

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ
О.О.БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра хімії ліків та лікарської токсикології

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему **ФІЗИКО-ХІМІЧНІ МЕТОДИ ОЦІНКИ ЯКОСТІ СУБСТАНЦІЇ**
ІНДОЛ-3-КАРБІНОЛА

Виконав: здобувач вищої освіти 6 курсу, групи 882А
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)

Колоскова В.В.
(прізвище та ініціали)

Керівник - к.х.н. доцент Глушаченко О.О.
к.х.н. Сиротчук О.А.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент
доктор біологічних наук , професор Мінарченко В.М

Київ – 2024

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ІНДОЛ-3-КАРБІНОЛ ЯК ДІЄТИЧНА ДОБАВКА	6
1.1. Фармакологічні властивості індол-3-карбінолу	6
1.1.1 Серцево-судинні захворювання	6
1.1.2 Модуляція клітинних сигнальних шляхів індол-3-карбінолу	7
1.1.3 Роль ІЗС у контролі раку	10
1.2. ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ІНДОЛ-3-КАРБІНОЛУ	16
1.3. МЕТОДИ АНАЛІЗУ ІНДОЛ-3-КАРБІНОЛУ.	16
1.3.1 Високоефективна рідинна хроматографія (ДФУ, 2.2.29)	16
1.3.2 Спектрофотометрія в УФ та видимій областях (ДФУ, 2.2.25)	17
1.3.3 Спектретрія в ІЧ - області (ДФУ., 2.2.24)	18
1.3.4 Визначення води по Фішеру (ДФУ, 2.5.12)	19
1.3.5 Метод визначення загальної золи (ДФУ., 2.4.16)	20
1.3.6 Метод визначення сульфатної золи (ДФУ, 2.4.14)	20
1.4 МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ІНДОЛ-3-КАРБІНОЛУ ТА ПРОДУКТІВ ЙОГО КОНДЕНСАЦІЇ	20
1.4.1 Метод визначення індол-3-карбінолу методом ВЕРХ	20
1.4.2. Визначення індол-3-карбінолу та індол-3-ацетонітрилу в овочах капусти за допомогою високоефективної рідинної хроматографії з флуоресцентним детектором.	24
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	28

2.1 Сульфатна зола	28
2.2 Втрата в масі при висушуванні.	29
2.3 Визначення води методом Карла Фішера.	30
2.4 УФ-спектроскопія.	31
2.5 ІЧ-спектроскопія.	33
2.6 Високоєфективна рідинна хроматографія.	33
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ І ОБГОВОРЕННЯ	35
3.1 Визначення води методом Карла-Фішера.	35
3.2 Втрата в масі при висушуванні.	36
3.3 Загальна зола.	36
3.4 УФ-спектроскопія	37
3.5 ІЧ-спектроскопія.	39
3.6 Високоєфективна рідинна хроматографія	43
Висновки.	47
Список використаних джерел	48
Summary	52

ВСТУП

Індол-3-карбінол(ІЗК) є поширеною і популярною дієтичною добавкою з рядом позитивних якостей для організму людини. Вона сприяє відновленню

нормального режиму роботи імунної системи, сповільнює процеси старіння і володіє антиоксидантними властивостями. Ці нетоксичні добавки, які містять похідні індолу, безпечно взаємодіють з гормонами, зокрема з різними формами естрогену. Це допомагає у попередженні виникнення гормонозалежних форм раку, а також інших станів, таких як акне, надмірна вага та неприємні симптоми передменструального синдрому (ПМС).

Для виготовлення дієтичних добавок використовується субстанція індол-3-карбінолу, яка імпортується з закордону. Це може бути пов'язано як із специфічністю вирощування деяких рослин, що містять цей компонент, так і з популярністю індол-3-карбінолу у світовому масштабі.

Процес виготовлення дієтичних добавок індол-3-карбінолу передбачає дотримання стандартів якості та безпеки виробництва. Це гарантує, що споживачі отримують продукти з діючим та ефективним індол-3-карбінолом, який може сприяти їхньому загальному здоров'ю та благополуччю.

На даний момент відсутні фармакопейні статті для перевірки якості індол-3-карбінолу, тому актуальним є визначення підходів і методів, які можуть надійно підтверджувати якість субстанції при виробництві дієтичних добавок.

Мета: встановити які фізико-хімічні методи є достатніми для надійної ідентифікації індол-3-карбінолу, кількісного визначення, визначення вмісту неорганічних і органічних домішок в субстанції індол-3-карбінолу.

Завдання:

1. Проаналізувати літературні джерела щодо фармакологічних властивостей індол-3-карбінолу і методів його ідентифікації і кількісного визначення.
2. Експериментально перевірити можливість підтвердження структури індол-3-карбінолу за допомогою методів ІЧ-спектроскопії і УФ-спектрометрії.

