

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ТЕРНОПІЛЬСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ І. Я. ГОРБАЧЕВСЬКОГО МОЗ УКРАЇНИ

Фармацевтичний факультет

Кафедра фармакогнозії з медичною ботанікою

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри _____

проф. Марчишин С.М.

«___» _____ 2022 р.

УДК 615.014.07:582.943

МАГІСТЕРСЬКА РОБОТА

на тему:

**«ПОРІВНЯЛЬНИЙ ФАРМАКОГНОСТИЧНИЙ АНАЛІЗ
НЕОФІЦІНАЛЬНИХ ВИДІВ РОДУ ЧЕБРЕЦЬ (*THYMUS L.*)»**

Виконала студентка 5 курсу

денної форми навчання

спеціальності 226 "Фармація, промислова фармація"

_____ Клизуб Софія Романівна

Науковий керівник:

доктор фарм. наук, доцент

Шанайда М.І.

ТЕРНОПІЛЬ 2022

ЗМІСТ

ВСТУП	3
Розділ I. СУЧАСНИЙ СТАН ФАРМАКОГНОСТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ У МЕДИЦИНІ ВИДІВ РОДУ ЧЕБРЕЦЬ (<i>THYMUS L.</i>) (Огляд літератури)	6
1.1. Особливості медичного застосування офіційних видів	7
1.2. Ботанічний опис, поширення, хімічний склад та біологічна активність	7
1.2.1. <i>Thymus vulgaris</i>	7
1.2.2. <i>Thymus serpyllum</i>	11
1.2.3. <i>Thymus zygis</i>	13
1.2.4. <i>Thymus citriodorus</i>	14
1.2.5. <i>Thymus pulegioides</i>	15
1.2.6. <i>Thymus richardii</i>	
Розділ II. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	19
2.1. Об'єкти досліджень та особливості заготівлі сировини	19
2.2. Методи фармакогностичного дослідження сировини	20
Розділ III. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ ВИДІВ РОДУ ЧЕБРЕЦЬ (<i>THYMUS L.</i>)	26
3.1. Фітохімічний аналіз сполук терпенової природи	26
3.1.1. ТШХ-аналіз терпенових сполук	26
3.1.2. Вміст та ГХ-МС аналіз ефірної олії	27
3.2. Фітохімічний аналіз сполук фенольної природи	38
3.2.1. ТШХ-аналіз поліфенолів	38
3.2.2. Спектрофотометричний аналіз вмісту флавоноїдів	40
3.3 Ідентифікація та визначення вмісту органічних кислот	42
3.4 Порівняльний морфолого-анатомічний аналіз трави перспективних видів роду <i>Thymus</i>	43
3.5 Вивчення антимікробної активності ефірних олій рослин в умовах <i>in vitro</i>	48
ВИСНОВКИ	52
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	53

ВСТУП

Здоров'я скарб – це лісовий чебрець...

Під соснами в пісковнику зростає.

Дарунок цей зелених надр

Усім нам Богородиця зсилає.

Клизуб Тетяна

Сьогодні є багато новітніх синтетичних лікарських засобів, які широко використовуються у медичній практиці, проте препарати природного походження досі не втрачають своєї актуальності. Лікарські засоби рослинного походження (ЛЗРП) займають вагоме місце на сучасному фармацевтичному ринку. Зокрема, частка фітопрепаратів у Сполучених Штатах Америки становить майже 26 % на ринку лікарських засобів [5]. Ще одним прикладом є Німеччина, де частка зареєстрованих ЛЗРП на сьогодні сягає близько 13 % від всіх лікарських засобів на фармринку. На українському фармринку ЛЗРП представлені досить великим асортиментом. Встановлено, що зареєстровані в Україні ЛЗРП займають частку приблизно 10% від всіх ліків, що практично збігається із кількістю найменувань фітопрепаратів у Німеччині [5].

Україна має шанс значно прогресувати завдяки створенню нових ЛЗРП на основі сировини неофіціальних видів рослин і збільшенню асортименту лікарських засобів за рахунок створення нових лікарських форм. Кількість вітчизняних фітопрепаратів значно збільшилася в останні десятиліття. Так, за даними Мінарченко В.М. та Бутко А.Ю. [15], станом на січень 2017 року зареєстровано 1142 фітопрепарати та субстанції рослинного походження (або лікарські засоби з рослинними компонентами), з яких 645 – препарати саме вітчизняного виробництва. Значну частину ЛЗРП на українському фармацевтичному ринку виготовляють із культивованої і дикорослої сировини вітчизняного походження [15].

Велике значення для української та зарубіжних фармацевтичних індустрій мають представники роду Чебрець (*Thymus* L.) родини Глухокропивові (*Lamiaceae*

Martinov). Дикорослий вид чебрець повзучий (*Thymus serpyllum* L.) в народі ще називають богородицькою травою або фіміамником. Назва роду має грецьке походження і в перекладі означає "пахощі", адже рослина відома своїм особливим ароматним запахом, зумовленим високим вмістом тимолу [12, 86].

Чебрець має древню історію використання. Ще стародавні єгиптяни, користуючись антисептичними, протимікробними та дезінфікуючими властивостями рослини, застосовували її для бальзамування тіл. У Середньовіччі димом із чебрецю обкурювали кімнату, де знаходився хворий на чуму або проказу. Римські і шотландські воїни вживали напій із цієї цілющої рослини та приймали ванни з чебрецю, оскільки вважали, що вони збільшують силу і витривалість, а також надають хоробрості. Ці здогадки про тонізуючу дію чебрецю були науково підтверджені сучасними дослідженнями. Загалом, траву чебреців застосовують з метою підвищення імунітету, при лікуванні вірусних та застудних захворювань, анемії, гіпотонії, кашлі і бронхітах [12].

Численними сучасними науковими дослідженнями підтверджено, що види роду Чебрець містять потужний комплекс біологічно активних речовин (БАР) з бактерицидною, протигрибковою, противірусною, імуномодулюючою, антиоксидантною, протизапальною та іншими видами біологічної активності. Саме тому актуальності набуває фармакогностичне вивчення перспективних видів, сортів і хемотипів роду Чебрець як сировинних джерел БАР для подальшого одержання ЛЗРП [39].

Деякі з видів роду *Thymus* є відомими лікарськими рослинами, які широко використовуються в офіциналній медицині багатьох країн [37, 49]. Так, сировина таких видів як *Thymus vulgaris* L., *Thymus zygis* L. та *Thymus serpyllum* L. входить до європейської та вітчизняної Фармакопей [7, 43]. Відповідно до ДФУ [7], ефірна олія з квітучих пагонів *Thymus vulgaris* і *Thymus zygis* (або ж суміші обох видів), а саме "Чебрецева олія (тимольний тип)", має містити щонайменше 36,0% тимолу.

