



MD 2823 G2 2005.07.31

REPUBLICA MOLDOVA



(19) Agenția de Stat
pentru Proprietatea Intelectuală

(11) 2823 (13) G2
(51) Int. Cl. G01N 30/90 (2006.01);
G01N 30/94 (2006.01);
C07C 35/27 (2006.01)

(12) BREVET DE INVENȚIE

<p>(21) Nr. depozit: a 2004 0036 (22) Data depozit: 2004.02.12</p>	<p>(45) Data publicării hotărârii de acordare a brevetului: 2005.07.31, BOPI nr. 7/2005</p>
<p>(71) Solicitant: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD (72) Inventatori: ȘEPELI Diana, MD; REVENCO Mihail, MD; ȘEPELI Felix, MD; MACAEV Fliur, MD (73) Titular: INSTITUTUL DE CHIMIE AL ACADEMIEI DE ȘTIINȚE A REPUBLICII MOLDOVA, MD</p>	

(54) Procedeu de determinare cantitativă a sclareolului în extractele, obținute din salvia de muscat

(57) Rezumat:

1
Invenția se referă la chimia compușilor naturali și anume la un procedeu de determinare cantitativă a sclareolului în extractele, obținute din salvia de muscat.

Esența invenției constă în aceea că procedeul include pregătirea unei plăci cromatografice cu dimensiunile 10 x 20 cm, cu un strat de oxid de aluminiu cu gradul I de activitate având grosimea de 1,8...2,0 mm, după care proba cântărită de extract se dizolvă în cloroform, se aplică pe placă la distanța de 1,5 cm de la marginea inferioară a plăcii pe o lungime de 7,5 cm a liniei de start și se separă prin

2
5 două treceri consecutive complete ale sistemului de solvenți nifras : cloroform : acetonă în raport corespunzător de 5 : 4 : 1, apoi oxidul de aluminiu uscat ce conține sclareol se colectează, începând cu distanța de 2,5 cm de la linia de start și până la 11,5 cm de la ea, se extrage cu cloroform la 40...45°C consecutiv cu 40, 30, 10 și 10 ml, iar după eliminarea cloroformului reziduul obținut se cântărește și se calculează conținutul de sclareol.

Revendicări: 1
Figuri: 1

15

MD 2823 G2 2005.07.31

MD 2823 G2 2005.07.31

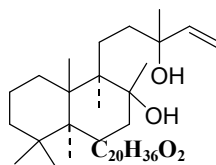
3

Descriere:

Invenția se referă la domeniul industriei etero – uleioase și farmaceutică, în special la un procedeu de determinare cantitativă a sclareolului în diferite produse vegetale și preparate medicinale, obținute din salvia de muscat.

5 Unul din compușii naturali principali care se conțin în salvia de muscat este sclareolul (8,13 – dioxi - Δ^{14} - labdanul) sau fitosterina terțiară nesaturată.

10



15

Din salvie de muscat se obține „concret” (substanțe extractive – uleiuri eterice, sclareol, ceară etc., solubile în fracțiuni de benzină cu punctul de fierbere scăzut). Din sclareol se sintetizează substanțe, utilizate în industria parfumurilor. Sclareolul se mai poate conține în preparatele Salmus și Salvit – 1, folosite în balneologie, prezentând produse secundare ce apar la prelucrarea salviei.

20

Pentru identificarea compușilor din grupa alcoolilor mono- și sesciviterpenici, din care face parte și sclareolul, este cunoscut procedeu cromatografic în strat subțire (CSS). În calitate de sorbent este folosit silicagelul G. Cromatogramele se fac din sistemul benzină (fracția cu $T_f = 105 \dots 120^\circ\text{C}$) – eter izopropilic în raport (95:5). Pentru identificarea spoturilor sunt folosiți diferiți reactivi. Clorura de stibiu (III) sau (V) provoacă o colorație sură sau violetă; acidul molibdofosforic – albastră; amestecul de anisaldehydă și acid sulfuric – colorație gri [1]. Acest procedeu se folosește pentru identificarea componentelor și nu este aplicabil pentru determinări cantitative din cauza lipsei condițiilor de desorbție și a pierderilor mari în cazul aplicării cantităților mici de substanță.

25

Pentru identificarea sclareolului este cunoscut și procedeu care vizează determinarea temperaturii de topire a lactonei, precum și a mono- sau diacetatoderivaților. Reacția de acetilare nu poate fi folosită pentru determinări cantitative, dat fiind faptul că sclareolul se acetilează greu și nu este confirmat că această reacție decurge total [2].

30

Pentru determinarea în uleiul din salvie a linalolei și linalilacetatului se folosește procedeu cromatografic gaz – lichid, dar el nu poate fi folosit pentru sclareol, deoarece acesta este instabil la temperaturi mari.

35

Cea mai apropiată de această propunere este separarea preparativă prin procedeu cromatografic pe strat subțire, folosind un strat de absorbent nefixat. Cu toate că este însoțit de pierderi mari, acest procedeu se folosește pentru identificarea și separarea preparativă a unor cantități mari [3].

