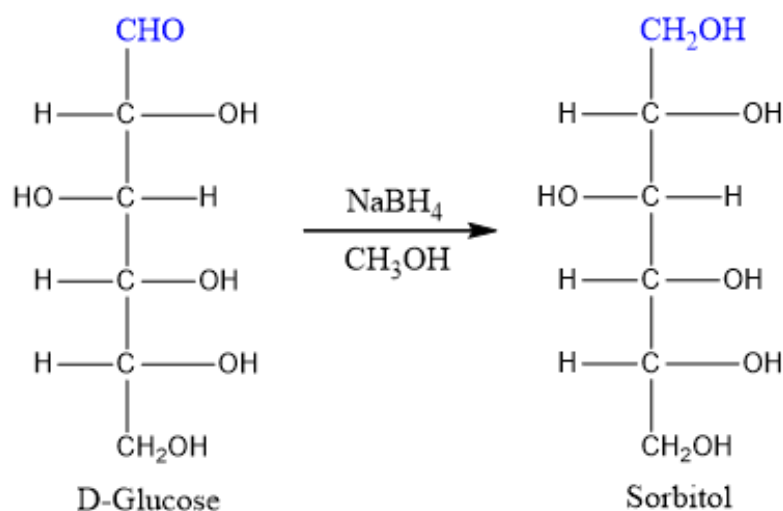


Рисунок 2.1.1. Схема синтезу сорбіту.

Серед інструментальних методів аналізу сорбіту використовують хроматографічні та спектральні методи.

Це методи ^1H ПМР, мас-спектрометрія або ГХ-мас-спектрометрія, EI (електронна іонізація)-мас-спектрометрія. Відношення отриманих сигналів зразку сорбіту представлено на рисунках 2.1.2-2.1.5.

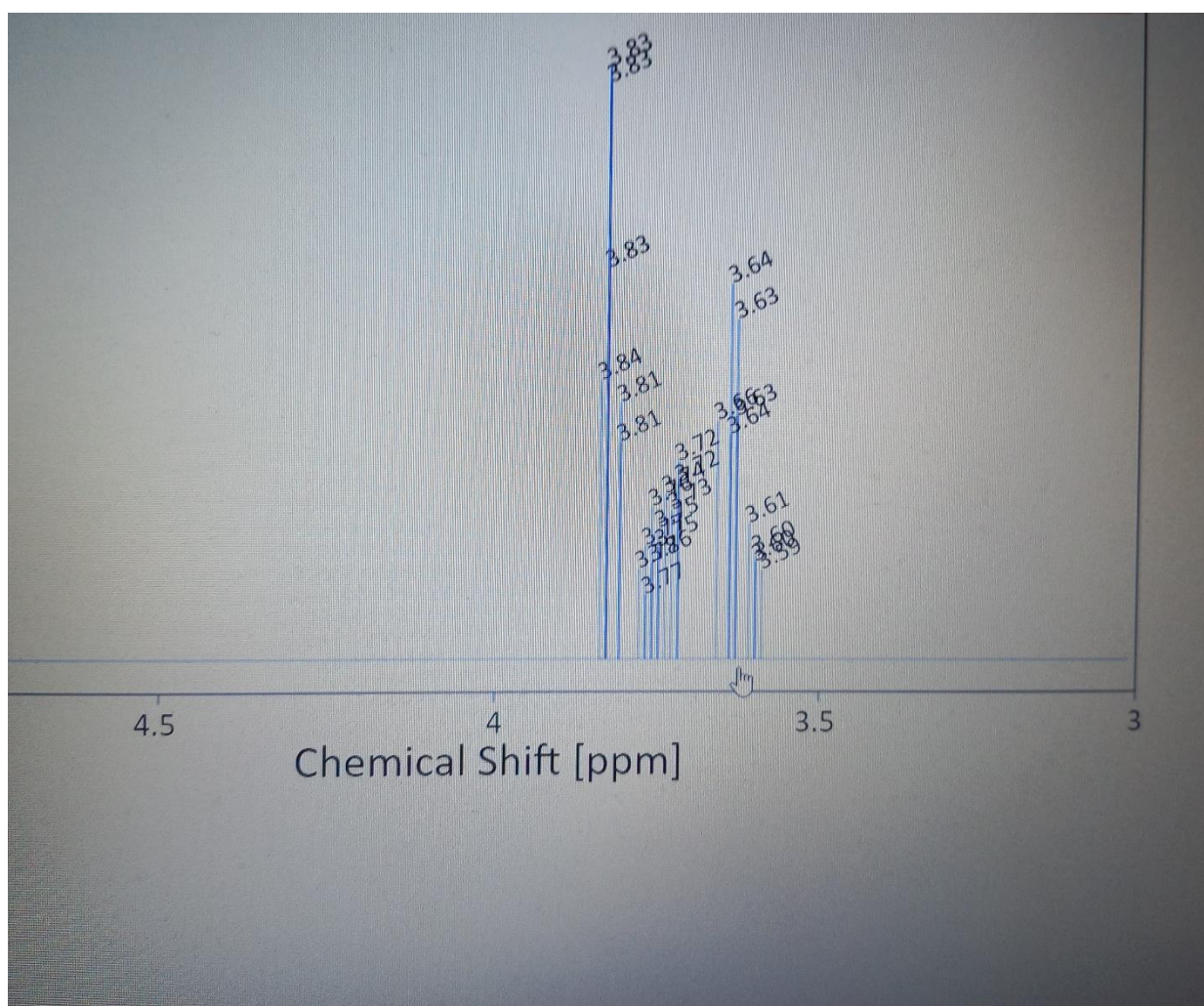


Рисунок 2.1.2. ПМР-спектр сорбіту (спектрометр «Varian», 500 МНz), розчинник – вода, рН 7.00.

Спектр містить наступні сигнали:

3.62:20.09, 3.60:12.73, 3.72:25.64, 3.77:24.90, 0.00:8.95, 3.82:28.19, 3.84:100.00,
 3.77:19.26, 3.75:23.57, 3.76:22.07, 3.81:33.77, 3.63:54.49, 3.66:62.33, 3.63:46.27,
 3.77:17.16, 3.61:15.14, 3.72:26.52, 3.67:35.00, 3.64:35.53, 3.79:15.04, 3.75:22.54,
 3.78:11.54, 3.74:18.33, 3.60:12.56.