Варто відзначити, що наявні ресурси дикорослого *Thymus serpyllum* в Україні є недостатніми для того, щоб задовільнити попит на його сировину, тому

обсяги його заготівлі варто лімітувати. Вивчення можливості вирощування рослин для отримання сировини в умовах культури дає змогу вирішити цю проблему.

Що стосується таких видів, як чебрець блошиний (*Thymus pulegioides* L.) та чебрець Річарда (*Thymus richardii* Pers.), то вони є неофіціальними і використовуються лише у народній медицині деяких країн [52, 66, 74, 80]. В Україні ці види спорадично культивуються в науково-дослідних установах [37]. Завдяки природним процесам гібридизації та кропіткій роботі селекціонерів поступово з'являються нові підвиди, сорти та хемотипи у межах видів роду *Thymus*. Це викликає інтерес до вивчення їхнього хімічного складу та фармакологічних властивостей [37].

Мета роботи: порівняльний фармакогностичний аналіз сировини перспективних сортів двох неофіціальних видів роду Чебрець - *Thymus pulegioides* (сорт '2/6-07') і *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія'), а також сорту 'Ялос' офіціального виду *Thymus vulgaris*.

Для реалізації поставленої мети необхідно виконати наступні завдання:

- провести ідентифікацію та порівняльний аналіз вмісту і компонентного складу БАР терпенової та фенольної природи у сировині рослин;
- ідентифікувати та визначити вміст органічних кислот;
- здійснити порівняльний аналіз морфолого-анатомічної будови трави перспективних видів;
- визначити антимікробну активність ефірних олій рослин.

Основні результати виконаної магістерської роботи оприлюднено на трьох наукових форумах різних рівнів. Всього опубліковано 4 наукові праці, у тому числі 1 стаття у фаховому журналі "Фармацевтичний часопис" і 3 тез доповідей. Виголошено усну доповідь на XXVI Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (отримано диплом переможця II ступеня).

Робота викладена на 60 сторінках машинописного тексту, містить 5 таблиць та 22 рисунки. Вона включає такі частини: вступ, літературний огляд, короткий опис об'єктів і методів досліджень, розділ експериментальних досліджень, висновки та список використаних наукових першоджерел (всього 86 посилань).

Розділ I

СУЧАСНИЙ СТАН ФАРМАКОГНОСТИЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ І ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ У МЕДИЦИНІ ВИДІВ РОДУ ЧЕБРЕЦЬ (*THYMUS L.*) (Огляд літератури)

Рід Чебрець (*Thymus*) є одним із найбільших у родині Глухокропивові (*Lamiaceae*) та налічує понад 300 видів [69] ефіроолійних рослин. Частина видів посідають вагоме місце серед лікарських рослин офіційної і народної медицини. Вони знаходять використання як медоноси, технічні культури, у харчовій промисловості (як прянощі), у садівництві як декоративні тощо [2].

За даними монографії "Лікарські судинні рослини України (медичне та ресурсне значення)" В. М. Мінарченко [14], в Україні медичне застосування знайшли декілька видів чебреців. В енциклопедичному довіднику "Лікарські рослини" за редакцією А.М. Гродзінського [12] наведено опис таких видів роду Чебрець: ч. двовидний, ч. звичайний, ч. плазкий ч. Калльє і ч. Маршалів.

Окрім України, чебреці широко розповсюджені в природі у Європі, Середній та Малій Азії, на півночі Африки. Науковці відзначають значний поліморфізм в межах видів цього роду [65].

Чебреці культивують практично на всіх континентах (крім Антарктиди). Дослідження перспективних видів, хемотипів і сортів рослин роду Чебрець з метою їх подальшого використання у медичній практиці є актуальним питанням сучасної фармації [37, 39].

Ароматичні компоненти ефірної олії чебреців ефективні для застосування у боротьбі з бактеріальними інфекціями, що зумовлено появою на сучасному етапі розвитку людства проблеми антибіотикорезистентності [31]. Припускають, що антимікробні властивості терпеноїдів тісно пов'язані із їхніми ліпофільними властивостями. Досить перспективною є можливість використання сировини чебреців у профілактиці стоматологічних захворювань (наприклад, у складі зубних еліксирів) [17, 36].

1.1. Особливості медичного застосування офіційних видів

Екстракти на основі сировини офіційних видів цього роду (*Thymus vulgaris* або *Thymus zygis* та *Thymus serpyllum*) входять до складу рослинних препаратів, що мають виражені антимікробні, протизапальні, відхаркувальні, імуномодулюючі, седативні властивості (табл. 1.1).

Як видно з таблиці 1.1, на фармацевтичному ринку України представлена значна кількість фітозасобів, у складі яких є компоненти сировини чи екстракти офіційних представників родів *Thymus* – здебільшого, *Thymus serpyllum* чи *Thymus vulgaris*.

1.2. Ботанічний опис, поширення, хімічний склад та біологічна активність

Чебреці є переважно невисокими напівчагарниками, з опушеним чотиригранним стеблом 10-40 см заввишки [12, 20]. Листки дрібні, цілісні; листкорозміщення навхрест-супротивне. Квітки з двогубим віночком білого або рожево-лілового кольору, зібрані по 3-6 у пазухах листків, і утворюють невеликі головчасті суцвіття на верхівках пагонів. Плоди – ценобії світло-коричневого кольору, що містять чотири дрібні горішки. Вся надземна частина рослин має сильний аромат, оскільки накопичує ефірну олію в залозистих структурах епідерми.

1.2.1. Чебрець звичайний (*Thymus vulgaris* L.)

Чебрець звичайний у дикорослому стані розповсюджений на відкритих, сухих схилах вздовж європейського узбережжя Середземного моря, а також культивується у Східній Африці, Центральній Європі, Туреччині, Ізраїлі. В Україні його вирощують в умовах культури [12].

Таблиця 1.1.

Приклади сировини і деяких фітозасобів на основі офіційальних видів роду *Thymus*, наявних на фармацевтичному ринку України [8]

Зображення аптечної упаковки	Назва, лікарська форма і склад препарату
<p style="text-align: center;">1</p> 	<p style="text-align: center;">2</p> <p>Чебрецю трава (<i>Thymi serpylli herba</i>) - сировина</p> <p>Фармакотерапевтична група: відхаркувальні засоби.</p>
	<p>Фітоседан (збір)</p> <p>Склад: пустирника трава, материнки трава, чебрецю трава, валеріани кореневища з коренями та ін.</p> <p>Фармакотерапевтична група: снодійні та седативні препарати.</p>
	<p>Пертусин (сироп)</p> <p>Склад: 100 г сиропу містять рідкого екстракту чебрецю (<i>Thymus serpyllum</i>) (1:1) калію броміду - 1 г</p> <p>Фармакотерапевтична група: препарати від кашлю та застуди</p>

