

К. О. ХОХЛОВА, О. А. ЗДОРИК, Л. І. ВИШНЕВСЬКА

Національний фармацевтичний університет Міністерства охорони здоров'я України

РОЗШИРЕНИЙ АНАЛІЗ ШАВЛІЇ ЛИСТЯ МЕТОДОМ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ: ІДЕНТИФІКАЦІЯ ФЛАВОНОЇДІВ І ФЕНІЛПРОПАНОЇДІВ, КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ І ТЕСТ НА МІНІМАЛЬНИЙ ВМІСТ КИСЛОТИ РОЗМАРИНОВОЇ У ПАРАЛЕЛЬНИХ УМОВАХ

Метою роботи була розробка методик для проведення розширеного аналізу за методом високоєфективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) шавлії лікарської листя (*Salvia officinalis* L.): ідентифікації флавоноїдів і фенілпропаноїдів, кількісного визначення кислоти розмаринової і тесту на мінімальний вміст кислоти розмаринової.

Матеріали і методи. Дослідження було проведено за методом ВЕТШХ (2.8.25, ДФУ) в автоматичній системі ВЕТШХ САМАГ, результати оброблено за допомогою ПЗ VisionCats, САМАГ, Швейцарія.

Результати. На одній пластинці було проведено ідентифікацію і порівняння флавоноїдів і фенілпропаноїдів з використанням шести зразків шавлії лікарської листя – визначено специфічні маркерні зони та їх хроматографічні профілі. У тій самій рухомій фазі запропоновано методу кількісного визначення маркера – кислоти розмаринової, а також тест на мінімальний вміст кислоти розмаринової (не менше 0,4 %). Відповідно до результатів кількісного визначення зразків шавлії лікарської листя, кількість кислоти розмаринової була у межах 5,83-15,94 мг/г за детектування за допомогою сканера і 5,99-16,27 мг/г за детектування за допомогою візуалайзера. Усі шість досліджуваних зразків шавлії лікарської мали вміст кислоти розмаринової більший від запропонованого мінімального вмісту (0,4 %), тоді як споріднені види – шавлія ефіопська і шавлія дібровна мали нижчий вміст кислоти розмаринової і не пройшли тест.

Висновки. Запропонований підхід оцінювання якості шавлії лікарської листя за допомогою розширеного аналізу відбитків ВЕТШХ флавоноїдів і фенілпропаноїдів уможливує проведення паралельної ідентифікації, кількісного визначення і тесту на мінімальний вміст для декількох зразків на одній пластинці і може бути альтернативою сучасним фармакопейним підходам.

Ключові слова: шавлія лікарська; ВЕТШХ; ідентифікація; кількісне визначення; тест на мінімальний вміст; розширені відбитки

К. О. KHOLOVA, O. A. ZDORYK, L. I. VYSHNEVSKA

National University of Pharmacy of the Ministry of Health of Ukraine

THE COMPREHENSIVE ANALYSIS OF SAGE LEAVES BY HIGH-PERFORMANCE THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY: SIMULTANEOUS IDENTIFICATION OF FLAVONOIDS AND PHENYLPROPANOIDS, QUANTITATIVE DETERMINATION AND THE TEST FOR THE MINIMAL CONTENT OF ROSMARINIC ACID

Aim. To develop methods for the comprehensive analysis of sage (*Salvia officinalis* L.) leaves using high-performance thin-layer chromatography (HPTLC): identification of flavonoids and phenylpropanoids, quantitative determination and the test for the minimal content (MCT) of rosmarinic acid.

Materials and methods. The study was performed using HPTLC procedure (2.8.25, SPhU) in the HPTLC automatic system; the results were processed using VisionCats Software, CAMAG, Switzerland.

Results. Flavonoids and phenylpropanoids fingerprints of six samples of sage leaves were evaluated on the same HPTLC plate. The specific zones and their chromatographic profiles useful for identification were determined. In the same mobile phase, the method for quantifying the marker – rosmarinic acid, as well as MCT of rosmarinic acid (NLT 0.4 %) was proposed. According to the results, the quantity of rosmarinic acid in sage leaves was in the range of 5.83-15.94 mg/g (scanner detection) and 5.99-16.27 mg/g (visualizer detection). All six samples of sage contained rosmarinic acid in an amount greater than the proposed minimum content (0.4 %), while *S. aethiopsis* and *S. nemerosa* had a lower content of rosmarinic acid and failed the test.

Conclusions. The approach proposed for evaluating the quality of sage using a comprehensive analysis of HPTLC flavonoid and phenylpropanoid fingerprints allows simultaneous identification, quantitative determination and the test for the minimal content for several samples on the same plate. It can be an alternative to the current Pharmacopoeia methods.