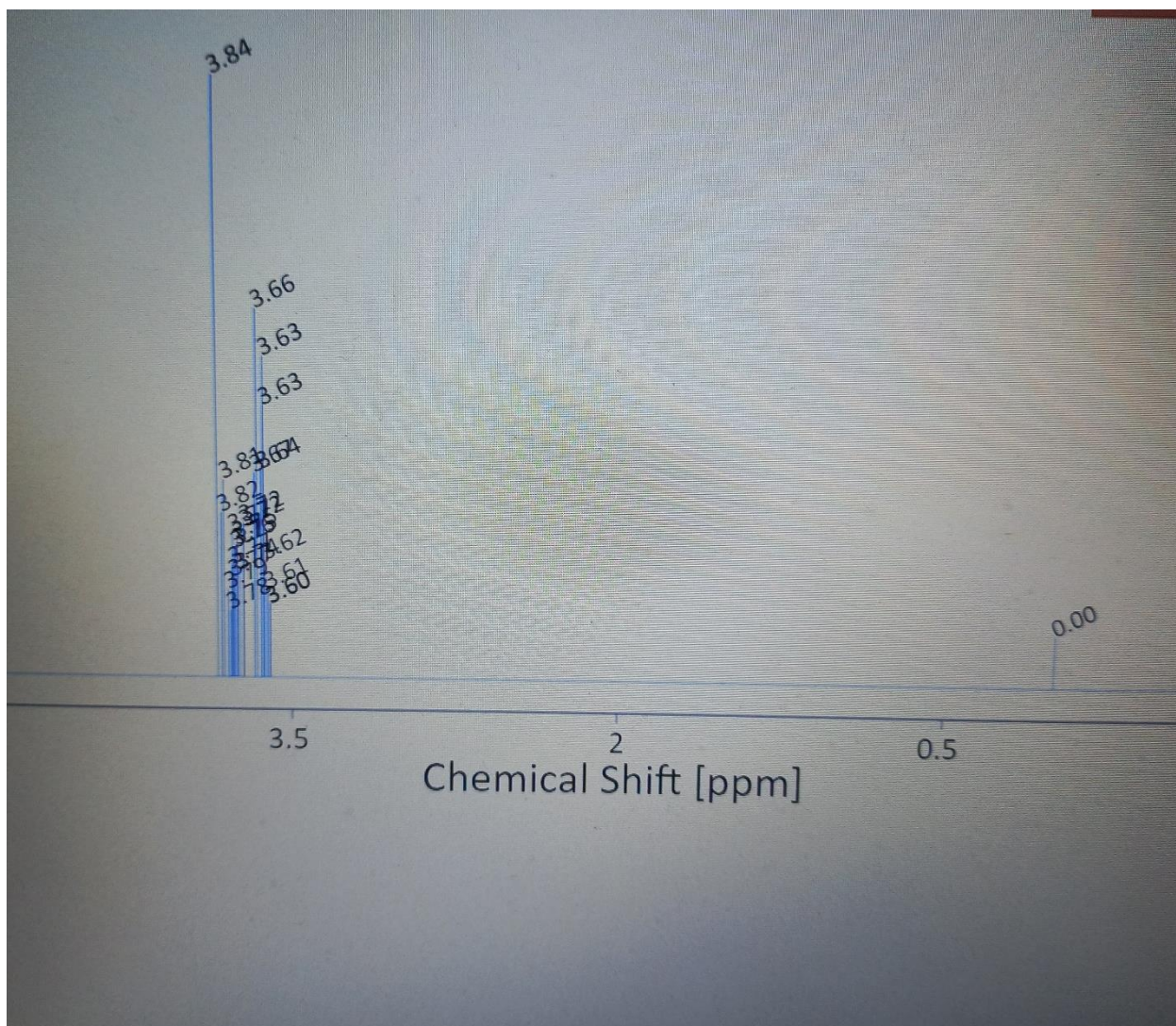


Рисунок 2.1.3. ПМР-спектр сорбіту (спектрометр «Bruker»), розчинник – D₂O, рН 7.4.

Спектр містить наступні сигнали:

3.72:5.05, 3.75:3.33, 3.61:3.47, 3.83:9.95, 3.63:8.69, 3.66:6.10, 3.84:7.09,
 3.73:3.79, 3.63:6.22, 3.60:2.48, 3.81:5.53, 3.60:2.71, 3.77:2.88, 3.59:2.28,
 3.83:15.00, 3.76:2.46, 3.81:6.53, 3.76:3.88, 3.74:4.22, 3.72:4.51, 3.64:5.75,
 3.77:1.63, 3.78:2.29, 3.64:9.60, 3.83:14.59, 3.75:2.85.

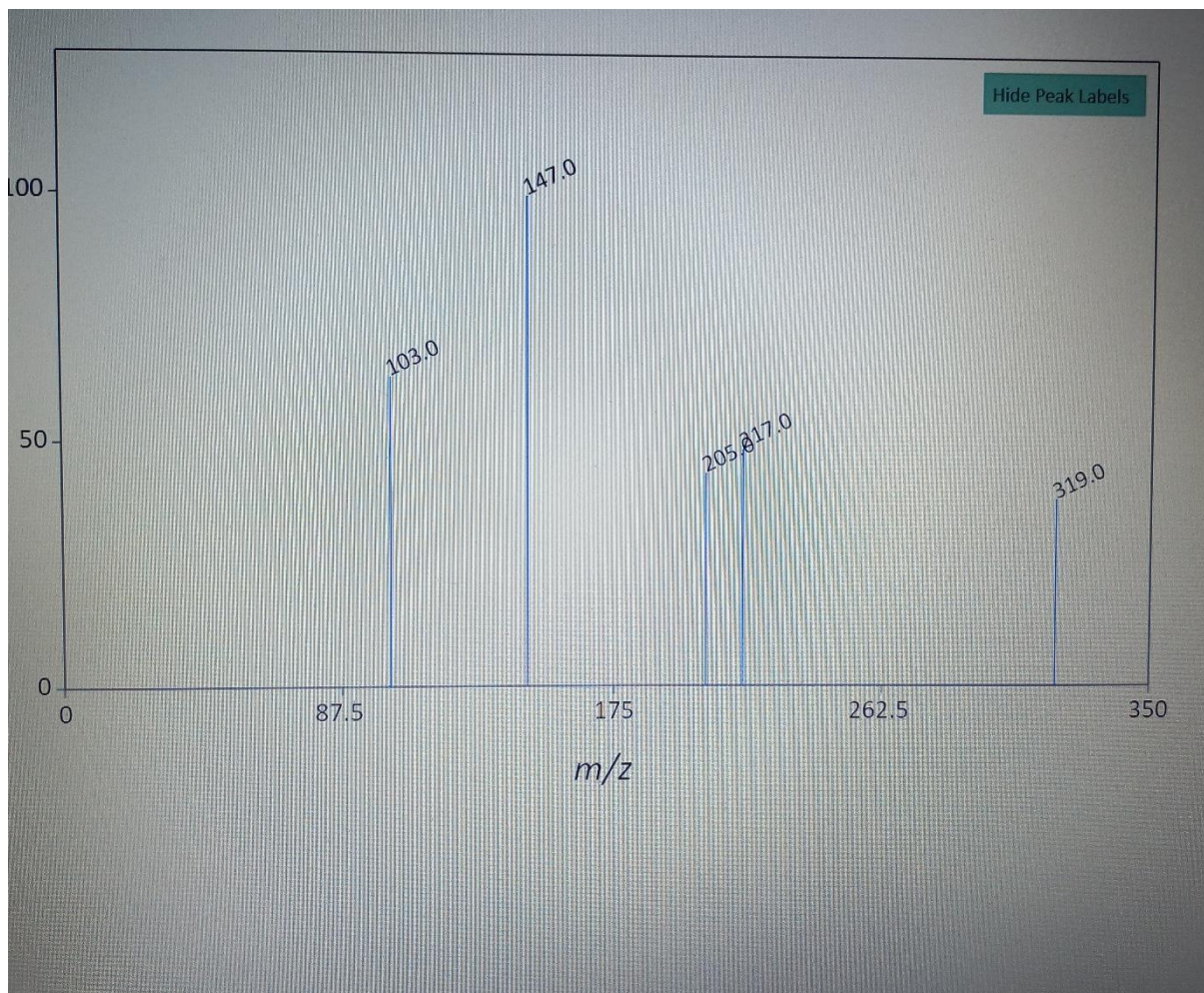


Рисунок 2.1.4. ГР-мас-спектр сорбіту (GC-EI-TOF).

