

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 «Ідентифікація та кількісне визначення цукрози стеарату в
субстанції лікарського засобу методом ВЕРХ»

Виконав: здобувач вищої освіти 5 курсу, групи Ф1А
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)

Яцинська Вікторія Едуардівна
(прізвище та ініціали)

Керівник: к.б.н Мелешко Р.А.
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: проф., д.фарм.н. Вельчинська О.В.
(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Київ – 2025-2026 р.р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	11
 РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ, ВЛАСТИВОСТІ ВУГЛЕВОДНІВ.....	11
1.1. Особливості хімічної будови	11
1.2. Біологічна активність	15
 РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ, ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ВУГЛЕВОДНІВ.....	20
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості	20
 РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	28
 ВИСНОВКИ.....	35
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	36
SUMMARY.....	40
ДОДАТОК 1.....	41

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 – мікромметр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – наномметр

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

ЯМР ^1H – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

°C – градуси Цельсія

Hal – галоген

J, Гц – значення константи спин-спінової взаємодії, герци

MOR – μ -opioid receptor

ВСТУП

Актуальність теми. Стеарат цукрози (сахарози) – суміш цукрової сахарози та природної речовини - стеаринова кислота. Сахароза міститься в більшості фруктів і овочів. Її отримують із цукрової тростини та цукрових буряків та є сировиною для виготовлення білого столового цукру.

Стеаринова кислота міститься в жирах багатьох тварин, у високій концентрації в олії ши і какао. У деяких формулах стеарат сахарози є важливим активним інгредієнтом для пом'якшування шкіри. Емомент - це інгредієнт, який пом'якшує шкіру, вирівнює її структуру.

Нові, здорові клітини шкіри знаходяться в середньому шарі (дермі) шкіри. Вони пухкі та мають мало місця між собою. Оскільки клітини шкіри природним чином відпадають, клітини переміщуються до епідермісу шкіри та піддаються впливу навколишнього середовища. Старі клітини шкіри епідермісу більш зморщені, між ними є крихітні проміжки.

При нанесенні на шкіру стеарат сахарози заповнює крихітні проміжки між клітинами, покращуючи текстуру шкіри. Це корисно для сухої шкіри, де щілини зазвичай більші. Пом'якшувальні властивості стеарату сахарози роблять інгредієнт популярним для використання в кремах для рук і ніг, лосьйонах для тіла.

Речовина ефективна як активний інгредієнт. Стеарат сахарози використовується як допоміжний інгредієнт у продуктах по догляду за шкірою. Багата текстура стеарату сахарози добре функціонує як пом'якшувальний засіб. Це робить його корисним як загусник у продуктах по догляду за шкірою та косметичі.

Це надає продуктам більш розкішне, заспокійливе відчуття під час нанесення. Завдяки своїй хімічній структурі стеарат сахарози має здатність об'єднувати водорозчинні та маслорозчинні інгредієнти. Інгредієнти з такими

властивостями називають *емульгатори*. Серед широкого спектру емульгаторів стеарат сахарози вважається помірним або слабким. Інгредієнт використовується разом з іншим емульгатором для запобігання розділенню сумішей в упаковці. Його можна використовувати як єдиний емульгатор у продуктах. У невелику кількість засобів по догляду за шкірою та волоссям стеарат сахарози додається як консервант - інгредієнт, який допомагає зберегти формули ефективними та чистими.

Стеарат сахарози має здатність обмежувати ріст бактерій, плісняви, інших мікробів, які можуть забруднити засоби для догляду. Клінічні дослідження привели до нового використання стеарату сахарози як активного інгредієнта в продуктах по догляду за шкірою. Ефіри сахарози жирних кислот - стеарат сахарози мають здатність підвищувати активність антиоксидантів, поживних речовин, захищають організм від впливу вільних радикалів.

Стеарат сахарози міг би стати ефективним інгредієнтом у продуктах по догляду за шкірою проти старіння, як антиоксиданти - як вітамін С або коензим Q10. Стеарат сахарози внесено до списку «Загалом безпечних» Управлінням з контролю за продуктами й ліками США. Сахароза та стеаринова кислота визнані безпечними для використання в продуктах догляду за шкірою комісією з огляду косметичних інгредієнтів.

Цукрози стеарат (Sucrose Stearate) — це натуральний рослинний емульгатор та со-емульгатор, є складним ефіром сахарози та стеаринової кислоти.

Основні характеристики:

- Емульгатор (допомагає змішувати воду та олію), емомент (пом'якшувач), зволожувач та м'яка очищувальна речовина.
- Походження переважно рослинне (з цукрових буряків, тростини, рослинних олій).

- Гідрофільно-ліпофільний баланс (ГЛБ): близько 13–15, що робить його ідеальним для створення прямих емульсій «олія-у-воді» (O/W).

Застосування:

1. Косметика:

Зволоження: обмежує втрату вологи епідермісом, покращує стан сухої та чутливої шкіри.

Текстура: надає кремам легкої, нежирної текстури та шовковистості.

Догляд за волоссям: Знімає статичну напругу та полегшує розчісування.

Очищення: в очищувальному молочку, гелях завдяки своїм м'яким ПАР-властивостям.

2. Харчова промисловість: як стабілізатор у молочних продуктах (морозиво, сири), кондитерських виробках та випічці.
3. Фармацевтика: як допоміжна речовина для покращення всмоктування певних ліків у кишечнику. Не викликає подразнень, безпечний для очей та дитячої шкіри. Антимікробні властивості: має активність проти деяких видів бактерій

Цей інгредієнт зареєстрований як допоміжна речовина (ексципієнт).

- Європейська фармакопея (Ph. Eur.): монографія № 2318 (Sucrose stearate), визначає вимоги до вмісту моно-, ді- та триефірів (типи I, II, III), методи контролю вільної цукрози за допомогою рідинної хроматографії.
- Фармакопея США та Національний формуляр (USP-NF): Цукрози стеарат описаний у відповідній монографії як суміш складних ефірів цукрози та стеаринової кислоти, включають ідентифікацію, жирнокислотний склад та обмеження на вміст домішок.
- Японська фармакопея (JP): включає стандарти для ефірів цукрози та жирних кислот.

Основні показники контролю за цими фармакопеями:

1. Ідентифікація: за ІЧ-спектроскопією, методом тонкошарової хроматографії (ТШХ).
2. Жирнокислотний склад: сума пальмітинової та стеаринової кислот має бути не менше 90%.
3. Вміст вільної цукрози: жорстко обмежений (не більше 4,0%).
4. Ступінь етерифікації: розподіл на моно-, ді- та полієфіри, визначає тип емульгатора.

Аналіз за Фармакопеями (Ph. Eur., USP-NF):

1. Рідинна хроматографія (HPLC/ВЕРХ) - основний метод для кількісного визначення вільної цукрози та розподілу ефірів. Детекція: часто використовують рефрактометричний детектор (RI) або детектор світлорозсіювання (ELSD).

Метод дозволяє розділити моно-, ді- та триєфіри сахарози, виявити вільну сахарозу як супровідну домішку.

2. Газова хроматографія (GC/ГХ) - для аналізу жирнокислотного складу та визначення залишкових розчинників.

Аналіз жирних кислот: проводять гідроліз ефірів та дериватизацію (перетворення жирних кислот на метилові ефіри — FAMES), щоб визначити співвідношення стеаринової та пальмітинової кислот.

Аналіз вільної цукрози: за допомогою ГХ після силілювання (перетворення на леткі похідні), дозволяє точно визначити кількість цукру, який не вступив у реакцію.

3. Тонкошарова хроматографія (TLC/ТШХ) - для швидкої ідентифікації та напівкількісної оцінки чистоти продукту. Метод дозволяє візуально розділити

різні ступені естерифікації, виявити присутність вільної цукрози за допомогою специфічних проявляючих реагентів.

4. Хімічні методи (Титриметрія) – для контролю загальної чистоти та відповідності специфікаціям використовують показники: кислотне число (вміст вільних жирних кислот), число омилення: характеризує (кількість естерифікованих жирних кислот), вміст води (за методом Карла Фішера).

5. Гель-проникаюча хроматографія (GPC) – розділення за розміром молекул [1-10, 27, 28].

Актуальним завданням експериментальної роботи є впровадження високоселективного методу ВЕРХ для ідентифікації та кількісного визначення ексцепієнту Цукрози стеарату, а також визначення її чистоти.

Мета і завдання дослідження. Метою експериментального дослідження є ідентифікація, кількісне визначення та випробування на чистоту ексцепієнту Цукрози стеарату у складі субстанції методом ВЕРХ.

Завдання експериментального дослідження:

- ідентифікувати методом ВЕРХ ексцепієнту Цукрози стеарату у складі субстанції;
- визначити чистоту ексцепієнту Цукрози стеарату в досліджуваній субстанції хроматографічним методом ВЕРХ (присутність супровідних речовин);
- адаптувати методики дослідження та розробити умови дослідження, які дозволять захистити структуру молекули речовин від хімічної деградації.

Методи дослідження. ВЕРХ, хроматограф Agilent 1200 з DAD детектором, колонка PLgel 5 μ m 100 Å (600×7,5 мм); детектування –

рефрактометричний детектор (RID). Комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

Новизна та значення одержаних результатів. Новизна експериментального дослідження полягає у осучасненні фармацевтичного аналізу ексцепієнту Цукрози стеарату шляхом впровадження високоселективного хроматографічного методу ВЕРХ у аналіз та визначення її чистоти та кількісного вмісту.

