УДК 615.32:615.217

Ю. С. Прокопенко, О. О. Нефьодов, Н. Ф. Федько
Одеський національний університет імені І. І. Мечникова,
факультет хімії та фармації, вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна
Email: Yuliya.prok@gmail.com

ЗАСТОСУВАННЯ СУЧАСНИХ МЕТОДІВ АНАЛІЗУ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ ЗАБРУДНЕНЬ ТА ІДЕНТИФІКАЦІЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ

У статті проаналізовано доцільність використання методів аналізу для контролю якості лікарської рослинної сировини. Визначено перспективність застосування портативного обладнання для визначення чистоти сировини та домішок важких металів. ДФУ рекомендує використовувати хроматографічні методи аналізу для ідентифікації та попередження фальсифікації лікарської рослинної сировини. У статті запропоновано розглянути перспективи використання методів високоефективної рідинної хроматографії, газової хроматографії, високоефективної тонкошарової хроматографії.

Ключові слова: лікарська рослинна сировина, хроматографічні методи, ідентифікація, контроль якості.

Вступ. Основною метою здійснення контролю якості лікарської рослинної сировини є належна безпека та ефективність фармацевтичної продукції. На сьогоднішній день норми якості для лікарської рослинної сировини регулюються Державною фармакопеєю України та нормативною документацією на виробництвах. Не допускається зниження стандартів лікарської рослинної сировини через фальсифікацію або неналежне дотримання умов заготівлі та зберігання, оскільки це несе безпосередній негативний вплив на якість фітотерапевтичних засобів на її основі.

Сучасне здійснення фітохімічного аналізу може бути досить складним через різноманітність хімічного складу рослинної сировини та, відповідно, лікарських засобів рослинного походження, через невелику концентрацію активних речовин на тлі супутніх домішок, а також через потенційну взаємодію сполук при здійсненні аналізу. Кожна з груп біологічно активних речовин має свої унікальні властивості та може відігравати роль у біологічній активності рослинного матеріалу.

Метою статті є огляд наукових літературних першоджерел щодо здійснення первинного контролю якості лікарської рослинної сировини, який полягає у встановленні чистоти та ідентифікації основних груп біологічно активних сполук, для запобігання фальсифікації окремих видів сировини та дотримання стандартизації лікарської рослинної сировини, напівпродуктів та готових фітотерапевтичних засобів на всіх етапах виробництва.

Здійснено електронний аналіз публікацій основних науковометричних баз: ScienceDirect, Google Scholar, Research Gate, NCBI, Willey, Web of Science, EBSCO, Scopus, PubMed. Пошук проводився з використанням наступних термінів та їх комбінацій: «лікарська рослинна сировина», «ідентифікація», «контроль якості»,

DOI: https://doi.org/10.18524/2304–0947.2024.1(87).307858
© Ю. С. Прокопенко, О. О. Нефьодов, Н. Ф. Федько, 2024

«визначення чистоти лікарської рослинної сировини», «фітохімічний аналіз», «лікарські засоби рослинного походження»,.

Результати дослідження. Сучасний фітохімічний аналіз – це комплексний підхід до вивчення хімічного складу рослин, біологічно активних сполук у їх складі та, відповідно, фармакологічного потенціалу [1, 2].

Успішність контролю якості лікарської рослинної сировини в сучасних умовах передбачає інтегрований підхід, тобто поєднання різних технік та методів, які дозволяють аналізувати не лише основні класи сполук, такі як алкалоїди, флавоноїди, фенольні кислоти, амінокислоти тощо, але й визначати вміст макро- та мікроелементів у рослинних матеріалах [3–5]. При цьому перевага надається тим методам, які дозволяють проводити кількісний аналіз хімічних сполук у рослинних матеріалах, що є важливим для визначення дозування та ефективності рослинних препаратів [6]. Сучасні методи дозволяють розробляти стандартизовані протоколи для аналізу рослинних матеріалів, що є важливим для забезпечення якості, ефективності та безпеки продуктів на основі рослин, а також вивчати вплив різноманітних екологічних факторів, таких як забруднення ґрунту, кліматичні зміни, на хімічний склад та біологічну активність рослин [2, 7, 8].

З точки зору підготовки до аналізу, певні складнощі вносять структура сировини та особливості хімічного складу. Наприклад, слід враховувати особливості підготовки різних рослинних тканин (листя, стебла, коріння, квітки, квіткові бруньки, ягоди, тощо) [8]. Крім того, варіабельність хімічного складу внаслідок дії зовнішніх факторів, низька концентрація активних інгредієнтів, неоднорідність зразків перетворює фітохімічний аналіз на складний та трудомісткий процес [2, 7].

Нижче наведені основні аспекти контролю якості лікарської рослинної сировини та лікарських засобів на її основі.

Визначення забруднень. Перед початком роботи з лікарською рослинною сировиною здійснюється дослідження на наявність важких металів, пестицидів, гербіцидів, мікробіологічних забруднень та інших небажаних речовин, які можуть потрапити в продукт під час виробництва, зберігання або транспортування. В Україні також передбачено здійснення радіологічного контролю сировини [7, 9, 10].

На сьогоднішній день Державна фармакопея України (ДФУ) регламентує визначення важких металів у лікарській рослинній сировині методом атомно-емісійної спектрометрії [11]. Цей чутливий метод дозволяє досягати межі виявлення в діапазоні від *ppm* до *ppb*, в залежності від елемента, налаштування приладу або підготовки зразків. Належна підготовка є критично важливим аспектом успішності дослідження. Використовують розчинники високого ступеню чистоти або їх комбінації (концентрований розчин перекису водню, кислоти, основи, з наступним розщепленням кислотами (HNO_3, $HClO_4$, H_2SO_4) [12].

