К. О. ХОХЛОВА (<https://orcid.org/0000-0002-7151-6763>), канд. фарм. наук, доцент,
Л. І. ВИШНЕВСЬКА (<https://orcid.org/0000-0002-6887-3591>), д-р фарм. наук, проф.,
О. А. ЗДОРИК (<https://orcid.org/0000-0002-2721-0281>), д-р фарм. наук, доцент
Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ПОРІВНЯННЯ ХРОМАТОГРАФІЧНИХ ПРОФІЛЕЙ ЕФІРНИХ ОЛІЙ В ЕКСТРАКТАХ 13 ВИДІВ РОДИНИ *LAMIACEAE*

Ключові слова: високоефективна тонкошарова хроматографія (ВЕТШХ),
Lamiaceae, ідентифікація, ефірні олії

К. О. KHOHLLOVA (<https://orcid.org/0000-0002-7151-6763>),

Л. І. VYSHNEVSKA (<https://orcid.org/0000-0002-6887-3591>),

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

National University of Pharmacy, Kharkiv

COMPARISON OF CHROMATOGRAPHIC PROFILES OF ESSENTIAL OILS IN EXTRACTS OF 13 SPECIES FROM *LAMIACEAE* FAMILY

Key words: high-performance thin-layer chromatography (HPTLC), *Lamiaceae*, identification, essential oils

Рослини родини *Lamiaceae* широко розповсюджені на території України. За даними довідників з визначення вищих рослин флори України [1, 2], вони представлені більш ніж 150 видами з 40 родів. Наразі, у фармакопейний аналіз України включено монографії на 13 родів і 17 видів із родини *Lamiaceae* [3]; однак, у народній медицині знаходять застосування й інші представники родини [2].

Основними хімічними компонентами лікарської рослинної сировини (ЛРС) представників родини *Lamiaceae* є ефірні олії. Цю групу сполук традиційно використовують для контролю якості сировини родини *Lamiaceae*. Так, методики ідентифікації ефірних олій методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) та кількісного визначення ефірних олій включено у більшість монографій на ЛРС і засоби родини *Lamiaceae* Європейської і Державної фармакопеї України (ДФУ) 2 вид. [3, 4]. Однак, в останні роки в Європейській фармакопеї поставили під питання доцільність визначення ефірних олій методом ТШХ для деякої ЛРС і ЛРЗ родини *Lamiaceae* [5, 6] – методики ідентифікації ТШХ ефірних олій у монографіях на листя м'яти перцевої і м'яти перцевої сухий екстракт, а також на траву чебрецю звичайного і чебрецю повзучого було замінено на методики високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) визначення флавоноїдних сполук, – для можливості вирізнення небажаних домішок спорідненими видами.

З огляду на вищенаведене та на сучасний міжнародний напрям фармакопейної гармонізації умов до стандартизації фітозасобів та заміни методик ТШХ на ВЕТШХ, нами розпочато дослідження щодо визначення і порівняння хроматографічних профілів різних класів біологічно активних речовин (БАР) родини *Lamiaceae*, представленої на ринку України, в уніфікованих умовах методом ВЕТШХ, та вивчення можливості і доцільності проведення фармакопейних тестів «Ідентифікація», «Домішки» і «Ліміт-тестів» за тими чи іншими класами БАР [7].

Завданням цієї роботи було встановлення можливості проведення ідентифікації ВЕТШХ за хроматографічним профілем ефірних олій у метанольних екстрактах ЛРС різних родів і видів *Lamiaceae* з флори України, а саме: шавлії лікарської (*Salvia officinalis* L.), шавлії ефіопської (*Salvia aethiopis* L.), чебрецю плазкого (*Thymus serpyllum* L.), чебрецю звичайного (*Thymus vulgaris* L.), материнки звичайної (*Origanum vulgare* L.), розмарину звичайного (*Rosmarinus officinalis* L.), м'яти

перцевої (*Mentha × piperita* L.), меліси лікарської (*Melissa officinalis* L.), ортосифону тичинкового (*Orthosiphon stamineus* Benth.), лофанту анісового (*Agastache foeniculum* Kuntze), собачої кропиви (*Leonurus cardiaca* L.), гісопу лікарського (*Hyssopus officinalis* L.) шандри звичайної (*Marrubium vulgare* L.) в уніфікованих хроматографічних умовах.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження було проведено методом ВЕТШХ в автоматичній системі для рослинної сировини виробництва САМАГ, Швейцарія, на базі лабораторій САМАГ, Швейцарія, і Навчально-наукового тренінгового центру хіміко-технологічних досліджень Навчально-наукового інституту прикладної фармації (ННТЦХТД ННПФ) НФаУ, Україна, відповідно до вимог загальних статей ВЕТШХ <203> «Процедура високоефективної тонкошарової хроматографії для ідентифікації засобів рослинного походження» Американської фармакопеї [8] та <2.8.25.> «Високоефективна тонкошарова хроматографія» Європейської фармакопеї [9].

