

УДК 615.19.072

## ОПРЕДЕЛЕНИЯ ПРОСТЫХ САХАРОВ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ (НА ПРИМЕРЕ ПЛОДОВ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ И ЛИСТЬЕВ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ)\*

© *О.В. Тринева\*\**, *А.И. Сливкин*

*Воронежский государственный университет, ул. Студенческая, 3,  
Воронеж, 394006 (Россия), e-mail: trineevaov@mail.ru*

Анализ литературы за последние 20 лет показал, что при контроле качества лекарственных средств, содержащих моносахариды, а также при исследовании состава простых сахаров в полисахаридных комплексах лекарственных растений, биологически активных добавок, изделиях пищевой и косметического назначения и не только, предпочтение отдается физико-химическим методам как наиболее экспрессным, чувствительным и информативным. Способов, позволяющих идентифицировать и количественно определить одновременно различные моносахариды методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ), в научной литературе не обнаружено. Разработана экономичная и экспрессная методика идентификации и количественного определения простых восстанавливающих сахаров (на примере глюкозы, рамнозы и ксилозы) методом ВЭТСХ. Экспериментально подобраны и теоретически обоснованы оптимальные условия их хроматографирования в тонком слое сорбента с количественной интерпретацией данных ВЭТСХ на персональном компьютере. При детальном изучении влияния полярности системы на величину  $R_f$  были выбраны интервалы значений полярности элюента, в котором данные зависимости становятся линейными. С помощью предложенных зависимостей можно подобрать различные системы для разделения моносахаридов в тонком слое сорбента таким образом, чтобы величина  $R_f$  укладывалась в оптимальные значения. Предлагаемый способ был апробирован на лекарственном растительном сырье крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной различных способов консервации. На хроматограммах извлечений из исследуемого сырья обнаружены зоны простых сахаров характерной окраски, среди которых идентифицированы глюкоза, ксилоза и рамноза по характерному значению величин  $R_f$  в сравнении с достоверными стандартными образцами. Методика может быть использована в контроле качества субстанций, монокомпонентных и комплексных препаратов, растительных объектов, биологически активных добавок, премиксов и изделий пищевой промышленности.

*Ключевые слова:* облепиха крушиновидная, крапива двудомная, простые восстанавливающие сахара, моносахариды, глюкоза, рамноза, ксилоза, количественное определение, высокоэффективная тонкослойная хроматография.

### **Введение**

Анализ литературы за последние 20 лет показал, что при контроле качества лекарственных средств, содержащих моносахариды, а также при исследовании состава простых сахаров в полисахаридных комплексах лекарственных растений, биологически активных добавок, изделиях пищевой и косметического назначения и не только, предпочтение отдается физико-химическим методам как наиболее экспрессным, чувствительным и информативным [1–7]. Многие из известных способов позволяют определять только суммарное содержание сахаров, без достоверной информации о присутствии отдельных компонентов. Более объективный

*Тринева Ольга Валерьевна* – доктор фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической химии и фармацевтической технологии, e-mail: trineevaov@mail.ru

*Сливкин Алексей Иванович* – доктор фармацевтических наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии и фармацевтической технологии, e-mail: slivkin@pharmvsu.ru

качественный и количественный анализ позволяют получить хроматографические методы, из которых наибольшее распространение получила высокоэффективная жидкостная хроматография [2] и газовая хроматография с масс-детектированием (ГХ/МС). ГХ/МС – наиболее быстрый и точный ме-

\* Данная статья имеет электронный дополнительный материал (приложение), который доступен читателям на сайте журнала. DOI: 10.14258/jcprm.2020015122s

\*\* Автор, с которым следует вести переписку.

тод анализа различных групп биологически активных веществ (БАВ), в том числе и класса углеводов. Однако следует отметить, что высокая стоимость оборудования и нехватка высококвалифицированных кадров существенно ограничивает повсеместное внедрение и практическое использование метода. Значительное число научных публикаций посвящено исследованию состава как свободных, так и связанных простых сахаров в полисахаридных комплексах растительных объектов методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) [2, 7–9].

Способов, позволяющих идентифицировать и количественно определить одновременно различные моносахариды методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ), в научной литературе не обнаружено. Следовательно, актуальной является разработка способа разделения и количественного определения данных БАВ, в том числе в лекарственном растительном сырье (ЛРС) и лекарственных растительных препаратах (ЛРП) методом хроматографии в тонком слое сорбента.

