



УДК 543:544.42

Определение олеаноловой и глицирризиновой кислот методом тонкослойной хроматографии на обращенной фазе в водно-органических и модифицированных мицеллярных подвижных фазах

Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Панкратов А.Н.,
Угланова В.З., Цымбал О.А., Данчук А.И.

Саратовский государственный университет им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

Поступила в редакцию 5.08.2014 г.

Методом обращенно-фазовой тонкослойной хроматографии изучено удерживание и разделение сапонинов: олеаноловой кислоты, сапонины, глицирризиновой кислоты и хедеракозида в водно-спиртовых и модифицированных водно-мицеллярных подвижных фазах при варьировании концентрации поверхностно-активного вещества, природы и концентрации спирта как модификатора мицеллярных подвижных фаз. Найдены оптимальные условия разделения указанных сапонинов и разработаны методики определения олеаноловой и глицирризиновой кислот в растительных фармацевтических препаратах и пищевых продуктах.

Ключевые слова: тонкослойная хроматография, сапонины, поверхностно-активные вещества, мицеллы, спирты.

Reversed-phase thin layer chromatographic determination of oleanolic and glycyrrhizinic acids in aqueous-organic and modified micellar mobile phases

Sumina E.G., Shtykov S.N., Pankratov A.N.,
Uglanova V.Z., Tsybmal O.A., Danchuk A.I.

N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov

Saponins to be representatives of natural high-molecular biologically active substances are widely used in food, pharmaceutical, cosmetic industries as natural surfactants. Analytical methods described for the determination of saponins in commercial and natural objects are based on HPLC with mass-spectrometric (MS), tandem MS with electrospray ionization, or UHPLC that are very expensive and considerable time costs. The aim of this work was to investigate the possibility to separate some saponins by simple and low cost TLC method using biodegradable and nontoxic aqua micellar mobile phases (MMP) and MMP modified by different alcohols. Stock standard saponins solutions 2 mg/mL of glycyrrhizinic, oleanolic acids, saponin and hederakozid (Sigma, Fluka, USA) were prepared in ethanol. The study was performed by reversed-phase liquid chromatography in the mode of ascending TLC on commercial plates RP-18, Polyamide-6 (both Merck, Germany), Sorbfil (Sorbopolymer, Russia), and HPLC on a column Luna C18(2) (150 × 4.6 mm, 5 μm, Phenomenex, USA). The detection and quantitative measurements of chromatograms in TLC were conducted using a Sorbfil videodensitometer (Sorbopolymer, Russia). Aqueous-organic MP containing propanol-1, propanol-2, butanol-1, butanol-2, and also micellar mobile phases containing cationic surfactant cetylpyridinium chloride (CPC), anionic surfactant sodium dodecyl sulfate (both from Synthesis PAV, Russia), or nonionic surfactant Triton X-100 (Merck, Germany) were studied. The experiment showed

that the best chromatographic behavior of saponins in aqua-organic mobile phases was observed for RP-18 plates, whereas in MMP phases the saponins chromatographic spots were stayed at the start line. On addition of alcohols the spots were moved and the best separation of saponins was observed for CPC micelles with addition of 25% of butanol-1. The reason for such effect of alcohols is, probably, that they form hydrogen bonds with molecules of the studied substances in the mobile phase, which reduces their retention on the stationary phase and intensifies the mobility of saponins. The usefulness of the proposed mobile phases for the separation and determination of oleanolic and glycyrrhizinic acids in vegetable pharmaceutical preparations and foodstuff by TLC was shown. The results obtained by proposed TLC method are in agreement with HPLC ones.

The retention and separation of four saponins in aqueous–alcoholic and aqueous–MMP containing cationic, anionic and nonionic micelles of surfactants and MMP modified with alcohols was studied by reversed-phase TLC on varying the concentration of surfactants and the nature and concentration of alcoholic modifiers of MMP. The optimal chromatographic system based on cetylpyridinium chloride micelles and butanol-1 was found. The proposed simple TLC procedure was used to determine oleanolic and glycyrrhizinic acids in vegetable pharmaceutical preparations and foodstuff.

Keywords: thin-layer chromatography, saponins, surfactants, micelles, alcohol.

Введение

Сапонины представляют собой природные высокомолекулярные биологически активные вещества (БАВ) растительного происхождения с широким диапазоном терапевтического действия, основанного на противовоспалительной, антиаллергической, антиканцерогенной, противовирусной активности, активно применяемые в фармацевтической, косметической, пищевой промышленности в качестве натуральных поверхностно-активных веществ [1]. В растениях сапонины находятся в виде разнообразных гликозидов, содержащих до 10 и более глюкозных остатков, которые могут образовывать несколько сахарных цепочек и присоединяться в различные положения к молекуле агликона [1-3].

Следует отметить, что в одном и том же биологическом материале могут присутствовать разные по составу смеси гликозидов сапонинов. Это определяет актуальность разработки способов их разделения и определения в каждом конкретном объекте и объясняет широкое применение хроматографических методов, позволяющих сочетать в одном цикле процессы разделения смесей сапонинов и определения их отдельных компонентов. Наиболее часто используют высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) [4-8] и её современные варианты – тандемную и ультра-ВЭЖХ-масс-спектрометрию [4, 9, 10].