Для приготування досліджуваних екстрактів застосовували: Analytical Balance MS 205 DU, Mettler-Toledo; Orbital Shaking Platform POS-300, Grand-Bio; Centrifuge EBA21, Hettich. Результати обробляли із застосуванням програмного забезпечення VisionCats, САМАГ.

Як об'єкти дослідження використовували ЛРС родини *Lamiaceae*, придбану у аптечній мережі та фітолавках України, а саме: траву шавлії лікарської («Віола», Запоріжжя, сер. 131019; ДД «Фітосвіт», Вінниця, сер. 09012019), траву шавлії ефіопської («Лечец», Харків, місце збору – Харківська обл., 2019), траву чебрецю плазкого («Лікарські рослини», Харків, сер. 281019; «Ліктрави», Житомир, сер. 30919), траву чебрецю звичайного (ДД «Цілющі рецепти Карпат», м. Кропивницький, сер. 09082019), траву материнки звичайної (Харків, місце збору – Харківська обл., 2019; «Лікарські рослини», Харків, сер. 290719), листя розмарину звичайного (Харків, місце збору – Миколаївська обл.; ДД «Цілющі рецепти Карпат», м. Кропивницький, сер. 22042019), листя ортосифону тичинкового («Ліктрави», Житомир, сер. 10319; ДД «Еліксир», Вінниця, 2019), листя м'яти перцевої («Ліктрави», Житомир, сер. 61218), траву лофанту анісового (місце збору – Харківська обл., 2019; «Лечец», Харків, місце збору – Полтавська обл., 2019), листя меліси лікарської («Ліктрави», Житомир, сер. 30319; «Лечец», Харків, місце збору – Харківська обл., 2019), траву гісопу лікарського (місце збору – Харківська обл., 2019), траву шандри звичайної («Лечец», Харків, місце збору – Миколаївська обл., 2019), траву собачої кропиви («Лечец», Харків, місце збору – Миколаївська обл., 2019; ДД «Фітосвіт», Вінниця, сер. 06112017). У дослідження було включено зразки васильку тонкоцвітного (*Ocimum tenuiflorum* L.) іноземного походження (Anchrom, сер. RHD-404 (India); Gaia Herbs, сер. 00016748). Як стандартні зразки (СЗ) використовували борнеол (Aldrich, сер. 12408PI); борнилацетат (Aldrich, сер. 02522PY), цинеол (Aldrich, сер. BCBC6785). Пластини – НРТLC Si 60 F254 (сер. 1.05642.0001, Merck).

Нижче наведено методику ВЕТШХ визначення ефірних олій для ЛРС родини *Lamiaceae* з уніфікованими умовами хроматографування, обраними за результатами експерименту.

Методика

Випробовуваний розчин: 0,5 г подрібненої в порошок сировини струшують із 5 мл метанолу Р протягом 10 хв, центрифугують або фільтрують. Використовують надосадову рідину.

Розчини порівняння: 0,5 мг/мл СЗ борнеолу у толуолі Р, 1,5 мг/мл СЗ борнилацетату у толуолі Р; 10 мкл/мл СЗ цинеолу у толуолі Р.

Стаціонарна фаза: НРТLC Si 60 F254 (Merck).

Рухома фаза: толуол Р, етилацетат Р (95:5).

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

Насичення: 20 хв із фільтрувальним папером.

Відносна вологість: 33%, насичений розчин MgCl_2 .

Температура: 22 ± 5 °С.

Об'єм нанесення: по 4 мкл для випробовуваних розчинів і по 2 мкл для розчинів порівняння.

Виявлення: Перед дериватизацією: 254 нм (А), 366 нм (В), біле світло (С). Після дериватизації: 366 нм (D), біле світло (E).

Реагент для дериватизації: розчин анісового альдегіду. До 170 мл метанолу льодяного Р додають 20 мл кислоти оцтової Р, 10 мл кислоти сірчаної Р і 1 мл анісового альдегіду Р.

Використання: проводять автоматичне обприскування/занурення пластини зі застосуванням реагенту анісового альдегіду, нагрівають пластину за 100 °С протягом 5 хв.

