

РОЗРОБКА МЕТОДИКИ ІДЕНТИФІКАЦІЇ ФЛАВОНОЇДІВ ТА ГІДРОКСИКОРИЧНИХ КИСЛОТ В ЕКСТРАКТАХ ЧЕБРЕЦЮ ПОВЗУЧОГО

Вступ. Одним із завдань сучасної фармації є пошук і розробка нових лікарських засобів (ЛЗ) на основі лікарської рослинної сировини. Перспективним джерелом біологічно активних речовин (БАР) є чебрець повзучий (ЧП). Лікарські засоби на його основі широко використовують у народній та науковій медицині. У попередніх дослідженнях розроблено технологію рідкого і густого екстрактів ЧП. При аналізі трави рослини з метою стандартизації як показник якості, серед інших, ми обрали склад флавоноїдів та гідроксикоричних кислот, тому доречним є вивчення якісного складу цих БАР і в одержаних екстрактах.

Мета дослідження – розробити методику ідентифікації флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у рідкому і густому екстрактах чебрецю повзучого та обрати маркери їх якості.

Методи дослідження. Під час дослідження використовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ), хроматографічні пластинки *Silica gel F₂₅₄* фірми "Merck", прилад для автоматичного нанесення проб на пластинку "CAMAG Linomat 5", хроматографічну камеру "CAMAG", рідкий, густий екстракти ЧП, гіперозид (ФСЗ ДФУ), апігенін (Fluka), лютеолін (Fluka), рутин (Sigma), лютеолін-7-О-глюкозид (ФСЗ), хлорогенову, кофейну, розмаринову кислоти (Fluka), УФ-лампу.

Результати й обговорення. Для стандартизації рідкого та густого екстрактів ЧП ми розглядали можливість ідентифікації БАР, продовжуючи запропонований підхід у ланцюзі трава ЧП – рідкий екстракт ЧП – густий екстракт ЧП. Якісний склад флавоноїдів визначали методом ТШХ у системі розчинників етилацетат Р – кислота мурашина безводна Р – вода Р (90:6:9). Для розробки методики якісного визначення флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у екстрактах ЧП враховували різні способи й умови хроматографування, які описано в ДФУ. У результаті експерименту було підібрано оптимальну систему розчинників з хорошою розділювальною здатністю, яка дозволила максимально провести ідентифікацію складних груп БАР, що наявні в цих екстрактах.

Висновки. Розроблено методику якісного аналізу поліфенольних сполук у екстрактах ЧП. У результаті проведено ідентифікацію флавоноїдів і гідроксикоричних кислот у рідкому та густому екстрактах ЧП, що дозволило обрати маркерами якості досліджуваних екстрактів розмаринову (головний представник), кофейну і хлорогенову кислоти, а також флавоноїди – лютеолін-7-О-глюкозид, апігенін-7-О-глюкозид, лютеолін, апігенін, рутин.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: чебрець повзучий; лікарська рослинна сировина; біологічно активні речовини; екстракт; ідентифікація; тонкошарова хроматографія.

ВСТУП. На сьогодні перспективним джерелом біологічно активних речовин (БАР) для розробки нових рослинних препаратів є чебрець повзучий (ЧП), який природно розповсюджений на території України в дикому вигляді та широко культивується [1, 2]. Згідно з джерелами літератури, препарати на його основі широко використовують у народній та науковій медицині [1–4].

Розробка нового муколітичного засобу на основі густого екстракту ЧП і ефірної олії чебрецю звичайного передбачала розробку технології рідкого та густого екстрактів чебрецю

© Н. О. Зарівна, Л. С. Логойда, 2020.

повзучого. Ми підібрали оптимальні умови екстракції та наступного згущення, що дозволило отримати екстракти в короткий термін з максимальним і стабільним вмістом БАР досліджуваної сировини [5–7]. Складні комбінації БАР, що наявні в екстрактах [8], вимагають використання сучасних методів аналізу [9] для стандартизації як досліджуваних екстрактів, так і в майбутньому готового лікарського засобу на їх основі.

