

О. В. Тринеева, Е. Ф. Сафонова, А. В. Синкевич, А. И. Сливкин

## ОПРЕДЕЛЕНИЕ АМИНОКИСЛОТ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТИТЕЛЬНОМ СЫРЬЕ МЕТОДОМ ТСХ (НА ПРИМЕРЕ ЛИСТЬЕВ КРАПИВЫ ДВУДОМНОЙ И ПЛОДОВ ОБЛЕПИХИ КРУШИНОВИДНОЙ)

ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет

Разработана методика разделения и определения суммы свободных аминокислот в водных извлечениях из лекарственного растительного сырья методом ТСХ (на примере плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной). Проведено исследование аминокислотного состава плодов облепихи крушиновидной и листьев крапивы двудомной методом капиллярного электрофореза. Предложен подход к определению аминокислот в различных объектах, основанный на нестандартной идентификации путем расчета величины  $R_f$ . В связи с тем, что набор аминокислот индивидуален для каждого вида растительного сырья, а также зависит от способа его консервации, хроматографический профиль аминокислот допустимо использовать для стандартизации сырья.

**Ключевые слова:** аминокислоты; плоды облепихи крушиновидной; листья крапивы двудомной; тонкослойная хроматография; капиллярный электрофорез.

Исследования химического состава и фармакологических свойств лекарственного растительного сырья (ЛРС), суммарных фитопрепаратов и индивидуальных веществ, выделенных из растений, приводят к созданию новых высокоэффективных лекарственных средств и открывают новые источники их получения [1]. Повышение требований к качеству ЛРС вызывает необходимость количественного определения основных классов биологически активных веществ (БАВ), одним из которых являются аминокислоты (АК), важность которых для живого организма трудно переоценить. Основная функция АК — участие в биосинтезе белков и в метаболических процессах организма. Поэтому содержание АК является важным критерием не только пищевой, но и фармакологической ценности ЛРС.

В связи с вышесказанным изучение качественного и количественного состава АК в ЛРС имеет теоретическое и практическое значение, вызывает научный интерес. В настоящее время, согласно отечественной нормативной документации (НД), ЛРС не стандартизируется по содержанию АК [2].

АК являются весьма сложным объектом для химического анализа. Это обусловлено, во-первых, наличием в молекулах гидрофобных и гидрофильных группировок. Во-вторых, амфотерный характер АК за счет наличия в структуре основных и кислотных функций приводит к возникновению в нейтральных растворах АК цвиттер-иона. Поэтому при анализе АК необходимо учитывать величину изоэлектрической точки (рН растворов). И, наконец, все природные АК, кроме глицина, ввиду своего хирального строения могут существовать в виде различных энантиомеров.

Анализ литературы за последние 10 лет показал, что при контроле качества лекарственных препаратов, содержащих АК, предпочтение отдается физико-химическим методам, как наиболее экспрессным, чувствительным и информативным [3–10]. Определение качественного состава и количественного содержания устанавливают на аминокислотном анализаторе

[1–5]. Недостатком таких методик является необходимость пред- или постколлонной модификации определяемого вещества. Для количественного определения суммарного содержания АК в пересчете на кислоту глутаминовую в ЛРС используют метод фотоэлектроколориметрии с применением в качестве цветообразующего реагента — спиртового раствора нингидрина [6, 7]. Однако этот метод имеет ряд ограничений, таких как невозможность получения достоверных результатов при исследовании окрашенных извлечений, завышение результатов вследствие того, что растительное сырье содержит сумму свободных АК. Различные варианты метода тонкослойной хроматографии (ТСХ) используются для установления качественного состава АК в ЛРС и других объектах [1–10]. Среди других аналитических методов ТСХ отличают следующие преимущества [11]:

высокая селективность, которой легко варьировать, подбирая состав подвижной фазы; в отличие от ВЭЖХ нет ограничений в выборе растворителей;