Цель настоящей работы – разработка методики идентификации и количественного определения восстанавливающих моносахаридов в ЛРС и ЛРП методом ВЭТСХ.

### **Экспериментальная часть**

На первом этапе работы были экспериментально выбраны и теоретически обоснованы оптимальные условия хроматографирования исследуемых БАВ методом ВЭТСХ. В качестве стандартных образцов для разработки методики использовали такие представители восстанавливающих гексоз и пентоз, наиболее распространенных в растительных объектах, как глюкоза, ксилоза и рамноза. В работе использовали 1.0% водные растворы исследуемых сахаров (ЗАО Вектон, СПб., Россия, степень чистоты не менее 99%), которые наносили на стартовую линию хроматографических пластин марок «Sorbfil» ПТСХ-АФ-А высокоэффективные размером 10×10 см (тип сорбента: силикагель СТХ-1А; зернение: 5–17 мкм; толщина слоя: 90–120 мкм; связующее: силиказоль). В работе использовали растворители марки х.ч. (ЗАО «Вектон», СПб., Россия).

Статистическую обработку результатов проводили по ОФС.1.1.0013.15 ГФ XIII изд. «Статистическая обработка результатов химического эксперимента». Градуировочные графики строились по методу наименьших квадратов.

### **Обсуждение результатов**

Основными факторами при выборе проявителя являются специфичность, чувствительность, доступность и высокое качество получаемой картины. В качестве реагентов для обнаружения зон моносахаридов были использованы реагенты, приведенные в таблице 1. При разработке методики предложен новый состав детектирующего реагента для идентификации зон моносахаридов на хроматограммах (0.86 г сульфаниламида и 0.83 г *o*-фталевой кислоты в 50 мл 95% этилового спирта), который является менее токсичным по составу по сравнению с известным анилинфталатным реактивом, пары которого ядовиты [10]. Замена в составе анилина на сульфаниламид и бутанола на этанол приводит к снижению токсичности реагента, не нарушая химизма, лежащего в основе детектирования сахаров (образование окрашенных оснований Шиффа). Следует отметить, что данный проявитель разработан и запатентован авторами [10]. Пределы обнаружения моносахаридов с использованием предложенного проявителя приведены в таблице 2.

В эксперименте было изучено более двадцати типов элюирующих систем с различными значениями полярности ( $P$ ) (табл. 3), как предложенные в литературе, так и новые элюенты. Известно, что выбор элюента при разработке методики должен основываться на таких параметрах, как достижение оптимальной величины  $R_f$ , округлой формы зоны (что соответствует линейной изотерме сорбции), высоких значений эффективности хроматографирования (высота и число эквивалентных теоретических тарелок), а также получение картины с удовлетворительными параметрами разделения зон на хроматограммах (коэффициенты распределения и селективности сорбции) [11–14]. Данные таблицы 3 показывают, что оптимальные величины  $R_f$  [9] для всех изучаемых стандартных образцов достигнуты в системах № 2, 3, 5–9, 14–15, 17–19, 21 и 23–25 (номера указаны по порядку расположения в таблице сверху вниз) со значениями полярности (по Л. Снайдеру) [12] в диапазоне от 4.42 до 5.69 ед. (рис. 1).

При детальном изучении влияния полярности системы на величину  $R_f$  были выбраны интервалы значений  $P$  элюента, в котором данные зависимости становятся линейными (табл. 4, рис. 2). Параметры линейных зависимостей (коэффициенты корреляции, уравнения прямых и диапазоны линейности) приведены в таблице 4. С помощью предложенных зависимостей можно подбирать различные системы для разделения моносахаридов в тонком слое сорбента таким образом, чтобы величина  $R_f$  укладывалась в оптимальные значения [9]. Интервалы полярностей элюента представлены в таблице 4.

Таблица 1. Детектирующие реагенты, использованные для обнаружения зон моносахаридов в тонком слое сорбента

Открывающий реагент	Окрашивание хроматографических зон в видимом свете	Примечание
Анилинфталатный реактив	Желто-коричневые зоны на белом фоне	Специфичный
1% спиртовый раствор пикриновой кислоты	Красно-оранжевые зоны на желтом фоне	Размытые зоны слабой интенсивности
0.1 М водный раствор нитрата серебра	Коричнево-черные зоны на белом фоне	Размытые зоны (отслойка сорбента от подложки)
2% спиртовый раствор резорцина и 2 М раствор кислоты хлористоводородной (1 : 9)	Розовые зоны на белом фоне	Недостаточная контрастность зон и фона
5% спиртовый раствор фосфорномолибденовой кислоты	Синие зоны на желто-зеленом фоне	Неспецифичный
Разработанный проявитель (0.86 г сульфаниламида и 0.83 г <i>o</i> -фталевой кислоты в 50 мл 95% этилового спирта)	Розовые, красно-коричневые и сиреневые зоны на белом фоне	Специфичный

