



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **30411** (13) **U**
(51) МПК (2006)
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 КУЛЬБАБИ ЛІКАРСЬКОЇ В БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ РОСЛИННИХ СУМІШАХ

1

2

(21) u200712178

(22) 05.11.2007

(24) 25.02.2008

(72) ЦУРКАН ОЛЕКСАНДР ОЛЕКСАНДРОВИЧ,
UA, КОВАЛЬЧУК ТЕТЯНА ВАСИЛІВНА, UA,
ГУДЗЕНКО АНДРІЙ ВІКТОРОВИЧ, UA

(73) ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ
ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН
УКРАЇНИ", UA

(56)

(57) Спосіб ідентифікації сировини кульбаби
лікарської в рослинних сумішах, що включає
визначення наявності та вмісту біологічно
активних речовин методом ВЕРХ

(високоєфективної рідинної хроматографії), який
відрізняється тим, що квітки, листя та коріння
кульбаби лікарської в рослинних сумішах, що
містять в своєму складі траву меліси лікарської,
корені з кореневищами валеріани лікарської, траву
астрагала шерстистоквіткового, плоди фенхелю,
плоди глоду, в присутності розмаринової кислоти
меліси лікарської, визначають за наявністю та
вмістом цикорієвої кислоти за методом ВЕРХ з
використанням рухомої фази з мінімально
можливим вмістом органічного розчинника, з
попередньою очисткою проби з застосуванням
твердофазної екстракції.

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

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

Відомий спосіб ідентифікації сировини
кульбаби лікарської, що здійснюється за наявністю
в рослинній сировині похідної оксикоричної
кислоти - цикорієвої кислоти, з використанням
методу високоєфективної рідинної хроматографії
(ВЕРХ) [2].

За прототип прийнято процес ідентифікації
сировини кульбаби лікарської за наявністю та
вмістом цикорієвої кислоти, що проводиться за
допомогою методу ВЕРХ, для чого
використовується рідинний хроматограф,
обладнаний УФ-детектором, хроматографічна
колонка C18 X-Terra, розміром 250мм×4,6мм;
рухома фаза: ацетонітрил-вода-оцтова кислота
(20:77:3). Детектування хроматограм відбувається
за довжини хвилі 330нм [2].

Суттєвим недоліком існуючого методу
ідентифікації сировини є те, що за методикою
найближчого аналогу можливе визначення
біологічно активної речовини цикорієвої кислоти
лише в моносировині кульбаби лікарської.

Об'єкт, який підлягає удосконаленню - процес
ідентифікації та визначення вмісту біологічно
активних речовин, що містяться в сировині
кульбаби лікарської (квітки, листя, коріння) в
багатокомпонентних рослинних сумішах, до
складу яких входить кульбаба лікарська, трава
меліси лікарської, корені з кореневищами
валеріани лікарської, трава астрагала
шерстистоквіткового, плоди фенхелю, плоди глоду
колючого. Відоме визначення не може бути
застосовано для багатокомпонентних рослинних
сумішей, тому що за розданих умов не
спостерігається достатнього розділення біологічно
активних речовин, що містяться в різних рослинах,
зокрема не розділяються піки цикорієвої кислоти
(компонент кульбаби лікарської) та розмаринової
кислоти (компонент меліси лікарської).

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 як
компоненту сировини кульбаби лікарської в
багатокомпонентних рослинних сумішах полягає в
попередній очистці досліджуваних зразків за
допомогою твердофазної екстракції від більш

(13) **U**
(11) **30411**
(19) **UA**

гідрофобних, ніж цикорієва кислота компонентів (флавоноїди тощо) та знаходження умов для хроматографічного розділення цикорієвої кислоти та розмаринової кислоти, як компоненту меліси лікарської.

В основу корисної моделі "Спосіб ідентифікації кульбаби лікарської в багатокомпонентних рослинних сумішах" поставлено задачу - удосконалити ідентифікацію сировини кульбаби лікарської (коріння, листя, квітки) в багатокомпонентних рослинних сумішах, що містять кульбабу лікарську, шляхом підтвердження наявності цикорієвої кислоти та визначення її вмісту, за рахунок чого забезпечити можливість стандартизації багатокомпонентних рослинних сумішей, до складу яких входить сировина кульбаби лікарської.

Поставлена задача вирішується тим, що згідно з корисною моделлю, використовується ідентифікація та кількісне визначення цикорієвої кислоти як компонента кульбаби лікарської за допомогою методу ВЕРХ в присутності розмаринової кислоти меліси лікарської, з попереднім очищенням від заважаючих хроматографуванню речовин за допомогою твердофазної екстракції. При цьому використовується рухома фаза наступного складу: ацетонітрil-вода-оцтова кислота (17:80:3), застосування якої дозволяє добитися розділення піків цикорієвої та розмаринової кислот (рис. 1-2).