Спектр містить наступні сигнали:

147.0 100, 103.0 63.56, 217.0 48.85, 205.0 44.04, 319.0 38.54

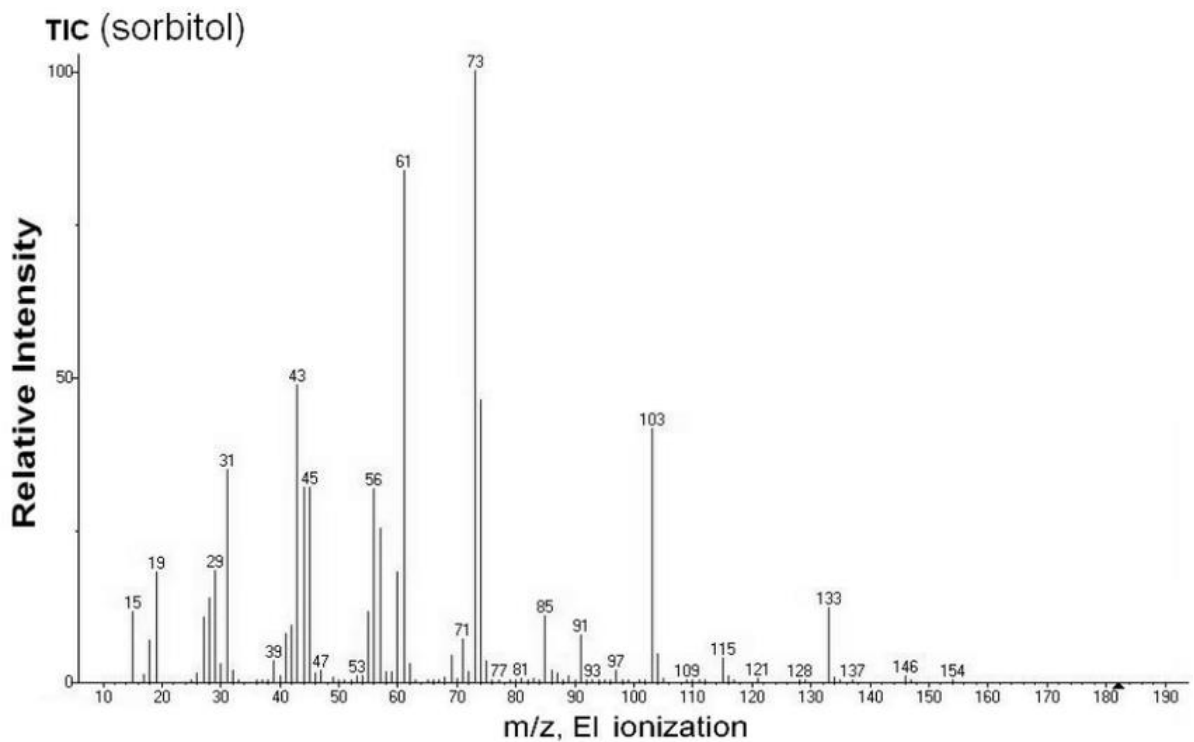


Рисунок 2.1.5. EI-мас-спектр D-сорбіту.

Синтез сорбітолу відбувається шляхом каталізу глюкози через НАДФ-залежну сорбітол-6-фосфатдегідрогеназу (S6PDH). Сорбітол розкладається до фруктози за допомогою NAD^+ сорбітолдегідрогенази. Він відіграє важливу роль в осмотичній корекції цитоплазми клітин.

Сорбітол всмоктується шляхом дифузії в тонкій кишці. Після перорального прийому він підвищує осмотичний тиск у кишечнику, що іноді призводить до діареї.

Бактеріальна ферментація сорбіту відбувається у товстому кишечнику. 10 г сорбітолу викликає метеоризм, а 20 г – спазми в животі, діарею. Часто спостерігається непереносимість сорбітолу.

Понад 30% здорових дорослих людей не переносять 10 г сорбітолу. Діабетики можуть бути схильні до непереносимості сорбітолу. Пацієнти, які перебувають на гемодіалізі, часто схильні до непереносимості сорбітолу, що відбувається внаслідок порушення всмоктування вуглеводів.

Натрію полістиролсульфонат у складі субстанції сорбітолу використовується для лікування гіперкаліємії при нирковій недостатності.

Іноді спостерігається кишковий некроз після введення натрію полістиролсульфонат у складі субстанції сорбітолу. Ускладнення можуть бути післяопераційними.

Деякі випадки ідіопатичних виразок товстої кишки у пацієнтів з нирковою недостатністю пов'язані, також, з ефектом сорбітолу.

Описано випадки великого некрозу слизової оболонки, трансмурального інфаркту товстої кишки після використання клізм з натрію полістиролсульфонат у складі субстанції сорбітолу. Вважається, що сорбітол є відповідальним за пошкодження товстої кишки.

При застосуванні окремо сорбітолу та натрію полістиролсульфонат розвивався трансмуральний некроз у 80% здорових щурів та у всіх щурів, хворих на уремію.

Сорбітолдегідрогеназа (SDH) присутня в тканинах, де вона каталізує оборотне відновлення окислення сорбітолу, фруктози та NADPH (нікотинамідаденіндинуклеотидфосфату). SDH є чутливим і специфічним індикатором гострого гепатоцелюлярного ураження. SDH має короткий період напіврозпаду та обмежену стабільність порівняно з більшістю аналітів.

Сорбітол належить до категорії цукрових спиртів. Він виробляється з глюкозо-6-фосфату під дією ферментів сорбітол-6-фосфатдегідрогенази (S6PDH) і сорбітол-6-пірофосфатази (S6PP). Експресували ген сорбітол-6-фосфатдегідрогенази (S6PDH) з яблук.

Трансформовані сорти накопичували сорбіт при впливі 200 мМ сольового стресу. Виявлено ген S6PDH у хурмі, впливали на нього 200 мМ NaCl. Трансгенні лінії накопичували сорбітол порівняно з дикими видами. Накопичення сорбітолу пояснюється посиленням фотосинтетичної активності, збільшенням вмісту хлорофілу в трансгенних лініях (рис. 2.1.6).

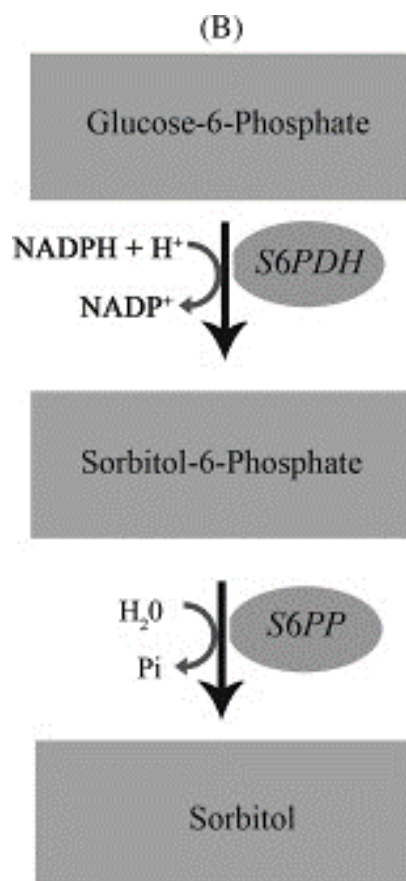


Рисунок 2.1.6. Шляхи біосинтезу сорбіту.

Сорбіт або d-глюцитол, є шестивуглецевим цукровим спиртом. Завдяки своїй солодкості (~60% порівняно з сахарозою) та високій розчинності у воді сорбітол використовується як низькокалорійний підсолоджувач.

Сорбітол є вихідним матеріалом для виробництва фармацевтичних сполук – сорбоза та аскорбінова кислота, як носій для суспензії ліків.

Цей поліол погано всмоктується або не всмоктується взагалі в тонкому кишечнику. Він може досягати товстої кишки, у якому може виступати в якості субстрату для бактеріальної ферментації. З цієї причини сорбіт може використовуватися як пребіотична сполука.

Додавання сорбітолу призвело до збагачення лактобактеріями товстої та сліпої кишки лабораторних тварин.