1	2
	<p>Гіпертофітол (збір)</p> <p>Склад: календула, м'ята перцева, звіробою трава, чебрецю трава, астрагал.</p> <p>Фармакотерапевтична група: добавки дієтичні для підтримання функції серцево-судинної системи</p>
	<p>Грипофітол (збір)</p> <p>Склад: шипшина, солодки корені, ромашки квітки, звіробою трава, чебрецю трава.</p> <p>Фармакотерапевтична група: добавки дієтичні - імуномодулятори</p>
	<p>Бронхостоп® (сироп)</p> <p>Склад: трава чебрецю, екстракт алтейного кореня</p> <p>Фармакотерапевтична група: препарати, що застосовуються при кашлі і застудних хворобах.</p>
	<p>Бронхосол (сироп)</p> <p>Склад: густий екстракт із суміші сировини трави чебрецю і коренів первоцвіту</p> <p>Фармакотерапевтична група: відхаркувальні засоби.</p>

Чебрець звичайний – напівкущ до 40 см заввишки (рис. 1.1). Стебло чотиригранне, прямостояче, розгалужене, знизу здерев'яніле. Вверху стебла трав'янисті, тонкі, опушені. Дрібні листки до 10 мм завдовжки, 2-3 мм завширшки, супротивні, цілокраї, видовжено-ланцетні, короткочерешкові, сіруватого кольору із скрученими донизу краями, на яких помітні численні ефіроолійні залозки. Квітки п'ятичленні, дрібні, двогубі. Чашечка зелена, віночок лілово-рожевий, рідше – білий. Суцвіття – колосовидний тирс. Цвіте у червні – липні. Плід – ценобій. Вся рослина має приємний ароматний запах [12].



Рис. 1.1. Зовнішній вигляд рослин та квітучих пагонів *Thymus vulgaris*

Оскільки вид є фармакопейним [7, 43], він є досить добре вивченим з фітохімічної точки зору. Ефірна олія *Thymus vulgaris* має високий вміст оксигеновмісних монотерпеноїдів. Так, згідно монографії ДФУ "Чебрець (*Thymi herba*)" [7], висушена надземна частина рослини повинна містити не менше 12 мл/кг ефірної олії із сумарним вмістом у ній тимолу і карвакролу не менше 40 %.

Зазвичай, переважаючою сполукою ефірної олії *Thymus vulgaris* є тимол [44, 50, 63, 76, 77, 82]. Наприклад, в ефірній олії *Thymus vulgaris*, заготовленої в Словаччині, домінували тимол (48,1%), *p*-цимен (11,7%), 1,8-цинеол (6,7%), γ -терпінен (6,1%) і карвакрол (5,5%) [76]. Тимол (61,9%), *p*-цимен (10,0%) і γ -терпінен (10,0%) переважали в ефірній олії *Thymus vulgaris* польського походження [26]. У зв'язку із появою нових хемотипів і сортів *Thymus vulgaris*, відкривається перспектива для подальших фітохімічних та фармакологічних досліджень [37, 38].

Встановлено, що антибактеріальна, антигрибкова і антиоксидантна дія ефірної олії *Thymus vulgaris* зумовлена високим вмістом тимолю й інших ароматичних терпеноїдів [3, 10, 44, 48, 77, 82]. Антиоксидантний та протизапальний вплив водних і водно-етанольних витягів трави цього виду науковці пояснюють значним вмістом поліфенолів – зокрема, розмаринової кислоти, глікозидів лютеоліну тощо [21, 38, 59].

1.1.2 Чебрець повзучий (*Thymus serpyllum* L.)

Чебрець повзучий є дрібним напівчагарничком (рис. 1.2), який в дикорослому стані поширений у центральній частині Європи. Його ще називають "дикий чебрець"; назва «*serpyllum*» має грецьке походження і означає «повзти» внаслідок додаткового вкорінення стебел. У нього видовжене повзуче стебло до 15 см заввишки, біля основи здерев'яніле. Листки овальної форми у верхній частині округлі, біля основи звужені, довжиною 4-6 мм, біля основи мають довгі трихоми по краю, а зверху і знизу – голі. Добре помітна центральна жилка і менш помітні бічні. Суцвіття головчасте, до 7 см завдовжки. Квітки з бузково-рожевим віночком. Цвіте з кінця травня по серпень. Найкраще росте на сухому ґрунті, відкритих піщаних вересках і луках [12].

Оскільки *Thymus serpyllum* є фармакопейним видом [7, 43], його добре вивчено з фітохімічної точки зору. Проведено багато досліджень щодо вмісту і хімічного складу ефірної олії, фенольних сполук [41, 49, 79].



Рис. 1.2. Зовнішній вигляд рослин та квітучих пагонів *Thymus serpyllum*

Встановлено, що на хімічний склад і вихід ефірної олії *T. serpyllum* впливають географічний регіон, стадія розвитку рослини, сезон збору врожаю, середовище проживання та кліматичні умови. Саме тому вміст ефірної олії в сировині, за даними Jagić та співавт. [49] коливається від 0,1 до 1,0 %. Аналіз виходу ефірної олії з трави *T. serpyllum*, який зростав у Естонії показав [41], що її вміст становить від 0,6 до 4,4 мл/кг. Лише в одному населеному пункті він становив 3 мл/кг, що відповідає стандартам Європейської фармакопеї [43]. При заготівлі на території Сербії вихід ефірної олії із зразків цього виду становив 3 мл/кг (~0,3%) і 4,1 г/кг (~0,1%) [41].

Встановлено, що *T. serpyllum* та інші види чебреців характеризуються хімічним поліморфізмом, тобто існує кілька хемотипів, в ефірних оліях яких домінують різні компоненти: гераніол, гермакрен D, цитраль, ліналоол, (E)-каріофілен, терпінілацетат, карвакрол, тимол тощо [72]. Як відомо, карвакрол і тимол – структурні ізомери, що належать до групи монотерпенових фенолів з потужними антисептичними властивостями.

Відповідно до монографії ДФУ "Чебрець повзучий" [7] трава *T. serpyllum* повинна містити не менше 3 мл/кг ефірної олії. Крім ефірної олії, чебрець повзучий також містить флавоноїди, фенолкарбонові кислоти та їх похідні, тритерпени та дубильні речовини [49].

«Всі знають чебрець» - так писав відомий давньоримський військовий лікар Діоскорид у перших рядках своєї розповіді про лікувальні властивості цієї ароматної трави, що підтверджено вже більш ніж двотисячолітнім досвідом використання для послаблення закладеності в горлі чи носі, при лікуванні бронхіту, висипів на шкірі тощо. На фармринку України поширеним є фітозасіб "Пертусин" (сироп від кашлю та застуди), основу якого складає рідкий екстракт *Thymus serpyllum*. Сировина "Чебрецю трава (*Thymi serpylli herba*)" належить до фармакотерапевтичної групи відхаркувальних засобів [8]. Як видно з таблиці 1.1, трава чебреців входить до ряду комплексних фітопрепаратів.

1.1.3 Чебрець іспанський, або білий (*Thymus zygis* L.)

