

УДК 543.544.5.068.7/543.51/615.322/615.074

## СОВРЕМЕННЫЕ СПОСОБЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ И ИДЕНТИФИКАЦИИ ФЛАВОНОИДОВ ГОРЯНКИ (EPIMEDIUM)

О.А. Шевлякова, А.А. Ихалайнен, А.М. Антохин, В.Ф. Таранченко,  
В.М. Гончаров, А.В. Аксенов, Д.А. Митрофанов, Е.И. Беризовская, И.А. Родин\*,  
О.А. Шпигун\*

(Научный центр «Сигнал»; e-mail: olesya.shevlyakova@gmail.com)

Рассмотрены современные методы анализа флавоноидов – основных действующих веществ горянки (*Epimedium*). Для выделения этих компонентов из растительного сырья применяют различные виды экстракции. Флавоноиды разделяют с помощью капиллярного электрофореза, тонкослойной хроматографии и высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) в сочетании с УФ- и масс-спектрометрическим детектированием.

**Ключевые слова:** флавоноиды, *Epimedium*, методы экстракции, тонкослойная хроматография, капиллярный электрофорез, высокоэффективная жидкостная хроматография, масс-спектрометрия.

Горянка (лат. *Epimedium*) – род многолетних травянистых растений семейства Барбарисовые, включает в себя более 60 видов. Встречается исключительно в Восточном полушарии, где заселяет предгорья Европы, Кавказа, Турции, Японии и Китая. В Северо-Западной Африке найден лишь один вид. В природе горянка произрастает во влажных горных лесах или на горных отрогах [1, 2].

В настоящее время обнаружено, что горянка нормализует мочеиспускание, устраняет головокружение, приводит в норму обмен жидкости, омолаживает организм, устраняет усталость, снимает стресс [3–5]. При этом в медицине используются лишь немногие виды горянки. Согласно китайской фармакопее [6], высушенные надземные части *Epimedium brevicornu Maxim.*, *Epimedium sagittatum Maxim.*, *Epimedium pubescens Maxim.*, *Epimedium wushanense T.S. Ying* и *Epimedium koreanum Nakai* содержат наиболее высокие концентрации флавоноидов, которые являются важнейшими функционально значимыми соединениями, присутствующими в горянке, и обладают биологической активностью (антиопухолевой, андрогенной, антидепрессантной, антиостеопорозной и иммуномодуляционной) [7–16]. Основные действующие компоненты горянки представлены в табл. 1.

Горянку широко используют в фитомедицине, поэтому для разработки методик идентификации, количественной оценки состава и контроля каче-

ства растительного сырья, экстрактов и коммерческих продуктов выполнено огромное число работ. Наиболее популярными методами определения действующих компонентов горянки стали высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и капиллярный электрофорез. Газовую хроматографию для исследования флавоноидов применяют реже жидкостной. Поскольку исследуемые вещества не обладают летучестью, для их определения требуется дериватизация, увеличивающая продолжительность анализа.

При изучении механизмов биологической активности растений и разработке методов их определения исследователи сталкиваются с проблемой труднодоступности стандартных образцов этих веществ [17]. Поэтому дальнейшее изучение влияния флавоноидов на живые организмы напрямую зависит от развития методов выделения, разделения, идентификации и определения действующих компонентов в горянке.

Данный обзор посвящен последним достижениям в аналитических методах извлечения, разделения, идентификации и определения биологически активных веществ для контроля качества растительного сырья, коммерческих продуктов и экстрактов горянки.

**Извлечение флавоноидов из горянки.** Пробоподготовка является одним из важных этапов в развитии аналитических методов для анализа лекарственных растений [18–20]. Оптимальный

\*Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова.

Таблица 1

Структурные формулы основных флавоноидов горянки (glu - глюкозил; rha - рамнозил; хyl - ксилозил; ас - ацетил)

Соединение					
	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	R <sup>3</sup>	R <sup>4</sup>	R <sup>5</sup>
Андрокаритин	H	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Андрокаритин-3,7-ди-О-глюкозид	glu	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Баохуозид I	rha	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Баохуозид II	rha	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	H
Баохуозид VII	rha(4-1)glu	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Тександразид E	glu	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	H
Тександразид F	rha(3-1)glu	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Икаризид I	H	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Икаризид II	rha	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Икаринин	rha	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Иперин	gal	H	H	OH	OH
Кемпферол-3-О-рамнозид	rha	H	H	H	H
Каохуозид A	rha(1-4)(OAc)-(1-3)glu(1-4)(OAc)(1-6)(OAc)	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Каохуозид B	rha(1-4)(OAc)-(1-3)glu(1-4)(OAc)(1-6)(OAc)	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Каохуозид C	rha	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	OH	CH <sub>3</sub>
Корепимедозид A	rha(1-4)(OAc)-(1-3)glu(1-4)(OAc)	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Корепимедозид C	rha(1-4)(OAc)-(1-3)glu	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
2'-О-рамнозил икаризид II	rha	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Сагиттатозид A	rha(2-1)glu	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Сагиттатозид B	rha(2-1)xyl	H	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Эпимедин A	rha-(1-2)glu	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Эпимедин B	rha-(1-2)xyl	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Эпимедин C	rha-(1-2)rha	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>
Эпимедозид A	rha	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	H
Эпимедозид C	H	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	H
Эпимедокореанозид I	rha(1-4)(OAc)-(1-3)glu(1-4)(OAc)	glu	CH <sub>2</sub> CH=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H	CH <sub>3</sub>

метод экстракции позволяет более полно исследовать состав основных компонентов горянки.

В качестве экстрагента для извлечения флавоноидов из горянки используют воду [21], а также смеси метанол–вода [22] и этанол–вода [23–35]. Наиболее предпочтительным является экстрагирование 70%-м этанолом [23–25, 27, 29, 31, 34]. Используют трудоемкие способы, требующие достаточно высокой температуры (кипячение и экстрагирование в аппарате Сокслета). Так, предложен метод экстрагирования пяти гликозидов флавоноидов горянки (икариин, эпимедин А, В, С и иперин) из высушенных листьев при нагревании (80°C) с 70%-м этанолом с обратным холодильником в течение 3 ч [24]. После охлаждения образец отфильтровывали, а супернатант лиофилизировали. В работе [26] измельченные листья экстрагировали 50%-м этанолом с обратным холодильником в течение 1 ч при 100°C, фильтрат выпаривали досуха при пониженном давлении. Авторы [36] экстрагировали флавоноиды 50%-м этанолом в течение 30 мин при 90°C, фильтровали через микропористые мембраны (0,45 мкм), фильтрат собирали, а твердые вещества экстрагировали еще 3 раза небольшим объемом 50%-го раствора этанола. Флавоноиды извлекали, измельченное растение смешивали с 50%-м этанолом и выдерживали в аппарате Сокслета при 90±2°C в течение 90 и 240 мин [37]. Наилучшее извлечение достигнуто при экстрагировании в течение 240 мин.