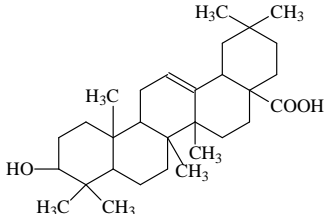
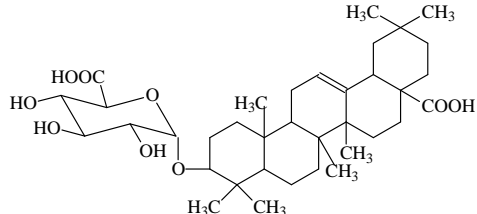
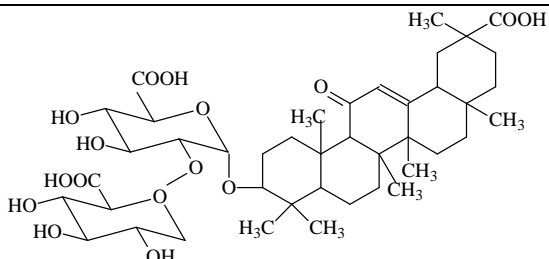
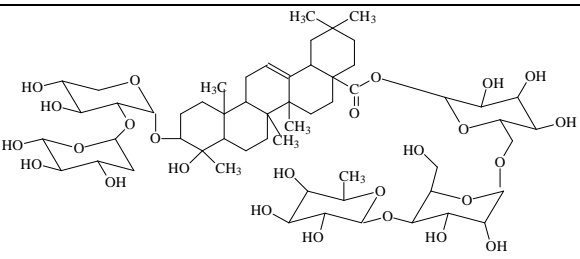
В меньшей степени распространена тонкослойная (ТСХ) хроматография с водно-органическими элюентами [11, 12], преимуществами которой являются простота анализа и достаточно высокая эффективность разделения веществ. Полностью отсутствуют сведения о возможности применения мицеллярных подвижных фаз (МПФ) для разделения и определения сапонинов методом ТСХ.

В связи с этим целью настоящей работы явилось выявление аналитических возможностей МПФ при разделении некоторых сапонинов методом ТСХ, сопоставление их с характеристиками ТСХ на основе водно-органических подвижных фаз (ПФ), а также применение МПФ для разделения и определения сапонинов в фармацевтических препаратах и пищевых продуктах. Преимущество МПФ состоит в хорошей биоразлагаемости образующих их поверхностно-активных веществ (ПАВ), отсутствии их токсичности, канцерогенности и резкого запаха в отличие от ПФ на основе органических растворителей [13].

Эксперимент

Объектами исследования служили тритерпеновые сапонины: олеаноловая кислота (Ол), сапонин (Сп), глицирризиновая кислота (Гл) и хедеракозид (Хд), структурные формулы которых представлены в табл. 1. Содержание основного вещества в коммерческих препаратах сапонинов (“Сигма”, “Флука”, США) составило более 95%. Стандартные растворы исследуемых сапонинов в этаноле с концентрацией 2.0 мг/мл готовили по точной навеске. Рабочие этанольные растворы получали разбавлением стандартных и хранили в холодильной камере при температуре $+(2-4)^{\circ}\text{C}$ не более 10 дней.

Таблица 1. Структурные формулы сапонинов

	
олеаноловая кислота	сапонин
	
глицирризиновая кислота	хедеракозид

Применяли метод обращенно-фазовой восходящей ТСХ на коммерческих пластинах RP-18 (неполярная неподвижная фаза (НФ), “Мерк”, Германия), Полиамид-6 (слабополярная НФ, “Мерк”, Германия) и Сорбфил (полярная НФ, АО “Сорбполимер”, Россия) с УФ-индикатором (254 нм) и ВЭЖХ на жидкостном хроматографе “Стайер” фирмы “Аквилон” (Россия) на колонке (150×4.6 мм) Luna C-18(2) 00F-4252-E0 (5 мкм) (Phenomenex, США), защищенной предколонкой Phenomenex C-18 (5 мкм). ВЭЖХ использовали только при анализе объектов. Детектирование и количественные измерения хроматограмм в ТСХ проводили на видеоденситометре Сорбфил (АО “Сорбполимер”, Россия) (при 254 нм) без предварительной обработки пластин химическими реагентами.

Водно-органические ПФ содержали пропанол-1, пропанол-2, бутанол-1, бутанол-2 (все квалификации х. ч.). МПФ содержали катионное ПАВ хлорид цетилпиридиния (ЦПХ), анионное ПАВ додецилсульфат натрия (ДДСН) (оба НПО “Синтез ПАВ”, Россия) или неионное ПАВ тритон X-100 (ТХ-100) (“Мерк”, Германия). Все препараты ПАВ содержали не менее 96% основного вещества, их исходные водные растворы имели концентрацию 0.1 М.

Для оценки удерживания, эффективности и селективности разделения исследуемых соединений в водно-органических и МПФ использовали подвижность хроматографических зон (R_f), число теоретических тарелок (N), высоту, эквивалентную теоретической тарелке (H), разрешение (R_s) и коэффициент

селективности (α). Пробоподготовку реальных объектов анализа проводили согласно [14].

Обсуждение результатов

Водно-органические подвижные фазы. Методом ТСХ предварительно изучено влияние природы неподвижной фазы на хроматографирование исследуемых сапонинов в водно-спиртовых ПФ. Установлено, что лучшей НФ является неполярная RP-18, позволяющая получать компактные и разделенные зоны сапонинов и которая использовалась далее. На пластинах Полиамид-6 и Сорбфил исследуемые вещества остаются на линии старта.

Изучение хроматографического поведения олеаноловой и глицирризиновой кислот на пластинах ТСХ в водно-спиртовых ПФ, содержащих пропанол-1, пропанол-2, бутанол-1, бутанол-2, показало, что независимо от природы спирта при увеличении его содержания в ПФ подвижность сорбатов растет (рис. 1), что соответствует литературным данным для подобных соединений [15-17], известным закономерностям обращенно-фазовой ТСХ и теории Хорвата [18]. Установлено, что R_f глицирризиновой кислоты начинает расти при концентрации органического растворителя в ПФ более 10 об. %, а олеаноловой – более 30 об. % бутанола и 15 об. % пропанола в ПФ (рис. 1). Такое поведение связано, по-видимому, с вытеснением сапонинов с поверхности НФ, вследствие преимущественной адсорбции на ней молекул локализующихся растворителей, а также образованием спиртами водородных связей с сапонидами в ПФ, усиливающими перенос сорбатов [18, 19]. Подтверждением этому служит также рост подвижности сапонинов на неполярной НФ с увеличением количества ОН-групп и гидрофильности в ряду Ол < Сп < Гл < Хд (R_f : 0.10 < 0.43 < 0.50 < 0.72) (при 60 об. % бутанола-1).