Це карликовий напівчагарничок із ароматним запахом заввишки до 30 см (рис. 1.3). Стебла у нього червонуваті, опушені. Зовні схожий до *T. vulgaris*, але листки вужчі, лінійні, завдовжки до 10 мм, на основі – вийчасті, сіро-зеленого кольору. Квітки білі, завдовжки до 4 мм. Плоди – чотиригорішки кулястої або еліпсоїдної форми. Даний вид чебрецю росте у країнах, що розташовані навколо Середземного моря і широко поширений по всій Іспанії та Португалії [85].

Вихід ефірної олії із трави *T. zygis* становить від 1,0% до 1,5% [33]. Для цього виду чебрецю характерні значні варіації у хімічному складі, зокрема, у кількості гераніацетату (0,5-20,8%), гераніолу (0,1-19,8%), тимолу (5,2–23,8%) та карвакролу (1,3 – 25,0%) в складі ефірної олії [33].

Вторинні метаболіти *Thymus zygis* були досить активними стосовно пригнічення патогенних штамів бактерій [52].



Рис. 1.3. Зовнішній вигляд рослин та квітучих пагонів *Thymus zygis*

1.1.4 Чебрець лимоннозапашний (*Thymus × citriodorus* (Pers.) Schreb.)

Чебрець лимоннозапашний – це природний міжвидовий гібрид чебрецю блошиного та чебрецю звичайного [34]. У природі він найбільше поширений на півдні Франції.

З точки зору ботанічних особливостей, цей вид – це напівчагарник заввишки 25-35 см (рис. 1.4). Пагони рослини розгалужені, червоно-бурі, сланкі, біля основи здерев'янілі. Листки дрібні, завдовжки 7-8 мм, завширшки до 3 мм, супротивні, еліптичні, по краю вийчасті, знизу – з малопомітними точковими залозками. Квітки дрібні, світло-рожеві, зібрані у видовжені головчасті суцвіття на верхівках пагонів. Оптимальними умовами зростання є сухі схили і піщані пагорби. При культивуванні він є невибагливим до вологи та родючості ґрунтів.

Доведено, що трава *Thymus × citriodorus* у своєму складі містить різні групи БАР вторинного синтезу, що проявляють виражену протизапальну, антиоксидантну та антимікробну дію [2, 18, 34, 59, 74]. При дослідженні екстракту трави цієї рослини метою газової хроматографії з мас-спектрофотометрією (ГХ-МС) було визначено (у кількості більшій, ніж 5%) олеїнову кислоту, каріофіленоксид, транс-цитраль, β -бісаболен і тимол [68].

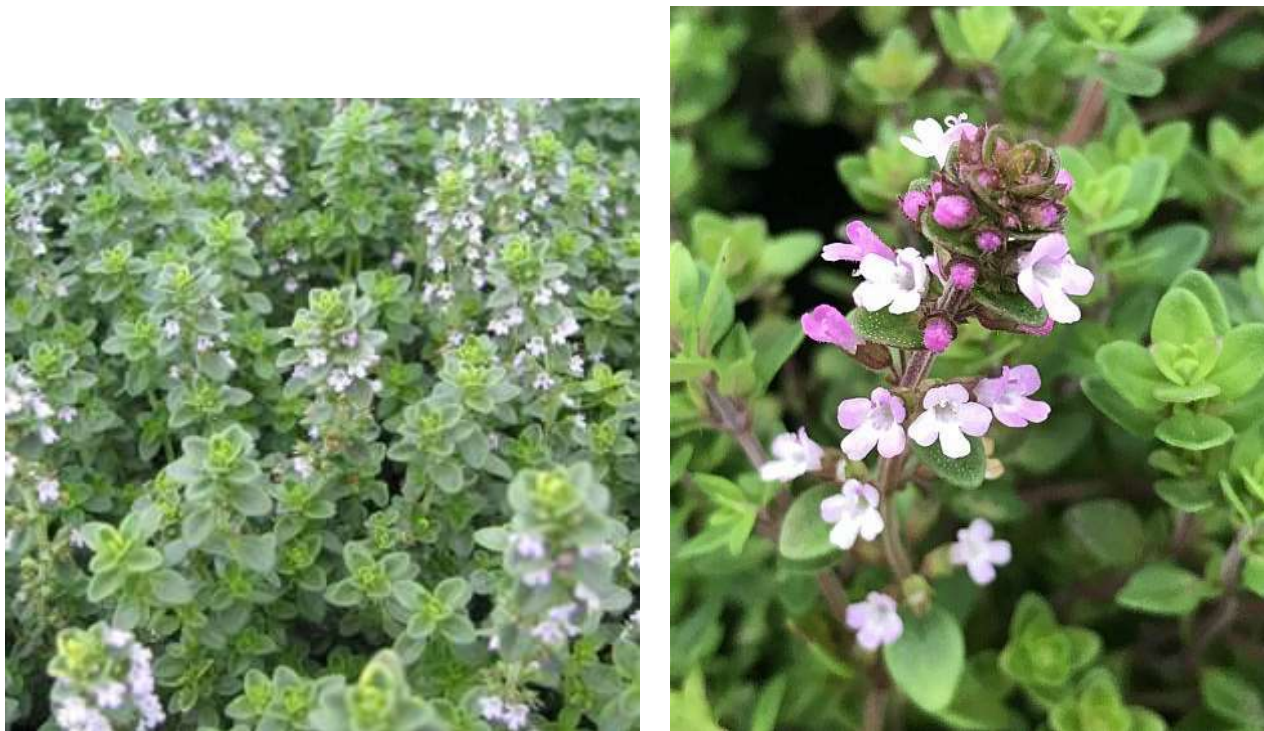


Рис. 1.4. Зовнішній вигляд рослин та квітучих пагонів *Thymus*×*citriodorus*

Запорізькі науковці Стешенко Я. та співавт. [18] встановили, що ефірна олія *Thymus*×*citriodorus* (сорт «Silver Queen») мала виражену антимікробну дію щодо *S. aureus* та антигрибкову дію на *Candida albicans*.

2.1.5 Чебрець блошиний (*Thymus pulegioides* L.)

Це напівкущ заввишки 10-35 см із чотиригранним, короткоопушеним стеблом (рис. 1.5). Діагностичною ознакою цього виду є пурпурове стебло, опушене тільки по ребрах. Листки завдовжки до 12 мм, завширшки 3-3,5 мм, овальної форми. Квітки дрібні, зібрані у дихазіальні головчасті суцвіття. Віночок двогубий, світло-рожевого кольору; приквітки пурпурові. Цвіте у червні – вересні [53, 74]. Ареалом його розповсюдження є Центральна Європа, Кавказ [2].

Варто відзначити значну хемотипову різноманітність у межах цього виду. Так, литовські науковці [53] виявили 5 природних хемотипів рослин цього виду. Ložienė K і Vaičiulytė V. [51] виявили, що гераніол і карвакрол були основними компонентами прибалтійського дикорослої популяції хемотипу *Thymus pulegioides*.