Апробація результатів дослідження. Результат досліджень апробовано на міжнародній науково-практичній конференції

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

Структура роботи: загальну кількість сторінок – 41, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 28.

ОСНОВНА ЧАСТИНА

РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ВУГЛЕВОДНІВ

1.1. Особливості хімічної будови

Різні співвідношення структурного складу стеаратів сахарози зі значеннями гідрофільно-гідрофобного балансу (HLB) в емульсії досліджували за допомогою моделювання шлунково-кишкового тракту. Результати показали пряму кореляцію між значеннями HLB стеаратів сахарози та швидкістю ліполізу емульсій. Дослідження механізму показало, що низька емульгуюча здатність стеаратів сахарози та ліполіз стеаратів сахарози з нижчим значенням пригнічували травну поведінку олії.

Моноєфір гідролізувався переважно в шлунковій фазі. Полієфіри сахарози викликали ліполіз у кишковій фазі за допомогою моделі травлення та аналізу ВЕРХ. Це більше пригнічувало перетравлення ліпідів. Після перетравлення спостерігалось зниження цитотоксичності клітин та прозапальних ефектів [1-5].

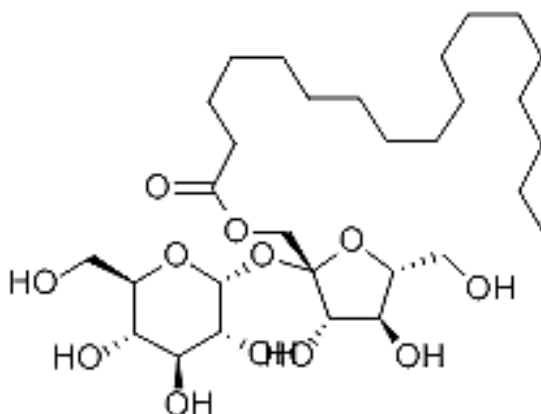


Рисунок 1.1.1. Хімічна структура Цукрози стеарату.

На поведінку перетравлення ліпідів в емульсіях типу «олія у воді» (O/W) значною мірою впливає ступінь адсорбції ліпази. Склад та властивості емульсій безпосередньо впливають на швидкість вивільнення вільних жирних кислот. Фактори включають стабільність емульсій у шлунково-кишковому тракті, міжфазне витіснення емульгаторів солями жовчних кислот та ліпазами, потенційний гідроліз екзогенних емульгаторів, міцелізацію та транспорт продуктів ліполізу.

У процесі ШКТ перетравлені емульсії O/W потрапляють у тонкий кишечник, змішуються з жовчю та панкреатичним соком, впливаючи на склад, структуру та властивості.

Дослідження перетравлення емульгованих ліпідів показують, що менші розміри частинок, стабілізовані емульгаторами O/W емульсій, разом з різними поверхнево-активними елементами посилюють перетравлення ліпазою.

Фізико-хімічні властивості та поведінка екзогенних емульгаторів пов'язані зі швидкістю перетравлення ліпідів емульсій у ШКТ. Естери сахарози – це спеціальні неіоногенні поверхнево-активні речовини отримують шляхом змішування цукрів та жирних кислот за допомогою хімічних речовин або ферментів.

Гідроксильні групи надають їм неперевершену гнучкість у змішуванні з жирними кислотами. Це дозволяє легко регулювати довжину ланцюга жирних кислот. Гнучкість дозволяє створювати різні ефіри сахарози зі значеннями гідрофільно-ліпофільного балансу [6-12].

Ці ефіри сахарози є ключовими в емульсіях «олія у воді». Їхня здатність стабілізувати кристалізацію олії і води значно покращує стабільність заморожування-розморожування емульсій «вода в олії». Ця роль робить ефіри

сахарози життєво важливими в багатьох галузях - в харчовій, косметичній та фармацевтичній промисловості. Вони є важливими як емульгатори та стабілізатори [12-15].

Дослідження показали, що додавання ефірів сахарози впливає на перетравлення ліпідних емульсій у шлунково-кишковому тракті. Ліполіз значно знижується в емульсіях, стабілізованих ефірами сахарози у моделях шлунково-кишкового тракту. Мало відомо про поведінку перетравлення ліпідів та пов'язаний з нею механізм емульсій, стабілізованих ефірами сахарози, у шлунково-кишковому тракті (рис. 1.1.2).

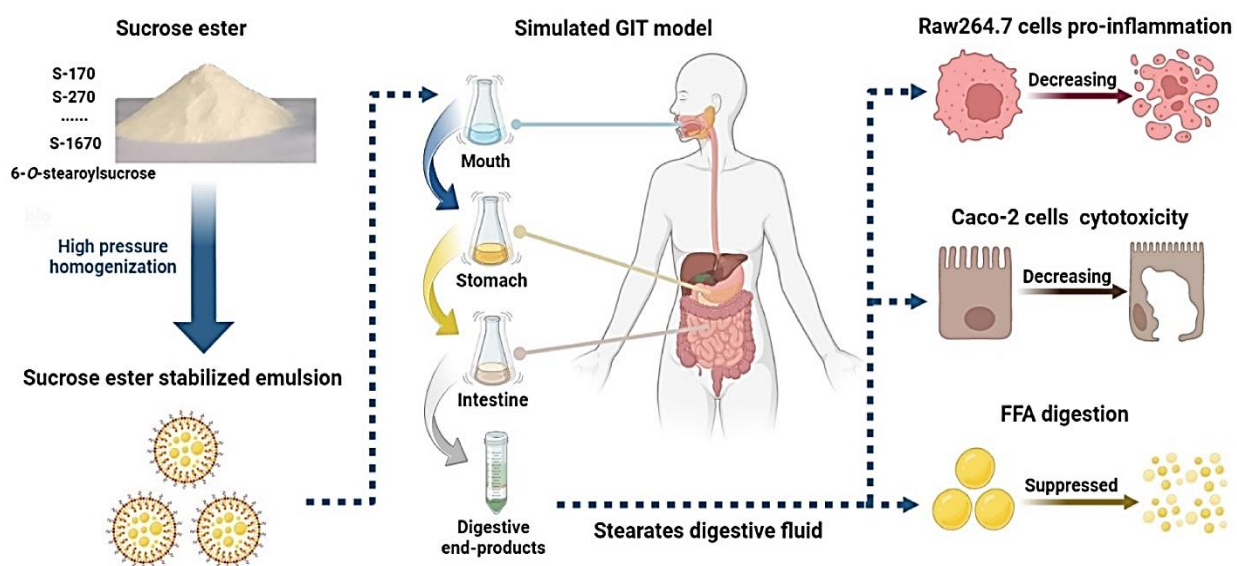


Рисунок 1.1.2. Вплив Цукрози стеарату.

Значення HLB стеаратів сахарози дають змогу передбачити їхню розчинність у воді, визначаються ступенем естерифікації. Структурні особливості цукрових естерів впливають на фізико-хімічні властивості, стабільність, біорозкладність в умовах шлунково-кишкового тракту.

Дослідження показали, що моноестери можуть бути гідролізовані безпосередньо на цукор та жирні кислоти. На цей процес впливають температура та вода *in vitro* [12-16].

Стабільність та емульгуючі властивості моноестерів зменшувалися зі зменшенням довжини вуглецевого ланцюга жирнокислотного компонента. Якщо із естерним фрагментом цукрового естеру була сульфонільна або алкільна група, вони не піддавалися гідролізу. Вони розкладалися шляхом початкового окислення алкільного ланцюга [15-19]. Ступінь естерифікації сахарозних естерів впливає на їх здатність до гідролізу. Вищий ступінь естерифікації створює стеричні перешкоди в структурі цукру, пригнічуючи гідроліз. Систематичне дослідження впливу ступеня естерифікації естерів сахарози на їх гідроліз, забезпечить розуміння поведінки перетравлення ліпідів отриманої емульсії в шлунково-кишковому тракті (рис. 1.1.3).

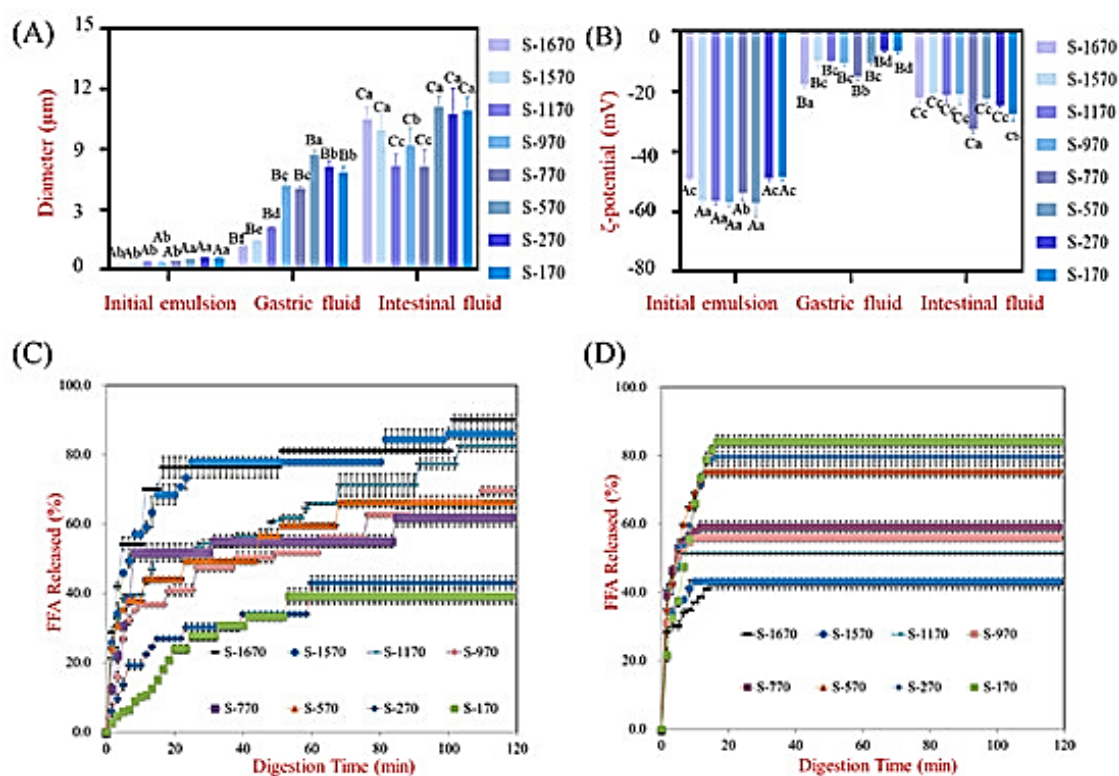


Рисунок 1.1.3. Вплив Цукрози стеарату на ШКТ.