Key words: sage; HPTLC; identification; quantitative determination; minimal content; comprehensive fingerprints

Е. А. ХОХЛОВА, А. А. ЗДОРИК, Л. И. ВИШНЕВСКАЯ

*Национальный фармацевтический университет
Министерства здравоохранения Украины*

РАСПИРЕННЫЙ АНАЛИЗ ЛИСТЬЕВ ШАЛФЕЯ МЕТОДОМ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ: ИДЕНТИФИКАЦИЯ ФЛАВОНОИДОВ И ФЕНИЛПРОПАНОИДОВ, КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ И ТЕСТ НА МИНИМАЛЬНОЕ СОДЕРЖАНИЕ КИСЛОТЫ РОЗМАРИНОВОЙ В ПАРАЛЛЕЛЬНЫХ УСЛОВИЯХ

Целью работы была разработка методик для проведения расширенного анализа методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) листьев шалфея лекарственного (*Salvia officinalis* L.): идентификации флавоноидов и фенилпропаноидов, количественного определения кислоты розмариновой и теста на минимальное содержание кислоты розмариновой.

Материалы и методы. Исследование было проведено методом ВЭТСХ (2.8.25, ГФУ) в автоматической системе ВЭТСХ, результаты обрабатывали с помощью ПО VisionCats, SAMAG, Швейцария.

Результаты. На одной пластинке была проведена идентификация и сравнение флавоноидов и фенилпропаноидов шести образцов шалфея лекарственного – определены специфические маркерные зоны и их хроматографические профили. В той же подвижной фазе предложена методика количественного определения маркера – кислоты розмариновой, а также тест на минимальное содержание кислоты розмариновой (не менее 0,4 %). В соответствии с результатами количественного определения образцов шалфея лекарственного, количество кислоты розмариновой находилось в пределах 5,83-15,94 мг/г при детектировании с помощью сканера и 5,99-16,27 мг/г при детектировании с помощью визуализера. Все шесть образцов шалфея лекарственного содержали кислоту розмариновую в количестве больше, чем предельное минимальное содержание (0,4 %), в то время как содержание кислоты розмариновой в близких видах – шалфее эфиопском и шалфее дубравном было ниже и не соответствовало критериям для прохождения теста.

Выводы. Предложенный подход оценки качества шалфея лекарственного с помощью расширенного анализа отпечатков ВЭТСХ флавоноидов и фенилпропаноидов позволяет проводить параллельную идентификацию, количественное определение и тест на минимальное содержание для нескольких образцов на одной пластинке и может быть альтернативой существующим фармакопейным подходам.

Ключевые слова: шалфей лекарственный; ВЭТСХ; идентификация; количественное определение; тест на минимальное содержание; расширенные отпечатки

ПОСТАНОВКА ПРОБЛЕМИ

Під час стандартизації лікарської рослинної сировини (ЛРС) проводять визначення комплексу показників, що доводять її якість, для чого застосовують різні фізико-хімічні методи. Сучасним методом аналізу, що може бути використаний для комплексного оцінювання якості ЛРС, є метод вискоєфективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) [1, 2].

АНАЛІЗ ОСТАННІХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПУБЛІКАЦІЙ

Відповідно до вимог Державної фармакопеї України (ДФУ) і Європейської фармакопеї, оцінювання якості шавлії лікарської листя передбачає ідентифікацію ефірних олій (2.2.27 Тонко-

шарова хроматографія) і визначення ефірних олій (2.8.12 Ефірні олії) [3, 4]. Згідно з останніми публікаціями [5-7] для ідентифікації шавлії лікарської листя може бути використаний флавоноїдний і фенілпропаноїдний хроматографічний профіль ТШХ/ВЕТШХ; для проведення кількісного визначення науковий інтерес становлять фенілпропанові кислоти, зокрема кислота розмаринова [8], що виявляє високу антиоксидантну, протизапальну, противірусну дію тощо [9].

ВИДІЛЕННЯ НЕ ВИРІШЕНИХ РАНІШЕ ЧАСТИН ЗАГАЛЬНОЇ ПРОБЛЕМИ

Залежно від призначення ЛРС шавлії лікарської, наприклад, виготовлення екстрактів, настоек, фільтр-пакетів, комбінованих препаратів,

визначення різних груп БАР/маркерів і їх вмісту як показників якості ЛРС є актуальним.

ФОРМУЛЮВАННЯ ЦІЛЕЙ СТАТТІ

Метою цієї роботи була розробка методик для проведення розширеного аналізу ВЕТШХ шавлії лікарської листя: ідентифікації фенольних сполук, кількісного визначення кислоти розмаринової і тесту на мінімальний вміст кислоти розмаринової.

