https://www.sworldjournal.com/index.php/swj/article/view/swj27-00-005
DOI: 10.30888/2663-5712.2024-27-00-005

УДК 615.073/074:616.322:582.99

APPLICATION OF HIGH-PERFORMANCE THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY FOR THE ECHINACEA PURPUREA IDENTIFICATION IN DIETARY SUPPLEMENTS AND MEDICINAL PRODUCTS BASED ON IT

ЗАСТОСУВАННЯ ВИСОКОЕФЕКТИВНОЇ ТОНКОШАРОВОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ДЛЯ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЕХІНАЦЕЇ ПУРПУРОВОЇ У ДІЄТИЧНИХ ДОБАВКАХ І ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ НА ЇЇ ОСНОВІ

Demyd A. Ye. / Демид А.Є .
PhD (Chemistry), As. Profes. / к. хім. н., доц.
ORCID: 0000-0001-8275-1307
Vronska L. V. / Вронська Л. В.
PhD (Chemistry), As. Profes. / к. хім. н., доц.
ORCID: 0000-0002-7223-6966
Ivanusa I. B. / Івануса І.Б.
PhD (Biology), As. Profes. / к. біол. н., доц.
ORCID: 0000-0002-9803-588X
Mykhalkiv M. M. / Михалків М. М.
PhD (Biology), As. Profes. / к.біол. н., доц.
ORCID: 0000-0002-8574-6412
I. Horbachevsky Ternopil National Medical Unversity,
Ternopil, Ruska, 36, 46000
Тернопільський національний медичний університетімені І.Я. Горбачевського,
Тернопіль, Руська, 36, 46001

Анотація. *Запропоновано здійснювати ідентифікацію гідроксикоричних кислот ехінацеї пурпурової у дієтичних добавках (ДД) і готових лікарських засобах (ГЛЗ) методом високоефективної тонкошарової хроматографії (ВЕТШХ). Метод є більш доступний, експресніший і економічно вигідний для контролю якості ДД і ГЛЗ та більш «зелений» порівняно із високоефективною рідинною хроматографією (ВЕРХ) і звичайною тонкошаровою хроматографією (ТШХ). Було запропоновано доступну, вільну від прекурсорів, систему розчинників, як рухому фазу, на відміну від фармакопейної, що містить прекурсор.*

Ідентифікаційним критерієм якості ДД чи ГЛЗ на основі ехінацеї пурпурової слід вважати присутність гідроксикоричних кислот і вважати ідентифікацію позитивною, якщо у хроматографічному профілі випробовуваного розчину виявлятимуться три зони: інтенсивної блакитної флуоресценції на рівні зони кислоти хлорогенової, смарагдово-блакитної та блакитної флуоресценції нижче рівня зони кислоти кофейної.

Ключові слова*: ехінацея пурпурова, сік трави, настойка коренів, ВЕТШХ, ідентифікація, дієтичні добавки, лікарські засоби.*

Вступ.

ВЕТШХ є сучасним методом, що дедалі частіше застосовується в контролі якості і дослідженні дієтичних (харчових) добавок, лікарських засобів [1], продуктів харчування, кормів, косметичних продуктів, об’єктів

криміналістичної експертизи. Метод дає можливість аналізувати невідомі суміші, проводити паралельний аналіз стандартних зразків та випробовуваних розчинів в однакових умовах, добре візуалізований, високо експресний, економний (використовуються малі об'єми проб та елюенту, можливість вибіркового аналізу окремих зон чи треку в цілому); є можливість застосування різноманітних розчинників і різних способів детектування (УФ/видима, флуоресценція, без або з попередньою дериватизацією). Фактори температури та вологості також нівелюються завдяки використанню камери для автоматичного елюювання. Процеси нанесення зразків, елюювання, висушування є повністю автоматизовані. Методом ВЕТШХ можна одержати результати з тою ж точністю, що і у рідинній хроматографії [1-4]. Завдяки створенню нових приладів дедалі більше науковців застосовують метод ВЕТШХ для аналізу рослинної сировини (у тому числі лікарської) [5-9], природних об'єктів [10], криміналістичних експертиз [11], генотоксикантів у пакувальних матеріалах харчових продуктів [12] та лікарських засобів [1, 13] порівняно з тонкошаровою хроматографією (ТШХ) (табл. 1).

Таблиця 1 – Порівняння деяких параметрів високоефективної тонкошарової хроматографії і тонкошарової хроматографії

Параметр	ВЕТШХ	ТШХ
Розмір частинок адсорбенту, мкм	5-7	10-15
Товщина шару, мкм	100, 200	250
Відстань, що має пройти рухома фаза, мм	30-70	100-150
Час елюювання, хв	3-20	30-200
Об'єм рухомої фази, мл	5-10	50-100
Межа визначення, нг		
Абсорбція при УФ-детектуванні	10-100	100-1000
Флуоресценція при УФ-детектуванні	0,1-10	1-100