Рис. 1.5. Зовнішній вигляд рослин та квітучих пагонів *Thymus pulegioides*

Хімічний склад *Thymus pulegioides* характеризується накопиченням ефірної олії у діапазоні 0,1-1,0 % [1], у складі якої - входять тимол (біля 30 %), карвакрол (30-40 %), борнеол, цимол. Трава рослини накопичує гіркоти, олеїнову й урсолову кислоти, дубильні речовини (3,4-7,4 %), гідроксикоричні кислоти, флавоноїдні глікозиди, мінеральні солі [1].

Внаслідок проведених вітчизняними фармакогностами досліджень встановлено наявність 18 флавоноїдів та 17 гідроксикоричних кислот у траві рослини [2, 68]. Із них вперше виявлено кафтарову, *n*-кумарову й ферулову кислоти, еріоцотрин. Найбільший вміст встановлено для апігенін-7-О-β-D-глюкопіранозиду, лютеолін-7-О-β-D-глюкопіранозиду, розмаринової, хлорогенової, *n*-кумарової, ферулової кислот, лютеоліну. Розмаринова кислота була основною домінуючою сполукою трави *Thymus pulegioides* вітчизняної заготівлі (2,01%) [2].

Цей вид був визначений дослідниками як перспективне джерело антиоксидантних і нейропротекторних лікарських засобів [74].

2.1.6 Чебрець Річарда (*Thymus richardii* Pers.)

Даний вид чебрецю спорадично поширений в Італії, Іспанії, Західній Югославії, тобто здебільшого на півдні європейського континенту.

Це напівкущ із лежачо-повзучими і висхідними стеблами. Листки у нього 7-12 мм завдовжки, овально-яйцевидно-ромбічні, на коротких черешках (рис. 1.6), без війчастого опушення, яке властиве більшості видів чебреців. Квітки блідо-рожеві (майже білі), зібрані у головчастих верхівкових суцвіттях, мають до 10 мм у довжину [75].



Рис. 1.6. Зовнішній вигляд рослин та квітучих пагонів *Thymus richardii*

Щодо хімічного складу, то цей вид роду *Thymus* є найменш дослідженим у порівнянні з описаними вище. Так, італійські науковці Bader та співавт. [75] ідентифікували в ефірній олії *Thymus richardii* Pers. subsp. *nitidus* (Guss.) Jalas 36 сполук, серед яких переважали сесквітерпен β -бісаболен (32,3%), а також ароматичні монотерпеноїди карвакрол (13,1%) і метил-тимол (12,4%). Таким чином, хімічний склад ефірної олії *Thymus richardii* виявився досить відмінним від фармакопейних представників роду *Thymus* [7, 43], де домінують ароматичні монотерпенові спирти тимол і карвакрол.

Італійські науковці в експерименті *in vivo* встановили протизапальні властивості екстракту трави ендемічного різновиду *Thymus richardii* Pers. subsp. *nitidus* на моделі інгібування 5-ліпоксигенази [66].

Нами визначено, що найбільший інтерес для фармакогностичного дослідження на сьогодні викликають нові сорти трьох види чебреців - ч. блошиного, ч. Річарда та ч. звичайного, які створені завдяки зусиллям селекціонерів. Це викликає цікавість до вивчення їх хімічного складу, морфолого-анатомічних особливостей та фармакологічних властивостей з метою визначення подальших перспектив їхнього використання в медичній практиці [35, 39].

Розділ II

ОБ'ЄКТИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Об'єкти досліджень та особливості заготівлі сировини

Об'єктами досліджень обрано траву трьох видів роду Чебрець: ч. блошиного (*Thymus pulegioides*, сорт '2/6-07'), ч. звичайного (*Thymus vulgaris*, сорт 'Ялос' і ч. Річарда (*Thymus richardii*, сорт 'Фантазія') (рис. 2.1–2.3).



Рис. 2.1. Зовнішній вигляд *Thymus pulegioides* (сорт '2/6-07') на дослідних ділянках



Рис. 2.2. Зовнішній вигляд *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія') на дослідних ділянках



Рис. 2.3. Зовнішній вигляд *Thymus vulgaris* (сорт ‘Ялос’) на дослідних ділянках

Рослини для досліджень отримано із сектору мобілізації та збереження рослинних ресурсів Інституту рису НААН України у смт. Плодове Херсонської області [39]. Сировину рослин було заготовлено у літній період 2020 та 2021 років під час цвітіння. Траву зрізали ножем, після чого видаляли побурілі частини і розкладали тонким шаром на стелажах у тіні та висушували при $t=25-35\text{ }^{\circ}\text{C}$. Висушену сировину подрібнювали та просіювали крізь сита з отворами певного діаметру (рис. 2.4), відповідно до вимог методик фітохімічного аналізу.



Рис. 2.4. Просіювання крізь сито висушеної сировини *Thymus vulgaris*

2.2. Методи фармакогностичного дослідження сировини

Макроскопічний аналіз сировини рослин здійснювали неозброєним оком або використовували лупу із збільшенням 4×, 8×. Аналізували зовнішній вигляд, розміри, а також органолептичні показники (колір, смак, запах).

Мікроскопічний аналіз трави рослин здійснювали відповідно до вимог п. 2.8.23 ДФУ [6]. Використовували збільшення мікроскопа 40–400 разів [24].

Спочатку визначали вологість сировини (втрату в масі при висушуванні) згідно з методикою ДФУ [6]. Використовували 3 наважки здрібненої сировини масою по 3,00 г, яку поміщали в заздалегідь висушені і зважені із кришками бюкси. Сушильну шафу нагрівали до 100–105 °С і поміщали у неї бюкси із сировиною (кришку знімали і ставили під бюкс). Час висушування вважали з того часу, коли у сушильній шафі температура знову не сягне 100–105 °С.

Вперше бюкси зважували через 2 години. Після цього їх з наважками витягали тигельними щипцями із шафи і поміщали в ексікатор для охолодження (на дно поміщали безводний кальцію хлорид). Після охолодження бюкси закривали кришечками і важили. Висушували до тих пір, поки різниця між двома наступними зважуваннями, після 30 хвилин висушування та 30 хвилин охолодження в ексікаторі була не більше 0,01 г.

Вміст води в сировині (w) у відсотках рахували за формулою:

$$w = (m - m_1) \times 100 / m$$

де: m — маса сировини у грамах - до висушування;

m_1 — маса сировини у грамах - після висушування.

Потім рахували середнє арифметичне значення результатів із трьох повторностей.

Методом ТІХХ проводили ідентифікацію органічних кислот у водних витягах трави рослин у порівнянні із достовірними взірцями сполук – яблучної, бензойної, щавлевої, бурштинової кислот [61]. Використовували систему розчинників *n*-бутанол-мурашина кислота-вода (10:1:4).