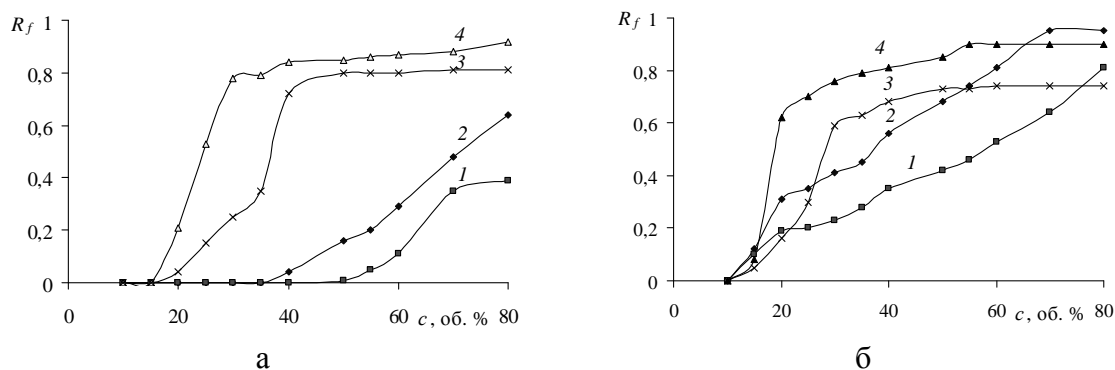


Рис. 1. Зависимость подвижности олеаноловой (а) и глицирризиновой (б) кислот на пластинах RP-18 от природы и концентрации бутанола-1 (1), бутанола-2 (2), пропанола-1 (3), пропанола-2 (4) в водно-органической ПФ ($c = 2.0$ мг/мл).

Анализ рис. 1 также показал, что при концентрации бутанола-1 и бутанола-2 более 20÷30 об. % подвижность сапонинов при значениях R_f 0.6-0.8 выходит на плато, а зоны сапонинов становятся наиболее компактными. Из всех исследованных растворителей наилучшие хроматографические параметры (N , H , R_s) получены для водно-пропанольной ПФ с соотношением компонентов (40:60).

Модифицированные мицеллярные подвижные фазы. Предварительное хроматографирование исследуемых сапонинов на RP-18 в водных МПФ показало, что независимо от природы и концентрации ПАВ в ПФ хроматографические зоны веществ остаются на линии старта. В связи с этим в соответствии с общими

рекомендациями [20-22] для улучшения хроматографических свойств исходных МПФ их *модифицировали* дополнительным введением в элюент органического растворителя. Оптимальным из исследуемых растворителей оказался бутанол-1, который вводили в концентрации 25 об. %. Следует заметить, что в отсутствие ПАВ при такой концентрации бутанола-1 R_f глицирризиновой кислоты была около 0,2, а олеаноловая оставалась на линии старта (рис. 1).

На примере олеаноловой и глицирризиновой кислот установлено, что в присутствии бутанола-1 в МПФ, содержащих ЦПХ, ДДСН и ТХ-100, подвижность хроматографических зон веществ увеличивалась тем сильнее, чем больше была концентрация ПАВ в модифицированной МПФ (рис. 2).

