



Аналіз лікарських препаратів  
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ЧАСОПИС

<http://ojs.tdmu.edu.ua/index.php/pharm-chas>



УДК 543.42:547.972.3:615.451.16:582.688.31:581.44

DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.3.10463>

## РОЗРОБКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНОЇ МЕТОДИКИ ВИЗНАЧЕННЯ ФЛАВОНОЇДІВ У СУХОМУ ЕКСТРАКТІ ПАГОНІВ ЧОРНИЦІ

Л. В. Вронська, І. Б. Івануса

Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського  
МОЗ України

[vronska\\_liudmyla@ukr.net](mailto:vronska_liudmyla@ukr.net)

### ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:  
12.09.2019

Після доопрацювання / Revised:  
19.09.2019

Прийнято до друку / Accepted:  
24.09.2019

### Ключові слова:

екстракт пагонів чорниці;  
аглікони флавоноїдів;  
кверцетин;  
кількісне визначення;  
екстракція;  
спектрофотометрія;  
метод стандарту.

### АНОТАЦІЯ

**Мета роботи.** Розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення суми флавоноїдів в екстракті пагонів чорниці з використанням попередньо гідролізу їхніх глікозидних форм і екстракції отриманих агліконів.

**Матеріали і методи.** Сухий екстракт отримано з подрібнених пагонів чорниці методом дробної мацерації з використанням 50 – 70 % етанолу (об/об) як екстрагента. У роботі застосовували стандартний зразок кверцетину (Sigma-Aldrich). Запис електронних спектрів поглинання і вимірювання абсорбції здійснювали на спектрофотометрі Lambda 25 (PerkinElmer Ltd., США).

**Результати й обговорення.** Для підвищення селективності спектрофотометричного визначення флавоноїдів і уникнення впливу присутніх в екстракті гідроксикоричних кислот і хлорофілів спершу виділяли аглікони флавоноїдів, а потім кількісно визначали. Для цього було досліджено умови гідролізу глікозидів флавоноїдів в ацетоново-водному середовищі в присутності хлоридної кислоти та наступної екстракції агліконів етилацетатом. Встановлено, що отримані аглікони утворюють з алюмінію хлоридом комплекс, який має в електронному спектрі поглинання максимум при довжині хвилі 425 нм і для перерахунку вмісту суми флавоноїдів можна використати кверцетин як стандартну речовину. Було підібрано умови пробопідготовки і спектрофотометричного вимірювання, які дозволили проводити розрахунок вмісту методом стандарту. Лінійність, прецизійність і правильність методики експериментально доведено у діапазоні 20–250 % від очікуваного вмісту, що вказує на придатність запропонованої методики для кількісного визначення флавоноїдів в екстракті пагонів чорниці.

**Висновки.** Розроблено спектрофотометричну методику кількісного визначення флавоноїдів у сухому екстракті пагонів чорниці, яка дозволяє уникнути впливу гідроксикоричних кислот, присутніх в екстракті в значній кількості. Проведено вивчення лінійності, прецизійності і правильності методики в діапазоні 1,232 – 15,400 мкг кверцетину в 1 мл кінцевого вимірюваного розчину (20 – 250 % від очікуваного вмісту), результати якого вказують на придатність методики для визначення вмісту флавоноїдів у сухому екстракті пагонів чорниці.

**Вступ.** Фармакологічна активність лікарської рослинної сировини (ЛРС) і засобів на її основі пов'язана з наявністю складного комплексу речовин, часто не з'ясована і не прив'язана до вмісту однієї речовини. Серед присутніх в ЛРС класів біологічно активних речовин (БАР), при стандартизації і контролі якості лікарських засобів часто обирають флавоноїди [1 – 3]. Їхнє кількісне визначення здійснюють, як правило, спектрофотометричним методом, застосовуючи реакцію комплексоутворення з алюмінію хлоридом, та, вимірюючи абсорбцію відносно компенсаційного розчину зі складом, аналогічним випробовуваному, але без алюмінію хлориду [2, 3]. Таким чином, своєрідний «диференціальний» спектр, в ідеалі, є електронним спектром поглинання лише комплексу флавоноїдів із алюмінію хлоридом.