Відомо, що ефіри сахарози мають широкий спектр біологічної активності - антибактеріальну, цитотоксичну та протигрибкову дію, інгібування α -глюкозидази. Біологічна активність ефірів сахарози залежить від властивостей травлення.

Моноестери або поліестери не можуть всмоктуватися через слизову оболонку кишечника. Біодеградація ефірів сахарози на сахарозу та жирні кислоти призводить до зміни біоактивності, утилізації в шлунково-кишковому тракті [20-26].

Дослідження травної поведінки ефірів сахарози призведе до розуміння їхньої біоактивності та безпеки. У дослідженні стеарати сахарози з різним вмістом моноефірів та поліефірів зі значеннями HLB обрані як емульгатори для стабілізації емульсій O/W та оцінити вплив різних ефірів сахарози на перетравлення ліпідів в умовах шлунково-кишкового тракту, дослідити поведінку перетравлення та цитотоксичність для з'ясування механізму ліполізу емульсій.

1.2. Біологічна активність

Приготування емульсії з незначними модифікаціями [22]. 0,2 г S-170, S-270, S-570, S-770, S-1170, S-1570, S-1670, SSE та Tween-80 розчинили у 2 мл кукурудзяної олії, н-гексадекану. Розчини кукурудзяної олії та н-гексадекану диспергували у 98 мл водного розчину за допомогою диспергатора (IKA T18 digital, IKA Works Guangzhou Co., $1,3 \times 10^4$ об/хв). Диспергований розчин емульгували за допомогою гомогенізатора високого тиску (APV-1000, Альбертслунд, Данія). Вимірювання розміру та заряду крапель. Середній діаметр крапель та ζ -потенціал емульсій, стабілізованих S-170, S-570, S-770, S-1170, S-1570, S-1670 та SSE, травними рідинами, вимірювали за допомогою динамічного розсіювання світла (DLS) за допомогою апарату Zetasizer Nano-ZS. Вимірювання у трьох повторностях при 25 °C.

Приготування емульсії. 0,2 г S-170, S-270, S-570, S-770, S-970, S-1170, S-1570, S-1670, SSE, Tween-80 розчинили у 2 мл кукурудзяної олії або н-гексадекану. Розчини кукурудзяної олії, н-гексадекану диспергували у 98 мл водного розчину за допомогою високошвидкісного диспергатора (ІКА T18 digital, IKA Works Guangzhou Co., $1,3 \times 10^4$ об/хв). Диспергований розчин емульгували за допомогою гомогенізатора високого тиску (APV-1000, Альбертслунд, Данія, 900 Psi).

Вимірювання розміру та заряду крапель. Середній діаметр крапель та ζ -потенціал емульсій, стабілізованих S-270, S-570, S-770, S-1170, S-1570, S-1670 та SSE вимірювали за допомогою динамічного розсіювання світла (DLS) за допомогою апарату Zetasizer Nano-ZS. Вимірювання - у трьох повторностях при 25 °C.

Дослідження ліпідних профілів травлення емульсій, стабілізованих стеаратом сахарози. Поведінку травлення кукурудзяної олії в емульсіях досліджували за допомогою моделі стимульованого шлунково-кишкового травлення. Аліквоту емульсії змішували з рівним об'ємом підготовленого робочого розчину штучної слини, 15 мг/мл свинячого шлункового муцину, інкубували при 37 °C. 25 мл рідини для реакції ротової порожнини додавали до рівного об'єму робочого розчину штучної шлункової рідини з 1,6 мг/мл пепсину в PBS.

Суміш (pH 2,5) струшували та реакціювали при 37 °C. pH 30 мл рідини шлункової реакції доведено до 7,0. До зразка додано 1,5 мл солі штучної кишкової рідини, 3,5 мл розчину солі жовчі, 2,5 мл розчину ліпази. pH системи контролювали за допомогою автоматичного титрувального пристрою (pH-stat, Metrohm USA, Inc.). Реакційну систему підтримували на рівні 7,0 шляхом титрування 100 мМ розчину NaOH. Відсоток вивільнених вільних жирних кислот розраховували на основі отриманої кривої титрування.

Конфокальна мікроскопія. Емульсії, стабілізовані S-170, S-570 та S-1670, та їх шлункові рідини, кишкові рідини змішували з 10 мкл маточного розчину Nile Red. Невелику кількість розчину помістили на скляну чашку діаметром 3,5 см, мікроструктуру забарвленого розчину спостерігали за допомогою конфокального лазерного скануючого мікроскопа (ZEISS LSM 880).

Дослідження травної поведінки S-170 до S-1670 у змодельованому шлунково-кишковому тракті. Відсотки вивільнення вільних жирних кислот з 2% розчину н-гексадекану, стабілізованого 0,2% S-170, S-270, S-970, S-1170, S-1570 та S-1670, визначали за допомогою змодельованих робочих умов шлунка та кишечника. Реакційну систему підтримували при рН 2,0 у шлунковій фазі та рН 7,0. Кількість вивільнених ВЖК розраховували. Аналіз методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Моноестери та поліестери S-170, S-270, S-570, S-770, S-970, S-1170 тощо проаналізовані та кількісно визначені за допомогою ВЕРХ після розщеплення в імітованому шлунково-кишковому тракті.

Протокол ВЕРХ базувався на Hubert, Florence з незначною модифікацією. Люфілізовані зразки фракціонували за допомогою колонки з оберненою фазою Chromolith Fast Gradient у системі ВЕРХ (WAT270944 2695, Waters Corporation), оснащений випарним детектором світлорозсіювання (ELSD). Температура колонки підтримувалася на рівні 30 °C. ELSD працював при 55 °C з N₂ як розпилювальним газом під тиском 40 фунтів.

МТТ-аналіз проводили з незначними модифікаціями. Клітини Caco-2 висівали на 96-лунковий шар. Супернатант видаляли та додавали диметилсульфоксид (ДМСО) для розчинення утворених кристалів формагану. Абсорбцію визначали спектрофотометрично при 570 нм за допомогою планшетного рідера (BioTek). Відсоток життєздатності клітин визначали шляхом порівняння абсорбції контрольного зразка з обробкою ДМСО. Вплив

стеарату сахарози з різними значеннями HLB на перетравлення ліпідів в емульсії під впливом шлунково-кишкового тракту. Стеарати сахарози S-170, S-270, S-570, S-770, S-970, S-1670 складаються на 1%-75% з моноефірних та поліефірних сполук. Розмір частинок та ζ -потенціал 2% емульсій кукурудзяної олії, стабілізованих S-170, S-170, S-570, S-770, S-970, S-1170, визначали.

Діаметр вихідних емульсій зменшився з $0,674 \pm 0,023$ мкм до $0,374 \pm 0,034$ мкм. ζ -потенціал зменшився з $-18,86 \pm 1,33$ мВ до $-66,93 \pm 2,37$ мВ після стабілізації. Менший розмір крапель та нижче значення ζ -потенціалу вказують на збільшення стабільності емульсії через електростатичне відштовхування між краплями олії. Дані про розмір крапель емульсій свідчать про те, що значення HLB стеаратів сахарози може мати ключову роль у колоїдній стабільності емульсій. Вищі значення HLB відповідали кращій стабільності крапель олії у водній фазі. Емульгатори з вищими значеннями HLB мають більше гідрофільних груп. Стеарати сахарози з вищими значеннями HLB демонстрували кращу емульгуючу та диспергуючу здатність в емульсії. Доставка генів за допомогою ліпосом, стабілізована з вищими значеннями HLB ефірів сахарози, демонструвала розмір частинок та ζ -потенціал. Швидкість ліполізу сприяла утворенню більш стабільної емульсії. Вона стабілізована емульгатором з вищим значенням HLB. Діаметр різних емульсій збільшувався на стадії шлунка. Розмір крапель емульсій S-570, S-270 та S-170 різко збільшився з $0,609 \pm 0,005$ мкм до $3,745 \pm 0,043$ мкм. З $0,623 \pm 0,014$ мкм до $4,905 \pm 0,051$ мкм та з $0,674 \pm 0,023$ мкм до $5,084 \pm 0,241$ мкм після шлункового перетравлення. Тип та стабільність емульгаторів сприяють фізико-хімічним характеристикам емульсій. Дестабілізація крапель олії спостерігалася в емульсіях, стабілізованих ізолятами сироваткового білка, казеїнатами в шлункових умовах. Спостерігали, що стабільність емульсій знижувалася зі зниженням значень HLB стеаратів сахарози в шлунковій фазі. Чистий заряд шлункової рідини зменшувався приблизно до нуля, коли

значення рН наближалось до 2,5. Ступінь іонізації ефірів сахарози на межі розділу олія-вода знижується в кислому середовищі (рис. 1.2.1).