Результати дослідження та обговорення

У нашій роботі під час вибору уніфікованих хроматографічних умов для визначення і порівняння ЛРС роду *Lamiaceae* як стаціонарну фазу використовували пластини НРТLC Si 60 F254, що порівняно з класичними пластинами ТШХ мають менший розмір частинок і, як наслідок, зумовлюють менший об'єм нанесення, коротшу відстань для хроматографування, дають змогу розділити максимальну кількість БАР. Як елюент було обрано класичну рухому фазу – толуол Р, етилацетат Р (95:5), що застосовують у фармакопейному аналізі для ідентифікації ефірних олій ЛРС, зокрема – м'яти перцевої, розмарину лікарського, розмаринової олії, м'яти перцевої олії, шавлії лікарської, настойки шавлії, шавлії трилопатевої, лаванди вузьколистої, лавандової олії та ін. [3, 4, 10], і є придатною для хроматографічного розділення і порівняння всіх важливих ефірних олій. Важливо підкреслити, що саме цю рухому фазу було запропоновано і подано на розгляд у Європейську фармакопею як універсальну для аналізу ЛРЗ ефірні олії [11]. Як маркери використовували СЗ борнеолу і борнілацетату (монографії на розмарин і розмаринову олію), цинеолу (монографії на шавлію лікарську, настойку шавлії, м'яту перцеву, олію м'яти перцевої), які у відібраних хроматографічних умовах мали $R_F \approx 0,17$ (борнеол); $R_F \approx 0,49$ (борнілацетат); $R_F \approx 0,33$ (цинеол) і відносно до розміщення яких зручно проводити опис результатів. Окрім того, за даними літератури, цинеол міститься також у гісопі лікарському, м'яти перцевій, чебрецю звичайному [2], а борнеол, і у незначній кількості борнілацетат – у шавлії лікарській [11].

Для підготовки проби нами було обрано той самий розчинник (метанол), метод екстракції (струшування), концентрацію (100 мг/мл), що і для визначення ВЕТШХ профілей флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у об'єктах *Lamiaceae* [7]. Метанол є менш токсичним [12, 13], ніж зазвичай застосовувані розчинники для ефірних олій, такі як толуол, метиленхлорид, гексан [3, 4, 10, 11]; і також може екстрагувати різні терпени, включаючи й монотерпеноїди [14, 15]. До того ж, на відміну від толуолу, метанол не належить до групи прекурсорів, його використання не підлягає предметно-кількісному обліку. А форма випуску, передбачувана фармакологічна дія і застосування об'єктів дослідження робить цікавим спробу використання метанолу як універсального екстрагента для ідентифікації ефірних олій із ЛРС. Метод струшування є менш тривалим (застосовують у монографіях – м'ята перцева, чебрець повзучий, материнка звичайна, шавлія лікарська, лаванда вузьколиста та ін.),

за метод парової дистиляції ефірних олій (застосовують у монографіях – меліса лікарська, розмарин лікарський та ін.); велику кількість зразків можна екстрагувати одночасно.

Для одержання максимальної інформації щодо хроматографічних відбитків, здійснювали детектування до хімічної дериватизації (денне світло, 254 нм, 366 нм) і після хімічної обробки (біле світло, 366 нм). Як реагент-проявник застосовували розчин анісового альдегіду, що є універсальним проявником для визначення ефірних олій, терпеноїдів та інших ліпофільних сполук [16] і наводиться у переважній більшості монографій у разі визначення ефірних олій родини *Lamiaceae* (на м'яту перцеву, м'яти перцевої олію, чебрець повзучий, мелісу лікарську, материнку звичайну, розмарин лікарський, лаванду вузьколисту і лавандову олію та ін.).

Стандартизовані умови ВЕТШХ хроматографування (постійна температура, відносна вологість, насичена камера із фільтрувальним папером) у поєднанні зі стандартною рухомою фазою і класичним проявником забезпечили відтворюване розділення і забарвлення зон ефірних олій. Таким чином, використовуючи основні маркери (борнеол, цинеол, борнилацетат) та відомі літературні дані щодо R_F інших неспецифічних ефірних олій в цих умовах, нами мали була отримана змога описати хроматографічні профілі і припустити хімічну природу навіть тих зон ефірних олій, для яких нами не було використано стандартних зразків.

Як видно з рисунку, незважаючи на використання нетипового розчинника для визначення ефірних олій ЛРС – метанолу, у досліджуваних зразках родини *Lamiaceae* було виявлено значну кількість зон ефірних олій різної інтенсивності. Найбільш інформативним було виявлення після хімічної обробки (*D*, *E*). Так, у білому світлі метанольні екстракти ефірних олій досліджуваних зразків різних видів виявлялися зонами, забарвленими у фіолетовий, синій, коричневий, рожевий, оранжевий колір різної інтенсивності.