ВИКЛАДЕННЯ ОСНОВНОГО МАТЕРІАЛУ ДОСЛІДЖЕННЯ

Дослідження було проведено методом ВЕТШХ в автоматичній системі ВЕТШХ виробництва SAMAG, Швейцарія на базі лабораторії Навчально-наукового тренінгового центру хіміко-технологічних досліджень Навчально-наукового інституту прикладної фармації НФаУ, Харків, Україна.

Як об'єкти дослідження використовували зразки шавлії лікарської листя від різних виробників і місць заготівлі («Віола», Запоріжжя, сер. 131019; ДД «Фітосвіт», Вінниця, сер. 09012019; «Лікарські рослини», Харків, сер. 221019, «Лік-трави», Житомир, сер. 60919; Харківська обл., 2019 р.; Николаївська обл., 2019 р.), а також шавлії ефіопської (Харківська обл., 2019 р.) та шавлії дібровної (ш. гайової) (Харківська обл., 2020 р.).

Методики.

Випробовуваний розчин:

Випробовуваний розчин для ідентифікації флавоноїдів і фенілпропаноїдів (ІД): 100 мг/мл подрібненої сировини шавлії лікарської в метанолі Р струшують протягом 10 хв і центрифугують. Використовують надосадову рідину для ідентифікації.

Випробовуваний розчин для кількісного визначення (КВ) і тесту на мінімальний вміст (ТМВ) кислоти розмаринової: отримують метанольні екстракти шавлії із концентрацією 10 мг/мл.

Розчини порівняння:

ІД. Флавоноїди і фенілпропаноїди. Розчини порівняння 1: 0,4 мг/мл СЗ кислоти розмаринової у метанолі Р; 0,5 мг/мл СЗ рутину в метанолі Р.

Розчини порівняння 2: 0,1 мг/мл СЗ кислоти розмаринової у метанолі Р; 0,125 мг/мл СЗ рутину в метанолі Р.

Розчин порівняння 3 (SST): 0,4 мг/мл СЗ кислоти розмаринової і 0,5 мг/мл СЗ лютеоліну в метанолі Р.

КВ. Кількісне визначення кислоти розмаринової. Калібрувальні розчини: готують п'ять метанольних розчинів СЗ кислоти розмаринової із концентраціями в діапазоні 0,1-0,5 мг/мл.

ТМВ. Тест на мінімальний вміст кислоти розмаринової (не менше 0,4 %). Розчин порів-

няння: 0,1 мг/мл СЗ кислоти розмаринової в метанолі.

Умови хроматографування:

Стаціонарна фаза: НРТLC Si 60 F254 (Merck). Рухома фаза (ІД, КВ, ТМВ): етилацетат Р, кислота мурашина безводна Р, вода Р (8:1:1).

Відстань для хроматографування: 70 мм (від нижнього краю пластинки).

Насичення: 20 хв із фільтрувальним папером. Відносна вологість: 33 %, насичений розчин $MgCl_2$.

Температура: 22 ± 5 °С.

Об'єм нанесення: для ІД, КВ, ТМВ – по 4 мкл для випробовуваних розчинів і по 2 мкл для калібрувальних розчинів/розчину порівняння.

Дериватизація.

Реагент для дериватизації (ІД). Реагент 1: 5 мг/мл аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти в етилацетаті. Реагент 2: 50 мг/мл макроголу 400 в дихлорметані. Використання (автоматичне занурення). Нагрівають пластинку за 100 °С протягом 3 хв, занурюють ще теплу пластинку в реагент 1, висушують протягом 2 хв; потім занурюють пластинку в реагент 2, висушують протягом 2 хв і фотографують пластинку.

Детектування (ІД): перед дериватизацією: 254 нм (А), 366 нм (В), біле світло (С); після дериватизації: 366 нм (D), біле світло (Е) (візуалайзер).

Детектування (ТМВ): 366 нм перед дериватизацією (візуалайзер).

Детектування (КВ): денситометричне визначення провели перед дериватизацією в режимі поглинання за довжини хвилі 366 нм із застосуванням ВЕТШХ-сканера – SAMAG Scanner 4, реєстрація спектра в діапазоні 190-450 нм.

Реєстрація даних і оброблення результатів: ПЗ SAMAG VisionCATS 2.5.

Ідентифікація. У ході дослідження нами було розроблено методику ідентифікації ВЕТШХ речовин флавоноїдної природи шавлії лікарської листя згідно зі стандартизованою процедурою [4, 5]: обрано пробопідготовку й оптимальні умови хроматографування – рухома фаза, ступінь розведення випробовуваних розчинів і розчинів порівняння, розчин на специфічну придатність системи, об'єми для нанесення, режими детектування. Визначено характерні хроматографічні відбитки й профілі флавоноїдних речовин і фенілпропаноїдів шавлії лікарської листя в різних режимах детектування (рис. 1), що може бути корисним для виявлення критеріїв прийнятності. Як видно з рис. 1, за 366 нм після дериватизації на типовій хроматограмі шавлії лікарської виявляється пара жовто-оранжевих зон у середній частині пластини (флавоноїди, нижня зона, ймовірно, лютеолін-7-глікозид) і одна блакитна зона у верхній частині пластини (кислота розмаринова).