Таблица 2. Пределы обнаружения моносахаридов с использованием раствора, содержащего 0.86 г сульфаниламида и 0.83 г *o*-фталевой кислоты в 50 мл 95% этилового спирта

Моносахарид	Предел обнаружения, г в зоне
Глюкоза	$2.5 \pm 0.05 \cdot 10^{-6}$
Ксилоза	$2.5 \pm 0.05 \cdot 10^{-6}$
Рамноза	$5 \pm 0.1 \cdot 10^{-6}$

Таблица 3. Хроматографические параметры моносахаридов в различных элюирующих системах

Элюент	R <sub>F</sub> ±0.02			R
	глюкоза	ксилоза	рамноза	
<i>n</i> -бутанол	0.147	0.267	<b>0.347</b>	3.90
(БУВ) <i>n</i> -бутанол – ледяная уксусная кислота – вода (4 : 1 : 2)	<b>0.289</b>	<b>0.452</b>	<b>0.548</b>	5.69
БУВ (4 : 1 : 1)	<b>0.380</b>	<b>0.520</b>	<b>0.595</b>	5.13
БУВ (8 : 1 : 1)	0.239	<b>0.420</b>	<b>0.529</b>	4.64
БУВ (7 : 1 : 1)	<b>0.329</b>	<b>0.419</b>	<b>0.486</b>	4.72
БУВ (6 : 1 : 1)	<b>0.333</b>	<b>0.459</b>	<b>0.514</b>	4.83
БУВ (5 : 1 : 1)	<b>0.361</b>	<b>0.458</b>	<b>0.528</b>	4.96
БУВ (3 : 1 : 1)	<b>0.498</b>	<b>0.594</b>	0.660	5.38
БУВ (4 : 1 : 5)	<b>0.295</b>	<b>0.329</b>	<b>0.526</b>	5.28
БУВ (1 : 2 : 1)	0.679	0.689	0.695	6.33
БУВ (1 : 4 : 1)	0.682	0.700	0.720	6.28
БУВ (1 : 1 : 6)	0.780	0.785	0.800	8.01
БУВ (1 : 6 : 1)	0.724	0.657	0.730	6.26
БУВ (9 : 1 : 1)	<b>0.349</b>	<b>0.488</b>	<b>0.566</b>	4.57
БУВ (2 : 1 : 1)	<b>0.566</b>	0.614	0.687	5.75
БУВ (1 : 1 : 1)	0.641	0.679	0.692	6.37
БУВ (10 : 1 : 1)	<b>0.375</b>	<b>0.500</b>	0.613	4.52
БУВ (12 : 1 : 1)	<b>0.325</b>	<b>0.469</b>	<b>0.566</b>	4.42
(БАВ) <i>n</i> -бутанол – ацетон – вода (4 : 5 : 1)	<b>0.588</b>	0.725	0.790	5.16
<i>n</i> -бутанол – пиридин – вода (6 : 4 : 3)	0.650	0.740	0.765	5.51
Этилацетат – изопропанол – муравьиная кислота (10 : 7 : 3)	<b>0.455</b>	<b>0.602</b>	0.660	4.64
Этилацетат – муравьиная кислота – вода – ледяная уксусная кислота (18 : 1 : 4 : 3)	0.150	0.285	<b>0.422</b>	5.35
БАВ (3 : 1 : 1)	<b>0.438</b>	0.537	0.663	5.22
БАВ (4 : 1 : 1)	<b>0.378</b>	0.500	0.650	5.00
БАВ (4 : 1 : 2)	<b>0.320</b>	0.436	0.641	5.57

