

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Факультет хімії та фармації

Кафедра фармакології та технології ліків

Дипломна робота

на здобуття ступеня вищої освіти магістра

на тему: **«Фітохімічний аналіз Sedum та фармакологічна активність екстрактивних речовин»**

«Phytochemical analysis of Sedum and pharmacological activity of
extractives »

Виконала: студентка денної форми навчання
спеціальності 102 Хімія

Самсонникова Анастасія Олександрівна

Керівник: к. б. н., доц. Кобернік А.О. _____

(підпис)

Рецензент: к. х. н., доц. Кіусе Т.О.

Рекомендовано до захисту:

протокол засідання кафедри

№ ____ від ____ 20__ р.

Захищено на засіданні екзаменаційної комісії

протокол № ____ від « ____ » ____ 20__ р.

Оцінка ____ / ____ / ____

(за національною шкалою, за шкалою ECTS, бал)

Завідувач кафедри

____ проф. д. мед. н. Грицук О.І.

(підпис)

Голова екзаменаційної комісії

____ д. х. н., проф. Марцинко О.Е.

(підпис)

Одеса – 2020

РЕФЕРАТ

Останнім часом в розвинутих країнах світу одним із шляхів удосконалення лікувального процесу, що обіцяє значні успіхи в збереженні здоров'я населення є зростаючий рівень впровадження ліків рослинного походження в клінічну практику.

Робота присвячена дослідженню вмісту біологічно активних речовин в лікарській рослинній сировині.

Метою роботи – здійснення фітохімічного аналізу зразків ЛРС Очитку видного та дослідження ранозагоювальної та протизапальної активності мазей, виготовлених на основі одержаних екстрактів.

За результатами проведеного дослідження було здійснено порівняльний аналіз вмісту поліфенольних сполук, флавоноїдів, антоціанів, гідроксикоричних кислот, вільних органічних кислот та аскорбінової кислоти в представниках роду *Sedum*.

На основі екстрактів трави та квіток Очитку видного було виготовлено мазі, що містили 5% діючої речовини в перерахунку на суму ПФС. На моделях лінійної різаної рани та трипсинового запалення було доведено високий рівень протизапальної активності досліджуваних зразків, а також високий та середній рівень ранозагоювальної активності мазей на основі екстракту квіток та екстракту трави Очитку видного, відповідно.

Кваліфікаційна робота була виконана на кафедрі фармацевтичної хімії хімічного факультету Одеського національного університету імені І.І. Мечникова.

Кваліфікаційна робота викладена на 56 сторінках друкованого тексту та містить: 9 таблиць; 6 рисунків; використано 30 літературних джерел.

ЗМІСТ

Вступ	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	8
1.1. Загальна характеристика очитка видного – <i>Sedum spectabile</i>	8
1.1.1. Морфолого-ботанічна характеристика	8
1.1.2. Збір, заготівля і сушка очитка видного	9
1.2. Загальна характеристика очитка великого – <i>Sedum maximum</i>	9
1.2.1. Морфолого-ботанічна характеристика	9
1.2.2. Збір, заготівля і сушка очитку великого	10
1.3. Хімічний склад ЛРС	10
У <i>Sedum spectabile</i> містяться:	11
1.4. Фармакологічні властивості	12
1.5. Застосування представників роду <i>Sedum L.</i> в медицині	13
1.6. Спектр фармакологічної активності БАР, виділених з очитка видного.	15
1.6.1 Антиоксидантна активність	15
1.6.2. Антивірусна активність	16
1.6.3. Гальмування клітинної адгезії	16
1.6.4. Інгібування ангиогенезу	17
1.6.5. Антипроліферативна дія	17
1.6.6. Гепатопротекторні властивості	17
1.6.7. Антимікробна активність	18
1.6.8. Ранозагоювальна активність	18
Розділ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	20
2.1. Реактиви	20

	4
2.2. Методи дослідження	20
2.2.1. Визначення втрати маси при висушуванні.	20
2.2.2. Визначення вологості рослинної сировини	20
2.2.3. Спектрофотометричне визначення вмісту флавоноїдів	21
2.2.4. Методика визначення вмісту вільних органічних кислот	23
2.2.5. Методика визначення вмісту аскорбінової кислоти	24
2.2.6. Дослідження вмісту поліфенольних сполук в екстрактах методом Фоліна-Чокальтео	25
2.2.7. Спектрофотометричне визначення сумарного вмісту антоціанів	28
2.2.8. Визначення вмісту гідроксикоричних кислот	29
2.2.9. Методика лінійної різаної рани	30
2.2.10. Метод індукування трипсинового запалення у щурів	31
2.2.11. Статистична обробка експериментальних даних	33
3. Результати досліджень та їх обговорення	36
3.1 Фітохімічний аналіз досліджуваних зразків ЛРС	36
3.1.1 Пробопідготовка зразків ЛРС	36
3.1.2. Визначення кількісного вмісту БАР в досліджуваних зразках	38
3.2 Технологічні аспекти виготовлення МЛФ	41
3.2.1 Вибір маzewої основи синтетичного походження .	41
3.2.2. Технологія виготовлення мазей та стандартизація концентрації біологічно-активних речовин в їх складі	42
3.3 Дослідження фармакологічної активності досліджуваних мазей на основі квітів та трави Очитку видного	44

