

RZECZPOSPOLITA
POLSKA



Urząd Patentowy
Rzeczypospolitej Polskiej

(12) **OPIS PATENTOWY**

(19) **PL**

(11) **238643**

(13) **B1**

(21) Numer zgłoszenia: **422550**

(22) Data zgłoszenia: **16.08.2017**

(51) Int.Cl.

G01N 27/49 (2006.01)

C07C 39/06 (2006.01)

(54) **Sposób bezpośredniego woltamperometrycznego oznaczania tymolu zwłaszcza
w preparatach farmaceutycznych**

(43) Zgłoszenie ogłoszono:
25.02.2019 BUP 05/19

(45) O udzieleniu patentu ogłoszono:
20.09.2021 WUP 25/21

(73) Uprawniony z patentu:

**UNIWERSYTET JANA KOCHANOWSKIEGO
W KIELCACH, Kielce, PL**

(72) Twórca(y) wynalazku:

**SŁAWOMIR MICHAŁKIEWICZ, Sobków, PL
MAGDALENA JAKUBCZYK, Chęciny, PL**

PL 238643 B1

Opis wynalazku

Przedmiotem wynalazku jest sposób bezpośredniego woltamperometrycznego oznaczania tymolu zwłaszcza w preparatach farmaceutycznych.

Dominującą techniką analityczną stosowaną do oznaczania tymolu jest wysokosprawna chromatografia cieczowa w odwróconym układzie faz (RP-HPLC) z detekcją spektrofotometryczną przy długości fali 278 nm lub 277 nm (T. Angelo, F.Q. Pires, G.M. Gelfuso, J.K.R. da Silva, T. Gratieri, M.S.S. Cunha-Filho, Development and validation of a selective thymol determination in skin permeation experiments, *Journal of Chromatography B*, 1022 (2016) 81–86; A.-C. Martel, S. Zeggane, Determination of acaricides in honey by high-performance liquid chromatography with photodiode array detection. *Journal of Chromatography A*, 954 (2002) 173–180). Granice wykrywalności i oznaczalności wynoszą odpowiednio 0,05 i 0,14 mg/dm³ oraz 0,06 i 0,20 mg/dm³, a zakresy liniowości odpowiednio 0,5–15 mg/dm³ i 0,5–10 mg/dm³.

Metody chromatograficzne wymagają kosztownej i specjalistycznej aparatury pomiarowej. Przygotowanie próbki jest często czasochłonne i wymaga ekstrakcyjnego wydzielania tymolu z analizowanych preparatów farmaceutycznych lub jego derywatyzacji. Wszystko to sprawia, że koszty analiz są wysokie.

Znacznie tańsze i mniej czasochłonne są metody woltamperometryczne. Nie wymagają one kosztownej i skomplikowanej aparatury, a ich czułość oraz granice wykrywalności i oznaczalności są porównywalne do uzyskiwanych metodami chromatograficznymi. Dotychczas stosowanym środowiskiem do oznaczania tymolu były wodne roztwory buforowe, a analizę prowadzono przy użyciu makroelektrod (X. Zhao, Y. Du, W. Ye, D. Lu, X. Xia, Ch. Wang, Sensitive determination of thymol based on CeO₂ nanoparticle-decorated graphene hybrid film. *New Journal of Chemistry* 37 (2013) 4045–4051; D.M. Stankovic, Sensitive voltammetric determination of thymol in essential oil of *Carum copticum* seeds using boron-doped electrode. *Analytical Biochemistry*, 486 (2015) 1–4). Zakres liniowości zawierał się w granicach odpowiednio 0,015–2,70 i 0,60–15,02 mg/dm³, a granica wykrywalności wynosiła odpowiednio 0,0075 i 0,6 mg/dm³. Wodne roztwory buforowe zawodzą jednak w przypadku oznaczania tymolu w obecności hydrofobowych matryc.

