



ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИ

УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **71251** (13) **U**
(51) МПК (2012.01)
G01N 30/00

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: u 2011 14759	(72) Винахідник(и): Цуркан Олександр Олександрович (UA), Ковальчук Тетяна Василівна (UA), Гергель Олександр Васильович (UA)
(22) Дата подання заявки: 12.12.2011	
(24) Дата, з якої є чинними права на корисну модель: 10.07.2012	(73) Власник(и): ДЕРЖАВНА УСТАНОВА "ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ АМН УКРАЇНИ", вул. Е. Потьє, 14, м. Київ, 03680 (UA)
(46) Публікація відомостей про видачу патенту: 10.07.2012, Бюл.№ 13	

(54) СПОСІБ СТАНДАРТИЗАЦІЇ ШОВКОВИЦІ БІЛОЇ (MORUS ALBA L.) В БАГАТОКОМПОНЕНТНИХ РОСЛИННИХ СУМІШАХ

(57) Реферат:

Спосіб стандартизації шовковиці білої (Morus alba L.) в багатокомпонентних рослинних сумішах. Згідно зі способом, кору шовковиці білої в рослинних сумішах, що містять в своєму складі траву галеги, корені цикорію, корені кульбаби лікарської, траву деревію звичайного, плоди шипшини та квітки нагідок лікарських, визначають за наявністю та вмістом морину за методом ВЕРХ з попередньою очисткою проби із застосуванням твердофазної екстракції.

UA 71251 U

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

Відомо, що шовковиця біла широко та впродовж багатьох років використовується в фармацевтичній та медичній практиці у вигляді складових частин багатокомпонентних фітокомпозицій [3].

Біологічна активність кори шовковиці білої обумовлена наявністю в її складі комплексу біологічно активних речовин, зокрема флавоноїдів [3], основним представником яких є морин, що проявляє виражені антиоксидантні властивості тощо [5].

Відомий спосіб ідентифікації сировини шовковиці білої, що здійснюється за наявністю в рослинній сировині флавоноїду - морину, з використанням методу вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [4].

За найближчий аналог взято методику кількісного визначення морину в шовковиці білої методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). В прототипі хроматографування проводиться з використанням обернено-фазових колонок з застосуванням форміатно-ацетонітрильних рухомих фаз та градієнтного режиму хроматографування [4]. Суттєвим недоліком існуючого методу ідентифікації сировини є те, що за методикою визначення морину можливе лише в моносировині шовковиці білої.

Об'єкт, який підлягає удосконаленню - спосіб ідентифікації та визначення кількісного вмісту морину в сировині кори шовковиці білої в багатокомпонентних рослинних сумішах, зокрема, до складу яких входять: трава галеги лікарської, корені цикорію звичайного, корені кульбаби лікарської, трава деревію звичайного, плоди шипшини собачої та квітки нагідок лікарських. Зазначена лікарська сировина використовується для виготовлення як моно препаратів, так і полікомпонентних фітозасобів [1, 2].

Процес ідентифікації та кількісного визначення морину як монокомпонента в сировині шовковиці білої в багатокомпонентних рослинних сумішах полягає в знаходженні умов для хроматографічного розділення морину як компонента шовковиці білої та біологічно активних речовин інших рослин.

В основу корисної моделі поставлено задачу - удосконалити ідентифікацію сировини кори шовковиці білої в багатокомпонентних рослинних сумішах шляхом підтвердження наявності морину та визначення його вмісту, і таким чином, забезпечити можливість стандартизації багатокомпонентних рослинних сумішей, до складу яких входять сировина кори шовковиці білої.

Поставлена задача вирішується тим, що запропонована ідентифікація та кількісне визначення морину як компонента шовковиці білої проводиться за допомогою методу вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) в присутності біологічно активних речовин інших рослин, що досягається застосуванням твердофазної екстракції для очищення досліджуваних розчинів від заважаючих речовин. При цьому використовується рухома фаза наступного складу: ацетонітрил - вода - оцтова кислота (17:80:3), застосування якої дозволяє добитися розділення піків морину шовковиці білої та біологічно активних речовин інших рослин.

Приклади конкретного виконання.

