



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
G01N 27/26 (2022.01)

(21)(22) Заявка: 2021121255, 16.07.2021

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
16.07.2021

Дата регистрации:
23.03.2022

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 16.07.2021

(45) Опубликовано: 23.03.2022 Бюл. № 9

Адрес для переписки:

628012, Тюменская обл., ХМАО-Югра, г.
Ханты-Мансийск, ул. Мира, 40, "Ханты-
Мансийская государственная медицинская
академия" (ХМГМА), каб. 118, научное
управление

(72) Автор(ы):

Сабутова Азиза Байрамалиевна (RU),
Нехорошев Сергей Викторович (RU),
Акенеев Юрий Анварович (RU),
Слепченко Галина Борисовна (RU),
Нехорошева Александра Викторовна (RU),
Горников Николай Викторович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Бюджетное учреждение высшего
образования Ханты-Мансийского
автономного округа - Югры
"Ханты-Мансийская государственная
медицинская академия" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: DOULACH, M., BENCHETTARA
A., TRARI M. "DETECTION OF SALICYLIC
ACID BY ELECTROCATALYTIC OXIDATION
AT A NICKEL MODIFIED GLASSY CARBON
ELECTRODE", ЖУРНАЛ
АНАЛИТИЧЕСКОЙ ХИМИИ, Т.69, С.56-
61, 2014. ZHANG WEI-DE, XU BIN, HONG
YU-XIANG, YU YU-XIANG, YE LIANSHAN,
ZHANG JIA-QI "ELECTROCHEMICAL
OXIDATION OF SALICYLIC ACID AT WELL-
ALIGNED MULTIWALLED CARBON (см.
прод.)

(54) Способ количественного определения салицина методом вольтамперометрии на стеклоуглеродном электроде

(57) Реферат:

Изобретение относится к области аналитической химии, в частности к вольтамперометрическому способу определения салицина. Способ количественного определения салицина включает его предварительный гидролиз в 0,1М при нагреве до 90°C в течение 1 часа и вольтамперометрическое определение в двухэлектродной системе по анодному пику на стеклоуглеродном электроде, получающемся при гидролизе соответствующего спирта

салигенина, при этом накопление салигенина в перемешиваемом растворе проводят при барботировании инертным газом в течение 30 с при потенциале -0,4 В относительно насыщенного ХСЭ на фоновом электролите 0,1 М Na₂HPO₄ с последующей регистрацией анодных пиков в дифференциальном режиме съемки вольтамперограмм при скорости развертки потенциала 25-30 мВ/с, концентрацию салицина определяют по высоте пика салигенина в

диапазоне потенциалов 0,7-0,8 В методом одного стандарта. Техническим результатом является

определение концентрации салицина методом вольтамперометрии.

(56) (продолжение):

NANOTUBE ELECTRODE AND ITS DETECTION", JOURNAL OF SOLID STATE ELECTROCHEMISTRY, V.14, P.1713-1718, 2014. TORRIERO ANGEL, LUCO JUAN, SERENO LEONIDES "VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF SALICYLIC ACID IN PHARMACEUTICALS FORMULATIONS OF ACETYLSALICYLIC ACID" TALANTA, V.62, P.247-254, 2004. SZKOP MICHAŁ, GAĞAŁA URSZULA, KĘSZYCKA PAULINA, GAJEWSKA DANUTA " A SIMPLE AND ROBUST PROTOCOL FOR FAST RP-HPLC DETERMINATION OF SALICYLATES IN FOODS", FOOD ANALYTICAL METHODS, V.10, 2016.

R U 2 7 6 8 2 2 9 C 1

R U 2 7 6 8 2 2 9 C 1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC
G01N 27/26 (2022.01)

(21)(22) Application: **2021121255, 16.07.2021**

(24) Effective date for property rights:
16.07.2021

Registration date:
23.03.2022

Priority:

(22) Date of filing: **16.07.2021**

(45) Date of publication: **23.03.2022 Bull. № 9**

Mail address:

628012, Tyumenskaya obl., KHMAO-Yugra, g. Khanty-Mansijsk, ul. Mira, 40, "Khanty-Mansijskaya gosudarstvennaya meditsinskaya akademiya" (KHMGMA), kab. 118, nauchnoe upravlenie

(72) Inventor(s):

**Sabutova Aziza Bajramalievna (RU),
Nekhoroshev Sergej Viktorovich (RU),
Akeneev Yuriy Anvarovich (RU),
Slepchenko Galina Borisovna (RU),
Nekhorosheva Aleksandra Viktorovna (RU),
Gornikov Nikolaj Viktorovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

Byudzhetnoe uchrezhdenie vysshego obrazovaniya Khanty-Mansijskogo avtonomnogo okruga - Yugry "Khanty-Mansijskaya gosudarstvennaya meditsinskaya akademiya" (RU)