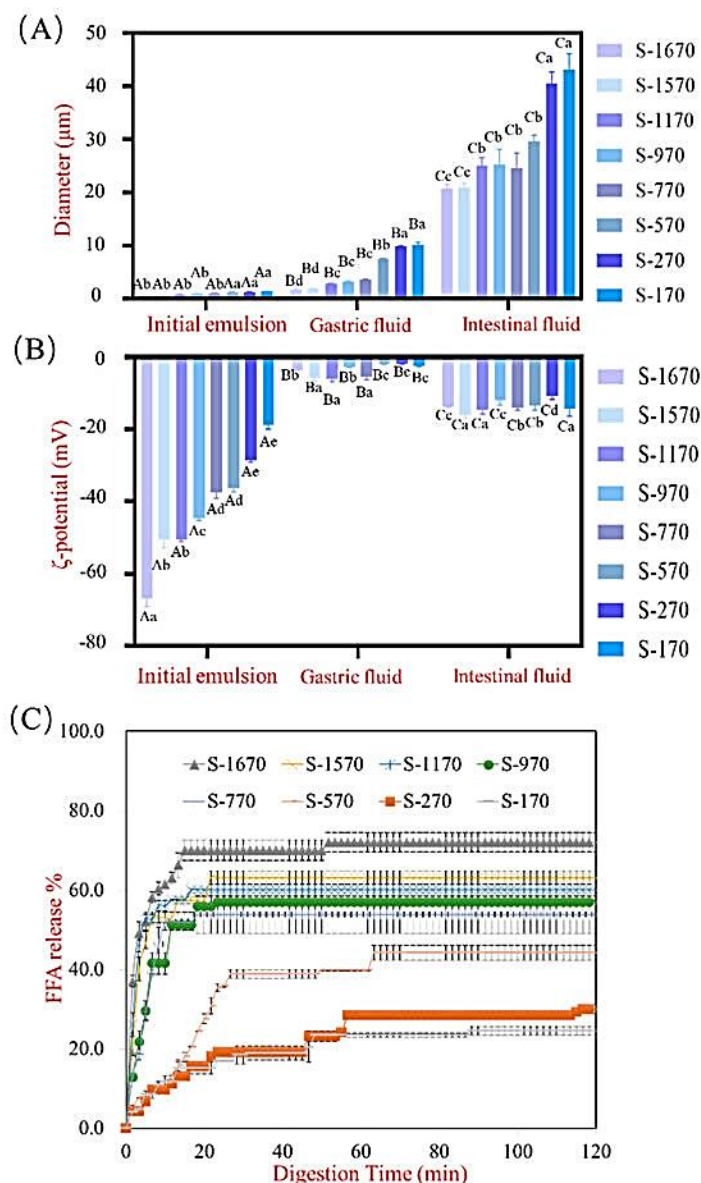


Рисунок 1.2.1. Профіль перетравлення ліпідів в емульсіях, стабілізованих ефірами сахарози в умовах шлунково-кишкового тракту. Діаметр та ζ -потенціал емульсій, стабілізованих S-170, S-270, S-570, S-770, S-970, S-1170, S-1570 та S-1670. Вивільнення вільних жирних кислот (ВЖК) під час перетравлення з емульсій, стабілізованих S-170, S-270, S-570, S-770, S-970, S-1170, S-1570 та S-1670. Значення представлені як середнє значення $\pm$ стандартне відхилення ($n = 3$).

РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ ВУГЛЕВОДНІВ

2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості

Результати показують, що швидкість вивільнення FFA зменшувалася зі зменшенням значення HLB стеаратів сахарози. У стабілізованих емульсіях S-170, S-270 та S-570 (вміст поліестеру 99%, 90% та 70%) ступінь перетравлення кукурудзяної олії знизився порівняно з емульсіями, стабілізованими S-770, S-970, S-1170, S-1570 та S-1670.

Вище співвідношення поліестеру до моноестеру у зразках стеарату сахарози пригнічувало ліполіз в емульсіях O/W. Результати конфокальної мікроскопії показали, що швидкість ліполізу емульсій зменшувалася в порядку S-1670 > S-570 > S-170 у шлунковій і в кишковій фазах. Червона флуоресцентна ділянка вказувала на ліпіди в краплях емульсії.

На початковій стадії крапля ліпідів була невеликою та диспергованою, стабілізованою S-1670, S-570 та S170. Перетравлення ліпідів починається у шлунку під дією шлункової ліпази та відбувається переважно в кишечнику.

Червоні флуоресцентні зображення показали, що невелика частина ліпідів перетравлена у шлунку. Вони переважно перетравлювалися в кишечнику. На поведінку ліполізу *in vivo* впливає тип емульгаторів на межі розділу емульсії.

Менші крапельні ліпіди спостерігалися в емульсії, стабілізованій S-1670. Емульсії, стабілізовані ефірами сахарози з вищими значеннями HLB, мають менший розмір крапель. Це призводить до вищої швидкості витіснення емульгаторів з поверхні крапель солями жовчних кислот. У емульсіях

підвищений міжфазний контакт між краплею олії та ліпазою сприяв вищій ефективності перетравлення ліпідів.

Співвідношення моноефір/поліефір стеарату сахарози в стабілізованих емульсіях впливає на вивільнення вільних жирних кислот у змодельованій моделі ШКТ. При вищих ступенях естерифікації ефіру сахарози вивільнення ВЖК пригнічується (рис. 2.1.1).

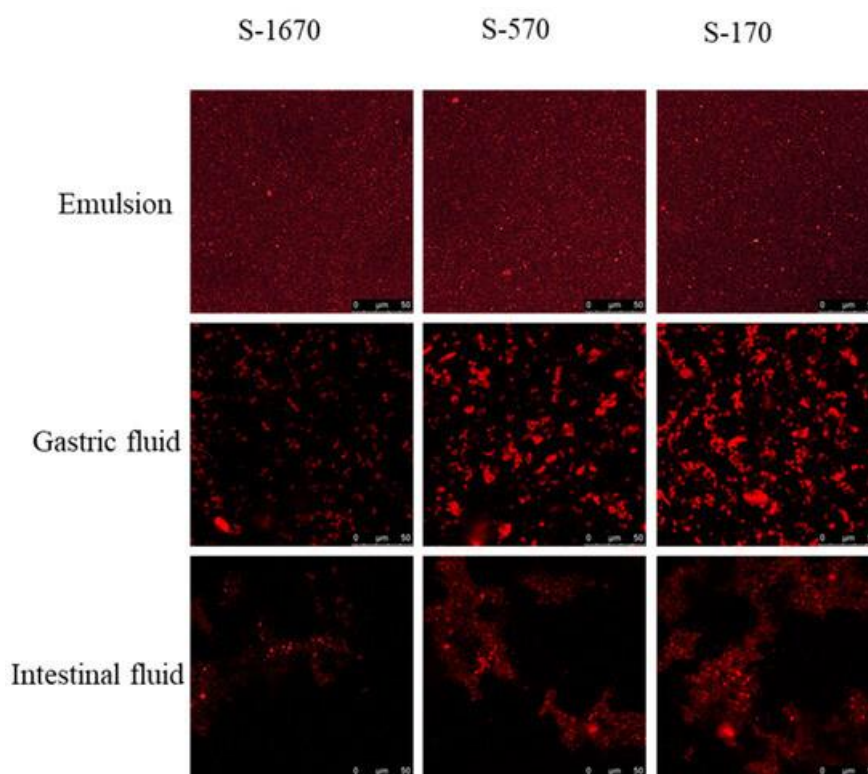


Рисунок 2.1.1. Зображення емульсій після впливу різних стадій шлунково-кишкового тракту, отримані за допомогою конфокальної мікроскопії.

Вплив різних типів емульгаторів з однаковим значенням HLB на поведінку ліполізу. Емульгатори з різними значеннями HLB мають різні емульгуючі здібності. Вони впливають на перетравлення ліпідів. Для вивчення поведінки ліполізу отриманих емульсій у змодельованій моделі шлунково-

кишкового тракту як поверхнево-активні речовини були обрані Tween-80 (HLB 15), S-1570 (HLB 15), S-1670 (HLB 16), SSE (HLB 16).

Експерименти показали, що розмір частинок стабілізованих емульсій Tween-80 залишався відносно постійним протягом шлункової та кишкової фаз травлення. Це узгоджується з попередніми звітами. Розміри частинок стабілізованих емульсій S-1570, S-1670 та SSE збільшувалися як у шлунковій, так і в кишковій фазах. Розмір крапель емульсії може змінюватися під час травлення залежно від початкового розміру краплі та її міжфазного складу.

Ефіри сахарози - Tween-80, який є полісорбатом, є неіоногенними поверхнево-активними речовинами, на відміну від Tween 80. Вони нестабільні в кислому середовищі. Спостережують зниження ζ -потенціалу емульсій, стабілізованих ефірами сахарози (S-1570, S-1670 та SSE) під час шлункової фази та подальшим збільшенням під час кишкової фази.

