

Г. И. Миназова (к.фарм.н., ст. лаб.)

## Тонкослойная хроматография в анализе природного сырья

Башкирский государственный медицинский университет,  
кафедра общей химии  
450000, Уфа, ул. Ленина, 5; тел (347) 2720222

G. I. Minazova

## Thin film chromatography in the analysis of vegetative raw materials

Bashkir State Medical University  
5, Lenina str., Ufa, 450000, Russia; ph. (347)2720222

Метод тонкослойной хроматографии (ТСХ), обладающий рядом преимуществ, применен для анализа лекарственного растительного сырья на наличие флавоноидных соединений. Рассмотрены различные системы растворителей. Приведены основные параметры ТСХ, тесты на подлинность. Рассмотрен метод ТСХ в анализе лекарственных форм. Представлен показатель  $R_f$ .

**Ключевые слова:** лекарственное сырье; препарат; система растворителей; сорбент; тест; тонкослойная хроматография.

The method thin layer chromatography possessing a number of advantages is applied to the analysis of medicinal vegetative raw materials on presence of flavanoid compounds. Various systems of solvents are considered. Key parametres of the thin film chromatography and tests for authenticity are resulted. Method of the thin film chromatography in the analysis of medicinal forms is considered. Indicator  $R_f$  is presented.

**Key words:** medicinal raw materials; preparation; system of solvents; sorbent; test; thin film chromatography.

Тонкослойная хроматография (ТСХ, ТЛС) — один из наиболее используемых методов хроматографического анализа.

Разделение осуществляется на фиксированном слое сорбента (оксид алюминия, силикаты разных марок и т. д.) Подвижной фазой являются различные органические растворители (или используют их смеси, в том числе с водой, движущейся по слою сорбента за счет сил капиллярного взаимодействия). Для практической реализации метода необходимо располагать предварительной информацией о рекомендуемых сорбентах и системах растворителей, кроме того, следует учитывать, что до настоящего времени большую часть информации в ТСХ получают путем визуального просмотра расположения пятен на сорбированном слое после окончания процесса. Для многих веществ, не имеющих в молекулах хромофоров, необходима стадия «проявления» хроматограмм (опрыскивание растворами различных реагентов) либо просмотр в УФ свете (обычно используют фильтры с пропусканием в областях 254 или 366). Соответствующие характеристики (условия проявления, длина

волн УФ света и цвет хроматографических зон) относятся к числу трудно формируемых, но весьма важных аналитических данных. Однако главными параметрами оказываются характеристики удерживания — значения  $RF^{1,2}$ .

$$RF = \frac{J}{L}$$

где  $J$  — перемещение хроматографической зоны компонента;

$L$  — перемещение зоны растворителя.

В диапазоне оптимальных значений  $RF=0.3\div 0.8$  можно добиться их достаточно хорошей внутрилабораторной воспроизводимости (не хуже +5–10 %), однако межлабораторная воспроизводимость этих параметров до настоящего времени остается невысокой. Причины этого связаны, главным образом, с относительно невысокой воспроизводимостью хроматографических свойств сорбентов и их зависимостью от многих параметров, включая условия хранения и даже влажность воздуха. Поэтому основным принципом идентификации

Дата поступления 19.11.10

в ТСХ является использование не справочных значений RF, а стандартных образцов определяемых веществ, хроматографируемых в максимально более идентичных условиях (предпочтительно на той же самой пластинке, что и анализируемые препараты)<sup>3</sup>.

Однако это не исключает использование справочных значений в качестве ориентировочных, и они табулированы для многих лекарственных веществ.

Таким образом, к важнейшим преимуществам ТСХ относят следующие моменты<sup>4</sup>:

– экспрессность метода. Пластинки для ТСХ не требуют предварительной подготовки, а время самого процесса разделения может не превышать нескольких минут. Хроматографический процесс отделен по времени от последующей обработки результатов;

– на одной пластинке можно расположить до 20–30 проб или растворов сравнения и провести их элюирование параллельно;

– процесс элюирования таких пластинок требует минимальных количеств подвижной фазы (не более нескольких миллиметров).

