

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова
Факультет хімії та фармації
Кафедра фармакології та технології ліків

Д и п л о м н а р о б о т а

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

на тему: «**Фіто-хімічний аналіз та фармакологічна активність**
Origanum vulgare»

«Phytochemical analysis and pharmacological activity *Origanum vulgare*»

Виконала: студентка денної форми навчання
Спеціальності 102 Хімія
Сорокіна Тетяна Сергіївна

Керівник: к. б. н., доц. Еберле Л.В. _____

Рецензент: к. х. н., доц. Кіосе Т.О.

Рекомендовано до захисту:
протокол засідання кафедри
№ ____ від _____ 2021 р.

Завідувач кафедри
_____ проф. Грицук О.І.
(підпис)

Захищено на засіданні ЕК №__
протокол № ____ від «____» _____ 2021 р.
Оцінка _____ / _____ / _____
(за національною шкалою/ за шкалою ECTS/ бал)

Голова екзаменаційної комісії
_____ д. х. н., проф. Марцинко О.Е.
(підпис)

Одеса – 2021

Реферат

Дипломна робота виконана на кафедрі фармакології та технології ліків факультету хімії та фармацевції Одеського національного університету імені І.І. Мечникова і присвячена дослідженню фіто-хімічного складу та фармакологічної активності екстракту *Origanum vulgare*.

Метою роботи було дослідження оптимальних умов екстракції рослинної сировини, встановлення вмісту сполук фенольної природи та ідентифікація окремих речовин в екстракті *Origanum vulgare* методом високоефективної рідинної хроматографії. Визначено летальну дозу (ЛД₅₀) екстракту *Origanum vulgare* за умов перорального ведення та доведено наявність антидепресивної дії екстракту в тесті «Порсолт» та «Чорно-біла камера».

Згідно результатів дослідження показано, що пероральне ведення екстракту *Origanum vulgare* в діапазоні від 100 до 500 мг/кг маси тіла тварин не призводило до летальних випадків та побічних дій, а ЛД₅₀ = 0.

Доведено, що застосування впродовж двох тижнів екстракту *Origanum vulgare* в дозі 5 мг/кг/добу сприяло інтенсивному зменшенню депресивного стану у дослідних тварин в стресовій ситуації у порівнянні з тваринами контрольної групи.

Кваліфікаційна робота викладена на 54 сторінках друкованого тексту та містить: 5 таблиць; 9 рисунків; використано 45 літературних джерел.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1. Анатомічна характеристика <i>Origanum vulgare</i> та арсенал розповсюдження.....	7
1.2. <i>Origanum vulgare</i> як джерело біологічно активних речовин.....	8
1.3. Депресія. Механізми розвитку депресії.....	9
1.4. Експериментальні моделі депресії.....	11
1.5. Антидепресанти. Класифікація антидепресантів.....	15
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	17
2.1. Об'єкт дослідження.....	17
2.2. Методики проведення експерименту.....	17
2.2.1. Дослідження оптимальних умов екстрагування.....	17
2.2.2. Дослідження вмісту поліфенольних сполук методом Фоліна – Чокальтео.....	17
2.2.3. Аналіз поліфенольних сполук в екстракті <i>Origanum vulgare</i> методом високоефективної рідинної хроматографії.....	20
2.2.4. Дослідження гострої токсичності екстракту <i>Origanum vulgare</i> ...	21
2.2.5. Методика дослідження антидепресивної дії екстракту <i>Origanum vulgare</i> в тесті «Чорно-біла камера».....	22
2.2.6. Методика визначення антидепресивної дії екстракту <i>Origanum vulgare</i> в тесті «Порсолт».....	23
2.2.7. Статистична обробка результатів експерименту.....	24
2.3. Результати та їх обговорення.....	27
2.3.1. Дослідження оптимальних умов екстрагування <i>Origanum vulgare</i> ...	27
2.3.2. 2.3.2. Дослідження поліфенольних сполук в екстракті <i>Origanum vulgare</i> методом високоефективної рідинної хроматографії.....	31
2.3.3. Дослідження гострої токсичності екстракту <i>Origanum vulgare</i> ...	36

2.3.4. Дослідження антидепресивної дії екстракту <i>Origanum vulgare</i> в тесті «Чорно-біла камера».....	37
2.3.5. Дослідження антидепресивної дії екстракту <i>Origanum vulgare</i> в тесті «Порсолт».....	39
ВИСНОВКИ	42
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ	43
ДОДАТКИ	49

ВСТУП

В останні роки, незважаючи на високий рівень промислового виробництва антидепресивних синтетичних лікарських засобів, помітно зростає попит населення до продукції природного походження. Анксиолітичні фітопрепарати ефективно впливають на центральну нервову систему не викликаючи звикання та побічної дії на організм.