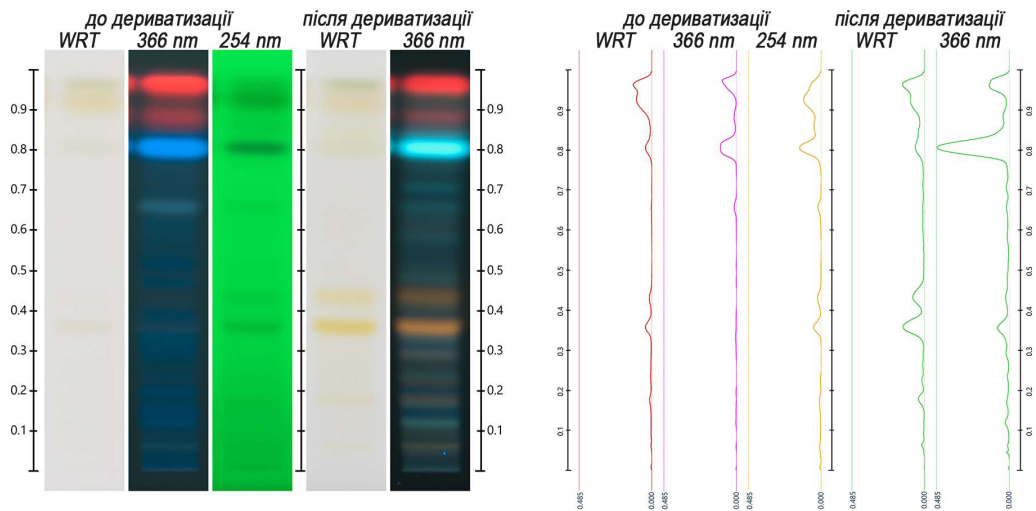


Рис. 1 Хроматограма (зліва) та профіль піків хроматограми (справа) шавлії лікарської листя за різних умов виявлення

На рис. 2 наведено ідентифікацію флавоноїдів і фенілпропаноїдів зразків шавлії лікарської листя з різних регіонів України, проведеною за розробленою методикою. Отримані хроматограми ілюструють природну мінливість ЛРС шавлії лікарської. Паралельно проаналізований зразок шавлії ефіопської виявив близькість хроматографічних відбитків і профілю ВЕТШХ із відмінністю в інтенсивності флуоресценції зони, що відповідає кислоті розмариновій (рис. 2).

Кількісне визначення і тест на мінімальний вміст кислоти розмаринової. З огляду на те, що кислота розмаринова є характерною сполукою рослин родини *Lamiaceae* [10-13] і з нею пов'язують широкий спектр фармакологічної активності ЛРС, що її містить, нами було розроблено методики ВЕТШХ для визначення кількісного вмісту і мінімального кількісного вмісту кислоти розмаринової у шавлії лікарської листя.

Розробку методик визначення вмісту було проведено в тій самій рухомій фазі, що була використана для ідентифікації ЛРС. Такий підхід було обрано через те, що на одну пластинку ВЕТШХ розміром 20 x 10 можна нанести до 15 зразків, що уможливує проведення ідентифікації речовин флавоноїдної природи і кількісного визначення кислоти розмаринової у зразках шавлії паралельно й дозволяє значно скоротити тривалість аналізу і витрати на його виконання.

Під час розробки і валідації методики кількісного визначення кислоти розмаринової в шавлії лікарської листя було визначено специфічність методу, що підтверджено шляхом порівняння значень R_F СЗ кислоти розмаринової і випробовуваних розчинів на хроматограмі за 366 нм до дериватизації (рис. 3), а також спектрів зон, що відповідають кислоті розмариновій на треках СЗ і випробовуваного розчину (рис. 4). Як видно з рис. 3 і рис. 4, значення R_F