На відміну від методу атомно-емісійної спектрометрії, метод рентген-флуориметрії не потребує підготовки аналітичної проби, дозволяє мінімізувати утворення відходів і може застосовуватись для аналізу свіжої або висушеної лікарської рослинної сировини [13, 14]. У літературних джерелах також описані перспективи застосування методу для стандартизації ділянок вирощування рослинної сировини та здійснення контролю якості фітотерапевтичних засобів [14, 15]. Рентген-флуориметричний аналіз дозволяє визначати елементи у діапазоні від *ppm* до *ppt*,

в залежності від налаштувань приладу, при цьому метод більш чутливий до важких елементів (Z > 20), що дозволяє використовувати його для виявлення забруднень зразків. Аналіз одного зразка займає до 10 хвилин [16, 17].

Нами здійснювалась апробація портативного обладнання для рентен-флуориметрії Bruker S1 TITAN800 Portable Xrf Analyzer (Bruker, США) на прикладі зразків надземних частин базиліку камфорного сортів Пурпурний (*Ocimum basilicum* L.) та Генуезький (*Ocimum basilicum Genovese* L.) [16]. Кореневе середньоквадратичне відхилення (RMSE) калібрування, межа виявлення (LOD) і межа кількісного визначення (LOQ) в нг/мл наведені у таблиці 1. Коефіцієнт детермінації (R^2) кожного калібрування становив не менше 0,99.

Таблиця 1

Параметри калібрації Bruker S1 TITAN800 Portable Xrf Analyzer на прикладі зразків Pb, Cd, Cr та Ni

Table 1

Bruker S1 TITAN800 Portable Xrf Analyzer calibration parameters on the example of Pb, Cd, Cr and Ni samples

Елемент	RMSE	LOQ	LOD	R^2
Pb	0,8	2,0	0,6	0,99
Cd	1,0	1,4	0,4	0,99
Cr	1,2	1,1	0,3	0,99
Ni	0,9	1,0	0,3	0,99

Аналіз хімічного складу лікарської рослинної сировини. Контроль якості лікарської рослинної сировини або лікарських засобів рослинного походження здійснюють за специфічними сполуками. Визначення хімічного складу рослин є необхідним етапом пошукових досліджень, присвячених вибору речовин-маркерів, які відповідають за певний фармакологічний ефект. Також, відповідно до вимог ДФУ, здійснюється аналіз вмісту сильнодіючих біологічно активних сполук, які можуть визначати токсичні властивості [6, 11].

Хроматографічні методи. На сьогоднішній день хроматографічні методи аналізу активно застосовуються для визначення хімічного складу лікарської рослинної сировини та фітотерапевтичних засобів. В залежності від групи сполук, що аналізуються, використовують метод газової хроматографії (GC), часто у поєднанні з мас-спектрометрією (MS), рідинної хроматографії (HPLC), тонкошарової хроматографії (TLC), колонкової хроматографії (CC). Останніми роками поступово набувають популярності і використовуються для аналізу хімічного складу природних фітопрепаратів ультра високоефективна рідинна хроматографія (UPLC) та гелева хроматографія фракціонування (GFC) [18–20].

Перевагами хроматографічних методів є висока роздільна здатність, можливості аналізу летких сполук, очищення та виділення компонентів лікарської рослинної сировини та отримання фракцій рослинних сполук, а також виявлення забруднень та домішок для аналізу безпеки сировини [21, 22].

Одним з точних та чутливих методів аналізу хімічного складу рослин є метод газової хроматографії з мас-детектором. До переваг методу відносять можливість здійснення ідентифікації та кількісного визначення сполук за бібліотеками масспектрів, що не потребує застосування референтних речовин. Поєднання хроматографії з мас-спектрометрією дає можливість виявлення навіть мінорних сполук у зразках, отримати унікальний мас-спектр для кожної речовини, що допомагає в ідентифікації конкретних хімічних сполук, визначити концентрацію хімічних сполук у зразках, а також проаналізувати складні рослинних екстрактів або сумішей, які містять багато різних хімічних сполук [20, 23].

На прикладі зразків трави базиліку камфорного сортів Пурпурний (*Ocimum basilicum* L.) та Генуезький (*Ocimum basilicum Genovese* L.) здійснено аналіз хімічного складу зразків з використанням хроматографа Agilent Technology 6890N з мас-спектрометричним детектором 5973N та бібліотекою спектрів NIST, а також за допомогою портативного хроматографа Torion T-9 Portable GC/MS (PerkinElmer, США).

На відміну від хроматографа Agilent, застосування портативного хроматографа не потребувало специфічної підготовки проби, оскільки для аналізу використовували подрібнену на порошок сировину. Ідентифікацію здійснювали за характерними піками референтних речовин евгенолу та евкаліптолу [11]. Проте, не зважаючи на швидкість та простоту аналізу, портативні газові хроматографи зазвичай мають обмежений аналітичний діапазон і меншу чутливість порівняно з лабораторними пристроями. Завдяки гнучким налаштуванням параметрів аналізу, інтеграції з різними аналітичними системами та можливостям використання різних режимів аналізу лабораторні хроматографи мають вищу чутливість і точність вимірювань для детального і досконалого аналізу. Межа виявлення (LOD) і межа кількісного визначення (LOQ) в мг/кг на прикладі сполуки евкаліптолу становили 0,010 та 0,020, відповідно. Коефіцієнт детермінації (R^2) калібрування становив не менше 0,999 [16].