Ультразвуковое оборудование широко используют в аналитической химии, в частности, при экстрагировании. Достоинствами его применения являются уменьшение времени экстракции, снижение температуры и повышение полноты извлечения. Экстракцию проводили в ультразвуковом поле при 25°C (либо в течение 1 ч [23], либо в течение 30 мин [27]). Показано [34], что извлечение эпимедина А, В, С и икариина 50%-м этанолом в течение 30 мин при 50°C с использованием ультразвуковой техники эффективнее экстрагирования в аппарате Сокслета.

Предложен быстрый метод для одновременного определения 7 флавоноидов в горянке [33]. Пробоподготовку проводили с использованием жидкостной экстракции под давлением. В качестве растворителя использовали 70%-й этанол, размер частиц составлял 0,3–0,4 мм, температура 120°C, давление 10 МПа, время экстрагирования 10 мин. Затем экстракт пропускали через мембранные фильтры с размером пор 0,2 мкм. Такую же методику экстрагирования использовали для одновременного определения 15 флавоноидов [25, 38].

Экстракция в микроволновом поле является хорошей альтернативой методу Сокслета и обработке ультразвуком. Она обеспечивает равномерность прогревания образца [39], что позволяет значительно сократить энергозатраты и исключить потери тепла [40, 41]. Микроволновая экстракция икаризида I в течение 10 мин оказалась более эффективной по сравнению с традиционными методами извлечения [42]. Эксперименты показали, что выходы продукта экстракции возрастают с увеличением мощности. Оптимальные условия микроволнового извлечения: мощность 600 Вт, температура 70°C, продолжительность 10 мин. С использованием микроволновой экстракции разработан метод определения эпимедина А, В, С, икариина и икаризида I с помощью ВЭЖХ в сочетании с диодно-матричным детектором и tandem-масс-спектрометром [42].

**Выделение отдельных биоактивных компонентов горянки.** Компоненты горянки и их функции изучают с помощью выделения по принципу биоактивности [43]. Для доказательства биоактивности вещества готовят «нокаут»-экстракт, из которого данный компонент удален [44]. Если биоактивность полученного экстракта меньше, то устраненный компонент является физиологически активным. Такой подход используют в генной инженерии и фармакологических исследованиях с 1989 г. [45]. Для приготовления «нокаут»-экстракта используют различные варианты хроматографии.

В последнее время для выделения монокомпонентов применяют высокоскоростную противоточную хроматографию [46–58]. Так, предложен способ извлечения биоактивных компонентов (эпимедина А, В, С и икариина) с использованием высокоскоростной противоточной хроматографии и препаративной ВЭЖХ для оценки антиостеопорозной активности [29]. Для этого порошок травы горянки (*Herba Epimedium*) экстрагировали три раза 70%-м этанолом. Экстракт сушили под вакуумом в роторном испарителе. Высушенный порошок растворяли в подвижной фазе. Высокоскоростную противоточную хроматографию проводили с применением смесей *n*-гексан:*n*-бутанол:метанол:вода (1:5:1,5:6,5 по объему). Препаративное выделение осуществляли на колонке PRC-ODS длиной 250 мм, внутренним диаметром 20 мм, с размером зерна сорбента 5 мкм (фирмы «Shimadzu»). В качестве подвижной фазы использовали 0,05%-й водный раствор фосфорной кислоты и ацетонитрил. Детектировали действующие вещества при 270 нм.

Описан метод выделения икариина из этанольного экстракта *Epimedium segittatum* с помо-

щью высокоскоростной противоточной хроматографии [32]. Высушенные листья *Epimedium segittatum* экстрагировали 95%-м этанолом три раза. Экстракты объединяли и сушили под вакуумом. Гидрофобные компоненты удаляли последовательным извлечением *n*-гексаном, дихлорметаном и этилацетатом. Затем остаток три раза экстрагировали *n*-бутанолом. Экстракт упаривали под вакуумом и сушили вымораживанием. В высокоскоростной противоточной хроматографии использовали систему растворителей, состоящую из смеси *n*-гексан:*n*-бутанол:метанол:вода (1:4:2:6 по объему). Авторам удалось выделить икариин с чистотой 85,7 и 86,2%, которую проверяли методом ВЭЖХ с УФ-детектированием при 254 нм. Икариин с чистотой более 98% получали после перекристаллизации из воды.

В работе [31] предложен способ выделения икариина с чистотой 99,7% в одну стадию разделения. Авторам также удалось выделить эпимедокореанозид I (98,2%) и икариизид II (98,5%) Подготовка сырого экстракта заключалась в измельчении сухих листьев *Epimedium koreanum*. Полученный порошок экстрагировали 70%-м этанолом в течение 2 ч с обратным холодильником. Экстракцию повторяли дважды. Объединенный экстракт концентрировали под вакуумом. Более эффективный метод препаративного разделения с использованием высокоскоростной противоточной хроматографии проводили с применением смеси хлороформ:метанол:вода (4:3,5:2 по объему). Данная система растворителей оказалась оптимальной. При использовании смеси этилацетат:вода (5:5 по объему) чистота икаризида II составила только 68,2%. Система растворителей этилацетат:метанол:вода (5:1:5 и 5:3:5 по объему) позволила получить икариин с чистотой 98%, а икариизид II и эпимедокореанозид I с чистотой ниже 80%. При применении смесей хлороформ:метанол:вода (4:2,5:2 и 4:3:2 по объему) значительно увеличивается время разделения. Изменение соотношения растворителей приводит к уширению пика икаризида II (соотношение 4:3:2) и к уменьшению чистоты выделяемых флавоноидов (соотношение 4:4:2). Исследовано также влияние скорости вращения, скорости потока подвижной фазы и температуры на разделение изучаемых компонентов. Оптимальные результаты наблюдались при потоке 2,0 мл мин<sup>-1</sup>, частоте вращения 900 об мин<sup>-1</sup> и температуре 25°C. Чистоту выделенных флавоноидов проверяли методом ВЭЖХ с УФ-детектированием при 254 нм, а структуру подтверждали <sup>1</sup>H и <sup>13</sup>C ЯМР-спектрами.

