



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **75076** (13) **U**
(51) МПК
G01N 33/15 (2006.01)

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2012 03813	(72) Винахідник(и): Борщевський Геннадій Ілліч (UA), Ремез Олег Сергійович (UA), Шевіна Вікторія Леонідівна (UA), Круглов Євген Михайлович (UA)
(22) Дата подання заявки: 29.03.2012	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 26.11.2012	
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 26.11.2012, Бюл.№ 22	(73) Власник(и): Борщевський Геннадій Ілліч, вул. Маршала Жукова, 33-а, кв. 92, м. Київ, 02166 (UA), Ремез Олег Сергійович, вул. Польова, 23, с. Берлози, Козелецький р-н, Чернігівська обл., 17005 (UA), Шевіна Вікторія Леонідівна, мкр ім. Корявко, 23, кв. 164, м. Армянськ, АРКрим, 92012 (UA), Круглов Євген Михайлович, вул. Закревського, 37, кв. 38, м. Київ, 02217 (UA)
	(74) Представник: Рогуля Ольга Петрівна, реєстр. №233

(54) ЕКСПРЕС-МЕТОД ВИЗНАЧЕННЯ ЕТАНОЛУ

(57) Реферат:

Експрес-метод визначення етанолу включає визначення концентрації етилового спирту в парентеральних розчинах шляхом визначення осмоляльності розчину. Потім складають таблиці порівняння і приведення.

UA 75076 U

Корисна модель належить до фармацевтичної промисловості, а саме до галузі біомедичних досліджень, і може бути використана для контролю якості фармацевтичних препаратів, де є потреба в контролі неводних розчинників для парентеральних препаратів перед розливом, а також на стадії міжопераційного контролю.

Етанол (Е) є основним продуктом спиртового бродіння. Він визначає токсичні, адитивні, калоричні властивості вина та інших алкогольних напоїв [1]. Встановлено, що Е в помірних дозах надає антистресорну [2], кардіозахисну [3, 4] та радіопротекторну [5] дію. Це пояснюється тим, що він не є повною мірою ксенобіотиком - чужорідною для організму речовиною. В нормі у крові людини завжди міститься невелика кількість етанолу (0,001-0,015 г/л). Етиловий спирт (етанол) - утворюється та розкладається нашими клітинами, беручи участь у життєво важливих біохімічних реакціях організму. Це так званий ендogenous етанол. Екзогенний етанол, що входить до складу спиртних напоїв та деяких ліків, швидко всмоктується в шлунку (20 %) і тонкому кишечнику (80 %) та потрапляє у кров уже за 5 хвилин. Разом з кровотоком він розноситься по всіх органах і тканинах, збагачених водою, заміщуючи її. Дія етанолу на організм призводить до зміни в багатьох системах та органах, оскільки він залучається до найважливіших процесів життєдіяльності. Одна з його провідних метаболічних функцій полягає у тому, що етанол є джерелом хімічно дуже активного та функціонально важливого метаболіту - ацетальдегіду. Саме завдяки цьому він легко взаємодіє з нейрохімічними медіаторами, гормонами, вітамінами, білками, опіоїдними рецепторами, імунокомпетентними молекулами, посилюючи їхню біологічну активність. Дія етанолу та ацетальдегіду спричинює різноманітні розлади внутрішньоклітинного обміну. Найважливіші з них такі: ушкодження мембран, диспропорція окисно-відновних процесів, порушення енергоутворення, нестача поживних речовин, накопичення токсичного ацетальдегіду, зниження синтезу білків, посилення синтезу ліпідів, зміни обміну нейромедіаторів і нейромодуляторів, порушення гормональної та імунної систем організму [6].

Таким чином, на сьогодні, в усьому світі, а особливо в нашій країні, дуже актуальним є питання постійного контролю якості ліків, харчових продуктів та ранньої медичної діагностики захворювань. Сучасні стандартні методи високоточного визначення етанолу, а саме газова та рідинна хроматографія, спектрофотометрія, різноманітні хімічні та фізичні методи потребують наявності складного та дорогого обладнання, яке обслуговує кваліфікований персонал [7]. Також значним недоліком вищезгаданих методів є необхідність у складній попередній підготовці проб, що впливає на час та вартість аналізу. Альтернативою для вирішення вказаних вище проблем є використання біосенсорів - недорогих, чутливих аналітичних приладів. Це реальний шлях для забезпечення як промислового, так і індивідуального контролю ліків, продуктів харчування, стану здоров'я людини, та є необхідними для покращення якості життя в цілому. На сьогоднішній день розроблено ряд лабораторних біосенсорів для аналізу етанолу [8-18].