На початку 90-х років минулого століття була представлена аналітична техніка, яка поєднує методику рідинної хроматографії з мас-спектрометрією з подвійним мас-аналізом (MS/MS). З того часу метод гідрофільної взаємодії HILIC привертає все більше уваги [24, 25]. На сьогоднішній день це оптимальний метод для аналізу полярних та іонізованих сполук, які занадто сильно утримуються на полярних стаціонарних фазах та/або погано розділяються стандартними хроматографічними методами [25, 26]. Нещодавно різні дослідження показали, що HILIC включає складний багатопараметричний процес, що складається з розподілу або адсорбції за допомогою водневих зв'язків або інших диполь-дипольних взаємодій, а також електростатичних взаємодій зі зв'язаними іонними групами. Різні взаємодії, які сприяють загальному утриманню HILIC, залежать від типу колонки, полярності та іонізації аналітів, а також від складу рухомої фази. Оскільки гідрофільні взаємодії є одним із основних механізмів методу, визначальними параметрами вибору є гідрофільні властивості сполук [25, 27, 28].

Для аналізу сполук рослинного походження режим HILIC передбачає використання декількох видів стаціонарних фаз. Більшість із них є матеріалами на основі кремнезему, які можуть бути без покриття та дериватизовані різними видами функціональних груп [26].

У літературі описано використання ацетонітрилу як полярного апротонного розчинника та найкращий органічний розчинник для розділення рослинних сполук методом HILIC [29]. При збільшенні концентрації ацетонітрилу вода сильніше адсорбується на поверхні полярної нерухомої фази. Як правило, чим більш гідрофільними є аналіти, тим більше рівновага розподілу зміщується в бік шару адсорбованої води на нерухомій фазі, і тим більше аналітів утримується [30–32]. Спирти, такі як метанол, етанол або ізопропанол, використовуються рідше; однак вони можуть використовуватись для аналізу сполук, розділення яких ґрунтується на сильних водневих зв'язках [30, 32].

Нами була апробована методика кількісного визначення амінокислот у зразках лікарської рослинної сировини методом HILIC MS/MS за допомогою системи ВЕРХ (Waters, Milford, США), оснащеної хроматографічною колонкою SeQuant ZICHilic (2.1×150 мм, 3.5 μм) (Merck Millipore, Darmstadt, Німеччина). Враховуючи те, що амінокислоти відносять до сполук з високою полярністю, для їх розділення був обраний хроматографічний режим гідрофільної взаємодії, при якому рухома фаза збагачена органічним розчинником [33]. Ідентифікація амінокислот у рослинних зразках здійснювалась шляхом порівняння часу утримання референтних сполук на MRM (Multiple Reaction Monitoring) хроматограмах.

Серед валідаційних характеристик розробленої методики слід виділити чутливість (нижня межа виявлення 0,03 нг/мл), точність (73–117%), прецизійність (коефіцієнт варіації 28%). Методика коректна по відношенню до валідаційного параметра «лінійність – калібрувальна модель» [16, 33].

Одним з найбільш поширених методів у фармацевтичному та, зокрема, фітохімічному аналізі є ВЕРХ. За допомогою даного методу здійснюють ідентифікацію та кількісне визначення сполук, валідацію аналітичних методик, тандартизацію лікарської рослинної сировини та фітотерапевтичних засобів, а також одержують референс-речовини [11, 23].

Аналіз лікарської рослинної сировини методом ВЕРХ починається з очищення та відокремлення цільової сполуки від структурно споріднених або супутніх. Таким чином, можна отримати характерний пік для кожної окремої сполуки рослинного походження. Крім того, ключовим аспектом є вибір детектора та встановлення оптимальних параметрів виявлення. Найбільш популярними є УФ-детектори, переважно завдяки їх високій чутливості та здатності сполук рослинного походження поглинати ультрафіолетове випромінювання на різних довжинах хвиль [34, 35]. Наприклад, методом ВЕРХ здійснювали визначення гідроксикоричних кислот та флавоноїдів у сухих екстрактах, одержаних з рослин родини *Betulaceae*, в результаті чого були ідентифіковані неохлорогенова кислота (1), хлорогенова кислота (2), кофейна кислота (3), рутин (4), гіперозид (5) та кверцитрин (6) та розрахований кількісний вміст сполук (рис. 1). Використовуючи отримані експериментальні дані, були розраховані LOD (0,74 нг/мл), LOQ (2,2 нг/мл) та R^2 (0,9988) [16].

Метод ВЕРХ застосовується не тільки для визначення сполук рослинного походження, але й для встановлення антиоксидантного потенціалу сировини або препаратів на рослинній основі. З цією метою нами було обрано метод ВЕРХ з ABTS катіон-радикалом та оцінки потенціалу за показником TEAC. За одержаними негативними площами піків рутину, розмаринової кислоти та хлорогенової кислоти

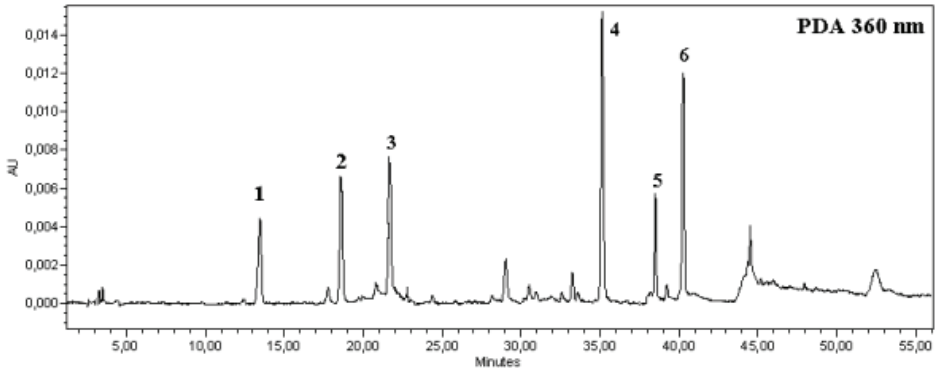

Рис. 1. Хроматограма випробовуваного розчину з сухого екстракту рослин родини *Betulaceae*