Серед лікарських рослин, які проростають на території України, та відомі в народній медицині своїми заспокійливими та седативними властивостями є материнка звичайна (*Origanum vulgare* L.). Основна цінність рослини полягає в тому, що до її складу входять такі сполуки поліфенольної природи, як катехіни та катехіноподібні речовини, вважають, що саме ці речовини володіють антидепресивними властивостями [1 – 5].

Депресивний розлад – один із самих поширених психічних захворювань із надзвичайно високим рівнем захворюваності та негативним епідеміологічним прогнозом. Близько 50 % людей, які звертаються за лікарською допомогою, не отримують необхідного лікування внаслідок труднощів діагностики та заперечення існування проблеми самим пацієнтом. Крім того, депресивний розлад важко піддається лікуванню: після фармакотерапії ремісії вдається досягти лише у 50 % випадків, у 33% пацієнтів зберігається депресивна симптоматика, у 12 % – захворювання набуває хронічного характеру [6, 7].

Вивчення патогенезу депресивних розладів та механізмів дії антидепресантів дозволило виявити нові потенційні терапевтичні мішені в ГАМКергічній та глутаматергічній системи, а також розширити уявлення про участь нейротрофічного фактора мозку та серотонінергічної системи в реалізації антидепресивних ефектів та механізмів розвитку захворювання. З'являється все більше даних про механізми взаємовпливів різних нейромедіаторних систем та їх рецепторів, що відкриває більше можливостей для розуміння та лікування депресії [7].

Вищесказане зумовлює необхідність розробки нових ефективних та безпечних антидепресантів з полівалентним механізмом дії на рослинній основі, які будуть володіти анксиолітичними властивостями з мінімальними побічними діями.

Метою дипломної роботи було дослідження фіто-хімічного складу та фармакологічної активності екстракту *Origanum vulgare*.

Для досягнення поставленої мети були встановлені наступні завдання:

1. Встановити оптимальні умови екстрагування *Origanum vulgare* в залежності від концентрації етилового спирту, співвідношення екстракту та екстрагента, діаметру подрібнення рослинного матеріалу.

2. Дослідити кількісний вміст поліфенольних сполук в екстракті *Origanum vulgare* по методу Фоліна-Чокальтео.

3. Провести аналіз поліфенольних сполук в екстракті *Origanum vulgare* методом вискоєфективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).

4. Дослідити летальну дію (LD_{50}) екстракту *Origanum vulgare* за умов перорального ведення.

5. Дослідження антидепресивної активності екстракту *Origanum vulgare* в залежності від тривалості застосування.

Об'єкт дослідження – екстракт *Origanum vulgare*.

Предмет дослідження – оптимальні умови екстракції, аналіз ВЕРХ, фармакологічне дослідження екстракту *Origanum vulgare*.

Методи дослідження: спектрофотометричні, фармакологічні, статистичні.

ВИСНОВКИ

1. Показано, що максимальне вилучення фенольних сполук з рослинної сировини *Origanum vulgare* відзначалось при екстрагуванні 30 % водно-етанольною сумішшю у співвідношенні сировини до розчинника 1:5 та подрібненні матеріалу розміром до 5 мм.

2. За методом Фоліна-Чокальтео встановлено, що вміст поліфенольних сполук в екстракті *Origanum vulgare* за оптимальних умов екстракції становив $0,65 \pm 0,05$ мг/г сухої сировини.

3. Методом високоефективної рідинної хроматографії доведено, що до складу екстракту *Origanum vulgare* входять такі речовини, як: катехіни, катехіноподібні, фенольні кислоти, хлорогенова та кавова кислоти, флавоноли (глікозиди), глікозиди міріцетина, глікозиди лютеоліна, флаванони (глікозиди), лютеолін, флавоноли (аглікони).

4. Встановлено, що пероральне ведення екстракту *Origanum vulgare* в діапазоні від 100 до 450 мг/кг маси тіла тварин не призводило до летальних випадків та побічних дій ($LD_{50} = 0$).