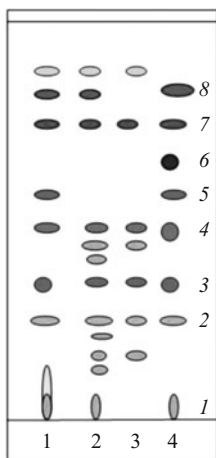
себестоимость одного анализа, по крайней мере, на порядок ниже, чем метод ВЭЖХ, так как используется более простое и дешевое оборудование;

возможность одновременного разделения нескольких образцов, использования однократного или многократного элюирования (при различных условиях), а также одновременного разделения компонентов одного и того же образца с помощью различных элюентов;

оптимизация разрешающей способности хроматографической системы при разделении сложной смеси только для интересующих компонентов;

возможность детектирования соединений с высокой чувствительностью и селективностью путем варьирования проявляющего реагента; полученные результаты разделения легко оценить визуально;

возможность сохранять хроматограммы для последующего детектирования и осуществлять спектральную идентификацию хроматографических зон после



**Рис. 1.** Вид хроматограммы извлечений: 1 — из листьев крапивы двудомной (объем пробы 10 мкл); 2 — из плодов облепихи крушиновидной высушенных (объем пробы 5 мкл); 3 — из плодов облепихи крушиновидной свежих (объем пробы 10 мкл); 4 — смесь 0,1 % водных растворов стандартных образцов АК (объем пробы 5 мкл) после проявления 1 % раствором нингидрина в спирте; 1 — аргинин; 2 — пролин; 3 — глицин; 4 — глутаминовая кислота; 5 — валин; 6 — метионин; 7 — лейцин; 8 — фенилаланин.

разделения в любом диапазоне длин волн, включая инфракрасную область.

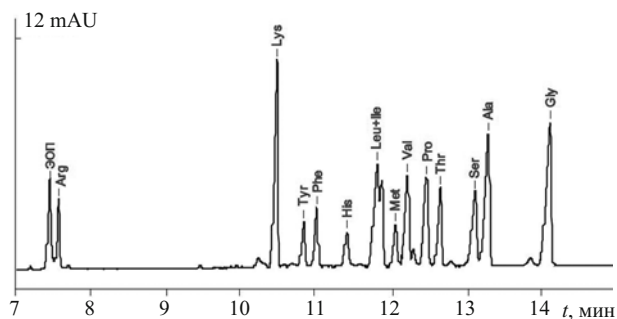
Отечественные и зарубежные аналитики уделяют развитию этого метода большое внимание, благодаря простоте приемов и оборудования, экспрессности, невысокой стоимости анализа, больших потенциальных возможностей [11].

Листья крапивы двудомной являются официальным растительным сырьем, включенным в ГФ XI изд. [12]. Стандартизация плодов облепихи проводится в соответствии с требованиями ВФС 421741-87 (свежие плоды) и ТУ 64-472-88 (сухие плоды). Однако вопросы стандартизации сырья данных видов лекарственных растений по-прежнему остаются нерешенными. Применяемые на территории РФ НД содержат далеко не все показатели качества на ЛРС, регламентируемые ОСТом 91500.05.001-00 “Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения”. В ФС отсутствуют методики количественного определения действующих веществ, что не соответствует современному уровню развития фармацевтической науки в целом.

Цель настоящего исследования — разработка методики разделения и определения состава свободных АК

Таблица 1  
Значения  $R_f$  стандартных образцов АК в системе БУВ 4:1:1

№ п/п	АК	$R_f \pm 0,02$	Окраска зоны в видимом свете
1	Аргинин	0,06	темно-розовая
2	Пролин	0,30	оранжевая
3	Глицин	0,35	оранжево-розовая
4	Глутаминовая кислота	0,46	малиновая
5	Валин	0,52	розовая
6	Метионин	0,56	розовато-сиреневая
7	Лейцин	0,58	розовая
8	Фенилаланин	0,64	сиреневая



**Рис. 2.** Электрофореграмма АК, полученная на системе для КЭ “Капель-105/105М”.

в ЛРС методом ТСХ на примере листьев крапивы двудомной и плодов облепихи крушиновидной.