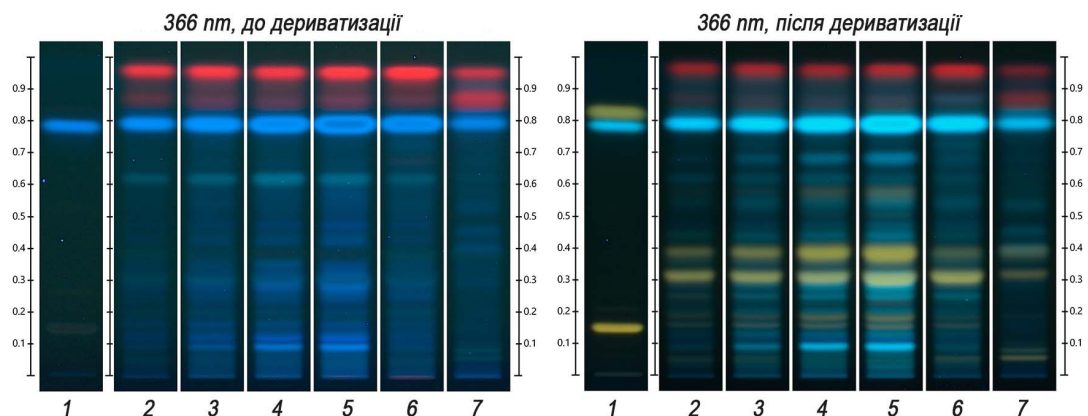


Рис. 2 Ідентифікація флавоноїдів і фенілпропаноїдів шавлії лікарської листя. Треки: 1 – розчин порівняння/SST; 2-6 – різні зразки шавлії лікарської; 7 – зразок шавлії ефіопської

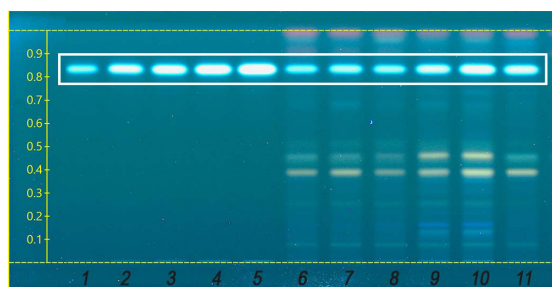


Рис. 3 ВЕТШХ-хроматограма С3 кислоти розмаринової (треки 1-5) і зразків шавлії лікарської (треки 6-11) за 366 нм до дериватизації

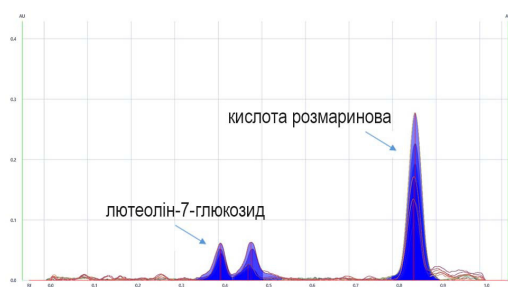


Рис. 5 Скан профілю кислоти розмаринової і зразків шавлії лікарської за 366 нм до дериватизації

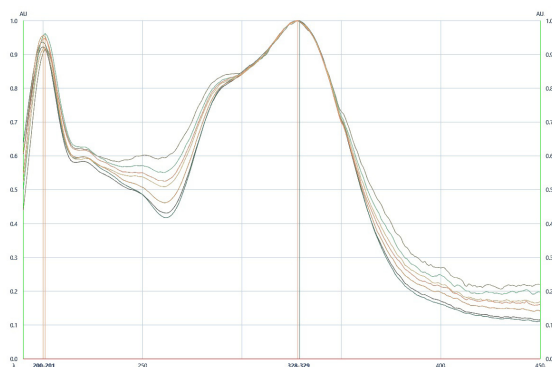


Рис. 4 Спектри зон ($R_f=0,81$) треків С3 кислоти розмаринової (max 329 нм) і зразків шавлії лікарської (max 328 нм) у діапазоні 190-450 нм

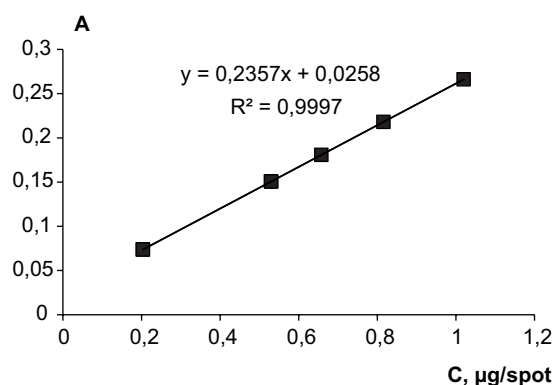


Рис. 6 Градувальний графік для визначення кислоти розмаринової в діапазоні концентрацій 0,2-1,0 мкг/зону (сканер, 366 нм)

досліджуваних зразків шавлії лікарської і С3 кислоти розмаринової збігаються. Кореляція спектрів кислоти розмаринової зразків шавлії відносно С3 кислоти розмаринової склала $\geq 0,996$.

Для побудови графіка лінійної залежності готували мінімум 5 розчинів стандартних зразків кислоти розмаринової відомої концентрації в діапазоні для нанесення 0,2-1,0 мкг/зону, паралельно наносячи на пластинку досліджувані зразки з невідомим вмістом кислоти розмаринової. Проводили детектування пластинки за 366 нм без оброблення хімічним реагентом (знімаючи скан або профіль піків хроматограми) та реєстрацію результатів сигналів, розрахованих за висотою піків за методом калібрувальних прямих.