Значення HLB Tween-80, S-1570, S-1670 та SSE є подібними, ζ -потенціал початкової емульсії, стабілізованої поверхнево-активними речовинами: $-45,47 \pm 1,63$ мВ, $-52,03 \pm 1,07$ мВ, $-56,96 \pm 2,23$ мВ та $-49,70 \pm 1,3$ мВ значно відрізнявся. Негативний заряд емульсій, стабілізованих S-1570, S-1670 та SSE, зменшився у шлунковій рідині (pH 2,5).

Ці показники збільшилися в кишковій фазі (pH 7,0). Було досліджено вивільнення вільних жирних кислот (FFA) з усіх чотирьох емульсій. Було виявлено, що воно швидко зростає протягом перших 10 хвилин кишкової фази травлення у порядку Tween-80 > SSE > S-1670 > S-1570. Вплив різних типів емульгаторів з однаковим значенням HLB на поведінку ліполізу.

Значення HLB для Tween-80 та S-1570 однакові (HLB 15), нижчі, ніж для SSE та S-1670. Швидкість перетравлення ліпідів емульсії Tween-80 була найшвидшою серед зразків.

Визначено, що більший розмір крапель та повільніша швидкість ліполізу. Вони спостерігалися для емульсій, стабілізованих ефірами сахарози і були результатом гідролізу стеарату сахарози в шлунковій фазі. Високі значення HLB ефірів сахарози призвели до більшої схильності емульгаторів до витіснення солями жовчних кислот, зменшуючи контакт між межею краплі та ліпазою, тим самим пригнічуючи вивільнення FFA. Результати показують, що тип емульгатора і не тільки їх значення HLB, є важливим при розгляді поведінки перетравлення стабілізованих емульсій.

Гідроліз ефірів сахарози на межі крапель емульсії відіграє важливу роль у перетравленні ліпідів. Стабілізовані емульсії Tween-80 призводили до більшого ступеня ліполізу порівняно з емульсіями, стабілізованими ефірами сахарози. Не було суттєвої різниці в початковому розмірі крапель олії, емульсії, стабілізовані ефіром сахарози, призводили до утворення коалескованих крапель олії після шлункового перетравлення.

За допомогою якого гідроліз ефіру сахарози впливає на перетравлення ліпідів. Не з'ясовано, що властивість емульгаторів відіграє важливу роль у визначенні фізико-хімічних властивостей утвореної емульсії та впливає на її поведінку щодо перетравлення ліпідів в умовах шлунково-кишкового тракту (рис. 2.1.2, 2.1.3).

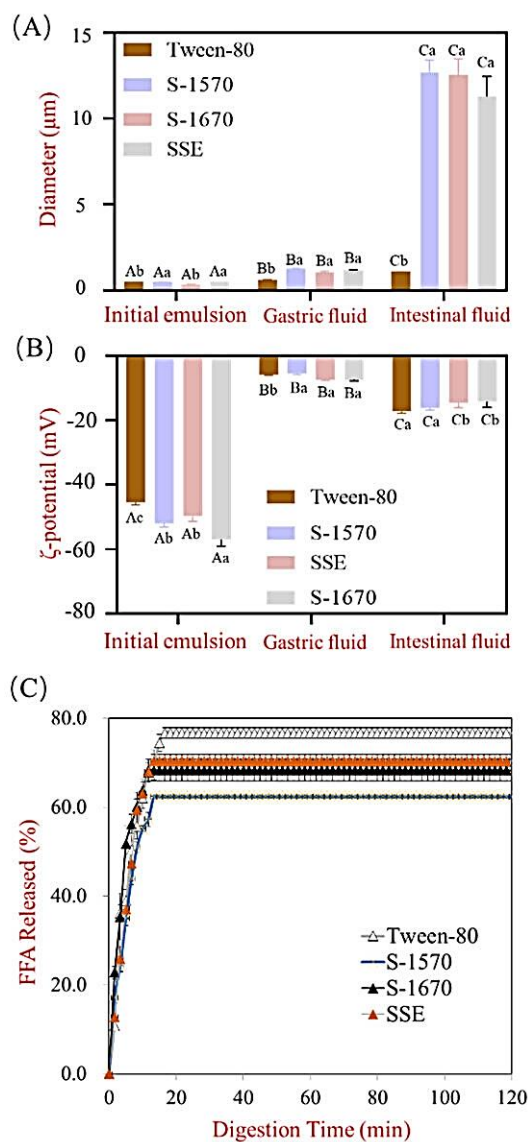


Рисунок 2.1.2. Поведінка перетравлення емульсій стабілізується тим самим HLB емульгаторів. Діаметр та ζ -потенціал емульсій, стабілізованих Tween-80, S-1670 та SSE, визначали після впливу різних стадій шлунково-кишкового тракту. Вивільнення FFA з емульсій, стабілізованих Tween-80, S-1670 та SSE, визначали за споживанням об'єму NaOH (10 мМ).

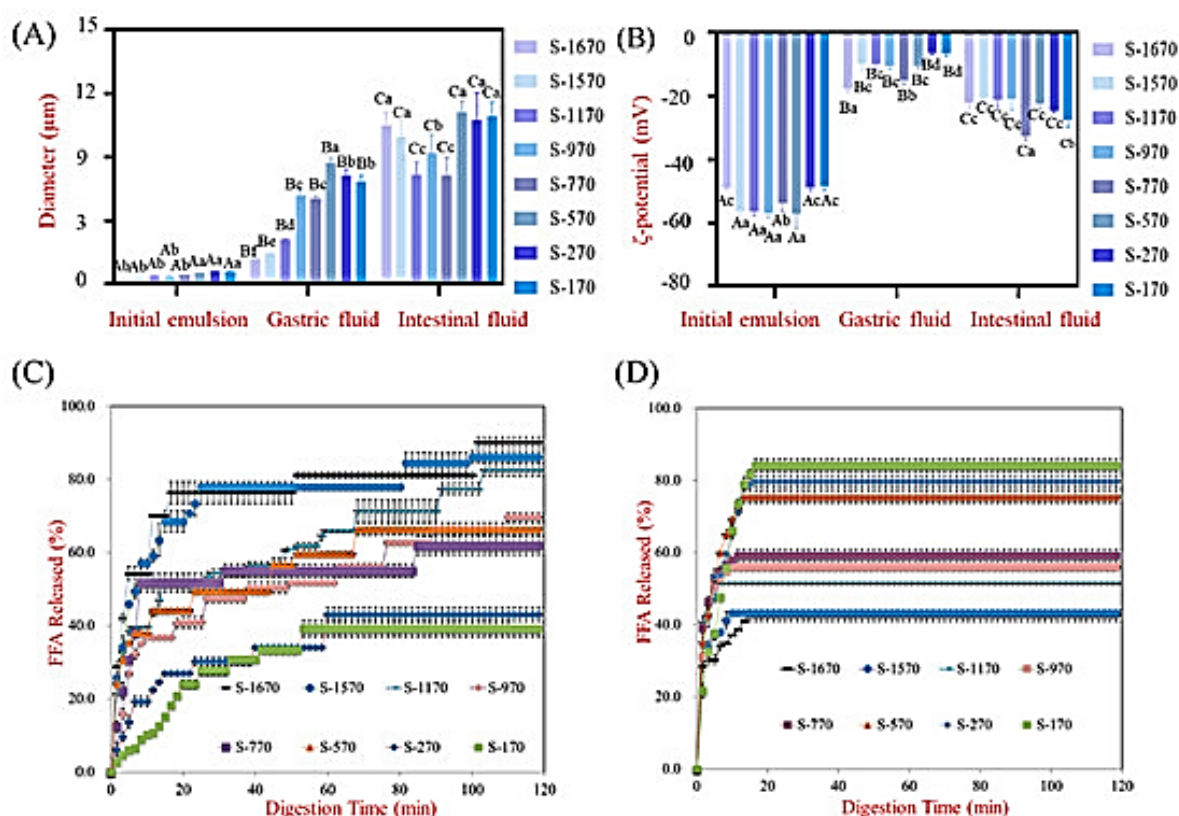


Рисунок 2.1.3. Травна поведінка S-170, S-270, S-570, S-770, S-970, S-1170, S-1570, S-1670 після впливу різних стадій травлення в змодельованому шлунково-кишковому тракті. Діаметр та ζ -потенціал 2% розчину н-гексадекану, стабілізованого 0,2% S-170, S-270, S-570, S-770, S-970, S-1170, S-1570 та S-1670. Визначали на змодельованій моделі шлунково-кишкового тракту. Вивільнення вільних жирних кислот (FFA) естерів стеарату сахарози кількісно визначали шляхом споживання об'єму NaOH (10 мМ) та об'єму NaOH (100 мМ).

Вивільнення ВЖК у шлунку визначали шляхом вимірювання об'єму NaOH в процесі титрування. Вища швидкість гідролізу стеарату сахарози відбувалася в шлунковій фазі у зразках з більшою часткою моноефіру. Після швидкого збільшення вивільнення ВЖК продовжувало повільніше.

У кінцевій точці не було суттєвої різниці між зразками S-770 та S-570 у кількості вивільнених ВЖК. Вони були значно нижчими, ніж у зразків S-1670, S-1570, S-1170 та S-970, вищими, ніж у зразків S-170 та S-270.

Результат продемонстрував, що стеарати сахарози були нестабільними та гідролізувалися в середовищах з низьким рН. Це призводило до нижчої емульгуючої властивості. В результаті розмір крапель емульсії збільшився у шлунку порівняно з початковими зразками.

Під час кишкової фази вивільнення вільних жирних кислот (FFA), що спостерігалось в емульсіях стеарату сахарози, збільшувалося зі збільшенням співвідношення поліестеру сахарози. Перетравлення поліестерів сахарози відбувалося переважно в кишковій фазі шляхом деградації, індукованої ліпазою.