Вивчення вмісту органічних кислот проводили титриметричним методом (алкаліметрія) у перерахунку на яблучну кислоту за методикою, наведеною у роботі [61]. Для приготування витягу відважували 25,0 г подрібненої сировини і поміщали в колбу з шліфом на 250 мл та доливали 200 мл води. Нагрівали на киплячому водяному нагрівнику 2 год. Після охолодження екстракт фільтрували і переносили в мірну колбу (250 мл), доливали об'єм витяжки водою до мітки. 10 мл витягу вміщували у колбу ємністю 500 мл, додавали 200 мл свіжопрокип'яченої води, 1 мл 1%-ого спиртового розчину фенолфталеїну та 2 мл 0,1% метиленового синього і титрували розчином NaOH (0,1 моль/л) до появи в піні лілово-фіолетового відтінку.

Вміст вільних органічних кислот (X , %), у перерахунку на яблучну кислоту, в абсолютно сухій сировині обчислювали за формулою:

$$X = V \cdot 0,0067 \cdot 250 \cdot 100 \cdot 100 / m \cdot 10 \cdot (100 - w)$$

де 0,0067 – кількість яблучної кислоти, яка відповідає 1 мл розчину NaOH (0,1 моль/л), г;

V – об'єм розчину NaOH, який витрачено на титрування, мл;

m – маса наважки сировини, г;

w – втрата в масі при висушуванні сировини, % .

Застосування ТШХ як простого й зручного методу ідентифікації домінуючих БАР у сировині чебреців та інших представників родини Глухокропівові [4, 10, 11, 39] дало можливість отримати специфічні "хроматографічні відбитки" поліфенолів для кожного виду і сорту.

Сировину рослин для ТШХ-аналізу поліфенолів мацерували в метанолі у співвідношенні 1:10, періодично струшуючи. Референтні стандарти (розмаринова кислота, кофейна кислота, апігенін і лютеолін) розчиняли в метанолі. Рухому фазу готували з використанням етилацетату, мурашиної кислоти та води у співвідношенні 15:1:1. У цьому дослідженні використовували пластинки для ТШХ F254 (20x10 см, з силікагелем, Merck). Дериватизацію проводили 1% розчином $AlCl_3$. Оскільки виявлення фенольних сполук базується на їхній

природній флуоресценції (УФ-світло при 366 нм), для їх виявлення використовували УФ-камеру.

Сировину для ТШХ-аналізу терпеноїдів [23] мацерували в толуолі (співвідношення 1:10). Як еталонні стандартні зразки використовували тимол і β -ситостерин. Рухома фаза складалася з метиленхлориду та метанолу (співвідношення 9:1). Виявлення неполярних сполук проводили за допомогою розчину анісового альдегіду після нагрівання в сушильній шафі при 100-105 °С протягом 5 хв. Потім проявлені плями одразу ж досліджували при денному світлі і фотографували отриманий результат.

Ефірну олію із трави рослин виділяли методом гідродистиляції. Для вивчення компонентного аналізу ефірної олії *Thymus richardii* використовували хроматограф ГХ-МС Agilent Technologies Hewlett Packard 6890N/5973 (США), оснащений колонкою ZB-5HT inferno (30,0 м x 0,32 мм x 0,25 мкм) [39]. Швидкість потоку гелію, як газу-носія, становила 2 мл/хв. Температура інжектора становила 250°C. Об'єм введеного досліджуваного розчину становив 1 мкл. Ідентифікацію сполук проводили шляхом порівняння їх факторів утримання та інтерпретації мас-спектрів з даних бібліотеки NIST (USA).

Сумарний вміст флавоноїдів визначали на спектрофотометрі UV-1800 Shimadzu (Японія) згідно з методикою О. В. Пупикіної і Н.В. Красюк [16], у перерахунку на апігенін (за довжини хвилі $\lambda=394\pm 2$ нм).

За даною формулою визначали у відсотках сумарний вміст флавоноїдів в сировині, в перерахунку на апігенін (X , %)

$$X = \frac{A_x \cdot m_0 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 10 \cdot m_{\text{нав}} \cdot (100 - w)},$$

у якій : m_0 – маса стандартного зразка апігеніну, г;

A_x – оптична густина досліджуваного розчину;

A_0 – оптична густина стандартного зразка апігеніну;

w – вміст вологи (%) у сировині,

$m_{\text{нав}}$ – маса наважки (г) сировини.

Вивчення антимікробної властивості ефірних олій проводили методом «лунок» в умовах *in vitro*. [25]. Діаметр «лунки» – 6 мм, товщина поживного середовища – 10 мм. Використовували для дослідження одноденні культури мікроорганізмів: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Candida albicans* ATCC 885-653.

Бактерії вирощували на м'ясо-пептонному агарі, а *Candida albicans* – на агарі Сабуро. У кожну лунку вносили по 0,5 мл розведеної у диметилсульфоксиді ефірної олії трьох видів рослин з концентрацією 10 мг/мл. В якості позитивного контролю використовували в такому ж об'ємі розведення у диметилсульфоксиді внесений антибіотик у лікарській формі розчин для ін'єкцій «Гентаміцин», а також протигрибковий препарат - розчин для інфузій «Флуконазол» (у концентраціях 0,05 мг/мл). Диметилсульфоксид (0,5 мл, без додавання лікарських засобів або ефірних олій) служив негативним контролем.

Спершу у чашку Петрі, яка була заповнена поживним середовищем, висівали тест-штам відповідного мікроорганізму [25, 37]. Після цього «колодязі» наповнювали розчинами досліджуваних ефірних олій або препаратами негативного і позитивного контролю у певному розведенні і після цього в термостаті при температурі 37⁰С культивували. Результати аналізували методом вимірювання зони затримки росту мікроорганізмів у міліметрах (рис. 2.5).



Рис. 2.5. Вивчення антимікробної активності ефірних олій в умовах *in vitro* (метод «колодязів»)

Антимікробний вплив досліджуваних ефірних олій оцінювали за такими критеріями [25]. У випадку коли зона припинення росту бактерій у діаметрі була більше 20 мм, тоді розглядали мікроорганізм як “високочутливий” до внесеного у “лунки” досліджуваного зразка, коли 11-20 мм - як “чутливий”, а коли вже діаметр становив від 6 до 10 мм, тоді мікроорганізм оцінювали як “нечутливий”.

Розділ III

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

На основі фітохімічного скринінгу в траві 3 видів роду *Thymus* – *Thymus pulegioides* (сорт «2/6-07»), *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія') і *Thymus vulgaris* (сорт 'Ялос') – було ідентифіковано леткі терпеноїди, поліфеноли і органічні кислоти. Сполуки вторинного синтезу заслуговують значної уваги з точки зору експериментальних досліджень, враховуючи їхній значний терапевтичний потенціал [19, 47].