Приклад 1: 7 г (точна наважка) подрібненої суміші лікарських рослин наступного складу: кора шовковиці білої - 1г, трава галеги лікарської - 1 г, корені цикорію звичайного - 1 г, корені кульбаби лікарської - 1г, трава деревію звичайного - 1 г, плоди шипшини собачої - 1 г, квітки нагідок лікарських - 1 г вносять в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додають 100 мл суміші (етанол - вода у співвідношенні 70:30) та витримують на киплячому водяному обігрівнику протягом 60 хвилин. Після цього, екстракт охолоджують до кімнатної температури та фільтрують через фільтр "червона стрічка" в мірну колбу об'ємом 100 мл, доводять до мітки сумішшю (метанол - вода 70:30) та перемішують. До 5 мл отриманого розчину додають таку кількість води, щоб концентрація етанолу становила 20 %, та пропускають отриманий зразок через попередньо активований (метанол 5 мл) та промитий 10 мл води патрон для твердофазної екстракції "Superclean Ic-18 SPE Tubes 1 ml" виробництва фірми Supelco (США). Патрон промивають 30 мл 20 % розчину етанолу. Отриманий розчин випаровують у вакуумі досуха та сухий залишок розчиняють в 5 мл 70 % етанолу, фільтрують через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм.

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

Вміст морину 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 морину на хроматограмі досліджуваного розчину;

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

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

5 $m_{\text{пр}}$ - наважка досліджуваної сировини, г;

W - втрата в масі при висушуванні досліджуваної рослинної суміші.

Приготування стандартного розчину морину: 0,010 г достовірного стандарту морину вміщують в мірну колбу місткістю 25 мл, розчиняють в 15 мл 70 % етанолу, доводять тією ж сумішшю до мітки та перемішують. 1 мл отриманого розчину вміщують в мірну колбу місткістю

10 50 мл, доводять до мітки етанолом та перемішують.

На хроматограмі досліджуваного розчину повинен бути присутній пік, час виходу якого відповідає часу виходу піку морину на хроматограмі стандартного розчину морину.

На підставі експериментальних даних для сировини кори шовковиці білої нами рекомендований наступний граничний вміст морину: не менше 0,05 % в перерахунку на

15 висушену сировину.

За вказаних вище умов було проаналізовано досліджувані розчини, приготовлені наступним чином:

Модельна суміш без вмісту кори шовковиці білої.

6 г (точна наважка) подрібненої суміші лікарських рослин наступного складу: трава галеги лікарської - 1 г, корені цикорію звичайного - 1 г, корені кульбаби лікарської - 1 г, трава деревію звичайного - 1 г, плоди шипшини собачої - 1г, квітки нагідок лікарських - 1г вносять в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додають 100 мл суміші етанол - вода (70:30) та витримують на киплячому водяному обігрівнику протягом 60 хвилин. Після цього, екстракт охолоджують до кімнатної температури та фільтрують через фільтр "червона стрічка" в мірну колбу об'ємом 100 мл, доводять до мітки сумішшю (етанол - вода 70:30) та перемішують. До 25 5 мл отриманого розчину додають таку кількість води, щоб концентрація метанолу становила 20 %, та пропускають отриманий зразок через попередньо активований (метанол 5 мл) та промитий 10 мл води патрон для твердофазної екстракції "Superclean Ic-18 SPE Tubes 1 ml" виробництва фірми Supelco (США). Патрон промивають 30 мл 20 % розчином метанолу. 30 Отриманий розчин випаровують у вакуумі досуха та сухий залишок розчиняють в 5 мл 70 % етанолу, фільтрують через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм.

Екстракт кори шовковиці білої.

1 г кори шовковиці білої вносять в конічну колбу, обладнану зворотним холодильником, додають 100 мл суміші (етанол - вода 70:30) та витримують на киплячому водяному обігрівнику протягом 60 хвилин. Після цього екстракт охолоджують до кімнатної температури та фільтрують через фільтр "червона стрічка" в мірну колбу об'ємом 100 мл, доводять до мітки сумішшю етанол - вода (70:30) та перемішують. До 5 мл отриманого розчину додають таку кількість води, щоб концентрація метанолу становила 20 %, та пропускають отриманий зразок через попередньо активований (метанол 5 мл) та промитий 10 мл води патрон для твердофазної екстракції "Superclean Ic-18 SPE Tubes 1 ml" виробництва фірми Supelco (США). Патрон промивають 30 мл 20 % розчину етанолу. Отриманий розчин випаровують у вакуумі досуха та сухий залишок розчиняють в 5 мл 70 % метанолу, фільтрують через фільтр з діаметром пор 0,45 мкм.

