

DOI: 10.26896/1028-6861-2019-85-1-I-18-27

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЭКСТРАКТОВ КОРНЕЙ *P. ginseng* И *P. quinquefolius* МЕТОДОМ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ¹

© Елизавета Сергеевна Федорова, Елена Алексеевна Стеколыщикова, Олег Алексеевич Шпигун, Игорь Александрович Родин, Андрей Николаевич Ставрианиди

Московский государственный университет имени М. В. Ломоносова, Москва, Россия;
e-mail: Stavrianidi.andrey@gmail.com

Статья поступила 23 июля 2018 г. Поступила после доработки 23 июля 2018 г.
Принята к публикации 25 ноября 2018 г.

С использованием метода высокоэффективной жидкостной хромато-масс-спектрометрии (ВЭЖХ-МС) разработан подход к определению тритерпеновых гликозидов в экстрактах женьшеня. Повышение селективности по сравнению с используемыми для стандартизации экстрактов из растительного сырья ВЭЖХ-УФ методиками позволило одновременно идентифицировать и определять 23 основных и минорных гинсенозида. Для этого помимо применения высокоселективного МС детектирования ионов аддуктов молекул гинсенозидов с натрием и фрагментных ионов сапогенина, были специально подобраны условия для хроматографического разделения на сорбенте с привитыми пентафторфенильными группами. Отдельно исследовали влияние температуры и состава подвижной фазы на селективность разделения определяемых гликозидов. Для некоторых пар соединений (F4 и Rg6, Rk3 и Rh4) добиться полного хроматографического разделения пиков не удалось, однако их определение при совместном присутствии возможно благодаря регистрации различающихся по отношению m/z сигналов. Для всех определяемых соединений были установлены диапазоны линейности и уравнения градуировочных зависимостей, а также определены метрологические характеристики, такие как предел обнаружения и воспроизводимость. Разработанный подход был опробован при стандартизации референтных экстрактов корней азиатского (*P. ginseng*) и американского (*P. quinquefolius*) женьшеня. Для некоторых гинсенозидов заявленные производителем содержания не соответствовали действительным, для остальных определенные концентрации оказались близки к заявленным. Кроме того, удалось расширить круг контролируемых гинсенозидов, что важно при медицинском применении таких экстрактов.

Ключевые слова: высокоэффективная жидкостная хроматография; масс-спектрометрия; контроль качества; растительные экстракты; гинсенозиды; селективность; пентафторфенильные заместители.

STANDARDIZATION OF *P. ginseng* AND *P. quinquefolius* ROOT EXTRACTS BY LIQUID CHROMATOGRAPHY-MASS SPECTROMETRY

© Elizaveta S. Fedorova, Elena A. Stekolshchikova, Oleg A. Shpigun, Igor A. Rodin, Andrei N. Stavrianidi

Lomonosov Moscow State University, Department of Chemistry, Moscow, Russia; e-mail: stavrianidi.andrey@gmail.com

Received July 23, 2018. Revised July 23, 2018. Accepted November 25, 2018.

An approach to detection of triterpene glycosides in ginseng extracts is developed using high performance liquid chromatography/mass spectrometry (HPLC-MS). Enhanced selectivity compared to commonly used HPLC-UV techniques provides simultaneous registration of chromatographic peaks and determination of 23 major and minor ginsenosides. For this purpose, in addition to the use of highly selective MS detection of adduct ions of sodium ginsenoside molecules and fragmentary sapogenin ions, special conditions of chromatographic separation on a sorbent modified with pentafluorophenyl (PFP) groups were specified. The effect of column temperature and mobile phase composition on the separation selectivity of glycosides was also studied. Though we failed to achieve complete chromatographic separation of the peaks for several compounds (F4 and Rg6, Rk3 and Rh4), their determination appeared possible in case of

¹ Работа поддержана Российским фондом фундаментальных исследований (РФФИ) (№ гранта: мол_а_дк 16-33-60007).

their joint attendance due to registration of the signals that differ in the value of m/z ratio. For all studied compounds, the linearity ranges and calibration equations along with the metrological characteristics such as the detection limit and reproducibility were determined. The developed approach was tested in standardization of the reference extracts of Asian (*P. ginseng*) and American (*P. quinquefolius*) ginseng roots. For some ginsenosides, the content declared by the manufacture did not match the actual content, but for others the concentrations were close to the declared values. Moreover, we managed to expand the range of ginsenosides under control which is rather important for their use in medicine.

Keywords: high performance liquid chromatography; mass spectrometry; quality control; plant extracts; ginsenosides; selectivity; pentafluorophenyl substituents.

Контроль качества продуктов питания, биологически активных добавок (БАД) и средств традиционной медицины на основе растений является актуальной задачей современного здравоохранения, поскольку такие препараты, в отличие от лекарств, не проходят все стадии проверки соответствия состава и определения опасных примесей [1]. Основными проблемами при проведении анализа для установления состава растительных препаратов являются присутствие большого числа компонентов или даже групп компонентов, схожих по структуре, большинство из которых обладает физиологической активностью, а также отсутствие коммерчески доступных стандартных образцов, которые могут быть использованы для достоверной идентификации и определения этих компонентов [2]. Источником информации о качественном и количественном составе лекарственных растений могут служить данные об исследовании референтного растительного материала, полученного из проверенного растительного сырья или имеющего ваучер, подтверждающий подлинность и принадлежность к определенному виду с указанием возраста растения и географического региона его сбора, поскольку состав и содержание физиологически активных компонентов могут быть различными. Такие особенности следует учитывать при разработке критериев выявления фальсификатов. На сегодняшний день для подтверждения подлинности растительного продукта определяют основные известные компоненты — биомаркеры. В продажу поступают референтные растительные материалы и референтные образцы экстрактов растений с указанием способа извлечения и содержания в них биомаркеров. Такие образцы доступны для самых известных лекарственных растений, в частности, для женьшеня.

