



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **40916** (13) **U**
(51) МПК (2009)
G01N 33/48МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ**ОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**видається під
відповідальність
власника
патенту**(54) СПОСІБ ІДЕНТИФІКАЦІЇ МЕТАБОЛІТІВ БІОФЛАВОНОЇДІВ ВІВСА ПОСІВНОГО В ПЛАЗМІ КРОВІ**

1

(21) u200814425

(22) 15.12.2008

(24) 27.04.2009

(46) 27.04.2009, Бюл.№ 8, 2009 р.

(72) ЛУК'ЯНЧУК ВІКТОР ДМИТРОВИЧ, UA, ТКАЧЕНКО В'ЯЧЕСЛАВ ГЕОРГІЙОВИЧ, UA, БОНДАР СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ, UA, РЕЗНІК ОЛЕКСАНДРА ВОЛОДИМИРІВНА, UA, СІВІРІНА МАРИНА АНАТОЛІЇВНА, UA

(73) ЛУК'ЯНЧУК ВІКТОР ДМИТРОВИЧ, UA, ТКАЧЕНКО В'ЯЧЕСЛАВ ГЕОРГІЙОВИЧ, UA, БОНДАР СЕРГІЙ ІВАНОВИЧ, UA, РЕЗНІК ОЛЕКСАНДРА ВОЛОДИМИРІВНА, UA, СІВІРІНА МАРИНА АНАТОЛІЇВНА, UA

2

(57) Спосіб ідентифікації метаболітів біофлавоноїдів вівса посівного в біологічних середовищах організму, що полягає у наступному: 3,0мл крові центрифугують (1500об/хв. протягом 5 хвилин), до 0,01мл сироватки крові додають 4 мл насиченого розчину алюмінію хлориду та визначають спектрофотометрично проти 0,01мл інтактної сироватки з 4мл насиченого розчину алюмінію хлориду при довжині хвилі $\lambda = 280\text{ нм}$, а концентрацію в отриманому розчині розраховують за формулою

$$C = \frac{D - 107}{0,246},$$

де C - концентрація,

D - екстинкція.

Корисна модель відноситься до засобів контролю рідких середовищ на вміст в них метаболітів біофлавоноїдів та може знайти застосування в хіміко-фармацевтичній промисловості, медицині, фармацевтичному та токсикологічному аналізі.

У розпорядженні спеціалістів відсутні прості та дешеві методи кількісного визначення метаболітів біофлавоноїдів в біологічних середовищах організму. Найближчим відомим способом до того що заявляється нами є абсорбційно спектрофотометричний метод [1] визначення флавоноїдів в перерахунку на авенін в траві вівса за Європейською фармакопеею, який полягає в наступному [2]:

Приблизно 0,75г. (точна наважка) здрібненої на порошок сировини поміщають у колбу місткістю 100мл, додають 20мл спирту (60% об/об) Р, нагрівають у водяній бані при температурі 60° протягом 10хв., постійно струшуючи, охолоджують і фільтрують крізь тампон із вати у мірну колбу місткістю 50мл. Поміщають ватний тампон із залишком сировини у ту саму колбу місткістю 100мл, та повторюють екстракцію спиртом (60% об/об) Р двічі, кожен раз по 15мл, нагріваючи у водяній бані при температурі 60°С протягом 10хв., постійно струшуючи. Після охолодження, витяги фільтрують крізь паперовий фільтр у ту ж саму мірну колбу місткістю 50мл, як і раніше. Колбу місткістю 100мл і фільтр обполіскують додатково кількістю спирту (60% об/об) Р, що переносять у ту саму мірну кол-

бу місткістю 50мл, доводять об'єм суміші спиртом (60% об/об) Р до 50мл і фільтрують.