На фармацевтичному ринку України широко представлені ГЛЗ і дієтичні ДД з ехінацеєю пурпуровою у різних формах. У виробництві ГЛЗ і ДД використовують різні активні фармацевтичні інгредієнти (АФІ), отримані з різних частин рослини: кореневищ з коренями, наземної квітучої частини ехінацеї або висушений сік свіжозібраної трави [14, 15]. Деякі виробники вказують «Echinacea» без зазначення способу виробництва застосовуваного АФІ і частини лікарської рослинної сировини, що була використана для його отримання. Форма випуску так само є різноманітною: настойки, екстракти, таблетки, капсули. Ці факти викликають багать запитань щодо якості ГЛЗ чи ДД і відповідно терапевтичної активності та сили її прояву і формування цінової політики для кожного засобу. Порівняльний аналіз складу біологічно активних речовин (БАР) у різних ЛЗ та ДД на основі ехінацеї пурпурової є важливим і дозволить з'ясувати деяким чином їхню однотипність або відмінність.

Осноавний текст.

Мета роботи – дослідження можливості застосування ВЕТШХ для ідентифікації БАР у ГЛЗ і ДД з ехінацеєю пурпуровою та розроблення відповідної методики.

Матеріали і методи. Об'єктом дослідження був хроматографічний профіль БАР ехінацеї пурпурової у вилученнях з ГЛЗ і ДД в умовах запропонованої методики ідентифікації. Матеріалом для дослідження були ГЛЗ та ДД з вмістом ехінацеї пурпурової (табл. 2). Метод дослідження – ВЕТШХ.

У дослідженні було використано програмне забезпечення VisionCats Ultimate і наступне обладнання хроматографічної системи CAMAG для тонкошарової хроматографії (Швейцарія): прилад для нанесення зразків CAMAG® Linomat 5, автоматична камера для елюювання CAMAG® Automatic Developing Chamber 2 (ADC 2), нагрівач пластинок CAMAG® TLC Plate Heater 3, дериватизатор CAMAG® Derivatizer, візуалізатор TLC Visualizer 2. Розділення речовин проведено з використанням пластинок HPTLC Silica gel 60 F_{254} розміром 20x10 см (Merck, Німеччина).

Таблиця 2 – Характеристика готових лікарських засобів і дієтичних добавок як матеріалу для дослідження

Зразок	Найменування	Виробник, країна	Вміст АФІ/ГЛЗ	Форма	Серія
ЛЗ 3.1	Ехінацеї пурпурової кореневищ з коренями свіжих настойка	ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика», Україна	50 мл	настойка	11021
ЛЗ 3.2	Ехінацеї пурпурової кореневищ з коренями свіжих настойка	ПрАТ Фармацевтична фабрика «Віола»Україна	50 мл	настойка	111022
ЛЗ 3.3	Іммунал®	Лек Фармацевтична компанія д.д., Словенія	80 мг	таблетки	IT 5990
ЛЗ 3.4	Ехінацея-Астрафарм	ТОВ "Астрафарм", Україна	100 мг	таблетки	010522
ЛЗ 3.5	Ехінацея Фаркос	ТОВ "Фармацевтична компанія "ФарКоС", Україна	100 мг	таблетки	010821
ДД 1.1	Ехінацея Імуно	Виробник ПП «Марина», Україна	70 мг	капсули	301044
ДД 1.2	Ехінацея + цинк	ТОВ «Здравофарм», Україна	85 мг	капсули	011023

Методика ідентифікації

Вибір маси наважки для приготування випробовуваних розчинів проведено із розрахунку, щоб запропонована наважка досліджуваних ДД чи ГЛЗ містила 100 мг АФІ (сухого соку трави ехінацеї пурпурової). Для вилучення БАР ехінацеї пурпурової обрано метанол, як ефективний розчинник для гідроксикоричних кислот та інших фенольних сполук, а також як оптимальний розчинник при нанесенні проб у ТШХ і ВЕТШХ. Для інтенсифікації розчинення БАР і їхнього вилучення з комплексу допоміжних речовин твердих формуляцій, обраних для аналізування, було запропоновано обробку ультразвуком, яка є менш руйнівною для БАР, порівняно із, наприклад, нагріванням на киплячій водяній бані.

Випробовуваний розчин ДД. 0,51 г (точна наважка) порошку розтертої ДД 1.1 або 0,27 г (точна наважка) порошку розтертої ДД 1.2 поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 20 мл *метанолу Р*, перемішують і витримують в УЗ бані при температурі 30°С 15 хв. Доводять об'єм розчину *метанолом Р* до позначки і перемішують, фільтрують через PTFE фільтр (0,45 мкм).

Випробовуваний розчин настойки. ЛЗ 3.1 або 3.2 фільтрують через PTFE фільтр розміром 0,45 мкм.

Випробовуваний розчин ГЛЗ. 0,31 г (точна наважка) порошку розтертого ЛЗ 3.3 або 0,70 г (точна наважка) порошку розтертого ЛЗ 3.4 або 0,53 г (точна наважка) порошку розтертого ЛЗ 3.5 поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, додають 20 мл *метанолу Р*, перемішують і витримують в УЗ бані при температурі 30°С 15 хв. Доводять об'єм розчину *метанолом Р* до позначки та перемішують, фільтрують через PTFE фільтр (0,45 мкм).