Женьшень (род *Panax*) в настоящее время применяют как биологически активную добавку, адаптоген и общеукрепляющее средство, повышающее сопротивляемость организма к физическому, химическому и биологическому стрессу [2, 3]. Наиболее часто такие препараты изготавливают на основе *Panax ginseng* (в Корее и Азии), *Panax quinquefolius* (в США), *Panax notoginseng* (в Китае и Японии). Наиболее изучен ко-

рейский женьшень, который использовали в медицине стран Азии на протяжении 5000 лет [1]. Биомаркерами женьшеня являются гинсенозиды — вещества, относящиеся к классу тритерпеновых сапонинов, молекулы которых состоят из основания (сапогенина) и углеводных боковых цепей [4]. Наиболее распространенными являются гинсенозиды с сапогенинами протопанаксатриольного (ППТ) и протопанаксациольного (ППД) типов. Так, в работе [5] было решено использовать три гинсенозида ППД-типа (Rb1, Rb2, Rd) и один гинсенозид ППТ-типа (Rf) в качестве биомаркеров для определения присутствия *P. ginseng* в составе БАД. Выбор этот, вероятно, был продиктован хорошим разделением этих гинсенозидов на хроматографических колонках, заполненных октадецилсиликагелем, в отличие, например, от гинсенозидов Rc и Rb3 [6]. Однако более существенным является то, что присутствие гинсенозида Rf в *P. ginseng*, нотогинсенозида R1 в *P. notoginseng* и относящегося к октиллльному (ОТ) типу псевдогинсенозида F11 в *P. quinquefolius* является характеристическим и позволяет различать эти виды женьшеня [7 – 9]. Однако фармакопеей США [10] рекомендовано использование суммарного содержания шести гинсенозидов — Rb1, Rb2, Rc, Re, Rg1 и Rd для контроля качества корней женьшеня. Таким образом, современные методы анализа должны обеспечивать удовлетворительное хроматографическое разделение и возможность одновременного определения как можно большего числа гинсенозидов-биомаркеров, относящихся к разным группам по типу сапогенина.

Разделение гинсенозидов женьшеня проводят на сорбентах с привитыми группами C18, а для регистрации сигнала применяют УФ-детектирование [11, 12], испарительное детектирование по светорассеянию (ИДСР) [13, 14] и масс-спектрометрическое детектирование [6, 15]. Из-за неселективного поглощения сапонинов женьшеня в диапазоне длин волн 190 – 220 нм применение УФ-детектирования обычно приводит к завышенным значениям концентраций гинсенозидов, особенно в случае перекрывания хроматографических пиков основных определяемых и минорных или примесных компонентов.

В тех случаях, когда необходимы высокая достоверность и селективность определения биомаркеров, необходимо использовать более сложные комбинированные ВЭЖХ-МС методы. Таким образом, целью настоящего исследования стала разработка усовершенствованного способа ВЭЖХ-МС определения гинсенозидов и его применение для стандартизации существующих референтных образцов экстрактов женьшеня.

Оборудование и реагенты. В работе использовали следующие реактивы: псевдогинсенозиды F11 и RT5, гинсенозиды Rb1, Rb2, Rb3, Re, Rd, Rg1, Rf, Rc, Rg2, Rg3, Rh1, Rh2, R1 и C-K (>98 %, Phytolab GmbH, Германия); гинсенозиды F1, F2, Rg6, Rh4, Rk3, F4, Rk1, Rg5 и Ro (>98 %, ChromaDex Int., США); ацетонитрил и метанол (для градиентной хроматографии Panreac, Испания), уксусную и муравьиную кислоты (Sigma-Aldrich, США). Деионизированную воду получали из дистиллированной с помощью установки Milli-Q (Millipore, США).

Анализ проводили с использованием ВЭЖХ-МС/МС системы, состоящей из tandemного масс-спектрометра QTrap 3200 (AB Sciex, Канада), оснащенного источником электрораспыли-

тельной ионизации (ИЭР), и системы ВЭЖХ ULTIMATE 3000 (Thermo Scientific, США). При определении гинсенозидов использовали колонки с обращенно-фазовым сорбентом Hypersil Gold PFP (150 × 2,1 мм; 3,0 мкм) и Acclaim RSLC 120 C18 (150 × 3,0 мм; 3,0 мкм) производства Thermo Scientific (США). Экспериментальные данные регистрировали и обрабатывали с помощью персонального компьютера и программных пакетов «Analyst» (AB Sciex, Канада).

Приготовление стандартных растворов и построение градуировочных зависимостей. Точные навески гинсенозидов массой 1 мг растворяли в 1 мл метанола. Полученные растворы использовали для приготовления стокового раствора с концентрациями гинсенозидов на уровне 40 мкг/мл, который хранили при –17 °С в течение не более 10 суток. Полученный стоковый раствор использовали для приготовления серии градуировочных растворов с концентрациями: 20, 10, 5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,313, 0,156, 0,078, 0,039 мкг/мл в 50 %-ном водном растворе ацетонитрила в день проведения анализа. Метрологические характеристики определения гинсенозидов приведены в табл. 1.