Проте, при аналізі реальних об'єктів – витягів і екстрактів із ЛРС, флавоноїди в яких містяться серед інших БАР, повного уникнення впливу останніх не вдається досягнути. При високих вмістах, зокрема, хлорофілів і гідроксикоричних кислот, максимумами поглинання яких знаходяться в ділянці поглинання вимірюваного комплексу флавоноїдів з алюмінію хлоридом, отримувані значення абсорбції є завищеними і, як результат – завищується реальний вміст флавоноїдів. Причиною цього є наявність неминучих і прогнозованих похибок при вимірюванні піпеткою об'єму аликвоти витягу для підготовки випробовуваного розчину і похибка вимірювання об'єму мірної колби при підготовці останнього. Таким чином, випробовуваний і компенсаційний розчини міститимуть, за інших обставин, незначущо відмінні кількості присутніх у вихідному розчині БАР. Проте у випадку високих вмістів хлорофілів чи гідроксикоричних кислот, порівнюваних із вмістом флавоноїдів, ці похибки реально ставатимуть значущими і впливатимуть на вимірюване значення абсорбції через неможливість абсолютно ідеального віднімання їхнього поглинання при застосуванні компенсаційного розчину. На практиці спостерігається спотворення ходу кривої світлопоглинання – поява роздвоєних максимумів і виникнення плеча, гіпсо- чи багатохромне зміщення максимуму поглинання і як наслідок – труднощі при контролі якості і стандартизації, утрудненим також стає підбір стандарту для перерахунку вмісту [4].

Попередні хроматографічні дослідження екстрактів пагонів чорниці вказали на присутність гідроксикоричних кислот, які можуть впливати на результат кількісного визначення флавоноїдів [5 – 8]. Тому для попередження їхнього впливу і об'єктивного визначення вмісту флавоноїдів слід було підібрати методику, яка дозволила б виокремити флавоноїди з-поміж присутніх в екстракті БАР, в тому числі гідроксикоричних кислот, хлорофілів.

Мета роботи – розробка спектрофотометричної методики кількісного визначення суми флавоноїдів в екстракті пагонів чорниці з використанням попере-

дньо гідролізу глікозидних форм і екстракції отриманих агліконів.

**Матеріали і методи.** Сухий екстракт отримано з подрібнених пагонів чорниці методом дробної мацерації з використанням 50 – 70 % етанолу (об/об) як екстрагента.

У роботі застосовували стандартний зразок кверцетину (Sigma-Aldrich), етилацетат (Macron Fine Chemicals™, Польща), гексаметилентетрамін, алюмінію хлорид, ацетон, метанол, натрію сульфат, хлоридну та ацетатну кислоти (Sigma-Aldrich).

Запис електронних спектрів поглинання і вимірювання абсорбції здійснювали на спектрофотометрі Lambda 25 (PerkinElmer Ltd., США) в кварцевих кюветках із товщиною шару 10 мм.

**Результати й обговорення.** В електронних спектрах поглинання комплексу алюмінію хлориду з агліконами флавоноїдів пагонів чорниці спостерігали чіткий максимум поглинання при довжині хвилі  $(425 \pm 2)$  нм (рис. 1).