Відомий амперметричний мультибіосенсор для визначення лактату, етанолу та глюкози, що містить електророзчинну вимірювальну комірку, призначену для досліджуваного розчину, чотири амперометричні робочі електроди з активними мембранами, нанесеними на поверхню кожного з них, що складаються з ферментів лактатоксидази, алкогольоксидази та глюкозооксидази, селективних до лактату, етанолу та глюкози, відповідно, один робочий електрод з неактивною референтною мембраною із сироваткового альбуміну бика, електрод порівняння, призначений для контролю прикладеного до робочого електрода потенціалу, та допоміжний електрод, а також вимірювально-керуючий модуль з потенціостатом, призначений для підтримування заданого рівня потенціалу на електродах у вимірювальній комірці, вимірювання й перетворення у цифрову форму струмових інформативних сигналів, реєстрації отриманих результатів та керування процесом вимірювання, який здійснює формування заданих напруг живлення та генерування аналогових та логічних сигналів управління вимірювальними перетворювачами і включає в себе мікропроцесорний контролер з відповідним програмним статком нижнього рівня, призначений для виконання вимірювальних операцій, цифрової обробки сигналів та обміну даними з персональним комп'ютером, при цьому робочі електроди підключені до відповідних входів потенціостату, інформаційні виходи і входи керування потенціостату підключені до відповідних входів і виходів вимірювально-керуючого модуля, який підключається через стандартний інтерфейс до персонального комп'ютера (Патент України на корисну модель № 48155 опубл. 10.03.2010, Бюл. № 5, 2010 р.)

Згідно 4.3. Державної Фармакопеї України (далі - ДФУ) етанол належить до малотоксичних розчинників 3 класу, і може розглядатися як такий що має меншу токсичність і менший ризик для здоров'я людини за меж його вмісту, що звичайно допускається у лікарських засобах. Проте довгострокові випробування токсичності або канцерогенності для багатьох розчинників класу 3 відсутні. Наявні дані показують, що вони менш токсичні в гострих і короткочасних

випробуваннях і дають негативний результат у генотоксичних випробуваннях. Вважається, що добова норма цих залишкових розчинників 50 мг/д і менше (що відповідає 5000 ppm або 0,5 % при визначенні меж і концентрації з використанням підходу 1) є прийнятною без обґрунтування.

Відомий спосіб визначення неводних розчинників, зокрема етилового спирту, шляхом проведення хроматографічного аналізу. Фармакопея (ДФУ, Перше видання, Газова хроматографія 2.2.28, стор. 44).

Недоліком даного методики є довготривалість (біля 3-х годин), що дуже складно здійснювати на стадії міжопераційного контролю препаратів перед розливом.

Найближчого аналогу не виявлено.

Задача корисної моделі - розробити експрес-метод визначення етилового спирту в парентеральних розчинах.

Поставлена задача вирішується методом визначення концентрації етилового спирту шляхом визначення осмоляльності. Осмоляльність визначають за допомогою приладу осмометра. Результати вважаються вірогідними, якщо одержане значення випробуваного розчину не виходить за межі значення осмоляльності двох стандартних розчинів, використаних для калібрування. Для розбавлених розчинів, близьких до ідеальних, обидві величини можуть бути розраховані теоретично. Розрахунки осмоляльності у мОсмоль на л ідеальних розчинів згідно з ДФУ здійснюють за формулою:

$$O_s = \frac{m \cdot n \cdot 1000}{M},$$

де m - маса розчиненої речовини, г/л; n - число частинок, що утворюються з однієї молекули речовини при дисоціації; M - молекулярна маса речовини.

Визначення осмоляльності розчинів важливе при застосуванні інфузійних розчинів для парентерального живлення організму, регулюванні порушень водно-електролітного і кислотно-лужного балансу, боротьби із загрозливими для життя станами (шок, набряк мозку, серцева недостатність і т. ін.), коли необхідно проводити тривалу інфузійну терапію, тому що одна з вимог до цих розчинів - ізотонічність. Розчини, що дорівнюють за O. в еквівалентній концентрації 0,9 % розчину натрій хлориду (300 мосмоль/л), називають ізотонічними. На здорове око не виявляють болювого впливу розчини з осмоляльністю в еквівалентній концентрації натрій хлориду в інтервалі 0,6-2 %, що відповідає 220-680 мОсмоль/л. Значення осмоляльності необхідно помічати на етикетках інфузійних розчинів.