40

Separarea se realizează pe plăci de diferite dimensiuni: lățimea 20...40 cm, lungimea până la 70 cm. În calitate de sorbent a fost propus un strat de oxid de aluminiu Al_2O_3 de grosimea 1,5...3,0 mm. În cazul grosimii stratului 1,5 mm pe linia de start se aplică un spot de mărimea 1 cm care conține 20...25 mg de substanță.

45

Proba dizolvată în solventul organic se aplică în formă de linie continuă la start și se saturează cu solvent pur pentru a asigura o penetrare mai profundă în stratul de absorbent. Solventul se vaporizează, iar amestecul se separă prin procedeu cromatografiei ascendente.

50

În cazul când substanțele separate au proprietăți luminescente sau absorb lumina UV, pot fi identificate folosind o sursă UV. Unele componente pot fi identificate prin tratarea plăcilor cu vapori de iod.

55

După identificarea zonelor cu substanțe deja separate, sorbentul se sustrage de pe placă împreună cu componenta separată folosind procedee obișnuite. Determinarea cantitativă a substanței în eluat se finalizează spectrofotometric sau colorimetric dacă aceasta absoarbe în domeniile UV sau VIS.

60

Aceste recomandări nu pot fi folosite pentru sclareol, deoarece el nu absoarbe în acest domeniu spectral.

Astfel, s-a conturat problema pe care o rezolvă invenția – a elabora un procedeu original pentru determinarea cantitativă a conținutului de sclareol în diferite produse preparate din salvia de muscat cu destinație industrială sau farmaceutică.

65

Problema s-a dovedit a fi rezolvabilă folosind tehnica cromatografiei pe strat subțire, un sorbent ieftin Al_2O_3 și prin respectarea unui șir de condiții care au fost găsite experimental și optimizate în cadrul elaborării metodicii de analiză.

70

Esența invenției constă în aceea că procedeu include pregătirea unei plăci cromatografice cu dimensiunile 10 x 20 cm, cu un strat de oxid de aluminiu cu gradul I de activitate având grosimea de 1,8...2,0 mm, după care proba cântărită de extract se dizolvă în cloroform, se aplică pe placă la distanța de 1,5 cm de la marginea inferioară a plăcii pe o lungime de 7,5 cm a liniei de start și se separă prin

MD 2823 G2 2005.07.31

4

5 două treceri consecutive complete ale sistemului de solvenți nifras : cloroform : acetonă în raport corespunzător de 5 : 4 : 1, apoi oxidul de aluminiu uscat ce conține sclareol se colectează, începând cu distanța de 2,5 cm de la linia de start și până la 11,5 cm de la ea, se extrage cu cloroform la 40...45°C consecutiv cu 40, 30, 10 și 10 ml, iar după eliminarea cloroformului reziduul obținut se cântărește și se calculează conținutul de sclareol.

10 Pentru o separare satisfăcătoare a sclareolului de componentele însoțitoare din extractele supuse analizei mai eficientă s-a dovedit a fi folosirea amestecului nifras-cloroform-acetonă (5:4:1). Printre alte avantaje ale sistemului propus este accesibilitatea și costul moderat. În calitate de sorbent poate fi folosit numai Al_2O_3 – gradul de activitate I. Pentru identificarea spoturilor au fost folosiți vaporii de iod. Au fost puse în evidență legitățile localizării zonelor cu sclareolul separat, dimensiunile lor în comparație cu ale altor componente, pentru cazurile când concentrația substanței extrase varia în limitele 0,02...0,15 g/ml. În continuare acești parametri au stat la baza optimizării condițiilor de cromatografiere.

15 La etapa ulterioară a fost studiată influența masei probei de sclareol sau “concret” industrial (conținutul sclareolului, $\approx 50\%$) asupra acestor parametri folosind plăci cu dimensiunile 10 x 20 cm, grosimea stratului de Al_2O_3 1,8...2,0 mm. Dimensiunile indicate în figură ale zonei de distribuție a sclareolului au fost observate pe plăcile cu dimensiunile 10 x 20 cm și grosimea stratului 1,8...2,0 mm, atunci când se aplicau 20...150 mg de probă care conține nu mai mult de 70 mg de sclareol (figura). Mărirea conținutului de sclareol în proba aplicată conduce la schimbarea parametrilor zonei de distribuție.

20 Așadar, spre deosebire de analog, prin folosirea sorbentului Al_2O_3 (gradul I de activitate) și sistemului mixt de solvenți: nifras – cloroform – acetonă, se asigură o separare satisfăcătoare a sclareolului de componentele însoțitoare.

25 Suprafața zonei de sorbent de pe placa cromatografică este indicată în figură. Această zonă se sustrage de pe placă în mod obișnuit, se supune extracției multiple cu cloroform, după care solventul se înlătură prin vaporizare (a se vedea exemplul de folosire a invenției) și se determină masa rămășiței prin metode uzuale. Valoarea masei reziduului uscat, care este parametrul analitic de bază în metoda elaborată, este folosită pentru calculul conținutului de sclareol în proba analizată.

