



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU

K AUTORSKÉMU OSVEDČENIU

227587

(11) (B1)

(61)

(23) Výstavná priorita
(22) Prihlášené 12 11 82
(21) PV 8071-82

(40) Zverejnené 26 08 83
(45) Vydané 01 06 86

(51) Int. Cl.³
C 12 Q 1/40

(75)

Autor vynálezu

KUNIAK LUDOVÍT ing. CSc., BRATISLAVA,
ZEMEK JURAJ ing. CSc., LEHNICE

(54) Spôsob prípravy testovacích tabliet na stanovenie C_1 zložky celulózovej aktivity

Vynález sa týka spôsobu prípravy testovacích tabliet na stanovenie celulózovej C_1 aktivity.

V posledných rokoch sa na stanovenie polysacharid-hydrolázových enzýmových aktivít používa s úspechom príslušný chromogénny polysacharidový substrát, ktorý po enzýmovej hydrolýze poskytuje farebný filtrát, intenzita ktorého je úmerná prítomnej enzýmovej aktivite.

Na tomto princípe sú známe zahraničné a čl. chromogénne substráty ako sú napr. Phadebas Amylase Test [Clinical and technical information Almquist, Wiksells Boktryckeri (1979)], prípadne A.O. č. 192 202 a A.O. č. 192 210, ktoré sa úspešne používajú najmä v klinickej praxi pri stanovení aktivity alfa amylázy v biologických tekutinách pre diagnostické účely.

Obdobné sú známe i spôsoby prípravy celulózového chromogénneho substrátu či už pre meranie C_x zložky celulózovej aktivity [A.O. Stamm: Helv. Chim. Acta 46, 3008 (1963)] alebo C_1 zložky celulózovej aktivity [Poincelot R.P., Day P.R.: Appl. Microbiol. 23, 5, 875 (1972)].

Najvýhodnejším chromolytickým substrátom na stanovenie C_1 zložky celulózovej aktivity je celulóзовý substrát pripravený vyfarbením mikrokryštalickej celulózy podľa PV 3662-80.

Pri sériových analýzach je prášková forma chromolytického substrátu nie výhodná, pretože je

potrebné pre každú analýzu zvlášť navažovať chromolytický substrát, čo znižuje produktivitu práce.

Uvádzané nedostatky rieši nová prihláška vynálezu, ktorá umožňuje pripraviť tabletovú formu chromolytického celulózového substrátu takže pri analýze nie je potrebné chromolytický substrát jednotlivito navažovať, ale použiť hotové tabletky.

Podstata vynálezu spočíva v tom, že chromolytická mikrokryštalická celulóza s priemernou veľkosťou častíc 20 až 200 mikrónov sa v prvom stupni zvlhčí alkoholickým roztokom kopolyméru vinylpyrrolidon-vinylacetát o koncentrácii 5 až 10 % hmot. pričom pomer chromolytického škrobového substrátu ku roztoku je 1 : 0,5 až 1 : 0,8, načo sa v druhom stupni vlhký substrát prepasíruje cez sito s okami o priemere 4 mm a po vysušení sa pridá 2 % hmot. mastenec a 1 % hmot. práškoveho sérového albumínu, presituje sa cez sito s priemerom ôk 0,5 mm a nakoniec sa tabletuje na tabletovacím stroji na tablety o potrebnej hmotnosti.

Je dostatočne známe, že mikrokryštalická celulóza sa používa v galenickej farmácii pri príprave tabletových liekových foriem preto, lebo má veľmi dobré reologické vlastnosti, je dokonale inertná oproti biologicky účinným látkam a má vynikajúce samomazacie vlastnosti, takže sa dá tabletovať i samotná. Tieto dobré vlastnosti však stráca

vyfarbením vhodným farbivom používaným pri príprave chromolytických enzýmových substrátov. Vyfarbenú mikrokryštalickú celulózu nie je možné už bez ďalšej modifikácie použiť na priame suché tabletovanie, pretože vyfarbením stráca mikrokryštalická celulóza pôvodné výborné reologické vlastnosti, takže je znemožnené rovnomerné plnenie a tým i príprava tablet s rovnakou nastavenou hmotnosťou.