Розчин порівняння. 0,5 мг стандартного зразка *кислоти кофейної* і 0,5 мг стандартного зразка *кислоти хлорогенової* поміщають у мірну колбу місткістю 5 мл, додають 3 мл *метанолу Р*, розчиняють і доводять об'єм розчину до позначки *метанолом Р*, перемішують.

Пластика: ТШХ пластинка із шаром силікагелю Р (2-10 мкм).

Рухома фаза: мурашина кислота безводна Р – вода Р – етилацетат Р (6:9:90).

Об'єм проб: 5 мкл смугою 8 мм.

Відстань, що має пройти рухома фаза: 6 см від лінії старту.

Висушування: в потоці холодного повітря 10 хв, а потім при температурі 100°С 2 хв.

Виявлення: теплу пластинку обприскують розчином *5 г/л дифенілборної кислоти аміноетилового ефіру в етилацетаті*. Через 30 хв переглядають в УФ світлі за довжини хвилі 365 нм.

Результати: на хроматограмі *розчину порівняння* мають виявлятися дві зони блакитної флуоресценції, які відповідають кислоті хлорогеновій (R_f=0.2) і кислоті кофейній (R_f=0.7). На хроматограмі *випробовуваного розчину* мають виявлятися зона інтенсивної блакитної флуоресценції на рівні зони *кислоти хлорогенової* і зона дуже інтенсивоної смарагдово-блакитної флуоресценції нижче зони *кислоти кофейної* (*кислота цикорієва* з R_f=0.55). На хроматограмі випробовуваного розчину можуть виявлятися інші слабкі зони блакитної флуоресценції (інші гідроксикоричні кислоти).

Результати та обговорення. В монографії «Дієтичні добавки» ДФУ (т. 3) [16] зазначено, що вони підлягають ідентифікації відповідними методами. А саме – слід підтвердити відповідність органолептичних, біологічних, фізичних та хімічних параметрів і властивостей, специфічних для даного виду дієтичного продукту тим параметрам і властивостям, які зазначені на етикетці. Тобто, маючи ДД з висушеним соком ехінацеї пурпурової трави, слід підтвердити хоча б його присутність. Тоді як щодо кількісного вмісту ДФУ дозволяє на даному етапі вільно діяти – «де застосовно, підхожими методами проводять кількісне визначення окремих груп активних компонентів ДД». У монографії ДФУ «Ехінацеї пурпурової трава» таким класом БАР визначено гідроксикоричні кислоти, головними представниками яких встановлено кислоту кафтарову і цикорієву, які ідентифікують і визначають кількісно методом ВЕРХ.

Для ідентифікації гідроксикоричних кислот у ДД нами запропоновано застосовувати метод ВЕТШХ, як більш доступний, експресніший і економічно вигідний для контролю якості ДД, та як більш «зелений» порівняно із ВЕРХ.

Результати хроматографічних досліджень ДД представлені на рисунку 1. За профілем та інтенсивністю зон у ньому випливає, що склад і вміст гідроксикоричних кислот в ДД Echinacea+Zinc (ТОВ «Здравофарм», Україна) є різноманітнішим і вищим. Тобто при однаковому вмісті (100 мг) висушеного соку трави ехінацеї в отриманих випробовуваних розчинах отримано відмінні результати виявлення гідроксикоричних кислот. Це означає, що у виробництві ДД 1.2 використано якісніший АФІ. Тоді як при виробництві ДД 1.1 було використано меншу кількість АФІ або неякісний АФІ, оскільки інтенсивність і кількість зон на хроматограмі значно поступається хроматограмі ДД 1.2.