Мета дослідження – розробити методику ідентифікації флавоноїдів та гідроксикоричних кислот у рідкому і густому екстрактах чебрецю повзучого та обрати маркери їх якості.

МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ. Під час дослідження використовували метод тонкошарової хроматографії (ТШХ), яку проводили на хроматографічних пластинках Silica gel F₂₅₄ фірми "Merck", проби наносили за допомогою приладу "CAMAG Linomat 5", застосовуючи при цьому хроматографічну камеру "GAMAG". Для аналізу застосовували такі стандартні зразки речовин: гіперозид (ФСЗ ДФУ), апігенін (Fluka), лютеолін (Fluka), рутин (Sigma), лютеолін-7-О-глюкозид (ФСЗ), хлорогенову, кофейну, розмаринову кислоти (Fluka). Досліджуваними об'єктами були рідкий та густий екстракти чебрецю повзучого. Висушування проводили на повітрі, а пізніше – при температурі від 100 до 105 °С упродовж 2 хв. Виявлення проводили розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р та розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р. Ідентифікацію здійснювали за допомогою УФ-лампи при довжині хвилі 365 нм.

РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ. Для стандартизації досліджуваних екстрактів ЧП ми розглядали можливість ідентифікації основних БАР у ланцюзі лікарська рослинна сировина – екстракти чебрецю повзучого.

Якісний склад флавоноїдів визначали методом ТШХ [10] у системі розчинників *етилацетат Р – кислота мурашина безводна Р – вода Р* (90:6:9). При розробці методики вивчали різні способи й умови хроматографування [9], в результаті було підібрано систему розчинників з найкращою розділювальною здатністю, кількість проби для нанесення, а також спосіб проявки і тривалість хроматографування. Нижче наведено методику визначення якісного складу флавоноїдів у досліджуваних екстрактах ЧП, яку ми розробили.

Методика ідентифікації флавоноїдів в екстрактах чебрецю повзучого.

Випробуваний розчин: а) рідкий екстракт чебрецю повзучого; б) 0,4 г густого екстракту чебрецю повзучого розчиняють у 10 мл 96 % етанолу Р в ультразвуковій бані протягом 10 хв, фільтрують.

Розчин порівняння. 0,5 мг СЗ кислоти розмаринової (Fluka), 0,5 мг СЗ кислоти кофейної (Fluka), 0,5 мг СЗ кислоти хлорогенової (Fluka), 1,0 мг ФСЗ лютеолін-7-О-глюкозиду (ДФУ), 0,5 мг СЗ рутину (Sigma) і 0,5 мг СЗ лютеоліну (Fluka) розчиняють у 20,0 мл метанолу Р.

На лінію старту хроматографічної пластинки окремо смугами по 10 мм наносять 10 мкл *випробуваного розчину* (а, б) та 5 мкл *розчину порівняння*. Пластинку поміщають у камеру із сумішшю розчинників *етилацетат Р – кислота мурашина безводна Р – вода Р* (90:6:9). Коли

фронт розчинників пройде 10 см від лінії старту, пластинку виймають з камери.

Висушування. Сушать на повітрі, а потім витримують при температурі від 100 до 105 °С упродовж 2 хв.

Виявлення. Теплу пластинку обприскують *розчином 10 г/л аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти Р у метанолі Р*, сушать на повітрі. Потім її обприскують *розчином 50 г/л макроголу 400 Р у метанолі Р*, сушать на повітрі впродовж 30 хв і переглядають в УФ-світлі з довжиною хвилі 365 нм.

Результати. На хроматограмі *розчину порівняння* повинні виявлятися (в порядку зростання R_f): жовто-оранжева флуоресціююча зона, що відповідає рутину ($R_f=0,18$), блакитна флуоресціююча зона, що відповідає кислоті хлорогеновій ($R_f=0,32$); жовто-оранжева флуоресціююча зона, що відповідає лютеолін-7-О-глюкозиду ($R_f=0,42$); салатово-блакитна флуоресціююча зона, що відповідає кислоті розмариновій ($R_f=0,80$); блакитна флуоресціююча зона, що відповідає кислоті кофейній ($R_f=0,82$); жовто-оранжева флуоресціююча зона, що відповідає лютеоліну ($R_f=0,84$).