Метод ТСХ широко применяется для анализа лекарственного растительного сырья. Для обнаружения рутина в растительном сырье (по флуоресценции при 365 нм) хроматограмму последовательно обрабатывают метанольным раствором моноэтилового эфира дифенилборной кислоты и макрогола 400<sup>5</sup>. Метод рекомендован для оценки подлинности сбора «Гепатит»<sup>6</sup>.

Первым шагом в этом направлении явилось внедрение тонкослойной (планирной) хроматографии с целью обнаружения индивидуальных соединений по значениям Rf, сравниваемых с имеющимися литературными или ранее полученными экспериментальными данными. В этом методе существует весьма эффективный экспериментальный прием, основанный на использовании веществ-свидетелей, в качестве которых в последнее время стараются применять стандартные государственные образцы. С помощью метода ТСХ часто определяют наличие флавоноидных соединений при использовании стандартных образцов рутина, кверцетина, гиперозида, лютеолина; наличие терпеноидов в сравнении со стандартными образцами ментола, эвгенола, тимола, камфоры и др.<sup>7–9</sup>.

ТСХ в тестах на подлинность рекомендована для ФС на:

– настойку «Биоженьшень»: ТСХ тритерпеновых гликозидов, система 1-бутанол–этанол–нашатырный спирт (9:2:5), проявление серной кислотой (не менее 4 пятен с RF 0.26–0.43);

– настойку аралии: ТСХ аралозидов А, В, С, система хлороформ–метанол–вода (30.5:16:3,5), проявление серной кислотой (три пятна с RF 0.25; 0.36; 0.47; розовая окраска);

– настойку зверобоя: ТСХ флавоноидов, система этилацетат–муравьиная кислота–2н соляная кислота (85:6:9), проявление раствором хлорида алюминия в этаноле, просмотр в УФ-свете (366 нм), три пятна, соответствующие кверцетину, гиперозиду и рутину;

– настойку «Эскулюс» (гомеопатическая): ТСХ система хлороформ–уксусная кислота–метанол–вода (30:16:6:4), просмотр в УФ-свете (365 нм две зоны желтого цвета с RF 0.10–0.25), проявление фосфорновольфрамовой кислотой, фиолетово-коричневая зона с RF 0.40 и 2–3 зоны серого цвета с RF менее 0.40;

– настойку «Кристина» (12 составляющих): ТСХ система этанол–толуол–хлороформ (1:1:1), 4 варианта проявления для обнаружения компонентов различных составляющих препарата;

– настойку пиона уклоняющегося: ТСХ система хлороформ–метанол–вода (26:14:3), просмотр в УФ-свете (254 нм, RF 0.70 – светло-фиолетовое пятно – пеониифлорин), проявление серной кислотой – сиреневое окрашивание;

– настойку пустырника: ТСХ система хлороформ–метанол–вода (80:2:0.1), проявление реактивом Штала, три зоны сиреневого цвета с RF 0.4; 0.6 и 0.8 (иридоиды);

– на жидкий экстракт элеутерококка: ТСХ система хлороформ–метанол–вода (71:33:7), просмотр в УФ-свете (254 нм, пятно синего цвета, 366 нм – не менее 3-х пятен с RF 0.4) (элеутерозиды);

– на жидкий экстракт крапивы: ТСХ система бензол–петролейный эфир (1:1), просмотр в УФ-свете (366 нм, пятно с желто-зеленой флуоресценцией), проявление парами иода желтое или сине-фиолетовое пятно (фитолинодион);

– жидкий экстракт родиолы: ТСХ система хлороформ–метанол–вода (26:14:3), просмотр в УФ-свете (254 нм фиолетовое пятно с

RF 0.4 – розавин), проявление карбонатом натрия и диазотированным сульфацилом – красное пятно (салидрозид);