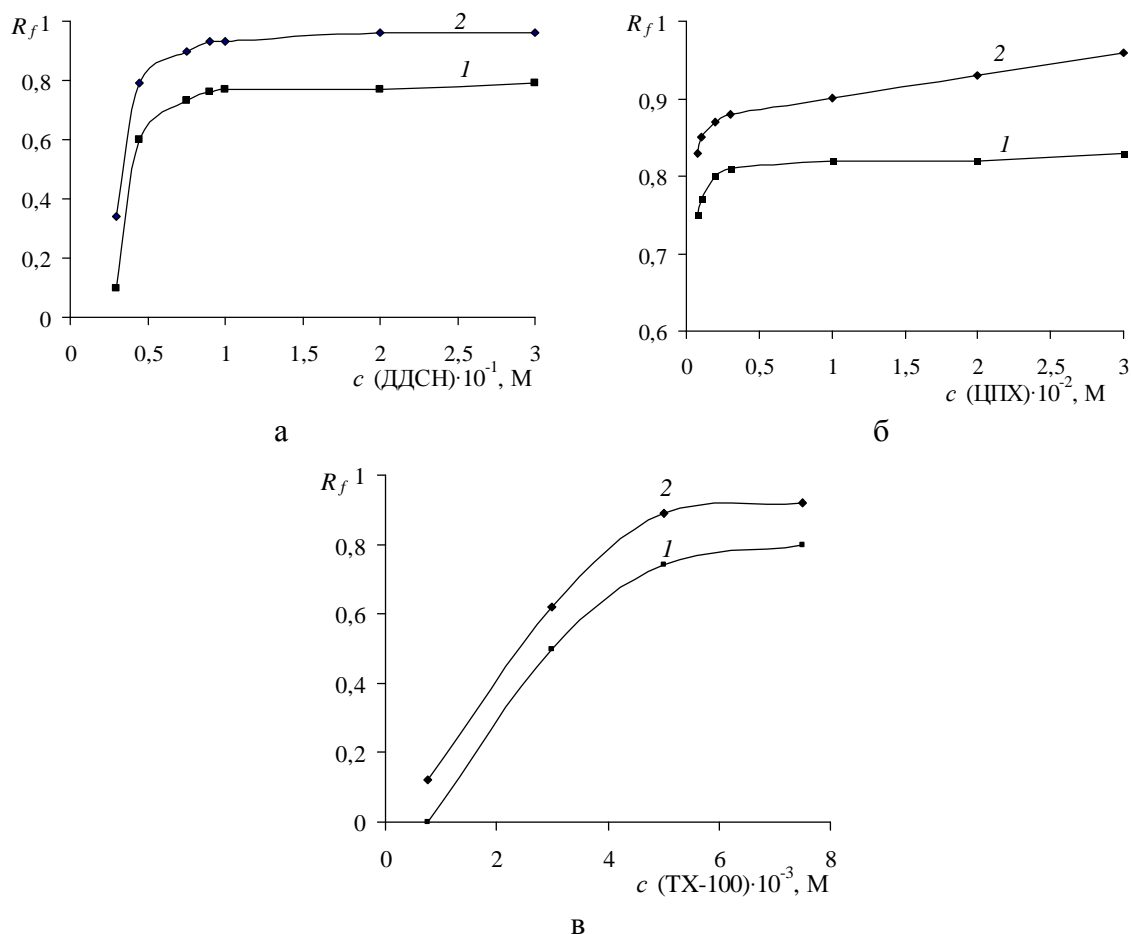


Рис. 2. Влияние концентрации ПАВ на подвижность сапонинов на пластинах RP-18 в ПФ (25:75) бутанол-1 – водный раствор ПАВ. ($c = 2.0$ мг/мл). а) ДДСН, б) ЦПХ, в) ТХ-100. 1 – олеаноловая кислота, 2 – глицирризиновая кислота.

Из рис. 2 также видно, что наиболее существенные изменения подвижности в области мицеллярных концентраций ПАВ наблюдались в ПФ, содержащих ЦПХ и ДДСН. Этот факт согласуется с известными литературными данными [23, 24] и результатами собственных исследований авторов [15, 25-27]. Наблюдаемые зависимости можно объяснить смещением вправо концентрационного равновесия $Мц + R \leftrightarrow Мц(R)$, где $Мц$ – мицелла, $Мц(R)$ – мицелла ПАВ с солюбилизированным сапонином, т.е. усилением солюбилизации веществ и вытеснением ПАВ и сапонинов с поверхности сорбента молекулами спирта.

Установлено, что основным результатом применения модифицированных органическим растворителем МПФ является образование сапонидами значительно

более компактных и разрешенных зон по сравнению с водно-органическими ПФ (табл. 2).

Таблица 2. Параметры разделения сорбатов методом ТСХ на неполярной НФ в ПФ (25:75) бутанол-1 – вода (А) и модифицированной МПФ (25:75) бутанол-1 – водный раствор $2.0 \cdot 10^{-1}$ М ЦПХ (В) ($n = 3, P = 0.95$)

ПФ	Соединение	$N \cdot 10^{-3}$	H , мм	ΔR_f	R_s	b
А	Олеаноловая кислота	0.78	0.13	0.10	1.8	0.14
	Глицирризиновая кислота	0.44	0.23			
В	Олеаноловая кислота	0.83	0.03	0.15	272	0.16
	Глицирризиновая кислота	21	0.003			

Наибольшую компактность и четкость хроматографические зоны сапонинов имеют в ПФ на основе ЦПХ при концентрации $2.0 \cdot 10^{-2}$ М. Результаты расчетов эффективности и селективности разделения смеси сапонинов (табл. 2) показывают, что значения N в растворе, содержащем ЦПХ, составляют для Ол – $0.83 \cdot 10^3$, Гл – $21 \cdot 10^3$, что в ~ 1.5 и ~ 47 раз, соответственно, превышает значения N в водно-бутанольной ПФ. Значение ΔR_f в модифицированной МПФ составляет ~ 0.18 , а в бутанольной ~ 0.2 , при этом олеаноловая кислота находится на линии старта.

Следует отметить, что порядок элюирования сапонинов на RP-18 в модифицированной растворителем МПФ по сравнению с водно-органической остается неизменным: чем гидрофобнее сорбат, тем сильнее он удерживается неполярной неподвижной фазой, что соответствует изменению их гидрофобности в системе n -октанол – вода (табл. 3).

Таблица 3. Подвижности (R_f) сапонинов в ТСХ на неполярной неподвижной фазе RP-18 в ПФ (25:75) бутанол-1 – вода (I) и модифицированной МПФ (25:75) бутанол-1 – $2.0 \cdot 10^{-1}$ М водный раствор ЦПХ (II) ($n = 3, P = 0.95$)

Соединение	$\lg P^*$	R_f (I)	R_f (II)
Олеаноловая кислота	7.8	0	0.80
Сапонин	6.2	0.1	0.91
Глицирризиновая кислота	4.8	0.18	0.94
Хедеракозид	1.3	0.12	0.98

* Расчёт индекса липофильности $\lg P$ проводился по атомно-связево-аддитивной схеме

Установленный факт согласуется с поведением сорбатов в МПФ на полярных сорбентах [25, 28], что, возможно, связано с динамической модификацией (гидрофобизацией) полярной неподвижной фазы ионами ПАВ [28]. В данном случае полярность неподвижной фазы RP-18 не меняется и гидрофобные взаимодействия, играющие основную роль в сорбции, сохраняются. В целом это согласуется с представлениями теории мицеллярной жидкостной хроматографии [20-22, 29].

Согласно данным авторов [24, 30], селективность разделения веществ в МПФ зависит от специфики их распределения между неподвижной фазой и водой (K_{SW}), НФ и мицеллами (K_{SM}), а также распределения внутри самой ПФ, т.е. в системе вода – мицелла (K_{MW}). Количественная оценка распределения в такой трехфазной системе позволяет выявить процесс, оказывающий основное влияние на разделение в мицеллярной жидкостной хроматографии. Результаты проведенного расчета для ТСХ, согласно [24, 30], даны в табл. 4. Сравнение коэффициентов распределения показывает, что в исследуемых мицеллярных ПФ процесс переноса сорбатов в мицеллы ПАВ в ПФ преобладает над их сорбцией на НФ, а значения коэффициентов распределения в МПФ зависят от гидрофобности сорбата: на пластинках RP-18 с увеличением числа гликозидных остатков в молекуле сапонинов (от олеаноловой кислоты к хедеракозиду) значения K_{MW} увеличиваются. Также увеличиваются и энергии переноса сапонинов из воды в мицеллу ПАВ.