3.1. Фітохімічний аналіз сполук терпенової природи

3.1.1. ТШХ-аналіз терпенових сполук

Проведений ТШХ-аналіз неполярних сполук у толуольному витязі трави досліджуваних видів показав наявність чіткої плями ароматичного спирту тимолу ($R_f=0,84\pm 0,02$) лише в екстракті трави *Thymus vulgaris* (рис. 3.1). Це відповідає літературним даним щодо основних компонентів ефірної олії цього виду чебрецю [44, 48].

На хроматограмах усіх трьох досліджуваних видів були помітні слабкі фіолетові зони β -ситостерину ($R_f=0,75\pm 0,02$). Наявність слабких плям β -ситостерину було виявлено науковцями також у сировині інших видів з родів *Satureja*, *Lophanthus* та *Dracosephalum* родини *Lamiaceae* [23]. Різноманітні фіолетові, сині та зелені зони флуоресценції були також представлені на хроматограмах досліджуваних видів, що відображало специфічний «хроматографічний відбиток» кожного виду. Аналогічно, Хохлова К.О. та співавт. [22] виявили характерну зону тимолу на хроматограмах метанольного витягу трави *Thymus vulgaris* вітчизняної заготівлі.

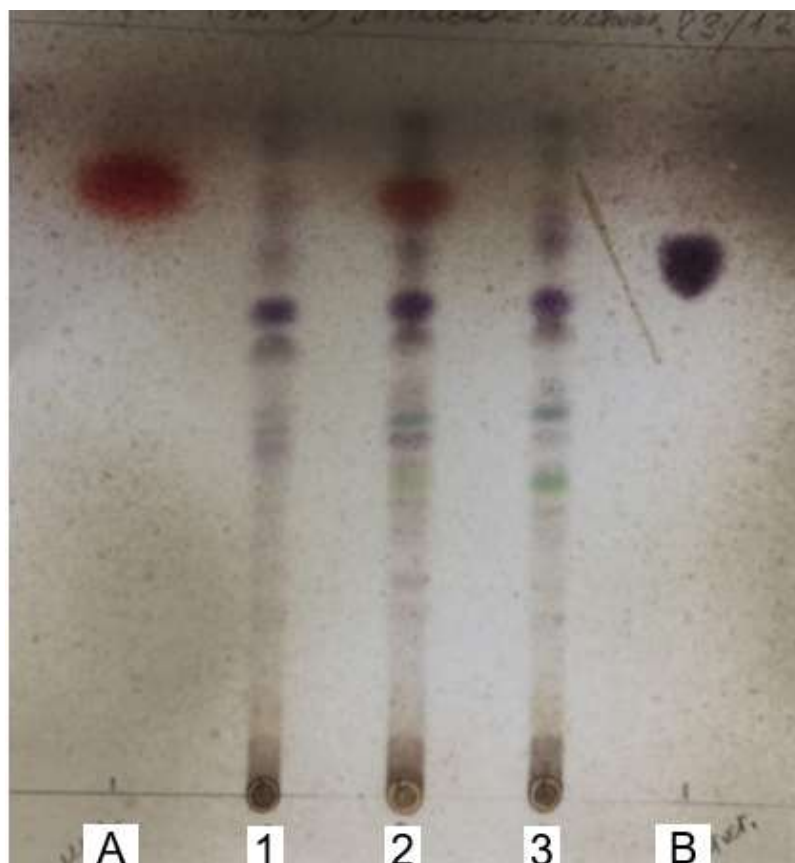


Рис. 3.1. Зображення типових ТШХ-хроматограм терпеноїдів у толуольних витягах трави представників роду *Thymus* (після дериватизації розчину анісового альдегіду, при денному світлі): 1 – *Thymus pulegioides* (сорт «2/6-07»); 2 – *Thymus vulgaris* (сорт 'Ялос'); 3 – *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія'); А – стандартний зразок тимолу; В – стандартний зразок β -ситостерину. Рухома фаза: метиленхлорид - метанол (9:1)

3.1.2. Вміст та ГХ-МС аналіз ефірної олії

Методом гідродистиляції (відповідно до вимог ДФУ [6, 7], за участі канд. біол. наук Л.В. Свиденко) було вилучено ефірні олії з трави досліджуваних рослин. Встановлено, що у повітряно-сухій сировині *Thymus pulegioides* (сорт «2/6-07») вміст ефірної олії склав $0,52 \pm 0,02\%$, у *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія') – $0,69 \pm 0,03\%$ і у *Thymus vulgaris* (сорт 'Ялос') він був найвищим – $1,31 \pm 0,05\%$ (рис. 3.2). Таким чином, сорт останнього представника є найбільш продуктивним з точки зору масової частки ефірної олії у сировині.

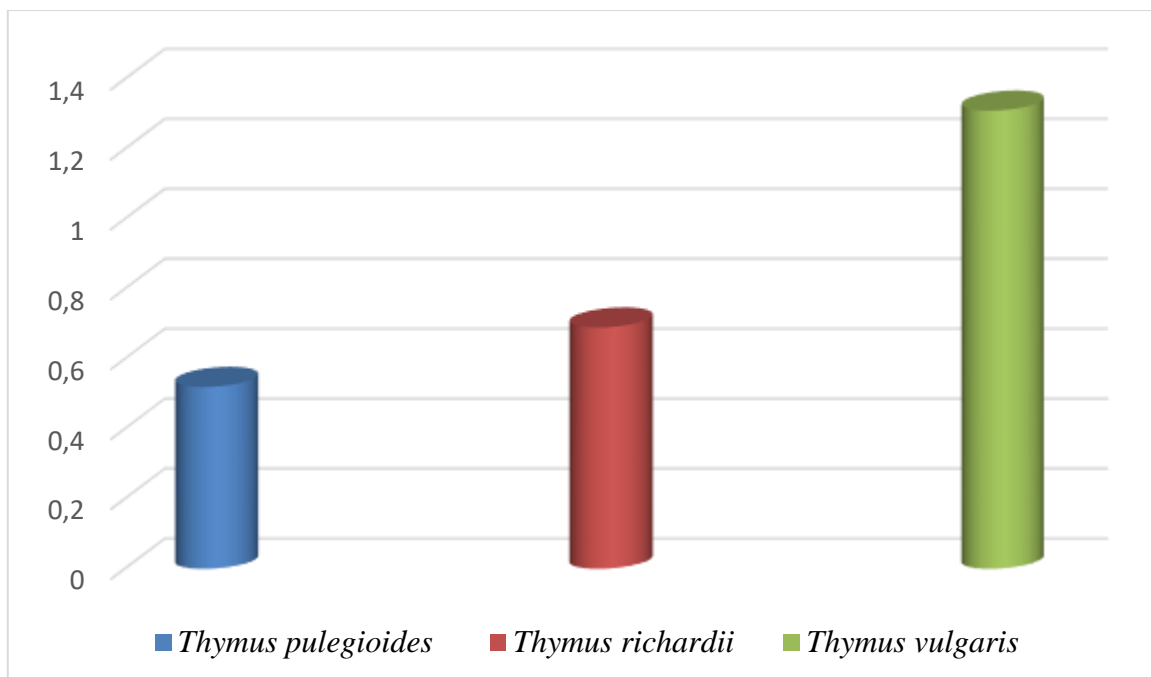


Рис. 3.2. Порівняльні дані вмісту ефірних олій (%) у сировині досліджуваних видів роду *Thymus*