3. Розробити підходи до встановлення рівня неорганічних домішок в субстанції індол-3-карбінолу методами визнапчення води за Карлом Фішером і методом визначення золи.
4. Розробити підхід до встановлення присутності домішок індол-3-карбінолу і кількісного вмісту індол-3-карбінолу.

Висновки.

1. Шляхом аналізу літературних даних встановлено, що індол-3-карбінол має ряд важливих фармакологічних властивостей і застосовується як біодобавка, але не знайдено комбінованих підходів до встановлення якості сировини, що використовується для виготовлення дієтичних добавок.
2. Експериментально підтверджено, що поєднання методів ІЧ-спектроскопії і УФ-спектрометрії дозволяє надійно ідентифікувати індол-3-карбінол. Встановлено подібність спектрів в двох субстанціях індол-3-карбінолу, яка становила 96,5%.
3. Комбінування методів визначення води за Карлом Фішером, втрати в масі при висушуванні і загальної золи дозволяє визначати воду, наявність летких розчинників і неорганічних домішок.
4. Розроблено методику за допомогою якої визначено рівень домішок індол-3-карбінолу і проведено порівняння кількісного вмісту індол-3-карбінолу в двох субстанціях, яка становила 99,9%.

SUMMARY

Koloskova Viktoriia

PHYSICOCHEMICAL METHODS FOR EVALUATING THE QUALITY
OF INDOLE-3-CARBINOL

Department of Medicinal Chemistry and Toxicology

Scientific supervisor: PhD., associate professor Glushachenko Olha, PhD
Syrotchuk Oleksandr.

Keywords: Indole-3-carbinol, quality control, dietary supplement

Introduction: Indole-3-carbinol is a natural glucosinolate known for its anti-tumor, anti-inflammatory, anti-estrogenic, and anti-angiogenic properties. This substance is formed as a result of the breakdown of indole found in various vegetables, particularly cruciferous vegetables such as cabbage, broccoli, Chinese cabbage, kohlrabi, and leafy greens [1-2]. Due to its properties, indole-3-carbinol is utilized as an active ingredient in the production of dietary supplements. Currently, there are no specific regulations governing the control of this raw material in the Pharmacopoeias of Europe, the US, or the UK, thus the methods of control are not described. Therefore, the development of methodologies for controlling the qualitative and quantitative characteristics of indole-3-carbinol is pertinent.

Methods and Materials: The investigation employed physicochemical methods for compound identification, including: Infrared spectroscopy (Ph. Eur. 2.2.24), UV spectroscopy (Ph. Eur. 2.2.25), Determination of water content by Karl Fischer method (Ph. Eur. 2.5.12), High-performance liquid chromatography (Ph. Eur. 2.2.29)

Results: Two samples of indole-3-carbinol obtained from different manufacturers were investigated. Using infrared spectroscopy, it was determined that the substances were identical to a high degree of similarity, reaching 95.6%. The infrared spectra were compared with the literature data on the spectrum of indole-3-carbinol [3]. The spectra showed similarity, confirming the successful identification of indole-3-carbinol in the chosen raw material.

An alternative identification method, UV spectroscopy, was employed: UV spectra were obtained from each of the sample substances 1 and 2 and compared to

the literature data on the spectrum of indole-3-carbinol [4]. The spectra exhibited similarity, displaying characteristic peaks at 279 and 288 nm, affirming the presence of indole-3-carbinol in both samples.

Determining the water content in the compound using the Karl Fischer method allows for establishing quantitative characteristics of the raw material. The following water content results were obtained: in sample #1 – 2.5%, in sample #2 – 3.4% (uncertainty of the result $\pm 0.15\%$). These values exceeded the specified values in the manufacturer's certificates, possibly due to storage or transportation conditions.

For the definitive assessment of quality, high-performance liquid chromatography with UV detection was utilized. This method was employed to check the purity of the raw material and detect impurities and degradation products. The following results were obtained: the content of the main substance in the analyzed samples was approximately the same. In chromatogram of sample 1, an impurity with a retention time of 6.63 min was detected, constituting approximately 1% of the main substance.

Conclusions: Infrared spectroscopy and UV spectroscopy methods enable qualitative determination of the presence of indole-3-carbinol in samples. The similarity between sample 2 and sample 1 is 96.5% based on IR spectra. The moisture content in the samples is higher than declared in the manufacturer's certificates, possibly due to storage conditions and duration after production. No significant impurity peaks were detected in the chromatograms of both samples. The relative content of sample 1 compared to sample 2 is 99.9%, indicating that the active substance content in the samples is practically equivalent. The combination of these raw material analysis methods allows for a reliable determination of the qualitative and quantitative characteristics of indole-3-carbinol.