Найбільш специфічними і стабільними за розміщенням, кольором і інтенсивністю виявилися зразки шавлії лікарської (рисунок, треки 3, 4), і розмарину лікарського (рисунок, треки 12, 13). При виявленні *E* зразки шавлії лікарської мали специфічну інтенсивну зону фіолетового кольору, що відповідала за розміщенням СЗ цинеолу ($R_F \approx 0,33$) і зону коричневого кольору слабкої інтенсивності, що відповідала за розміщенням СЗ борнеолу ($R_F \approx 0,17$) [11]; при цьому, зона цинеолу була відсутня у зразку шавлії ефіопської, що є корисним для диференціації цих видів шавлії; зразки розмарину лікарського мали 2 специфічні зони коричнюватого кольору, що відповідали за кольором, розміщенням СЗ борнеолу ($R_F \approx 0,17$) і борнилацетату ($R_F \approx 0,49$).

Наявність оранжевої зони з $R_F \approx 0,41$ (ймовірно, тимол) [17] у зразках чебрецю плазкого і чебрецю звичайного дає змогу відрізнити рід Чебрець від інших родів родини *Lamiaceae*; нижче цієї зони була розміщена зона рожевого кольору низької інтенсивності з $R_F \approx 0,38$ (ймовірно, карвакрол), однак, між собою хроматографічні профілі цих близьких видів є ідентичними і не можуть бути застосовані для диференціації один від одного (рисунок, треки 7–9).

При виявленні *E*, зразки материнки звичайної (рисунок, треки 10, 11) у середній частині пластинки містили характеристичну пару зон рожевого і фіолетового кольору, з них рожева з $R_F \approx 0,38$ (ймовірно, карвакрол) може свідчити про хемотип материнки [18].

Як видно з рисунку (виявлення *E*) хроматографічні відбитки ВЕТШХ багатьох досліджуваних зразків містили зону з $R_F \approx 0,38$, що мала фіолетове чи рожеве забарвлення різної інтенсивності і може відповідати різним ефірним оліям (наприклад, цитраль, евгенол, карвон та ін.).

Рис. ВЕТІХ хроматографічні профілі (знімки) метанольних екстрактів 13 видів родини *Lamiaceae* флори України за 254 нм (А), 366 нм (В), білому світлі (С) перед дериватизацією; 366 нм (D), білому світлі (E) після дериватизації

Зона з $R_F \approx 0,21$ (ймовірно, ментол), що мала інтенсивне синє забарвлення при виявленні в А і оранжеву флуоресценцію при виявленні D, була наявна лише у зразках м'яти перцевої.

У цих хроматографічних умовах метанольний зразок меліси, що був виокремлений раніше як стороння домішка, мав додаткову зону фіолетового кольору у верхній частині хроматограми (трек 19) порівняно з доброякісними зразками меліси (17, 18).

Для всіх досліджуваних зразків ЛРС при виявленні E була виявлена коричнево-сіра зона слабкої інтенсивності з $R_F = 0,14$, розміщена нижче зони СЗ борнеолу ($R_F \approx 0,17$), що при виявленні D мала світло-фіолетове забарвлення (ймовірно, терпінєол). Майже всі досліджувані зразки містили зону різної інтенсивності з $R_F \approx 0,23$, що мала сірувато-фіолетовий колір при виявленні E і оранжево-рожеву флуоресценцію при виявленні D, розміщену над зоною, що відповідає СЗ борнеолу і нижче зони, що відпо-

відає СЗ цинеолу (ймовірно, ліналоол). Інтенсивною ця зона була для зразків шавлії лікарської і розмарину лікарського, для зразків іншої ЛРС інтенсивність виявлення цієї зони була меншою. Крім цього, при виявленні *E* у верхній частині пластини було встановлено неспецифічну фіолетову зону різної інтенсивності з $R_f \approx 0,83$, що мала світло-бежеву флуоресценцію при виявленні *D* (ймовірно, терпенові гідрокарбони).

Висновки

1. Виконано порівняння хроматографічних профілей ВЕТШХ ефірних олій в метанольних екстрактах 13 видів родини *Lamiaceae*, одержаних в уніфікованих хроматографічних умовах. Для низки рослин виявлено специфічні зони, корисні для диференціації видів/родів родини *Lamiaceae* між собою та виявлення сторонніх домішок: шавлія, чебрець, материнка, васильок, розмарин, м'ята. При цьому, найбільш специфічні, яскраві за інтенсивністю і відтворювані хроматографічні відбитки, що можуть бути рекомендовані для тесту «Ідентифікація», було виявлено для екстрактів шавлії лікарської і розмарину лікарського. Для інших представників родини, таких як меліса, нирковий чай, собача кропива, лофант, шандра, у запропонованих умовах було виявлено лише нехарактеристичні зони ефірних олій низької інтенсивності (сліди).