Виробництво сорбіту відбувається шляхом хімічного каталітичного гідрування глюкози або сумішей глюкози та фруктози. Ці процеси часто

створюють суміші сорбіту та маніту, які важко розділити.

Лише деякі мікроорганізми здатні виробляти сорбітол природним шляхом, наприклад, дріжджі: *Candida boidinii*, *Candida famata* та *Saccharomyces cerevisiae*, грамнегативні бактерії *Zygomonas mobilis*. Лише останній вид бактерій є потенціалом для промислового біотехнологічного виробництва сорбіту.

Не описано жодного штаму LAB, який може виробляти сорбіт природним шляхом. Існують деякі LAB (HeLAB і HoLAB) з катаболічними шляхами метаболізму сорбітолу.

Ферменти кодуються генами, організованими в оперони. Їх дослідження було проведене в *L. casei* та *L. plantarum*.

Сорбітол транспортується в клітини, фосфорилується до сорбітол-6-фосфату системою PTS-сорбіт.

Сорбітол-6-фосфатдегідрогеназа каталізує перетворення сорбітол-6-фосфату у фруктозо-6-фосфат. Цей фермент може каталізувати зворотню реакцію. З цієї причини метаболічна інженерія може створити рекомбінантні штами LAB, здатні синтезувати сорбіт.

Сорбітол — білий гігроскопічний кристалічний порошок. Відносна солодкість становить близько 50% порівняно з сахарозою. Профіль солодкості сорбіту часто порівнюється з глюкозою. Сфера застосування – напої, молочні продукти, кондитерські і хлібобулочні вироби. Сорбітол має номер харчової добавки E 420.

Важливі наступні властивості сорбіту:

- сорбітол має калорійність 2,6 ккал/г, забезпечує деяке зниження солодкості;
- розчинність у воді найвища для всіх поліолів;
- 70% розчин у воді є звичайною формою розчиненого сорбіту;
- сорбіт і сироп сорбіту – хороші зволожувачі, досить легко перекристалізуються;

- «некристалізований» сироп сорбіту містить побічну концентрацію сиропу маніту або полігліцитолу (HSH).
- при відносній вологості вище 55% порошок сорбіту призводить до утворення грудок і липкості;
- стійкість у випіканні дуже хороша;
- у начинках для вафель без цукру використовується додавання порошку фруктози;
- сорбіт має низьку глікемічну відповідь; ГІ сорбіту – 9;
- підходить для діабетиків;
- сорбіт не піддається зброджуванню;
- не є карієсогенним;
- сорбіт є проносним засобом;

Якщо вміст проносних поліолів у харчових продуктах становить 10% та вище, необхідно помістити попередження на етикетці відповідного продукту – «надмірне споживання може спричинити проносний ефект»

Сорбіт має м.м. 182.71 г/моль, температуру плавлення 97°C.

Не коректно підібрані хроматографічні умови під час досліджень субстанції сорбіту не дозволяють виявити неприпустимі домішки або, можуть призводити до деградації молекули сорбіту, як додаткового компоненту фармацевтичних композицій (рис. 2.1.7).

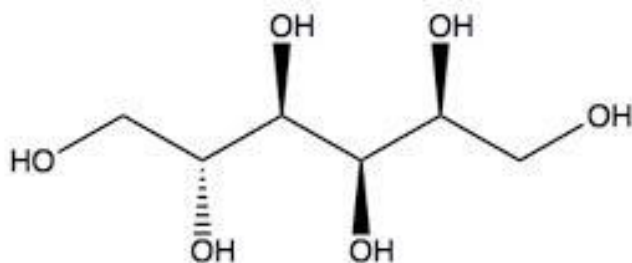


Рисунок 2.1.7. Хімічна формула сорбіту.

ДФУ [21] регламентує аналіз сорбінової кислоти. Це кристалічний порошок білого або майже білого кольору. Чистота субстанції 99.0-101.0%.

Сорбінова кислота субстанція мало розчинна у воді *P* та легко розчинна у етанолі (96%) *P*.

За ДФУ сорбінову кислоту ідентифікується за температурою плавлення, методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ- та видимій областях (2.2.25), абсорбційної ІЧ-спектрофотометрії (2.2.24), відповідністю спектру ФСЗ сорбінової кислоти.

Виконують дві ідентифікації:

I – за температурою плавлення (2.2.14) та абсорбційної ІЧ-спектрофотометрії (2.2.24)

II – за температурою плавлення (2.2.14), за методом абсорбційної спектрофотометрії в УФ- та видимій областях (2.2.25), за реакцією з бромною водою (знебарвлення розчину).

Випробувальні розчини готують із субстанції, яку розчиняють у воді з додаванням хлористоводневої кислоти.

У якості супровідних домішок виявляють альдегіди (не більше 0.15%) реакцією з фуксином, важкі метали (2.4.8) – не більше 0.001%.

Кількісне визначення виконують титруванням з розчином натрію гідроксиду та фенолфталеїну, у якості індикатору.

Європейська Фармакопея регламентує аналіз сорбіту (07/2019:0435) [22]. Ідентифікація субстанції виконується ТШХ (2.2.27). Рухома фаза складається із: води *P*- етилацетату *P* – пропанолу *P* (10 : 20 : 70, V/V/V).

Споріднені речовини виявляють методом РХ (2.2.29). Тестовий розчин субстанції готують у воді.

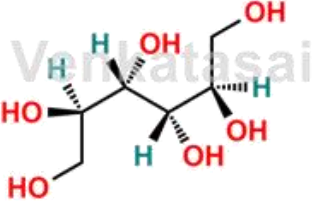
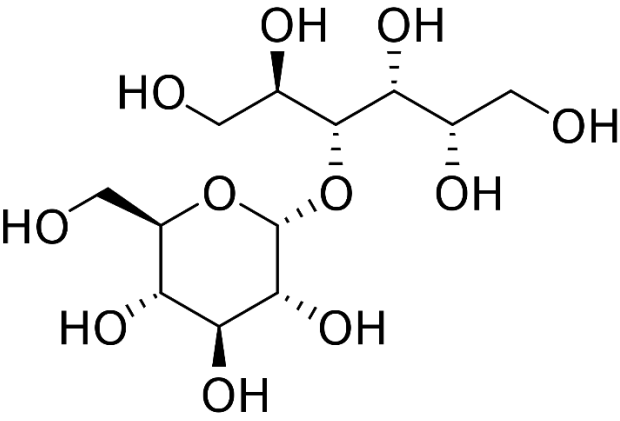
Рухома фаза – вода дегазована *P*.

Ліміти для вмісту домішки:

люба домішка – 2.0%,

разом, домішки – 3.0%.

Регламентовані домішки сорбіту: А, В, С.

$ \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{HC}-\text{OH} \\ \\ \text{HC}-\text{OH} \\ \\ \text{HO}-\text{CH} \\ \\ \text{HO}-\text{CH} \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array} $	<p>Домішка А D-манітол</p>
	<p>Домішка В Ідітол</p>
	<p>Домішка С 4-O-α-D- глюкопіранози л-D-глюцитол (D-малтітол)</p>

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Державна Фармакопея України регламентує аналіз тільки сорбінової кислоти субстанції. Аналіз відбувається досить простими методами, без застосування інструментальних методів високої селективності, таких, як ВЕРХ.

Європейська Фармакопея пропонує більш ретельний аналіз сорбіту, для чого пропонують спектральні методи – ІЧ-, УФ- та рідинна хроматографія. Регламентується лише 3 супровідні домішки А, В, С, кількість яких не повинна перевищувати 3,0%. Це: домішка А – D-манітол, Домішка В – Ідітол, Домішка С – 4-О- α -D-глюкопіранозил-D-глюцитол (D-малтітол).