### Экспериментальная часть

Объектом исследования являлось измельченное высушенное ЛРС крапивы двудомной отечественного производителя, соответствующее требованиям НД, а также свежие и высушенные плоды дикорастущей облепихи крушиновидной, собранные в Воронежской области в период полного созревания, согласно правилам заготовки данного вида ЛРС. Сушку плодов производили при  $t = 60^\circ\text{C}$  до остаточной влажности не более 20 %.

**Получение извлечения из листьев крапивы двудомной.** Около 2,5 г измельченного сырья (точная навеска) с размером частиц, проходящих сквозь сито с диаметром отверстий 0,5 мм, помещали в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляли 30 мл воды очищенной (с учетом коэффициента водопоглощения сырья). Колбу присоединяли к обратному холодильнику, нагревали на кипящей водяной бане в течение 30 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Затем колбу с содержимым охлаждали до комнатной температуры. Извлечение фильтровали через несколько слоев марли, отжимая частицы сырья, в мерную колбу вместимостью 25 мл. При необходимости доводили объем до метки водой очищенной.

**Получение извлечения из плодов облепихи крушиновидной.** Около 10 г (точная навеска) свежих или высушенных измельченных плодов облепихи крушиновидной помещали в колбу вместимостью 100 мл, заливали 50 мл воды очищенной. Колбу присоединяли к обратному холодильнику, нагревали на кипящей водяной бане в течение 60 мин, периодически встряхивая для смывания частиц сырья со стенок. Затем колбу с содержимым охлаждали до комнатной температуры. Извлечение фильтровали через несколько слоев марли, отжимая ЛРС, в мерную колбу вместимостью 50 мл. При необходимости доводили объем до метки водой очищенной.

Предварительное качественное обнаружение АК проводили по реакции со спиртовым раствором нингидрина. Появление фиолетового окрашивания в исследуемых извлечениях указывало на наличие АК [6].

Особое внимание уделено подбору и соотношению компонентов в составе подвижной фазы. Состав сис-

темы растворителей в ТСХ должен быть постоянным и легко воспроизводимым; система должна полностью разделять вещества близкого строения, система не должна вызывать химических изменений разделяемых компонентов; в выбранной системе анализируемые вещества должны иметь различные значения величин относительной скорости перемещения ( $R_f$ ) в тонком слое и распределяться по всей длине хроматограммы. Желательно, чтобы коэффициент подвижности  $R_f$  имел значение не более 0,85.

В эксперименте изучено более 15 типов элюирующих систем в широком диапазоне полярности. Наилучшее разделение и качество хроматографических зон было достигнуто в системе *n*-бутанол — кислота уксусная ледяная — вода (4:1:1) (БУВ) со значением полярности 5,13 [13] при высоте пробега элюента не менее 13 см. В работе использовали растворители марки х.ч. (ЗАО “Вектон”, Санкт-Петербург, Россия).

Полученные извлечения из исследуемого ЛРС наносили на стартовую линию хроматографических пла-

стин марок “Sorbfil” ПТСХ-II-A размером 10 × 15 см (тип сорбента — силикагель СТХ-1А; зернение 5 – 17 мкм; толщина слоя 90 – 120 мкм; связующее — силиказоль). Параллельно наносили 5 мкл смеси 0,1 % водных растворов стандартных образцов АК (валин, лейцин, глицин, метионин, аргинин, пролин, фенилаланин и глутаминовая кислота) (рис. 1).

Хроматографические пластинки обрабатывали 1 % раствором нингидрина в спирте, который образует с АК аммонийную соль енольной формы дикетогидринденкетогидринамина, имеющую стойкую сине-фиолетовую окраску [6], нагревали в сушильном шкафу при температуре 105 °С в течение 2 – 3 мин.