Хроматограми досліджуваного розчину, екстракту кори шовковиці білої, та модельної суміші без вмісту кори шовковиці білої представлені на фіг. 1, фіг. 2 та фіг.3 відповідно.

На хроматограмах екстракту кори шовковиці білої та досліджуваного розчину присутній пік морину (фіг. 1 та фіг. 2 відповідно), на хроматограмі модельної суміші без вмісту кори шовковиці білої (фіг. 3) - даний пік відсутній.

На підставі отриманих даних виконано висновок, що у рослинній суміші, до складу якої входять: кора шовковиці білої, трава галеги лікарської, корені цикорію звичайного, корені кульбаби лікарської, трава деревію звичайного, плоди шипшини собачої та квітки нагідок лікарських присутність та вміст шовковиці білої можна визначати за наявністю та кількісним вмістом морину.

Корисна модель обумовлює можливість ідентифікації та визначення кількісного вмісту сировини шовковиці білої в багатокомпонентних рослинних сумішах, до складу яких входять: кора шовковиці білої, трава галеги лікарської, корені цикорію звичайного, корені кульбаби лікарської, трава деревію звичайного, плоди шипшини собачої та квітки нагідок лікарських за наявністю та вмістом шовковиці білої як біологічно активного компонента, що присутній в корі шовковиці. Порівняння способів ідентифікації у прототипі та винаході наведено в таблиці 1.

Таблиця 1

Характеристика способів стандартизації шовковиці білої

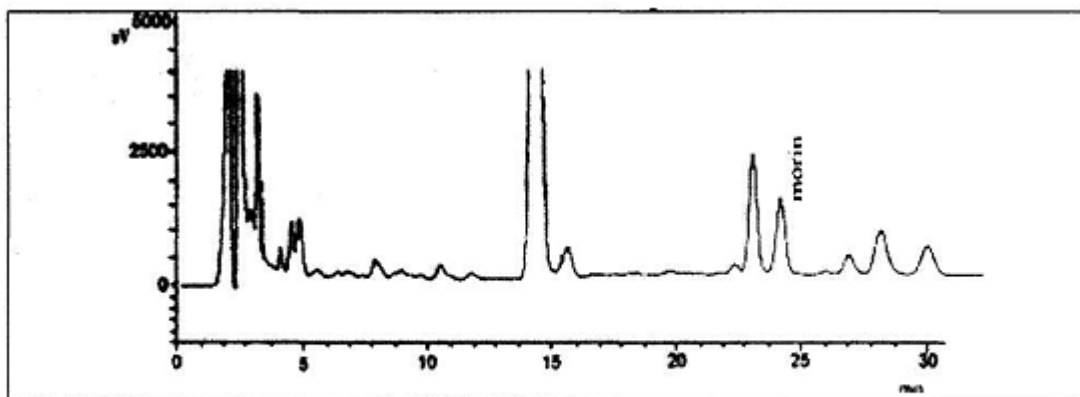
№ п/п	Об'єкт	Компонент	Об'єкти дослідження	Метод визначення ВЕРХ
1	Найближчий аналог	Морин	Моносировина шовковиці біла	Метод ВЕРХ Стандартизації моносировини листя шовковиці білої
2	Корисна модель	Морин	Багатокомпонентні рослинні суміші, до складу яких входять: кора шовковиці білої, трава галеги лікарської, корені цикорію звичайного, корені кульбаби лікарської, трава деревію звичайного, плоди шипшини собачої та квітки нагідок лікарських	Стандартизації сировини та багатокомпонентних рослинних сумішей шовковиці білої

Перелік посилань:

1. Компендиум. Лекарственные препараты 2007: т. 1. / За ред. В.М. Коваленка, О.П. Вікторова. - К: Моріон, 2007.-1128 с.
2. Компендиум. Лекарственные препараты 2007: т. 2. / За ред. В.М. Коваленка, О.П. Вікторова. - К: Моріон, 2007.-1126 с.
3. Формазюк В.И. Энциклопедия пищевых лекарственных растений: Культурные и дикорастущие растения в практической медицине / Под ред. Н.П. Максютинной. - К.: Издательство А.С.К., 2003.-792 с.
4. Jeszka M., Flaczyk E. HPLC analysis of flavonols in Morus alba leaves // III vedecka konf. doct. s medzinar. ucast. Nitra.-2008. - P. 147-151.
5. Takuya Katsube, Naoto Imawaka, Yasuhiro Kawano, Yoshimitsu Yamazaki, Kuninori Shiwa, Yosuke Yamane. Antioxidant flavonol glycosides in mulberry (Morus alba L.) leaves isolated based on LDL antioxidant activity // Food Chem.-2006. - Vol. 97. - P. 25-31.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

- Спосіб стандартизації шовковиці білої (Morus alba L.) в багатокомпонентних рослинних сумішах, який **відрізняється** тим, що кору шовковиці білої в рослинних сумішах, що містять в своєму складі траву галеги, корені цикорію, корені кульбаби лікарської, траву деревію звичайного, плоди шипшини та квітки нагідок лікарських, визначають за наявністю та вмістом морину за методом ВЕРХ з попередньою очисткою проби із застосуванням твердофазної екстракції.



Фиг. 1

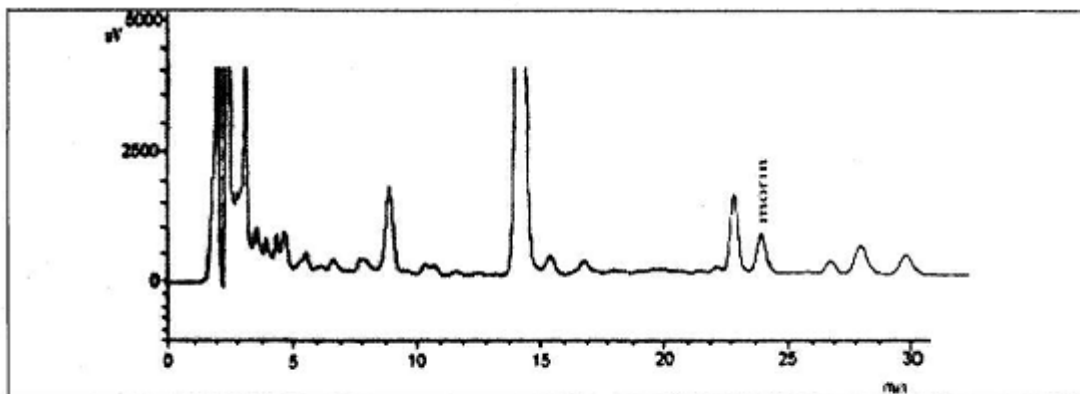


Fig. 2

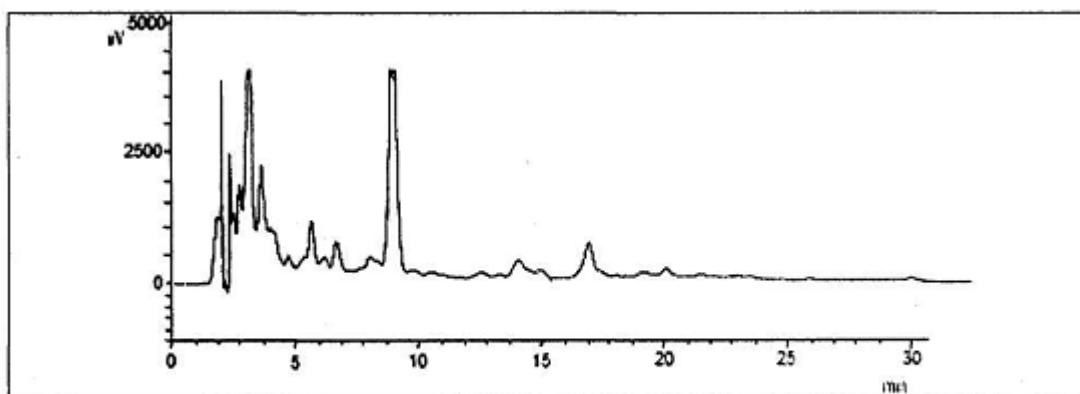


Fig. 3

Комп'ютерна верстка А. Крижанівський

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Урицького, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут промислової власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601