Однак, ці дослідження супровідних речовин сорбіту не проводили за методом ВЕРХ. В даній роботі така процедура виконується та описується вперше.

Окрім сорбіту безводної субстанції, регламентується аналіз:

Сорбіту рідкого кристалізованого,

Сорбіту рідкого некристалізованого,

Сорбіту рідкого частково дегідрованого.

Субстанція сорбіту має різну розчинність у органічних розчиняється погано, у неорганічних розчинниках – вода, спирт – розчиняється краще. Також, на розчинність впливає полярність розчинника.

Чистота. Субстанція повинна бути чистоти 97.0-102.0% (безводна субстанція).

Ідентифікація I проводиться за методом рідинної хроматографії. Порівняння проводиться із стандартом сорбіт CRS.

Ідентифікація II проводиться за методами: хімічним (досліджуваний зразок розчиняють у піридині та ацетатному ангідриді з подальшою рекристалізацією із етанолу та визначенням температури плавлення - повинна бути у інтервалі 98-104 °C), ТШХ (стандарт готують розчиненням сорбіту CRS

у воді *R*, рухома фаза – вода *R*-етил ацетат *R*-пропанол *R*), визначення специфічного оптичного обертання (2.2.7): +4.0 – +7.0.

Споріднені сполуки досліджуються методом рідинної хроматографії (РХ), (2.2.29). Субстанцію розчиняють у воді *R*.

Серед регламентованих Eur.Ph. специфікованих та неспецифікованих домішок субстанції сорбіту 3 речовини: А, В, С.

ДФУ встановлюються ліміти на домішки:

- ліміт для кожної домішки А або В або С – 2.0%
- сумарно, домішки А+В+С – 3.0%

Контроль специфікованих домішок виконується методом РХ.

Нами проведено хроматографічне дослідження за допомогою методу ВЕРХ субстанції сорбіту з метою розробки та опрацювання коректних умов хроматографування та методи, які дозволять виявити у її складі супровідні домішки та зберегти структуру компонентів хімічної суміші.

Матеріали та методи.

- Для проведення запланованих інструментальних досліджень використовували хроматограф Agilent 1200 з колонкою – SUPELCOGEL Са, 300x7,80x9 та рефрактометричний детектор.

Умови хроматографування:

- потік – 0,5 мл/хв;
- детектування – рефрактометричний детектор;
- об'єм інжекції – 20 мкл;
- температура колонки – 80°C;
- рухома фаза – вода для ВЕРХ;
- час хроматографування – 60 хв.

Методика приготування випробуваного розчину:

Випробуваний розчин. 5,0 г субстанції розчиняють у 100 мл води.

Методика приготування розчину порівняння (a):

Розчин порівняння (a). 0,5 г фармакопейного стандартного зразка Державної Фармакопеї України сорбіту розчиняють у 10 мл води.

Методика приготування розчину порівняння (b):

Розчин порівняння (b). 2,0 мл випробуваного розчину доводять до 100 мл водою.

Методика приготування розчину порівняння (d):

Розчин порівняння (d). 0,5 г фармакопейного стандартного зразка Державної Фармакопеї України сорбіту та 0,5 г фармакопейного стандартного зразка Державної Фармакопеї України маніту розчиняють у 10 мл води.

Для визначення сторонніх домішок методом ВЕРХ використовували реактиви: вода (чистоти для ВЕРХ).

Умови придатності системи:

коефіцієнт розділення піків домішки А та сорбіту на хроматограмах розчину порівняння (d) становить не менше 2,0.

На хроматограмі випробуваного розчину площа будь якого піка, крім основного, не має перевищувати площу основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (2,0%).

На хроматограмі випробуваного розчину сума площ усіх піків, крім основного, не має перевищувати 1,5 площі основного піка на хроматограмі розчину порівняння (b) (3,0%).

При проведенні комп'ютерного аналізу використовували програму OpenLab CDS.

Отримані результати.

При дослідженні стандартних зразків ДФУ- стандарт А, стандарт В, стандарт С, стандарт D, тестового розчину 2123 досліджуваного зразку отримано наступні результати (табл. 3.1-3.4).

Таблиця 3.1. Розчини стандарту А.

	Стандарт А	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	21,957	19584219,706
	21,954	19502998,393
	21,985	19486483,710
Середнє	21,965	19524567,270
SD	0,017	52316,284
RSD($\leq 2.0\%$)	0,08%	0,27%

Розчини стандартні:

Стандарт А:

- значення R_t знаходиться в інтервалі 21,954-21,985 хв;
- середнє значення R_t стандартів знаходиться в інтервалі 21,965 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 19486483,710-19584219,706;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 19524567,270;
- SD R_t 0,017;
- SD A_r 52316.284;
- RSD R_t ($< 2.0\%$) 0.08%;
- RSD A_r ($< 2.0\%$) 0.27%.

Таблиця 3.2. Розчини стандартів В, С.

	Стандарт В		Стандарт С	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	22,163	348627,559	22,196	24637,780
	22,149	338514,427	22,203	19447,699
	22,148	343203,412	22,202	17790,871
Середнє	22,153	343448,466	22,200	22042,740
SD	0,008	5061,018	0,005	3572,165
RSD(≤2.0%)	0,04%	1,47%	0,02%	16,21%

Розчини стандартні:

Стандарт В:

- значення *Rt* знаходиться в інтервалі 22,148-22,163 хв;
- середнє значення *Rt* стандартів знаходиться в інтервалі 22,153 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 338514,427-348627,559;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 343448,466;
- SD *Rt* 0.008;
- SD *Ar* 5061.018;
- RSD *Rt* (<2.0%) 0.04%;
- RSD *Ar* (<2.0%) 1.47%.

Стандарт С:

- значення *Rt* знаходиться в інтервалі 22,196-22,203 хв;
- середнє значення *Rt* стандартів знаходиться в інтервалі 22,200 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 17790,871-24637,780;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 22042,740;

- SD Rt 0.005;
- SD Ar 3572.165;
- RSD Rt (<2.0%) 0.02%;
- RSD Ar (<2.0%) 16.21%.

Таблиця 3.3. Розчин стандарту D.

	Стандарт D				
	Маніт (Imp A)		Сорбіт		R
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	
	18,849	18795713,304	21,962	21107419,764	2,7
	18,844	18787653,291	21,961	21112583,176	2,8
	18,828	18770876,114	21,942	21088374,200	2,7
Середнє	18,840	18784747,570	21,955	21102792,380	2,7
SD	0,011	12670,987	0,011	12750,613	
RSD(≤2.0%)	0,06%	0,07%	0,05%	0,06%	

Стандарт D:

Маніт (Домішка A):

- значення Rt знаходиться в інтервалі 18,828-18,849 хв;
- середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 18,840 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 18770876,114-18795713,304;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 1878447,570;
- SD Rt 0.011;
- SD Ar 12670.987;
- RSD Rt (<2.0%) 0.06%;
- RSD Ar (<2.0%) 0.07%.

Сорбіт:

- значення Rt знаходиться в інтервалі 21,942-21,962 хв;
- середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 21,955 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 21088374,200-21112583,176;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 21102792,380;
- SD Rt 0.011;
- SD Ar 12750.613;
- RSD Rt (<2.0%) 0.05%;
- RSD Ar (<2.0%) 0.06%.

R – 2,7-2,8

Таблиця 3.4. Розчин досліджуваного зразку.