Авторам работы [59] удалось выделить 4 индивидуальных биоактивных флавоноида с использованием двухрежимной противоточной хроматографии с системой растворителей, состоящей из *n*-бутанола, этилацетата, воды (3:7:10 по объему). Экстракцию из высушенных надземных частей *Epimedium brevicornum Maxim* проводили этилацетатом и этанолом при обработке ультразвуком. Чистота активных компонентов составляла 98,2% для эпимедина А, 92,6% для эпимедина В, 90,4% для эпимедина С и 96,8% для икариина.

Представленные способы выделения флавоноидов горянки позволяют получать их в достаточном количестве, тем самым способствуя изучению биологической активности данных компонентов и контролю качества фитопрепаратов.

**Определение флавоноидов методом тонкослойной хроматографии.** Тонкослойная хроматография (ТСХ) занимает одно из ведущих мест в качественном и полуколичественном анализе сложных природных, фармацевтических, медико-биологических и химических объектов [60, 61]. Основными преимуществами ТСХ являются ее гибкость, быстрота, стабильность и низкая стоимость анализа [62, 63]. В фармацевтической индустрии ТСХ применяют для быстрой оценки чистоты образца, качественного анализа или идентификации различных объектов из фармакопеи [64]. Несмотря на все преимущества ТСХ данный метод для определения флавоноидов горянки применяют сравнительно редко.

Авторы работы [28] сравнили ВЭЖХ и высокоэффективную тонкослойную хроматографию (ВЭТСХ) с денситометрическим детектированием икариина из экстрактов *Epimedium koreanum* и не обнаружили в полученных двумя методами результатах никаких статистически значимых различий. Исследовали пять образцов сухого экстракта *Epimedium koreanum* двумя методами одновременно (каждым методом по два раза). ВЭЖХ проводили при комнатной температуре в течение 40 мин. В качестве подвижной фазы использовали ацетонитрил и 0,03%-й водный раствор трифторуксусной кислоты. Детектировали при 270 нм.

ВЭТСХ проводили на стеклянных пластинах Kieselgel 60 F 254 (10×10 см) с использованием в качестве подвижной фазы смеси из этилацетата, ледяной уксусной кислоты, муравьиной кислоты, воды (10:1:1:2 по объему). Время элюирования составляло 20 мин. Для визуализации разделенных веществ применяли УФ-облучение при 270 нм. Для определения содержания использовали денситометр. Показано, что предложенный метод можно

применять для определения икариина в экстрактах горянки.

Однако главными недостатками методов ТСХ и ВЭТСХ остаются их недостаточная правильность, воспроизводимость и чувствительность.

**Определение действующих веществ горянки методом капиллярного электрофореза.** Капиллярный электрофорез (КЭ) на сегодняшний день является одним из наиболее перспективных и высокоэффективных методов разделения и анализа сложных смесей. Он находит все более широкое применение, в том числе для исследования лекарственных растений [65–72]. Данный метод характеризуется экономичностью (благодаря экспрессности анализа), высокой эффективностью разделения и небольшим расходом реагентов [73, 74]. КЭ применяют и для анализа флавоноидов горянки.

Предложен метод КЭ-УФ для одновременно определения икариина, икаризиды II и эпимедина А [35]. Сухие листья экстрагировали смесью этанола и воды (70:30) под действием ультразвука, после чего пропускали через колонку НР 20 (500×20 мм), применяя в качестве элюента 60%-й этанол. Оптимальные условия КЭ были получены при использовании 8 мМ бората натрия в смеси ацетонитрила и воды (60:40 по объему) (рН 11,4), напряжении +20 кВ и детектировании при 270 нм. Значения минимального определяемого содержания для трех флавоноидов колебались от 0,24 до 0,84 мг/кг (отношение сигнал/ шум = 3).

Пики идентифицировали тремя способами:

1) сравнение времени миграции пиков неизвестных компонентов со временами миграции стандартных образцов, полученными в тех же условиях;

2) сравнение УФ-спектров со спектрами стандартных образцов икариина, икаризиды II и эпимедина А, полученными в тех же условиях;

3) использованием метода добавок.

Данные, полученные методом КЭ-УФ, подтверждали ВЭЖХ-УФ [75]. Оба метода дали сопоставимые результаты (табл. 2). Из табл. 2 видно, что содержание флавоноидов зависит от вида горянки. Это означает, что растения сильно отличаются по качественному составу и по фармакологическому эффекту.

Авторы работы [76] оптимизировали метод [77] для количественного определения флавоноидов в горянке с использованием капиллярного зонного электрофореза (КЗЭ) с диодно-матричным детектированием для контроля качества растительного сырья и медицинских препаратов на его основе. Лучшее разделение действующих компонентов достигнуто при использовании 50 мМ боратного буферного раствора (рН 10,0), содержащего 22% ацетонитрила в качестве модификатора, напряжении 15 кВ и температуре 25 °С.

В табл. 3 приведены полученные результаты. Стоит отметить, что в качестве внутреннего стандарта использован рутин. Данные результаты хорошо согласуются с результатами работы [77].

Таблица 2

Содержание флавоноидов в листьях различных видов горянки, полученные методами КЭ-УФ и ВЭЖХ-УФ (мкг/кг) [35]

Образец	Икариин		Икаризид II		Эпимедин А	
	КЭ	ВЭЖХ	КЭ	ВЭЖХ	КЭ	ВЭЖХ
<i>E. sagittatum Maxim.</i>	20,4	20,8	4,2	4,5	10,4	10,8
<i>E. pubescens Maxim.</i>	32,5	31,0	9,0	8,7	18,4	17,6
<i>E. wushanense T. S. Ying</i>	54,2	52,7	12,0	11,2	36,2	35,7
<i>E. acuminatum</i>	16,3	16,9	4,2	4,4	12,1	11,6
<i>E. koreanum Nakai</i>	74,1	72,8	20,3	19,6	55,6	57,1
<i>E. leptorrhizum Stearn</i>	67,5	66,2	16,2	16,6	46,8	46,0
<i>E. membranaceus Franch</i>	45,3	44,1	11,4	10,7	29,2	28,5
<i>E. fargesii Franch</i>	55,4	52,9	16,2	16,1	40,0	39,2
<i>E. davidii Franch</i>	28,1	26,4	6,3	6,0	16,3	16,2
<i>E. sutchanense Franch</i>	42,7	43,2	13,1	12,5	31,2	30,9

Т а б л и ц а 3

## Содержание флавоноидов в различных образцах горянки (мг/г) [76]

Образец	Эпимедин В	Эпимедин А	Эпимедин С	Икариин
<i>E. sagittatum Maxim.</i>	1,4	2,2	16,9	5,4
<i>E. sagittatum Maxim.</i>	5,7	6,9	26,9	16,3
<i>E. sagittatum Maxim.</i>	3,0	4,2	58,4	6,9
<i>E. pubescens Maxim.</i>	3,7	7,8	4,8	3,0
<i>E. wushanense T.S.Ying</i>	6,0	9,3	14,4	6,4
Общий экстракт флавоноидов <i>Epimedium</i>	39,0	72,4	125,1	172,1