5. Встановлено, що із збільшенням тривалості застосування екстракту *Origanum vulgare* (в дозі 5 мг/кг/добу) зростає антидепресивний ефект в стресовій ситуації, як в тесті «Порсолт» так і в тесті «Чорно-біла камера».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРИ

1. Алякин, А. А. Фракционный состав эфирного масла душицы обыкновенной / А. А. Алякин, А. А. Ефремов, С. В. Качин, О. О. Данилова // Химия растительного сырья. – 2010. – № 1. – С. 19 – 24.
2. Анисимова, А. Г. Морфолого-анатомические особенности половых форм *Origanum vulgare* (Lamiaceae) / А. Г. Анисимова, Е. И. Демьянова // Растительные ресурсы. – 2007. – Вып. 1. – С. 36 – 45.
3. Беззубов, А.Д. Химический состав некоторых эфирных масел, полученных из дикорастущих эфирносов Южной Киргизии / А. Д. Беззубов, Н. М. Шорникова // Химия и технология душистых веществ и эфирных масел. – Труды, вып. 1. – М. : «Промиздат», 1952. – С. 109 – 114.
4. Бирюлёва, Э. Г. Адаптивные особенности дикорастущих видов душицы при введении в культуру / Э. Г. Бирюлёва, В. М. Усеинова // Материалы Междунар. науч. конф. «Учёные ботаники Таврического университета: вклад в науку, идеи и их развитие» (Симферополь, 20 мая 2008 г.). – Симферополь, 2008. – 188 с.
5. Ботаника с основами фитоценологии / Т. И. Серебрякова, Н. С. Воронин, А. Г. Еленевский и др. – М. : «Академкнига», 2007. – 543 с.
6. Karolewicz, B. Reduced level of glutamic acid decarboxylase-67 kDa in the prefrontal cortex in major depression / B. Karolewicz, D. Maciag, G. O'Dwyer, C.A. Stockmeier, A.M. Feyissa, G. Rajkowska // International Journal of Neuropsychopharmacology. – 2010. – Vol. 13, №4. – P. 411 – 420.
7. Jeon, S.W. The role of neuroinflammation and neurovascular dysfunction in major depressive disorder /S.W. Jeon, Y.K. Kim // Journal of Inflammation Research. – 2018. – Vol. 11. – P. 179-192.
8. Гиренко, М. М. Пряно-вкусовые овощи: Пособие для садоводов-любителей / М. М. Гиренко, О. А. Зверева. – М.: Изд-во «Ниола-Пресс»; Издательский дом «ЮНИОН-паблик», 2007. – 256 с.

9. Гончаров, В. Е. Эколого-ценотический анализ пространственно-временной организации популяций душицы обыкновенной, как основа рациональной эксплуатации её ресурсов в Татарстане : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.00.16 / Гончаров Владимир Евгеньевич. – Казань, 2003. – 25 с.

10. Государственный реестр сортов и древесно-кустарниковых пород / Мин. с/х. и продов. Респ. Беларусь, Гос. Инспекц. по испытанию и охране сортов растений ; ред. В. А. Бейня. – Минск, 2013. – С. 52.

11. Дагите, С. Ю. Биологические и биохимические особенности душиц, выращиваемых в Каунасском ботаническом саду (1. Фенология цветения и всхожесть семян) / С. Ю. Дагите, Г. К. Юкнявичене // Тр. АН ЛитССР. – 1979. – Т. 2 (86). – Сер. В. – С. 21–25.

12. Дагите, С. Ю. Биологические и биохимические особенности душиц, выращиваемых в Каунасском ботаническом саду (Влияние азотных удобрений на урожай душицы обыкновенной и накопление в ней эфирного масла) / С. Ю. Дагите, Г. К. Юкнявичене, А. В. Моркунас // Тр. АН Литовской ССР. – 1980. – Сер. В. – Т. 2 (90). – С. 11–15.

13. Дендрофлора України. Дикорослі й культивовані дерева і куці. Покритонасінні. Частина 2. Довідник. / М. А. Кохно, Н. М. Трофименко, Л. І. Пархоменко та ін.; За ред. М. А. Кохна та Н. М. Трофименко. – Київ : «Фітосоціоцентр», 2005. – 716 с.

14. Денисенко, П. П. Фармакология травы душицы мелкоцветковой / П. П. Денисенко, Ю. Н. Нуралиев, Т. М. Зубайдова // Проблемы фитотерапии и фитофармакологии : Материалы 1 съезда фитотерапевтов и фитофармакологов Таджикистана (Душанбе, ноябрь 2008). – С. 32 – 38.

15. Деревинская, Т. И. Влияние различных способов заготовки сырья *Origanum vulgare* L. на восстановление её ценопопуляции / Т. И. Деревинская // Растительные ресурсы. – 1983. – Том 19. – Вып. 4. – С. 483 – 487.