	Тест 2123						
	Малтітол (Imp C)		Маніт (Imp A)		Сорбіт		Ідітол (Imp B)
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	
	14,282	30671,330	18,931	131362,547	22,120	19227918,004	
	14,246	63755,324	18,887	113658,251	22,090	19589882,009	-
	14,252	50522,222	18,897	123430,643	22,094	19462536,464	
Середнє	14,260	48316,292	18,905	122817,147	22,101	19426778,826	-

Розчини зразку:

Сорбіт:

- значення Rt знаходиться в інтервалі 22,090-22,120 хв;
- середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 22,101 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 19227918,004-19589882,009

- середнє значення площини піку на хроматограмі зразку 19426778,826;
 - SD Rt 0.011;
 - SD Ar 12750.613;
 - RSD Rt (<2.0%) 0.05%;
 - RSD Ar (<2.0%) 0.06%.
- R – 2,7-2,8*

Маніт (Домішка А):

- значення Rt знаходиться в інтервалі 18,887-18,931 хв;
- середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 18,905 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 113658,251-131362,547;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 122817,147;
- SD Rt 0.011;
- SD Ar 12670.987;
- RSD Rt (<2.0%) 0.06%;
- RSD Ar (<2.0%) 0.07%.

Малтітол (Домішка С):

- значення Rt знаходиться в інтервалі 14,246-14,282 хв;
- середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 14,260 хв;
- площа піка на хроматограмі коливається в інтервалі 30671,330-63755,324;
- середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 48316,292.

Ідітол (Домішка В): не виявлена.

Таким чином, виявлені специфіковані домішки А, С та 1 неспецифікована домішка.

Хроматограми представлено на рисунках 3.1-3.4.

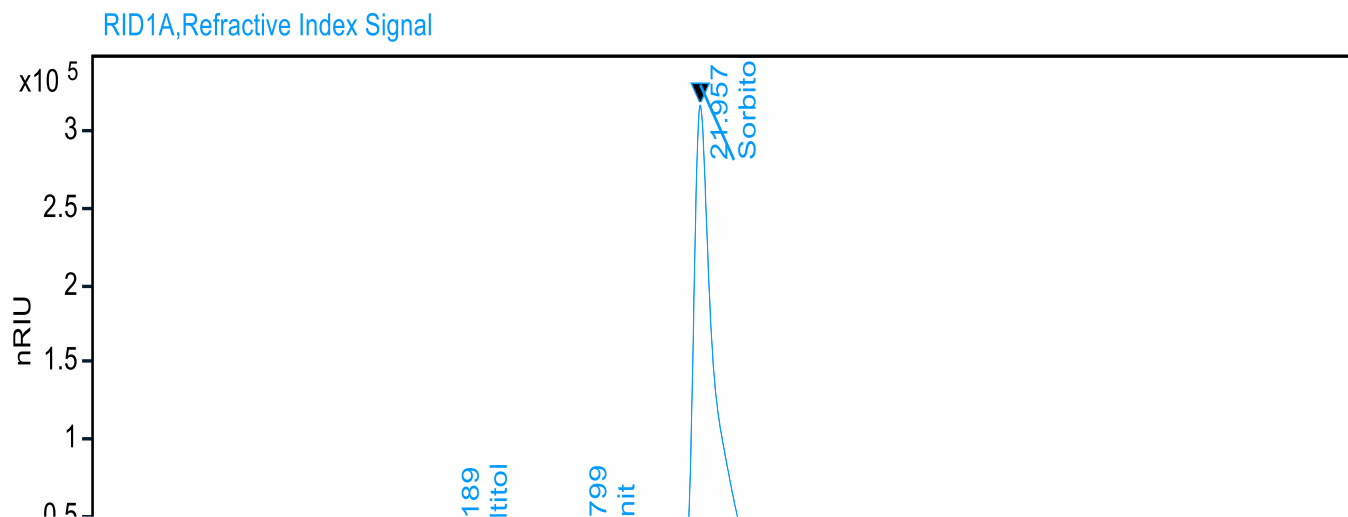


Рисунок 3.1. Хроматограма стандартного зразку А: сорбіт ($R_t=21,957$ хв), домішка А – Маніт ($R_t=18,799$ хв), домішка С – Малтітол ($R_t=14,189$ хв).

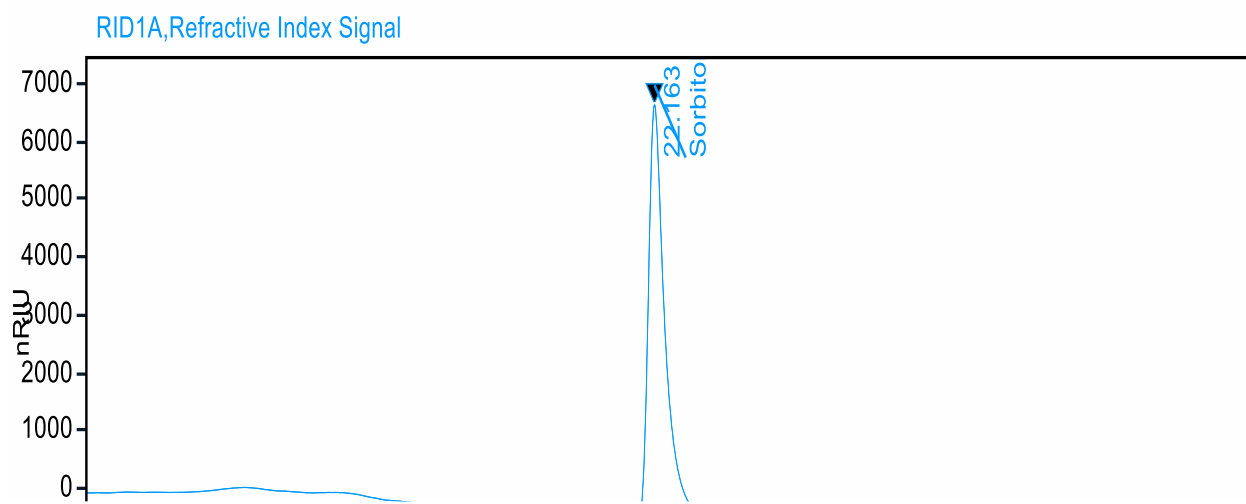


Рисунок 3.2. Хроматограма стандартного зразку В: сорбіт ($R_t=22,163$ хв).

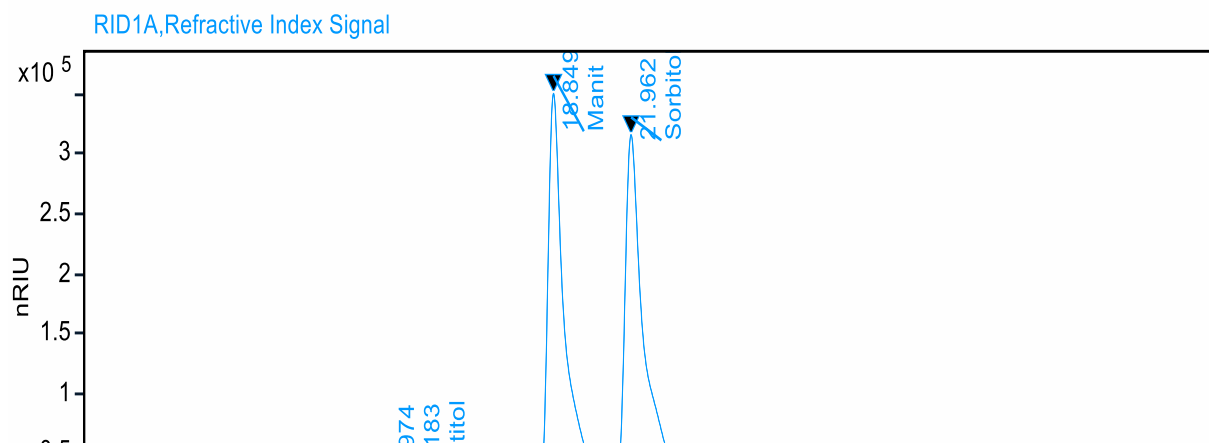


Рисунок 3.3. Хроматограма стандартного зразку D: сорбіт ($R_t=21,962$ хв), домішка А – Маніт ($R_t=19,649$ хв), домішка С – Малтітол ($R_t=14,183$ хв), неідентифікована домішка ($R_t=12,974$ хв).