Для подтверждения правильности результатов, полученных по разработанной методике, а также исследования полного аминокислотного состава (свободные и связанные АК), изучаемые объекты анализировали методом капиллярного электрофореза (КЭ) на приборе “Капель-105/105М” (“Люмэкс”, СПб, Россия), для чего навески образцов гидролизвали 6 М

Таблица 2

**Хроматографические параметры зон АК на хроматограммах**

№ зоны	$R_f$	$K$	$L$	$N$	$H$ , мм	Окраска зоны в видимом свете	Идентификация вещества
Извлечение из листьев крапивы двудомной							
1	0,07 ± 0,01	13,29	-	68,54	1,78	темно-розовая	аргинин
2	0,15 ± 0,02	5,67	2,34	87,77	1,39	розовая	-
3	0,32 ± 0,02	2,13	1,10	128,42	0,95	оранжевая	пролин
4	0,35 ± 0,01	1,86	1,14	114,02	1,07	оранжево-розовая	глицин
5	0,46 ± 0,005	1,17	1,59	100,99	1,21	малиновая	глутаминовая кислота
6	0,52 ± 0,01	0,92	1,27	156,41	0,78	розовая	валин
7	0,58 ± 0,005	0,72	1,28	174,29	0,70	розово-сиреневая	лейцин
8	0,64 ± 0,02	0,56	1,29	187,69	0,65	розовая	фенилаланин
9	0,68 ± 0,02	0,47	1,19	203,30	0,60	желтая	-
Извлечение из плодов облепихи крушиновидной высушенных							
1	0,06 ± 0,02	20,28	-	29,98	4,17	темно-розовая	аргинин
2	0,17 ± 0,02	4,88	4,16	76,22	1,64	розовая	-
3	0,26 ± 0,02	2,85	1,71	64,43	1,94	розовая	-
4	0,29 ± 0,02	2,45	1,20	57,08	2,19	розовая	-
5	0,32 ± 0,02	2,13	1,15	61,58	2,03	оранжевая	пролин
6	0,35 ± 0,01	1,86	1,14	86,21	1,45	оранжево-розовая	глицин
7	0,37 ± 0,006	1,70	1,10	93,98	1,33	сиреневая	-
8	0,42 ± 0,02	1,38	1,23	260,42	0,48	розово-сиреневая	-
9	0,46 ± 0,005	1,17	1,05	114,68	1,08	малиновая	глутаминовая кислота
10	0,58 ± 0,005	0,72	1,63	183,82	0,68	розово-сиреневая	лейцин
11	0,64 ± 0,02	0,56	1,29	160,26	0,78	сиреневая	фенилаланин
12	0,68 ± 0,02	0,47	1,19	446,43	0,28	желтая	-
Извлечение из плодов облепихи крушиновидной свежих							
1	0,26 ± 0,02	2,85	-	5,44	21,33	розовая	-
2	0,32 ± 0,02	2,13	1,34	119,59	0,97	оранжевая	пролин
3	0,35 ± 0,01	1,86	1,14	99,15	1,17	оранжево-розовая	глицин
4	0,42 ± 0,02	1,38	1,35	161,11	0,72	розовая	-
5	0,46 ± 0,005	1,17	1,18	181,25	0,64	малиновая	глутаминовая кислота
6	0,58 ± 0,005	0,72	1,64	160,89	0,72	розово-сиреневая	лейцин
7	0,68 ± 0,02	0,47	1,53	500,00	0,27	желтая	-

“-” зона не идентифицирована.

соляной кислотой при температуре  $110 \pm 5^\circ\text{C}$  в течение 16–18 ч [14]. Метод основан на получении из свободных АК фенилизотиокарбамильных производных, дальнейшем их разделении и количественном определении (рис. 2). Условия разделения: буфер 30 мМ фосфатный, 4 мМ  $\beta$ -циклодекстрин (рН 7,4); капилляр ( $L_{\text{эфф}}/L_{\text{общ}} = 65/75$  см, ID = 50 мкм); ввод пробы 150 мбар · с; напряжение + 25 кВ; УФ-детектирование 254 нм; температура  $30^\circ\text{C}$  [14].

### Результаты и их обсуждение

Вид полученных хроматограмм представлен на рис. 1. Результаты расчета величин  $R_f$  АК для трека смеси стандартных образцов приведены в табл. 1.

