RZECZPOSPOLITA POLSKA

Urząd Patentowy Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **220160**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **400227**

(22) Data zgłoszenia: **03.08.2012**

(51) Int.Cl.
G01N 33/00 (2006.01)
A61K 36/48 (2006.01)
A61K 31/4164 (2006.01)
A61P 33/00 (2006.01)

(54) **Sposób oznaczania lewamizolu w tkance roślinnej**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
17.02.2014 BUP 04/14

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
30.09.2015 WUP 09/15

(73) Uprawniony z patentu:
POLITECHNIKA ŚLĄSKA, Gliwice, PL

(72) Twórca(y) wynalazku:
DOROTA MARCIOCHA, Ruda Śląska, PL
JOANNA KALKA, Ruda Śląska, PL
JOLANTA TUREK-SZYTOW, Gliwice, PL
JOANNA SURMACZ-GÓRSKA, Gliwice, PL
AGNIESZKA BODNAR, Chorzów, PL

(74) Pełnomocnik:
rzecz. pat. Urszula Ziółkowska

PL 220160 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób oznaczania lewamizolu w tkance roślinnej.

Znana jest metoda oznaczania lewamizolu w sałacie.

[Boxall A.B.A., Johnson P., Smith E.J., Sinclair CH.J., Stutt E., Levy L.S. (2006). Uptake of Veterinary Medicines from Soils into Plants. Journal Agricultural Food Chemistry 54, 22882297].

Sposób według wynalazku polega na tym, że zebrane rośliny korzystnie roślinę *Vicia faba major*, wstępnie przygotowuje się poprzez: suszenie, oczyszczenie i zamrożenie, następnie poddaje się procesowi liofilizacji i kolejno homogenizuje się korzystnie poprzez rozdrobnienie, a tak otrzymany materiał biologiczny ekstrahuje się metanolem, korzystnie o czystości > 99,9%, korzystnie przez 90 minut i oczyszcza się otrzymany ekstrakt leku korzystnie poprzez odwirowanie na wirówce oraz filtruje się.

Opracowany sposób według wynalazku – ekstrakcji lewamizolu z materiału roślinnego bób Windsor biały umożliwiła ilościowe oznaczenie badanego farmaceutyku w biomasie roślinnej.

Zaletą sposobu według wynalazku jest uzyskanie wysokiego odzysku oraz pominięcie ekstrakcji to fazy stałej, która powoduje wydłużenie czasu preparacji próbek i zwiększenie ilości zużywanych odczynników.

Wydajność metody dla oznaczania leku w tkance korzeniowej jest równa 99%, dla części zielonej 96%.

Przedmiot wynalazku objaśniono w poniższym przykładzie wykonania.

Wstępne przygotowywanie prób i przechowywanie

Zebrane rośliny wysuszyć w temperaturze pokojowej, a następnie oddzielić korzeń od części nadziemnej (łodygi i liście). Materiał umieścić w osobnych, plastikowych pojemnikach i zamrozić do temperatury -20°C.

Liofilizacja

Próby zliofilizować. Proces ten ma na celu w jak największym stopniu usunięcie wody z roślin, pozyskanie suchej masy organicznej przy jednoczesnym nie naruszeniu struktury badanych leków. Lewamizol rozkłada się bowiem pod wpływem temperatury i tradycyjna metoda suszarkowa nie może być stosowana.

Homogenizacja materiału

Zliofilizowane próby zhomogenizować w porcelanowym moździerzu do uzyskania drobnego proszku. W taki sposób przygotowany materiał badawczy zapewnia jak największą powierzchnię kontaktu materiału roślinnego z ekstrahentem.

Ekstrakcja

Przeprowadzić ekstrakcję dla korzeni oraz części nadziemnych w 15 cm^3 probówkach z masą dla korzenia wynoszącą 0,2 g, natomiast części nadziemnych 0,5 g. Materiał biologiczny ekstrahować 10 ml metanolu o czystości 99,9% przez 90 minut.

Odzysk leku z materiału roślinnego

Określenie odzysku wykonać w 15 cm^3 probówek z odważoną ilością zliofilizowanego materiału roślinnego (0,2 g dla części korzeniowej i 0,5 g części nadziemnych) wymieszanego z 4.9*10–7 molami leku na kg zliofilizowanej masy roślinnej postępując identycznie jak podczas ekstrakcji. Odzysk leku wynosi odpowiednio: dla korzeni – 99%, dla części zielonej 96%.

Oczyszczanie ekstraktu

Próby odwirować na wirówce (5000 RPM) przez 15 minut a następnie filtrować na sączkach celulozowych o porach 0,2 μm.

Oznaczenie leku za pomocą wysoko sprawnej chromatografii cieczowej (HPLC)

Oznaczenie LEV wykonać za pomocą HPLC z detektorem UV – VIS przy użyciu kolumny chromatograficznej RP–18 o długości 250 mm z prekolumnę RP–18 o długości 25 mm. Przed pierwszym użyciem kondycjonować kolumnę wodą i metanolem w stosunku 60/40. Oznaczenia stężenia leku dokonać przy długość fali równej 217 nm. Podczas analizy utrzymywać przepływ eluentów na poziomie 1 cm^3/min przy stosunku eluentów wynoszącym odpowiednio 15:85 acetonitrylu do buforu. Czas analizy wynosi 8 minut a czas retencji leku wynosi ok. 6,9 minut.

Wykonana krzywa wzorcowa w zakresie stężeń od 0,1 do 5 mg leku/dm^3 metanolu o dopasowaniu R2 równym 0,998.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób oznaczania lewamizolu w tkance roślinnej, **znamienny tym**, że zebrane rośliny, korzystnie roślinę *Vicia faba major*, wstępnie przygotowuje się poprzez: suszenie, oczyszczenie i zamrożenie, następnie poddaje się procesowi liofilizacji i kolejno homogenizuje się korzystnie poprzez rozdrobnienie, a tak otrzymany materiał biologiczny ekstrahuje się metanolem korzystnie o czystości > 99,9% korzystnie przez 90 minut i oczyszcza się otrzymany ekstrakt leku korzystnie poprzez odwirowanie na wirówce oraz filtruje się.

Departament Wydawnictw UPRP
Cena 2,46 zł (w tym 23% VAT)