Таблица 1. Метрологические характеристики при определении гинсенозидов женьшеня

Гинсенозид	Время удерживания, мин	Диапазон линейности, нг/мл	Уравнение градуировочной зависимости	Коэффициент детерминации, r^2	Предел обнаружения, нг/мл	S_r , %
R1	10,85	39 – 1250	$y = 467\,619x + 3969,7$	0,9999	12	4,7
Rg1	12,50	39 – 1250	$y = 441\,310x + 14\,561$	0,9980	12	10,1
Re	13,15	39 – 1250	$y = 329\,165x + 6957,7$	0,9993	12	4,7
F11	17,40	39 – 1250	$y = 530\,460x + 13\,562$	0,9987	12	0,3
RT5	18,60	39 – 625	$y = 315\,300x + 3658,3$	0,9979	12	9,3
Rf	22,22	39 – 625	$y = 719\,818x + 7329,2$	0,9986	12	7,7
Rh1	25,24	39 – 625	$y = 905\,968x + 15146$	0,9975	12	9,3
Rg2	26,21	39 – 1250	$y = 496\,145x + 5436,3$	0,9982	12	10,5
Rb1	31,10	39 – 1250	$y = 136\,623x - 48,458$	0,9998	12	13,0
Rc	32,10	39 – 1250	$y = 156\,458x + 574,43$	0,9989	12	7,9
Ro	32,56	39 – 312,5	$y = 655\,204x + 1447,8$	0,9993	12	9,7
Rb2	33,20	39 – 625	$y = 160\,003x - 2616,7$	0,9993	12	5,1
Rb3	33,70	39 – 1250	$y = 261\,854x - 974,53$	0,9990	12	3,0
Rd	34,95	39 – 1250	$y = 338\,043x - 4253,9$	0,9998	12	5,4
Rk3	37,00	39 – 625	$y = 75\,167x + 2477,5$	0,9988	12	4,1
F4	37,10	39 – 625	$y = 118\,282x + 3441,7$	0,9991	12	3,7
Rg6	37,60	39 – 625	$y = 118\,282x + 3441,7$	0,9991	12	3,7
Rh4	37,69	78 – 625	$y = 47\,461x + 427,83$	0,9996	24	3,5
F2	41,01	39 – 1250	$y = 560\,565x - 12\,386$	0,9990	12	9,3
Rg3	42,83	39 – 625	$y = 602\,212x - 19\,708$	0,9983	12	16,6
C-K	48,04	39 – 312,5	$y = 401\,208x - 7895,7$	0,9988	12	4,9
Rg5	48,90	39 – 312,5	$y = 214\,225x - 815,65$	0,9933	12	18,1
Rk1	49,28	39 – 312,5	$y = 115\,561x + 1492,2$	0,9990	12	10,0

Пробоподготовка растительных экстрактов. Отбирали 0,010 г сухих образцов референтных экстрактов *P. ginseng* и *P. quinquefolius* (ChromaDex Int., США) и добавляли 1 мл экстрагента (70 %-ный раствор метанола в воде). Далее выдерживали смесь при температуре не более 30 °С в ультразвуковой ванне в течение 10 мин. После этого отбирали 3 мл экстракта и пропускали через 0,45 мкм шприцевой фильтр Chromafil Xtra PET-45/25 (Macherey-Nagel GmbH, Германия). Затем образцы разбавляли 50 %-ным водным раствором метанола в 10, 100 и 1000 раз. Полученные растворы анализировали методом ВЭЖХ-МС/МС в режиме регистрации выбранных ионов.

Условия хромато-масс-спектрометрического определения. Определение проводили с использованием источника ИЭР в режиме регистрации положительно заряженных ионов. Температура источника ионизации составляла 350 °С, напряжение на капилляре — 5,5 кВ; давление газа-завесы — $1,0 \cdot 10^5$ Па; давление газа-распылителя и газа-осушителя — около $2,8 \cdot 10^5$ Па. Значение потенциала декластеризации (ПД), равное 60 В, было установлено для регистрации ионов с m/z 405,3, 407,3, 439,3, 393,3, 643,3 и 789,3, для ионов с m/z 423,3 и 425,3 значение ПД составляло 50 В. Значение входного потенциала на нулевом квадруполе — 10 В. Состав подвижной фазы: водный раствор муравьиной кислоты 0,5 % (элюент А) и ацетонитрил (элюент Б). Разделение пробы проводили в градиентном режиме подачи элюента, скорость потока составляла 0,5 мл/мин. Температура термостата колонки — 25 °С, объем вводимой пробы — 0,010 мл. Программа градиентного элюирования представлена ниже:

Временной интервал, мин	Изменение концентрации элюента Б, %
0,0 – 1,0	14
1,0 – 11,0	14 – 18
11,0 – 25,0	18 – 24
25,0 – 45,0	24 – 37
45,0 – 52,0	37 – 45
52,0 – 53,0	45 – 93
53,0 – 56,0	93
56,0 – 56,2	93 – 14
56,2 – 61,0	14

Выбор условий масс-спектрометрического детектирования был основан на ранее описанных в работе [6] экспериментах. Определение гинсенозидов проводили по фрагментарным ионам, образующимся в источнике ионизации при отщеплении сахаридных заместителей и соответствующим фрагментам сапогенина с отщеп-

лением молекул воды, так как пики фрагментарных ионов в масс-спектре обладают большей интенсивностью, чем пики молекулярных ионов и их аддуктов. Для расчета содержаний использовали наиболее интенсивные сигналы, соответствующие ионам с m/z 425,3 для ППД, 423,3 — для ППТ, 439,3 — для олеаноловых (ОАК) и ОТ сапогенинов.

Выбор условий разделения. Изучено влияние следующих факторов на разделение гинсенозидов в экстрактах корней *Panax quinquefolius* и *Panax ginseng*: состава неподвижной фазы, градиента концентрации элюента Б и температуры термостата колонки.

Выбор неподвижной фазы. Для предварительного разделения сложной смеси гинсенозидов из корней американского и азиатского женьшеня были применены хроматографические колонки с обращенно-фазовыми сорбентами на основе силикагеля с диаметром зерна сорбента 3 мкм: Hypersil GOLD PFP (с привитыми пентафторфенильными (ПФФ) заместителями) и Acclaim RSLC 120 C18 (с привитыми октадецильными группами). В качестве подвижной фазы использовали элюент Б — ацетонитрил и элюент А — воду с добавкой 0,5 %-ной муравьиной кислоты. При использовании в качестве неподвижной фазы C18-сорбента и линейного градиента (10 – 95 % элюента Б) было получено удовлетворительное разделение пиков гинсенозидов Rk3 и F4, Rh4 и Rg6, которые не удается разделить на колонке, заполненной ПФФ сорбентом, а также пар изомеров — Rg5 и Rk1, Rg3 и *изо*-Rg3. Однако полностью разделить в такой системе остальные гинсенозиды не удалось. Хроматограмма экстракта азиатского женьшеня представлена на рис. 1, а.

При проведении разделения в режиме градиентного элюирования по приведенной выше программе на сорбенте с ПФФ-заместителями в силу их более полярной природы по сравнению с октадецильными заместителями гинсенозиды характеризуются меньшими значениями времен удерживания. Более того, наблюдается более полное разделение групп гинсенозидов с ППТ и ППД агликонами, а также критических пар гинсенозидов, отличающихся на один рамнозный заместитель, например, Rg1-Re и Rg2-Rh1.