2. Актуальним є виконання валідації встановлених характеристичних відбитків у метанольних екстрактах досліджуваних видів із залученням більшої кількості зразків кожного виду та порівняння їх із ВЕТШХ профілями ефірних олій, одержаних класичним методом екстрагування – перегонкою з водяною парою.

Список використаної літератури

1. Доброчаева Д. Н., Котов М. И., Прокудин Ю. Н. и др. Определитель высших растений Украины. – К.: Наук. думка, 1987. – 548 с.
2. Лікарські рослини: енциклопед. дов. / За ред. А. М. Гродзинського. – К., 1990. – 544 с.
3. Державна фармакопея України 2.0. В 3 т. – 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. Thyme, Wild Thyme / Pharmeuropa Archives. Texts for comment 24.4. EDQM, 2012. URL: https://pharmeuropa.edqm.eu/app/Archives/content/Archives-37164/Pharmeuropa_24.04E.pdf
6. Peppermint leaf, Peppermint leaf dry extract / Pharmeuropa Archives. Texts for comment Pharmeuropa 27.3. – EDQM, 2015. URL: https://pharmeuropa.edqm.eu/app/Archives/content/Archives-37178/Pharmeuropa_27.03E.pdf
7. Хохлова К. О., Вишнеvsька Л. І., Здорик О. А., Ковпак Л. А. Порівняння хроматографічних профілей флавоноїдів і гідроксикоричних кислот деяких видів родини *Lamiaceae*, представлених на фармацевтичному ринку України // Фармац. журн. – 2020. – Т. 75 (2). – С.67–78. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.20.07>
8. <203> High-performance thin-layer chromatography procedure for identification of articles of botanical origin / USP 38-NF 33. – Rockville: USP, 2015. – P. 7044–7045.
9. <2.8.25> High-performance thin-layer chromatography of herbal drugs and herbal drug preparations / European Pharmacopoeia 9.0. – Strasbourg: EDQM, 2017. – P. 295–297.
10. Reich E., Schibli A. High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants. – New-York: Thieme, 2007. – 264 p. <https://doi.org/10.1055/b-0034-65188>
11. Trettin I., Broszat M., Baumle M. et al. Authenticity of Essential Oils: A HPTLC Fingerprint Method / Merck Sigma-Aldrich. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytix-reporter/authenticity-of-essential-oils.html>
12. Prat D., Hayler J. A survey of solvent selection guides // Green Chem. – 2014. –N 16. – P. 4546–4551. <https://doi.org/10.1039/C4GC01149J>
13. Joshi D. R., Adhikari N. An Overview on Common Organic Solvents and Their Toxicity // J. Pharmac. Res. Inter. – 2019. – V. 28 (3). – P. 1–18. <https://doi.org/10.9734/jpri/2019/v28i330203>
14. Chemat F., Strube J. Green Extraction of Natural Products. – Weinheim: Wiley-VCH, 2015. – 363 p.
15. Pauzi A. N., Muhammad N. M., Sairi N. H. et al. The effect of different solvent extraction towards antiuro lithiatic properties of *Euphorbia hirta* and *Orthosiphon stamineus* // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. – 2019. – P. 1–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/269/1/012040>
16. Jork H., Funk W., Fischer W. et al. Thin-Layer Chromatography. Reagents and Detection Methods. – Weinheim, 1990. – V. 1a. – 497 p.

17. Jesionek W., Grzelak E. M., Majer-Dziedzic B. et al. Thin-Layer Chromatography – Direct Bioautography for the Screening of Antimicrobial Properties of Plant Extracts // J. Planar Chromatography. – 2013. – V. 26. (2). – P. 109–113. <https://doi.org/10.1556/JPC.26.2013.2.1>

18. Baj T., Sieniawska E., Ludwiczuk A. et al. Thin-layer chromatography—fingerprint, antioxidant activity, and gas chromatography—mass spectrometry profiling of several *Origanum* L. species Tomasz // J. Planar Chromatography. – Modern TLC. – 2017. – V. 30 (5). – P. 386–391. <https://doi.org/10.1556/1006.2017.30.5.7>

