



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **26668** (13) **U**
(51) МПК (2006)
G01N 30/02 (2007.01)
A61K 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ІДЕНТИФІКАЦІЇ СИРОВИНИ (КОРІННЯ, ЛИСТЯ, КВІТОК) КУЛЬБАБИ ЛІКАРСЬКОЇ

1

(21) а200611806
(22) 09.11.2006
(24) 10.10.2007
(46) 10.10.2007, Бюл. № 16, 2007 р.
(72) Цуркан Олександр Олександрович, Ковальчук
Тетяна Василівна, Гудзенко Андрій Вікторович
(73) ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ
АМН УКРАЇНИ

2

(57) Спосіб ідентифікації сировини кульбаби лікарської (квітки, коріння, листя), що включає визначення наявності та вмісту біологічно активних речовин, який **відрізняється** тим, що визначають наявність та вміст цикорієвої кислоти за методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) в присутності інших оксикоричних кислот.

Корисна модель належить до галузі фармації, зокрема до фітохімії, та може бути використаний для стандартизації лікарської рослинної сировини.

Відомо, що сировина кульбаби лікарської дуже давно і широко використовується в фітотерапії, як у вигляді монопрепаратів, так і в вигляді складових частин багатокомпонентних фітокомпозицій [1].

Відомий спосіб ідентифікації квіток кульбаби лікарської, що здійснюється за наявністю в рослинній сировині флавоноїду лютеоліну, з використанням методу ТШХ [2].

За найближчий аналог прийнято процес ідентифікації квіток кульбаби лікарської за наявністю лютеоліну, що проводиться за допомогою методу ТШХ [2].

Згідно найближчого аналога ідентифікація лютеоліну проводиться методом ТШХ. Використовується хроматографічна пластинка "Kieselgel-60 F254, розміром 10см×15см, рухома фаза бензол-етилацетат-мурашина кислота (40:10:5мл). Проявлення плям відбувається за допомогою боратно-лимонної суміші [2].

Суттєвим недоліком існуючого методу ідентифікації сировини є те, що за методикою найближчого аналогу можливе визначення біологічно активної речовини лютеоліну лише в квітках, для яких цей компонент є специфічним.

Об'єкт, який підлягає удосконаленню - процес ідентифікації та визначення вмісту біологічно активних речовин в сировині (квітки, листя, коріння) кульбаби лікарської. Відоме визначення не може використовуватися для всіх частин рослини, оскільки воно не може підтверджувати присутність основних біологічно активних речовин в інших ор-

ганах кульбаби, зокрема в листі та корінні, та не надає кількісні характеристики вмісту БАР в сировині.

Характер удосконалення, що вноситься до об'єкту. За даними літератури в усіх частинах кульбаби лікарської (коріння, листя, квітки) в значній мірі містяться похідні оксикоричної кислоти, зокрема, біологічно активна речовина цикорієва кислота, вміст якої в кульбабі лікарській досить великий [3]. Процес ідентифікації та кількісного визначення цикорієвої кислоти в сировині кульбаби лікарської (коріння, листя, квітки) полягає в знаходженні умов для хроматографічного розділення цикорієвої кислоти від інших оксикоричних кислот. В основу корисної моделі "Спосіб ідентифікації сировини (коріння, листя, квіток) кульбаби лікарської" поставлена задача - удосконалити ідентифікацію сировини кульбаби лікарської (коріння, листя, квітки) шляхом підтвердження наявності цикорієвої кислоти та визначення її вмісту, та за рахунок цього забезпечити можливість стандартизації сировини.

Поставлена задача вирішується тим, що згідно з корисною моделлю використовується ідентифікація та кількісне визначення цикорієвої кислоти за допомогою методу високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) в присутності інших похідних оксикоричної кислоти, з попереднім очищенням від заважаючих хроматографуванню речовин.