Использование градиентного элюирования и колонки с ПФФ сорбентом позволило получить лучшее разделение для большинства определяемых соединений, а также сместить пики в сторону меньших времен удерживания (рис. 1, б), поэтому для дальнейшего разделения и определения гинсенозидов в экстрактах была выбрана колонка с ПФФ сорбентом.

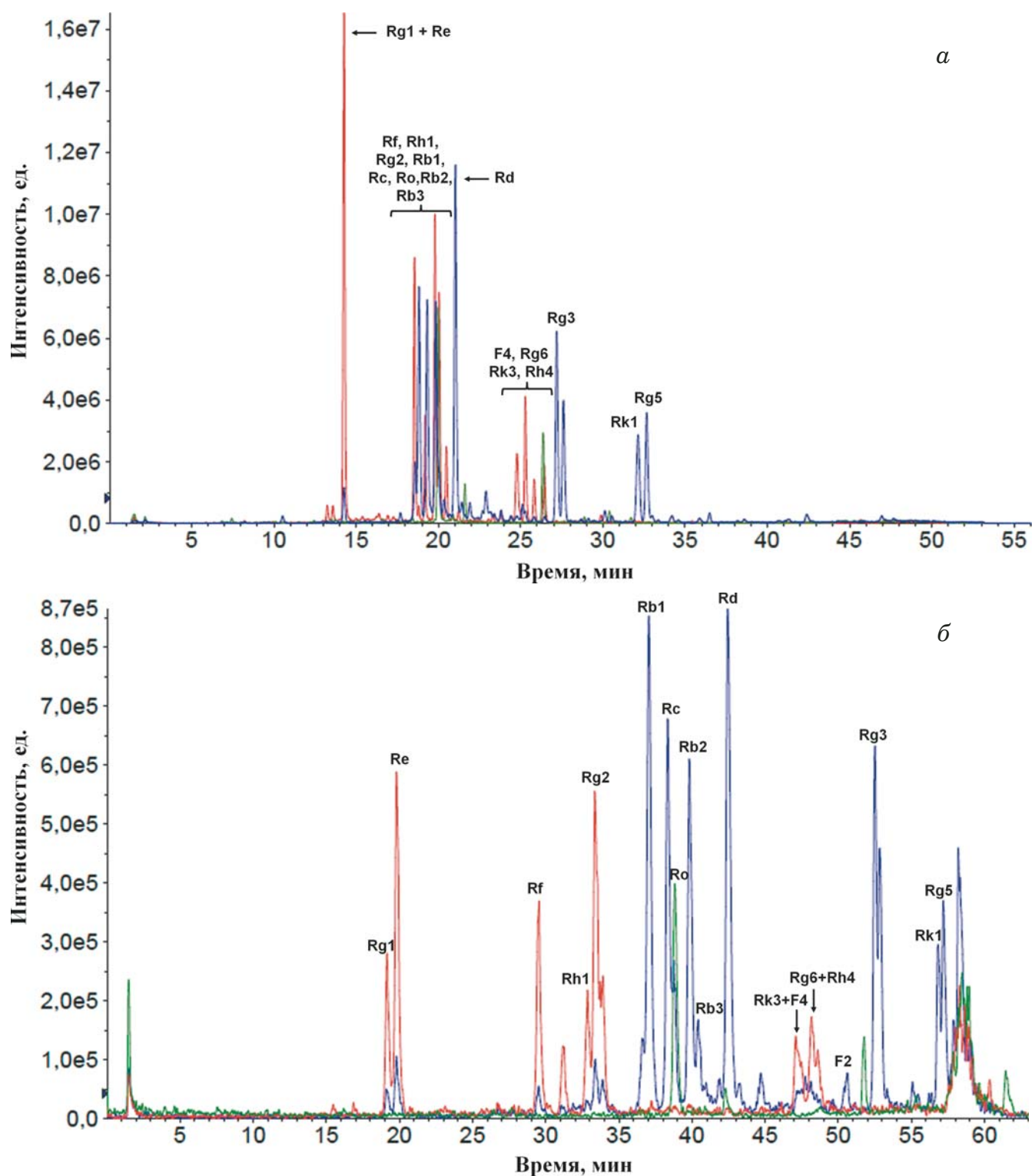


Рис. 1. Хроматографический профиль экстракта азиатского женьшеня на колонке C18 (а) и ПФФ колонке (б): красным цветом обозначены пики ППТ гинсенозидов, синим — ППД, зеленым — ОАК и ОТ гинсенозидов

Выбор температуры термостата колонки. Температуру термостата варьировали от 20 до 35 °С с шагом 5 °С. При температуре 35 °С наблюдается неполное разделение гинсенозидов Rg1 и Re, Rg2 и его предполагаемого изомера (рис. 2, а).

Понижение температуры до 20 °С позволяет разделить пики гинсенозидов Rg1 и Re, а также способствует повышению селективности для разделения пиков ППД гинсенозидов, однако гинсенозид Rg2 и его изомер элюировались практически одновременно, что видно из хроматограммы,