На хроматограмі *випробуваного розчину* (а) повинні виявлятися шість зон (рутину, кислоти хлорогенової, лютеолін-7-О-глюкозиду, кислоти розмаринової, кислоти кофейної і лютеоліну) на рівні зон на хроматограмі розчину порівняння, що відповідають їм за забарвленням та флуоресценцією, і зона яскравої жовто-оранжевої флуоресценції ($R_f=0,29$) нижче зони кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння. Можуть виявлятися інші зони блакитної і жовто-оранжевої флуоресценції.

На хроматограмі *випробуваного розчину* (б) повинні виявлятися шість зон (рутину, кислоти хлорогенової, лютеолін-7-О-глюкозиду, кислоти розмаринової, кислоти кофейної і лютеоліну) на рівні зон на хроматограмі розчину порівняння, що відповідають їм за забарвленням та флуоресценцією, і зона яскравої жовто-оранжевої флуоресценції ($R_f=0,29$) нижче зони кислоти хлорогенової на хроматограмі розчину порівняння. Можуть виявлятися інші зони блакитної і жовто-оранжевої флуоресценції.

Послідовність зон на хроматограмах *випробуваного розчину* (рідкого або густого екстракту) та розчину порівняння наведено на схемі.

Хроматографічні дослідження рідкого та густого екстрактів ЧП методом ТШХ дозволили ідентифікувати фенолкарбонові кислоти – розмаринову (головний представник), кофейну і хлорогенову; флавоноїди – лютеолін-7-О-глюкозид, апігенін-7-О-глюкозид, лютеолін, апігенін і рутин. Не ідентифікували дві кислоти,

Верхня частина пластинки	
<i>Лютеолін</i> : жовто-оранжева флуоресціююча зона	жовто-оранжева флуоресціююча зона (лютеолін)
<i>Кислота кофейна</i> : блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (кислота кофейна)
<i>Кислота розмаринова</i> : салатово-блакитна флуоресціююча зона	салатово-блакитна флуоресціююча зона (кислота розмаринова)
<i>Лютеолін-7-О-глюкозид</i> : жовто-оранжева флуоресціююча зона	жовто-оранжева флуоресціююча зона (лютеолін-7-О-глюкозид)
<i>Кислота хлорогенова</i> : блакитна флуоресціююча зона	блакитна флуоресціююча зона (кислота хлорогенова)
<i>Рутин</i> : жовто-оранжева флуоресціююча зона	дуже інтенсивна жовто-оранжева флуоресціююча зона жовто-оранжева флуоресціююча зона (рутин)
Розчин порівняння	Випробуваний розчин

Схема. Хроматограма за умов ідентифікації рідкого екстракту чебрецю повзучого після обробки розчинами аміноетилового ефіру дифенілборної кислоти і макроголу 400 при перегляді в УФ-світлі з довжиною хвилі 365 нм.

незначну кількість яких виявили у верхній частині хроматограми, і глюкозид лютеоліну невстановленої будови, що за розміром та інтенсивністю флуоресценції є головним представником флавоноїдів в екстракті. Згідно з даними літератури [11], цей представник флавоноїдів може бути лютеолін-7-О-диглюкозидом або лютеолін-7-О-триглюкозидом. Тому кислоти (розмаринову, кофейну, хлорогенову) і флавоноїди (лютеолін-7-О-глюкозид, рутин, лютеолін), а також глюкозид лютеоліну невстановленого складу ми обрали як ідентифікаційні маркери рідкого та густого екстрактів ЧП, наявність зон яких на хроматограмі досліджуваних об'єктів дозволить об'єктивно їх ідентифікувати [10].

При дослідженні екстрактів чебрецю повзучого, крім якісного складу БАР, з метою стандартизації доречно проаналізувати також їх кількісний вміст, що стане наступним етапом наших досліджень.

ВИСНОВКИ. 1. Досліджено якісний склад рідкого і густого екстрактів чебрецю повзучого за групою БАР – флавоноїди та гідроксикоричні кислоти.