Вибираючи довжину хвилі, порівняли результати, отримані за довжини хвилі у максимумі поглинання та на похилому схилі спектра кислоти розмаринової в діапазоні довжин хвиль 328-370 нм. Виявлено, що результати, отримані в цьому діапазоні хвиль, збіжні і правильні. Довжину хвилі для детектування – 366 нм було обрано з огляду на можливість детектування результатів за допомогою двох інструментів (ВЕТШХ-сканера і ВЕТШХ-візуалізера).

Кількість кислоти розмаринової в досліджуваному зразку розраховували із рівняння регресії: $y = ax + b$ (лінійна залежність), де: y – це значення висоти піка R_f хроматографічної зони аналізованої речовини після віднімання базової лінії; a і b – коефіцієнти рівняння регресії; x – кількість речовини, нанесеної на хроматографічну зону, мкг.

На рис. 5 наведено денситограми зразків шавлії лікарської і С3 кислоти розмаринової, отримані в діапазоні визначення за 366 нм до дериватизації. Після проведення інтеграції зон кислоти розмаринової за методом калібрувальних кривих, за висотою піків, було побудовано графік лінійної залежності (рис. 6), визначено рівняння регресії, розраховано значення коефіцієнта кореляції (R), значення межі виявлення (LOD) і межі кількісного виявлення (LOQ).

Як видно з табл. 1, результати валідаційних досліджень свідчать, що розроблена методика із детектуванням як сканером, так і візуалізером, є специфічною і відтворюваною, характеризується правильністю і може бути запропонована для кількісного визначення кислоти розмаринової в метанольних екстрактах шавлії лікарської.

Таблиця 1

ВАЛІДАЦІЙНІ ПАРАМЕТРИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КИСЛОТИ РОЗМАРИНОВОЇ У ЗРАЗКАХ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ, ОТРИМАНІ ІЗ ДЕТЕКТУВАННЯМ САМАГ SCANNER 4, 366 НМ

Подання даних	Сканер, 366 нм	Візуалайзер, 366 нм
Рівняння лінійної регресії (висота піка)	$y = 0,2357x + 0,0258$	$y = 0,3099x + 0,0574$
Коефіцієнт кореляції (R)	0,9999	0,9973
Правильність (%)	99,1	94,6
Збіжність (n=6) (%RSD)	0,04	0,05
Внутр. прецизійність (n=3) (%RSD)	0,08	0,29
LOD (мкг/зона)	0,0199	0,0603
LOQ (мкг/зона)	0,1854	0,2591

Таблиця 2

РЕЗУЛЬТАТИ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ КИСЛОТИ РОЗМАРИНОВОЇ У ЗРАЗКАХ ШАВЛІЇ ЛІКАРСЬКОЇ, ОТРИМАНІ ІЗ ДЕТЕКТУВАННЯМ САМАГ SCANNER 4, 366 НМ

Зразок шавлії	Вміст кислоти розмаринової у зразку ЛРС, мг/г		Вміст кислоти розмаринової у зразку ЛРС, %	
	сканер	візуалайзер	сканер	візуалайзер
Зразок 1	5,83	5,99	0,58	0,60
Зразок 2	7,86	8,05	0,79	0,81
Зразок 3	6,76	6,00	0,68	0,67
Зразок 4	11,60	11,80	1,16	1,18
Зразок 5	15,94	16,27	1,59	1,63
Зразок 6	11,42	11,83	1,14	1,18

Згідно з результатами (табл. 2), кількість кислоти розмаринової у зразках ЛРС шавлії лікарської в перерахунку на суху сировину, отриманої за розробленою методикою за допомогою сканера, складає 5,83-15,94 мг/г (0,58-1,59 %), за допомогою візуалайзера – 5,99-16,27 мг/г (0,6-1,63) %.

Тест на мінімальний вміст кислоти розмаринової (не менше 0,4 %). Як вже було зазначено вище, з кислотою розмариновою пов'язують антиоксидантну активність ЛРС. При цьому вміст кислоти розмаринової у шавлії лікарської листі може коливатися в широкому діапазоні, на що впливає час збирання сировини, рік і місце збирання тощо [13]. Для низки ЛРС та препаратів родини *Lamiaceae*, таких, як ортосифон, зюзник, меліси, меліси і м'яти сухі екстракти, Європейська фармакопея пропонує визначення мінімального вмісту кислоти розмаринової методом ВЕРХ у перерахунку на суху сировину/сухі екстракти зі спектрофотометричним детектуванням за 330 нм [4].