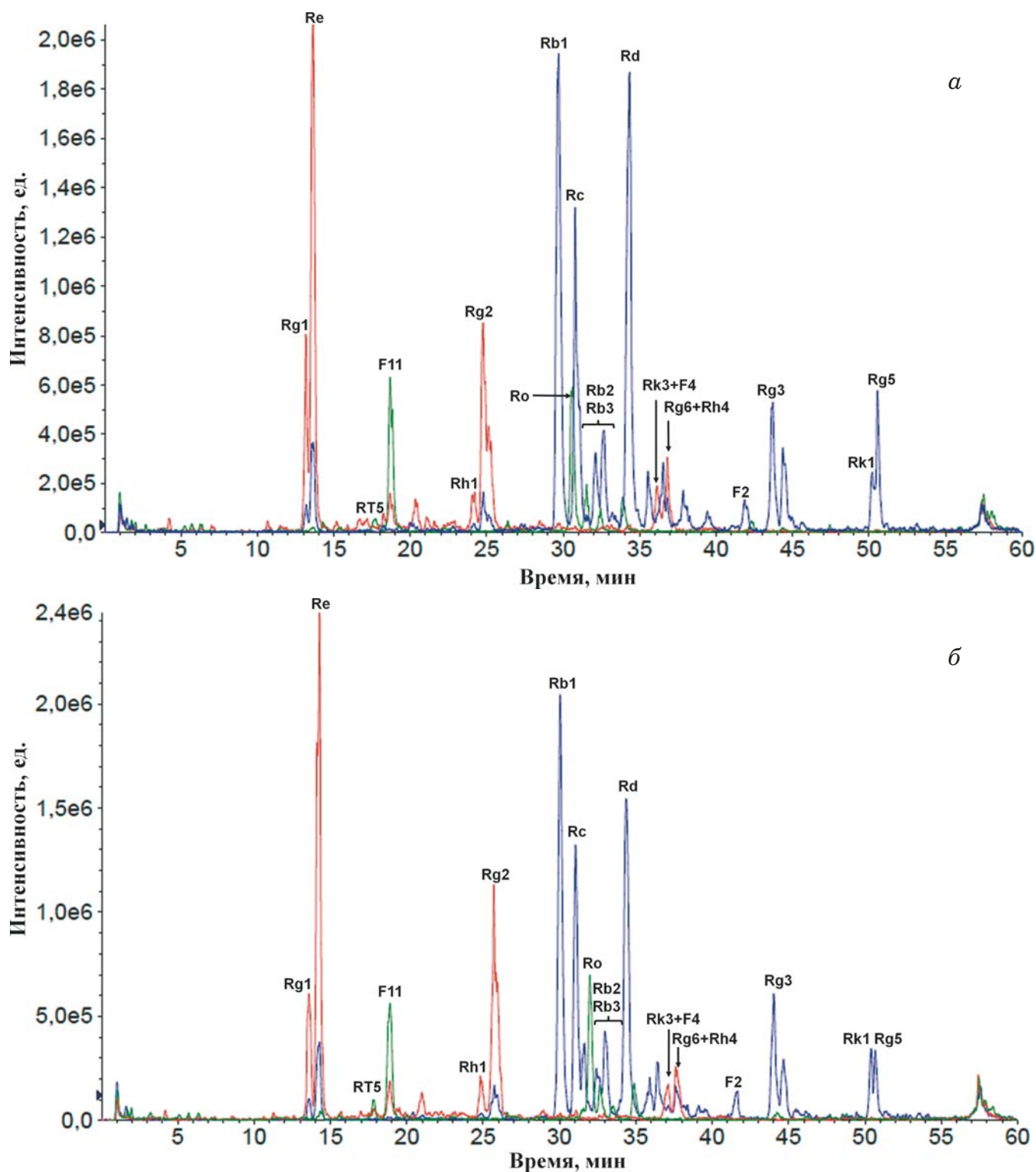


Рис. 2. Хроматографический профиль экстракта американского женьшеня на ПФФ колонке при температуре 35 °C (а) и 20 °C (б): красным цветом обозначены пики ППТ гинсенозидов, синим — ППД, зеленым — ОАК и ОТ гинсенозидов

изображенной на рис. 2, б, в которой данные вещества представлены одним хроматографическим пиком с временем удерживания 25,63 мин. При повышении температуры до 30 °C улучшения разделения пиков этих компонентов не происходило, поэтому для разделения была выбрана температура термостата колонки 25 °C, при кото-

рой было достигнуто удовлетворительное разделение гинсенозидов Rg1 и Re.

Выбор программы градиентного элюирования. При выбранной неподвижной фазе и температуре термостата колонки варьировали состав подвижной фазы. При высокой начальной концентрации элюента Б — 20 % времени удержива-