Для каждой хроматографической зоны были рассчитаны величины  $R_f$ , коэффициенты распределения ( $K$ ) и селективности сорбции ( $L$ ), высота, эквивалентная теоретической тарелке ( $H$ ), число теоретических тарелок ( $N$ ) (табл. 2). В случае изучения состава АК и выделения отдельных компонентов с использованием метода ТСХ, селективность сорбции является одной из основных характеристик эффективности процесса. Разделение 2 соседних зон считается полным при  $L \geq 1$  [15]. Идентификация зон на хроматограммах в сравнении с достоверными стандартными образцами (ЗАО “Вектон”, СПб, Россия) представлена в табл. 2.

Значения величины селективности сорбции соответствуют критерию приемлемости, а также свидетельствуют об удовлетворительном разделении хроматографических зон на хроматограммах и правомерности использования данной методики (табл. 2).

На хроматограммах извлечения из ЛРС крапивы двудомной обнаружено 9 зон АК с характерными значениями величин  $R_f$ , среди которых идентифицирова-

ны заменимые АК:  $0,07 \pm 0,01$  (аргинин);  $0,32 \pm 0,02$  (пролин);  $0,35 \pm 0,01$  (глицин);  $0,46 \pm 0,005$  (глутаминовая кислота); и незаменимые АК:  $0,52 \pm 0,01$  (валин);  $0,58 \pm 0,005$  (лейцин) и  $0,64 \pm 0,02$  (фенилаланин). Метионин среди суммы свободных АК, выделяемых из сырья крапивы двудомной, не обнаружен.

На хроматограммах извлечений из высушенного ЛРС облепихи крушиновидной обнаружено 12 зон (рис. 1) АК с характерными значениями величин  $R_f$  (табл. 2), среди которых идентифицированы заменимые АК:  $0,06 \pm 0,02$  (аргинин),  $0,32 \pm 0,02$  (пролин),  $0,35 \pm 0,01$  (глицин);  $0,46 \pm 0,005$  (глутаминовая кислота); и незаменимые АК:  $0,58 \pm 0,005$  (лейцин) и  $0,64 \pm 0,02$  (фенилаланин). Треки извлечений из свежих плодов имели 7 зон с характерными значениями величин  $R_f$  (табл. 2), среди которых идентифицированы заменимые АК:  $0,32 \pm 0,02$  (пролин),  $0,35 \pm 0,01$  (глицин);  $0,46 \pm 0,005$  (глутаминовая кислота); и незаменимая АК:  $0,58 \pm 0,005$  (лейцин). Установлено, что состав АК в извлечениях из высушенных и свежих плодов облепихи крушиновидной несколько отличен. Свежие плоды содержат АК как в свободном, так и в связанном виде (белковые соединения, пептиды). Во время высушивания при температуре  $60^\circ\text{C}$  в клеточном соке ЛРС, богатом органическими кислотами [16], протекают процессы кислотного гидролиза, что может сопровождаться изменением состава свободных АК в сырье. Кроме того, в свежих плодах содержатся трудноизмельчаемые косточки, свободные АК которых не извлекаются при экстракции водой. Метионин в сумме свободных АК извлечений, как из све-

Таблица 3  
Величины  $R_s$ , рассчитанные по хроматограммам исследуемых объектов

№ трека	Величины $R_s$ (стандарт — глутаминовая кислота)					
	Извлечение из листьев крапивы двудомной		Извлечение из плодов облепихи крушиновидной высушенных		Извлечение из плодов облепихи крушиновидной свежих	
	$R_f$	$R_s$	$R_f$	$R_s$	$R_f$	$R_s$
1	-	-	0,047	0,102	-	-
2	0,070	0,152	-	-	-	-
3	0,150	0,326	-	-	-	-
4	-	-	0,170	0,370	-	-
5	-	-	0,260	0,565	0,260	0,565
6	-	-	0,290	0,630	-	-
7	0,320	0,700	0,320	0,700	0,320	0,700
8	0,350	0,761	0,350	0,761	0,350	0,761
9	-	-	0,370	0,804	-	-
10	-	-	0,420	0,913	0,420	0,913
11	0,460	1,000	0,460	1,000	0,460	1,000
12	0,520	1,130	-	-	-	-
13	0,580	1,261	0,580	1,261	-	-
14	0,640	1,391	0,640	1,391	0,580	1,391
15	0,680	1,478	0,680	1,478	0,680	1,478

“-” зона на треке отсутствует.