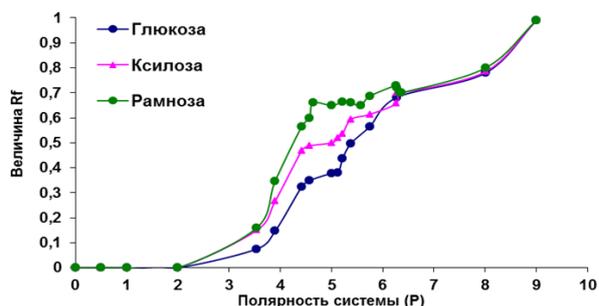


Рис. 1. Вид зависимости величины  $R_f$  моносахаридов от полярности элюента

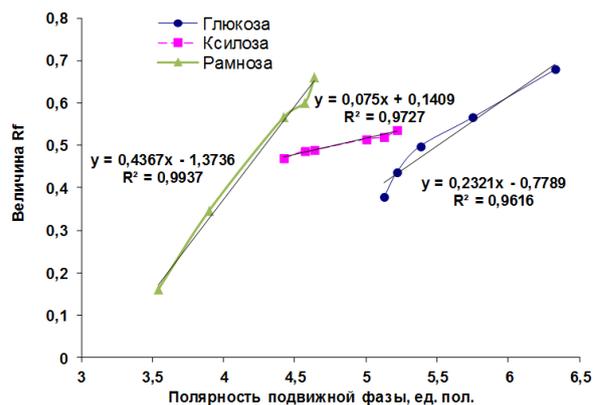


Рис. 2. Линейная зависимость величины  $R_f$  моносахаридов от значения полярности элюента

Таблица 4. Характеристики линейных зависимостей значения подвижности моносахаридов от полярности элюента в тонком слое сорбента

Моносахарид	Параметры линейности			
	Уравнение прямой $y=ax+b$	Диапазон линейной зависимости, ед. полярности	Коэффициент корреляции ( $R^2$ )	Диапазон полярности элюента для получения оптимальных величин $R_f$
Глюкоза	$y=0.2321x-0.7789$	5.13–6.33	0.9616	4.65–5.94
Ксилоза	$y=0.075x+0.1409$	4.42–5.22	0.9727	2.12–6.12
Рамноза	$y=0.4367x-1.3736$	3.54–4.64	0.9937	3.83–4.52

Так как, в основном, в качестве оптимальных были признаны системы типа БУВ с различным соотношением компонентов, при варьировании содержанием *n*-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды в трехкомпонентной подвижной фазе (табл. 3) были получены кривые зависимости величины относительной скорости перемещения моносахаридов от процентного содержания каждого компонента в элюенте (рис. 1 электронного приложения).

Полученные зависимости также позволили установить соотношения *n*-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды в системе, необходимые для достижения оптимальной величины  $R_f$  каждого моносахарида при разделении сложных смесей [8, 9]. Результаты представлены в таблице 5.

Однако при совместном определении большого количества веществ определяющее значение в хроматографии имеет значение параметра селективности сорбции ( $L$ ), рассчитываемого на основе величины коэффициента распределения ( $K$ ) (табл. 6). Установлено, что наилучшее разделение хроматографических зон моносахаридов достигается в системах (табл. 3) БУВ при соотношении компонентов 4 : 1 : 1; 4 : 1 : 2; 9 : 1 : 1 и 12 : 1 : 1. В то же время с точки зрения эффективности хроматографического процесса, характеризующейся величинами высоты, эквивалентной теоретической тарелке ( $H$ , мм) и числом теоретических тарелок ( $N$ ), наилучшей для разделяемых веществ являются системы БУВ при соотношении компонентов 4 : 1 : 1 и 4 : 1 : 2 (табл. 7).

Хроматографирование можно проводить в этих системах. Лучшее значение  $R_f$  и качество хроматографических зон было достигнуто в системе БУВ 4 : 1 : 2 (рис. 3). В данном элюенте зоны стандартных образцов моносахаридов имели округлую форму, что свидетельствует о линейной изотерме сорбции [9, 11, 13, 14]. Для количественной обработки хроматограмм методом компьютерного сканирования целесообразно применять данную систему – БУВ (4 : 1 : 2).

Таким образом, по совокупности полученных результатов были выбраны и теоретически обоснованы оптимальные условия хроматографирования моносахаридов в тонком слое сорбента: сорбент – силикагелевые пластинки марки «Sorbfil» 10×15 см тип ПТСХ-АФ-А; элюент – БУВ 4 : 1 : 2; проявитель – реактив, состоящий из сульфаниламида и *o*-фталевой кислоты; объем пробы – 2 мкл водного раствора с содержанием моносахаридов 10 мг/мл; время насыщения камеры парами элюента – 10 мин; время элюирования – 7 ч; время выдерживания пластинки в термостате при  $t \geq 100$  °С – 3–5 мин; чувствительность определения  $2.5 \cdot 10^{-6}$  г моносахарида в пробе, нанесенной на пластинку.