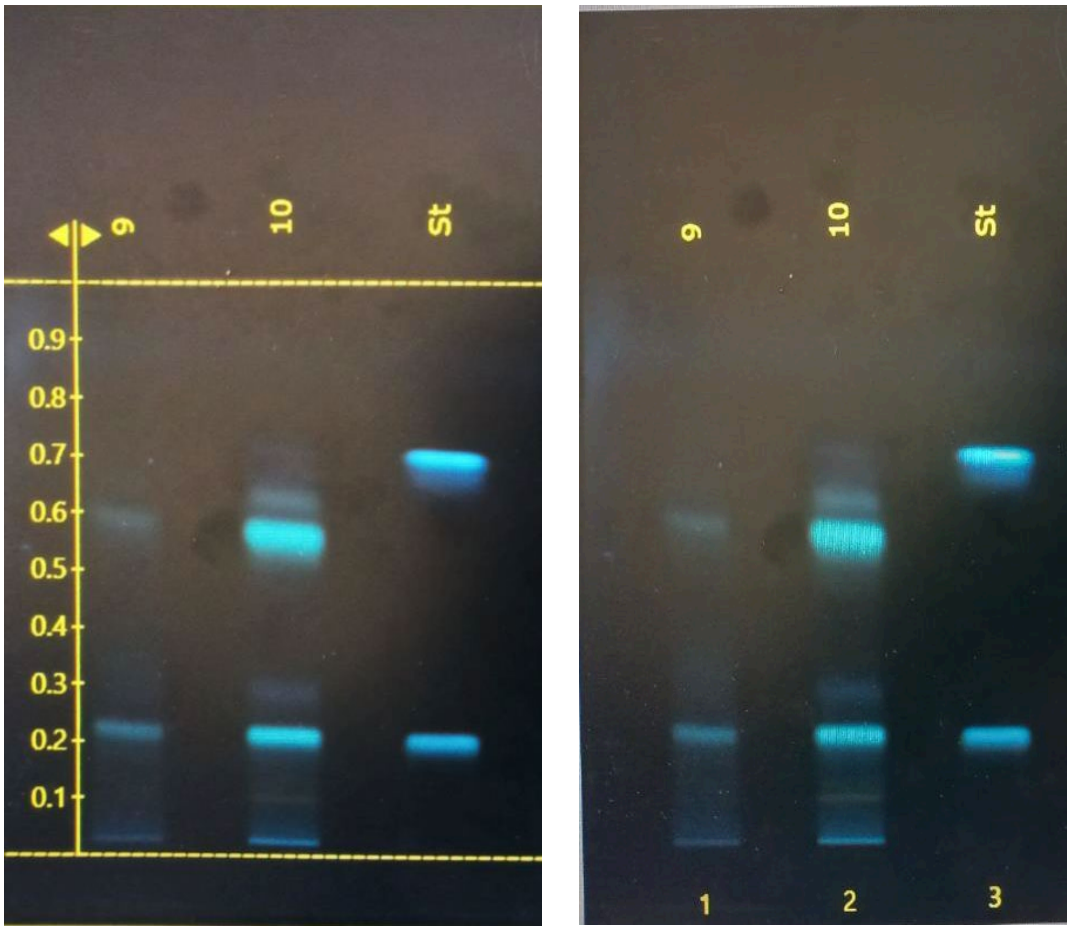

Рисунок 1 - Хроматограма, отримана в умовах ідентифікації гідроксикоричних кислот в ДД 1.1 та 1.2. Трек 1, 2 – випробовувані розчини ДД 1.1 та 1.2 відповідно, трек 3 – розчин порівняння кислоти хлорогенової та кислоти кофейної.

Аналізуючи отримані дані і порівнюючи їх з фармакопейним описом ТШХ-профілю ехінацеї пурпурової трави, слід відзначити, що профіль ДД 1.2 вцілому містить дві інтенсивні зони блакитної флуоресценції, що відповідає вимогам до трави, а також містить дуже слабку зону оранжевої флуоресценції, що, ймовірно, відповідає рутинові. Пряме перенесення вимог з ТШХ-профіля трави на ТШХ-профіль висушеного соку трави є некоректним.

Тому, узагальнюючи отримані дані і порівнюючи їх із вимогами монографії ДФУ «Ехінацеї пурпурової трава», пропонуємо обрати ідентифікаційним критерієм якості ДД з висушеним соком ехінацеї пурпурової присутність гідроксикоричних кислот і вважати ідентифікацію позитивною, якщо у хроматографічному профілі випробовуваного розчину виявлятимуться дві зони: інтенсивної блакитної флуоресценції на рівні зони кислоти хлорогенової і смарагдово-блакитної флуоресценції нижче рівня зони кислоти кофейної; інші зони слабкої блакитної і одна слабка зона оранжевої флуоресценції можуть виявлятися.

Результати ВЕТШХ-дослідження ЛЗ представлені на рисунках 2 та 3.

У хроматографічному профілі треку розчину порівняння (St) кислоти хлорогенова та кофейна виявляються зонами блакитної флуоресценції. У профілях випробовуваних розчинів ЛЗ 3.1 та 3.2 (треки 14 та 15) виявляються чіткі зони блакитної та смарагдовово-блакитної флуоресценції, що ідентифікуються, як хлорогенова (блакитна), цикорієва (смарагдовово-блакитна), кафтарова (блакитна) та кофейна (блакитна) зони.

Як випливає з вигляду треків та інтенсивності зон у них (рис. 2), склад і вміст гідроксикоричних кислот в ЛЗ Ехінацеї пурпурової кореневищ з коренями свіжих настойка (ТОВ «ДКП «Фармацевтична фабрика» та ПрАТ Фармацевтична фабрика «Віола») є високим та різноманітним, що свідчить про те, що у виробництві ЛЗ 3.1 та 3.2 використано якісний АФІ. Різноманітний склад і високий вміст гідроксикоричних кислот, як основних діючих речовин, слід сприймати як автентичність ГЛЗ і його якість, що корелюватиме з біологічною активністю і терапевтичною ефективністю. Ідентифікаційним критерієм

пропонуємо вважати присутність трьох найбільш інтенсивних зон: зони інтенсивної блакитної флуоресценції (R_f=0,19), розташованої на рівні зони кислоти хлорогенової; зони найбільш інтенсивної смарагдово-блакитної флуоресценції (R_f=0,55) і зони блакитної флуоресценції (R_f=0,62), розташованих нижче рівня зони кислоти кофейної.