	5
3.3.1. Ранозагоювальна активність	44
3.3.2. Дослідження протизапальної активності	48
Висновки	52
Список літератури	53

ВСТУП

Лікування ран і профілактика ранової інфекції залишається однією з актуальних проблем сучасної медицини, що пов'язано з ростом після операційних ускладнень, числа побутових і виробничих травм [1].

Арсенал лікарських препаратів, призначених для місцевого консервативного лікування ран, неухильно зростає.

На даний час ще не існує універсального препарату, придатного для використання в усіх фазах ранового процесу: гнійно-некротичній, регенерації (утворення грануляційної тканини) і рубцювання, оскільки лікування на кожній фазі потребує диференційованого підбору препаратів із різним механізмом дії [2, 3].

Терапія ранового процесу супроводжується змінами видових особливостей мікробної флори, зростанням антибіотико-і антисептико-резистентних штамів в силу безрецептурного (а значить неконтрольованого) відпуску лікарських засобів, недоліками існуючих ранозагоювальних препаратів, перш за все погана їх всмоктуваність і, отже, недостатня ефективність [4]. Призначення комбінованих лікарських форм дає можливість комплексно впливати на хід патологічного процесу [5].

Незамінною лікарською формою в лікуванні ранових пошкоджень залишаються мазі, інтерес до яких в останні роки зріс. Вони виявляють м'яку дію і малу токсичність на фоні високої ефективності, а комплекс біологічно активних речовин має різний направлений вплив. Це дає можливість їх використовувати з мінімальною кількістю побічних ефектів [5].

Тому наш інтерес було зосереджено на рослинах сімейства Товстолисті (Crassulaceae), а саме роду Очиток (*Sedum* L.).

Багато представників роду мають лікарські властивості седативної, знеболювальної та регенеруючої дії. Вони допомагають з проблемами функціонування кори надниркових залоз, стимулюють жовчоутворення. Водний екстракт з трави очитка посилює процеси обміну і регенерації, має тонізуючу і протизапальну дію, має ранозагоювальні і кровоспинні

властивості, стимулює роботу серця, підвищує тонус і амплітуду його скорочень[6].

Сировина Очитку видного використовується тільки в традиційній медицині. З метою наукового обґрунтування доцільності використання зразків та їх подальшого можливого впровадження в медичну практику необхідним є здійснення глибинних досліджень, присвячених вивченню компонентного складу БАР в зразках сировини, розробці лікарських форм на основі одержаних екстрактів, а також здійсненню доклінічного аналізу спектру фармакологічних властивостей розроблених лікарських форм.

Мета роботи – здійснення фітохімічного аналізу зразків ЛРС Очитку видного та дослідження ранозагоювальної та протизапальної активності мазей, виготовлених на основі одержаних екстрактів.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити наступні завдання:

1. Дослідити вміст аскорбінової кислоти та суми вільних органічних кислот в зразках очитку великого та видного.
2. Встановити вміст флавоноїдів та антоціанів досліджуваних зразків очитку великого та видного.
3. Визначити концентрацію ГКК та суми поліфенольних сполук в зразках досліджуваної рослинної сировини.
4. Дослідити ранозагоювальну активність розроблених зразків мазей на моделі лінійної різаної рани.
5. Розрахувати відсоток скорочення терміну загоєння ран за умови лікування розробленими зразками мазей.
6. Дослідити рівень протизапальної активності досліджуваних зразків мазей на моделі гострого трипсинового запалення задньої кінцівки щурів.

Об'єкт дослідження: ЛРС - трава та квіти Очитку видного (*Sedum spectabile*).

Предмет дослідження: компонентний склад ЛРС, протизапальна активність, ранозагоювальна активність.

ВИСНОВКИ

1. Досліджено, що вміст аскорбінової кислоти та суми вільних органічних кислот становлять 0,4 та 12,9 та 0,52 та 16,75 мг/г сухої сировини в зразках очитку великого та видного, відповідно.

2. Встановлено, що вміст флавоноїдів та антоціанів складає 0,082 і 4,06 та 0,130 і 6,51 мг/г СРС для зразків очитку великого та видного, відповідно.