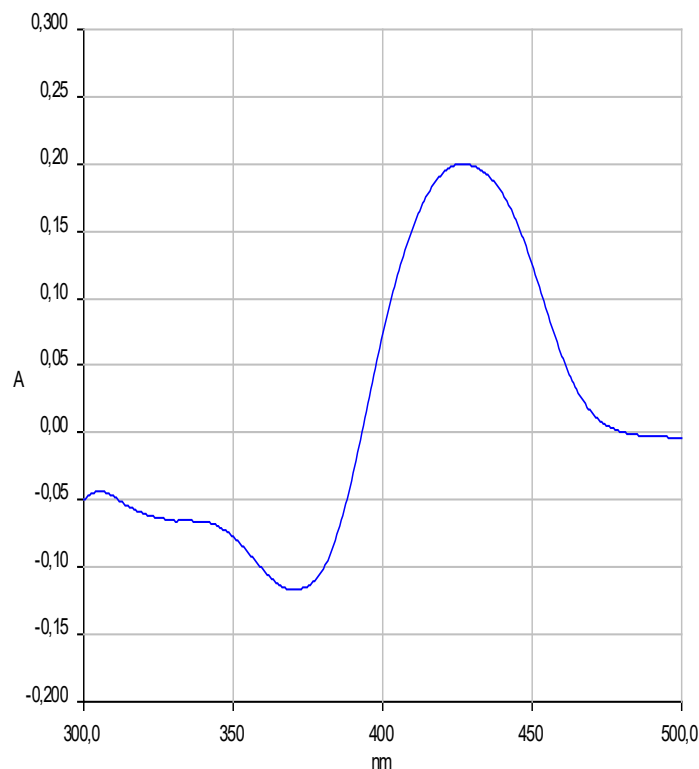
Комплекс кверцетину з алюмінію хлоридом має таке ж розміщення максимуму поглинання в електронному спектрі за аналогічних умов пробопідготовки і запису спектрів. Так, кверцетин обрано як стандартну речовину для перерахунку суми агліконів флавоноїдів в екстракті. Подібну методику Державна фармакопея України (ДФУ) прописує при аналізі різних видів ЛРС, проте перерахунок вмісту здійснюється із використанням питомого показника поглинання гіперозиду, тоді як окремі види ЛРС взагалі його не містять і у вимірюваному розчині після гідролізу є аглікони (наприклад, кверцетин), а не глікозиди [7].

При виборі умов пробопідготовки досліджували вплив часу кип'ятіння екстракту з хлоридною кислотою, часу і кратності екстракції для вилучення агліконів, часу промивання отриманих етилацетатних вилучень водою; підібрано масу наважки екстракту та об'єм аликвоти для вимірювання оптимального значення абсорбції, щоб забезпечити мінімальну похибку вимірювання. Результати дослідження дозволили запропонувати наступну методику.

#### **Методика визначення.**

**Вихідний випробовуваний розчин.** 1,0 г (точна наважка) сухого екстракту поміщали у конічну колбу місткістю 100 мл, додавали 1,0 мл 5 г/л розчину гексаметилентетраміну, 7,0 мл 250 г/л розчину хлоридної кислоти, 70 мл ацетону і кип'ятили 2 год із зворотним холодильником на водяній бані. Охолоджений отриманий розчин кількісно переносили в мірну колбу місткістю 100 мл за допомогою ацетону і доводили об'єм отриманого розчину до позначки, перемішували.

20,0 мл отриманого розчину поміщали у ділильну ліжку, додавали 20 мл води і тричі екстрагували етилацетатом порціями по 15, 10 і 10 мл впродовж 15 хв щоразу. Усі етилацетатні витяги збирали разом. Об'єднані етилацетатні витяги поміщали у чисту ді-



**Рис. 1.** Електронний спектр поглинання комплексу агліконів флавоноїдів пагонів чорниці з алюмінію хлоридом, отриманий при дослідженні умов кількісного визначення.

лильну лійку і двічі промивали водою порціями по 50 мл впродовж 5 хв щоразу. Промитий водою етилацетатний витяг фільтрували через паперовий фільтр із 10 г натрію сульфату безводного в мірну колбу місткістю 50 мл. Фільтр із натрій сульфатом і ділильну лійку промивали етилацетатом, доводячи об'єм розчину в колбі до позначки. Отриманий розчин перемішували.

**Вимірюваний випробовуваний розчин.** 5,0 мл вихідного випробовуваного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 1,0 мл 20 г/л розчину алюмінію хлориду в підкисленому безводною ацетатною кислотою метанолі (5 % (об/об)  $\text{CH}_3\text{COOH}$  в  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) і доводили об'єм розчину підкисленим безводною ацетатною кислотою метанолом (5 % (об/об)  $\text{CH}_3\text{COOH}$  в  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) до позначки та перемішували.