Таблица 4. Коэффициенты распределения K_{MW} , K_{SW} , энергии переноса $\Delta G_{\text{пер}}$ сорбатов из воды в мицеллы ЦПХ и энергии адсорбции $\Delta G_{\text{адс}}$ реагентов на неполярной НФ, полученные методом ТСХ ($n = 3$, $P = 0.95$)

Соединение	K_{MW}	$-\Delta G_{\text{пер}}$, кДж/моль	K_{SW}	$-\Delta G_{\text{адс}}$, кДж/моль	K_{SM}
Олеаноловая кислота	5.9	4.4	0.23	3.6	0.04
Сапонин	16	5.7	0.19	3.9	0.011
Глицирризиновая кислота	49	9.6	0.12	4.8	0.002
Хедеракозид	83	12	0.07	5.3	0.001

Практическое применение мицеллярной ТСХ для определения сапонинов в объектах. С применением модифицированных бутанолом-1 МПФ разработаны методики определения олеаноловой и глицирризиновой кислот в лекарственных препаратах растительного происхождения и пищевых продуктах. Установлено, что величины подвижности олеаноловой и глицирризиновой кислот в индивидуальных препаратах, искусственной смеси и объектах совпадают, что способствует надежной идентификации и количественному определению обоих сапонинов (рис. 3). Согласно данным табл. 5 применение МПФ улучшило метрологические характеристики) определения сапонинов методами ТСХ и ВЭЖХ по сравнению с водно-органической ПФ.

Таблица 5. Характеристики градуировочных графиков определения олеаноловой и глицирризиновой кислот методами ТСХ и ВЭЖХ ($n = 3$, $P = 0.95$)

ПФ	Метод	Соединение	Уравнение	R^2	Линейный диапазон, мг/мл
Водно-органическая	ТСХ	Ол	$y = 9.0 \cdot 10^4 + 7.1 \cdot 10^4 x$	0.91	0.5 – 3.0
		Гл	$y = 8.6 \cdot 10^3 + 4.5 \cdot 10^3 x$	0.94	0.5 – 3.0
	ВЭЖХ	Ол	$y = 5.9 \cdot 10^3 + 1.4 \cdot 10^4 x$	0.948	$(0.1-0.6) \cdot 10^{-3}$
		Гл	$y = 5.6 \cdot 10^3 + 7.6 \cdot 10^3 x$	0.963	$(0.1-0.6) \cdot 10^{-3}$
Мицеллярная	ТСХ	Ол	$y = 1.3 \cdot 10^4 + 1.0 \cdot 10^4 x$	0.96	0.5 – 3.0
		Гл	$y = 3.6 \cdot 10^4 + 8.2 \cdot 10^3 x$	0.99	0.5 – 3.0
	ВЭЖХ	Ол	$y = 1.0 \cdot 10^4 + 4.8 \cdot 10^4 x$	0.993	$(0.1-0.6) \cdot 10^{-3}$
		Гл	$y = 6.3 \cdot 10^3 + 3.1 \cdot 10^4 x$	0.982	$(0.1-0.6) \cdot 10^{-3}$

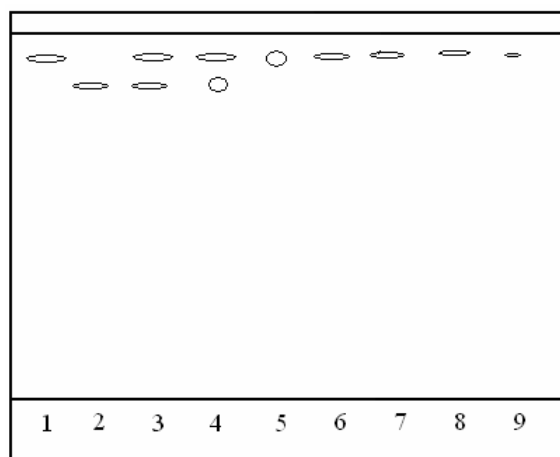


Рис. 3. Хроматограмма экстрактов исследуемых объектов и свидетелей на пластинах RP-18 с ПФ (25:75) бутанол-1 – водный раствор $2.0 \cdot 10^{-2}$ М ЦПХ. 1 – Гц, 2 – Ол, 3 – смесь Гл и Ол (1:1), 4 – настойка корней солодки, 5 – экстракт корней солодки, 6 – экстракт свеклы столовой, 7 – экстракт сливы, 8 – экстракт баклажана, 9 – экстракт картофеля.

Из табл. 6 видно, что оба метода дают полностью сопоставимые результаты. На основании проведенных исследований установлено, что в этанольных растворах всех исследуемых образцов в разных количествах содержится глицирризиновая кислота и лишь в настойке корней солодки еще и олеаноловая кислота. Правильность идентификации исследуемых веществ подтверждена использованием свидетелей. Правильность количественного определения подтверждена методом “введено-найдено”. В методе ТСХ значения s_r не превышали 0.12, в ВЭЖХ – 0.009.

Таблица 6. Результаты определения олеаноловой и глицирризиновой кислот в объектах методами мицеллярной ТСХ и ВЭЖХ в ПФ бутанол-1 – водный раствор $2.0 \cdot 10^{-2}$ М ЦПХ (25:75). ($n=3$, $P=0.95$)

Объект	Метод	Ол		Гл	
		$x_{cp} \pm \Delta x$, мг/г	s_r	$x_{cp} \pm \Delta x$, мг/г	s_r
Корни солодки	ТСХ	-	-	2.4 ± 0.2	0.06
	ВЭЖХ	-	-	-	-
Настойка корней солодки	ТСХ	0.7 ± 0.2	0.08	2.3 ± 0.2	0.08
	ВЭЖХ	-	-	-	-
Свекла столовая	ТСХ	-	-	3.1 ± 0.3	0.12
	ВЭЖХ	-	-	-	-
Слива	ТСХ	-	-	1.3 ± 0.2	0.08
	ВЭЖХ	-	-	1.33 ± 0.08	0.005
Баклажан	ТСХ	-	-	0.9 ± 0.3	0.11
	ВЭЖХ	-	-	0.92 ± 0.09	0.008
Картофель	ТСХ	-	-	0.6 ± 0.2	0.09
	ВЭЖХ	-	-	0.64 ± 0.08	0.009

Заключение

Сравнение удерживания и разделения четырех сапонинов олеаноловой кислоты, сапонины, глицирризиновой кислоты и хедеракозида в водно-спиртовых, водно-мицеллярных и модифицированных спиртами водно-мицеллярных подвижных фазах при варьировании концентрации ПАВ, природы и концентрации спирта показало, что наилучшие условия разделения возможны на пластинках RP-18 и в модифицированных МПФ. Результаты изучения позволили разработать методики определения олеаноловой и глицирризиновой кислот в некоторых растительных фармацевтических препаратах и пищевых продуктах.