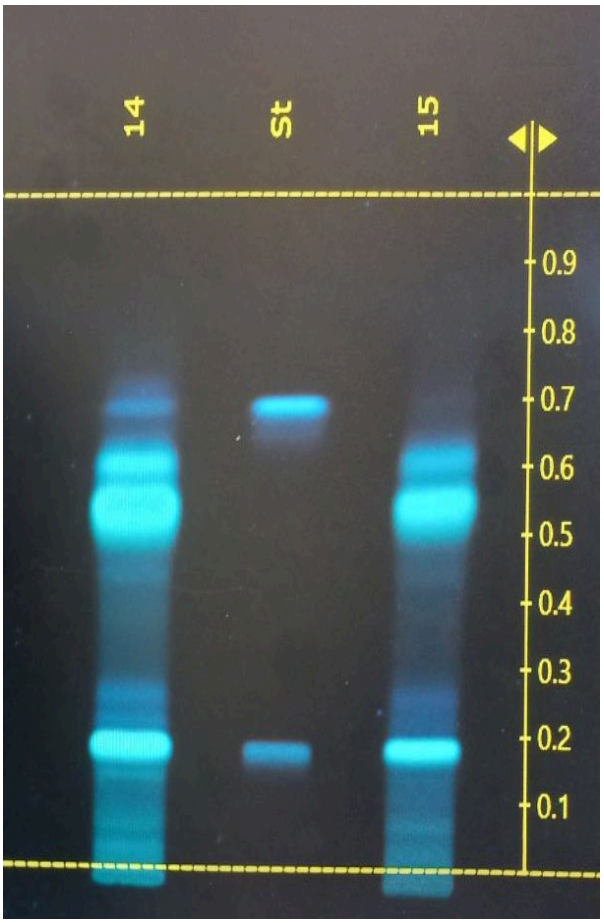

Рисунок 2 - Хроматограма, отримана в умовах ідентифікації гідроксикоричних кислот в ЛЗ 3.1 та 3.2. Треки: 14, 15 – випробовувані розчини ЛЗ 3.1 та 3.2 відповідно, St – розчин порівняння (знизу догори кислоти хлорогенова і кофейна).

У хроматографічному профілі треку 3 (рис. 3) присутні зони стандартів кислоти хлорогенової та кислоти кофейної, що виявляються блакитною флуоресценцією. У профілі треку 4 (ЛЗ 3.3) виявляються чіткі зони блакитної та смарагдово-блакитної флуоресценції, що ідентифікуються, як хлорогенова (блакитна), цикорієва (найбільш інтенсивна смарагдово-блакитна), кафтарова

(блакитна) та кофейна (блакитна) кислоти. Треки 5 і 6 є хроматографічними профілями випробовуваних розчинів ЛЗ 3.4 і 3.5 відповідно. Як випливає з наведеної хроматограми (рис. 3), склад і вміст гідроксикоричних кислот в ЛЗ Іммунал (Лек Фармацевтична компанія, Словенія) є різноманітнішим і вищим.

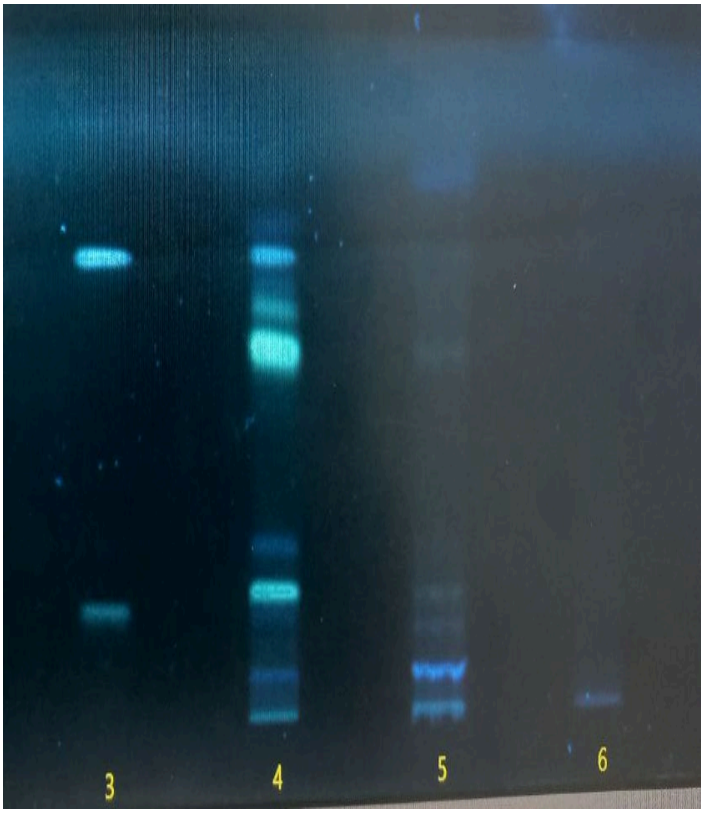

Рисунок 3 - Хроматограма, отримана в умовах ідентифікації гідроксикоричних кислот в ЛЗ 3.3, 3.4 та 3.5. Трек 4, 5, 6 – випробовувані розчини ЛЗ 3.3, 3.4 та 3.5 відповідно, трек 3 – розчин порівняння (знизу догори кислоти хлорогенова і кофейна).