При приготуванні парентеральних розчинів було помічено прямопропорційну залежність осмоляльності парентерального розчину від концентрації етилового спирту в ньому. Багаторазові вимірювання підтверджено відповідними вимірюваннями концентрації етилового спирту в парентеральних розчинах за допомогою газового хроматографа. Дані незмінні.

Експериментальні дані приведені на кресленні.

У зв'язку з цим можна зробити висновок, що на стадіях міжопераційного контролю, коли потрібен швидкий результат, можна, використовуючи дані таблиці визначати концентрацію етилового спирту за осмоляльністю розчину. Встановлено, що при осмоляльності від 100 до 400 мосмоль/кг концентрація етанолу складає від 0,5 до 7,0 мг/мл. Таблиці приведення не показані, оскільки є загальновідомими та використовуються для приведення концентрації у відповідність таблиці порівняння, наприклад з мг/мл до процентної або навпаки.

Суть корисної моделі пояснюється прикладами конкретного виконання.

Приклад

Протокол аналізу препарату Есенціале.

Визначення осмоляльності в дослідних серіях на препараті порівняння:

Таблиця

№ проби	Осмоляльність, мОсмоль/кг	Вміст спирту, мг/мл
1	366	6,0
2	368	6,0
3	139	0,6
4	139	0,6
5	203	1,22
6	199	1,22
7	262	4,0
8	261	4,0

Проведено цілий ряд експериментальних вимірювань, створено таблиці порівняння. Результат повторюється і є передбачуваним. Розроблено методику визначення концентрації етилового спирту в парентеральних розчинах на базі виробничих потужностей БАТ "ФАРМАК", запроваджено у підрозділах, де є необхідність швидкого визначення концентрації етанолу.

Технічний результат - розроблено експрес-метод визначення етилового спирту в парентеральних розчинах, який виконується протягом 3-5 хв., на противагу відомому способу визначення спирту газовим хроматографом, який триває 3 години.

Джерела інформації:

1. Нужный В.П. Токсикологическая характеристика этилового спирта, алкогольных напитков и содержащихся в них примесей // Вопр. наркологии. - 1995. - № 3. - С. 65-74.

2. Philip O. Ettinger, Chia F. Wu, Catalino De La Cruz Jr., Allen B. Weisse, S. Sultan Ahmed, Timothy J. Regan Arrhythmias and the "Holiday Heart": Alcohol-associated cardiac rhythm disorders // Am. Heart J.-1978. - Vol. 95, N5. - P. 555-562.

3. Нужный В.П. Катехоламины в патогенезе алкогольного поражения сердца // Вопр. наркологии. - 1993, - № 4. - С. 90-96.

4. Mallov S. // In: Stress and Alcohol Use, - N.Y.e.a.-1983. - P. 369-386.

5. Videla L.A. Assessment of the scavenging action of reduced glutathione, (+)-cyanidanol-3 and ethanol by the chemiluminescent response of the xanthine oxidase reaction. // Experienta.-1983. - Vol. 39, N 5. - P. 500-502.

6. Харченко О., Гавриш П., Остапченко Л. Токсична дія етанолу та його продуктів на організм // Вісн. НАН України, 2006, № 3. - С. 57-67.

7. Lucilene Dornelles Mello, Lauro Tatsuo Kubota Review of the use of biosensors as analytical tools in the food and drink industries // Food Chemistry.-2002. - V 77. - P. 237-256.

8. Rhemrev-Boom M.M., Jonker M.A., Venema K., Jobst G., Tiessen R. On-line continuous monitoring of glucose or lactate by ultraslow microdialysis combined with a flow-through nanoliter biosensor based on poly(m-phenylenediamine) ultra-thin polymer membrane as enzyme electrode // Analyst.-2001. - Vol. 126, № 7.-P. 1073-1079.

9. Palmisano F., Rizzi R., Centonze D., Zambonin P.G. Simultaneous monitoring of glucose and lactate by an interference and cross-talk free dual electrode amperometric biosensor based on electropolymerized thin films // Biosensors and Bioelectronics.-2000. - Vol. 15, № 9-10. - P. 531-539.

10. Moser I., Jobst G., Urban G.A. Biosensor arrays for simultaneous measurement of glucose, lactate, glutamate, and glutamine // Biosensors and Bioelectronics.-2002. - Vol. 17, № 4. - P. 297-302.