Приклад: 1г (точна наважка) досліджуваної подрібненої сировини вміщували в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додавали 100мл суміші метанол - вода (70:30) та витримували на кип'ячому водяному огрівнику протягом 15

(13) **U**
(11) **26668**
(19) **UA**

хвилин. Після цього екстракт охолоджували до кімнатної температури та фільтрували через фільтр "червона стрічка". До 5мл отриманого розчину додавали таку кількість води, щоб концентрація метанолу становила 20%, та пропускали отриманий зразок через попередньо активований 5мл метанолу та промитий 10мл води патрон для твердо-фазної екстракції "Superclean Ic-18 SPE Tubes 1ml" виробництва фірми Supelco (США). Патрон промивали 30мл 20% розчином метанолу. Отриманий розчин випаровували у вакуумі досуха та сухий залишок розчиняли в 5мл 70% метанолу, фільтрували через фільтр діаметром пор 0,45мкм.

По 5мкл досліджуваного розчину та розчину стандарту цикорієвої кислоти попеременно хроматографували в наступних умовах: колонка C18 X-Terra, розміром 250мм×4,6мм, розмір часток 5мкм; рухома фаза: ацетонітрил - вода - оцтова кислота (20:77:3); температура колонки 30°C, довжина хвилі детектування 330нм; швидкість потоку рухомої фази 1мл/хв.

Вміст цикорієвої кислоти в досліджуваній сировині (в %) обчислюється за наступною формулою:

$$X = \frac{A_{\text{пр}} \cdot C_{\text{ст}} \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{A_{\text{ст}} \cdot m_{\text{пр}} \cdot (100 - W)}$$

де $A_{\text{пр}}$ - площа піку цикорієвої кислоти на хроматограмі досліджуваного розчину;

$A_{\text{ст}}$ - площа піку цикорієвої кислоти на хроматограмі стандартного розчину цикорієвої кислоти;

$C_{\text{ст}}$ - концентрація цикорієвої кислоти в стандартному розчині цикорієвої кислоти, г/мл;

$m_{\text{пр}}$ - наважка досліджуваної сировини, г;

W - втрата в масі при висушуванні в досліджуваній сировині.

Приготування стандартного розчину цикорієвої кислоти: 0,010г достовірного стандарту цикорієвої кислоти вміщують в мірну колбу місткістю 25мл, розчиняють в 30мл суміші метанол-вода (70:30), доводять тією ж сумішшю до мітки та перемішують. 1мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу місткістю 50мл, доводять до позначки сумішшю метанол-вода (70:30) та перемішують.

На хроматограмі досліджуваного розчину повинен бути присутній пік, час виходу якого відповідає часу виходу піку цикорієвої кислоти на хроматограмі стандартного розчину цикорієвої кислоти (рис.1-4).

На підставі експериментальних даних для сировини кульбаби лікарської нами рекомендований наступний граничний вміст цикорієвої кислоти: для листя не менше 1%, для квіток не менше 0,5%, та для коріння не менше 0,2% в перерахунку на висушену сировину.

Корисна модель обумовлює можливість ідентифікації та визначення кількісного вмісту сировини кульбаби лікарської (коріння, листя, квітки) за наявністю та вмістом цикорієвої кислоти як фізіологічне активним компонентом, що присутній в усіх частинах кульбаби лікарської. Корисна модель сприяє підвищенню якості перспективної сировини. Порівняння процесу ідентифікації кульбаби у прототипі та винаході наведено в таблиці.

Таблиця.

Характеристика процесу стандартизації кульбаби лікарської

№п/п	Процес	Компонент	Сировина кульбаби лікарської	Метод визначення
1	Найближчий аналог	Лютеолін	Квітки	1. Метод ТШХ - якісне специфічне визначення. 2. Можливість напівкількісної стандартизації сировини.
2	Винахід	Цикорієва кислота	Квітки, листя, коріння	1.Метод ВЕРХ - якісне специфічне визначення. 2. Можливість кількісної стандартизації сировини

Посилання:

1) Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. Гродзінський А. М. - Київ: Голов, ред. УРЕ, -1989.-544с.: іл.