References

1. Dobrochaeva D. N., Kotov M. I., Prokudin Yu. N. i dr. Opredelitel vysshih rasteniy Ukrainyi. – K.: Nauk. dumka, 1987. – 548 s.
2. Likarski roslynny: entsykloped. dov. / Za red. A. M. Hrodzynskoho. – K., 1990. – 544 s.
3. Derzhavna farmakopeia Ukrainy 2.0. V 3 t. – Kharkiv: DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv», 2015. – T. 3. – 732 s.
4. European Pharmacopoeia 8.0. – Strasbourg: EDQM, 2014. – 3655 p.
5. Thyme, Wild Thyme / Pharmeuropa Archives. Texts for comment 24.4. EDQM, 2012. URL: https://pharmeuropa.edqm.eu/app/Archives/content/Archives-37164/Pharmeuropa_24.04E.pdf
6. Peppermint leaf, Peppermint leaf dry extract / Pharmeuropa Archives. Texts for comment Pharmeuropa 27.3. – EDQM, 2015. URL: https://pharmeuropa.edqm.eu/app/Archives/content/Archives-37178/Pharmeuropa_27.03E.pdf
7. Khokhlova K. O., Vyshnevskaya L. I., Zdoryk O. A., Kovpak L. A. Porivniannia khromatohrafichnykh profilei flavonoidiv i hidroksykorychnykh kyslot deiakykh vydiv rodyny *Lamiaceae*, predstavlenykh na farmatsevtichnomu rynku Ukrainy // Farmats. zh. – 2020. – T. 75 (2). – C. 67–78. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.2.20.07>
8. <203> High-performance thin-layer chromatography procedure for identification of articles of botanical origin / USP 38-NF 33. – Rockville: USP, 2015. – P. 7044–7045.
9. <2.8.25> High-performance thin-layer chromatography of herbal drugs and herbal drug preparations / European Pharmacopoeia 9.0. – Strasbourg: EDQM, 2017. – P. 295–297.
10. Reich E., Schibli A. High-performance thin-layer chromatography for the analysis of medicinal plants. – New-York: Thieme, 2007. – 264 p. <https://doi.org/10.1055/b-0034-65188>
11. Trettin I., Broszat M., Baumle M. et al. Authenticity of Essential Oils: A HPTLC Fingerprint Method / Merck Sigma-Aldrich. URL: <https://www.sigmaaldrich.com/technical-documents/articles/analytix-reporter/authenticity-of-essential-oils.html>
12. Prat D., Hayler J. A survey of solvent selection guides // Green Chem. – 2014. – N 16. – P. 4546–4551. <https://doi.org/10.1039/C4GC01149J>
13. Joshi D. R., Adhikari N. An Overview on Common Organic Solvents and Their Toxicity // J. Pharmac. Res. Inter. – 2019. – V. 28 (3). – P. 1–18. <https://doi.org/10.9734/jpri/2019/v28i330203>
14. Chemat F., Strube J. Green Extraction of Natural Products. – Weinheim: Wiley-VCH, 2015. – 363 p.
15. Pauzi A. N., Muhammad N. M., Sairi N. H. et al. The effect of different solvent extraction towards antiulcer properties of *Euphorbia hirta* and *Orthosiphon stamineus* // IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci. – 2019. – P. 1–7. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/269/1/012040>
16. Jork H., Funk W., Fischer W. et al. Thin-Layer Chromatography. Reagents and Detection Methods. – Weinheim, 1990. – V. 1a. – 497 p.
17. Jesionek W., Grzelak E. M., Majer-Dziedzic B. et al. Thin-Layer Chromatography – Direct Bioautography for the Screening of Antimicrobial Properties of Plant Extracts // J. Planar Chromatography. – 2013. – V. 26. (2). – P. 109–113. <https://doi.org/10.1556/JPC.26.2013.2.1>
18. Baj T., Sieniawska E., Ludwiczuk A. et al. Thin-layer chromatography—fingerprint, antioxidant activity, and gas chromatography—mass spectrometry profiling of several *Origanum* L. species Tomasz // J. Planar Chromatography. – Modern TLC. – 2017. – V. 30 (5). – P. 386–391. <https://doi.org/10.1556/1006.2017.30.5.7>

Надійшла до редакції 18 травня 2020 р.

Прийнято до друку 28 травня 2020 р.