**Компенсаційний розчин до випробовуваного розчину.** 5,0 мл вихідного випробовуваного розчину поміщали у мірну колбу місткістю 25 мл і доводили об'єм розчину підкисленим безводною ацетатною кислотою метанолом (5 % (об/об)  $\text{CH}_3\text{COOH}$  в  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) до позначки та перемішували.

**Вихідний стандартний розчин.** 7,5 мг (точна наважка) стандартного зразка кверцетину поміщали в мірну колбу місткістю 100 мл, додавали 70 мл ацетону і розчиняли, помістивши колбу в ультразвукову баню на 5 хв. Об'єм розчину доводили до позначки ацетоном, перемішували.

20,0 мл отриманого розчину поміщали в ділильну лійку, додавали 20 мл води і тричі екстрагували етилацетатом порціями по 15, 10 і 10 мл впродовж 15 хв щоразу. Усі етилацетатні витяги збирали разом. Об'єднані етилацетатні витяги поміщали в чисту ділильну лійку і двічі промивали водою порціями по 50 мл впродовж 5 хв щоразу. Промитий водою етилацетатний витяг фільтрували через паперовий фільтр із 10 г натрію сульфату безводного в мірну колбу місткістю 50 мл. Фільтр із натрій сульфатом і ділильну лійку промивали етилацетатом, доводячи об'єм розчину в колбі до позначки. Отриманий розчин перемішували.

**Вимірюваний розчин порівняння.** 5,0 мл вихідного стандартного розчину поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл, додавали 1,0 мл 20 г/л розчину алюмінію хлориду в підкисленому безводною ацетатною кислотою метанолі (5 % (об/об)  $\text{CH}_3\text{COOH}$  в  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) і доводили об'єм розчину підкисленим безводною ацетатною кислотою метанолом (5 % (об/об)  $\text{CH}_3\text{COOH}$  в  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) до позначки та перемішували.

**Компенсаційний розчин до розчину порівняння.** 5,0 мл вихідного стандартного розчину поміщали в мірну колбу місткістю 25 мл і доводили об'єм розчину підкисленим безводною ацетатною кислотою метанолом (5 % (об/об)  $\text{CH}_3\text{COOH}$  в  $\text{CH}_3\text{OH}$ ) до позначки та перемішували.

Через 30 хв вимірювали абсорбцію вимірюваного випробовуваного розчину відносно його компенса-

ційного розчину і вимірюваного розчину порівняння відносно його компенсаційного розчину при довжині хвилі 425 нм у кюветі з товщиною шару 10 мм.

Вміст суми агліконів флавоноїдів (X, %) у перерахунку на кверцетин і сухий екстракт розраховували за формулою:

$$X = \frac{m_0 \times A_x \times P \times 100}{A_0 \times m \times (100 - W)},$$

де  $m_0$  – маса наважки стандартного зразка кверцетину, г;

$m$  – маса наважки екстракту, г;

$P$  – вміст кверцетину в стандартному зразку, %;

$A_0$  – абсорбція вимірюваного розчину порівняння;

$A_x$  – абсорбція вимірюваного випробовуваного розчину;

$W$  – втрата в масі при висушуванні, %.

Згідно із запропонованою методикою проведено кількісне визначення суми агліконів флавоноїдів у сухому екстракті пагонів чорниці і встановлено, що вміст становить  $(0,78 \pm 0,01)$  % ( $n=5$ ,  $P=0.95$ ) у перерахунку на кверцетин і сухий екстракт. Якщо розрахунок вмісту провести, як запропоновано у ДФУ, через питомий показник поглинання гіперозиду, в аналогічних умовах, то вміст суми глікозидів флавоноїдів становить  $(1,25 \pm 0,02)$  % ( $n=5$ ,  $P=0.95$ ) у перерахунку на гіперозид і сухий екстракт. Відмінності вмісту, у цьому випадку, пов'язані із різницею моллярних мас: гіперозиду – 464,379 г/моль і кверцетину – 302,236 г/моль.