Fig. 1. Chromatogram of the test solution from the dry extract of *Betulaceae* family members

було розраховано антиоксидантний потенціал для сухого водного екстракту трави базиліку камфорного сорту Пурпурний (*Ocimum basilicum* L.) [16].

Відносне стандартне відхилення (RSD) у%, межа виявлення (LOD) і межа кількісного визначення (LOQ) в мкг/мл наведені у таблиці 2. Коефіцієнт детермінації (R^2) становив не менше 0,99.

Таблиця 2

Параметри калібрації методики визначення антиоксидантних властивостей у сухому екстракті трави базиліку камфорного

Table 2

Calibration parameters of the method of antioxidant properties determination in the dry extract of *Ocimum basilicum* herb

Сполука	RSD	LOQ	LOD	R^2
Рутин	0,64	0,16	0,05	0,99
Розмаринова кислота	0,69	0,30	0,10	0,99
Хлорогенова кислота	0,92	0,11	0,04	0,99

Одним з поширених методів ідентифікації біологічно активних сполук у рослинній сировині або фітотерапевтичних засобах є метод високо ефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ) [11, 36]. На сьогоднішній день методи тонкошарової хроматографії (ТШХ) та ВЕТШХ залишаються найбільш прийнятними для ідентифікації лікарської рослинної сировини, що пояснюється унікальним хроматографічним профілем кожної рослини або екстракту на її основі [37].

Методи ТШХ/ВЕТШХ традиційно використовуються ДФУ та Європейській фармакопеї для ідентифікації сировини та виявленні домішок методом візуальної оцінки, а також для напівкількісного визначення сполук при порівнянні інтенсивності плями у зоні випробовуваного розчину з плямами у зонах референтних спо-

лук [38, 39]. При цьому інструментальний метод ВЕТШХ має переваги за рахунок можливості кількісного визначення речовин, які флуоресціюють в УФ- або видимому світлі.

Після введення до ДФУ статті «Високоефективна тонкошарова хроматографія» (2.8.25) набуває актуальності напрям наукових досліджень, присвячених оптимізації описаних раніше методик ТШХ і розробці нових методик ВЕТШХ для ідентифікації лікарської рослинної сировини або рослинних засобів. Крім того, актуальним напрямком є розробка методик кількісного визначення сполук методом ВЕТШХ [11].

ВИСНОВКИ

1. З урахуванням проблеми належного контролю якості лікарської рослинної сировини та фітотерапевтичних засобів, актуальність пошуку сучасних методів та розробки методик ідентифікації сировини не викликає сумнівів.
2. Проаналізовано перспективи застосування методів рентген-флуориметрії для здійснення вхідного контролю сировини на вміст важких елементів.
3. Перевагами застосування хроматографічних методів (ВЕТШХ, ВЕРХ, ГХ МС) є підвищення специфічності аналізу, автоматизація процесу, аналіз та систематизація результатів за допомогою програмного забезпечення, об'єктивна оцінка, можливість паралельної ідентифікації серії зразків сировини, оптимізація часових та економічних витрат.
4. Розробка та впровадження сучасних методів аналізу лікарської рослинної сировини до монографій ДФУ буде сприяти попередженню фальсифікації сировини та лікарських засобів на її основі, покращенню якості фармацевтичних розробок, «скрізної» стандартизації лікарської рослинної сировини, напівпродуктів та готових лікарських засобів.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. *Wei X.C., Cao B., Luo C.H.* Recent advances of novel technologies for quality consistency assessment of natural herbal medicines and preparations // Chin. Med.– 2020. – N1. – P. 15–56. https://doi.org/10.1186/s13020–020–00335–9
2. *Liu C., Zuo Z., Xu F., Wang Y*. Authentication of Herbal Medicines Based on Modern Analytical Technology Combined with Chemometrics Approach: A Review // Crit. Rev. Anal. Chem.– 2022. – N53. – P. 1393–1418. https://doi.org/10.1080/10408347.2021.2023460
3. *Balekundri A., Mannur V.* Quality control of the traditional herbs and herbal products: a review // Future J. Pharm. Sci.– 2020. – N6. – P. 67–70. https://doi.org/10.1186/s43094–020–00091–5
4. *Rutkowska E., Lozowicka B., Kaczynski P.* Modification of multiresidue QuEChERS protocol to minimize matrix effect and improve recoveries for determination of pesticide residues in dried herbs followed by GC–MS/MS // Food Anal. Methods.– 2018. – N11. – P. 709–724
5. *Marchetti L., Pellati F., Graziosi R., Brighenti V., Pinetti D., Bertelli D.* Identification and determination of bioactive phenylpropanoid glycosides of Aloysia polystachya (Griseb. et Moldenke) by HPLC–MS // J. Pharm. Biomed. Anal.– 2019. – N166. – P. 364–370.
6. *Govindarajan R., Tejas V., Pushpangadan P.* High-performance liquid chromatography (HPLC) as a tool for standardization of complex herbal drugs // J. AOAC Int.– 2019. – N102. – P. 986–992.
7. *Pei W., Huang Y., Qu Y., Cui X., Zhou L*. A strategy for quality evaluation of complex herbal preparations based on multi-color scale and efficacy-oriented high-performance thin-layer chromatography characteristic fingerprint combined with chemometric method: Sanwujiao Pills as an example // Heliyon.– 2023. – N8. – An e22098. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22098