*Работа выполнена при поддержке РФФИ, проект № 12-03-00450а
и в рамках проектной части госзадания Минобрнауки, № 4.1212.2014/К.*

Список литературы

1. Химический анализ растений / Под ред. Н.И. Гринкевич, Л.Н. Сафронич. М.: Высшая школа, 1983. 176 с.
2. Максютин Н.П., Комиссаренко Н.Ф., Прокопенко А.П. и др. Растительные лекарственные средства. Киев.: Здоровье, 1985. 280 с.
3. Муравьева Д.А., Самылина И.А., Яковлев Г.П. Фармакогнозия, М.: Медицина, 2002. 656 с.
4. Avula B., Wang Y-H., Rumulla Ch. S. et al. Analytical methods for determination of magnoflorine and saponins from roots of *Caulophyllum thalictroides* (L.) Michx. Using UPLC, HPLC and HPTLC // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2011. V. 56. pp. 895-903.
5. Ganzera M., Gampfrieder J., Pawar R.S. et al. Separation of the major triterpenoids saponins in *Vaccaria monnieri* by high-performance liquid chromatography // *Anal. Chim. Acta.* 2004. V. 516. pp. 149-154.
6. Тихомирова К.С., Борисенко Р.Н., Ветрова Е.В. и др. Экстракция глицирризиновой кислоты из корня солодки в среде субкритической воды // *Сверхкритические флюиды: теория и практика.* 2008. Т. 3. № 3. С. 71-74.
7. Oleszek W., Bialy Z. Chromatographic determination of plant saponins – An update (2002-2005) // *J. Chromatogr. A.* 2006. V. 1112. pp. 78-91.
8. Гаврилин М.В., Сенченко С.П., Тамирян А.М., Печенова А.В. Совершенствование способов оценки качества корней и сиропа солодки // *Химия растит. сырья.* 2009. № 4. С. 147-150.
9. Wang Y., Xu R., Xiao J. et al. Quantitative analysis of flavonoids, alkaloids and saponins of *Banxia Xiexin* decoction using ultra-high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass-spectrometry // *J. Pharm. Biomed. Anal.* 2014. V. 88. pp. 525-535.
10. Ставрианиди А.Н., Родин И.А., Браун А.В. и др. Определение биомаркеров *R. Quinquefolius* в растительных материалах и коммерческих продуктах комбинированным методом высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии // *Масс-спектрометрия.* 2014. Т. 11. № 1. С. 45-52.
11. Мироненко Н.В., Брежнева Т.А., Селеменев В.Ф. Определение тритерпеновых сапонинов - производных олеаноловой кислоты методом тонкослойной хроматографии // *Заводск. лаб. Диагностика матер.* 2011. Т. 77. № 3. С. 22-25.
12. Егоров М.В., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Быков В.А. Качественный и количественный анализ сырья и препаратов солодки // *Вестн. Воронеж. гос. ун-та. Серия: Химия. Биология. Фармация.* 2005. № 1. С. 175-180.
13. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Тонкослойная хроматография. Теоретические основы и практическое применение. Саратов: Изд-во Саратов. ун-та, 2006. 112 с.
14. Фогт В.П., Степанов А.С., Степанова Т.А. Использование методов ВЭЖХ и ВЭТСХ в разработке экстракта противодиабетического // *Химия растит. сырья.* 2008. № 4. С. 75-77.
15. Сумина Е.Г., Угланова В.З., Сорокина О.Н., Афонина Д.О. Определение степени чистоты препаратов кортикостероидных

- гормонов методом тонкослойной хроматографии в подвижных фазах на основе циклодекстринов и ПАВ // Изв. Саратов. ун-та. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2011. Т. 11. № 2. С. 48-54.
16. Ёршик В.М., Жебентяев А.И. Исследование хроматографического поведения лекарственных веществ антиаритмического действия методом ТСХ // Вестник фармации. 2006. № 2-32. С. 34-41.
17. Сумина Е.Г., Атаян В.З., Штыков С.Н. Применение циклодекстриновых подвижных фаз в тонкослойной хроматографии органических реагентов ксантеновых и хинолиновых рядов // Сорбционные и хроматографические процессы. 2008. Т. 8. № 1. С. 83-93.
18. Шатц В.Д., Сахартова О.В. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Рига: Зинатне, 1988. 390 с.
19. Киселев А.В. Межмолекулярные взаимодействия в адсорбции и хроматографии. М.: Высшая школа, 1986. 360 с.
20. Berthod A., Garcia-Alvarez-Coque M.C. *Micellar Liquid Chromatography*. Dekker. 2000. 632 p.
21. Басова Е.М., Иванов В.М., Шпигун О.А. Мицеллярная жидкостная хроматография // Усп. химии. 1999. Т.68. № 12. С.1083-1101.
22. Куликов А.Ю., Логинова Л.П., Самохина Л.В. Мицеллярная жидкостная хроматография в фармацевтическом анализе // Фармаком. 2004. Т. 4. № 1. С. 22-52.
23. Armstrong D.W., Terril R.Q. Thin Layer Chromatography separation of Pesticides, Decachlorobiphenyl and Nucleosides with Micellar Solution // *Anal. Chem.* 1979. V. 51. № 13. pp. 2160-2164.
24. Armstrong D.W., Stine G.Y. Evaluation of partition coefficients to micelles and cyclodextrins via planar chromatography // *J. Amer. Chem. Soc.* 1983. V. 105. № 10. pp. 2962-2964.
25. Shtykov S.N., Sumina E.G., Smushkina E.V., Tyurina N.V. Thin layer chromatography of fluoresceine derivatives on direct and reversed stationary phases with aqueous micellar solutions // *J. Planar. Chromatogr. – Modern TLC.* 1999. V. 12. No 2. pp. 129-134.
26. Shtykov S.N., Sumina E.G., Tyurina N.V. Micellar mobile phases in TLC separation of some transition metal ions and their 1,3-diketonates // *J. Planar. Chromatogr. – Modern TLC.* 2000. V. 13. No 4. pp. 264-268.
27. Штыков С.Н., Сумина Е.Г., Паршина Е.В., Лопухова С.С. Применение мицеллярных подвижных фаз для разделения производных флуоресцеина методом ТСХ // *Журн. аналит. химии.* 1995. Т. 50. № 7. С. 747-751.
28. Shtykov S.N., Sumina E.G., Smushkina E.V., Tyurina N.V. Dynamic and static modification of the stationary phases with surfactants in TLC: a comparative study // *J. Planar Chromatogr. – Modern TLC.* 2000. V. 13. No 3. pp. 182.
29. Сумина Е.Г., Штыков С.Н., Тюрина Н.В. Поверхностно-активные вещества в тонкослойной хроматографии // *Журн. аналит. химии.* 2003. Т. 58. № 8. С. 808-818.
30. Armstrong D.W., Nome F. Partitioning behavior of solutes eluted with micellar mobile phases in liquid chromatography // *Anal. Chem.* 1981. V. 53. No 14. pp. 1662-1666.