Тобто при однаковому вмісті АФІ (висушеного соку із свіжозібраної квітучої трави ехінацеї пурпурової) у випробовуваних розчинах кожного із досліджуваних ГЛЗ фіксуються різні хроматографічні профілі гідроксикоричних кислот. Очевидно, що у виробництві ЛЗ 3.3 використано АФІ з високим вмістом останніх. Для виробництва ЛЗ 3.4 та 3.5, ймовірно, використано АФІ зі значно меншою кількістю гідроксикоричних кислот або ж у виробництві були використані допоміжні речовини, які адсорбували і утримують БАР і за вибраних

умов пробопідготовки не вдається їх розчинити і вилучити у метанольний розчин. В останньому випадку складно передбачити біодоступність і/або активність БАР ехінацеї пурпурової із запропонованих твердих лікарських форм ЛЗ 3.4 та 3.5, тоді як такі ж параметри для ЛЗ 3.3 будуть мати, очевидно, більш високі значення.

Дослідження ДД і ГЛЗ із застосуванням ВЕТШХ дозволило порівняти ці засоби, ідентифікуючи в них не просто окремі гідроксикоричні кислоти, а саме порівнюючи їхні хроматографічні профілі, які подібно до «відбитків пальців», через послідовність розташування зон БАР у треці дозволяють ототожнити його з приналежністю профілю соку трави ехінацеї пурпурової. Послідовність зон селективно пов'язана з присутністю, а інтенсивність флуоресценції – з вмістом, а сукупно вказують на якість і кількість АФІ у досліджуваному засобі.

Таким чином ВЕТШХ може ефективно застосовуватись для ідентифікації БАР ехінацеї пурпурової у ДД і ГЛЗ та дозволяє встановлювати тотожність їхнього походження, а також виявляти відмінності складу і, на перший погляд, вмісту гідроксикоричних кислот в досліджуваних засобах. Запропоновано доступну, вільну від прекурсорів, систему розчинників, як рухому фазу, на відміну від фармакопейної, що містить метилетилкетон – прекурсор, застосування якого обмежене в силу вимог законодавства. Дана система розчинників, умови пробопідготовки і запропонована методика забезпечують ефективне розділення і можливість ідентифікації БАР ехінацеї пурпурової у ДД і ГЛЗ. Застосування у подальшому цієї методики у повному об'ємі можливостей ВЕТШХ, а саме сканування профілів і кількісна оцінка інтенсивності флуоресценції, дозволить використовувати її для кількісного визначення як окремих БАР у складі засобів так і сумарного вмісту гідроксикоричних кислот, оскільки забезпечено хороше розділення БАР. Така методика зможе успішно замінити актуальні на сьогодні фармакопейні ТШХ-методики ідентифікації БАР ехінацеї пурпурової коренів і трави і дорогу ВЕРХ-методику кількісного визначення.

Висновки.

Проведені дослідження хроматографічних профілів БАР висушеного соку і коренів з кореневищами ехінацеї пурпурової у дієтичних добавках і лікарських засобах довели можливість використання ВЕТШХ-методу для ідентифікації вказаних засобів як засобів на основі ехінацеї пурпурової. Запропонована ВЕТШХ-методика для ідентифікації БАР ехінацеї пурпурової, а саме розроблено методику пробопідготовки, обрано систему розчинників, спосіб дериватизації і виявлення гідроксикоричних кислот, обрані доступні стандартні речовини для конкретизації розташування зон БАР у хроматографічному профілі випробовуваних розчинів. Запропоновані ідентифікаційні критерії, придатні для встановлення тотожності засобу як засобу на основі ехінацеї пурпурової.

Література:

1. Asres E., Layloff T., Ashenef A. Development and validation of a high-performance thin layer chromatography method for the simultaneous determination of amoxicillin and clavulanic acid combinations in tablet dosage forms. *Heliyon.* 2023. Vol. 9, No. 12. P. e22891. doi: 10.1016/j.heliyon.2023.e22891.

2. Tang C., Guo T., Zhang Z., Yang P., Song H. Rapid visualized characterization of phenolic taste compounds in tea extract by high-performance thin-layer chromatography coupled to desorption electrospray ionization mass spectrometry. *Food Chemistry*. 2021. Vol. 355. P. 129555. doi: 10.1016/j.foodchem.2021.129555.

3. Moricz A., Ott P. Separation and detection of apricot leaf triterpenes by high-performance thin-layer chromatography combined with direct bioautography and mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*. 2022. Vol. 1675. P. 463167. doi: 10.1016/j.chroma.2022.463167.