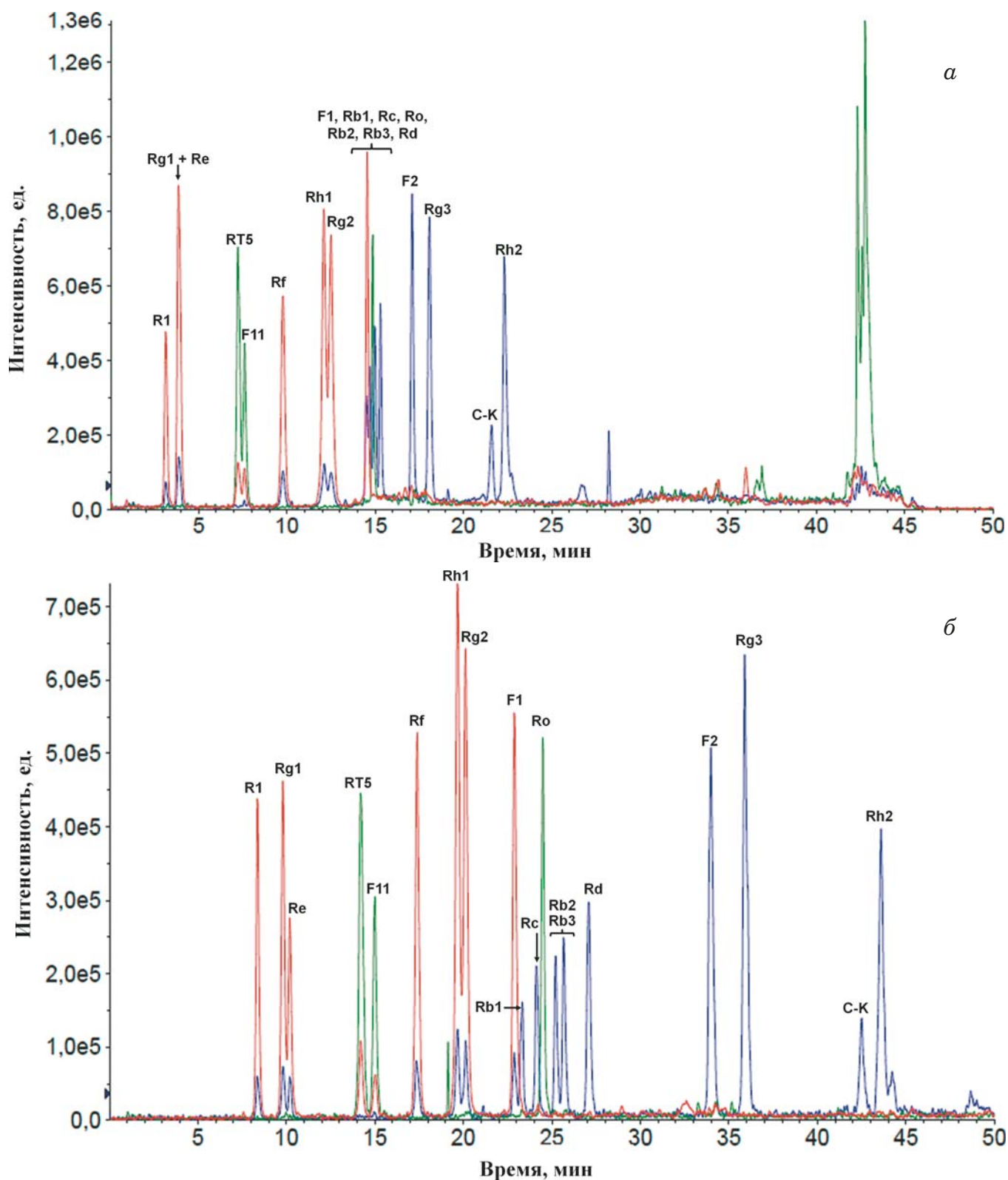


Рис. 3. Хроматограмма смеси гинсенозидов с концентрацией 1 мкг/мл при начальной концентрации элюента Б 20 % (а) и 15 % (б): красным цветом обозначены пики ППТ гинсенозидов, синим — ППД, зеленым — ОАК и ОТ гинсенозидов

ния гинсенозидов R1, Re и Rg1 оказывались близки к мертвому времени хроматографической системы, а также не происходило разделения пиков гинсенозидов Re и Rg1 (рис. 3, а).

При уменьшении исходной концентрации ацетонитрила до 15 % становится возможным разделение гинсенозидов Re и Rg1, также пики смещались в сторону больших времен удержива-

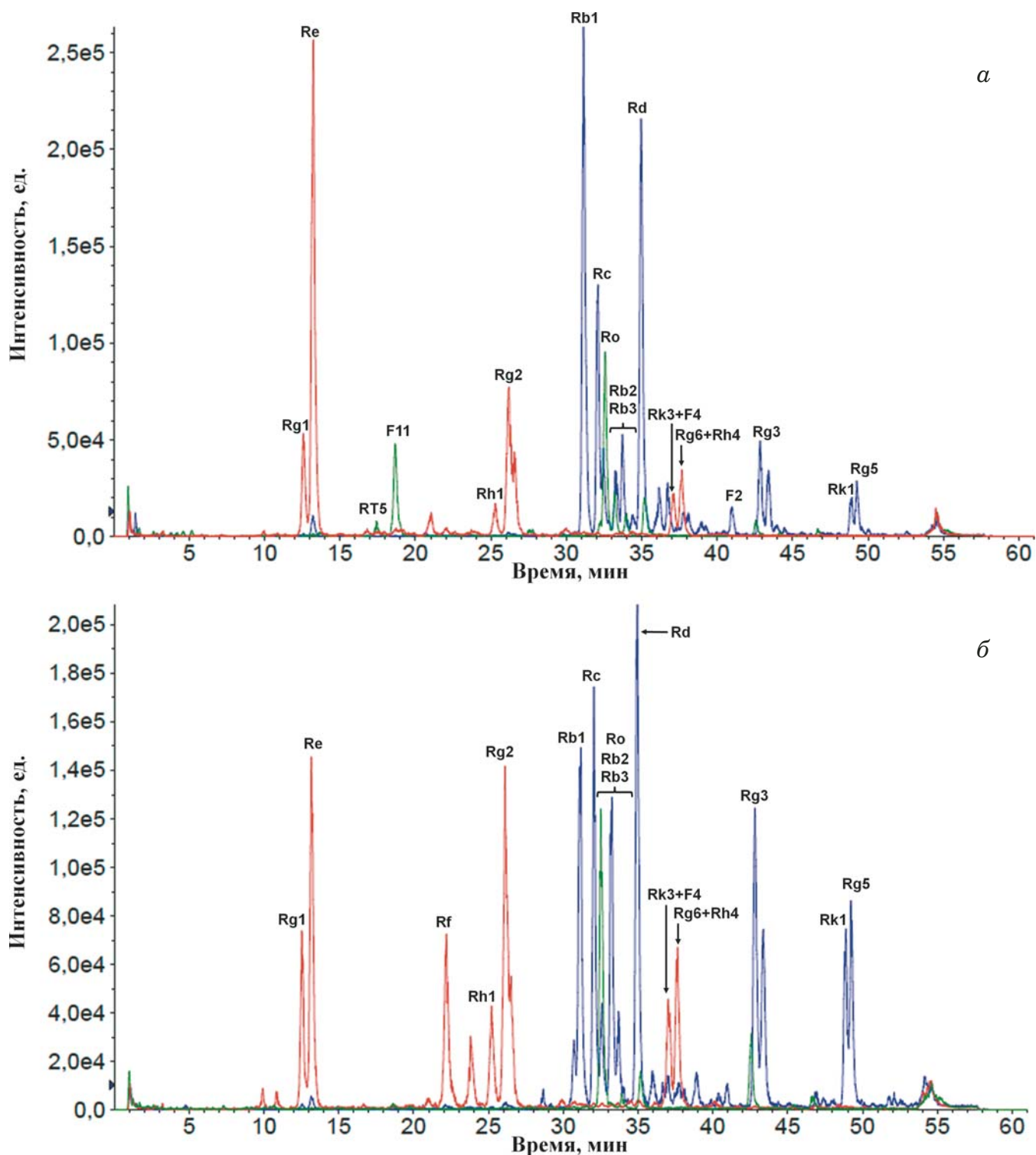


Рис. 4. Хроматограммы экстрактов корней американского (а) и азиатского женьшеня: красным цветом обозначены пики ППТ гинсенозидов, синим — ППД, зеленым — ОАК и ОТ гинсенозидов

ния. Более пологий градиент позволяет добиться удовлетворительного разделения группы определяемых соединений: F1, Rb1, Rc, Ro, Rb2, Rb3 и Rd (рис. 3, б).