Гідроліз естерів сахарози впливав на ліполіз в емульсії через зміну діаметра та міжфазних характеристик крапель олії у шлунку та кишечнику. Через перетравлення поліестерів сахарози ліпазою швидкість перетравлення ліпідів емульсій, стабілізованих стеаратом сахарози з вищим вмістом поліестеру, знижується.

Результати ілюструють механізм, за допомогою якого стеарати сахарози впливають на травну поведінку ліпідів. Моноестери сахарози переважно гідролізуються в шлунку, що призводить до збільшення розміру крапель.

Поліестери сахарози перетравлюються переважно ліпазою в кишковій фазі, що призводить до зниження ефективності перетравлення крапель олії.

Кількісне визначення стеаратів сахарози після перетравлення *in vitro*. Вміст моноєфірів та полієфірів у стеараті сахарози. Вміст моноєфіру та полієфіру сахарози в S-170 - S1670 аналізували після перетравлення за допомогою ВЕРХ.

Моноєфіри сахарози S-270 - S-1670 були гідролізовані під час проходження через імітований шлунково-кишковий тракт. 0,33% S-170 залишалося після процесу перетравлення.

Пік сахарози спостерігався у всіх зразках ефірів сахарози після перетравлення. Це підтверджує гідроліз ефірів сахарози на сахарозу та жирні кислоти. Після фази кишкового травлення вміст поліестеру залишався на рівні 8,19%, 6,39%, 6,45%, 9,75%, 7,40%, 7,25%, 8,26% та 7,38% у зразках S-170 - S-1670.

Це свідчить про те, що більшість поліестерів були розщеплені на моноестери та згодом гідролізовані на сахарозу та жирні кислоти. Невеликий відсоток залишився неперетравленим.

РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

За Євр. Фарм. аналіз – монографія 01/2017:2318

Склад:

Стеарат сахарози тип I:

- моноестери: мінімум 50,0 відсотків;
- діестери: максимум 40,0 відсотків;
- сума триестерів та поліестерів: максимум 25,0 відсотків;

Стеарат сахарози тип II:

- моноестери: від 20,0 відсотків до 45,0 відсотків;
- діестери: від 30,0 відсотків до 40,0 відсотків;
- сума триестерів та поліестерів: максимум 30,0 відсотків;

Стеарат сахарози тип III:

- моноестери: від 15,0 відсотків до 25,0 відсотків;
- діестери: від 30,0 відсотків до 45,0 відсотків;
- сума триестерів та поліестерів: від 35,0 відсотків до 50,0 відсотків.

Ідентифікацію виконують наступними дослідженнями:

A. Склад жирних кислот.

B. Відповідає межам визначення.

Тести:

Кислотне число (2.5.1): не більше 6,0. Використовують свіжонеутралізовану суміш 1 об'єму води Р та 2 об'ємів 2-пропанолу Р як розчинник та обережно нагрівають.

Склад жирних кислот (2.4.22, Метод С). Використовують суміш калібрувальних речовин з таблиці 2.4.22.-1.

Склад жирнокислотної фракції речовини: – лауринова кислота: не більше 3,0 %; – міристинова кислота: не більше 3,0 %; – пальмітинова кислота: від 25,0 % до 40,0 %; стеаринова кислота: від 55,0 % до 75,0 %;

– сума вмісту пальмітинової та стеаринової кислот: не менше 90,0 %.
Вільна сахароза. Метод Рідинна хроматографія (2.2.29).

Суміш розчинників: вода для хроматографії Р, тетрагідрофуран для хроматографії Р (12,5:87,5 об./об.).

Випробовуваний розчин. 0,200 г випробовуваної речовини розчиняють у суміші розчинників, доводять об'єм сумішню розчинників до 4,0 мл.

Розчин порівняння (а). 20,0 мг CRS сахарози розчиняють у суміші розчинників, доводять об'єм сумішню розчинників до 10,0 мл.

Розчин порівняння (b). У 4 мірні колби вносять відповідно 5,0 мг, 10,0 мг, 20,0 мг та 25,0 мг CRS сахарози, розчиняють у суміші розчинників, доводять об'єм сумішню розчинників до 10,0 мл.

Рухома фаза: – рухома фаза А: розчин ацетату амонію R в ацетонітрилі для хроматографії R; – рухома фаза В: розчин ацетату амонію R у суміші 10 об'ємів води для хроматографії R та 90 об'ємів тетрагідрофурану для хроматографії R.

Виявлення: випарний світлорозсіювальний детектор; – газ-носій: азот R; – швидкість потоку: 1,0 мл/хв; – температура випарника: 45 °C; – температура небулайзера: 40 °C. Введення: 20 мкл.

Кількісне визначення. Ексклюзивна хроматографія (2.2.30): використовують процедуру нормалізації.

Випробовуваний розчин. Розчиняють 60,0 мг досліджуваної речовини в тетрагідрофурані R, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 4,0 мл.

Рухома фаза: тетрагідрофуран R.

Швидкість потоку: 1,2 мл/хв.

Виявлення: диференціальний рефрактометр. Введення: 20 мкл.

Нами виконано хроматографічне дослідження методом ВЕРХ для ідентифікації та визначення чистоти випробовуваної субстанції, яка містить ексцепієнт Цукрози стеарат та визначення його кількісного вмісту, адаптація умов хроматографування випробовуваної субстанції з використанням базових умов хроматографування і методик дослідження, які описано в Європейській Фармакопеї для дослідження методом Рідинної хроматографії.

Дослідження включає два напрямки:

- 1). Ідентифікація та визначення чистоти субстанції Цукрози стеарату.
- 2). Визначення кількісного вмісту Цукрози стеарату.

Матеріали та методи.

Хроматограф Agilent 1200 з DAD детектором.

Хроматографічні умови

- колонка PLgel 5 μm 100 Å (600×7,5 мм);
- потік – 1,2 мл/хв
- детектування – рефрактометричний детектор (RID)
- об'єм інжекції – 20 мкл
- температура колонки – 25°C
- рухома фаза: тетрагідрофуран чистоти для ВЕРХ
- час хроматографування 12 хв.

Пробопідготовка: розчинення зразка (250 мг) у тетрагідрофурані 100 мл з фільтрацією. Виконано дві паралельні проби (№1 та №2) з трьома інжекціями кожна; включено blank для контролю.

Оцінка – за відсотком площ піків (area %).

При проведенні комп'ютерного аналізу використовували програму OpenLab CDS.

Для проведення досліджень методом ВЕРХ використовували реактиви: *тетрагідрофуран (чистоти для ВЕРХ)*.

Отримані результати.

На рисунках 3.1-3.3 представлено отримані хроматограми.

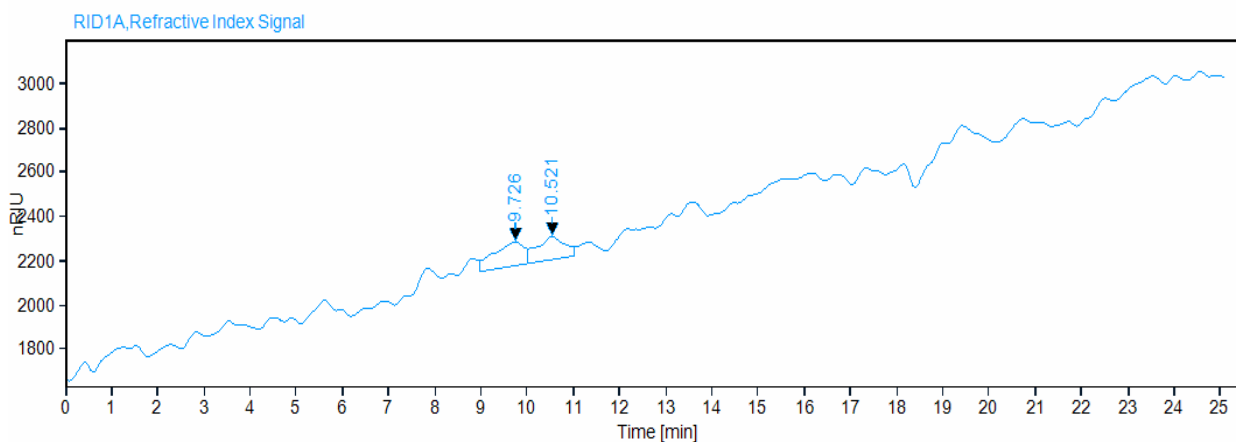


Рисунок 3.1. Хроматограма бланку.