3. Визначено, що концентрація ГКК та суми поліфенольних сполук в зразках очитку видного більш ніж в 4-5 разів вища, ніж у зразках очитку великого, та становить 7,43 та 19,83 проти 1,36 та 4,53 мг/г сухої сировини.

4. Встановлено, що мазь на основі екстракту з квітів очитку видного має високий рівень ранозагоювальної активності, оскільки показники відсотку зменшення довжини рани за добу в проміжок часу між 1 та 3 добою складає 7,4, зберігаючись на рівні 7,1 до 5 доби та різко зростаючи в проміжках часу між 5 та 7, 7 та 10, 10 та 13 добою, склавши 36,75%, 27 та 33%, відповідно.

5. Показано, що відсоток скорочення терміну загоєння ран в порівнянні з контролем та референс-препаратом для групи, яку лікували маззю на основі екстракту трави очитку видного складає 13,3%, а для групи, яку лікували маззю на основі екстракту квіток - 33,3%.

6. Доведено високий рівень протизапальної активності досліджуваних мазей, адже їх використання сприяє пригніченню розвитку запалення на ранніх його етапах (1-3 година), розвитку доброї динаміки зменшення набряку та поверненню ширини та об'єму до початкових значень через добу, тоді як показники контрольної групи залишаються вищими від початкових на 56 та 37 %.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Комплексное лечение больных с гнойными процессами / Ивашкевич Г. А., Голык И. Г., Криштальская Р.Л., Крук И. Н., Муха В.Г.— К. : Здоровье.— 1979.— С. 15-18, С. 101-104.
2. Martin P. Inflammatory cells during wound repair: the good, the bad and the ugly / P. Martin, S. J. Leibovich // Trends Cell Biol.— 2005.— V. 15, № 4.— P. 599–607.
3. Velnar T. The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms / T. Velnar, T. Bailey, V. Smrkolj // J. Int. Med. Res.— 2009.— V. 37, № 5.— P. 1528– 1542.
4. Застосування рослин класу хвойні у медицині. Родина Соснові (огляд літератури) / Т. М. Козименко, Л. Г. Дудченко, Т. Ю. Грабова [та інші] // Фітотерапія. Часопис. – № 2. – К. : 2014. – С. 34 – 39.
5. Ранозаживляющая активность мази, содержащей эфирное масло травы тысячелистника пойменного / С. Д. Тржецинский, В. И. Мозуль, Г. А. Жернов [и др.] // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – № 2 (15). – 2014. – С. 50 – 53.
6. Mo, E. K., Han, B. H., Kim, S. M., Yang, S. A., Kang, S. K., Oh, C. J., Kim, R., Kim, C. G., Kang, H. J. & Sung, C. K., 2012. Identification of d-friedoolean-13-en-3-one (Taraxerone) as an antioxidant compound from sedum (Sedum sarmentosum), Food Sci. Biotechnol., 21(2), 485–489.
7. Mo, E. K., Kim, S. M., Yang, S. A., Oh, C. J. & Sung, C. K., 2011. Assessment of antioxidant capacity of sedum (Sedum sarmentosum) as a valuable natural antioxidant source, Food Sci. Biotechnol., 20(4), 1061–1067.
8. Thuong, P. T., Kang, H. J., Na, M. K., Jin, W. Y., Youn, U. J., Seong, Y. H., Song, K.-S., Min, B.-S., Bae, K. H., 2007. Anti-oxidant constituents from Sedum takesimense, Phytochemistry, 68, 2432–2438.