Таблица 4  
Аминокислотный состав исследуемых объектов (в пересчете на абсолютно сухое сырье)

№ п/п	АК	Содержание АК, %		
		Листья крапивы двудомной	Плоды облепихи крушиновидной высушенные (с косточкой)	Свежие плоды облепихи крушиновидной (без косточки)
1	Аргинин	1,23	1,17	0,80
2	Лизин*	1,07	0,49	0,14
3	Тирозин	0,78	0,35	0,36
4	Фенилаланин*	1,01	0,35	0,43
5	Гистидин	0,46	0,29	0,22
6	Лейцин*	1,59	0,60	0,43
7	Изолейцин*	0,90	0,41	0,22
8	Метионин*	0,30	0,06	0,07
9	Валин*	1,11	0,43	0,22
10	Пролин	1,03	0,49	0,72
11	Треонин*	1,22	0,41	0,29
12	Серин	1,27	0,60	0,36
13	Аланин	1,47	0,46	0,14
14	Глицин	1,19	0,44	0,22
15	Цистин	0,63	0,35	Менее 0,007
16	Глутаминовая кислота	1,96	1,60	0,07
17	Аспарагиновая кислота	2,99	3,33	0,29

\* — незаменимая АК.

жих, так и из высушенных плодов облепихи, не обнаружен.

На экспериментально определяемые значения  $R_f$  заметно влияют условия хроматографирования. Для надежной идентификации АК исследуемых извлечений необходимо проводить сравнение величин  $R_f$  со стандартными образцами, что не всегда возможно ввиду недоступности последних. Более точной оценкой хроматографической подвижности, мало чувствительной к влиянию случайных отклонений в условиях проведения эксперимента, является величина  $R_s$ , представляющая собой отношение величины  $R_f$  одного вещества к величине  $R_f$  другого вещества, принятого за стандарт [12]. В качестве стандарта выбрана глутаминовая кислота, которая была обнаружена во всех исследуемых объектах, а также имела оптимальное значение величины  $R_f$  в выбранных условиях хроматографирования (табл. 1).

В табл. 3 представлены значения величин  $R_s$  для АК, выявленных на хроматограммах изучаемых извлечений. Данные табл. 3 показывают, что кроме общих зон АК, для каждого вида ЛРС характерны собственные уникальные зоны. Для трека извлечения из листьев крапивы двудомной характеристической зоной является зона с величиной  $R_f$   $0,52 \pm 0,01$  (валин), для трека извлечения из высушенных плодов облепихи крушиновидной — зоны с величинами  $R_f$   $0,26 \pm 0,02$ ;  $0,29 \pm 0,02$ ;  $0,37 \pm 0,02$ ;  $0,42 \pm 0,02$ , а также зона АК  $0,64 \pm 0,02$  (фенилаланин), которая отсутствует на хроматограммах извлечения из свежих плодов. Величина  $R_s$ , определенная экспериментально, позволит решать одну из важнейших задач фармацевтического анализа — идентифицировать АК в различных объектах при отсутствии стандартных образцов.

Согласно данным табл. 4, преобладающими АК в косточке плодов облепихи крушиновидной являются аспарагиновая и глутаминовая кислоты. Плоды без косточки (кожица и мякоть) в большом количестве содержат аргинин и пролин. В ЛРС крапивы двудомной преобладают аспарагиновая, глутаминовая кислоты, аргинин, лейцин, аланин, серин и треонин. В целом листья крапивы двудомной являются более богатым источником АК по сравнению с плодами облепихи крушиновидной.

Неидентифицированные зоны АК на хроматограммах извлечений (табл. 2), согласно литературным данным и результатам исследования аминокислотного со-

става анализируемого сырья методом КЭ (табл. 4), могут относиться к лизину ( $R_f = 0,05 \pm 0,02$ ), аспарагиновой кислоте ( $R_f = 0,16 \pm 0,02$ ), серину ( $R_f = 0,15 \pm 0,02$ ) и тирозину ( $R_f = 0,57 \pm 0,02$ ) [2]. В связи с тем, что хроматограммы извлечений из ЛРС имеют неодинаковый вид (рис. 1), мы предполагаем, что хроматографический профиль АК можно использовать для стандартизации сырья.