В последнее время большое внимание привлекает капиллярная электрохроматография (КЭХ) [78–83]. Это гибридный метод, сочетающий принципы КЭ и ВЭЖХ. В КЭХ движение подвижной фазы через колонку создается за счет приложенного вблизи концов капилляра электрического поля вследствие электроосмоса, а разделение аналитов происходит вследствие как различия в их электрофоретической подвижности, так и различия в их взаимодействии с неподвижной фазой. КЭХ имеет ряд принципиальных достоинств по сравнению с другими хроматографическими методами: малый расход реагентов и растворителей, отсутствие насосов высокого давления и простота управления потоком подвижной фазы с помощью изменяемого напряжения, а также высокая скорость разделения [84]. Все это стимулирует внедрение КЭХ в практику аналитических работ. Этот метод позволяет анализировать достаточно широкий круг объектов, в том числе флавоноиды из некоторых растительных лекарственных трав [85–87].

Описан метод КЭХ [33], позволяющий одновременно определить 7 флавоноидов: гександразид Е и F, кемпферол-3-О-рамнозид, икариин, эпимедин А, В, С и внутренний стандарт – байкалеин. Исследовано влияние таких параметров, как концентрация буферного раствора, рН и содержание ацетонитрила. Необходимое разделение получили при использовании капилляра Hypersil C18 (3 мкм, 100 мкм × 25 см) и подвижной фазы, состоящей из 20 мМ фосфатного буферного раствора (рН 4,0) и ацетонитрила (70:30 по объему) при 30 кВ и 25°C в течение 20 мин. Предел обнаружения и минимально определяемое содержание составили 8,6 и 42,8 мкг/мл соответственно. В табл. 4 представлены полученные результаты.

Согласно полученным данным, разные виды *Epimedium* значительно различаются по содер-

жанию исследуемых флавоноидов, что можно объяснить влиянием таких факторов, как место произрастания, время сбора и условия хранения. Данные табл. 2–4, указывают на необходимость контроля качества растительного сырья для проведения его стандартизации.

При сравнении двух методов следует отметить, что КЭХ в отличие от КЭХ требует меньше времени, экономических затрат и технического обслуживания.

**Определение флавоноидов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.** ВЭЖХ в сочетании с различными способами детектирования является одним из наиболее эффективных для идентификации, разделения и определения флавоноидов [88–93]. Общие сведения об определении активных компонентов горянки методом ВЭЖХ систематизированы в табл. 5. Рассмотрим более подробно отдельные примеры.

Чаще всего для определения флавоноидов горянки используют обращенно-фазовый вариант ВЭЖХ. В качестве неподвижных фаз применяют различные гидрофобные сорбенты с привитыми алкильными радикалами (табл. 5). В большинстве случаев используют колонки со сферическими частицами сорбента диаметром 5 мкм, а иногда и менее 2 мкм (метод ультраэффективной жидкостной хроматографии) [21, 25]. Использование сорбентов с диаметром зерен не выше 2 мкм позволяет сократить продолжительность анализа.

Разделение флавоноидов проводят, как правило, при элюировании смесями ацетонитрил–вода или метанол–вода с небольшим содержанием уксусной или муравьиной кислот [22, 26, 27]. Эти подвижные фазы удобны для разделения сложных смесей как флавоноидов, так и их гликозидов в условиях градиентного элюирования [25–27].

Т а б л и ц а 4

## Содержание исследуемых компонентов в горянке (мг/г) [33]

Образец	Гександразид E	Кемпферол-3-о-рамнозид	Гександразид F	Эпимедин А	Эпимедин В	Эпимедин С	Икариин
<i>E. brevicornum</i>	1,0	0,6	2,1	1,1	2,7	1,9	2,7
<i>E. sagittatum</i>	–*	–	9,4	1,1	0,7	6,8	1,3
<i>E. wushanense</i>	–	0,8	2,7	1,5	1,2	24,1	2,9
<i>E. pubescens</i> Гуанси	+**	–	1,2	1,7	1,9	5,4	6,3
<i>E. pubescens</i> Сычуань	+	–	0,8	2,2	2,9	10,5	2,8
<i>E. koreanum</i>	+	–	–	2,3	2,8	1,6	5,7

\*Аналит не обнаружен; \*\*содержание аналита ниже предела определения.

При определении действующих веществ горянки методом ВЭЖХ используют спектрофотометрические [27], диодно-матричные [25, 26, 38], масс-спектрометрические [22–23, 94] детекторы.

Спектрофотометрическое детектирование обычно проводят при 270 нм. Авторы работы [27] методом ВЭЖХ-УФ исследовали 10 представителей *E. Brevicornum*, собранных во время цветения в разных местах Китая. Все образцы имели гораздо большее содержание действующих веществ (икариина 8,5–39,9 мг/г, эпимедина А 2,3–8,4 мг/г, эпимедина В 6,7–55,7 мг/г, эпимедина С 5,4–23,0 мг/г, общее содержание целевых веществ 29,1–123 мг/г), чем указано в китайской фармакопее (икариина 5 мг/г, общее содержание флавоноидов 13 мг/г). Полученные результаты могут быть использованы для обеспечения безопасности при разработке биологически активных добавок или лекарственных средств на основе растительных экстрактов.

При определении флавоноидов применяют также метод одновременной регистрации при нескольких значениях длины волны – диодно-матричное детектирование [25, 26, 38]. Пределы обнаружения флавоноидов в этом случае обычно составляют 45–131 нг/мл. В работе [26] предложен способ автоматизированной классификации, упрощающий морфологическую таксономию видов *Epimedium*, с помощью ВЭЖХ с диодно-матричным детектированием.

В последние годы для идентификации и определения флавоноидов, присутствующих в лекарственных растениях и продуктах питания, все чаще используют метод ВЭЖХ с масс-спектрометрическим детектированием

(ВЭЖХ-МС) в условиях ионизации электрораспылением [23]. Действующие вещества горянки исследуют в режиме регистрации как положительных [24], так и отрицательных ионов [22]. В первом случае флавоноиды чаще всего образуют протонированные молекулы  $[M+H]^+$ , а во втором – депротонированные молекулы  $[M-H]^-$  и аддукты  $[M+2H_2O-H]^-$ ,  $[M+HCOOH-H]^-$  [22, 94].