16. Джумаев, Х. К. Состав эфирного масла *Origanum tyttanthum* Gontsch. из Южного Узбекистана / Х. К. Джумаев, К. Г. Ткаченко, И. Г.

Зенкевич, И. А. Цибульская // Растительные ресурсы. – 1989. – Вып. 2. – С. 238 – 243.

17. Джумаев, Х. К. Состав эфирного масла душицы мелкоцветковой в зависимости от фаз вегетации / Х. К. Джумаев, К. Г. Ткаченко, И. Г. Зенкевич, И. А. Цибульская // Основные направления научных исследований по интенсификации эфиромасличного производства: Тез. докл. – Симферополь, 1990. – С. 167 – 168.

18. Дорошева, З. Н. Биология дикорастущих растений семейства *Lamiaceae* в лесостепном предуралье Башкортостана: дисс. ... канд. биол. наук : 03.00.12 / Зинаида Николаевна Дорошева. – Уфа, 2005. – 226 с.

19. Егорова, Н. А. Биотехнологические основы создания новых форм и размножения эфиромасличных растений : автореф. дисс. ... докт. биол. наук : 03.00.20 / Н.А. Егорова. – Ялта, 2012. – 48 с.

20. Ельчибекова, Л. А. Эфирное масло *Origanum tyttanthum* / Л. А. Ельчибекова, Г. К. Никонов // Химия природных соединений. – 1986. – С. 247 – 248.

21. Ена, А. В. Природная флора Крымского полуострова: монография / А. В. Ена. – Симферополь: Н.Оріанда, 2012. – 232 с.

22. Зими́на, Л. Б. Селекция душицы обыкновенной в Московской области: Дис. ... канд. биол. наук : 06.01.13 Лек. и эфирно-масл. культуры / Людмила Борисовна Зими́на. – Москва, 2002. – 165 с.

23. Зубайдова, Т. М. Нейротропное действие настоя травы душицы мелкоцветковой и обыкновенной (НТДМ) и (НТДО) / Т. М. Зубайдова // Проблемы фитотерапии и фитотермакологии : Материалы 1 съезда фитотерапевтов и фитотермакологов Таджикистана (Душанбе, ноябрь 2008). – С. 71 – 78.

24. Иванова, Т. Е. Фитохимический анализ травы душицы обыкновенной (*Herba Origanum vulgare*) / Т. Е. Иванова, И. Е. Станишевская // Материалы докладов XVI Международной конференции студентов,

аспирантов и молодых ученых «Ломоносов» / Отв. ред. И.А. Алешковский, П.Н. Костылев, А.И. Андреев.

25. Казаринова, Н. В. Абиотическая активность эфирного масла *Origanum vulgare* L., собранной в Новосибирской области / Н. В. Казаринова, К. Г. Ткаченко // Проблемы ботаники Южной Сибири: Матер. III науч.-практ. конф. (Барнаул, 25-27 октября 2004 г.) – Барнаул, 2004. – С. 40 – 42.

26. Казаринова, Н. В. Компонентный состав и антибиотическая активность эфирного масла *Origanum vulgare* L., произрастающей в некоторых регионах Западной Сибири / Н. В. Казаринова, К. Г. Ткаченко, Л. М. Музыченко и др. // Растительные ресурсы. – 2002. – Вып. 2. – С. 99 – 103.

27. Бизунок, Н. А. Антидепрессанты: учеб.-метод. пособие / Н. А. Бизунок, А. В. Гайдук. – Минск: БГМУ. – 2017. – 26 с.

28. Касьянов, Е.Д. Функционирование гипоталамо-гипофизарной оси при депрессии: актуальное состояние проблемы / Е.Д.Касьянов, Г.Э. Мазо // Журнал Психическое здоровье. – 2017. – № 8. – С. 27 – 34.

29. Петрунько, О.В. Депрессивное расстройство с хроническим течением / О.В. Петрунько // Acta Biomedica Scientifica. – 2017. – Т. 2, № 114. – Р. 114 – 119.

30. Шевченко, Р.В. Особенности фармакокинетики оригинального нейролептика дилепта у животных и человека / Р.В. Шевченко, А.А. Литвин, Г.Б. Колыванов, С.С. Бойко, В.П. Жердев // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2014. – Т. 77, №7. – С. 23 – 27.

31. Abdallah, C.G. The neurobiology of depression, ketamine and rapid-acting antidepressants: Is it glutamate inhibition or activation? / C.G. Abdallah, G. Sanacora, R.S. Duman, J.H. Krystal // Pharmacology & Therapeutics. – 2018. – Vol. 190. – P. 148 – 158.