4. Domínguez-Rodríguez I., Plaza M., Marina, M. High-performance thin-layer chromatography and direct analysis in real time-high resolution mass spectrometry of non-extractable polyphenols from tropical fruit peels. *Food Research International.* 2021. Vol. 147. P. 110455. doi: 10.1016/j.foodres.2021.110455.

5. Radosavljevic-Stevanovic N., Kovacevic A., Manojlovic D., Ristivojevic P. High-Performance Thin-Layer Chromatography hyphenated with image processing and chemometrics as a tool for forensic discrimination of Cannabis sativa L. chemotypes. *Forensic Chemistry.* 2023. Vol. 36. P. 100528. doi: 10.1016/j.forc.2023.100528.

6. Antunes K. A., Mendes M. L., Howard C., Reich E., Heiden G. Comprehensive high-performance thin-layer chromatography analysis of Monteverdia ilicifolia leaf and its adulterants. *Natural Product Research*. 2024 P. 1-6. doi: 10.1080/14786419.2023.2289080.

7. Baglyas M., Ott P. G., Garadi Z., Glavnik V., Beni S., Vovk I., Moricz A. O., High-performance thin-layer chromatography – antibacterial assay first reveals bioactive clerodane diterpenes in giant goldenrod (Solidago gigantea Ait.). *Journal of Chromatography A.* 2022. Vol. 1677. P. 463308. doi: 10.1016/j.chroma.2022.463308.

8. Yadav K., Gupta T., Aeri V. High performance thin layer chromatography based chemo profiling of Ashvagandharishta and its antidepressant activity. *Journal of Chromatography B.* 2022. Vol. 1204. P. 123334. doi: 10.1016/j.jchromb.2022.123334.

9. Mulaudzi N., Combrinck S., Vermaak I., Joubert E., Viljoen A. High performance thin layer chromatography fingerprinting of rooibos (Aspalathus linearis) and honeybush (Cyclopia genistoides, Cyclopia intermedia and Cyclopia subternata) teas. *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*. 2022. Vol. 30. P. 100378. doi: 10.1016/j.jarmap.2022.100378.

10. Kochale K., Lang B., Cunha R., Teutenberg T., Schmidt T.C. Online coupling of miniaturized HPLC and high performance thin layer chromatography by a fractionation unit for effect directed analysis. *Advances in Sample Preparation.* 2024. Vol. 9. P. 100102. doi: 10.1016/j.sampre.2024.100102 .

11. Kravchenko K. V., Makeeva D. V., Tumkin I., Kalinichev S. V. Rapid analysis and classification of blue ballpoint pen inks using high-performance thin-layer chromatography and digital color analysis. *Talanta*. 2024. Vol. 275. P. 126117. doi: 10.1016/j.talanta.2024.126117.

12. Bergmann A. J., Breitenbach M., Munoz C., Simon E., McCombie G., Biedermann M., Schonborn A., Vermeirssen E. Towards detecting genotoxic chemicals in food packaging at thresholds of toxicological concern using bioassays with high-performance thin-layer chromatography. *Food Packaging and Shelf Life.* 2023. Vol. 36. P. 101052. doi: 10.1016/j.fpsl.2023.101052.

13. Attimarad M., Ahmed M., Aldhubaib B. E., Harsha S. High-performance thin layer chromatography: A powerful analytical technique in pharmaceutical drug discovery. *Pharm Methods*. 2011. Vol. 2, No. 2. P. 71-75. doi: 4103/2229-4708.84436.

14. Компендіум – лікарські препарати. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: https://compendium.com.ua/uk/bad/

15. Державний реєстр лікарських засобів України. [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/

16. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128. 360 с.

References

1. Asres, E., Layloff, T. and Ashenef, A. (2023) 'Development and validation of a high-performance thin layer chromatography method for the simultaneous determination of amoxicillin and clavulanic acid combinations in tablet dosage forms', *Heliyon,* 9(12), e22891. doi: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22891.

2. Tang, C. et al. (2021) 'Rapid visualized characterization of phenolic taste compounds in tea extract by high-performance thin-layer chromatography coupled to desorption electrospray ionization mass spectrometry', *Food Chemistry*, 355, 129555. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129555.

3. Moricz, A. and Ott, P. (2022) 'Separation and detection of apricot leaf triterpenes by high-performance thin-layer chromatography combined with direct bioautography and mass spectrometry', *Journal of Chromatography A*, 1675, 463167. doi: https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463167.

4. Domínguez-Rodríguez, I., Plaza, M. and Marina, M. (2021) 'High-performance thin-layer chromatography and direct analysis in real time-high resolution mass spectrometry of non-extractable polyphenols from tropical fruit peels', *Food Research International,* 147, 110455. doi: https://doi.org/10.1016/j.foodres.2021.110455.

5. Radosavljevic-Stevanovic, N. et al. (2023) 'High-Performance Thin-Layer Chromatography hyphenated with image processing and chemometrics as a tool for forensic discrimination of Cannabis sativa L. chemotypes', *Forensic Chemistry,* 36, 100528. doi: https://doi.org/10.1016/j.forc.2023.100528

6. Antunes, K. A. et al. (2024) 'Comprehensive high-performance thin-layer chromatography analysis of Monteverdia ilicifolia leaf and its adulterants', *Natural Product Research*, pp. 1-6. doi: https://doi.org/10.1080/14786419.2023.2289080.