У запропонованих нами умовах хроматографування ВЕТШХ на одній пластинці зі зразками для ідентифікації і кількісного визначення можна провести експрес-тест визначення мінімального вмісту кислоти розмаринової декількох зразків шавлії лікарської, що є доцільним і зручним, наприклад, для вивчення стабільності під час зберігання ЛРС і її препаратів. При цьому результати зберігаються як файли, є відтворюваними і можуть бути порівняні між собою

пізніше за допомогою функції програмного забезпечення «віртуальна пластина».

Як розчин порівняння запропоновано використовувати кислоту розмаринову в концентрації 0,1 мг/мл із нанесенням 2 мкл, що щодо нанесеного випробовуваного розчину шавлії лікарської (10 мг/мл, 4 мкл) відповідає 0,4 % кислоти розмаринової. Детектування здійснювали із застосуванням візуалайзера за 366 нм, шляхом конвертації зон хроматограми в профіль піків і порівняння їх інтенсивності щодо розчину порівняння. При цьому LOD методики визначення мінімального кількісного вмісту складає 0,0603 мкг/зону.

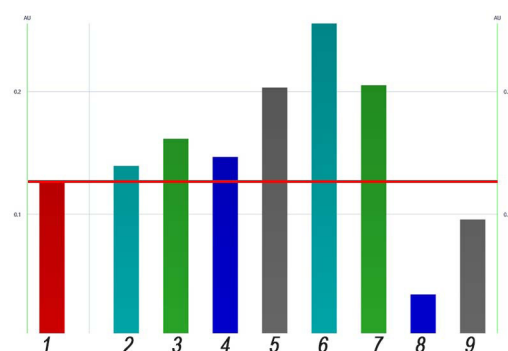


Рис. 7 Тест на мінімальний вміст кислоти розмаринової (не менше 0,4 %). Треки: 1 – кислота розмаринова (200 нг/зона); 2-7 – зразки шавлії лікарської; 8 – зразок шавлії ефіонської; 9 – зразок шавлії дівровної

Результати визначення мінімального вмісту кислоти розмаринової наведено на рис. 7.

Як видно з рис. 7, всі досліджувані зразки шавлії лікарської містять кислоту розмаринову в більшій концентрації, ніж запропонований критерій, і проходять тест, а зразки потенційних домішок шавлії лікарської – шавлія ефіопська і шавлія дібровна – тест не проходять.

ВИСНОВКИ ТА ПЕРСПЕКТИВИ ПОДАЛЬШИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Розроблені методики ВЕТШХ можуть бути використані для оцінювання якості шавлії лікарської листя за речовинами флавоноїдної природи і становлять альтернативу фармакопейним підходам її стандартизації.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Comprehensive HPTLC fingerprinting : a novel economic approach to evaluating the quality of *Ganoderma lucidum* fruiting body / D. A. Frommenwiler et al. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*. 2020. Vol. 43. Iss. 11-12. P. 414–423. DOI: <https://doi.org/10.1080/10826076.2020.1725560>
2. Comprehensive HPTLC fingerprinting as a tool for a simplified analysis of purity of ginkgo products / D. A. Frommenwiler et al. *Journal of Ethnopharmacology*. 2019. Vol. 243. P. 112084. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112084>
3. Державна фармакопея України : в 3-х т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 3. 732 с.
4. European Pharmacopoeia 8.0. Strasbourg : EDQM, 2014. 3655 p.
5. Method collection. HPTLC Association. URL: <https://www.hptlc-association.org/methods/methods.cfm>
6. Порівняння хроматографічних профілей флавоноїдів і гідроксикоричних кислот деяких видів родини Lamiaceae, представлених на фармацевтичному ринку України / К. О. Хохлова та ін. *Фармацевтичний журнал*. 2020. № 2. С.67–78. DOI: <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.20.07>
7. Государственная фармакопея XIII online. URL: <http://pharmacopoeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online/>
8. Validated HPTLC Method for the Quantitative Analysis of Rosmarinic Acid in Several *Salvia* Species / H. Bardakci et al. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2014. Vol. 11, № 3. P. 245–254. DOI: 10.1055/s-0031-1282229
9. Буданцев А. Л., Лесиовская Е. Е. Розмариновая кислота : источники и биологическая активность. *Растительные ресурсы*. 2012. Т. 48, Вып. 3. С. 453–468.
10. High-performance Thin-Layer Chromatography Method Development, Validation, and Simultaneous Quantification of Four Compounds Identified in Standardized Extracts of *Orthosiphon stamineus* / S. Hashim et al. *Pharmacogn Research*. 2016. Vol. 8, Iss. 4. P. 238–243. DOI: <https://doi.org/10.4103/0974-8490.188872>
11. Determination of rosmarinic acid by HPTLC-image analysis in medicinal teas and their biological properties / D. Benedec et al. *Farmacia*. 2017. Vol. 65, № 4. P. 605–609. URL: http://www.revistafarmacia.ro/201704/art-20-Benedec_Oniga_Bodoki_605-609.pdf
12. Development of high-performance thin layer chromatography method for identification of phenolic compounds and quantification of rosmarinic acid content in some species of the Lamiaceae family / M. Shanaida et al. *Journal of Pharmacy & Bioallied Sciences*. 2020. Vol. 12, Iss. 2. P. 139–145. DOI: https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_322_19
13. Rosmarinic acid content in selected varieties of sage (*Salvia officinalis* L.) / M. Haban et al. *Journal of Central European Agriculture*. 2019. Vol. 20, Iss. 1. P. 305–320. DOI: <https://doi.org/10.5513/JCEA01/20.1.2144>