11. Badea M., Curulli A., Palleschi G. Oxidase enzyme immobilisation through electropolymerised films to assemble biosensors for batch and flow injection analysis // Biosensors and Bioelectronics. - Vol. 18, № 5-6.-2003. - P. 689-698.12. Esti M, Volpe G., Micheli L, Delibato E., Compagnone D., Moscone D., Palleschi G. Electrochemical biosensors for monitoring malolactic fermentation in red wine using two strains of Oenococcus oeni // Analytica Chimica Acta-2004. - Vol. 513, № 1. - P. 357-364.

13. Serra B., Reviejo A.J., Parrado C, Pingarron J.M. Graphite-Teflon composite bienzyme electrodes for the determination of L-lactate: Application to food samples // Biosensors. Bioelectron.-1999. - Vol. 14, № 4-6. - P. 505-513.14. Vijayakumar A.R., Csoregi E., Heller A., Gorton L. Alcohol biosensors based on coupled oxidase-peroxidase systems // Anal. Chim. Acta.-1996. - Vol. 327, № 3. - P. 223-234.

15. Liden H., Vijayakumar A.R., Gorton L, Marko-Varga G. Rapid Alcohol Determination in Plasma and Urine by Column Liquid Chromatography with Biosensor Detection // J. Pharm. Biomed. Anal.-1998. - Vol. 17, № 6-7.-P. 1111-1128.

16. Kiinnecke W., Schmid R.D. Gas-diffusion dilution flow-injection method for the determination of ethanol in beverages without sample pretreatment // Anal. Chim. Acta.-1990. - Vol. 234. - P. 213-220.

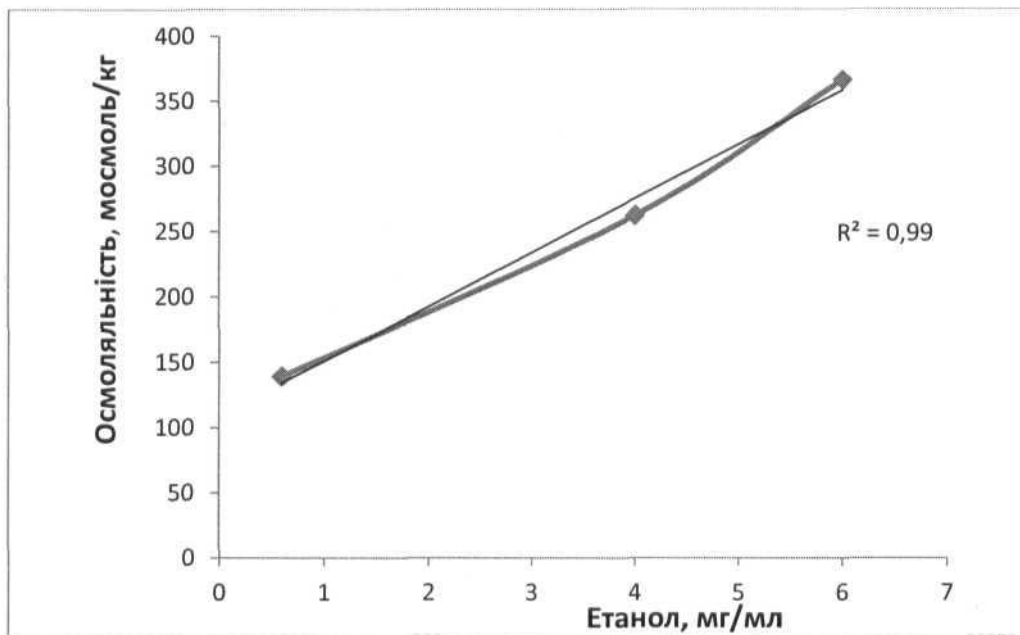
17. Xie X., Suleiman A.A., Guilbault G.G., Yang Z., Sun Z. Flow-injection determination of ethanol by fiberoptic chemiluminescence measurement//Ana. Chim. Acta.-1992. - Vol. 266, № 2. - P. 325-329.

18. Morales A., Cespedes F., Martinez-Fabregas E., Alegret S. Ethanol amperometric biosensor based on an alcohol oxidase-graphite-polymer biocomposite // Electrochimica Acta.-1998. - Vol. 43, № 23. - P. 3575-3579.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Експрес-метод визначення етанолу, що включає визначення концентрації етилового спирту в розчині, який **відрізняється** тим, що визначення концентрації етилового спирту в

парентеральних розчинах проводять шляхом визначення осмоляльності розчину, складання таблиці порівняння і приведення, причому при осмоляльності від 100 до 400 мосмоль/кг концентрація етанолу складає від 0,5 до 7,0 мг/мл.



5

Комп'ютерна верстка І. Скворцова

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601