Таблица 5. Оптимальное соотношение *n*-бутанола, ледяной уксусной кислоты и воды в трехкомпонентной подвижной фазе при разделении моносахаридов методом ВЭТСХ

Моносахарид	Содержание компонентов в элюенте, % (по объему)		
	<i>n</i> -бутанол	ледяная уксусная кислота	вода
Глюкоза	40–86	7–30	7–30
Ксилоза	50–100	0–25	0–25
Рамноза	67–100	0–20	0–20

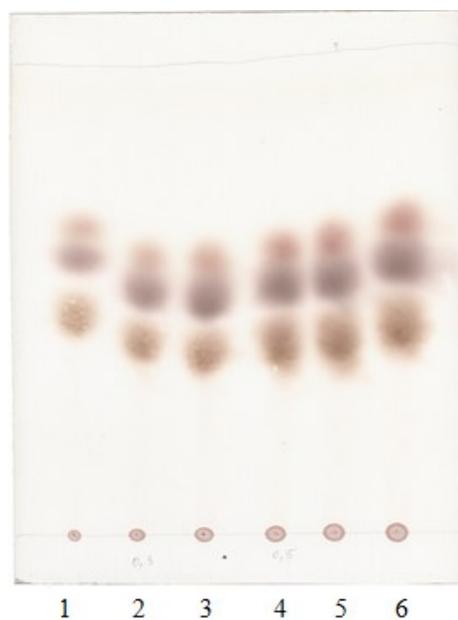
Таблица 6. Параметры хроматографического разделения смеси стандартных образцов исследуемых моносахаридов

Эффективность разделения в системе	Глюкоза		Ксилоза		Рамноза	
	К	L	К	L	К	L
<b>БУВ (4 : 1 : 2)</b>	2.46	–	1.21	<b>2.03</b>	0.82	<b>1.48</b>
<b>БУВ (4 : 1 : 1)</b>	1.63	–	0.92	<b>1.77</b>	0.68	<b>1.35</b>
БУВ (7 : 1 : 1)	2.04	–	1.39	1.47	1.06	1.39
БУВ (6 : 1 : 1)	2.00	–	1.18	1.69	0.95	1.24
БУВ (5 : 1 : 1)	1.77	–	1.18	1.50	0.89	1.33
<b>БУВ (9 : 1 : 1)</b>	1.87	–	1.05	<b>1.78</b>	0.77	<b>1.36</b>
<b>БУВ (12 : 1 : 1)</b>	2.08	–	1.13	<b>1.84</b>	0.77	<b>1.47</b>

Таблица 7. Параметры эффективности хроматографирования исследуемых моносахаридов

Моносахарид	Эффективность разделения в системе							
	<b>БУВ (4 : 1 : 2)</b>		<b>БУВ (4 : 1 : 1)</b>		БУВ (9 : 1 : 1)		БУВ (12 : 1 : 1)	
	H	N	H	N	H	N	H	N
Глюкоза	0.7	127.1	0.5	183.3	1.6	52.2	1.8	50.3
Ксилоза	0.4	211.9	0.4	244.4	1.6	53.1	1.6	56.4
Рамноза	0.4	254.3	0.3	275.0	1.0	81.7	1.1	82.2

Рис. 3. Калибровочная хроматограмма с серией стандартных растворов моносахаридов в диапазоне концентраций от 10 до 35 мкг/мл: 1 – 10 мкг; 2 – 15 мкг; 3 – 20 мкг; 4 – 25 мкг; 5 – 30 мкг; 6 – 35 мкг (сорбент – силикагелевые пластинки марки «Sorbfil» 10×15 см тип ПТСХ-АФ-А; элюент – БУВ 4 : 1 : 2; проявитель – реактив, состоящий из сульфаниламида и о-фталевой кислоты)



Сразу же после проявления хроматографических зон пластины сканируют с помощью планшетного сканера (разрешение не менее 300 dpi), а полученные изображения (рис. 3) обрабатывают компьютерной программой «Sorbfil Videodensitometer» (v1.7, производитель ЗАО «Сорбполимер», Россия, г. Краснодар). В результате получают треки в координатах  $R_f$  – интенсивность (рис. 2 электронного приложения). Установлены линейные зависимости между содержанием моносахаридов и площадью хроматографической зоны (рис. 4) в диапазоне изучаемых концентраций.