Стандартизация референтных образцов экстрактов женьшеня. В выбранных условиях разделения были получены хроматограммы ре-

ферентных образцов экстрактов из корней американского и азиатского женьшеня (рис. 4). Разделение пар хроматографических пиков, соответствующих гинсенозидам Rk3 и F4, Rh4 и Rg6 в выбранных условиях не было достаточным для их одновременного определения по сигналам фрагментных ионов с одинаковым значением

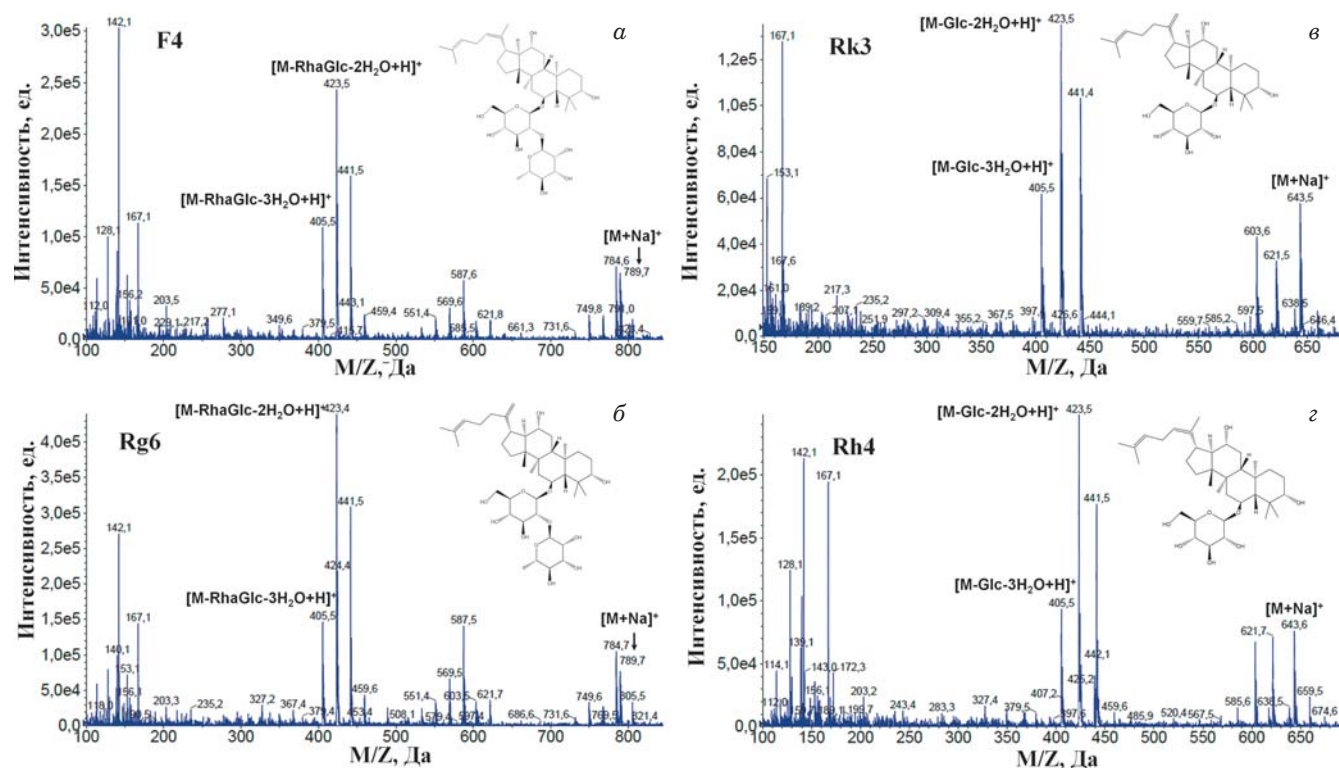


Рис. 5. Структуры и масс-спектры гинсенозидов F4 (а), Rg6 (б), Rk3 (в) и Rh4 (г), полученные при ИЭР в режиме регистрации положительно заряженных ионов

Таблица 2. Содержание гинсенозидов (мг/г) в экстрактах американского и азиатского женьшеня

Гинсенозид	Содержание в экстракте американского женьшеня		Содержание в экстракте азиатского женьшеня	
	Рассчитанное	Стандартизированное	Рассчитанное	Стандартизированное
R1	<0,06	—	0,16 ± 0,01	—
Rg1	1,7 ± 0,1	1,72	2,2 ± 0,2	3,3
Re	14,9 ± 0,4	16,85	7,3 ± 0,2	12,1
F11	0,160 ± 0,003	—	<0,12	—
Rf	<0,06	—	2,0 ± 0,2	—
RT5	2,6 ± 0,1	—	<0,12	—
Rh1	0,25 ± 0,03	—	1,8 ± 0,1	—
Rg2	0,7 ± 0,1	—	1,8 ± 0,2	—
Rb1	54 ± 4	49,21	30 ± 3	29,3
Rc	13 ± 1	13,77	17 ± 1	25,1
Rb2	3,8 ± 0,4	22,4	13 ± 2	21,7
Rb3	2,9 ± 0,4	—	2,0 ± 0,3	—
Rd	15,4 ± 1,3	12,17	12 ± 1	15,2
Ro	2,6 ± 0,1	—	4,2 ± 0,1	—
F2	0,45 ± 0,07	—	0,21 ± 0,03	—
Rg3	1,9 ± 0,2	—	4,1 ± 0,5	—
C-K	0,12 ± 0,02	—	0,21 ± 0,03	—
F4	0,96 ± 0,04	—	1,5 ± 0,1	—
Rk3	0,36 ± 0,04	—	1,5 ± 0,2	—
Rg6	1,6 ± 0,1	—	3,7 ± 0,2	—
Rh4	1,01 ± 0,02	—	6,0 ± 0,1	—
Rg5	1,9 ± 0,3	—	4,1 ± 0,7	—
Rk1	3,7 ± 0,4	—	7,0 ± 0,8	—