К. О. Хохлова (<https://orcid.org/0000-0002-7151-6763>),
Л. І. Вишневецька (<https://orcid.org/0000-0002-6887-3591>),
О. А. Здорик (<https://orcid.org/0000-0002-2721-0281>)

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

ПОРІВНЯННЯ ХРОМАТОГРАФІЧНИХ ПРОФІЛЕЙ ЕФІРНИХ ОЛІЙ В ЕКСТРАКТАХ 13 ВИДІВ РОДИНИ *LAMIACEAE*

Ключові слова: високоефективна тонкошарова хроматографія (ВЕТШХ), *Lamiaceae*, ідентифікація, ефірні олії

А Н О Т А Ц І Я

Традиційно для ідентифікації лікарської рослинної сировини родини *Lamiaceae* здійснювали визначення профілю ефірних олій методом ТШХ. В останні роки в Європейській фармакопеї поставили під питання доцільність визначення ефірних олій методом ТШХ в монографіях на чебрець звичайний і повзучий, листя і сухий екстракт м'яти перцевої; ці методики було замінено на методики ВЕТШХ за визначенням флавоноїдних сполук.

Метою роботи було встановлення можливості виконання ідентифікації ВЕТШХ за хроматографічним профілем ефірних олій у метанольних екстрактах лікарської рослинної сировини 13 видів із родини *Lamiaceae* в уніфікованих хроматографічних умовах.

Об'єктами дослідження були метанольні екстракти лікарської рослинної сировини флори України: *Salvia officinalis*, *Salvia aethiopis*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum tenuiflorum* (foreign origin), *Mentha × piperita*, *Melissa officinalis*, *Orthosiphon stamineus*, *Agastache foeniculum*, *Leonurus cardiaca*, *Hyssopus officinalis*, *Marrubium vulgare*, приготовані з лікарської рослинної сировини, придбаної в аптечній мережі України. Дослідження ВЕТШХ проводили із використанням автоматичного обладнання ВЕТШХ виробництва САМАГ, Швейцарія, на базі лабораторій САМАГ, Швейцарія, і ННТЦХТД ННПФ НФаУ, Україна. Умови хроматографування: стаціонарна фаза – ВЕТШХ пластини Si 60 F₂₅₄; рухома фаза – толуол, етилацетат (95:5); стандартні зразки – борнеол, борнилацетат, цинеол; дериватизація – реагент анісового альдегіду; детекція: біле світло, 254 нм, 366 нм – перед дериватизацією; біле світло, 366 нм – після дериватизації; підготовка проби – метанольні екстракти (100 мг/мл), одержані методом струшування.

В уніфікованих хроматографічних умовах було одержано і зроблено оцінку хроматографічних відбитків ефірних олій за методом ВЕТШХ для 13 видів з родини *Lamiaceae*. Найбільш специфічними, інтенсивними і відтворюваними були відбитки ВЕТШХ для екстрактів шавлії лікарської і розмарину лікарського. Крім цього, хроматографічні відбитки шавлії, чебрецю, розмарину, материнки, васильку і м'яти характеризувалися специфічними зонами, корисними для диференціації різних родів родини *Lamiaceae*. Встановлення критеріїв якості відповідної лікарської рослинної сировини за профілем ефірних олій, одержаних в уніфікованих хроматографічних умовах методом ВЕТШХ, доцільно здійснювати після валідації виявлених специфічних зон.

Е. А. Хохлова (<https://orcid.org/0000-0002-7151-6763>),
Л. И. Вишневская (<https://orcid.org/0000-0002-6887-3591>),
А. А. Здорик (<https://orcid.org/0000-0002-2721-0281>)

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

СРАВНЕНИЕ ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИХ ПРОФИЛЕЙ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ В ЭКСТРАКТАХ 13 ВИДОВ СЕМЕЙСТВА *LAMIACEAE*

Ключевые слова: высокoeffективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ), *Lamiaceae*, идентификация, эфирные масла

А Н Н О Т А Ц І Я

Традиционно для идентификации лекарственного растительного сырья семейства *Lamiaceae* осуществляли определение профиля эфирных масел методом ТСХ. В последние годы в Европейской фармакопее поставили под вопрос целесообразность определения эфирных масел методом ТСХ в монографиях на чебрец и тимьян, листья и сухой экстракт мяты перечной; эти методики были заменены на методики ВЭТСХ-определения веществ флавоноидной природы.

Целью работы было установление возможности проведения идентификации ВЭТСХ по хроматографическому профилю эфирных масел в метанольных экстрактах лекарственного растительного сырья 13 видов из семейства *Lamiaceae* в унифицированных хроматографических условиях.