Предлагаемый способ был апробирован на лекарственном растительном сырье (ЛРС) различных морфологических групп (на примере листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной). Сырьем служили собранные в период полного созревания и высушенные плоды дикорастущего кустарника облепихи

крушиновидной (*Hippophaë rhamnoides L.*) из сем. лоховых (*Elaeagnaceae*), а также измельченные высушенные листья крапивы двудомной отечественного производителя, приобретенные в аптечной сети Воронежа, соответствующие требованиям нормативной документации. Свежесобранные плоды сначала подвяливали на воздухе, а затем сушили при температуре не более 60 °С до остаточной влажности не более 14%. Для определения свободных и связанных простых сахаров извлечение из исследуемых объектов получали путем экстракции сырья водой очищенной с добавлением концентрированной кислоты хлороводородной в соотношении 10 : 1 при нагревании на кипящей водяной бане в течение 60 мин [7–9]. Полученную суммарную вытяжку хроматографировали восходящим способом в условиях предлагаемого способа. На хроматограммах извлечений из исследуемого сырья обнаружены зоны простых сахаров характерной окраски, среди которых идентифицированы глюкоза, ксилоза и рамноза по характерному значению величин  $R_f$  в сравнении с достоверными стандартными образцами. Пластины сканировали, а полученные изображения обрабатывали компьютерной программой «Sorbfil Videodensitometer» (рис. 3 электронного приложения). Результаты количественного определения моносахаридов в извлечениях из изучаемого ЛРС, а также метрологическая характеристика полученных результатов представлены в таблице 8.

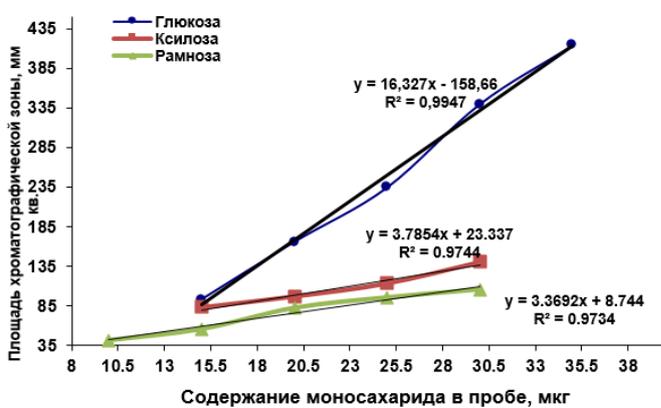


Рис. 4. Градуировочный график для определения содержания глюкозы в области концентраций (15–35 мкг/мкл); ксилозы в области концентраций (15–30 мкг/мкл); рамнозы в области концентраций (10–30 мкг/мкл)

Таблица 8. Результаты идентификации и количественного определения моносахаридов в ЛРС (в пересчете на а.с.с.)

ЛРС	Характеристика зон на хроматограммах				Идентификация зон	Содержание моносахаридов, %
	$R_f \pm 0.02$	K	L			
Листья крапивы двудомной	0.27	2.70	–		Глюкоза	14.07±1.26; $\epsilon_{cp}$ =8.98%
	0.43	1.33	2.03		Ксилоза	0.27±0.06; $\epsilon_{cp}$ =20.67%
	0.52	0.92	1.45		Рамноза	2.32±0.13; $\epsilon_{cp}$ =5.65%
	0.79	0.27	3.41		Неидентифицированная зона	–
	0.87	0.15	1.80		Неидентифицированная зона	–
Плоды облепихи крушиновидной высушенные	0.28	2.57	–		Глюкоза	35.57±3.45; $\epsilon_{cp}$ =9.69%
	0.46	1.17	2.20		Ксилоза	Менее 0.05%
	0.52	0.92	1.27		Рамноза	1.71±0.10; $\epsilon_{cp}$ =5.76%
	0.79	0.27	3.41		Неидентифицированная зона	–
	0.86	0.16	1.69		Неидентифицированная зона	–
Плоды облепихи крушиновидной свежие	0.28	2.57	–		Глюкоза	45.31±5.67; $\epsilon_{cp}$ =12.52%
	0.43	1.33	1.93		Ксилоза	0.07±0.01; $\epsilon_{cp}$ =13.30%
	0.52	0.92	1.45		Рамноза	0.67±0.14; $\epsilon_{cp}$ =21.63%

### Выводы

1. Таким образом, установлены закономерности элюирования и математические модели, описывающие хроматографическое поведение простых восстанавливающих сахаров в тонком слое сорбента.
2. Разработана методика разделения и количественного определения моносахаридов при совместном присутствии (на примере глюкозы, рамнозы и ксилозы) методом ВЭТСХ.
3. Методика может быть использована в контроле качества субстанций, монокомпонентных и комплексных препаратов, ЛРС и биологически активных добавок. Новизна проведенных исследований подтверждена получением патента РФ на изобретение [10].