Идентификация или подтверждение подлинности соединения – первый и важнейший шаг для создания количественного анализа. Информацию о структуре вещества можно получить с использованием тандемных масс-спектрометров [22, 94], а масс-спектрометрия высокого разрешения дает точную массу для определения брутто-формулы аналита [21]. Исследованы процессы фрагментации икариина при высокоэнергетической диссоциации соударением с использованием ионизации электрораспылением при атмосферном давлении с различными режимами регистрации и предложенной структуры фрагментных ионов [95].

С помощью тандемной масс-спектрометрии исследованы пути фрагментации фенольных соединений горянки [94]. Установлено, что пути фрагментации 3-О-, 7-О-, и 3,7-ди-О-гликозидов отличаются. Кроме того, с помощью разработанного метода ЖХ-МС/МС проанализировано распределение флавоноидов в семи видах горянки.

С использованием метода ВЭЖХ-МС/МС контролировали качество препарата Jiweiling, представляющего собой лиофилизированный порошок, содержащий экстракт женьшеня и горянки [22]. С помощью ВЭЖХ-МС/МС обнаружено 15 активных компонентов, содержащихся в этом лекарственном средстве.

Т а б л и ц а 5

Определение флавоноидов горянки методом ВЭЖХ

Объект анализа	Идентифицированные соединения	Неподвижная фаза; подвижная фаза; скорость потока; объем вводимой пробы	Детектор	Диапазон детектируемых масс (режим ионизации 1), энергия фрагментации, родительские и дочерние ионы	$C_{мин}$ , нг/мл	Лит.
1	2	3	4	5	6	7
<i>E. koreanum</i> , <i>E. brevicornum</i> , <i>E. pubescence</i> , <i>E. wushanense</i> , <i>E. sagittatum</i>	икариин, эпимедин А, эпимедин В, эпимедин С	Zorbax Eclipse Plus-C18 (250×4,6 мм, 5 мкм); метанол: ацетонитрил: 0,5%-й раствор уксусной кислоты в воде; 1 мл/мин; 20 мкл	ДМД <sup>2</sup> , 270 нм	–	–	[26]
<i>E. brevicornum</i>	икариин, эпимедин А, эпимедин В, эпимедин С	Zorbax SB-C8 (250×4,6 мм, 5 мкм); ацетонитрил: 36 % уксусная кислота в воде (4:100); 1 мл/мин; 5 мкл	УФ <sup>3</sup> , 272 нм	–	–	[27]
<i>E. brevicornum</i> , <i>E. sagittatum</i> , <i>E. pubescence</i> , <i>E. wushanense</i> , <i>E. koreanum</i> , <i>E. acuminatum</i> , <i>E. myrianthum</i> , <i>E. franchetii</i> , <i>E. stellulatum</i> , <i>E. zhushanense</i> , <i>E. lishihchenii</i> , <i>E. davidii</i>	баохоуозид I, баохоуозид II, баохоуозид VII, гександразид E, гександразид F, икариин, каохоуозид C, кемпферол-3-О-рамнозид, 2'-О-рамнозил икаринид II, сагиттатозид A, сагиттатозид B, эпимедин A, эпимедин B, эпимедин C, эпимедозид C	Zorbax SB-C18 (250×4,6 мм, 5 мкм); вода: ацетонитрил; 1 мл/мин; 10 мкл	ДМД, 270 нм; ESI-МС <sup>4</sup> для подтверждения	100–1000 Да (+)	47 110 123 45 45 50 130 46 120 131 46 51 47 49 47	[38]
<i>E. brevicornum</i> , <i>E. sagittatum</i> , <i>E. pubescence</i> , <i>E. wushanense</i> , <i>E. koreanum</i> , <i>E. acuminatum</i> , <i>E. myrianthum</i> , <i>E. franchetii</i> , <i>E. stellulatum</i> , <i>E. zhushanense</i> , <i>E. lishihchenii</i> , <i>E. davidii</i> , <i>E. fargesii</i> , <i>E. hunanense</i> , <i>E. leptorrhizum</i> , <i>E. platypetalum</i> , <i>E. sutchuenense</i>	баохоуозид I, баохоуозид II, баохоуозид VII, гександразид E, гександразид F, икариин, каохоуозид C, кемпферол-3-О-рамнозид, 2'-О-рамнозил икаринид II, сагиттатозид A, сагиттатозид B, эпимедин A, эпимедин B, эпимедин C, эпимедозид C	Acquity BEH C18 (50×2,1 мм, 1,7 мкм); 50 мМ раствор уксусной кислоты в воде: ацетонитрил; 0,25 мл/мин; 1 мкл	ДМД, 270 нм	–	120 10 50 110 110 130 130 120 120 130 50 50 120 50 120	[25]



Окончание табл. 5

1	2	3	4	5	6	7
<i>E. koreanum</i>	икариин, икаризид I, эпимедин А, эпимедин В, эпимедин С	Zorbax ODS C18 (250×4,6 мм, 5 мкм); вода:ацетонитрил; 0,8 мл/мин; 10 мкл	ДМД, 270 нм; ESI-МС/МС	50–2000 Да (+), 677→531→369 531→369→313 839→677→531 809→677→531 823→677→531	–	[42]
<i>E. koreanum</i> , <i>E. sagittatum</i>	икариин, иперин, эпимедин А, эпимедин В, эпимедин С	Capcell Pak C18 (150×2,0 мм, 5 мкм); 5 мМ формиат аммония в воде (рН 4,0):90% ацетонитрил с 5 мМ формиатом аммония (рН 4,0); 0,3 мл/мин; 10 мкл	ESI-МС/МС	(+) 677→369 465→303 839→369 809→369 823→369	менее 500	[24]
Jiweiling – лиофилизиро- ванный порошок, содержащий экстракт женьшеня и горянки	икариин, иперин, эпимедин А, эпимедин В, эпимедин С	Zorbax Eclipse XDB-C18 (4,6×150 мм, 5 мкм); 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в воде:ацетонитрил; 0,7 мл/мин; 20 мкл	ESI-МС/МС	(–) 721,2→513,1 463,1→300,0 837,2→675,2 807,3→645,2 821,3→659,2	0,57 0,50 1,08 1,10 1,01	[22]
<i>E. brevicornum</i> , <i>E. koreanum</i> , <i>E. pubescence</i> , <i>E. sagittatum</i> , <i>E. wushanense</i> , <i>E. acuminatum</i> , <i>E. myrianthum</i> , <i>E. truncatum</i> , <i>E. davidii</i> , <i>E. membranaceum</i>	баохоузид I, икариин, сагитгатозид В, 2''-О-рамнозил икаризид II, эпимедин А, эпимедин В, эпимедин С, кверцетин (внутренний стандарт)	Zorbax SB-C18 (100×2,1 мм, 3,5 мкм); 0,3%-й раствор уксусной кислоты в воде:ацетонитрил; 0,2 мл/мин; 5 мкл	ESI-МС	(+) 515 677 647 661 839 809 823 303	3,7–9,1	[23]
<i>E. koreanum</i>	29 фенольных соединений, в том числе: гександразид Е, икариин, икаризид I, икаризид II, каохоузид А, каохоузид В, эпимедин А, эпимедин В, эпимедин С, эпимедозид А	Zorbax SB-C18 (250×4,6 мм, 5 мкм); 0,1%-й раствор муравьиной кислоты в воде: ацетонитрил; 1,0 мл/мин; 10 мкл	ESI-МС/МС	(–), 25% 677→515→352 721→513→366 529→367→352 513→366→351 963→801→367 963→801→367 873→675→367 843→645→366 857→659→366 661→353→298	–	[89]
<i>E. koreanum</i>	51 активный компонент, в том числе: икариин, эпимедин А, эпимедин В, эпимедин С	RP18 (100×2,1 мм, 1,7 мкм); 0,3%-й раствор муравьиной кислоты в воде: ацетонитрил; 0,25 мл/мин; 2–10 мкл	ESI-МС/МС	(–), 25 В 721,23→367,12 837,28→367,12 807,27→367,12 821,29→367,12	–	[21]