Випробуваний розчин. 5,0мл вихідного розчину поміщають у круглодонну колбу та випарюють до сухого залишку під зниженим тиском. Одержаний залишок за допомогою 8мл суміші метанол Р - кислота оцтова льодяна Р (10:100) кількісно переносять у мірну колбу місткістю 25мл. Обполіскують круглодонну колбу 3мл суміші метанол Р - кислота оцтова льодяна Р (10:100) і промивні води поміщають у ту саму мірну колбу місткістю 25мл. До одержаного розчину додають 10,0мл розчину, що містить 25,0г/л кислоти борної Р, 20,0г/л кислоти щавлевої Р у кислоті мурашиній безводній Р, і доводять об'єм розчину кислотою оцтовою безводною Р до 25,0мл.

Компенсаційний розчин. 5,0мл вихідного розчину поміщають у круглодонну колбу та випарюють до сухого залишку під зниженим тиском. Одержаний залишок за допомогою 8мл суміші метанол Р - кислота оцтова льодяна Р (10:100) кількісно переносять у мірну колбу місткістю 25мл. Обполіскують круглодонну колбу 3мл суміші метанол Р - кислота оцтова льодяна Р (10:100) і промивні води поміщають у ту саму мірну колбу місткістю 25мл. До одержаного розчину додають 10,0мл кислоти мурашиної безводної Р і доводять об'єм розчину кислотою оцтовою безводною Р до 25,0мл.

(13) **U**(11) **40916**(19) **UA**

Вимірюють не раніше ніж через 30хв. Оптичну густину випробуваного розчину на спектрофотометрі за довжини хвилі 401нм в кюветі з товщиною шару 10мм, відносно компенсаційного розчину.

Вміст суми флавоноїдів (X) у відсотках, в перерахунку на вітексин розраховують за формулою:

$$X = \frac{D \times 1 \times 50 \times 25 \times 100}{628 \times 100 \times m \times 5} = \frac{D \times 250}{628 \times m}$$

де D - оптична густина випробуваного розчину;

628 - питомий показник поглинання вітексину за довжини хвилі 401нм;

До недоліків цього способу (прототипу) відносяться:

1. Тривалість і складність проведення аналізу.
2. Неможливість визначення біофлавоноїдів та їх метаболітів в біологічному матеріалі.

Метою корисної моделі є створення експресного, точного і чутливого способу кількісного визначення флавоноїдів в біологічних середовищах організму.

Розроблений спосіб полягає у наступному: 3,0мл крові центрифугують (1500об/хв. Протягом 5 хвилин), до 0,01мл сироватки крові додають 4мл насиченого розчину алюмінію хлориду та визначають спектрофотометрично проти 0,01мл інтактної сироватки з 4мл насиченого розчину алюмінію хлориду, при довжині хвилі $\lambda = 280 \text{ нм}$.

Запропонований спосіб відрізняється наступними перевагами:

1. Швидкість проведення аналізу
2. Малі затрати часу для підготовки проби
3. Проста апаратура, що використовується
4. Дешевизна методу

5. Висока надійність способу

Розрахунок концентрації метаболітів біофлавоноїдів запропонованим способом проводиться за допомогою калібрувального графіку (креслення).

Отримана залежність повною мірою підкоряється закону Бугера-Ламберта-Бера, про це свідчить її лінійність, а також високий коефіцієнт кореляції (0,9943) і низьке значення середньоквадратичного відхилення (0,012).

Для зручності обчислень за калібрувальним графіком методом найменших квадратів була розрахована формула:

$$C = \frac{D - 107}{0,246}$$

де C - концентрація

D - екстинкція.

Приклад 1. Експериментальне дослідження запропонованого способу проводили на 10 білих нелінійних щурах обох статей масою 200-250г. Через одну годину після перорального введення біофлавоноїдів в дозах 0,25; 0,40; 0,65; 0,80; 0,95; 1,10; 1,35; 1,50; 1,65; 1,75мг, визначали концентрацію у сироватці крові за допомогою розробленого способу. Концентрацію розраховували за калібрувальним графіком. Похибка складала 3,17%.

Таким чином, заявлено новий, експресний, точний і чутливий спосіб кількісного визначення біологічних середовищ організму, який може знайти застосування в хіміко-фармацевтичній промисловості, медицині, фармацевтичному та токсикологічному аналізі.