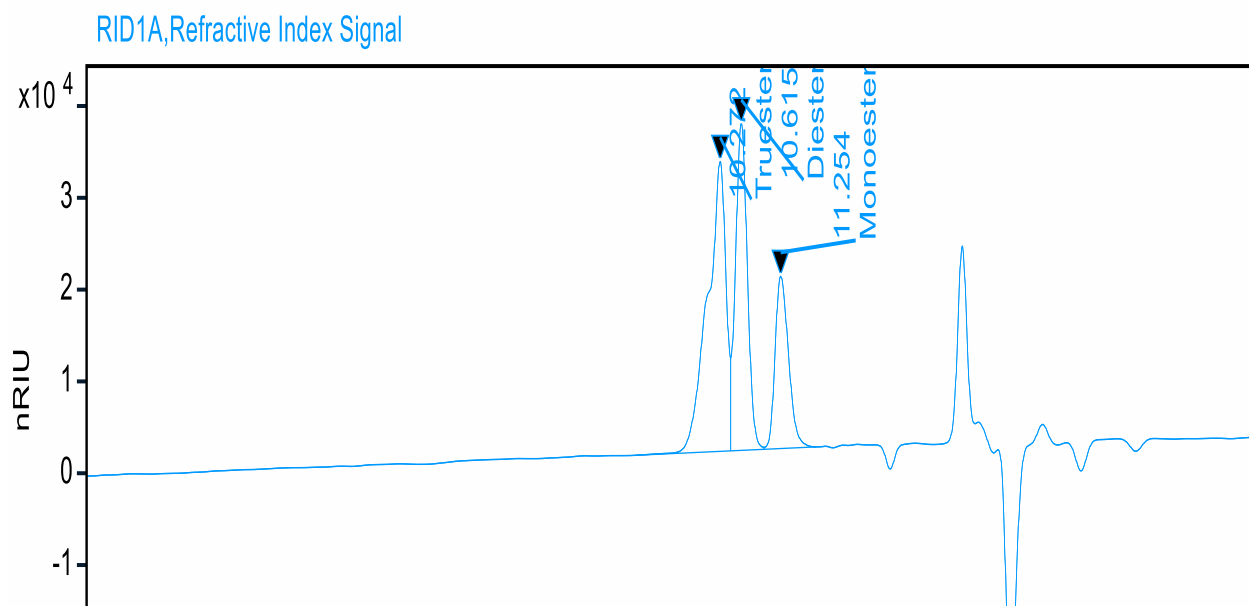


Рисунок 3.2. Хроматограма розчину випробовуваного зразку №1: Триестер $R_t = 10.272$ хв, Діестер $R_t = 10.615$ хв, Моноестер $R_t = 11.254$ хв.

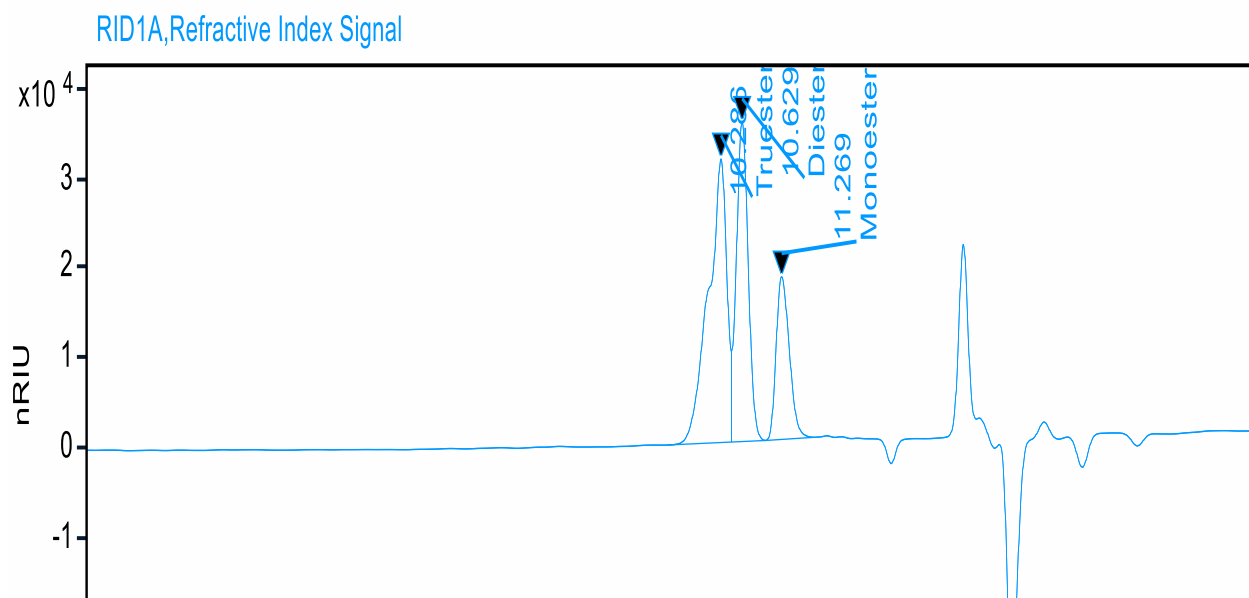


Рисунок 3.3. Хроматограма розчину випробовуваного зразку №2: Триестер $R_t = 10.286$ хв, Діестер $R_t = 10.629$ хв, Моноестер $R_t = 11.269$ хв.

Отримані результати представлено в таблицях 3.1, 3.2:

Таблиця 3.1. Зразок № 1. Таблиця 3.2. Зразок № 2.

	<i>№1</i>					
	<i>Truester</i>		<i>Diester</i>		<i>Monoester</i>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	10,263	646984,096	10,605	476447,499	11,242	275528,855
	10,272	659899,302	10,615	480206,271	11,254	284700,067
	10,276	652890,840	10,619	478715,841	11,259	269604,725
Середнє	10,270	653258,079	10,613	478456,537	11,252	276611,216
SD	0,007	6465,430	0,007	1892,755	0,009	7605,654
RSD(≤2%)	0,06%	0,99%	0,07%	0,40%	0,08%	2,75%

	<i>№2</i>					
	<i>Truester</i>		<i>Diester</i>		<i>Monoester</i>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	10,286	655090,998	10,629	477779,006	11,269	268925,842
	10,284	648776,855	10,627	477047,755	11,268	267656,537
	10,291	656332,196	10,635	480969,692	11,277	267610,685
Середнє	10,287	653400,016	10,630	478598,818	11,271	268064,355
SD	0,004	4051,587	0,004	2085,537	0,005	746,422
RSD(≤2%)	0,04%	0,62%	0,04%	0,44%	0,04%	0,28%

В таблицях:

T- тейлінг (форма піку, часто буває менше 2),

N – кількість теоретичних тарілок (чим більше теоретичних тарілок, тим вища ефективність розділення компонентів у колонці),

RSD - відносне стандартне відхилення, згідно Фармакопеї, має бути менше 2),

SD –стандартне відхилення, використовується для визначення RSD)

Хроматограми показали чітке розділення піків: триестер (RT ~10,27 хв), діестер (~10,62 хв), моноестер (~11,26 хв).

Середні площі для проби №1: триестер 653258, діестер 478457, моноестер 276611. Загальна площа: 1 408 326.

- Триестер: $(653258 / 1\,408\,326) \times 100 = 46,39\%$.
- Діестер: $(478457 / 1\,408\,326) \times 100 = 33,97\%$.
- Моноестер: $(276611 / 1\,408\,326) \times 100 = 19,64\%$.

Для проби №2: середні площі 653400 (три-), 478599 (ді-), 268064 (моно-). Загальна: 1 400 063.

- Триестер: 46,67%.
- Діестер: 34,19%.
- Моноестер: 19,15%.

Середнє за двома пробами (округлення до 0,01% на базі сумарної площі): триестер 46,53%, діестер 34,08%, моноестер 19,40%.

Склад з домінуванням три- (46,53%) та діестерів (34,08%) вказує на гідрофобний профіль (HLB ~3–8), придатний для стабілізації емульсій у топічних препаратах (креми, лосьйони) та пероральних формах, де покращує розчинність гідрофобних ліків.

У фармацевтичній сфері цукроза стеарат застосовується для рівномірного розподілу АФІ, зменшення токсичності та підвищення біодоступності, як у таблетках для зменшення розміру гранул.

Для подальшого фармацевтичного використання потрібні додаткові тести (вільна сахароза $\leq 5\%$, кислотне число ≤ 6).

ВИСНОВКИ

1. Впроваджено метод ВЕРХ у аналіз субстанції, яка містить ексцепієнт Цукрози стеарат та ідентифіковано досліджувану речовину у двох зразках – хроматограми показали чітке розділення піків: триестер (RT ~10,27 хв), діестер (~10,62 хв), моноестер (~11,26 хв).
2. Середні площі для зразка №1: триестер 653258, діестер 478457, моноестер 276611, загальна площа: 1 408 326; для зразка №2: середні площі 653400 (три-), 478599 (ди-), 268064 (моно-), загальна площа: 1 400 063. Середнє за двома пробами (округлення до 0,01% на базі сумарної площі): триестер 46,53%, діестер 34,08%, моноестер 19,40%.
3. Склад з домінуванням три- (46,53%) та діестерів (34,08%) вказує на гідрофобний профіль (HLB ~3–8), придатний для стабілізації емульсій у топічних препаратах (креми, лосьйони) та пероральних формах, де покращує розчинність гідрофобних ліків. Для подальшого фармацевтичного використання потрібні додаткові тести (вільна сахароза $\leq 5\%$, кислотне число ≤ 6).

