

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY** (19) **PL** (11) **220592**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **400226**

(22) Data zgłoszenia: **03.08.2012**

(51) Int.Cl.

G01N 33/00 (2006.01)

A61K 31/415 (2006.01)

A61P 33/10 (2006.01)

A61K 36/48 (2006.01)

(54)

Sposób oznaczania albendazolu w tkance roślinnej

(43) Zgłoszenie ogłoszono:

17.02.2014 BUP 04/14

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:

30.11.2015 WUP 11/15

(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 Ziólkowska

PL 220592 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób oznaczania albendazolu w tkance roślinnej.

Sposób według wynalazku polega na tym, że zebrane rośliny *Vicia faba major*, korzystnie 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 dimetylosulfotlenkiem (DMSO) korzystnie o czystości > 99%, korzystnie przez 90 minut i oczyszcza się otrzymany ekstrakt leku, korzystnie poprzez odwirowanie na wirówce oraz filtruje się.

Opracowany sposób według wynalazku – ekstrakcji albendazolu z materiału roślinnego bób Windsor biały umożliwiła ilościowe oznaczenie badanego farmaceutyku w biomacie 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 93%, dla części zielonej – 86%.

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. Albendazol 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 dimetylosulfotlenku (DMSO) o czystości > 99% 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 $4,9 \cdot 10^{-7}$ mola mi leku na kg zliofilizowanej masy roślinnej, postępując identycznie jak podczas ekstrakcji. Odzysk leku wynosi odpowiednio: dla korzeni – 93%, dla części zielonej – 86%.

Oczyszczanie ekstraktu

Próby odwirować na wirówce (5000 RPM) przez 15 minut, a następnie filtrować na sączkach celulozowych o porach $0,2\ \mu\text{m}$.

Oznaczenie leku za pomocą wysokosprawnej chromatografii cieczowej (HPLC)

Oznaczenie albendazolu wykonać za pomocą HPLC z detektorem UV-VIS przy użyciu kolumny chromatograficznej RP-18 o długości 250 mm z prekolumną 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 292 nm. Podczas analizy utrzymywać przepływ eluentów na poziomie $1\text{ cm}^3/\text{min}$ przy stosunku eluentów wynoszącym odpowiednio 50:50 acetonitrylu do buforu fosforanowego ($15\text{ mmol K}_2\text{HPO}_4$, pH 3,8). Czas analizy wynosi 7 minut, a czas retencji leku wynosi ok. 6,3 minut.

Wykonana krzywa wzorcowa w zakresie stężeń od 0,1 do $5\text{ mg leku}/\text{dm}^3$ metanolu o dopasowaniu R^2 równym 0,999.

Zastrzeżenie patentowe

Sposób oznaczania albendazolu 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 dimetylosulfotlenkiem (DMSO), korzystnie o czystości > 99%, korzystnie przez 90 minut i oczyszcza się otrzymany ekstrakt leku, korzystnie poprzez odwirowanie na wirówce oraz filtruje się.