### Выводы и перспективы

Подготовка образцов является одним из важных этапов в исследовании горянки. Для пробоподготовки чаще всего используют экстракцию (метанолом и этанолом). Применение ультразвука и микроволнового поля позволяет уменьшить время экстракции и увеличить эффективность.

В настоящее время ВЭЖХ–УФ и КЗЭ являются самыми удобными и простыми методами контроля содержания флавоноидов в растительном сырье, экстрактах и продуктах на их основе. Ограничением методов является необходимость использования стандартных образцов. Использование ВЭЖХ

в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием позволяет идентифицировать действующие вещества горянки, а также получить важную информацию об их структуре. Данный метод позволяет определить молекулярную массу и последовательность сахаридных заместителей. ВЭЖХ в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием можно использовать для количественной оценки содержания активных компонентов.

Предлагается более широкое применение и внедрение инструментальных методов анализа, таких как ВЭЖХ–МС и ЯМР, для контроля качества препаратов на основе горянки. Это позволит стандартизировать лекарственные средства.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Флора СССР. М., 1937. Т. 7. С. 542.
2. Энциклопедический словарь Ф.А. Брокгауза и И.А. Ефрона: Бесцветник. СПб., 1980. С. 1890.
3. Xu H.-B., Huang Z.-Q. // *Vascular Pharmacology*. 2007. Vol. 47. N 1. P. 18.
4. Shen P., Guo B.L., Gong Y., Hong D.Y., Hong Y., Yong E.L. // *Phytochemistry*. 2007. Vol. 68. N 10. P. 1448.
5. Ma H., He X., Yang Y., Li M., Hao D., Jia Z. // *J. Ethnopharmacol.* 2011. Vol. 134. N 3. P. 519.
6. Editorial Committee of Pharmacopoeia of Ministry of Health PR China, The Pharmacopoeia of People's Republic of China. Beijing. 2010. Vol. 1. P. 306.
7. Huang X., Zhu D.Y., Lou Y.J. // *Eur. J. Pharmacol.* 2007. Vol. 564. N 1-3. P. 26.
8. Humfrey C.D. // *Nat. Toxins*. 1998. Vol. 6. N 2. P. 51.
9. Felson D.T., Zhang Y., Hannan M.T., Kiel D.P., Wilson P.W., Anderson J.J. // *N. Engl. J. Med.* 1993. Vol. 329. N 16. P. 1141.
10. Pan Y., Kong L.D., Xia X., Zhang W.Y., Xia Z.H., Jiang F.X. // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2005. Vol. 82. N 4. P. 686.
11. Wu J., Du J., Xu C., Le J., Xu Y., Liu B., Dong J. // *Pharmacology, Biochemistry and Behavior*. 2011. Vol. 98. N 2. P. 273.
12. Ji H., Liu K., Li S.-P., Gong X.-J. // *J. Chin. Pharm. Univ.* 2000. Vol. 31. N 3. P. 222.
13. Meng F., Li Y., Xiong Z., Jiang Z., Li F. // *Phytomedicine*. 2005. Vol. 12. N 3. P. 189.
14. Ma A., Qi S., Xu D., Zhang X., Daloze P., Chen H. // *Transplantation*. 2004. Vol. 78. N 6. P. 831.
15. Cai M.L., Ji H., Li P., Wang M.Q. // *Chin. J. Nat. Med.* 2004. Vol. 2. N 4. P. 235.
16. Liu T.Z., Chen C.Y., Yin S.J., Chen C.H., Cheng J.T., Shih M.K., Wang Y.S., Chern C.L. // *Food Chem. Toxicol.* 2006. Vol. 44. N 2. P. 227.
17. Li S.P., Zhao J., Yang B. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* 2011. Vol. 55. N 4. P. 802.
18. Ong E.S. // *J. Chromatogr. B*. 2004. Vol. 812. N 1–2. P. 23.
19. Huie C.W. // *Anal. Bioanal. Chem.* 2002. Vol. 373. N 1–2. P. 23.
20. Zygmunt B., Namiesnik J. // *J. Chromatogr. Sci.* 2003. Vol. 41. N 3. P. 109.
21. Wang Y., Guo Z., Jin Y., Zhang X., Wang L., Xue X., Liang X. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* 2010. Vol. 51. N 3. P. 606.
22. Liu M., Zhao S., Jia J., Shi X., Song J., Wang H., Du Y., Zhang L. // *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.* 2011. Vol. 34. N 1. P. 2.
23. Wu C.S., Guo B.L., Sheng Y.X., Zhang J.L. // *Chinese Chemical Letters*. 2008. Vol. 19. P. 329.
24. Islam N.M., Yoo H.H., Lee M.W., Dong M.S., Park Y.I., Jeong H.S., Kim D. // *Phytochem. Anal.* 2008. Vol. 19. P. 71.
25. Chen X.J., Ji H., Zhang Q.W., Tu P.F., Wang Y.T., Guo B.L., Li S.P. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* 2008. Vol. 46. N 2. P. 226.
26. Xie P.-S., Yan Y.-Z., Guo B.-L., Lam C. W. K., Chui S. H., Yu Q.-X. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* 2010. Vol. 52. N 4. P. 452.
27. Xu Y., Li Z., Yuan L., Zhang X., Lu D., Huang H., Wang Y. // *Chemistry and Biodiversity*. 2013. Vol. 10. N 4. P. 711.
28. Pozharitskaya O. N., Kosman V. M., Shikov A. N., Demchenko D.V., Eschenko A.Y., Makarov V.G. // *J. Sep. Sci.* 2007. Vol. 30. N 5. P. 708.
29. Jin J., Li Y., Tanui E. K., Han L., Jia Y., Zhang L., Wang Y., Zhang X., Zhang Y. // *J. Ethnopharmacol.* 2013. Vol. 147. N 2. P. 357.
30. Li Y., Duan J., Guo T., Xie W., Yan S., Li B., Zhou Y., Chen Y. // *J. Ethnopharmacol.* 2009. Vol. 124. N 3. P. 522.
31. Liu R., Li A., Sun A., Cui J., Kong L. // *J. Chromatogr. A*. 2005. Vol. 1064. N 1. P. 53.
32. Dua Q., Xia M., Ito Y. // *J. Chromatogr. A*. 2002. Vol. 962. N 1–2. P. 239.
33. Chen X.-J., Ji H., Wang Y.-T. // *J. Sep. Sci.* 2008. Vol. 31. N 4. P. 881.
34. Zhang H.-F., Yang T.-S., Li Z.-Z., Wang Y. // *Ultrasonics Sonochemistry*. 2008. Vol. 15. N 4. P. 376.
35. Lu Y., Wu H., Tian Y., Cheng Y., Qi R., Wu Y., Zhang S. // *Analytical Letters*. 2010. Vol. 43. N 15. P. 2381.
36. Chen Y.F., Feng Y., Hong S.Z., Zhu S.H. // *China Journal of Chinese Materia Medica*. 2005. Vol. 20. P. 1625.
37. Hemwimol S., Pavasant P., Shotipruk A. // *Ultrasonics Sonochemistry*. 2006. Vol. 13. N 6. P. 543.

