
Ekstrakcja substancji o działaniu biologicznym z surowicy i preparatów farmaceutycznych

Ekstrakcja kwasu elagowego z preparatu Granat Altermedica

Aparatura: czytnik mikroplatek Viktor X4, Perkin Elmer

Odczynniki: metanol

Preparat : suchy ekstrakt ze skórki granatu 4:1, standaryzowany na zawartość kwasu elagowego (40%); celuloza (substancja wypełniająca); dwutlenek krzemu, stearynian magnezu (substancje przeciwbrylające); żelatyna (otoczka kapsułki).

1 kapsułka zawiera: ekstrakt ze skórki granatu 300 mg, w tym kwas elagowy (40%) - 120 mg.

Roztwory wzorcowe: kwas elagowy o stężeniu 3.0 µg/mL

1) Na wadze analitycznej zważyć 5 kapsułek preparatu Granat Altermedica. Wysypać ich zawartość do naczynka wagowego i zważyć.

Obliczyć średnią masę kapsułki z otoczką oraz średnią masę granulatu wypełniającego kapsułkę.

W moździerzu utrzeć granulaty, a następnie odważyć w naczynku wagowym, na wadze analitycznej dokładnie około 4 mg. Odważkę przenieść ilościowo do probówki pojemności 10,00 mL przy użyciu metanolu i przeprowadzić ekstrakcję kwasu elagowego z granulatu wytrząsając roztwór przez 15 min. Otrzymany roztwór wirować przez 10 min z szybkością 1200 rpm.

Do kolbki miarowej pojemności 10 mL pobrać z nad osadu 0,20 mL klarownego roztworu, uzupełnić metanolem do kreski i dokładnie wymieszać. Pobrać pipetą automatyczną 300 µL tego roztworu i umieścić na płytce OptiPlate 96.

2) Metanolowy roztwór wzorcowy kwasu elagowego o stężeniu 3.0 µg/mL nanieść na płytkę OptiPlate 96. Zmierzyć wartość absorbancji.

Zmierzyć absorbancję roztworu badanego i wzorcowego przy długości fali $\lambda = 260$ nm

W oparciu o uzyskane wartości absorbancji obliczyć zawartość kwasu elagowego w mg/tabletkę.

Ekstrakcja kwasów omega-3 z preparatu farmaceutycznego Omacor

Aparatura: Chromatograf gazowy TRACE GC z dozownikiem split-splitless, detektor FID

Odczynniki: heptan , węglan di metylu, sól w bezwodnym metanolu

Preparat : Substancją czynną leku są estry etylowe kwasów omega-3.

1000 mg estrów etylowych 90 kwasów omega-3 zawiera: 460 mg estru etylowego kwasu eikozapentaenowego (EPA) i 380 mg estru etylowego kwasu dokozaheksaenowego (DHA).

Rdzeń kapsułki: 4 mg alfa-tokoferolu jako przeciwutleniacz (zmieszany z olejem roślinnym np. olejem sojowym).

Otoczka kapsułki: żelatyna, glicerol, woda oczyszczona, średniołańcuchowe triglicerydy, lecytyna (soja).

Wzorzec wewnętrzny: heptadekanian metylu

Wzorce: ester metylowy kwasu cis-4,7,10,13,16,19-dokoheksaenowego, ester metylowy kwasu cis-5,8,11,14,17-eikozapentaenowego

Na wadze analitycznej zważyć 3 kapsułki preparatu Omacor. Wycisnąć zawartość kapsulek do naczynka wagowego i obliczyć średnią zawartość oleju w kapsułce.

Odważyć do próbówki pojemności 10 mL, na wadze analitycznej dokładnie około 0,6 g oleju.

Do odważki dodać dokładnie około 0,001 g heptadekanianu metylu (wzorzec wewnętrzny) zwżonego uprzednio w naczynku wagowym na wadze analitycznej. Dodać 1,0 mL heptanu oraz 1,0 mL węglanu dimetylu i mieszać energicznie. Całość ogrzewać w temperaturze 50 - 60°C w bloku grzewczym przez 10 minut.

Do ciepłego roztworu dodać 1,0 mL roztworu sodu w bezwodnym metanolu.

Mieszać energicznie 5 minut. Następnie dodać 3,0 mL wody destylowanej i mieszać 30 sekund.

Wirować przez 15 minut przy obrotach 1500 rpm.

Pobrać fazę organiczną.

Przeprowadzić oznaczenie metodą GC-FID.

W oparciu o uzyskane chromatogramy obliczyć zawartość kwasów DHA i EPA w preparacie oraz wydajność ekstrakcji.

Ekstrakcja sotalolu z surowicy krwi

Aparatura: czytnik mikroplatek Viktor X4, Perkin Elmer

Odczynniki: metanol

Substancja wzorcowa: sotalol hydrochloride

Pobrać 100 μL roztworu wzorcowego o stężeniu 1,1 mg/mL do kolby pojemności 5,0 mL i uzupełnić metanolem do kreski uzyskując stężenie 22 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

1) Próbka badana:

Do probówek Eppendorfa o pojemności 2,0 mL dodać po 50 μL surowicy, 100 μL roztworu wzorcowego sotalolu o stężeniu 22 $\mu\text{g}/\text{mL}$, a następnie metanol, tak aby całkowita objętość mieszaniny wyniosła 1,5 mL.

Worteksować przez 3 minuty i wirować przez 10 minut przy szybkości obrotów 3000 rpm w temp. 22⁰C.

Z każdej probówki pobrać o 500 μL supernatantu do kolbki o pojemności 5,0 mL, dopełnić metanolem do podanej objętości i dokładnie wymieszać.

Pipetą automatyczną pobrać 300 μL roztworu i umieścić na płytce OptiPlate 96.

2) Próbka wzorcowa:

Metanolowy roztwór wzorcowy sotalolu o stężeniu 0,15 $\mu\text{g}/\text{mL}$ nanieść na płytkę OptiPlate 96.

Zmierzyć absorbancję próbki badanej i wzorcowej przy długości fali $\lambda = 260 \text{ nm}$.

W oparciu o uzyskane wartości absorbancji obliczyć stężenie leku w surowicy oraz wydajność ekstrakcji.