8. *Muyumba N. W., Mutombo S. C., Sheridan H., Nachtergael A., Duez P.* Quality control of herbal drugs and preparations: The methods of analysis, their relevance and applications // Talanta Open.– 2021. – N4. – An 100070. https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100070
9. *Umamaheshwari D., Muthuraja R., Kumar M., Venkateswarlu B. S.* Standardization of Herbal Drugs – A Overview // Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.– 2021. – Vol. 68, N1. – P. 213–219. https://doi.org/10.47583/ijpsrr.2021.v68i01.033
10. *Sumbul S., Ahmad M., Asif M., Akhtar M., Saud I.* Physicochemical and phytochemical standardization of berries of Myrtus communis Linn. // J. Pharm. Bioallied Sci.– 2012. – Vol. 4, N4. – P. 322–326. https://doi.org/10.4103/0975–7406.103266.
11. Державна фармакопея України. 2-е вид. Доп. 2. – Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. Т. 3.– 336 с.
12. *Byers H.L., McHenry L.J., Grundl T.J.* XRF techniques to quantify heavy metals in vegetables at low detection limits // Food Chem.– 2018. – N1. – An 100001. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2018.100001
13. *Joubert E., Manley M., Botha M*. Use of NIRS for quantification of mangiferin and hesperidin contents of dried green honeybush (Cyclopia genistoides) plant material // J. Agric. Food Chem.– 2006. – N54. – P. 5279–5283.
14. *Salma I., Aslam M*. Trace elemental fingerprinting of selected herbs used in Ayurveda using XRF and ICPMS // J. Pharm. Phytochem.– 2019. – N8. – P. 3429–3433.
15. *Wongsa P., Phatikulrungsun P., Prathumthong S.* FT-IR characteristics, phenolic profiles and inhibitory potential against digestive enzymes of 25 herbal infusions // Sci. Reports.– 2022. – N12. – An 6631. https://doi.org/10.1038/s41598–022–10669-z
16. *Прокопенко Ю. С.* Експериментально-теоретичне обґрунтування оптимізації пошуку рослинних протисудомних засобів // Автореф. дис. … докт. фарм. наук. – Харків, 2019.– 40 с.
17. *Jing Z., Shuai C., Guoxiang S.* Spectral and chromatographic overall analysis: An insight into chemical equivalence assessment of traditional Chinese medicine // J. Chromatogr. A.– 2022. – N1610. – P. 460–556. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460556
18. *Bijauliya R.K., Alok S., Chanchal D. K., Kumar M.* A comprehensive review on standardization of herbal drugs // Int. J. Pharm. Sci. Res.– 2017. – N6. – P. 3663–3677. https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975–8232.8(9).3663–77
19. *Bharti S., Dinesh K.* Chromatography and hyphenated techniques in quality-based standardization of medicinal plants: Current scenario and future perspectives // South Afr. J. Bot.– 2023. – Vol. 157. – P. 467–483. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.04.005
20. *Kang S., Won J., Han J., Kim J., Kim K., Jeong H., Sung S.* Chromatographic Method for Monitoring of Pesticide Residues and Risk Assessment for Herbal Decoctions Used in Traditional Korean Medicine Clinics // Mol.– 2023. – Vol. 28, N8. – An 3343. https://doi.org/10.3390/molecules28083343
21. *Steinhoff B.* Quality of herbal medicinal products: State of the art of purity assessment // Phytomed.– 2019. – Vol. 60. – An 153003. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.153003
22. *Nazim M.D., Aslam M., Khatoon R., Asif M., Chaudhary S. S.* Physico-chemical standardization of Hansraj (Adiantum capillus-Veneris) // J. Drug Delivery Ther.– 2018. – Vol. 8, N6-s. – P. 195–203. https://doi.org/10.22270/jddt.v8i6-s.2229
23. *Milind G., Mohit H.* A Review on Chromatographic Techniques in Standardization of Herbal Products // Int. J. Res. Pub. Rev.– 2023. – Vol. 4, N6. – P. 2430–2444.
24. *Erkmen C., Gebrehiwot W., Uslu B.* Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC): Latest Applications in the Pharmaceutical Researches // Curr. Pharm. Anal.– 2020. – Vol. 17, N3. – P. 316–345. https://doi.org/10.2174/1573412916666200402101501
25. *Crha T., Odedina G. F., Pazourek J.* HILIC Separation Methods on Poly-Hydroxyl Stationary Phases for Determination of Common Saccharides with Evaporative Light-Scattering Detector and Rapid Determination of Isomaltulose in Protein-Rich Food Supplements // Sep.– 2024. – Vol. 11, N2. – An 45. https://doi.org/10.3390/separations11020045
26. *Pazourek J.* Monitoring of mutarotation of monosaccharides by hydrophilic interaction chromatography // J. Sep. Sci.– 2010. – Vol. 33, N6–7. –P. 974–981. https://doi.org/10.1002/jssc.200900880
27. *Zhao H. Q., Wang L., Yu Y*. Comparison of Lycium barbarum fruits polysaccharide from different regions of China by acidic hydrolysate fingerprinting-based HILIC-ELSD-ESI-TOF-MS combined with chemometrics analysis // Phytochem. Anal.– 2023. – Vol. 34, N2. – P. 186–197. https://doi.org/10.1002/pca.3192