Щоб перевірити придатність методики для кількісного визначення суми агліконів флавоноїдів було досліджено окремі її валідаційні характеристики – лінійність, точність і правильність. Вивчення цих валідаційних характеристик було здійснено шляхом вимірювання абсорбції дев'яти розчинів із різною концентрацією кверцетину, для яких було здійснено пробопідготовку як у випадку вихідного стандартного розчину (табл. 1, рис. 2). Діапазон досліджуваних кон-

центрацій кверцетину становив 1,232 – 15,400 мкг/мл у кінцевому вимірюваному розчині, що у відносних координатах відповідав 20 – 250 % від очікуваного вмісту у випробовуваному розчині.

Розрахунок параметрів і критеріїв лінійності здійснювали відповідно до вимог ДФУ [9], а результати представлено в таблиці 2. Методика є лінійною в досліджуваному діапазоні.

Вивчення збіжності і правильності проводили, оцінюючи відношення «знайдено/введено» (у відсотках) із даних, одержаних при вивченні лінійності (табл. 1), результати представлено в таблиці 3.

Як впливає із наведених в таблиці 3 розрахунків, виконуються критерії щодо прецизійності і правильності методики в досліджуваному діапазоні концентрацій кверцетину.

Таким чином, запропонована спектрофотометрична методика кількісного визначення агліконів флавоноїдів у сухому екстракті пагонів чорниці є лінійною, прецизійною і правильною та може застосовуватись для його контролю якості.

**Висновки.** Розроблено спектрофотометричну методику кількісного визначення флавоноїдів у сухому екстракті пагонів чорниці, яка передбачає гідроліз глікозидних форм флавоноїдів, екстракцію отриманих агліконів, комплексоутворення агліконів з алюмінію хлоридом у середовищі метанолу, підкисленого безводною ацетатною кислотою, і вимірювання поглинання розчину при довжині хвилі 425 нм. Запропонована методика дозволяє уникнути впливу гідроксикоричних кислот, присутніх в екстракті у значній кількості. Проведено вивчення лінійності, прецизійності і правильності методики в діапазоні 20 – 250 % від очікуваного вмісту, результати якого вказують про придатність методики для визначення вмісту флавоноїдів у сухому екстракті пагонів чорниці.

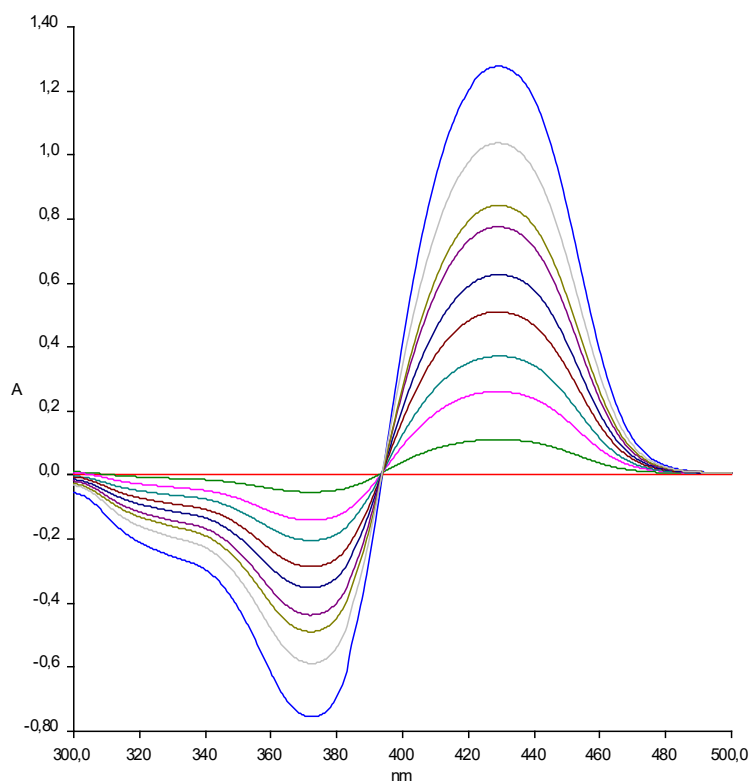
**Конфлікт інтересів:** відсутній.