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Infantes-Garcia, M.R.; Verkempinck, S.H.; Hendrickx, M.E.; Grauwet, T. Kinetic modeling of in vitro small intestinal lipid digestion as affected by the emulsion interfacial composition and gastric prelipolysis. *J. Agric. Food Chem.* **2021**, *69*, 4708–4719.
2. Infantes-Garcia, M.R.; Verkempinck, S.; Gonzalez-Fuentes, P.; Hendrickx, M.; Grauwet, T. Lipolysis products formation during in vitro gastric digestion is affected by the emulsion interfacial composition. *Food Hydrocoll.* **2021**, *110*, 106163.
3. Jain, S.; Winuprasith, T.; Suphantharika, M. Encapsulation of lycopene in emulsions and hydrogel beads using dual modified rice starch: Characterization, stability analysis and release behaviour during in-vitro digestion. *Food Hydrocoll.* **2020**, *104*, 105730.
4. Shao, S.Y.; Shi, Y.G.; Wu, Y.; Bian, L.Q.; Zhu, Y.J.; Huang, X.Y.; Pan, Y.; Zeng, L.Y.; Zhang, R.R. Lipase-catalyzed synthesis of sucrose monolaurate and its antibacterial property and mode of action against four pathogenic bacteria. *Molecules* **2018**, *23*, 1118.
5. Wang, Z.; Ma, D.; Gan, L.; Lu, X.; Wang, Y. Octenyl succinate esterified gum arabic stabilized emulsions: Preparation, stability and in vitro gastrointestinal digestion. *LWT* **2021**, *149*, 112022.
6. Li, X.; Hai, Y.-W.; Ma, D.; Chen, J.; Banwell, M.G.; Lan, P. Fatty acid ester surfactants derived from raffinose: Synthesis, characterization and structure-property profiles. *J. Colloid Interface Sci.* **2019**, *556*, 616–627.
7. Zhu, J.-P.; Ma, Y.-R.; Teng, Y.; Chen, J.; Banwell, M.G.; Lan, P. Emulsifying properties of an homologous series of medium-and long-chain D-maltotriose esters and their impacts on the viabilities of selected cell lines. *J. Agric. Food Chem.* **2020**, *68*, 9004–9013.

8. Larrañaga, A.; Lizundia, E. A review on the thermomechanical properties and biodegradation behaviour of polyesters. *Eur. Polym. J.* **2019**, *121*, 109296.
9. Petrova, K.T.; Barros, M.T.; Calhelha, R.C.; Soković, M.; Ferreira, I.C. Antimicrobial and cytotoxic activities of short carbon chain unsaturated sucrose esters. *Med. Chem. Res.* **2018**, *27*, 980–988.
10. Bernal, C.-A.; Castellanos, L.; Aragón, D.M.; Martínez-Matamoros, D.; Jiménez, C.; Baena, Y.; Ramos, F.A. Peruvioses A to F, sucrose esters from the exudate of *Physalis peruviana* fruit as α -amylase inhibitors. *Carbohydr. Res.* **2018**, *461*, 4–10.
11. Andrade, J.; Wright, A.J.; Corredig, M. In vitro digestion behavior of water-in-oil-in-water emulsions with gelled oil-water inner phases. *Food Res. Int.* **2018**, *105*, 41–51.
12. Xie, M.-F.; White, L.V.; Banwell, M.G.; Wang, Y.; Lan, P. Solvent-Free Synthesis of High-Purity Sucrose Fatty Acid Monoesters and a Comparison of Their Properties with Those of Their Commercial Counterparts. *ACS Food Sci. Technol.* **2021**, *1*, 1550–1560.
13. Bao, C.; Kramata, P.; Lee, H.J.; Suh, N. Regulation of hedgehog signaling in cancer by natural and dietary compounds. *Mol. Nutr. Food Res.* **2018**, *62*, 1700621.
14. Hubert, F.; Loiseau, C.; Ergan, F.; Pencréach, G.; Poisson, L. Fast fatty acid analysis by core-shell reversed-phase liquid chromatography coupled to evaporative light-scattering detector. *Food Nutr. Sci.* **2017**, *8*, 1051–1062.
15. Qiu, S.; Zhou, Y.; Kim, J.T.; Bao, C.; Lee, H.J.; Chen, J. Amentoflavone inhibits tumor necrosis factor- α -induced migration and invasion through AKT/mTOR/S6k1/hedgehog signaling in human breast cancer. *Food Funct.* **2021**, *12*, 10196–10209.
16. Zheng, B.; Zheng, B.; Carr, A.J.; Yu, X.; McClements, D.J.; Bhatia, S.R. Emulsions stabilized by inorganic nanoclays and surfactants: Stability,

- viscosity, and implications for applications. *Inorganica Chim. Acta* **2020**, *508*, 119566.
17. Zhao, Y.; Liu, A.; Du, Y.; Cao, Y.; Zhang, E.; Zhou, Q.; Hai, H.; Zhen, Y.; Zhang, S. Effects of sucrose ester structures on liposome-mediated gene delivery. *Acta Biomater.* **2018**, *72*, 278–286.
18. Zou, L.; Liu, W.; Liu, C.; Xiao, H.; McClements, D.J. Designing excipient emulsions to increase nutraceutical bioavailability: Emulsifier type influences curcumin stability and bioaccessibility by altering gastrointestinal fate. *Food Funct.* **2015**, *6*, 2475–2486.
19. Salvia-Trujillo, L.; Verkempinck, S.; Sun, L.; Van Loey, A.; Grauwet, T.; Hendrickx, M. Lipid digestion, micelle formation and carotenoid bioaccessibility kinetics: Influence of emulsion droplet size. *Food Chem.* **2017**, *229*, 653–662.
20. Vincent, M.; Ménard, O.; Etienne, J.; Ossemond, J.; Durand, A.; Buffin, R.; Loizon, E.; Meugnier, E.; Deglaire, A.; Dupont, D.; et al. Human milk pasteurisation reduces pre-lipolysis but not digestive lipolysis and moderately decreases intestinal lipid uptake in a combination of preterm infant in vitro models. *Food Chem.* **2020**, *329*, 126927.
21. Lamothe, S.; Jolibois, É.; Britten, M. Effect of emulsifiers on linseed oil emulsion structure, lipolysis and oxidation during in vitro digestion. *Food Funct.* **2020**, *11*, 10126–10136.
22. Liang, L.; Zhang, X.; Wang, X.; Jin, Q.; McClements, D.J. Influence of dairy emulsifier type and lipid droplet size on gastrointestinal fate of model emulsions: In vitro digestion study. *J. Agric. Food Chem.* **2018**, *66*, 9761–9769.
23. Liu, Y.; Liu, C.; Zhang, S.; Li, J.; Zheng, H.; Jin, H.; Xu, J. Comparison of different protein emulsifiers on physicochemical properties of β -carotene-loaded nanoemulsion: Effect on formation, stability, and in vitro digestion. *Nanomaterials* **2021**, *11*, 167.

24. Verkempinck, S.; Salvia-Trujillo, L.; Moens, L.; Carrillo, C.; Van Loey, A.; Hendrickx, M.; Grauwet, T. Kinetic approach to study the relation between in vitro lipid digestion and carotenoid bioaccessibility in emulsions with different oil unsaturation degree. *J. Funct. Foods* **2018**, *41*, 135–147.
25. Abedi, S.; Suteria, N.S.; Chen, C.-C.; Vanapalli, S.A. Microfluidic production of size-tunable hexadecane-in-water emulsions: Effect of droplet size on destabilization of two-dimensional emulsions due to partial coalescence. *J. Colloid Interface Sci.* **2019**, *533*, 59–70.
26. Li, C.; Shen, Y.; Sun, C.; Cheraga, N.; Tu, J. Immunosafety and chronic toxicity evaluation of monomethoxypoly (ethylene glycol)-b-poly (lactic acid) polymer micelles for paclitaxel delivery. *Drug Deliv.* **2016**, *23*, 878–885.
27. 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.
28. European Pharmacopoeia. Council of Europe, Strasbourg, 11-th ed., 2022. V.1II: 4085-4087.

SUMMARY

Yashchynska Viktoriya

"IDENTIFICATION AND QUANTIFICATION OF SUCROSE STEARATE IN A DRUG SUBSTANCE BY HPLC"

The department of medicinal chemistry and toxicology

Scientific supervisor: PhD (Biol.) Meleshko R.A.

Keywords: Sucrose Stearate, accompanying substances, residual amounts, substance, medicinal product, HPLC, impurities.

Introduction. Sucrose stearate (sucrose) is a mixture of the sugar sucrose and the natural substance stearic acid. Sucrose is found in most fruits and vegetables. It is obtained from sugar cane and sugar beets and is the raw material for the production of white table sugar. Stearic acid is found in the fats of many animals, in high concentrations in shea butter and cocoa butter. In some formulas, sucrose stearate is an important active ingredient for softening the skin. An emollient is an ingredient that softens the skin, smoothing its texture. Pharmacopoeial analysis (Ph. Eur., USP-NF): Liquid chromatography (HPLC) is the main method for the quantitative determination of free sucrose and the distribution of esters. Detection: a refractometric detector (RI) or an electron light scattering detector (ELSD) is often used.

Materials and methods. Objects of research are substances of Sucrose Stearate and its standard samples. Research subject: development of conditions for HPLC study of pharmaceutical analysis of Sucrose Stearate substance. Methods: Agilent 1200 chromatograph with DAD detector, PLgel 5 μm 100 Å column (600×7.5 mm); flow rate – 1.2 ml/min, detection – refractometric detector (RID), injection volume – 20 μl , column temperature – 25°C. OpenLab CDS program.

Results. The HPLC method was introduced into the analysis of a substance containing the excipient Sucrose stearate and the test substance was identified in two samples - the chromatograms showed a clear separation of peaks: triester (RT ~10.27 min), diester (~10.62 min), monoester (~11.26 min).

Conclusions. Average areas for sample #1: triester 653258, diester 478457, monoester 276611, total area: 1,408,326; for sample #2: average areas 653400 (tri-), 478599 (di-), 268064 (mono-), total area: 1,400,063. Average of two samples (rounded to 0.01% based on total area): triester 46.53%, diester 34.08%, monoester 19.40%.

ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.



Ректор Національного медичного університету
імені О. О. Богомольця, д. м. н., професор

В. о. завідувача кафедри фармакогнозії та ботаніки,
д. фарм. н., професор



Юрій КУЧИН

Уляна КАРПЮК