30 Procedul elaborat permite determinarea exactă a conținutului de sclareol, folosind cromatografia preparativă și respectând condițiile experimental optimizate. Fără respectarea consecutivității operațiilor, cantității de eluent, parametrilor de timp, separarea este incompletă și nu poate fi atinsă o exactitate suficientă.

35 *Exemplu.* O probă uscată și dehidratată de extract care conține sclareol se cântărește la o balanță analitică și se dizolvă în cloroform. În cazul când proba se dizolvă greu, se folosește cloroform încălzit (40...45°C). Conținutul probei inițiale în soluția finală va fi în domeniul 20...150 mg/ml.

40 Separarea componentelor în soluția preparată se face pe plăci cu dimensiunile 10 x 20 cm în sistemul de solvenți nifras – cloroform – acetonă (5:4:1), acoperite cu un strat de oxid de aluminiu de grosimea 1,8...2,0 mm. Pe linia de start cu lungimea de 7,5 cm, care este deplasată de la marginea inferioară a plăcii cu 1,5 cm, se aplică 1...2 ml de soluție preparată în cloroform (figura). După vaporizarea solventului placa se supune consecutiv de două ori procesului de separare cromatografică. Înainte de a fi supusă cromatografiei a doua oară, placa se usucă până la vaporizarea totală a solventului. De fiecare dată se notează pe placă linia finală a solventului și zona de concentrare a sclareolului (în figură această zonă este hașurată). Sorbentul de pe acest sector este sustras de pe placă cu ajutorul unei spatule sau este aspirat.

45 Din porțiunea de sorbent izolată se extrage sclareolul cu cloroform încălzit (40...45°C) în următoarea consecutivitate:

1. Prima extracție – sorbentul se amestecă cu 40 ml de cloroform timp de 10 min într-un pahar.
2. Filtrarea suspensiei obținute în pct. 1 printr-un filtru poros de sticlă Shota (G40).
- 50 3. Sorbentul trecut pe filtru se spală încă o dată cu 30 ml de cloroform.
4. Spre sfârșitul procesului de extracție stratul de Al_2O_3 se mai spală de două ori cu câte 10 ml de cloroform în condiții de vid (200...250 mm col. Hg).
5. Toate porțiile filtrate se amestecă și se separă solventul până când rămân 2...5 ml.

55 Reziduul din balon se trece cantitativ într-o fiolă. Rămășițele de cloroform se înlătură prin vaporizare pe baie marină, și fiola se ține într-un dulap de uscure timp de 1 oră la temperatura de (100 ± 3)°C. Se cântărește la o balanță analitică și se aduce la greutate constantă repetând uscarea încă 0,5 ore. După uscure fiola se răcește într-un excicator deasupra clorurii de calciu. Masa reziduului uscat este folosită pentru calculul conținutului de sclareol în extractul inițial. Pentru calcul se introduce corecția pentru pierderile de sclareol în timpul uscării, care a fost determinată experimental folosind o probă standard. Această corecție alcătuiește 5,17% din conținutul total.

60

MD 2823 G2 2005.07.31

5

Folosind procedeul propus a fost determinat conținutul de sclareol în “concretul” de la întreprinderea “Aroma” care alcătuiește 42,61%. Prin metoda adaosurilor a fost determinată exactitatea analizelor. În soluții au fost adăugate respectiv 0,0248 și 0,0101 g de sclareol. Găsit: 0,0246 și 0,0098 g.

5

(57) Revendicare:

10 Procedeu de determinare cantitativă a sclareolului în extractele, obținute din salvia de muscat, ce include pregătirea unei plăci cromatografice cu dimensiunile 10 x 20 cm, cu un strat de oxid de aluminiu cu gradul I de activitate având grosimea de 1,8...2,0 mm, după care proba cântărită de extract se dizolvă în cloroform, se aplică pe placă la distanța de 1,5 cm de la marginea inferioară a plăcii pe o lungime de 7,5 cm a liniei de start și se separă prin două treceri consecutive complete ale sistemului de solvenți nifras : cloroform : acetonă în raport corespunzător de 5 : 4 : 1, după uscarea oxidului de aluminiu
15 ce conține sclareol se colectează, începând cu distanța de 2,5 cm de la linia de start și până la 11,5 cm de la ea, se extrage cu cloroform la 40...45°C consecutiv cu 40, 30, 10 și 10 ml, iar după eliminarea cloroformului reziduul obținut se cântărește și se calculează conținutul de sclareol.

20

(56) Referințe bibliografice:

1. Шталь Э. (ред.). Хроматография в тонких слоях. Мир, Москва, 1965, с. 194 – 197
2. Лазурьевский Г.В., Терентьева И. В., Шамшурин А.А. Практические работы по химии природных соединений. Высшая школа, Москва, 1966, с. 153 – 155
3. Ахрем А.А., Кузнецова А.И. Тонкослойная хроматография. Наука, Москва, 1965, с. 49 – 54, 112 – 117

Șef Secție:

GUȘAN Ala

Examinator:

EGOROVA Tamara

Redactor:

CANȚER Svetlana

MD 2823 G2 2005.07.31