Celem wynalazku jest opracowanie takiego sposobu oznaczania tymolu, który jest łatwy do wykonania, charakteryzuje się krótkim czasem analizy i obróbki wyników, niską granicą wykrywalności i oznaczalności oraz wysoką czułością, a poprzez zastosowanie nietoksycznych rozpuszczalników jest bezpieczny dla człowieka i środowiska.

Istotą wynalazku jest to, że opracowana metoda nie wymaga ekstrakcyjnego wydzielania tymolu z preparatów farmaceutycznych, a pozwala na jego oznaczanie w roztworach o stężeniach rzędu 1,6 mg/dm³ za pomocą pomiarów woltamperometrycznych na mikroelektrodzie dyskowej wykonanej z platyny o średnicy 25 µm w kwasie octowym zawierającym acetonitryl (20%, v/v) oraz 0,1 mol/dm³ chloran(VII) sodowy jako elektrolit podstawowy. Takie środowisko pozwala na oznaczanie tymolu nawet w obecności składników hydrofobowych.

Sposób bezpośredniego woltamperometrycznego oznaczania tymolu zwłaszcza w preparatach farmaceutycznych charakteryzuje się tym, że próbkę tych preparatów rozpuszcza się w kwasie octowym zawierającym 20% acetonitrylu (v/v) oraz 0,1 mol/dm³ chloran(VII) sodu i wykonuje pomiary woltamperometryczne techniką pulsową różnicową (DPV) na platynowej mikroelektrodzie dyskowej o średnicy 25 µm, a analizę ilościową wykonuje się metodą wielokrotnego dodatku roztworu wzorcowego tymolu mierząc natężenie prądu pikowego przy potencjale 1,195 ± 0,005 V vs Ag/AgCl.

Zaletą wynalazku jest, że badaniom poddaje się roztwory preparatów farmaceutycznych sporządzone bezpośrednio w rozpuszczalniku mieszanym kwas octowy – acetonitryl (20%, v/v) zawierającym 0,1 mol/dm³ NaClO₄ jako elektrolit podstawowy. Metoda nie wymaga ekstrakcyjnego wydzielania tymolu z preparatów farmaceutycznych, co znacznie skraca czas analizy i obniża jej koszty. Dodatkowa redukcja kosztów wynika ze zmniejszenia ilości zużywanych odczynników. Pojedyncza analiza jest prowadzona w roztworze preparatu o objętości 2 mL. Badania wykazały, że zależność natężenia prądu pikowego od stężenia tymolu w roztworze jest prostoliniowa w zakresie stężeń od 1,6 do 1103,4 mg/dm³. Zaletą metody są ponadto niskie granice wykrywalności i oznaczalności, wynoszące odpowiednio 0,06 i 0,30 mg/dm³ oraz bardzo dobra odtwarzalność rejestrowanych krzywych. Względne odchylenia standardowe natężenia prądu pikowego krzywych rejestrowanych w roztworach zawierających tymol o stężeniu 1,6, 12,6 i 50,2 mg/dm³ wynoszą odpowiednio 1,6, 0,4 i 0,3% (n=10). Analiza ilościowa jest wykonywana metodą wielokrotnego dodatku roztworu wzorcowego.

Wynalazek ilustrują następujące przykłady wykonania.