2) Пат. №16657 UA, МПК G01N 30/02 / Цуркан О. О., Ковальчук Т.В., Шкляев С. А., Гудзенко А. В. / №200602243; Заявл. 01.03.2006; Надрук.

15.08.2006. Спосіб ідентифікації квіток кульбаби лікарської.

3) Williams C. A., Goldstone F., Greenham I. Flavonoids, cinnamic acid and coumarins from the different tissue and medicinal preparations of *Taraxacum officinale*. // *Phytochemistry*. - 1996. - 42 (1). - P.121-127.

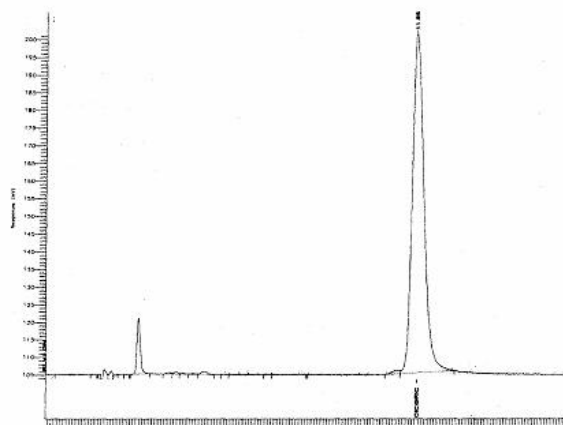


Рис. 1. Хроматограма стандартного розчину цикорієвої кислоти

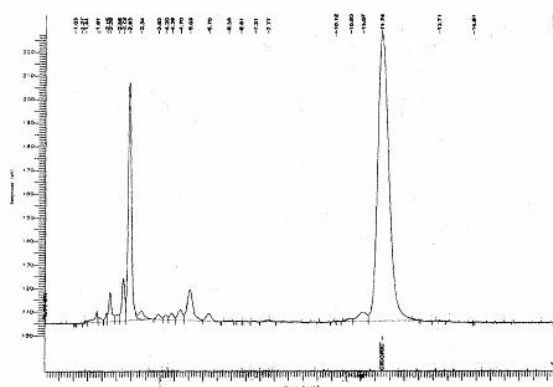


Рис. 2. Хроматограма досліджуваного розчину листя кульбаби лікарської

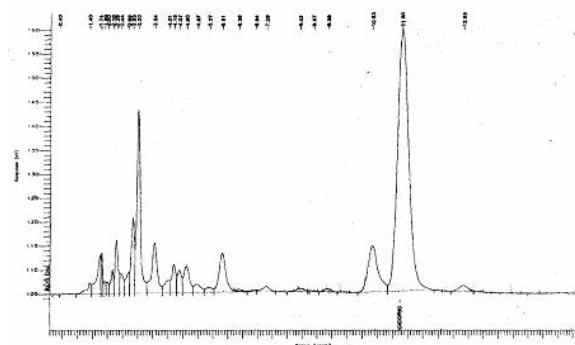


Рис. 3. Хроматограма досліджуваного розчину квіток кульбаби лікарської

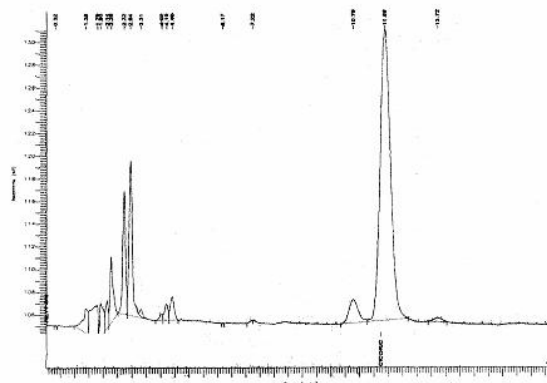


Рис. 4. Хроматограма досліджуваного розчину коріння кульбаби лікарської