**Conflicts of interest:** authors have no conflict of interest to declare.

**Таблиця 1**

Результати вимірювання абсорбції, отримані при дослідженні валідаційних характеристик спектрофотометричної методики кількісного визначення агліконів флавоноїдів

№ з/п	Концентрація кверцетину в кінцевому вимірюваному розчині, мкг/мл	Нормалізоване значення введеної концентрації, %	Абсорбція
1	1,232	20	0,105
2	3,080	50	0,261
3	4,312	70	0,371
4	6,160	100	0,525
5	7,392	120	0,628
6	9,240	150	0,778
7	10,472	170	0,880
8	12,320	200	1,030
9	15,400	250	1,284



**Рис. 2.** Електронні спектри поглинання комплексу кверцетину з алюмінію хлоридом у розчинах, отримані згідно із умовами методики кількісного визначення ( $\lambda_{\max} = 425 \pm 3$  нм, концентрація кверцетину – 1,232 – 15,400 мкг/мл).

**Таблиця 2**

Параметри лінійності і критерії, отримані при дослідженні лінійності спектрофотометричної методики кількісного визначення агліконів флавоноїдів

Параметр	Значення	Вимога критерію 1	Вимога критерію 2	Висновок
b	0.97319			
Sb	0.0044005			
a	1.81807	$\leq$  1.19887	$\leq$  1.87937	Витримується за другим критерієм
Sa	0.632784			
RSD <sub>0</sub>	0.92539			
RSD <sub>0</sub> /b	0.95088	$\leq$  2.63908		Витримується
RSD <sub>y</sub>	59,21603			
r	0.99988	$>$  0.99901		Витримується

**Таблиця 3**

Параметри прецизійності і правильності, отримані для спектрофотометричної методики кількісного визначення агліконів флавоноїдів

Валідаційна характеристика, параметр	Значення	Вимоги критерію 1	Вимоги критерію 2	Висновок
Прецизійність, $\Delta_z$	2,02339	$\leq$ 5		Витримується
Правильність, $ Z - 100 $	-0.49424	$\leq$ 0.67446	$\leq$ 1.58	Витримується за першим критерієм

## DEVELOPMENT OF SPECTROPHOTOMETRIC METHOD OF FLAVONOIDS DETERMINATION IN THE BILBERRY SHOOTS DRY EXTRACT

L. V. Vronska, I. B. Ivanusa

*I. Horbachevsky Ternopil National Medical University*

*vronska\_liudmyla@ukr.net*

**The aim of the work.** To develop a spectrophotometric method for quantifying the amount of flavonoids in the bilberry shoots dry extract using pre-hydrolysis of their glycosidic forms and extraction of the obtained aglycones.

**Materials and Methods.** The dry extract was obtained from crushed bilberry shoots by fractional maceration method using 50–70 % ethanol (v / v) as the extractant. The standard sample of quercetin (Sigma-Aldrich) was used in the work. The electronic absorption spectra and absorption measurements were recorded on a Lambda 25 spectrophotometer (PerkinElmer Ltd., USA).

**Results and Discussion.** To increase the selectivity of the spectrophotometric determination of flavonoids and to avoid the influence of hydroxycinnamic acids and chlorophylls, which are presented in the extract, aglycones of flavonoids first were isolated and then quantified. For this purpose, the hydrolysis conditions of flavonoids glycosides in acetone-aqueous medium in the hydrochloric acid presence and subsequent extraction of aglycones with ethyl acetate were investigated. It has been established that the obtained aglycones form a complex with aluminum chloride, which has a maximum absorption at the wavelength of 425 nm in the electronic absorption spectrum, and quercetin can be used as a standard substance to calculate the content of flavonoids. The conditions of sample preparation and spectrophotometric measurements were selected, which allowed to calculate the content by the standard method. The linearity, precision and accuracy of the method were experimentally proven in the range of 20–250 % of the expected content, which indicates the suitability of the proposed method for the quantification of flavonoids in the bilberry shoots dry extract.