(54) **METHOD FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF SALICIN BY VOLTAMMETRY ON A GLASS-CARBON ELECTRODE**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to analytical chemistry, particularly to a voltammetric method for determining salicin. Method for quantitative determination of salicin includes its preliminary hydrolysis in 0.1 M while heating to 90 °C for 1 hour and voltammetric determination in a two-electrode system from an anode peak on a glass-carbon electrode obtained by hydrolysis of the corresponding saligenin alcohol, wherein the accumulation of saligenin in the stirred solution is carried out while bubbling with an

inert gas for 30 s at a potential of -0.4 V relative to the saturated SCE on a background electrolyte of 0.1 M Na₂HPO₄ with subsequent recording of anode peaks in differential mode of recording voltamperograms at potential sweep rate of 25–30 mV/s, salicin concentration is determined by the saligenin peak height in the potential range of 0.7–0.8 V by the method of one standard.

EFFECT: determination of salicin concentration by voltammetry.

1 cl

Изобретение относится к области аналитической химии, в частности к вольтамперометрическому определению салицина на стеклоуглеродном электроде. Электрохимические, и, в частности вольтамперометрические способы определения салицина в настоящее время неизвестны. На практике для определения салицина в растительных экстрактах применяются методы спектрофотометрии, ВЭЖХ, капиллярного электрофореза.

Методы определения салицина

В настоящее время для определения салицина как индивидуального вещества используются в основном многочисленные хроматографические и родственные им методы. Так используется тонкослойная хроматография (ТСХ) с последующим денситометрическим определением индивидуальных веществ (фенологликозидов). Кроме того, применяется различные варианты высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), прежде всего с УФ-детектированием, а также хромато-масс-спектрометрия. В последнее время значительное внимание уделяется использованию метода высокоэффективного капиллярного электрофореза (ВЭКЭ). Кроме того, в некоторых случаях необходимо определение так называемого общего салицина. Под этим термином понимается суммарный салицин, образующийся при гидролизе многочисленных фенологликозидов (триандрин, популина и др.), который может происходить как при воздействии ферментов, так и при щелочном гидролизе данных веществ. Поэтому, в некоторых случаях экстракты из растительного сырья подвергают щелочному гидролизу с последующим определением суммарного салицина вышеупомянутыми методами, а также с помощью объемных методов (титрование) или фотометрии [1].

Недостатками выше указанных способов является большая стоимость оборудования, расходных материалов, а также сложность выполнения единичного анализа. Известен способ вольтамперометрического определения родственного салицину соединения - салициловой кислоты по пику окисления гидроксильной группы на электродах из углеродных материалов, в частности стеклоуглеродном электроде. Данный способ используется для определения салициловой кислоты в экстрактах различных растений и в готовых лекарственных формах [2]. Для прямого определения салицина этот способ непригоден в виду отсутствия в его молекуле свободных электрохимически активных гидроксильных групп, но он подходит в качестве аналога для косвенного вольтамперометрического определения салицина по сигналу окисления на стеклоуглеродном электроде соответствующего ему салицилового спирта (салигенина). В качестве прототипов изобретения взяты методы детектирования салициловой кислоты, в основе которых лежит электрокаталитический механизм ее окисления на различных модифицированных электродах [3-4]. Данные электроды обладают значительной чувствительностью, но сложны в изготовлении и эксплуатации для массового пользователя, поэтому не могут быть рекомендованы для широкой лабораторной практики.

Авторами изобретения впервые установлена возможность определения соответствующего салицину спирта (салигенина) по сигналу его окисления на стеклоуглеродном электроде.

Задачей заявленного изобретения являются разработка методики определения салицина в водных растворах и растительных экстрактах методом вольтамперометрии на экологически безопасном и простом в изготовлении и эксплуатации стеклоуглеродном электроде.

Поставленная задача достигается тем, что способ количественного определения

салицина в диапазоне концентраций от 0,2 мкг/мл до 3,1 мкг/мл включает его предварительный гидролиз в водном растворе соляной кислоты с концентрацией 0,5 моль/л с последующим вольтамперометрическим определением получающегося при этом салицилового спирта (салигенина) методом окисления на стеклоуглеродном электроде в двухэлектродной системе. При этом накопление салигенина в перемешиваемом растворе проводят при барботировании инертным газом в течении 30 секунд при потенциале электролиза -0,4 В относительно насыщенного хлорид серебряного электрода, на фоновом электролите в виде водного раствора Na_2HPO_4 с концентрацией 0,1 моль/л и $\text{pH}=9,0$ с последующей регистрацией анодных пиков в дифференциальном режиме съемки вольтамперограмм при скорости развертки потенциала 25-30 мВ/с. Концентрацию салигенина определяют по высоте пика в диапазоне потенциалов 0,7-0,8 В методом сравнения с высотой соответствующего пика в растворе, содержащем стандартный образец салицина с известной концентрацией, подвергнутый предварительному гидролизу одновременно с анализируемым раствором.