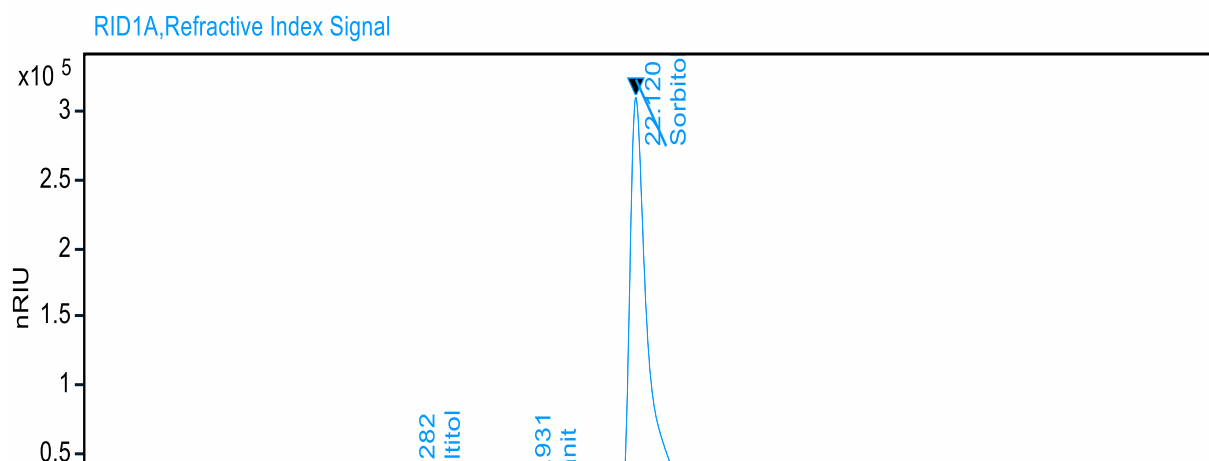


Рисунок 3.4. Хроматограма досліджуваного зразку: сорбіт ($R_t=22,120$ хв), домішка А – Маніт ($R_t=18,931$ хв), домішка С – Малтітол ($R_t=14,282$ хв).

Сорбіт (зміни, що відбулися у хроматографічній картині):

<i>Сорбіт, стандарти А, В, С, D:</i>	<i>Сорбіт, зразок:</i>
Значення R_t знаходиться в інтервалі:	Значення R_t знаходиться в інтервалі 22,090-22,120 хв.
Стандарт А - 21,954-21,985 хв;	
Стандарт В - 22,148-22,163 хв;	
Стандарт С - 22,196-22,203 хв;	

<p>Стандарт D - 21,942-21,962 хв.</p> <p>Середнє значення Rt стандартів знаходиться в інтервалі 21,955-22,200 хв.</p> <p>Стандарт А:</p> <p>Площина піка на хроматограмі коливається в інтервалі 19486483,710-19584219,706.</p> <p>Середнє значення площини піку на хроматограмі стандартного зразку 19524567,270.</p> <p>SD Rt 0,017.</p> <p>SD Ar 52316.284.</p> <p>RSD Rt (<2.0%) 0.08%.</p> <p>RSD Ar (<2.0%) 0.27%.</p>	<p>Середнє значення Rt при 22,101 хв;</p> <p>Площина піка на хроматограмі коливається в інтервалі 19227918,004-19589882,009.</p> <p>Середнє значення площини піку на хроматограмі зразку 19426778,826.</p> <p>SD Rt 0.011.</p> <p>SD Ar 12750.613.</p> <p>RSD Rt (<2.0%) 0.05%.</p> <p>RSD Ar (<2.0%) 0.06%.</p> <p>R – 2,7-2,8.</p>
--	---

Таким чином, у складі субстанції сорбіту виявлено домішку А – Маніт (Rt=18,931 хв), домішку С – Малтітол (Rt=14,282 хв) та не виявлено домішку В – Ідітол. Крім того, стандарт D містить неідентифіковану домішку (Rt=12,974 хв).

ВИСНОВКИ

1. Розроблені коректні умови дослідження методом ВЕРХ з субстанції сорбіту, які дозволять виявити у її складі супровідні домішки та зберегти структуру компонентів хімічної суміші на хроматографі Agilent 1200 з колонкою – SUPELCOGEL Ca, 300x7,80x9 та рефрактометричним детектуванням.
2. Розроблено методику хроматографування методом ВЕРХ та методики приготування досліджуваних розчинів сорбіту: методику приготування випробуваного розчину (5,0 г субстанції розчиняють у 100 мл води), методики приготування розчинів порівняння (a), (b), (d).
3. Проведене хроматографічне дослідження методом ВЕРХ з рефрактометричним детектуванням, в результаті чого, виявлено, що хроматографічні умови та методики дослідження розроблено коректно: сорбіт (досліджуваний зразок) – пік має значення R_t в інтервалі 22,090-22,120 хв. із середнім значенням R_t 22,101 хв; площа піку коливається в інтервалі 19227918,004-19589882,009 із середнім значенням площини піку 19426778,826; у складі субстанції сорбіту виявлено домішку А – Маніт ($R_t=18,931$ хв), домішку С – Малтітол ($R_t=14,282$ хв) та не виявлено домішку В – Ідітол, також виявлено, що стандарт D містить неідентифіковану домішку ($R_t=12,974$ хв).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ

1. Ranjeet Prasad Dash, Nuggehally R Srinivas , R Jayachandra Babu. Use of sorbitol as pharmaceutical excipient in the present day formulations - issues and challenges for drug absorption and bioavailability. *Drug Dev Ind Pharm.* 2019 Sep;45(9):1421-1429. doi: 10.1080/03639045.2019.1640722.
2. Chen ML, Straughn AB, Sadrieh N, Meyer M, Faustino PJ, Ciavarella AB, Meibohm B, Yates CR, Hussain AS. A modern view of excipient effects on bioequivalence: case study of sorbitol. *Pharm Res.* 2007 Jan;24(1):73-80. doi: 10.1007/s11095-006-9120-4. Epub 2006 Oct 18. PMID: 17048115 Clinical Trial.
3. Flanagan T. *Eur J Pharm Biopharm.* Potential for pharmaceutical excipients to impact absorption: A mechanistic review for BCS Class 1 and 3 drugs. 2019 Aug;141:130-138. doi: 10.1016/j.ejpb.2019.05.020. Epub 2019 May 22. PMID: 31128247 Review.
4. Effect of Common Excipients on the Oral Drug Absorption of Biopharmaceutics Classification System Class 3 Drugs Cimetidine and Acyclovir. Vaithianathan S, Haidar SH, Zhang X, Jiang W, Avon C, Dowling TC, Shao C, Kane M, Hoag SW, Flasar MH, Ting TY, Polli JE. *J Pharm Sci.* 2016 Feb;105(2):996-1005. doi: 10.1002/jps.24643. Epub 2016 Jan 12. PMID: 26375604 Clinical Trial.
5. Analysis of the impact of controlled release formulations on oral drug absorption, gut wall metabolism and relative bioavailability of CYP3A substrates using a physiologically-based pharmacokinetic model. Olivares-Morales A, Kamiyama Y, Darwich AS, Aarons L, Rostami-Hodjegan A. *Eur J Pharm Sci.* 2015 Jan 25;67:32-44. doi: 10.1016/j.ejps.2014.10.018. Epub 2014 Nov 5. PMID: 25444842