**Conclusions.** A spectrophotometric method for quantitative determination of flavonoids in the bilberry shoots dry extract has been developed, which avoids the influence of hydroxycinnamic acids presented in the extract in a significant amount. The linearity, precision and accuracy of the procedure were studied in the range of 1,232–15,400 µg of quercetin in 1 ml of the final measured solution (20–250 % of the expected content in the extract), the results of which indicate the suitability of the method for determining the content of flavonoids in the bilberry shoots dry extract.

**Key words:** bilberry shoots extract; flavonoid aglycones; quercetin; quantification; extraction; spectrophotometry; standard method.

## РАЗРАБОТКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЙ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФЛАВНОИДОВ В СУХОМ ЭКСТРАКТЕ ПОБЕГОВ ЧЕРНИКИ

Л. В. Вронска, И. Б. Ивануса

*Тернопольский национальный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского МОЗ Украины*

*vronska\_liudmyla@ukr.net*

**Целью работы.** Разработка спектрофотометрической методики количественного определения суммы флавоноидов в сухом экстракте побегов черники с использованием предварительного гидролиза их гликозидных форм и экстракции полученных агликонов.

**Материалы и методы.** Сухой экстракт был получен из измельченных побегов черники методом дробной мацерации с использованием 50 – 70 % этанола (об / об) как экстрагента. В работе применяли стандартный образец кверцетина (Sigma-Aldrich). Запись электронных спектров поглощения и измерения абсорбции осуществляли на спектрофотометре Lambda 25 (PerkinElmer Ltd., США).

**Результаты и обсуждение.** Для повышения селективности спектрофотометрического определения флавоноидов и избежания влияния присутствующих в экстракте гидроксикоричных кислот и хлорофиллов, сначала выделяли агликоны флавоноидов, а затем количественно определяли. Для этого были исследованы условия гидролиза гликозидов флавоноидов в ацетоново-водной среде в присутствии соляной кислоты и последующей экстракции агликонов этилацетатом. Установлено, что полученные агликоны образуют с алюминий хлоридом комплекс, характеризующийся максимумом при длине волны 425 нм в электронном спектре поглощения и для пересчета содержания суммы флавоноидов можно использовать кверцетин как стандартное вещество. Были подобраны условия пробоподготовки и спектрофотометрического измерения, позволившие проводить расчет содержания методом стандарта. Линейность, точность и правильность методики экспериментально доказано в диапазоне 20

– 250 % от ожидаемого содержания, что указывает на пригодность предложенной методики для количественного определения флавоноидов в экстракте побегов черники.

**Выводы.** Разработана спектрофотометрическая методика количественного определения флавоноидов в сухом экстракте побегов черники, которая позволяет избежать влияния гидроксикоричных кислот, присутствующих в экстракте в значительном количестве. Проведено изучение линейности, точности и правильности методики в диапазоне 1,232 – 15,400 мкг кверцетина в 1 мл конечного измеряемого раствора (20 – 250 % от ожидаемого содержания), результаты которого указывают на пригодность методики для определения содержания флавоноидов в сухом экстракте побегов черники.

**Ключевые слова:** экстракт побегов черники; агликоны флавоноидов; кверцетин; количественное определение; экстракция; спектрофотометрия; метод стандарта.