38. *Chen X.J., Guo B.L., Li S.P., Zhang Q.W., Tu P.F., Wang Y.T.* // *J. Chromatogr. A.* 2007. Vol. 1163. N 1-2. P. 96.
39. *Galema S.A.* // *Chem. Soc. Rev.* 1997. Vol. 26. N 3. P. 233.
40. *Cao Z.Y., Ge H.C., Lai S.L.* // *Eur. Polym. J.* 2001. Vol. 37. N 10. P. 2141.
41. *Shao J., Yang Y.M., Zhong Q.Q.* // *Polym. Degrad. Stab.* 2003. Vol. 82. N 3. P. 395.
42. *Kan H., Yue Y., Guo L.-N.* // *J. Liq. Chrom. Rel. Technol.* 2014. Vol. 37. N 15. P. 2091.
43. *Li P., Qi L.W., Liu E.H., Zhou J.L., Wen X.D.* // *Trends Anal. Chem.* 2008. Vol. 27. N 1. P. 66.
44. *Liu Y., Zhou J.L., Liu P., Sun S., Li P.* // *J. Chromatogr. A.* 2010. Vol. 1217. N 32. P. 5239.
45. *Hui D.Y.* // *J. Nutr.* 1998. Vol. 128. N 11. P. 2052.
46. *Li H.B., Chen F., Zhang T.Y., Yang F.Q., Xu G.Q.* // *J. Chromatogr. A.* 2001. Vol. 905. N 1-2. P. 151.
47. *Han Q.B., Wong L., Yang N.Y., Song J.Z., Qiao C.F., Yiu H., Ito Y., Xu H.X.* // *J. Sep. Sci.* 2008. Vol. 31. N 6-7. P. 1189.
48. *Lu Y.B., Sun C.R., Pan Y.J.* // *J. Sep. Sci.* 2006. Vol. 29. N 3. P. 351.
49. *Li H.B., Chen F.* // *J. Chromatogr. A.* 2004. Vol. 1047. N 2. P. 249.
50. *Chen L.J., Games D.E., Jones J.* // *J. Chromatogr. A.* 2003. Vol. 988. N 1. P. 95.
51. *Li H.B., Chen F.* // *J. Sep. Sci.* 2005. Vol. 28. N 3. P. 268.
52. *Du Q.Z., Xia M., Ito Y.* // *J. Chromatogr. A.* 2002. Vol. 962. N 1-2. P. 239.
53. *Ito Y.* // *J. Chromatogr. A.* 2005. Vol. 1065. N 2. P. 145.
54. *Li H.B., Chen F.* // *J. Chromatogr. A.* Vol. 1083. N 1-2. P. 102.
55. *Aman R., Carle R., Conrad J., Beifuss U., Schieber A.* // *J. Chromatogr. A.* 2005. Vol. 1074. N 1-2. P. 99.
56. *Li H.B., Fan K.W., Chen F.* // *J. Sep. Sci.* 2006. Vol. 29. N 5. P. 699.
57. *Liu R.M., Li A.F., Sun A.L., Cui J., Kong J.* // *J. Chromatogr. A.* 2005. Vol. 1064. N 1. P. 53.
58. *Lu Y.B., Sun C.R., Pan Y.J.* // *J. Sep. Sci.* 2006. Vol. 29. N 2. P. 314.
59. *Li H.-B., Chen F.* // *J. Chromatogr. Sci.* 2009. Vol. 47. N 5. P. 337.
60. *Гейсс Ф.* Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография). 1988. Vol. 1.
61. *Гейсс Ф.* Основы тонкослойной хроматографии (планарная хроматография). 1988. Vol. 2.
62. *Hahn-Deinstrop E.* *Applied Thin-Layer Chromatography.* Wiley. 2007.
63. *Reich E., Widmer V.* *Thin Layer Chromatography,* Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry. Wiley. 2012.
64. Государственная Фармакопея Российской Федерации. Москва. 2010. Т. 1. 704 с.
65. *Chen G., Zhang H., Ye J.* // *Analytica Chimica Acta.* 2000. Vol. 423. N 1. P. 69.
66. *Cherkaoui S., Bekkouche K., Christen P., Veutheyet J.L.* // *J. Chromatogr. A.* 2001. Vol. 922. N 1-2. P. 321.
67. *Chu I., Vodnar J. A., White E. L., Bowman R.N.* // *J. Chromatogr. A.* 1996. Vol. 755. N 2. P. 281.
68. *Guo B.-Y., Wen B., Shan X.-Q., Zhang S.Z., Lin J.M.* // *J. Chromatogr. A.* 2005. Vol. 1074. N 1-2. P. 205.
69. *Lochmann H., Bazzanella A., Kropsch S., Böckmann K.* // *J. Chromatogr. A.* 2001. Vol. 917. N 1-2. P. 311.
70. *Arlt K., Brandt S., Kehr J.* // *J. Chromatogr. A.* 2001. 926. N 2. P. 319.
71. *Olsson J., Claesson K., Karlberg B., Nordström A.C.* // *J. Chromatogr. A.* 1998. Vol. 824. N 2. P. 231.
72. *Hurtado-Fernandez E., Gomez-Romero M., Carrasco-Pancorbo A., Fernandez-Gutierrez A.* // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* 2010. Vol. 53. N 5. P. 1130.
73. *Хомов Ю.А., Фомин А.Н.* // *Современные проблемы науки и образования: Эл. журнал.* 2012. № 5.
74. *Неудачина Л.К., Лебедева Е.Л., Кузнецов А.О.* // *Химия растительного сырья.* 2011. № 4. С. 161.
75. *Li Y., Xiong Z., Li F.* // *J. Chromatogr. B.* 2005. Vol. 821. N 2. P. 235.
76. *Liu J.J., Li S.P., Wang Y.T.* // *J. Chromatogr. A.* 2006. Vol. 1103. N 2. P. 344.
77. *Chai Y., Ji S., Zhang G., Wu Y., Yin X., Liang D., Xu Z.* // *Biomed. Chromatogr.* 1999. Vol. 13. N 5. P. 373.
78. *Eeltink S., Rozing G.P., Kok W.T.* // *Electrophoresis.* 2003. Vol. 24. N 22-23. P. 3935.
79. *Vanhoenacker G., Bosch T.V.D., Rozing G., Sandra P.* // *Electrophoresis.* 2001. Vol. 22. N 19. P. 4064.
80. *Eeltink S., Kok W.T.* // *Electrophoresis.* 2006. Vol. 27. N 1. P. 84.
81. *Dermaux A., Sandra P.* // *Electrophoresis.* 1999. Vol. 20. N 15-16. P. 3027.
82. *Yang F.Q., Li S.P., Li P., Wang Y.T.* // *Electrophoresis.* 2007. Vol. 28. N 11. P. 1681.
83. *Li P., Li S. P., Yang F. Q., Wang Y.T.* // *J. Sep. Sci.* 2007. Vol. 30. N 6. P. 900.
84. *Маерле К.В.* Дис. ... канд. хим. наук. М., 2009.
85. *Zhang L., Zhang J., Wang H., Zhang L., Zhang W., Zhang Y.* // *J. Sep. Sci.* 2005. Vol. 28. N 8. P. 774.
86. *Fonseca F.N., Tavares M.F.M., Horvath C.* // *J. Chromatogr. A.* 2007. Vol. 1154. N 1. P. 390.
87. *Vanhoenacker G., Dermaux A., Keukeleire D. D., Sandra P.* // *J. Sep. Sci.* 2001. Vol. 24. N 1. P. 55.
88. *Кочетова М.В., Семеновская Е.Н., Ларионов О.Г., Ревина А.А.* // *Успехи химии.* 2007. Т. 76. № 1. С. 88.
89. *Куркин В.А., Гриненко Н.А., Запесочная Г.Г.* // *Химия природн. соед.* 1992. № 1. С. 45.
90. *Дубичев А.Г., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Воронцов Е.Д.* // *Химия природных соединений.* 1991. № 2. С. 188.
91. *Сенцов М.Ф., Браславский В.Б., Куркин В.А., Запесочная Г.Г., Бакулин В.Т., Правдивцева О.Е.* // *Растительные ресурсы.* 1997. Т. 33. № 2. С. 51.
92. *Тюкавкина Н.А., Колесник Ю.А.* Сб. науч. тр. «Актуальные проблемы современной фармации». М., 1986. С. 110.
93. *Иващенко Н.В., Самылина И.А., Лапишихина А.А.* // *Фармация.* 2014. № 7. С. 16.
94. *Zhao H.-Y., Sun J.-H., Fan M.-X.* // *J. Chromatogr. A.* 2008. Vol. 1190. N 1. P. 157.
95. *Шевлякова О.А., Ихалайнен А.А., Антохин А.М., Таранченко В.Ф., Гончаров В.М., Аксёнов А.В., Митрофанов Д.А., Родин И.А., Шнигуин О.А.* // *Масс-спектрометрия.* 2014. Т. 11. N 4. P. 247.