Zistili sme, že na prípravu tablet z farebnej mikrokryštalickej celulózy je výhodné použiť predchádzajúcu mokrú granuláciu alkoholickým roztokom kopolyméru vinylpyrolidon-vinylacetát o mol. hmotnosti okolo 60 000. Vhodným sa ukázal komerčný preparát Kollidon VA-64, v ktorom je zastúpený na 60 % hmot. vinylpyrolidon a 40 % hmot. vinylacetát. Preparát sa aplikuje na celulózu vo forme alkoholického roztoku o koncentrácii 5 až 10 % hmot. Uvádzaný kopolymér má aj ďalšiu vlastnosť, že neinhibuje enzýmovú aktivitu, takže nameraná celulázová aktivita je správna. K tabletovej zmesi je ďalej potrebné pridať aspoň 1 % hmot. sérového substrátu ako aktivátora enzýmu.

Pripravené tabletky majú požadované mechanické vlastnosti v suchom stave a pri použití vo vodnom roztoku sa veľmi dobre rozpadajú do 15 sekúnd.

Výhodou nového spôsobu prípravy chromolytického celulóзовého substrátu je predovšetkým to, že substrát nie je potrebné jednotlivo navažovať pri sériových analýzach, čo zvyšuje produktivitu práce.

Ďalšie prednosti nového postupu sú zrejmé z nasledovných príkladov, ktoré nie sú vyčerpávajúce ale iba ilustratívne.

Príklad 1

5 kg chromolytickej mikrokryštalickej celulózy sa zvlhčí so 4 litrami alkoholu (metanolu) v ktorom sa predtým rozpustilo 200 g Kollidónu VA-64, čo je kopolymér vinylpyrolidonu-vinylacetátu o mol. hmotnosti 60 000.

Zvlhčená mikrokryštalická celulóza sa dobre premieša a prepasíruje cez sito s počtom ôk 4/cm² a nechá sa vysušiť. Po vysušení sa pridá 100 g masťenca a 50 g sérového práškoveho albumínu, dobre sa zhomogenizuje a presituje cez sito s priemerom ôk 0,5 mm. Presitovaný granulát sa tabletuje na tabletovacom stroji na tablety o hmotnosti 200 mg a priemere 9 mm.

Príklad 2

Postup podľa príkladu 1 s tým rozdielom, že sa použije na zvlhčenie celulózy pri mokrej granulácii 2 litre etanolu v ktorom sa rozpustilo 500 g Kollidónu.

Vynález má uplatnenie všade tam, kde je potrebné merať C₁ zložku celulázovej aktivity, či už vo výskume alebo v priemyselnej aplikácii v medzioperačnej kontrole pri výrobe celulázových enzýmov. Dá sa využiť i pre diagnostické účely pri niektorých nešpecifických tuberkulózných ochoreniach.

PREDMET VYNÁLEZU

Spôsob prípravy testovacích tablet na stanovenie C₁ zložky celulázovej aktivity vyznačený tým, že chromolytická mikrokryštalická celulóza s priemernou veľkosťou častíc 20 až 200 mikrónov sa v prvom stupni zvlhčí alkoholickým roztokom kopolyméru vinylpyrolidon-vinylacetát o koncentrácii 5 až 10 % hmot., pričom pomer chromolytického celulóзовého substrátu ku roztoku je 1 : 0,5,

až 1 : 0,8, načo sa v druhom stupni vlhký substrát prepasíruje cez sito s okami o priemere 4 mm a po vysušení sa pridá 2 % hmot. masťenca a 1 % hmot. práškoveho sérového albumínu na hmotnosť suchého celulóзовého substrátu, dobre sa zhomogenizuje miešaním, presituje cez sito s priemerom ôk 0,5 mm a nakoniec sa tabletuje na tabletovacom stroji na tablety o potrebnej hmotnosti.