Массовую долю салицина в пробе вычисляют в мг/дм^3 по формуле:

$$C_x = \frac{C_{\text{ст}} \cdot H_x}{H_{\text{ст}}},$$

$C_{\text{ст}}$ - концентрация салицина в стандартном образце, H_x и $H_{\text{ст}}$ - высоты анодных пиков салигенина в анализируемом и стандартном образцах, соответственно.

Установленные условия анализа позволили количественно определять салицин на основе электроокисления, получающегося при его кислотном гидролизе салигенина на стеклоуглеродном электроде. Предлагаемый вольтамперометрический способ обладает удовлетворительными метрологическими характеристиками анализа. Диапазон определяемых концентраций от 0,2 мкг/мл до 3,1 мкг/мл.

Измерения проводили на компьютеризированных вольтамперометрических анализаторах СТА (ООО «ИТМ», г. Томск).

Установленные условия анализа в предлагаемом способе впервые позволили экспрессно количественно определять салицин в модельных растворах после его кислотного гидролиза методом вольтамперометрии.

Пример 1

К водным растворам салицина с концентрацией 1,0 и 2,0 мг/мл в количестве по 5 мл добавляли по 5 мл водного раствора соляной кислоты с концентрацией 1 моль/л. Смеси перемешивали и нагревали на водяной бане в течение 60 мин при температуре 90°C для проведения реакции гидролиза салицина. После гидролиза в каждую смесь добавляли по 40 мл водного раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,125 моль/л для нейтрализации соляной кислоты и остановки реакции гидролиза. Полученные растворы последовательно анализировали на вольтамперометрическом анализаторе СТА в следующих условиях:

- рабочий электрод стеклоуглеродный, электрод сравнения хлоридсеребряный;
- режим накопления салигенина на рабочем электроде при перемешивании раствора и при барботировании инертным газом (аргон) в течении 30 секунд при потенциале электролиза -0,4 В относительно насыщенного хлоридсеребряного электрода,
- фоновый электролит водный раствор Na_2HPO_4 с концентрацией 0,1 моль/л и $\text{pH}=9,0$ с последующей регистрацией анодных пиков в дифференциальном режиме съемки вольтамперограмм при скорости развертки потенциала 25-30 мВ/с;
- в фоновый раствор объемом 10 мл вносили 20 мкл раствора, полученного в

результате гидролиза и разбавления из раствора салицина с концентрацией 1,0 мг/мл и регистрировали вольтамперограмму;

- на полученной вольтамперограмме измеряли высоту пика салигенина при потенциале 0,75 В относительной вольтамперограммы фонового раствора, которая составила 1,04 нА;

- в полученный раствор повторно вносили 20 мкл раствора, полученного в результате гидролиза и разбавления из раствора салицина с концентрацией 1,0 мг/мл и регистрировали вольтамперограмму;

- на полученной вольтамперограмме измеряли высоту пика салигенина при потенциале 0,75 В относительной вольтамперограммы фонового раствора, которая составила 1,98 нА;

- в полученный раствор дополнительно вносили 20 мкл раствора, полученного в результате гидролиза и разбавления из раствора салицина с концентрацией 2,0 мг/мл и регистрировали вольтамперограмму;

- на полученной вольтамперограмме измеряли высоту пика салигенина при потенциале 0,75 В относительной вольтамперограммы фонового раствора, которая составила 3,89 нА.

В результате показано, что с увеличением в исходном растворе концентрации салицина в 2 раза высота пика салигенина в области 0,7-0,8 В увеличивалась в 1,90-1,96 раза, что можно использовать для аналитического контроля салицина в водных растворах.

Пример 2

Предварительная подготовка водного раствора экстракта коры осины с содержанием сухих веществ 10% (мас.) и салицина 5 мг/мл заключалась в том, что пробу экстракта объемом 50 мл высушивали при температуре 105°C до постоянной массы, заливали 50 мл метанола и кипятили с обратным холодильником 30 минут. Затем отфильтровывали раствор через бумажный фильтр, фильтр с осадком снова заливали 50 мл метанола, кипятили с обратным холодильником 30 минут и фильтровали. Процедуру экстракции и фильтрования повторили еще один раз. Полученные в результате трехкратной экстракции фильтраты объединяли, к ним добавили 50 мл 0,1н NaOH для проведения щелочного гидролиза салицилатов и кипятили обратным холодильником 60 минут. После охлаждения в смесь добавили 50 мл 0,1 н HCl для нейтрализации щелочи и общий объем смеси доводили водой до 250 мл.