32. Adachi, M. Selective loss of brain-derived neurotrophic factor in the dentate gyrus attenuates antidepressant efficacy / M. Adachi, M. Barrot, A.E. Autry, D. Theobald, L.M. Monteggia // Biological Psychiatry. – 2008. – Vol. 63. – P. 642 – 649.

33. Aguado-Llera, D. Improvement in inflammation is associated with the protective effect of Gly-Pro-Glu and cycloprolylglycine against A β -induced depletion of the hippocampal somatostatinergic system / D. Aguado-Llera, S. Canelles, C. FernándezMendívil, L.M.Frago, J.Argente, E.Arilla-Ferreiro, M. G.López, V. Barrios // *Neuropharmacology*. – 2019. – Vol. 151. – P. 112-126.

34. Antunes, M. The novel object recognition memory: neurobiology, test procedure, and its modifications / M. Antunes, G. Biala // *Cognitive processing*. – 2012. – Vol. 13, № 2. – P. 93 – 110.

35. Chaki, S. mGlu2/3 and mGlu5 receptors: Potential targets for novel antidepressants / S. Chaki, Y. Ago, A. Palucha-Paniewiera, F. Matrisciano, F. Pilc // *Neuropharmacology*. – 2013. – Vol. 66. – P.40 – 52.

36. Dale, E. Emerging mechanisms and treatments for depression beyond SSRIs and SNRIs / E. Dale, B. Bang-Andersen, C. Sánchez // *Biochemical Pharmacology*. – 2015. – Vol. 95, №2. – P. 81 – 97.

37. Deutschenbaur, L. Role of calcium, glutamate and NMDA in major depression and therapeutic application / L. Deutschenbaur, J. Beck, A. Kiyhankhadiv, M. Muhlhauser, S. Borgwardt, M. Walter, G. Hasler, D. Sollberger, U.E. Lang // *Progress in Neuro-Psychopharmacology & Biological Psychiatry*. – 2016. – Vol. 64. – P. 325 – 333.

38. Escalona, R. Pramipexole in Treatment Resistant-Depression, Possible Role of Inflammatory Cytokines / R. Escalona, J. Fawcett // *Neuropsychopharmacology: official publication of the American College of Neuropsychopharmacology*. – 2017. – Vol. 42, № 1. – 363.

39. Frankowska, M. Effects of imipramine or GABA(B) receptor ligands on the immobility, swimming and climbing in the forced swim test in rats following discontinuation of cocaine self-administration / M. Frankowska, A. Golda, K. Wydra, P. Gruca, M. Papp, M. Filip // *European Journal of Pharmacology*. – 2010. – Vol. 627. – P. 142 – 149.

41. Курочкина М. И. Экстрагирование и выщелачивание твердых материалов. Л.: Химия, 1978. С. 39 – 40.

42. Пономарев В. Д. Экстрагирование лекарственного сырья. М. : Медицина, 1976 г. 204 с.

43. Стефанов О. В. Доклинические исследования лекарственных препаратов. К.: Авиценна, 2001р. 528 с.

44. Giachino, C. GABA suppresses neurogenesis in the adult hippocampus through GABA_B receptors / C. Giachino, M. Barz, J.S. Tchorz, M. Tome, M. Gassmann, J. Bischofberger // *Development*. – 2014. – Vol. 141. – P. 83 – 90.

45. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / [Верстакова О.Л., Арзамасцев Е.В., Бабаян Э. А. и др.], под ред. Р. У. Хабриева. – [2-е изд.]. – М.: ОАО “Издательство “Медицина”. – 2005. – 832 с.

46. J. Harro. Measurement of exploratory behavior in rodents: In: *Methods in Neurosciences* (V. 14, *Paradigms for the Study of Behavior*), Ed. P.M.Conn, Academic Press, San Diego, New York. – 1993. – P. 359 – 377.

47. Calatayud F. Emotional reactivity in mice, a case of nongenetic heredity / F.Calatayud, C.Belzung // *Physiol. Behav.* – 2001. – V. 74. – P. 355 – 362.

48. Crawley J.N. Exploratory behavior models of anxiety in mice / J.N.Crawley // *Neurosci. Biobehav. Revs.* – 1985. - N 9. – P. 33 – 44.

49. J. Harro. Measurement of exploratory behavior in rodents: In: *Methods in Neurosciences* (V. 14, *Paradigms for the Study of Behavior*), Ed. P.M.Conn, Academic Press, San Diego, New York. – 1993. – P. 359 – 377.