2. З метою стандартизації досліджуваних екстрактів чебрецю повзучого запропоновано ідентифікаційні маркери з фенольних сполук – лютеолін-7-О-глюкозид, лютеолін, рутин, хлорогенову, розмаринову і кофейну кислоти, глікозид лютеоліну невідомого складу.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Грущенко Л. Чебрецевий рай. Високі технології Лубенської дослідної станції лікарських рослин Інституту агроєкології УААН / Л. Грущенко, В. Рак // Фармацевт – практик : наук.-попул. та станово-побутовий журн. – 2010. – № 9. – С. 26–28.

2. Thyme: The genus Thymus. London, New York: Taylor, Fransis. – 2002. – 330 p.

3. Товстуха Є. С. Фітопрепарати – лікарські засоби майбутнього / Є. С. Товстуха // Фітотерапія в Україні. – 1998. – № 2–3. – С. 20–21.

4. Thyme oil. Monograph N: 1374. Concerned also monograph N 865 (Thymi herba) and N 1891 (Serpilli herba). – PA/PH/ Exp. 13A/T (09) 35 1 R. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines, April 2009.

5. Пат. 73543 Україна, МПК⁵¹ С 11 В 1/10, А 61 К 9/08, А 61 К 35/00. Спосіб отримання рідкого екстракту чебрецю повзучого / Н. О. Зарівна, Л. В. Вронська,

Т. А. Грошовий ; заявник і патентовласник Терноп. держ. мед. ун-т імені І. Я. Горбачевського. – Заявл. 26.03.12 ; опубл. 25.09.12, Бюл. № 18.

6. Зарівна Н. О. Вивчення режимів згущення при одержанні густого екстракту чебрецю повзучого / Н. О. Зарівна // Мед. та клініч. хімія. – 2019. – 21, № 4 (82). – С. 134–141.

7. Зарівна Н. О. До питання стандартизації трави чебрецю повзучого за вмістом флавоноїдів / Н. О. Зарівна, Л. В. Вронська // Управління, економіка та забезпечення якості в фармації. – 2012. – № 5 (25). – С. 21–27.

8. Настойки, экстракты, эликсиры и их стандартизация / под ред. В. Л. Багировой, В. А. Северцева. – СПб. : Спец. Лит., 2001. – 223 с.

9. Державна фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство "Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів". –

2-ге вид. – Харків : Державне підприємство “Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2015. – 1. – 1128 с.

10. Зарівна Н. О. Стандартизація рідкого екстракту чебрецю повзучого / Н. О. Зарівна, Л. В. Вронська // Укр. біофармац. журн. – 2012. – № 5–6. – С. 108–112.

11. Kohlmünzer Stanisław. Farmakognozja Podręcznik dla studentów farmacji i Wydanie v unowocześnione / Stanisław Kohlmünzer. – Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL, 2007. – 669 s.

REFERENCES

1. Hrushchenko, L., & Rak, V. (2010). Chebretsevyi rai. Vysoki tekhnolohii Lubenskoï doslidnoi stantsii likarskykh roslyn Instytutu ahroekolohii JAAN [Thyme paradise. High technologies of Lubensk Medicinal Plants Research Station of the Institute of Agroecology of the UAAS]. *Farmatsevt – praktyk: nauk.-popul. ta stanovopobutovyi zhurn.* – *Pharmacist – Pract.: Research Journ.*, 9, 26-28 [in Ukrainian].

2. (2002). *Thyme: The genus Thymus*. London, New York: Taylor, Fransis.

3. Tovstukha Ye.S. (1998). Fitopreparaty – likarski zasoby maibutnoho [Phytopreparations are drugs of the future]. *Fitoterapiia v Ukraini – Phytotherapy in Ukraine*, 2-3, 20-21 [in Ukrainian].

4. (2009). *Thyme oil. Monograph N: 1374*. Concerned also monograph N 865 (Thymi herba) and N 1891 (Serpylli herba). – PA/PH/ Exp. 13A/T (09) 35 1 R. – Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines.