**Список литературы**

1. Бабешина Л.Г., Горина Я.В., Колоколова А.П. и др. Исследование полисахаридов некоторых видов рода *Sphagnum* L // Журнал Сибирского федерального университета. Химия. 2010. №4. С. 413–422.
2. Колосова О.А., Горох Т.А., Фурса Н.С. Определение свободных и связанных сахаров в подземных органах валерианы сомнительной // Разработка, исследование и маркетинг новой фармацевтической продукции: сборник научных трудов конференции. Пятигорск, 2013. Вып. 68. С. 56–57.
3. Корж А.П. Моносахаридный состав полисахаридного комплекса листьев мать-и-мачехи // Бюллетень сибирской медицины. 2011. №5. С. 62–65.
4. Оленников Д.Н., Танхаева Л.М. Методика количественного определения суммарного содержания полисахаридов в семенах льна // Химия растительного сырья. 2007. №4. С. 85–90.
5. Злобин А.А. Состав и свойства пектиновых полисахаридов зверобоя продырявленного *Hypericum perforatum* L. // Химия растительного сырья. 2011. №1. С. 33–38.
6. Скалозубова Т.А., Марахова А.И., Сорокина А.А., Федоровский Н.Н. Полисахариды в листьях и настое крапивы двудомной // Фармация. 2012. №2. С. 5–7.
7. Тринеева О.В. Теоретические и методологические подходы к стандартизации и оценке качества лекарственного растительного сырья и масляных экстрактов на его основе: дис. ... доктора фармацевтических наук. М., 2017. 441 с.
8. Тринеева О.В., Казьмина М.А., Сливкин А.И. Разработка и валидация методики определения суммы свободных и связанных простых сахаров в плодах облепихи крушиновидной // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017. №1(18). С. 138–143.
9. Тринеева О.В., Сливкин А.И. Определение суммы полисахаридов и простых сахаров в листьях крапивы двудомной // Вестник ВГУ. Серия: Химия, Биология, Фармация. 2017. №1. С. 164–169.
10. Патент №2642264 (РФ). Способ определения простых сахаров в тонком слое сорбента / О.В. Тринеева, Е.Ф. Сафонова, А.И. Сливкин, А.А. Назарова. 24.01.2018.
11. Гейсс Ф. Основы тонкослойной хроматографии. М., 1999. 405 с.
12. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии. Воронеж: Водолей, 2004. 528 с.
13. Кирхнер Ю. Тонкослойная хроматография. М., 1981. С. 402–407.
14. Количественный анализ хроматографическими методами / под ред. Э. Кэц. М.: Мир, 1990. 320 с.

*Поступила в редакцию 30 января 2019 г.*

*После переработки 9 июня 2019 г.*

*Принята к публикации 22 октября 2019 г.*

**Для цитирования:** Тринеева О.В., Сливкин А.И. Определения простых сахаров в лекарственном растительном сырье методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной) // Химия растительного сырья. 2020. №1. С. 215–222. DOI: 10.14258/jcrptm.2020015122.

Trineeva O.V.\*, Slivkin A.I. DETERMINATION OF SIMPLE SUGARS IN MEDICINAL PLANT MATERIALS BY THE METHOD OF HIGH-PERFORMANCE THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY (FOR EXAMPLE, THE FRUITS OF *SEA BUCKTHORN* L. AND *NETTLE LEAVES* L.)