28. *Chen Y., Montero L., Luo J.* Application of the new at-column dilution (ACD) modulator for the two-dimensional RP×HILIC analysis of Buddleja davidii // Anal. Bioanal. Chem.– 2020. – Vol. 412. – P. 1483–1495. https://doi.org/10.1007/s00216–020–02392–3
29. *Bashaer A., Ameen W., Raad R.* Knowledge of The HILIC Retention Behaviors of Two Quinolone Antibiotics on Sulfobetaine-Type Zwitterionic Stationary Phases // Int. J. Drug Delivery Technol.– 2022. – Vol. 13, N1. – P. 371–375. https://doi.org/10.25258/ijddt.13.1.60
30. *Abbas M. A., Rasheed A. S.* Retention characteristic of ranitidine hydrochloride on new polymer-based in zwitterion chromatography-hydrophilic interaction chromatography stationary phases // J. Chem. Soc. Pakistan.– 2018. – Vol. 40, N1. – P. 89–94.
31. *Sun W. Y., Lu Q. W., Gao H., Tong L., Li D. X., Zhou Z. Q., Jiang Z. J., Sun H., Bi S.* Simultaneous determination of hydrophilic and lipophilic constituents in herbal medicines using directly-coupled reversed-phase and hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry // Sci. Rep.– 2017. – N7. – P. 7061–7064. https://doi.org/10.1038/s41598–017–07087-x
32. *Jingxiang P.* Spectral Analysis of Chinese Medicinal Herbs Based on Delayed Luminescence // Evidence-Based Complementary Alternative Med.– 2016. – N2. – P. 1–8. https://doi.org/10.1155/2016/8469024
33. *Prokopenko Y., Jakštas V., Žvikas V., Georgiyants V., Ivanauskas L.* Hilic MS/MS determination of amino acids in herbs of Fumaria schleicheri L., Ocimum basilicum L., and leaves of Corylus avellana L // Natural Prod. Resh.– 2019. – Vol. 33. – N13. – P. 1961–1963. https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1477145
34. *Pitigoi D.* An Overview of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC) // J. Formulation Sci. Bioavailability.– 2022. – N6. – P. 117–119
35. *Sima I. A., Andrasi M., Sarbu C.* Chemometric assessment of chromatographic methods for herbal medicines authentication and fingerprinting // J. Chromatogr. Sci.– 2018. – N56. – P. 49–55. https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx080
36. *Frommenwiler D. A., Booker A., Vila R.* Comprehensive HPTLC fingerprinting as a tool for a simplified analysis of purity of ginkgo products // J. Ethnopharmacol.– 2019. – Vol. 243, N25. – An 112084. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112084
37. *Frommenwiler D. A., Trefzer D., Schmid M.* Comprehensive HPTLC fingerprinting: A novel economic approach to evaluating the quality of Ganoderma lucidum fruiting body // J. Liq. Chromatogr. Related Technol.– 2020. – N43. – P. 414–423. https://doi.org/10.1080/10826076.2020.1725560
38. USP Dietary Supplements Compendium.– 2019. URL: https://www.usp.org/products/dietarysupplements-compendium
39. *Leong F., Hua X., Wang M.* Quality standard of traditional Chinese medicines: comparison between European Pharmacopoeia and Chinese Pharmacopoeia and recent advances // Chin. Med.– 2020. – N15. – P. 76. https://doi.org/10.1186/s13020–020–00357–3

Стаття надійшла до редакції 29.05.2024

Yu. S. Prokopenko, O. O. Nefodov, N. F. Fedko
Odesa I. I. Mechnikov National University, Department of Chemistry and Pharmacy,
2 Dvorianska St, Odesa, 65082, Ukraine; email: Yuliya.prok@gmail.com

APPLICATION OF MODERN METHODS OF ANALYSIS FOR DETERMINATION OF POLLUTION AND IDENTIFICATION OF PLANT RAW MATERIALS

Quality control of herbal preparations is an important component to ensure the effectiveness and safety of their use. Phytochemical medicines are made from medicinal plant materials that may contain unwanted chemical compounds, so careful quality control must be performed to ensure their safety and efficacy.

The success of quality control of herbal materials requires an integrated approach, i.e. a combination of various techniques and methods that allow analyzing the main classes of compounds. Various methods of analysis are used to overcome these difficulties. Today, the

main chemical methods for determining the quality of medicinal products are chromatographic, in particular gas chromatography (GC), often combined with mass spectrometry (MS), liquid chromatography (HPLC), thin-layer chromatography (TLC), column chromatography (CC). Besides, HILIC is the optimal method for the analysis of polar and ionized compounds that are too strongly retained on polar stationary phases and/or poorly separated by standard chromatographic methods.

TLC/HPTLC methods are traditionally used by the SPhU and the European Pharmacopoeia for identification of herbs and detection of impurities by visual assessment, as well as for semi-quantitative determination of compounds when comparing the intensity of the spot in the zone of the tested solution with spots in the zones of reference compounds. The mentioned methods have still remained the most acceptable for the identification of herbs, which is explained by the unique chromatographic profile of each plant or extract based on it. At the same time, the instrumental method of HPLC has advantages due to the possibility of quantitative determination of substances that fluoresce in UV or visible light.

Nowadays, the direction of scientific research devoted to the optimization of the previously described analytical methods and the development of new ones for the identification of both herbs and herbal materials, as well as herbal remedies, becomes relevant. In addition, the development of methods for the quantitative determination of herbal compounds is a relevant scientific and practical direction.

