

Винахід, що передбачається, відноситься до сільського господарства, а саме до визначення антгельмінтиків широкого спектру дії в тканинах тваринного походження і застосовується у ветеринарній медицині.

Визначення альбендазолу в тканинах тваринного походження необхідне при виконанні науково-дослідних робіт та при контролі за залишковими кількостями діючої речовини в продуктах тваринництва при його використанні як антгельмінтика широкого спектру дії на нематод, трематод і цестод на різних стадіях розвитку.

Альбендазол це хімічна сполука бензимидазолу-метилу -(5-пропілтіо-1Н-бензимидазол-2-іл) - карбамат, яка випускається і використовується в багатьох країнах світу з різною комерційною назвою і в різних препаративних формах. Синоніми: атазол, бровальзен, вальбазен, альбендазолу сульфоксид.

Властивості: погано розчинний у воді і в більшості органічних розчинників порошок, добре розчиняється в диметилсульфоксиді і оцтовій кислоті, трохи в хлороформі, молекулярна вага 265,3, температура плавлення 193-198°C (по іншим даним 208-210°C).

Існують способи визначення антгельмінтиків, які є дослідними. Існує „Способ определения бензимидазола” (А.с. №1827594 от 10.03.91г., G01N21/78, Киевский госуниверситет В.В. Сухан и др.). Цей спосіб виконується шляхом додавання до проби, що аналізують, реагенту розчину сульфату міді та аміаку, а саме визначення ведуть за графіком, цей спосіб є трудомістким і використовується для визначення тільки бензимидазолу.

Існують „Методичні вказівки по визначенню альбендазолу в повітрі робочої зони, воді, об'єктах тваринного походження”, Київ, 07.09.1999р., Департамент ветмедицини Міністерства агропромислового комплексу України. Рішення по цій методиці і може бути прототипом.

Спосіб виконується таким чином. Вилучається альбендазол та його метаболіт сульфоксид із об'єкту, що аналізується органічним розчинником (етиловим спиртом), очищується екстракт, виморожується, після чого осаджуються коекстрактивні речовини, і визначаються рідиною хроматографією. Недоліком цього способу є необхідність використання великої кількості реактивів і часу, а також безлічі хроматографічних прийомів при підготовці проби до безпосереднього аналізу, які не завжди аргументовані.

Спосіб, що запропонований, спрощує визначення альбендазолу в тканинах тваринного походження, а також підвищує чутливість способу.

В основу винаходу поставлено задачу розробити спосіб визначення альбендазолу в тканинах тваринного походження вилученням діючого компонента проби етиловим спиртом, екстракцією препарату, осаджуванням коекстрактивних речовин з послідовним проведенням рідинної хроматографії шляхом прямої екстракції альбендазолу та осаджуванням коекстрактивних речовин виморожуванням у спиртовому розчині на холоді, щоб забезпечити визначення альбендазолу в тканинах тваринного походження.

Порівняльний аналіз із прототипом дозволяє зробити висновок про те, що „Спосіб визначення альбендазолу в тканинах тваринного походження” відрізняється тим, що використовується пряма екстракція альбендазолу, що спрощує спосіб визначення та відповідає критерію „новизна”.

Спосіб виконується таким чином.

Вилучення діючого компонента із аналізованої проби, осаджування коекстрактивних речовин на холоді засобом виморожування, доочищення екстракту на колонці або міліпорі і ідентифікація діючих речовин препарату способом високоякісної рідинної хроматографії.

Аналіз відомих технічних рішень в галузі токсикології дозволяє зробити висновок про відсутність ознак, що схожі з суттєвими відмінними ознаками способу, що заявляється, та признати це рішення відповідним критерію „суттєві ознаки”.

Приклад 1

Виділення альбендазолу із біологічних об'єктів.

Із середньої гомогенізованої проби відбирали наважку: м'язова тканина - 10-20г, внутрішні органи - 10г, жир - до 4г, жовток яйця - до 10г, білок яйця - до 20г.

Відібрану наважку розмішували в конічну колбу з притертою пробкою і екстрагували етанолом (в співвідношенні 1:3) протягом 5 хвилин і поміщали в холодильник на 1 годину. При необхідності неурівноважені частки осаджували на центрифугі (5 хвилин при 1000 обертів за хвилину). Надосадкову рідину пропускали через міліпор або переносили в приготовлену хроматографічну колонку для додаткового очищення екстракту. При цьому використовували скляну хроматографічну колонку з діаметром 7-8мм. В нижню звужену частину колонки вводили тампон із білої вати, насипали шар безводного сірчаноокислого натрію - 1см, оксиду алюмінію - 1см, АСК - 4см і шар безводного сірчаноокислого натрію - 0,5см. Колонку перед внесенням екстракту промивали етанолом.

Після очищення аналізованого етанолового екстракту проводили аналіз наявності діючої речовини альбендазолу на хроматографі.

Приклад 2

Ідентифікація і кількісне визначення діючої речовини альбендазолу. Визначення проводили на рідинному хроматографі «Ліквохром», використовуючи петлю введення на 3 або 20мкл, світлофільтр 254нм, шкалу підсилювача 8, самописця 10mV, колонку „Сепарон С₁₈”, рухливу систему 96° етанол з швидкістю 0,5мл/хв.

При зазначених умовах час виходу альбендазолу склав 8 хвилин.

Кількісний розрахунок наявності альбендазолу в аналізованих об'єктах проводили за формулою:

$$X = \frac{U_{\text{пр}}(\text{мл}) \times \text{Ст}(\text{нг}) \times \text{Нпр} \times 100}{U_{\text{р}} - \text{н}(\text{мкл}) \times \text{Нст} \times \text{М}(\text{пр}) \times \text{ж}},$$

де:

X - кількість діючої речовини альбендазолу ліпосомальної форми в пробі в мг на кг;

U_{пр}(мл) - об'єм екстракту в мл;

Ст.(нг) - кількість альбендазолу в мг введена в випарювач хроматографа зі стандартним розчином;

Нпр - висота піка аналізованої проби в мл;

U_р - н(мкл) - кількість екстракту введеного в хроматограф в мкл;

Нст - висота піка стандарту в см;

Мпр - маса проби взятої для екстракції (в г або мл);

100 - коефіцієнт для внесення поправки на втрати альбендазолу при К екстракції і підготовці проби для дослідження, де К - визначаємість препарату в %.

Запропонований спосіб дозволить значно спростити процедуру проведення аналізу завдяки прямій екстракції альбендазолу і таким чином знизити вартість аналізу. Спосіб визначення альбендазолу в тканинах тваринного походження є ефективним та вирішує важливу народногосподарську проблему щодо контролю залишкових кількостей діючої речовини в продуктах тваринництва.