



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY  
A OBJEVY

# POPIS VYNÁLEZU

## K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

230 700

(11)

(B1)

(61)

(23) Výstavní priorita  
(22) Přihlášeno 30 06 83  
(21) PV 4936-83

(51) Int. Cl.<sup>3</sup>

G 01 N 21/25

(40) Zveřejněno 13 01 84

(45) Vydáno 01 06 86

(75)  
Autor vynálezu

VACHEK JAROSLAV ing. CSc.,  
SVÁTEK EMIL RNDr. CSc., PRAHA

(54)

Způsob stanovení tribenosidu

Stanovení tribenosidu je určeno pro hodnocení substance nebo lékových forem. Stanovení založené na barevné reakci tribenosidu s hydrochloridem cysteinu v prostředí 75 % obj. kyseliny sírové po zahřátí na vroucí vodní lázni za vzniku žlutého zabarvení se vyznačuje tím, že intenzita zabarvení je úměrná cukerné složce tribenosidu. Stanovení není na rozdíl od spektrofotometrické metody v ultrafialové oblasti ovlivňováno možnou přítomností dibenzyletheru nebo benzaldehydu.

230 700

Vynález se týká způsobu stanovení tribenosidu /ethyl-3, 5,6-tri-O-benzyl-D-glukofuranosid/, který se používá jako účinné venotonikum.

Pro kvantitativní stanovení tribenosidu bylo užíváno spektrofotometrické stanovení v ultrafialové oblasti, měřením absorpčního maxima při 258 nm v prostředí ethylalkoholu. Toto stanovení vyjadřuje v podstatě součet přítomných benzenových jader bez ohledu na cukernou složku a může ve výsledku zahrnovat i eventuální nežádoucí nečistoty /dibenzylether, benzaldehyd/.

Podstata způsobu stanovení tribenosidu v substanci a lékových formách se vyznačuje tím, že tribenosid reaguje s hydrochloridem cysteinu v prostředí kyseliny sírové /s výhodou 75% obj./ a po zahřátí na vroucí vodní lázni za vzniku žlutého zabarvení s absorpčním maximem ve viditelné oblasti spektra při 414 nm.

Hlavní výhoda tohoto stanovení spočívá v tom, že intenzita tohoto zabarvení je úměrná cukerné složce tribenosidu, na rozdíl od stanovení v ultrafialové oblasti spektra.

#### Příklad 1

Sestrojení kalibrační křivky se provede tímto způsobem:

30 mg standardní substance tribenosidu se rozpustí v předestilovaném chloroformu a doplní se stejným rozpouštědlem v 50 ml odměrné baňce ke značce. Z tohoto základního roztoku se odpipetuje do zkumavek: 0,1, 0,2, 0,3, 0,4 a 0,5 ml /tj. 60, 120, 180, 240 a 300 µg tribenosidu/ a roztok se odpaří na vodní lázni do sucha. K odparkům se přidá 0,5 ml destilované vody, 0,1 ml 25% vodního roztoku hydrochloridu cysteinu a 6 ml 75%

/obj./ kyseliny sírové. Protřepané roztoky se zahřejí ve vroucí vodní lázni přesně 5 minut. Roztoky se ochladí a zabarvení se měří proti slepému vzorku /0,5 ml destilované vody, 0,1 ml 25% vodného roztoku hydrochloridu cysteinu a 6 ml 75% /obj./ kyseliny sírové/ v 0,5 cm skleněné kyvetě při vlnové délce 414 nm. Nalezené hodnoty absorbancí se vynesou do grafu proti příslušným koncentracím. V celém uvedeném koncentračním rozsahu je zachována platnost Lambert-Beerova zákona.

## Příklad 2

Stanovení tribenosidu v substanci:

Stanovení se provádí stejným způsobem jako při stanovení kalibrační křivky. K provedení analýzy se odpipetuje do zkumavky 0,3 ml roztoku analyzovaného vzorku o koncentraci 30 mg tribenosidu v 50 ml chloroformu. Stanovení obsahu se provede buď odečtením z kalibrační křivky nebo srovnáním s roztokem standardní substance tribenosidu. Výpočet:

$$\frac{A_{\text{vz.}} \cdot n_{\text{std.}} \cdot 100}{A_{\text{std.}} \cdot n_{\text{vz.}}} = \% \text{ tribenosidu v substanci}$$

$$A_{\text{std.}} \cdot n_{\text{vz.}}$$

kde

$A_{\text{vz.}}$  a  $A_{\text{std.}}$  = naměřené absorbance při 414 nm vzorku a standardu v 0,5 skleněné kyvetě

$n_{\text{vz.}}$  a  $n_{\text{std.}}$  = navážky vzorku a standardu tribenosidu /mg/50ml chloroformu/.

## Příklad 3

Stanovení tribenosidu v dražé:

Po stanovení průměrné váhy jednoho dražé, které dle deklarace má obsahovat 200 mg tribenosidu, dražé se jemně roztře a odváží se množství hmoty odpovídající 30 mg tribenosidu. Toto množství se extrahuje 1 hodinu při 45° v 50 ml předestilovaného chloroformu. Po ochlazení a dekantaci se do zkumavky odpipetuje 0,3 ml roztoku. Další postup je stejný jako v případě stanovení tribenosidu v substanci. Výpočet:

$$\frac{A_{vz.} \cdot n_{std.} \cdot 200}{A_{std.} \cdot n_{vz.}}$$

230 700

= obsah tribenosidu v mg/l dražé

$$A_{std.} \cdot n_{vz.}$$

kde

$A_{vz.}$  a  $A_{std.}$  = naměřené absorbance při 414 nm vzorku a standardu v 0,5 cm skleněné kyvetě

$n_{std.}$  = navážka standardu v mg/50 ml chloroformu

$n_{vz.}$  = navážka hmoty dražé vyjádřená odpovídajícím množstvím tribenosidu dle deklarovaného obsahu, udaná v mg/50 ml chloroformu.

## PŘEDMĚT VYNÁLEZU

230 700

Způsob stanovení tribenosidu v substanci a lékových formách vyznačující se tím, že se analyzovaný vzorek podrobí reakci s hydrochloridem cysteinu v prostředí zředěné kyseliny sírové, s výhodou v koncentraci 75 % hmot. při teplotě vroucí vodní lázně, načež se měří absorbance vzniklého zabarvení ve viditelné oblasti spektra při 414 nm a obsah tribenosidu v analyzovaném vzorku se vypočte srovnáním změřených hodnot s kalibrační křivkou sestavenou ze standardní substance nebo srovnáním s roztokem standardní substance.