References

1. Himicheskiy analiz rastenij [Chemical analysis of plants, Pod red. N.I. Grinkevich, L.N., Safronich. M.: Vysshaja shkola, 1983, 176 p.
2. Maksjutina N.P., Komissarenko N.F., Prokopenko A.P. et al. *Rastitel'nye lekarstvennye sredstva [Herbal remedies]*, Kiev: Zdorov'e, 1985, 280 p.
3. Murav'eva D.A., Samylina I.A., Jakovlev G.P. *Farmakognozija [Pharmacog-nosy]*, M.: Medicina, 2002, 656 p.
4. Avula B., Wang Y-H., Rumulla Ch. S. et al. Analytical methods for determination of magnoflorine and saponins from roots of *Caulophyllum thalictroides (L.) Michx.* using UPLC, HPLC and HPTLC, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2011, V. 56, pp. 895-903.
5. Ganzera M., Gampenrieder J., Pawar R.S. et al. Separation of the major triterpenoids saponins in *Bacopa monnieri* by high-performance liquid chromatography, *Anal. Chim. Acta*, 2004, V. 516, pp. 149-154.
6. Tihomirova K.S., Borisenko R.N., Vetrova E.V. et al. Jekstrakcija glicirrizinovej kisloty iz kornja solodki v srede subkriticheskoj vody [Extraction of glycyrrhizic acid from a glycyrrhiza root in the environment of

subcritical water], *Sverhkriticheskie fljuidy: teorija i praktika*, 2008, V. 3, No. 3, pp. 71-74.

7. Oleszek W., Bialy Z. Chromatographic determination of plant saponins – An update (2002-2005), *J. Chromatogr. A*, 2006, V. 1112, pp. 78-91.

8. Gavrilin M.V., Senchenko S.P., Tamirjan A.M., Pechenova A.V. Sover-shenstvovanie sposobov otcenki kachestva kornej i siropa solodki [Improvement of ways of an assessment of quality of roots and syrup of a glycyrrhiza], *Himija rastit. syr'ja*, 2009, No. 4, pp. 147-150.

9. Wang Y., Xu R., Xiao J. et al. Quantitative analysis of flavonoids, alkaloids and saponins of *Banxia Xiexin* decoction using ultra-high performance liquid chromatography coupled with electrospray ionization tandem mass-spectrometry, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 2014, V. 88, pp. 525-535.

10. Stavrianidi A.N., Rodin I.A., Braun A.V. et al. Opredelenie biomarkerov *P. Quinquefolius* v rastitel'nyh materialah i kommercheskih produktah kombiniro-vannym metodom vysokojeffektivnoj zhid-kostnoj khromatografii i tandemnoj mass-spektrometrii [Determination of biomarkers of *P. Quinquefolius* in plant materials and commercial products by the combined method of a high performance liquid chromatography and tandem mass spectrometry], *Mass-spektrometrija*, 2014, V. 11, No. 1, pp. 45-52.

11. Mironenko N.V., Brezhneva T.A., Selemenev V.F. Opredelenie triterpenovyh saponinov - proizvodnyh oleanolovoj kisloty metodom tonkoslojnoj hromatografii [TLC Determination of Triterpene Saponins – the Derivatives of Oleanolic Acid], *Zavodsk. lab. Diagnostika mater.*, 2011, V. 77, No. 3, pp. 22-25.

12. Egorov M.V., Kurkin V.A., Zapesochaja G.G., Bykov V.A. Kachestvennyj i kolichestvennyj analiz syr'ja i preparatov solodki [The qualitative and quantitative analysis of glycyrrhiza drugs and preparations], *Vestn. Voronezh. gos. un-ta. Serija: Himija. Biologija. Farmacija*, 2005, No. 1, pp. 175-180.

13. Sumina E.G., Shtykov S.N., Tyurina N.V. Tonkoslojnaja hromatografija. Teoreticheskie osnovy i prakticheskoe primenenie [Thin layer chromatography. Theoretical bases and practical application], *Saratov: Izd-vo Sarat. un-ta*, 2006, 112 p.

14. Fogt V.P., Stepanov A.S., Stepanova T.A. Ispolzovanie metodov VJeTSH i VJeZhH v

razrabotke jekstrakta protivodiabeticheskogo [Use of methods HPTLC and HPLC in development of antidiabetic extract], *Himija rast. syr'ja*, 2008, No. 4, pp. 75-77.