Key words: quality control, phytochemical analysis, herbal material

REFERENCES

1. Wei X.C., Cao B., Luo C.H. *Recent advances of novel technologies for quality consistency assessment of natural herbal medicines and preparations*. Chinese Medicine, 2020, no 1, pp. 15–56. https://doi.org/10.1186/s13020–020–00335–9
2. Liu C., Zuo Z., Xu F., Wang Y. *Authentication of Herbal Medicines Based on Modern Analytical Technology Combined with Chemometrics Approach: A Review*. Crit. Rev. Anal. Chem. 2022, no 53, pp. 1393–1418. https://doi.org/10.1080/10408347.2021.2023460
3. Balekundri A., Mannur V. *Quality control of the traditional herbs and herbal products: a review*. Future J. Pharm. Sci.– 2020. – N6. – P. 67–70. https://doi.org/10.1186/s43094–020–00091–5
4. Rutkowska E., Lozowicka B., Kaczynski P. *Modification of multiresidue QuEChERS protocol to minimize matrix effect and improve recoveries for determination of pesticide residues in dried herbs followed by GC–MS/MS*. Food Anal. Methods, 2018, no 11, pp. 709–724.
5. Marchetti L., Pellati F., Graziosi R., Brighenti V., Pinetti D., Bertelli D. *Identification and determination of bioactive phenylpropanoid glycosides of Aloysia polystachya (Griseb. et Moldenke) by HPLC–MS*. J. Pharm. Biomed. Anal., 2019, no 166, pp. 364–370.
6. Govindarajan R., Tejas V., Pushpangadan P. *High-performance liquid chromatography (HPLC) as a tool for standardization of complex herbal drugs*. The J. AOAC Int., 2019, no 102, pp. 986–992.
7. Pei W., Huang Y., Qu Y., Cui X., Zhou L. *A strategy for quality evaluation of complex herbal preparations based on multi-color scale and efficacy-oriented high-performance thin-layer chromatography characteristic fingerprint combined with chemometric method: Sanwujiao Pills as an example*. Heliyon, 2023, no 8, an e22098. https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22098
8. Muyumba N. W., Mutombo S.C., Sheridan H., Nachtergael A., Duez P. *Quality control of herbal drugs and preparations: The methods of analysis, their relevance and applications.* Talanta Open, 2021, no 4, an 100070. https://doi.org/10.1016/j.talo.2021.100070
9. Umamaheshwari D., Muthuraja R., Kumar M., Venkateswarlu B.S. *Standardization of Herbal Drugs – An Overview.* Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res., 2021, vol. 68, no 1, pp. 213–219. https://doi.org/10.47583/ijpsrr.2021.v68i01.033
10. Sumbul S., Ahmad M., Asif M., Akhtar M., Saud I. *Physicochemical and phytochemical standardization of berries of Myrtus communis Linn.* J. Pharm. Bioallied Sci., 2012, vol. 4, no 4, pp. 322–326. https://doi.org/10.4103/0975–7406.103266