6. Evaluation of Excipient Risk in BCS Class I and III Biowaivers. Metry M, Polli JE. *AAPS J.* 2022 Jan 5;24(1):20. doi: 10.1208/s12248-021-00670-1. PMID: 34988701. Review.
7. Sugars and Polyols of Natural Origin as Carriers for Solubility and Dissolution Enhancement. Poka MS, Milne M, Wessels A, Aucamp M. *Pharmaceutics.* 2023 Oct 30;15(11):2557. doi: 10.3390/pharmaceutics15112557. PMID: 38004536 Free PMC article. Review.
8. Cannabidiol and Cannabidiol Metabolites: Pharmacokinetics, Interaction with Food, and Influence on Liver Function. Abbotts KSS, Ewell TR, Butterklee HM, Bomar MC, Akagi N, Dooley GP, Bell C. *Nutrients.* 2022 May 21;14(10):2152. doi: 10.3390/nu14102152. PMID: 35631293 Free PMC article. Clinical Trial.
9. Biocatalytic Approach for Direct Esterification of Ibuprofen with Sorbitol in Biphasic Media. Zappaterra F, Rodriguez MEM, Summa D, Semeraro B, Costa S, Tamburini E. *Int J Mol Sci.* 2021 Mar 17;22(6):3066. doi: 10.3390/ijms22063066. PMID: 33802769 Free PMC article.
10. Liposomes for Enhanced Bioavailability of Water-Insoluble Drugs: In Vivo Evidence and Recent Approaches. Lee MK. *Pharmaceutics.* 2020 Mar 13;12(3):264. doi: 10.3390/pharmaceutics12030264. PMID: 32183185 Free PMC article. Review.
11. <http://www.vidal.ru/drugs/moleculе/307> [Архівовано 24.01.2021, Wayback Machine].
12. Bhalani D.V., Nutan B., Kumar A., Singh Chandel A.K. Bioavailability Enhancement Techniques for Poorly Aqueous Soluble Drugs and Therapeutics. *Biomedicines.* 2022;10:2055. doi: 10.3390/biomedicines10092055.
13. Ainurofiq A., Putro D.S., Ramadhani D.A., Putra G.M., Do Espirito Santo L.D.C. A Review on Solubility Enhancement Methods for Poorly Water-

- Soluble Drugs. *J. Rep. Pharm. Sci.* 2021;10:137–147. doi: 10.4103/jrptps.JRPTPS_134_19.
14. Pešić N., Dapčević A., Ivković B., Kachrimanis K., Mitrić M., Ibrić S., Medarević D. Potential Application of Low Molecular Weight Excipients for Amorphization and Dissolution Enhancement of Carvedilol. *Int. J. Pharm.* 2021;608:121033. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.121033.
 15. Tekade A.R., Yadav J.N. A Review on Solid Dispersion and Carriers Used Therein for Solubility Enhancement of Poorly Water Soluble Drugs. *Adv. Pharm. Bull.* 2020;10:359–369. doi: 10.34172/apb.2020.044.
 16. Effect of Sorbitol on Alpha-Crystallin Structure and Function.
 17. Kumar CU, Suryavanshi U, Sontake V, Reddy PY, Sankhala RS, Swamy MJ, Reddy GB. *Biochemistry (Mosc.)*. 2022 Feb;87(2):131-140. doi: 10.1134/S0006297922020055. PMID: 35508910
 18. Sorbitol dehydrogenase. Jeffery J, Jörnvall H. *Adv Enzymol Relat Areas Mol Biol.* 1988;61:47-106. doi: 10.1002/9780470123072.ch2.
 19. Sorbitol reduction via govorestat ameliorates synaptic dysfunction and neurodegeneration in sorbitol dehydrogenase deficiency. Zhu Y, Lobato AG, Rebelo AP, Canic T, Ortiz-Vega N, Tao X, Syed S, Yanick C, Saporta M, Shy M, Perfetti R, Shendelman S, Züchner S, Zhai RG. *JCI Insight.* 2023 May 22;8(10):e164954. doi: 10.1172/jci.insight.164954. PMID: 37014713
 20. Kit-based synthesis of 2-deoxy-2-[¹⁸F]-fluoro-D-sorbitol for bacterial imaging. Mota F, De Jesus P, Jain SK. *Nat Protoc.* 2021 Nov;16(11):5274-5286. doi: 10.1038/s41596-021-00613-2. Epub 2021 Oct 22. PMID: 34686858
 21. Державна Фармакопея України. 2-ге вид., у 3-х т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. 2014. Т. 2. С. 593-594.
 22. *European Pharmacopoeia*. Strasburg. 10-th ed. V.1.2019, p.3865-3870.

SUMMARY

Kryvoshey Maryna
MODIFICATION OF THE HPLC METHOD OF CONFIRMING THE CONTENT OF SORBITOL AND PERMISSIBLE OR UNACCEPTABLE IMPURITIES IN THE COMPOSITION OF A BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCE

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: as. But I.O., doctor of chemical sciences, as. Levin M.G.

Keywords: sorbitol, HPLC, admixture.

Introduction. Sorbitol (glucitol) is an organic substance that belongs to six-atom alcohols. According to the chemical nomenclature, IUPAC is called (2S,3R,4R,5R)-hexane-1,2,3,4,5,6-hexol. Sorbitol is found in natural sources (plants, algae), is used as a sweetener in the food industry, as an additional substance in pharmaceutical compositions. It is used as a non-stimulating laxative in the form of an oral suspension or enema. Sorbitol is obtained by hydrogenation of D-glucose. Quite often, sorbitol is used in combination with other medicinal substances. As a reactive alcohol, sorbitol can enter into a chemical interaction with other components of the mixture, which will lead to the formation of additional substances, the content of which is not regulated by the Pharmacopoeia. The development and adaptation of chromatographic conditions by the HPLC method of the sorbitol substance is an urgent task of pharmaceutical analysis for the detection of unspecified impurities and unacceptable substances not declared by the manufacturer of the substance

Materials and methods. Research object are sorbitol substances, standard samples. Research subject: implementation of HPLC method to pharmaceutical analysis of sorbitol. Methods: HPLC (Agilent 1200 with refractometric detection, column – SUPELCOGEL Ca, 300x7,80x9; computer analysis using the OpenLab CDS program.

Results. The correct conditions for the HPLC study of the sorbitol substance have been developed, which will allow detecting accompanying impurities in its composition and preserving the structure of the components of the chemical mixture on an Agilent 1200 chromatograph with a column - SUPELCOGEL Ca, 300x7.80x9 and refractometric detection. The technique of chromatography by the HPLC method and the method of preparation of the tested sorbitol solutions were developed: the method of preparation of the tested solution (5.0 g of the substance is dissolved in 100 ml of water), the method of preparation of comparison solutions (a), (b), (d).

Conclusions. A chromatographic study was carried out using the HPLC method with refractometric detection, as a result of which it was found that the chromatographic conditions and research methods were developed correctly: sorbitol (the studied sample) - the peak has an R_t value in the interval of 22.090-22.120 min. with an average R_t value of 22.101 min; the peak plane varies in the interval 19227918.004-19589882.009 with the average value of the peak plane 19426778.826; in the composition of the sorbitol substance, impurity A – Mannitol ($R_t=18.931$ min), impurity C – Maltitol ($R_t=14.282$ min) and impurity B – Iditol were not detected, it was also found that standard D contains an unidentified impurity ($R_t=12.974$ min).

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.

1. Welchinska O., Krivoshey M. POSSIBILITIES OF COMPUTER PROGRAMS FOR PREDICTING THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF BIOMOLECULES. Тези доповіді на конференцію «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвячена 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р., стор. 377.