**MODERN APPROACHES FOR DETERMINATION AND IDENTIFICATION OF FLAVONOIDS (EPIMEDIUM)**

**O.A. Shevlyakova, A.A. Ichalanyen, A.M. Antochin, V.F. Taranchenko, V.M. Goncharov, A.V. Aksenov, D.A. Mitrofanov, E.I. Berizovskaya, I.A. Rodin, O.A. Shpigun**

*(Federal State Unitary Enterprise Scientific Center «Signal»)*

**This article reviewed current methods of analysis of flavonoids - the main active substances of Epimedium. For the purification of these components from plant material different extraction techniques were used. Separation of flavonoids carried by such methods as capillary electrophoresis, thin layer chromatography and high performance liquid chromatography in combination with UV and mass spectrometric detection.**

**Key words:** flavonoids, Epimedium, extraction techniques, thin layer chromatography, capillary electrophoresis, high performance liquid chromatography, mass spectrometry.

**Сведения об авторах:** *Шевлякова Олеся Александровна* – науч. сотр. НЦ «Сигнал» (olesya.shevlyakova@gmail.com); *Ихалайнен Андрей Александрович* – вед. науч. сотр. НЦ «Сигнал», докт. биол. наук, доцент (an12321na@gmail.com); *Антохин Андрей Михайлович* – зам. директора НЦ «Сигнал» по научной работе, канд. техн. наук, доцент (antohin\_08@mail.ru); *Таранченко Виктор Федорович* – начальник отдела НЦ «Сигнал», канд. хим. наук, доцент (victaran@rambler.ru); *Гончаров Валерий Михайлович* – вед. науч. сотр. НЦ «Сигнал», канд. хим. наук, доцент (GVM52005@ya.ru); *Митрофанов Дмитрий Александрович* – вед. науч. сотр. НЦ «Сигнал», канд. хим. наук, доцент (lab-tech@mail.ru); *Аксенов Алексей Вадимович* – зав. лаб. НЦ «Сигнал», канд. техн. наук, доцент (aksenov\_av@list.ru); *Беризовская Елена Игоревна* – науч. сотр. НЦ «Сигнал» (eiberizovskaya@rambler.ru); *Родин Игорь Александрович* – ст. науч. сотр. кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, канд. хим. наук (igorrodin@ya.ru); *Шпигун Олег Алексеевич* – профессор кафедры аналитической химии химического факультета МГУ, член-корр. РАН, докт. хим. наук (shpigun@analyt.chem.msu.ru).