15. Sumina E.G., Uglanova V.Z., Sorokina O.N., Afonina D.O. Opredelenie stepeni chistoty preparatov kortikoste-roidnyh gormonov metodom tonkoslojnoj khromatografii v podvizhnyh fazah na osno-ve ciklodekstrinov i PAV [Determination the Degree of Purity of Corticosteroid Hormones Preparations by Thin-Layer Chromatography with Mobile Phases on the Basis of Cyclodextrins and Surfactants], *Izv. Sarat. un-ta. novaja serija. Serija: Himija. Biologija. Jekologija*, 2011, V. 2, No. 2, pp. 48-54.

16. Jorshik V.M., Zhebentjaev A.I. Issledovanie hromatograficheskogo povedenija lekarstvennyh veshhestv antiaritmicheskogo dejstvija metodom TSH [Investigation of chromatographic behavior of medicinal substances of antiarrhythmic action by TLC method], *Vestnik farmacii*, 2006, No. 2-32, pp. 34-41.

17. Sumina E.G., Atajan V.Z., Shtykov S.N. Primenenie ciklodekstrinovyh podvizhnyh faz v tonkoslojnoj hromatografii organicheskikh reagentov ksantenovyh i hinolinovyh rjadov [Application of cyclodextrin mobile phases in thin layer chromatography of organic reagents of xantene and quinoline series], *Sorbtsionnye i khromatograficheskie protsessy*, 2008, V. 8, No. 1, pp. 83-93.

18. Shatc V.D., Sahartova O.V. Vysokojeffektivnaja zhidkostnaja khromatografija [High performance liquid chromatography], *Riga: Zinatne*, 1988, 390 p.

19. Kiselev A.V. Mezhmolekuljarnye vzaimodejstviya v adsorbicii i hromatografii [Intermolecular Interactions in Adsorption and Chromatography], *M.: Vysshaja shkola*, 1986, 360 p.

20. Berthod A., Garcia-Alvarez-Coque M.C. *Micellar Liquid Chromatography*, Dekker, 2000, 632 p.

21. Basova E.M., Ivanov V.M., Shpigun O.A. Micelljarnaja zhidkostnaja hromatografija [Micellar liquid chromatography], *Usp. khimii*, 1999, V. 68, No. 12, pp. 1083-1101.

22. Kulikov A.Yu., Loginova L.P., Samohina L.V. Micelljarnaja zhidkostnaja hromatografija v farmacevticheskom analize [Micellar liquid chromatography in pharmaceutical analysis], *Farmakom*, 2004, V. 4, No. 1, pp. 22-52.

23. Armstrong D.W., Terril R.Q. Thin Layer Chromatography Separation of Pesticides, Decachlorobiphenyl and Nucleo-sides with Micellar Solution, *Anal. Chem.*, 1979, V. 51, No. 13, pp. 2160-2164.
24. Armstrong D.W., Stine G.Y. Evaluation of partition coefficients to micelles and cyclodextrins via planar chromatography, *J. Amer. Chem. Soc.*, 1983, V. 105, No. 10, pp. 2962-2964.
25. Shtykov S.N., Sumina E.G., Smushkina E.V., Tyurina N.V. Thin layer chromatography of fluoresceine derivatives on direct and reversed stationary phases with aqueous micellar solutions, *J. Planar Chromatogr. - Modern TLC*, 1999, V. 12, No. 2, pp. 129-134.
26. Shtykov S.N., Sumina E.G., Tyurina N.V. Micellar mobile phases in TLC separation of some transition metal ions and their 1,3-diketonates, *J. Planar Chromatogr. - Modern TLC*, 2000, V. 13, No. 4, pp. 264-268.
27. Shtykov S.N., Sumina E.G., Parshina E.V., Lopukhova S.S. Primenenie micelljarnyh podvizhnyh faz dlja razdelenija proizvodnyh fluoresceina metodom TSH [Use of Micellar Mobile Phases for Separating Fluorescein Derivatives by Means of Thin Layer Chromatography], *Zhurn. analit. khimii*, 1995, V. 50, No. 7, pp. 747-751.
28. Shtykov S.N., Sumina E.G., Smushkina E.V., Tyurina N.V. Dynamic and Static Modification of Stationary Phases with Surfactants in TLC: a Comparative Study, *J. Planar Chromatogr. - Modern TLC*, 2000, V. 13, No. 3, pp. 182-186.
29. Sumina E.G., Shtykov S.N., Tyurina N.V. Poverhnostno-aktivnye veshhestva v tonkoslojnoj hromatografii [Surfactants in Thin-Layer Chromatography], *Zhurn. analit. Himii*, 2003, V. 58, No. 8, pp. 808-818.
30. Armstrong D.W., Nome F. Partitioning behavior of solutes eluted with micellar mobile phases in liquid chromatography, *Anal. Chem.*, 1981, V. 53, No. 14, pp. 1662-1666.

Сумина Елена Германовна – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, Саратов

Штыков Сергей Николаевич – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, Саратов

Панкратов Алексей Николаевич – д.х.н., профессор кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, Саратов

Угланова Варсения Загидовна – к.х.н., доцент кафедры нефтехимии и техносферной безопасности Института химии Саратовского государственного университета им. Н.Г. Чернышевского, Саратов

Цымбал Олег Александрович – аспирант кафедры аналитической химии и химической экологии Саратовского государственного университета имени Н.Г. Чернышевского, Саратов

Данчук Александра Ильинична – студентка Института химии Саратовского государственного технического университета, Саратов

Sumina Elena G. – Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov, Saratov, E-mail: SuminaEG@yandex.ru

Shtykov Sergei N. - Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov

Pankratov Aleksei N. – Dr. Sci. (Chemistry), Professor, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov

Uglanova Varseniya Z. – associate professor, Chair of oil chemistry and technospherical safety, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov

Tsybal Oleg A. – graduate student, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov

Danchuk Alexandra I. – student, Division of Analytical Chemistry and Chemical Ecology, N.G. Chernyshevskii Saratov State University, Saratov