Приклад: 7г (точна наважка) подрібненої суміші лікарських рослин наступного складу: листя кульбаби лікарської - 5г, трава меліси - 5г, корені з кореневищами валеріани лікарської - 5г, трава астрагалу шерстистоквіткового - 5г, плодів фенхелю - 5г, плодів глоду - 5г вносять в конічну колбу, обладнану зворотнім холодильником, додають 100мл суміші метанол-вода (70:30) та витримують на кип'ячому водяному огрівнику протягом 15 хвилин. Після цього екстракт охолоджують до кімнатної температури та фільтрують через фільтр "червона стрічка". До 5мл отриманого розчину додають таку кількість води, щоб концентрація метанолу становила 20%, та пропускають отриманий зразок через попередньо активованій (метанол 5мл) та промитий 10мл води патрон для твердо-фазної екстракції "Superclean Ic-18 SPE Tubes 1ml" виробництва фірми Supelco (США). Патрон промивають 30мл 20% розчином метанолу. Отриманий розчин випаровують у вакуумі досуха та сухий залишок розчиняють в 5мл 70% метанолу, фільтрують через фільтр діаметром пор 0,45мкм.

По 5мкл досліджуваного розчину та розчину стандарту цикорієвої кислоти поперемінно хроматографують в наступних умовах: колонка С18 Х-Терра, розміром 250мм×4,6мм, розмір часток 5мкм; рухома фаза: ацетонітрil-вода-оцтова кислота (17:80:3); температура колонки 30°C, довжина хвилі детектування 330нм; швидкість потоку рухомої фази 1мл/хв.

Вміст цикорієвої кислоти в досліджуваній багатокомпонентній рослинній суміші (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 (Фіг.1-2).

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%, 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) в багатокомпонентних рослинних сумішах, до складу яких входить кульбаба лікарська, трава меліси лікарської, корені з кореневищами валеріани лікарської, трава астрагала шерстистоквіткового, плоди фенхелю, плоди глоду колючого за наявністю та вмістом цикорієвої кислоти як фізіологічно активного компонента, що присутній в усіх частинах кульбаби лікарської в присутності розмаринової кислоти меліси лікарської. Порівняння процесу ідентифікації кульбаби у прототипі та корисній моделі наведено в таблиці 1.

Характеристика процесу стандартизації кульбаби лікарської

№ п/п	Процес	Компонент	Об'єкти дослідження
1	Найближчий аналог	Цикорієва кислота	Моносировина кульбаби лікарської

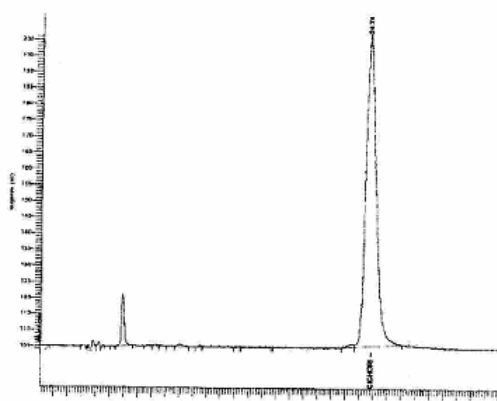
2	Корисна модель	Цикорієва кислота	Багатокомпонентні рослинні суміші, до складу яких входять: кульбаба лікарська (коріння, листя, квітки, трава); трава меліси лікарської; кореневища з коренями валеріани лікарської; плоди фенхелю, плоди глоду колючого, трава астрагалу шерстистоквіткового	Метод ВЕРХ Можливість кількісної стандартизації сировини та багатокомпонентних рослинних сумішей; специфічне визначення
---	----------------	-------------------	--	--

Посилання:

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

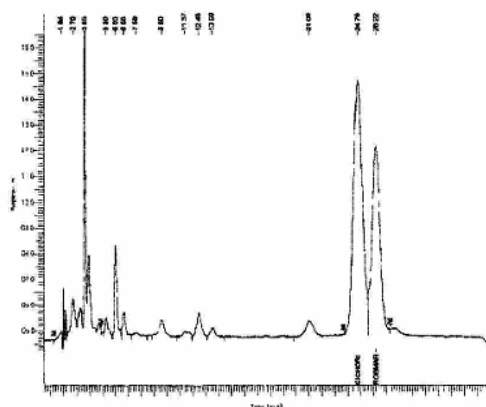
2. Пат. №26668 UA, МПК G01N30/02 /Цуркан О.О., Ковальчук Т.В., Гудзенко А.В. /№a200611806; Заявл. 09.11.2006; Надрук. 10.10.2007. Спосіб ідентифікації сировини (коріння, листя, квіток) кульбаби лікарської.

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.



Фіг.1

Хроматограма стандартного розчину цикорієвої кислоти



Фіг.2

Хроматограма досліджуваного розчину
багатокомпонентної рослинної суміші