7. Baglyas, M. et al. (2022) 'High-performance thin-layer chromatography – antibacterial assay first reveals bioactive clerodane diterpenes in giant goldenrod (Solidago gigantea Ait.)', *Journal of Chromatography A,* 1677, 463308. doi: https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463308.

8. Yadav, K., Gupta, T. and Aeri, V. (2022) 'High performance thin layer chromatography based chemo profiling of Ashvagandharishta and its antidepressant activity', *Journal of Chromatography B,* 1204, 123334. doi: https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2022.123334.

9. Mulaudzi, N. et al. (2022) 'High performance thin layer chromatography fingerprinting of rooibos (Aspalathus linearis) and honeybush (Cyclopia genistoides, Cyclopia intermedia and Cyclopia subternata) teas', *Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants*, 30, 100378. doi: https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2022.100378.

10. Kochale, K. et al. (2024) 'Online coupling of miniaturized HPLC and high performance thin layer chromatography by a fractionation unit for effect directed analysis', *Advances in Sample Preparation,* 9, 100102. doi: https://doi.org/10.1016/j.sampre.2024.100102.

11. Kravchenko, A.V. et al. (2024) 'Rapid analysis and classification of blue ballpoint pen inks using high-performance thin-layer chromatography and digital color analysis', *Talanta*, 275, 126117. doi: https://doi.org/10.1016/j.talanta.2024.126117.

12. Bergmann, A. J. et al. (2023) 'Towards detecting genotoxic chemicals in food packaging at thresholds of toxicological concern using bioassays with high-performance thin-layer chromatography', *Food Packaging and Shelf Life,* 36, 101052. doi: https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2023.101052 .

13. Attimarad, M. et al. (2011) 'High-performance thin layer chromatography: A powerful analytical technique in pharmaceutical drug discovery', *Pharm Methods*, 2(2), pp. 71-75. doi: https://doi.org/10.4103/2229-4708.84436.

14. Компендіум – лікарські препарати. Available at: https://compendium.com.ua/uk/bad/ (Accessed: 26 April 2024).

15. Державний реєстр лікарських засобів України. Available at: http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/ (Accessed: 26 April 2024).

16. Державна Фармакопея України, (2016) ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид., доп. 1. Харків: Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 360 с.

Abstract. *Medicines and dietary supplements with Echinacea purpurea are presented in the pharmaceutical market of Ukraine. Various ingredients that are obtained from the rhizomes with roots or flowering parts of Echinacea are used in production. Often manufactures specify 'Echinacea' on a label without indication of the API production method or the used part of medicinal plant raw materials. This fact causes many questions about the quality of medicines or dietary supplements and the therapeutic activity and strength of its manifestation accordingly and the medicine effectiveness as a whole. The aim of the work is to investigate the possibility of using HPTLC for BAS identification in medicines and dietary supplements with Echinacea purpura and to develop a new technique.*

Materials and Methods. *The object of the study is the chromatographic profile of the Echinacea purpurea biologically active substances in extracts from medicines and dietary supplements in conditions of the proposed identification method. Five medicines are the research material (2 tinctures of roots with rhizomes and 3 tablet forms with dried juice of flowering herb Echinacea purple) and two dietary supplements (with dried juice of flowering herb Echinacea purple). VisionCats Ultimate software and CAMAG thin-layer chromatography system equipment (Switzerland) were used in the study. The research method is HPTLC.*

Results and Discussion. *HPTLC method is proposed to use for the hydroxycinnamic acids identification in dietary supplements and medicines. This method is more accessible, more rapid and economically beneficial for quality control, and more "green" than HPLC.*

A precursor-free solvent system: anhydrous formic acid - water - ethyl acetate (6:9:90) ensures effective separation of hydroxycinnamic acids. The proposed method was tested by studying the chromatographic profiles of five medicines and two dietary supplements. The results of this test made it possible to identify common parameters of chromatographic profiles for products based on Echinacea purpurea (the sequence and intensity of zones). The obtained results showed differences in profiles, which indicate the influence on the dietary supplements and medicines quality, API quality and auxiliary substances in the products, which is also very important. Proposed identification criteria is suitable for establishing of the product identity as a product which is based on Echinacea purpurea.

Conclusions. *The conducted studies of biologically active substances chromatographic profiles of dried juice and roots with rhizomes of Echinacea purpurea in dietary supplements and medicinal products proved the possibility of using the HPTLC method for identification of the specified products as Echinacea purpurea-based products. The HPTLC method is proposed as a method for identification of Echinacea purpurea biologically active substances. The method of sample preparation was developed, the solvent system, the method of derivatization and detection of hydroxycinnamic acids were selected as the available standard substances to specify the location of the biologically active substances zones in the chromatographic profile of the tested solutions.*

Key words: *Echinacea purpurea, herb juice, root tincture, HPTLC, identification, dietary supplements, medicines.*