– жидкий экстракт «Простанорм» (водно-спиртовое извлечение), 4 компонента: ТСХ система хлороформ–этил-ацетат–муравьиная кислота–вода (7:50:5:45), просмотр в УФ-свете (360 нм, красное пятно с RF 0.31, синее с RF 0.35 и зелено-синее с RF 0.73), после прогрева при 100 °С просмотр в УФ-свете (360 нм, красное пятно с RF 0.59), в видимом свете желтые пятна с RF 0.26 и 0.64;

– жидкого экстракта пустырника: ТСХ система хлороформ–метанол–вода (80:2:0,1), проявление реактивом Штала, не менее трех зон сиреневого цвета с RF 0.4; 0.6 и 0.8 (иридоиды);

– жидкий экстракт левзеи: ТСХ система хлороформ–метанол–ацетон (6:2:1), проявление раствором ванилина в этаноле, не менее двух зон желто-зеленого цвета с  $R_3$  1.20 и 1.00 (экдистен и экдистерон относительно экдистена);

– жидкий экстракт термопсиса: ТСХ система хлороформ–ацетон–диэтиламин (5:4:1), проявление реактивом Драгендорфа, не менее двух оранжевых пятен с  $R_3$  1.0 и 1.6, относительно СОВС цитизина<sup>10–17</sup>.

Методом ТСХ определяли содержание сопутствующих алкалоидов в аллапинине. В 100 мкг препарата допускается до 4-х пятен сопутствующих алкалоидов с  $R_s$  от 0.5 до 1.4 кроме основного пятна (лаппаконитина с  $R_s=1$ ). В 0.5 мкг препарата – только одно пятно лаппаконитина<sup>18</sup>. Метод ТСХ рекомендован для определения подлинности стандартного образца лаппаконитина<sup>19</sup>.

Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках «Сорбфил» (ПТСХ – АФ – В – УФ) размером 5×15 см. На линию старта нанесли микропипеткой и микрошприцом 0.01 мл (20 мкг) раствора образца в изопропанол с концентрацией 1 мг/мл. Пластинку высуши-

вали на воздухе в течение 10 мин, а затем помещали в камеру со смесью хлороформ–бензол–метанол–аммиак водны (40:40:10:0.1). Когда фронт растворителей доходил до конца пластинки, ее вынимали из камеры, сушили на воздухе в течение 10 мин, затем в сушильном шкафу при 110 °С в течение 15 мин. Пластинку просматривали в УФ-свете при  $\lambda$  254 нм. На хроматограмме проявлялось одно пятно фиолетового цвета с RF около 0.45.

### Литература

1. Максимкина Е. А., Миназова Г. И., Чукреева Н. В. Стандартизация и обеспечение качества лекарственных средств. – М.: Медицина. – 2008 – С.256.
2. ВФС 42-1647-93, Биоженьшень.
3. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / Под ред. проф. В. А. Багировой, проф. В. А. Северцева. – С.-пб.: Спец. Лит. – 2001.
4. ВФС 42-2868-97. Сбор Гепафит.
5. ФС 42-1647-93. Настойка Аралии.
6. ФС 42-1889-95. Настойка Зверобоя.
7. ФС 42-3056-98. Настойка «Кристина» (12 составляющих).
8. ФС 42-588-98. Настойка Пиона уклоняющегося.
9. ФС 42-2278-98. Настойка Пустырника.
10. ФС 42-2626-95. Настойка «Эскулюс» (гомеопатическая).
11. ФС 42-2050-93. Жидкий экстракт крапивы.
12. ФС 42-1995-99. Жидкий экстракт левзеи.
13. ФС 42-1966-98. Жидкий экстракт пустырника.
14. ФС 42-3267-98. Жидкий экстракт «Простанорм» (водно-спиртовое извлечение), 4 компонента.
15. ФС 42-2047-99. Жидкий экстракт термопсиса.
16. ФС 42-2833-92. Жидкий экстракт элеутерококка.
17. British Pharmacopeia. CD 1998 V20. Sustum Simulation Ltd 1998.
18. ФСП 42-0171-0580-00. Аллапинин.
19. Файзрахманова И. М., Цырлина Е. М., Юнусов М. С., Муринов Ю. И., Миназова Г. И. // Фармация. – 2008. – №3. – С.23.