## ЛИТЕРАТУРА

1. В. А. Соболева, В. Н. Чушенко, А. А. Коломиец, *Электронный журнал "Провизор"*, № 17 (2010), <http://www.provisor.com.ua/>
2. Абу Захер Кхалед, Н. С. Журавлев, *Электронный журнал "Провизор"*, № 21 (2001), <http://www.provisor.com.ua/>
3. Л. А. Никифоров, М. В. Белоусов, Н. С. Фурса, *Бюл. сиб. мед.*, № 5, 74 – 77 (2011).
4. М. Ю. Круглова, Д. С. Круглов, М. А. Ханина, Н. С. Фурса, *Электронный журнал "Медицина и образование в Сибири"*, № 5 (2011), <http://www.ngmu.ru/cozo/mos/>
5. Е. Ю. Анчеева, *Электронный журнал "Современные проблемы образования и науки"*, № 2 (2013), <http://www.science-education.ru/>
6. А. В. Симонян, А. А. Саламатов, Ю. С. Покровская, А. А. Аванесян, *Использование нингидриновой реакции для количественного определения  $\alpha$ -аминокислот в различных объектах*, Метод. реком., Волгоград (2007).
7. Г. И. Олешко, Т. И. Ярыгина, Е. В. Зорина, М. Д. Решетникова, *Фармация*, № 3, 14 – 17 (2011).
8. Н. А. Буркина, Г. И. Калинин, Л. В. Фоминых, Л. В. Курдюкова, *Химия растит. сырья*, № 1, 81 – 83 (2000).
9. К. В. Губин, М. А. Ханина, *Электронный журнал "Медицина и образование в Сибири"*, № 5 (2011), <http://www.ngmu.ru/cozo/mos/>
10. Е. А. Вялых, С. А. Иларионов, А. В. Жданова, *Вестник Пермского универ.*, 2(6), 66 – 72 (2012).
11. В. Н. Майстренко, Р. Р. Ильясова, Ф. Х. Кудашева и др., *Вестник Башкирского универ.*, 13(2), 265 – 269 (2008).
12. *Государственная фармакопея*, XI изд., Вып. 2, Медицина, Москва (1990), сс. 274 – 275.
13. О. Б. Рудаков, И. А. Востров, С. В. Федоров и др., *Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии*, "Водолей", Воронеж (2004).
14. Н. В. Комарова, Я. С. Каменцев, *Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза "Капель"*, ООО "Веда", Санкт-Петербург (2006).
15. Ф. Гейсс, *Основы тонкослойной хроматографии*, Мир, Москва (1999).
16. О. В. Тринеева, И. И. Сафонова, Е. Ф. Сафонова, А. И. Сливкин, *Фармация*, № 7, 7 – 10 (2013).

Поступила 05.11.14

## TLC DETERMINATION OF AMINO ACIDS IN RAW MEDICINAL-PLANT MATERIALS (NETTLE LEAVES AND SEA BUCKTHORN FRUITS)

O. V. Trineeva, E. F. Safonova, A. V. Sinkevich, and A. I. Slivkin

Voronezh State University, Voronezh, 394006 Russia

A method for TLC separation and quantitative determination of free amino acids in aqueous extracts of medicinal plants (in particular, sea buckthorn fruits and nettle leaves) has been developed. The amino acid composition of sea buckthorn fruits and great nettle leaves was determined by capillary electrophoresis. An approach to the determination of amino acids in various objects using the standard-less identification based on calculations of  $R_s$  values is proposed. Due to the fact that the set of amino acids is unique for each type of raw plant material and also depends on the method of its preservation, the chromatographic amino acid profile can be used for standardization of these materials.

**Keywords:** amino acids; nettle leaves; sea buckthorn fruits; thin layer chromatography; capillary electrophoresis.