5. (2012). Zarivna, N.O., Vronska, L.V., Hroshovi, T.A. *Pat. Ukrainy, Sposib otrymannia ridkoho ekstraktu chebretsiu povzuchoho [Patent of Ukraine. The method of obtaining liquid creeping thyme extract]*. № 73543 MPK51 S 11 V 1/10, A 61 K 9/08, A 61 K 35/00; Biul. №18 [in Ukrainian].

6. Zarivna N.O. (2019). Vyvchennia rezhymiv zhu-shchennia pry oderzhanni hustoho ekstraktu chebretsiu

povzuchoho [The study of the modes of condensation in obtaining a thick creeping thyme extract]. *Medychna ta klinichna khimiia – Medical and Clinical Chemistry*, 4 (21), 134-141 [in Ukrainian].

7. Zarivna, N.O., & Vronska, L.V. (2012). Do pytannia standartyzatsii travy chebretsiu povzuchoho za vmistom flavonoidiv [On the standardization of thyme creeping content]. *Upravlinnia, ekonomika ta zabezpechennia yakosti v farmatsii – Management, Economics and Quality Assurance in Pharmacy*, 5 (25), 21-27 [in Ukrainian].

8. Bagirova, V.L., & Severtseva, V.A. (2001). *Nastoiki, ekstrakty, eliksiry i ikh standartyzatsiya [Tinctures, extracts, elixirs and their standardization]*. Saint-Petersburg: Spets. Lyt. [in Russian].

9. (2015). *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy: v 3 t. [State Pharmacopoeia of Ukraine: in 3 vol.]*. State Enterprise "Ukrainian Scientific Pharmacopoeia Center for the Quality Medicines " [in Ukrainian].

10. Zarivna, N.O., Vronska, L.V. Standartyzatsiia ridkoho ekstraktu chebretsiu povzuchoho [Standardization of liquid creeping thyme extract]. *Ukrainskyi biofarmatsevychnyi zhurnal – Ukrainian Biopharmaceutical Journal*, 5-6, 108-112 [in Ukrainian].

11. Kohlmünzer Stanisław. (2007). *Farmakognozja Podręcznik dla studentów farmacji i Wydanie v unowocześnione*. Stanisław Kohlmünzer, Warszawa: Wydawnictwo Lekarskie PZWL.

Н. О. Зарівна, Л. С. Логойда

ТЕРНОПОЛЬСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И. Я. ГОРБАЧЕВСКОГО
МОЗ УКРАИНЫ

РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ИДЕНТИФИКАЦИИ ФЛАВОНОИДОВ И ГИДРОКСИКОРИЧНЫХ КИСЛОТ В ЭКСТРАКТАХ ТИМЬЯНА ПОЛЗУЧЕГО

Резюме

Вступленіе. Одной из задач современной фармации являются поиск и разработка новых лекарственных средств на основе лекарственного растительного сырья. Перспективным источником биологически активных веществ (БАВ) является тимьян ползучий (ТП). Лекарственные средства на его основе широко используют в народной и научной медицине. В предыдущих исследованиях разработана технология жидкого и густого экстрактов ТП. При анализе травы растения с целью стандартизации как показатель качества, среди прочих, мы выбрали состав флавоноидов и гидроксикоричных кислот, поэтому уместно изучение качественного состава этих БАВ и в полученных экстрактах.

Цель исследования – разработать методику идентификации флавоноидов и гидроксикоричных кислот в жидком и густом экстрактах тимьяна ползучего и выбрать их маркеры качества.

Методы исследования. Во время исследования использовали метод тонкослойной хроматографии (ТСХ), хроматографические пластинки *Silica gel F₂₅₄* фирмы “Merck”, прибор для автоматического нанесения проб на пластинку “СAМАG Linomat 5”, хроматографическую камеру “GAMAG”, жидкий, густой экстракты

ТП, гиперозид (ФСО ГФУ), апигенин (Fluka), лютеолин (Fluka), рутин (Sigma), лютеолин-7-О-глюкозид (ФСЗ), хлорогеновую, кофейную, розмариновую кислоты (Fluka), УФ-лампу.