Voronezh State University, ul. Studencheskaya, 3, Voronezh, 394006 (Russia), e-mail: trineevaov@mail.ru

An analysis of the literature over the past 20 years has shown that when controlling the quality of drugs containing monosaccharides, as well as studying the composition of simple sugars in polysaccharide complexes of medicinal plants and not only, preference is given to physicochemical methods, as the most express, sensitive and informative. No means have been found in the scientific literature to identify and quantify simultaneously various monosaccharides by high performance thin layer chromatography (HPTLC). An economical and rapid method has been developed for the identification and quantitative determination of simple reducing sugars (by the example of glucose, rhamnose and xylose) by the HPTLC method. The optimal conditions for their chromatography in a thin layer of sorbent with a quantitative interpretation of HPTLC data on a personal computer were experimentally selected and theoretically substantiated. In a detailed study of the influence of the polarity of the system on the value of  $R_f$ , the intervals of values of the polarity of the eluent were chosen, in which these dependences become linear. Using the proposed dependencies, you can select different systems for the separation of monosaccharides in a thin layer of sorbent, so that the value of  $R_f$  fit into the optimal values. The proposed method was tested on medicinal plant raw materials of nettle dioica and sea buckthorn fruits of various conservation methods. Zones of simple sugars of characteristic color were found on the chromatograms of extracts from the studied raw materials, among which glucose, xylose and rhamnose were identified by the characteristic value of  $R_f$  values in comparison with reliable standard samples. The technique can be used in quality control of substances, single-component and complex preparations, plant objects, dietary supplements, premixes and products of the food industry.

**Keywords:** Sea buckthorn, nettle, simple reducing sugars, monosaccharides, glucose, rhamnose, xylose, quantitative determination, high performance thin layer chromatography.

### References

1. Babeshina L.G., Gorina Ya.V., Kolokolova A.P. i dr. *Zhurnal Sibirskogo federal'nogo universiteta. Khimiya*, 2010, no. 4, pp. 413–422. (in Russ.).
2. Kolosova O.A., Gorokh T.A., Fursa N.S. *Razrabotka, issledovaniye i marketing novoy farmatsevticheskoy produktsii: sbornik nauchnykh trudov konferentsii*. [Development, research and marketing of new pharmaceutical products: a collection of scientific papers of the conference]. Pyatigorsk, 2013, vol. 68, pp. 56–57. (in Russ.).
3. Korzh A.P. *Byulleten' sibirskoy meditsiny*, 2011, no. 5, pp. 62–65. (in Russ.).
4. Olennikov D.N., Tankhayeva L.M. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2007, no. 4, pp. 85–90. (in Russ.).
5. Zlobin A.A. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya*, 2011, no. 1, pp. 33–38. (in Russ.).
6. Skalozubova T.A., Marakhova A.I., Sorokina A.A., Fedorovskiy N.N. *Farmatsiya*, 2012, no. 2, pp. 5–7. (in Russ.).
7. Trineyeva O.V. *Teoreticheskiye i metodologicheskiye podkhody k standartizatsii i otsenke kachestva lekarstvennogo rastitel'nogo syr'ya i maslyanykh ekstraktov na yego osnove: dissertatsiya ... doktora farmatsevticheskikh nauk*. [Theoretical and methodological approaches to standardization and quality assessment of medicinal plant materials and oil extracts based on it: dissertation ... Doctors of Pharmaceutical Sciences]. Moscow, 2017, 441 p. (in Russ.).
8. Trineyeva O.V., Kaz'mina M.A., Slivkin A.I. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv*, 2017, no. 1(18), pp. 138–143. (in Russ.).
9. Trineyeva O.V., Slivkin A.I. *Vestnik VGU. Seriya: Khimiya, Biologiya, Farmatsiya*, 2017, no. 1, pp. 164–169. (in Russ.).
10. Patent 2642264 (RU). 24.01.2018. (in Russ.).
11. Geys F. *Osnovy tonkosloynoy khromatografii*. [Fundamentals of thin layer chromatography]. Moscow, 1999, 405 p. (in Russ.).
12. Rudakov O.B., Vostrov I.A., Fedorov S.V. i dr. *Sputnik khromatografista. Metody zhidkostnoy khromatografii*. [Chromatograph companion. Liquid chromatography methods]. Voronezh, 2004, 528 p. (in Russ.).
13. Kirkhner Yu. *Tonkosloynaya khromatografiya*. [Thin layer chromatography]. Moscow, 1981, pp. 402–407. (in Russ.).
14. *Kolichestvennyy analiz khromatograficheskimi metodami* [Quantitative analysis by chromatographic methods], ed. E. Kets. Moscow, 1990, 320 p. (in Russ.).

Received January 30, 2019

Revised June 9, 2019

Accepted October 22, 2019

**For citing:** Trineeva O.V., Slivkin A.I. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2020, no. 1, pp. 215–222. (in Russ.). DOI: 10.14258/jcprm.2020015122.

\* Corresponding author.