### Список літератури

1. 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. 3. – С. 292.
2. Гризодуб А. И. Особенности фармакопейных подходов к количественному определению лекарственного растительного сырья и суммарных фитопрепаратов / А. И. Гризодуб, О. А. Ефтифеева, К. И. Проскурина // Фармаком. – 2012. – № 3. – С. 7 – 30.
3. Котов А. Г. Дослідження з розробки та введення монографій на лікарську рослинну сировину і настоек на її основі до Державної Фармакопеї України / А. Г. Котов // Фармаком. – 2012. – № 3. – С. 31-41.
4. Дослідження продуктів комплексної переробки листя евкалипту після одержання ефірної олії / Ю. Н. Авідзба, О. М. Кошовий, О. С. Кухтенко, А. М. Комісаренко // Укр. біофармац. журнал. – 2014. – № 2. – С. 42 – 45.
5. Vronska L. V. Development of phenolic compounds chromatographic identification in bilberry shoots / L. V. Vronska, M. B. Chubka, A. E. Demyd // Фармацевтичний часопис. – 2015. – № 3. – С. 28-33.
6. Study of phenolic compounds of blueberry shoots and their standardization / L. Vronska, T. Groshoviy, M. Chubka, A. Demyd // 4<sup>th</sup> International Conference and Workshop "Plant – the source of research material": (20–23. 09. 2015 r., Lublin, Poland) / Editors: Anna Bogucka-Kocka and all. – Lublin, 2015. – P. 210.
7. Вронська Л. В. Розробка спектрофотометричної методики визначення флавоноїдів у пагонах чорниці звичайної / Л. В. Вронська // Фармац. часопис. – 2018. – № 4. – С. 49 – 56.
8. Development of analysis methods of the bilberry dry extract and researching of its hypoglycemic activity / L. Vronska, A. Dub, A. Demyd [et al.] // Plant – the source of research material: 6<sup>th</sup> International Conference, 10-12.09.2019 r. : book of abstracts. – Lublin, 2019. – P. 120-121.
9. 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. – С. 922 – 929.

### References

1. State Pharmacopoeia of Ukraine [Державна Фармакопея України]. 2nd ed., Vol. 3. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines; 2015. p. 292. Ukrainian.
2. Grizodub OI, Eftifeeva OA, Proskurina KI. Features of pharmacopoeia approaches to the quantitative determination of medicinal plant materials and total herbal medicines. Farmakom. 2012;3: 7-30. Russian.
3. Kotov AG. Research on development and introduction of monographs on medicinal plant raw materials and tinctures based on it in the State Pharmacopoeia of Ukraine. Farmakom. 2012;3: 31-41. Ukrainian.
4. Avidzba YuN, Koshoviy OM, Kuhtanko OS, Komisarenko AM. Research of products of complex processing of leaves of eucalyptus after obtaining essential oil. Ukr biofarmats zhurn. 2014;2:42-5. Ukrainian
5. Vronska LV, Chubka MB, Demyd AYe. Development of phenolic compounds chromatographic identification in bilberry shoots. Farmats chasop. 2015; 3:28-33. DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2015.3.4951>
6. Vronska L, Groshoviy T, Chubka M, Demyd A. Study of phenolic compounds of blueberry shoots and their standardization. In: Anna Bogucka-Kocka and all., editors. Plant – the source of research material. Proceedings of the Plant – the source of research material; 2015; Lublin. Lublin: Polihymnia; 2015.
7. Vronska LV. Development of spectrophotometric method of flavonoids determination in bilberry shoots. Farmats chasop. 2018;4:49-56. Ukrainian DOI: <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2018.4.9703>.
8. Vronska L, Dub A, Demyd A, Hroshovi T, Kernychna I. Development of analysis methods of the bilberry dry extract and researching of its hypoglycemic activity. In: Anna Bogucka-Kocka and all., editors. Plant – the source of research material. Proceedings of the Plant – the source of research material; 2019; Lublin. Lublin: Polihymnia; 2019.
9. State Pharmacopoeia of Ukraine [Державна Фармакопея України]. 2nd ed., Vol. 1. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines; 2015. Ukrainian.

**Відомості про авторів:**

**Вронська Л. В.** – канд. хім. н., доцент кафедри фармації, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна. E-mail: vronska\_liudmyla@ukr.net, ORCID 0000-0002-7223-6966

**Івануса І. Б.** – канд. біол. н., доцент кафедри фармацевтичної хімії, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, Тернопіль, Україна. E-mail: ivanusa@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0002-9803-588X

**Information about the authors:**

**Vronska L.V.** – PhD (Chemistry), associate professor of the Pharmacy Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. E-mail: vronska\_liudmyla@ukr.net, ORCID 0000-0002-7223-6966

**Ivanusa I. B.** – PhD (Biology), associate professor of the Pharmaceutical Chemistry Department, I. Horbachevsky Ternopil National Medical University, Ternopil, Ukraine. E-mail: ivanusa@tdmu.edu.ua, ORCID 0000-0002-9803-588X