Объектами исследования были метанольные экстракты лекарственного растительного сырья флоры Украины: *Salvia officinalis*, *Salvia aethiopis*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum tenuiflorum* (foreign origin), *Mentha × piperita*, *Melissa officinalis*, *Orthosiphon stamineus*, *Agastache foeniculum*, *Leonurus cardiaca*, *Hyssopus officinalis*, *Marrubium vulgare*, приготовленные из лекарственного растительного сырья, приобретенного в аптечной сети Украины. Исследование ВЭТСХ выполняли с использованием автоматического оборудования ВЭТСХ производства САМАГ, Швейцария, на базе лабораторий САМАГ, Швейцария, и УНТЦХТИ УНИПФ НФаУ, Украина. Условия хроматографирования: стационарная фаза – ВЭТСХ пластини Si 60 F₂₅₄; подвижная фаза – толуол, этилацетат (95:5); стандартные образцы – борнеол, борнилацетат, цинеол; дериватизация – ре-

агент анисового альдегида; детекция: белый свет, 254 нм, 366 нм – перед дериватизацией; белый свет, 366 нм – после дериватизации; подготовка пробы – метанольные экстракты (100 мг/мл), полученные методом встряхивания.

В унифицированных хроматографических условиях получены и оценены хроматографические отпечатки эфирных масел по методу ВЭТСХ для 13 видов из семейства *Lamiaceae*. Наиболее специфичными, интенсивными и воспроизводимыми были отпечатки ВЭТСХ для экстрактов шалфея лекарственного и розмарина лекарственного. Кроме этого, хроматографические отпечатки шалфея, чабреца, розмарина, душицы, туласи и мяты характеризовались специфическими зонами, полезными для дифференциации различных видов семейства *Lamiaceae*. Установление критериев качества соответствующего лекарственного растительного сырья по профилю эфирных масел, полученных в унифицированных хроматографических условиях методом ВЭТСХ, целесообразно проводить после валидации выявленных специфических зон.

K. O. Khokhlova (<https://orcid.org/0000-0002-7151-6763>),

L. I. Vyshnevska (<https://orcid.org/0000-0002-6887-3591>),

O. A. Zdoryk (<https://orcid.org/0000-0002-2721-0281>)

National University of Pharmacy, Kharkiv

COMPARISON OF CHROMATOGRAPHIC PROFILES OF ESSENTIAL OILS IN EXTRACTS OF 13 SPECIES FROM *LAMIACEAE* FAMILY

Key words: high-performance thin-layer chromatography (HPTLC), *Lamiaceae*, identification, essential oils
A B S T R A C T

The TLC essential oils profiles were being used conventionally for identification of herbal raw materials (HRM) of *Lamiaceae* family. Despite this, in recent years the European Pharmacopoeia to call in question the appropriateness of TLC on essential oils determination of Thyme and Wild Thyme, as well as Peppermint and Peppermint dry extract; these methods were replaced by HPTLC using flavonoid profile. This work aimed to establish the possibility of conducting HPTLC identification of methanolic extracts of 13 members of the *Lamiaceae* family in harmonized chromatographic conditions using chromatographic profiles on essential oils.

The objects were methanolic extracts of HRM of Ukraine flora – *Salvia officinalis*, *Salvia aethiopis*, *Thymus serpyllum*, *Thymus vulgaris*, *Origanum vulgare*, *Rosmarinus officinalis*, *Ocimum tenuiflorum* (foreign origin), *Mentha × piperita*, *Melissa officinalis*, *Orthosiphon stamineus*, *Agastache foeniculum*, *Leonurus cardiaca*, *Hyssopus officinalis*, *Marrubium vulgare*, prepared from HRM that were purchased in Ukraine. The study was done by standardized HPTLC procedure using automatic HPTLC herbal system of CAMAG, Switzerland, at the base of CAMAG laboratory, Muttentz, Switzerland, and laboratory of ESTCCTI ESIPP, NUPh, Ukraine. Chromatography conditions: stationary phase – HPTLC plates Si 60 F₂₅₄; mobile phase – toluene-ethylacetate (95:5); reference standards – borneol, bornyl acetate, cineole; derivatization – anisaldehyde reagent; detection: WRT, 254, 366 nm – before derivatization; WRT, 366 nm – after derivatization; sample preparation – methanolic extracts (100 mg/ml), extracted by shaking technique.

In unified chromatographic conditions the HPTLC chromatographic fingerprints of essential oils of 13 *Lamiaceae* family species were established and evaluated. The most specific, intensive and reproducible HPTLC fingerprints were for Sage and Rosemary extracts. Moreover, fingerprints of Sage, Thyme, Rosemary, Origanum, Ocimum and Peppermint shown specific zones useful for differentiation of different genera of *Lamiaceae* family. For setting relative acceptance criteria for each of the species the validation for specific zones that were detected should be done.

Електронна адреса для листування з авторами: khokhlova_kateryna@ukr.net
(Хохлова К. О.)