P r z y k ł a d I. W kolbie miarowej o pojemności 25 ml umieszczono dokładnie odważoną masę preparatu farmaceutycznego w postaci płynu do leczenia chorób infekcyjnych skóry (0,2 g) i uzupełniono kwasem octowym zawierającym 20% acetonitrylu (v/v) oraz 0,1 M NaClO₄. Masa odważanego preparatu powinna zapewniać wartość natężenia prądu pikowego około 0,2 nA. Porcję o objętości 2,0 ml umieszczono w naczynku pomiarowym, zanurzano platynową mikroelektrodę dyskową o średnicy 25 μm, chlorosrebrną elektrodę odniesienia (Ag/AgCl) oraz platynową elektrodę pomocniczą i rejestrowano krzywe DPV. Istnienie pików przy potencjale $1,195 \pm 0,005$ V świadczy o obecności tymolu w preparacie. Następnie dodawano trzykrotnie roztwór wzorcowy tymolu o stężeniu 150 mg/dm³ w porcjach po 50 μL i rejestrowano krzywe DPV z zastosowaniem amplitudy impulsu i czasu trwania odpowiednio 20 mV i 60 ms. Pomiaru natężenia prądu pików dokonano przy potencjale $1,195 \pm 0,005$ V. Zawartość tymolu w roztworze określono na podstawie krzywej kalibracyjnej zależności natężenia prądu pikowego od stężenia roztworu wzorcowego. Procedurę oznaczania powtarzano jeszcze czterokrotnie. Na podstawie analizy statystycznej wyników stwierdzono wysoką precyzję oznaczeń, czego dowodem jest wartość względnego odchylenia standardowego, wynosząca 0,24%. Wartość średnią stężenia tymolu w roztworze, wynoszącą 12,30 mg/dm³ przeliczono następnie na jego zawartość procentową w preparacie, która wynosi 0,19% i jest zgodna z deklarowaną przez producenta (2,0 mg/ml, co odpowiada 0,19%).

P r z y k ł a d II. W kolbie miarowej o pojemności 25 ml umieszczono dokładnie odważone 1,2 g płynu do płukania jamy ustnej i uzupełniono kwasem octowym zawierającym 20% acetonitrylu (v/v) oraz 0,1 M NaClO₄. Masa odważanego preparatu powinna zapewniać wartość natężenia prądu pikowego około 0,2 nA. Porcję o objętości 2,0 ml umieszczono w naczynku pomiarowym, zanurzano platynową mikroelektrodę dyskową o średnicy 25 μm, chlorosrebrną elektrodę odniesienia (Ag/AgCl) oraz platynową elektrodę pomocniczą i rejestrowano krzywe DPV z zastosowaniem amplitudy impulsu i czasu trwania odpowiednio 20 mV i 60 ms. Istnienie pików przy potencjale $1,195 \pm 0,005$ V świadczy o obecności tymolu w preparacie. Następnie dodawano trzykrotnie roztwór wzorcowy tymolu o stężeniu 150 mg/dm³ w porcjach po 50 μL i rejestrowano krzywe DPV. Pomiaru natężenia prądu pików dokonano przy potencjale $1,195 \pm 0,005$ V. Zawartość tymolu w roztworze określono na podstawie krzywej kalibracyjnej zależności natężenia prądu pikowego od stężenia roztworu wzorcowego. Procedurę oznaczania powtarzano jeszcze czterokrotnie. Na podstawie analizy statystycznej wyników stwierdzono wysoką precyzję oznaczeń, o czym świadczy wartość względnego odchylenia standardowego, wynosząca 0,17%. Wartość średnią stężenia tymolu w roztworze, wynoszącą 34,21 mg/dm³ przeliczono następnie na jego zawartość procentową w preparacie, która wynosi 0,07%.

Zastrzeżenie patentowe

1. Sposób bezpośredniego woltamperometrycznego oznaczania tymolu zwłaszcza w preparatach farmaceutycznych, **znamienny tym**, że próbkę tych preparatów rozpuszcza się w kwasie octowym zawierającym 20% acetonitrylu (v/v) oraz 0,1 mol/dm³ chloranu(VII) sodu i wykonuje pomiary woltamperometryczne techniką pulsową różnicową (DPV) na platynowej mikroelektrodzie dyskowej o średnicy 25 μm, a analizę, ilościową wykonuje się metodą wielokrotnego dodatku roztworu wzorcowego tymolu mierząc natężenie prądu pikowego przy potencjale $1,195 \pm 0,005$ V vs Ag/AgCl.