9. Очиток / В. В. Бялт // Большая российская энциклопедия : [в 35 т.] / гл. ред. Ю. С. Осипов. — М. : Большая российская энциклопедия, 2004—2017.
10. Бялт В. В., Гапон В. Н., Васильева И. М. Очиток // Очиток, молодило и другие толстянковые. — М.: ООО «Издательство Астрель», ООО «Издательство АСТ», ООО «Транзиткнига», 2004. — С. 126—154. — 270, [2] с. — (Цветочный калейдоскоп).
11. Шнякина Г. П., Краснов Е. А. О фитохимической и медико-биологической изученности видов рода *Sedum* L. // Растит. ресурсы. 1974. Т. 10, вып. 1. С. 130–135.
12. Попов О.П. Лікарські рослини в народній медицині.- К: «Здоров'я». 1970
13. Березкина В. И., Береженская В. В., Землинский С. Е., Евтушенко Э. И. Возможности использования некоторых представителей семейства толстянковых в медицине // 1-я Республиканская конференция по медицинской ботанике. Киев, 1991. С. 165–169.
14. Thuong, P. T., Kang, H. J., Na, M. K., Jin, W. Y., Youn, U. J., Seong, Y. H., Song, K.-S., Min, B.-S., Bae, K. H., 2007. Anti-oxidant constituents from *Sedum takesimense*, *Phytochemistry*, 68, 2432–2438.
15. Shirobokov, V. P., Yevtushenko, A. I., Lapchik, V. F., Shirobokova, D. N., Nikitin, V. V., Berezkina, V. I., 1983. Antivirussnayaaktivnost' kakbiologicheskoyesvoystvonekotorykhpredstaviteleysemeystvatolstyankovykh (Crassulaceae DC.) [The antiviral activity as a biological property of some members of the family Crassulaceae (Crassulaceae DC.)]. *Viruses and viral diseases*, Vol. 11, 69–71 (in Russian).
16. Raimondi, L., Banchelli, G., Dalmazzi, D., Mulinacci, N., Romani, A., Vincieri, F. F. &Pirisino, R., 2000. *Sedum telephium* L. Polysaccharide Content Affects MRC5 Cell Adhesion to Laminin and Fibronectin, *J. Pharm. Pharmacol.*, 52, 585–591.

17. Jung, H.-J., Kang, H.-J., Song, Y. S., Park, E.-H., Kim, Y.-M., Lim, C.-J., 2008. Anti-inflammatory, anti-angiogenic and antinociceptive activities of *Sedum sarmentosum* extract, *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 138–143.
18. Kang, T. H., Pae, H. O., Yoo, J. C., Kim, N. Y., Kim, Y. C., Ko, G. I., Chung, H. T., 2000. Antiproliferative effects of alkaloids from *Sedum sarmentosum* on murine and human hepatoma cell lines, *Journal of Ethnopharmacology*, 70, 177–182.
19. He, A., Wang, M., Hao, H., Zhang, D. & Lee, K.-H., 1998. Hepatoprotective Triterpenes from *Sedum sarmentosum*, *Phytochemistry*, Vol. 49, No. 8, 2607–2610. *Illustrated Handbook of Succulent Plants: Crassulaceae*, 2003. Springer
20. He, A., Wang, M., Hao, H., Zhang, D. & Lee, K.-H., 1998. Hepatoprotective Triterpenes from *Sedum sarmentosum*, *Phytochemistry*, Vol. 49, No. 8, 2607–2610. *Illustrated Handbook of Succulent Plants: Crassulaceae*, 2003. Springe
21. . Mashurchak N.V. Resurs nyzapas flavonoidov prirodnyh i jeksperimental'nyhpopuljacijcminapeschanogo (*Helichrysum Arenarium* (L.) Moench) v Saratovskoj Oblasti: avtoref. dis. ... kand. biol. nauk. Saratov, 2010.
22. Пластун В.О., Дурнова Н.А. Методика экстракции флавоноидов очитка пурпурного // Традиции и инновации фармацевтической науки и практики: мат. межд. конф. / под ред. В.А. Лазаренко, А.И. Конопли, И.Л. Дроздовой, И.В. Зубковой, Л.А. Гордиенко. Курск: КГМУ. 2011. С. 330–332.
23. Музычкина Р.А. и другие. Качественный и количественный анализ основных групп БАВ в лекарственном растительном сырье и фитопрепаратах. 2004. С. 246-247
24. Лобанова А.А. Исследование биологически активных флаваноидов в экстрактах из растительного сырья / А.А. Лобанова, В.В. Будаева, Г.В. Сакович // Химия растительного сырья. – 2004. – №1. – С.47 – 52

25. Тринеева О.В. Определение органических кислот в листьях крапивы двудомной / О.В. Тринеева, А.И. Сливкин, С.С. Воропаева // Вестник ВГУ, Серия: Химия. Биология. Фармация. – 2013. – №2. С. 215-219.

26. Определение аскорбиновой кислоты в лекарственных препаратах методами капиллярного зонного электрофореза и мицеллярной электрокинетической хроматографии / Е.В. Зыкова, Н.Г. Сандецкая, В.Е. Веровский., О.В. Островский // Химико-фармацевтический журнал. – 2010.- Т.44, №8. – С. 39-41

27. Гланц С. Медико биологическая статистика / С. Гланц. – М. : Практика, 1998. – 459 с.

28. Фенчин КМ. Заживление ран-К: Здоровье, 1979.— С. 69-70

29. Воспроизведение заболеваний у животных для экспериментально-терапевтических исследований / под ред. И.В. Лазарева. – Л.: Медгиз, 1954. – 392с.

30. Стефанов О. В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / О. В. Стефанов. – Київ. : МОЗ України. Державний фармакологічний центр. – 2001. – 527 с.