REFERENCES

1. Frommenwiler, D. A., Trefzer, D., Schmid, M., Cañigüeral, S., Reich, E. (2020). Comprehensive HPTLC fingerprinting: A novel economic approach to evaluating the quality of *Ganoderma lucidum* fruiting body. *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 43 (11–12), 414–423. doi: <https://doi.org/10.1080/10826076.2020.1725560>
2. Frommenwiler, D. A., Booker, A., Vila, R., Heinrich, M., Reich, E., Cañigüeral, S. (2019). Comprehensive HPTLC fingerprinting as a tool for a simplified analysis of purity of ginkgo products. *Journal of Ethnopharmacology*, 243, 112084. doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112084>
3. DP “Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv”. (2015). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy*. (Vols. 1-3; Vol. 3). (2nd ed.). Kharkiv: DP “Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv”.
4. *European Pharmacopoeia 8.0*. (2014). Strasbourg: EDQM.
5. HPTLC Association. (n.d.). *Method collection*. Available at: <https://www.hptlc-association.org/methods/methods.cfm>

6. Khokhlova, K. O., Vyshnevskaya, L. I., Zdoryk, O. A., Kovpak, L. A. (2020). *Farmatsevtichnyi Zhurnal*, 75 (2), 67–78. doi: <https://doi.org/https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.20.07>
7. *Russia State Pharmacopoeia XIII online*. (n.d.). Available at: <http://pharmacopoeia.ru/gosudarstvennaya-farmakopeya-xiii-online-gf-13-online/>
8. Bardakci, H., Kirmizibekmez, H., Yesilada, E., Akaydin, G. (2014). Validated HPTLC method for the quantitative analysis of rosmarinic acid in several *Salvia* Sp. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 11 (3), 245–254. doi: 10.1055/s-0031-1282229.
9. Budantsev, A. L., Lesiovskaia, E. E. (2012). *Rastitelnye Resursy*, 48 (3), 453–468.
10. Hashim, S., Beh, H. K., Hamil, M. S., Ismail, Z., Majid, A. M. (2016). High-performance Thin-Layer Chromatography Method Development, Validation, and Simultaneous Quantification of Four Compounds Identified in Standardized Extracts of *Orthosiphon stamineus*. *Pharmacogn. Res.*, 8, 238–243. doi: <https://doi.org/10.4103/0974-8490.188872>
11. Benedec, D., Oniga, I., Kozma-imre, A., Hanganu, D., Tärmure, V., Bodoki, E. (2017). Determination of rosmarinic acid by HPTLC-image analysis in medicinal teas and their biological properties. *Farmacia*, 65 (4), 605–609. Available at: http://www.revistafarmacia.ro/201704/art-20-Benedec_Oniga_Bodoki_605-609.pdf
12. Shanaida, M., Jasicka-Misiak, I., Makowicz, E., Stanek, N., Shanaida, V., Wiczorek, P. (2020). Development of high-performance thin layer chromatography method for identification of phenolic compounds and quantification of rosmarinic acid content in some species of the Lamiaceae family. *Journal of Pharmacy & BioAllied Sciences*, 12 (2), 139–145. https://doi.org/10.4103/jpbs.JPBS_322_19
13. Habán, M., Habánová, M., Holovičová, M., Ražná, K. (2019). Rosmarinic acid content in selected varieties of sage (*Salvia officinalis* L.). *Journal of Central European Agriculture*, 20 (1), 305–320. doi: /10.5513/JCEA01/20.1.2144.

Адреса для листування:

61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4.

E-mail: kateryna_khokhlova@ukr.net.

Національний фармацевтичний університет

Хохлова К. О. (ORCID – <https://orcid.org/0000-0002-7151-6763>)

Здорик О. А. (ORCID – <https://orcid.org/0000-0002-2721-0281>)

Вишнеvsька Л. І. (ORCID – <https://orcid.org/0000-0002-6887-3591>)

Надійшла до редакції 29.10.2020 р.