11. Derzhavna farmakopeia Ukrainy 2.0. v 3 t. – Kharkiv: DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv», 2015, vol. 3, 336 p. (*in Ukrainian*)
12. Byers H.L., McHenry L.J., Grundl T. J. *XRF techniques to quantify heavy metals in vegetables at low detection limits*. Food Chem., 2018, no 1, an 100001. https://doi.org/10.1016/j.fochx.2018.100001
13. Joubert E., Manley M., Botha M. *Use of NIRS for quantification of mangiferin and hesperidin contents of dried green honeybush (Cyclopia genistoides) plant material.* J. Agric. Food Chem., 2006, no 54, pp. 5279–5283.
14. Salma I., Aslam M. *Trace elemental fingerprinting of selected herbs used in Ayurveda using XRF and ICPMS*. J. Pharm. Phytochem., 2019, no 8, pp. 3429–3433.
15. Wongsa P., Phatikulrungsun P., Prathumthong S. *FT-IR characteristics, phenolic profiles and inhibitory potential against digestive enzymes of 25 herbal infusions*. Scientific Reports, 2022, no 12, an 6631. https://doi.org/10.1038/s41598–022–10669-z
16. Prokopenko Yu. S. *Eksperimentalno-teoretychne obgruntuvannia optymizatsii poshuku roslynnykh protysudomnykh zasobiv [Experimental and theoretical substantiation of optimization of the search for herbal anticonvulsants]*. Summary. Thesis …Doct. of pharm. sci., Kharkiv, 2019, 40 p. (*in Ukrainian*)
17. Jing Z., Shuai C., Guoxiang S. *Spectral and chromatographic overall analysis: An insight into chemical equivalence assessment of traditional Chinese medicine*. J. Chromatogr. A, 2022, no 1610, pp. 460–556. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460556
18. Bijauliya R.K., Alok S., Chanchal D. K., Kumar M. *A comprehensive review on standardization of herbal drugs*. Int. J. Pharm. Sci. Res., 2017, no 6, pp. 3663–3677. https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975–8232.8(9).3663–77
19. Bharti S., Dinesh K. *Chromatography and hyphenated techniques in quality-based standardization of medicinal plants: Current scenario and future perspectives*. South Afr. J. Bot., 2023, no 157, pp. 467–483. https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.04.005
20. Kang S., Won J., Han J., Kim J., Kim K., Jeong H., Sung S. *Chromatographic Method for Monitoring of Pesticide Residues and Risk Assessment for Herbal Decoctions Used in Traditional Korean Medicine Clinics*. Mol, 2023, vol. 28, no 8, an 3343. https://doi.org/10.3390/molecules28083343
21. Steinhoff B. *Quality of herbal medicinal products: State of the art of purity assessment*. Phytomed., 2019, vol. 60, an 153003. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2019.153003
22. Nazim M. D., Aslam M., Khatoon R., Asif M., Chaudhary S. S. *Physico-chemical standardization of Hansraj (Adiantum capillus-Veneris)*. J. Drug Delivery Ther., 2018, no 8, pp.195–203. https://doi.org/10.22270/jddt.v8i6-s.2229
23. Milind G., Mohit H. *A Review on Chromatographic Techniques in Standardization of Herbal Products*. Int. J. Res. Pub. Rev., 2023, vol. 4, no 6, pp. 2430–2444.
24. Erkmen C., Gebrehiwot W., Uslu B. *Hydrophilic Interaction Liquid Chromatography (HILIC): Latest Applications in the Pharmaceutical Researches*. Curr. Pharm. Anal., 2020, no 16, pp. 316–345. https://doi.org/10.2174/1573412916666200402101501
25. Crha T., Odedina G. F., Pazourek J. *HILIC Separation Methods on Poly-Hydroxyl Stationary Phases for Determination of Common Saccharides with Evaporative Light-Scattering Detector and Rapid Determination of Isomaltulose in Protein-Rich Food Supplements*. Sep., 2024, vol. 11, no 2, an 45. https://doi.org/10.3390/separations11020045
26. Pazourek J. *Monitoring of mutarotation of monosaccharides by hydrophilic interaction chromatography*. J. Sep. Sci., 2010, vol. 33, no 6–7, pp. 974–981. https://doi.org/10.1002/jssc.200900880
27. Zhao H.Q., Wang L., Yu Y. *Comparison of Lycium barbarum fruits polysaccharide from different regions of China by acidic hydrolysate fingerprinting-based HILIC-ELSD-ESI-TOF-MS combined with chemometrics analysis*. Phytochem. Anal., 2023, vol. 34, no 2, pp. 186–197. https://doi.org/10.1002/pca.3192
28. Chen Y., Montero L., Luo J. *Application of the new at-column dilution (ACD) modulator for the two-dimensional RP×HILIC analysis of Buddleja davidii*. Anal. Bioanal. Chem., 2020, vol. 412, pp. 1483–1495. https://doi.org/10.1007/s00216–020–02392–3
29. Bashaer A., Ameen W., Raad R. *Knowledge of The HILIC Retention Behaviors of Two Quinolone Antibiotics on Sulfobetaine-Type Zwitterionic Stationary Phases*. Int. J. Drug Delivery Technol., 2022, vol. 13, no 1, pp. 371–375. . https://doi.org/10.25258/ijddt.13.1.60
30. Abbas M. A., Rasheed A. S. *Retention characteristic of ranitidine hydrochloride on new polymer-based in zwitterion chromatography-hydrophilic interaction chromatography stationary phases*. J. Chem. Soc. Pakistan., 2018, vol. 40, no 1, pp. 89–94.

31. Sun W. Y., Lu Q. W., Gao H., Tong L., Li D. X., Zhou Z. Q., Jiang Z. J., Sun H., Bi S. *Simultaneous determination of hydrophilic and lipophilic constituents in herbal medicines using directly-coupled reversed-phase and hydrophilic interaction liquid chromatography-tandem mass spectrometry*. Sci. Rep., 2017, no 7, pp. 7061–7064. https://doi.org/10.1038/s41598–017–07087-x
32. Jingxiang P. *Spectral Analysis of Chinese Medicinal Herbs Based on Delayed Luminescence*. Evidence-Based Complementary Alternative Med., 2016, no 2, pp. 1–8. https://doi.org/10.1155/2016/8469024
33. Prokopenko Y., Jakštas V., Žvikas V., Georgiyants V., Ivanauskas L. *Hilic MS/MS determination of amino acids in herbs of Fumaria schleicheri L., Ocimum basilicum L., and leaves of Corylus avellana L*. Natural Prod. Res., 2019, vol. 33, no 13, pp. 1961–1963. https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1477145
34. Pitigoi D. *An Overview of High-Performance Liquid Chromatography (HPLC).* J. Formulation Sci. Bioavailability, 2022, no 6, pp. 117–119.
35. Sima I. A., Andrasi M., Sarbu C. *Chemometric assessment of chromatographic methods for herbal medicines authentication and fingerprinting*. Journal of Chromatography Science, 2018, no 56, pp. 49–55. https://doi.org/10.1093/chromsci/bmx080
36. Frommenwiler D. A., Booker A., Vila R. *Comprehensive HPTLC fingerprinting as a tool for a simplified analysis of purity of ginkgo products*. J. Ethnopharmacol, 2019, vol. 243, no 25, an 112084. https://doi.org/10.1016/j.jep.2019.112084
37. Frommenwiler D. A., Trefzer D., Schmid M. *Comprehensive HPTLC fingerprinting: A novel economic approach to evaluating the quality of Ganoderma lucidum fruiting body*. J. Liquid Chromatogr. Related Technol., 2020, no 43, pp. 414–423. https://doi.org/10.1080/10826076.2020.1725560
38. USP Dietary Supplements Compendium, 2019, URL: https://www.usp.org/products/dietarysupplements-compendium
39. Leong F., Hua X., Wang M. *Quality standard of traditional Chinese medicines: comparison between European Pharmacopoeia and Chinese Pharmacopoeia and recent advances*. Chin. Med, 2020, no 15, p. 76. https://doi.org/10.1186/s13020–020–00357–3