К аликвоте полученной выше смеси, а также к водным растворам салицина с концентрацией 1,0 и 2,0 мг/мл в количестве по 5 мл добавляли по 5 мл водного раствора соляной кислоты с концентрацией 1 моль/л. Смеси перемешивали и нагревали на водяной бане в течение 60 мин при температуре 90°C для проведения реакции гидролиза салицина. После гидролиза в каждую смесь добавляли по 40 мл водного раствора гидроксида натрия с концентрацией 0,125 моль/л для нейтрализации соляной кислоты и остановки реакции гидролиза. Полученные растворы последовательно анализировали на вольтамперометрическом анализаторе в условиях, описанных в примере 1. В фоновый раствор объемом 10 мл вносили 20 мкл раствора, полученного в результате гидролиза и разбавления из раствора экстракта коры осины и регистрировали вольтамперограмму, на которой измеряли высоту пика салигенина при потенциале 0,75 В относительной вольтамперограммы фонового раствора, которая составила 1,02 нА. В полученный раствор повторно вносили 20 мкл раствора, полученного в результате гидролиза и разбавления из раствора салицина с концентрацией 1,0 мг/мл и регистрировали вольтамперограмму, на которой высота пика салигенина при потенциале 0,75 В

составила 1,99 нА. В полученный раствор дополнительно вносили 20 мкл раствора, полученного в результате гидролиза и разбавления из раствора салицина с концентрацией 2,0 мг/мл и регистрировали вольтамперограмму, на которой высота пика салигенина при потенциале 0,75 В составила 3,94 нА.

5 Таким образом было доказано, что на вольтамперограмме гидролизованного раствора экстракта коры осины высота пика салигенина прямо пропорциональна концентрации салицина в экстракте коры осины до проведения реакции гидролиза и это может использоваться для количественного определения салицина в экстрактах из растительного сырья.

10 Проверку правильности предложенной методики проводили путем сравнения результатов вольтамперометрического определения салицина в экстракте коры осины с его определением методом ВЭЖХ по известной методике [5] на хроматографе Милихром А-02. Содержание салицина в экстракте коры осины составило 5,0% (мас.) по результатам определения методом ВЭЖХ и 4,9% (мас.) по результатам определения
15 методом инверсионной вольтамперометрии, что подтверждает правильность разработанной методики количественного химического анализа.

Таким образом, впервые установлены условия выполнения количественного химического анализа салицина методом вольтамперометрии на стеклоуглеродном электроде. Предложенный способ прост, не требует большого количества реактивов
20 и трудозатрат, также может быть приемлем в любой химической лаборатории, имеющей вольтамперометрический анализатор.

Данный способ может быть использован в фармацевтических исследованиях для определения салицина в сложных многокомпонентных растительных экстрактах. Показанный диапазон концентраций обеспечивает определение салицина в растениях
25 (кора, листья, ветки), где его содержание находится в диапазоне 0.1-10.0% (мас.).

Литература

1. Запретов М.Н. Фенольные соединения: распространение метаболизм и функции в растениях М, Наука, 1994, 240 с.
2. A.J. Torrino et al. Voltammetric determination of salicylic acid in pharmaceutical formulations of acetylsalicylic acid.// Talanta, 2004, V. 62, №2, p. 247-254.
30
3. Douliche M., Benchettora A., Trari M. Detector of salicylic acid by electrocatalytic oxidation at a nickel-modified glassy carbon electrode.//J. of Anal. Chem. 2014 V. 69, №1, p. 51-56.
4. W.D. Zhang et al. Electrochemical oxidation of salicylic acid at well-aligned multiwalled carbon nanotube electrode and its detection// J. Solid State Electrochem. 2010 V. 14 №9 p. 713-
35 718.
5. Массовая концентрация УФ-поглощающих веществ. Методика выполнения измерений методом высокоэффективной жидкостной хроматографии / ФР. 1.31.2006.02966. // Новосибирск. 2006. - 11 с.

40 (57) Формула изобретения

Способ количественного определения салицина, включающий его предварительный гидролиз в 0,1М при нагреве до 90°С в течение 1 часа и вольтамперометрическое определение в двухэлектродной системе по анодному пику на стеклоуглеродном электроде, получающемуся при гидролизе соответствующего спирта салигенина,
45 отличающийся тем, что накопление салигенина в перемешиваемом растворе проводят при барботировании инертным газом в течение 30 с при потенциале -0,4 В относительно насыщенного ХСЭ на фоновом электролите 0,1 М Na₂HPO₄ с последующей регистрацией анодных пиков в дифференциальном режиме съемки вольтамперограмм при скорости

развертки потенциала 25-30 мВ/с, концентрацию салицина определяют по высоте пика салигенина в диапазоне потенциалов 0,7-0,8 В методом одного стандарта.

5

10

15

20

25

30

35

40

45