Результаты и обсуждение. Для стандартизации жидкого и густого экстрактов ТП мы рассматривали возможность идентификации БАВ, продолжая предложенный подход в цепи трава ТП – жидкий экстракт ТП – густой экстракт ТП. Качественный состав флавоноидов определяли методом ТСХ в системе растворителей этилацетат Р – кислота муравьиная безводная Р – вода Р (90:6:9). Для разработки методики качественного определения флавоноидов и гидроксикоричных кислот в экстрактах ТП учитывали различные способы и условия хроматографирования, которые описаны в ГФУ. В результате эксперимента было подобрано оптимальную систему растворителей с хорошей разделительной способностью, которая позволила максимально провести идентификацию сложных групп БАВ, что присутствуют в этих экстрактах.

Выводы. Разработана методика качественного анализа полифенольных соединений в экстрактах ТП. В результате проведена идентификация флавоноидов и гидроксикоричных кислот в жидком и густом экстрактах ТП, что позволило выбрать маркерами качества исследуемых экстрактов розмариновую (главный представитель), кофейную и хлорогеновую кислоты, а также флавоноиды – лютеолин-7-О-глюкозид, апигенин-7-О-глюкозид, лютеолин, апигенин, рутин.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: тимьян ползучий; лекарственное растительное сырье; биологически активные вещества; экстракт; идентификация; тонкослойная хроматография.

N. O. Zarivna, L. S Logoyda

I. HORBACHEVSKY TERNOPIL NATIONAL MEDICAL UNIVERSITY

DEVELOPMENT OF FLAVONOID AND HYDROXYCINNAMIC ACID IDENTIFICATION METHODS IN THYME CREEPING EXTRACTS

Summary

Introduction. One of the tasks of modern pharmacy is the search and development of new medicinal products on the basis of medicinal herbal digester. Large interest in vegetable preparations is related exactly to their safety and efficiency, as well as the duration of application. A perspective source of biologically active substances is thyme creeping (TC), which is naturally widespread in Ukraine and is widely cultivated. According to literary sources, preparations based on it are widely used in ethnomedicine and scientific medicine. In previous studies, we have developed the technology of liquid and dense extracts TC as the analysis of thyme creeping in order to standardize this digester as an indicator of quality, among others, we chose the composition of flavonoids and hydroxycinnamic acid, so it is appropriate to study the qualitative composition of these BASs and in the extracts obtained.

The aim of the study – to develop a method for identification of flavonoids and hydroxycinnamic acids in liquid and dense extracts of TC and to select their quality markers.

Research Methods. Thin layer chromatography (TLC), Silica gel F254 chromatographic plates from Merck, automatic sampler CAMAG Linomat 5, GAMAG chromatographic camera, liquid, thick thyme creeping extracts, hyperoside, apigen (Fluka), luteolin (Fluka), rutin (Sigma), luteolin-7-O-glucoside, chlorogenic acid (Fluka), caffeic acid (Fluka), rosemary acid (Fluka), UV lamp.

Results and Discussion. In the standardization of liquid and thick creeping thyme extract, we considered the possibility of identifying BASs, continuing the proposed approach in the chain of thyme creeping TC-liquid-thick TC extracts. The qualitative composition of flavonoids was determined by TLC method in the solvent system ethyl acetate P-formic acid P-water P in the ratio (90: 6: 9). In order to develop a method for qualitative determination of flavonoids and hydroxybutyric acids in TC extracts, different methods and conditions of chromatography were considered, which are described in HFC available in these extracts.

Conclusions. The technique of qualitative analysis of polyphenolic compounds in thyme creeping extracts was developed. As a result, flavonoids and hydroxycoric acids were identified in liquid extracts and dense TC extracts, which made it possible to select quality markers of the investigated extracts – rosemary (main representative), caffeic and chlorogenic acids, as well as flavonoids – luteolin-7-O-glucoside, 7- O-glucoside, luteolin, apigenin and rutin.

KEY WORDS: thyme creeping; medicinal digester; biologically active substance; extract; identification; thin layer chromatography.

Отримано 15.01.20

Адреса для листування: Н. О. Зарівна, Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України, майдан Волі, 1, Тернопіль, 46001, Україна, e-mail: zarivna@tdmu.edu.ua.