m/z , поскольку в состав данных соединений входит сапогенин ППТ-типа. Таким образом, было решено проводить количественный расчет по сигналам, соответствующим их натриевым аддуктам $[M + Na]^+$ — 789,3 m/z для F4 и Rg6 и 643,3 m/z для Rk3 и Rh4 соответственно (рис. 5). По результатам количественного анализа установлены содержания основных и минорных компонентов в экстрактах. Заявленные содержания нескольких основных компонентов, определенные производителем методом ВЭЖХ-УФ, совпадали с полученными значениями (табл. 2).

Завышенное содержание гинсенозидов Rb2 и Rb3, определенное методом ВЭЖХ-УФ, может быть связано с недостаточным разделением пиков этих компонентов между собой и с гинсенозидом Ro на сорбенте с привитыми группами C18. Содержание гинсенозида Ro в экстрактах производителем не нормируется.

Таким образом, разработан и апробирован на стандартных образцах референтных экстрактов американского и азиатского женьшеня способ определения основных и минорных гликозидов методом ВЭЖХ-МС. Показано, что предложенный подход может быть успешно использован для селективного определения и идентификации указанных веществ в присутствии других компонентов растительных экстрактов. Разработанный способ позволил уточнить и расширить заявленный состав гликозидов в исследованных образцах экстрактов благодаря превосходящей селективности по сравнению с применяемыми ВЭЖХ-УФ подходами с разделением на колонках, заполненных сорбентом C18. Обнаружение гинсенозидов женьшеня проводили на уровне 10 нг/мл и выше. Предложенный способ характеризовался удовлетворительной воспроизводимостью, диапазон определяемых содержаний соответствовал линейному динамическому диапазону градуировочной зависимости.

Работа выполнена с использованием оборудования, приобретенного за счет средств Программы развития Московского университета.

ЛИТЕРАТУРА (REFERENCES)

1. **Dharmananda S.** The nature of *ginseng*: traditional use, modern research and the question of dosage / HerbalGram. 2002. Vol. 54. P. 34 – 51.
2. ESCOP Monographs. European Scientific Cooperative on Phytotherapy. 2nd ed. — D.: Exeter, 2003. — 211 p.
3. **Kiefer D., Pantuso T.** *Panax ginseng* / Am. Family Phys. 2003. Vol. 68. N 8. P. 1539 – 1542.
4. **Yang W. Z., Ye M., Qiao X., et al.** A strategy for efficient discovery of new natural compounds by integrating orthogonal column chromatography and liquid chromatography/mass spectrometry analysis: Its application in *Panax ginseng*, *Panax quinquefolium* and *Panax notoginseng* to characterize 437 potential new ginsenosides / Anal. Chim. Acta. 2012. Vol. 739. P. 56 – 66.
5. **Mathon C., Duret M., Kohler M., et al.** Multi-targeted screening of botanicals in food supplements by liquid chromatography with tandem mass spectrometry / Food Chem. 2013. Vol. 138. N 1. P. 709 – 717.
6. **Stavrianidi A. N., Rodin I. A., Braun A. V., et al.** Simultaneous determination of ginsenosides by high-performance liquid chromatography with tandem mass spectrometry detection / J. Anal. Chem. 2014. Vol. 69. N 13. P. 1252 – 1258.
7. **Li W. K., Gu C. G., Zhang H. J., et al.** Use of high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry to distinguish *Panax ginseng* C. A. Meyer (Asian ginseng) and *Panax quinquefolius* L. (North American ginseng) / Anal. Chem. 2000. Vol. 72. N 21. P. 5417 – 5422.
8. **Wan J. B., Li S. P., Chen J. M., Wang Y. T.** Chemical characteristics of three medicinal plants of the *Panax* genus determined by HPLC-ELSD / J. Sep. Sci. 2007. Vol. 30. N 6. P. 825 – 832.
9. **Chan T. W., But P. P., Cheng S. W., et al.** Differentiation and authentication of *Panax ginseng*, *Panax quinquefolius* and *ginseng* products by the use of HPLC/MS / Anal. Chem. 2000. Vol. 72. N 6. P. 1281 – 1287.
10. The United States Pharmacopeia 30th edn. — Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention, Inc., 2007.
11. **Lau A. J., Seo B. H., Woo S. O., Koh H. L.** High-performance liquid chromatographic method with quantitative comparisons of whole chromatograms of raw and steamed *Panax notoginseng* / J. Chromatogr. A. 2004. Vol. 1057. N 1 – 2. P. 141 – 149.
12. **Li L., Zhang J. L., Sheng Y. X., et al.** Simultaneous quantification of six major active saponins of *Panax notoginseng* by high-performance liquid chromatography-UV method / J. Pharm. Biomed. Anal. 2005. Vol. 38. N 1. P. 45 – 51.
13. **Kim S. N., Ha Y. W., Shin H., et al.** Simultaneous quantification of 14 ginsenosides in *Panax ginseng* C. A. Meyer (Korean red ginseng) by HPLC-ELSD and its application to quality control / J. Pharm. Biomed. Anal. 2007. Vol. 45. N 1. P. 164 – 170.
14. **Sun B. S., Gu L. J., Fang Z. M., et al.** Simultaneous quantification of 19 ginsenosides in black ginseng developed from *Panax ginseng* by HPLC – ELSD / J. Pharm. Biomed. Anal. 2009. Vol. 50. N 1. P. 15 – 22.
15. **Cui M., Song F., Zhou Y., et al.** Rapid identification of saponins in plant extracts by electrospray ionization multi-stage tandem mass spectrometry and liquid chromatography/tandem mass spectrometry / Rapid. Commun. Mass Spectrom. 2000. Vol. 14. N 14. P. 1280 – 1286.