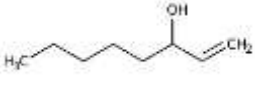
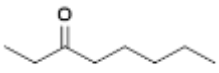
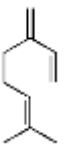

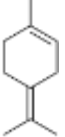
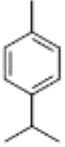
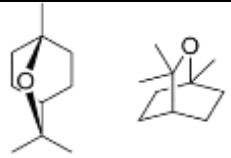
Аналіз наявних наукових літературних джерел свідчить про дуже обмежені дані про фітохімічні особливості *Thymus richardii*. Наприклад, станом на 1 січня 2022 року в авторитетній міжнародній базі даних наукових статей PubMed після введення для пошуку слів «*Thymus richardii*» було знайдено лише одну статтю [66], у базі Scopus – три [45, 66, 75]. Вважаємо, що ефірна олія *Thymus richardii* заслуговує значної уваги стосовно вивчення її компонентного складу та хемотипових особливостей.

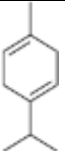
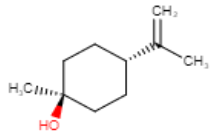
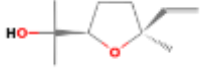
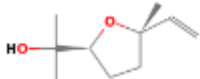
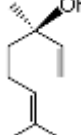
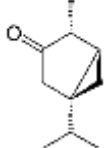

Проведений ГХ-МС аналіз ефірної олії *Thymus richardii* (сорт «Фантазія») представлено в табл. 3.1 та на рис. 3.3. В ефірній олії цього сорту *Thymus richardii* виявлено домінування ациклічних монотерпеноїдів ліналоолу (38,60 %) і ліналілацетату (18,26 %), за якими слідував ароматичний спирт тимол (8,41 %). У досліджуваній ефірній олії також виявлено значний вміст борнеолу (6,32 %), камфори (5,94 %) та терпінен-4-олу (5,33 %). Загалом, монотерпеноїди склали більш ніж 90 % загального вмісту компонентів ефірної олії.

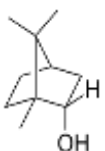
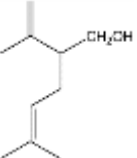
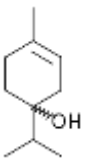
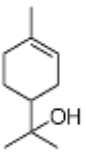
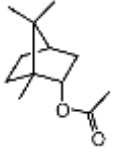
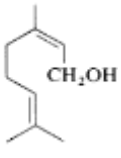
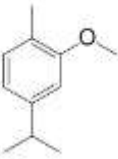
Таблиця 3.1

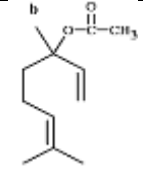
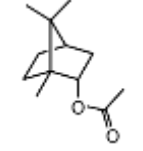
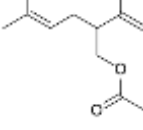
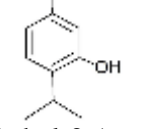
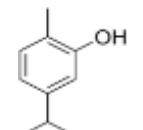
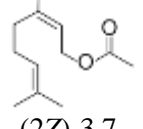
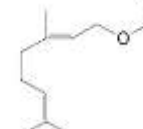
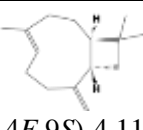
Хімічний склад і характеристика компонентів ефірної олії

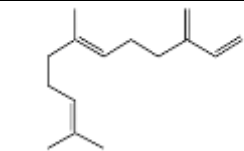
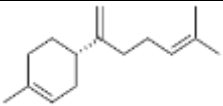
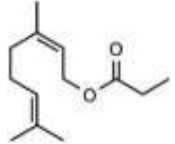
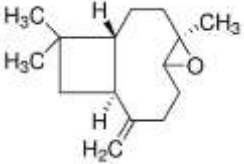
Thymus richardii (сорт 'Фантазія')

Компонент	Емпірична (молек.) формула	Структурна формула і назва (за IUPAC)	Коротка характеристика компоненту [83]	Індекс утримування	Вміст [%] ± SD %
1-октен-3-ол	C ₈ H ₁₆ O	 Oct-1-en-3-ol	Вуглеводень, відомий як "грибний спирт", оскільки часто в грибах знаходять. Цей ароматний компонент використовують у парфумерії.	982	0.28±0.03
3-октанон	C ₈ H ₁₆ O	 Octan-3-one	Цей кетон (вуглеводень аліфатичного ряду) часто знаходять в ароматних травах (лаванда, розмарин) і стиглих фруктах (нектарин). Використовується для корекції смаку і запаху.	988	0.04±0.00
β-мірцен	C ₁₀ H ₁₆	 7-Methyl-3-methylideneocta-1,6-diene	Монотерпен, який нерідко використовується у парфумерно-косметичній промисловості.	992	0.04±0.01
3-октанол	C ₈ H ₁₈ O	 octan -3 - ol	Леткий вуглеводень з ароматним запахом	995	0.05±0.00
терпінолен	C ₁₀ H ₁₆	 1-Methyl-4-(propan-2-ylidene)cyclohex-1-ene	Монотерпен із специфічним "терпентиновим" запахом.	1017	0.07±0.00
n-цимен	C ₁₀ H ₁₄	 1-Methyl-4-(propan-2-yl)benzene	Монотерпен ароматичного ряду. Має антисептичні властивості	1026	0.93±0.02
евкаліптол (1,8-цинеол)	C ₁₀ H ₁₈ O	 1,3,3-Trimethyl-2-oxabicyclo[2.2.2]octane	Кисневмісний монотерпеноїд з пряним смаком. Найбільший вміст – у евкаліптовій олії. Має протизапальні, антисептичні властивості	1032	0.93±0.03

γ -терпінен	$C_{10}H_{16}$	 4-Methyl-1-(1-methylethyl)-1,4-cyclohexadiene	Монотерпен з "терпентиновим" запахом.	1061	0.44±0.01
<i>цис</i> - β -терпінеол	$C_{10}H_{18}O$	 (1r,4r)-1-methyl-4-(prop-1-en-2-yl)cyclohexan-1-ol	Кисневмісний монотерпеновий спирт існує у вигляді трьох ізомерів - alpha-, beta-, gamma-. <i>цис</i> - β -Терпінеол виявлено в ефірній олії шавлії лікарської, розмарину, кмину	1070	0.26±0.01
<i>цис</i> -ліналоол оксид	$C_{10}H_{18}O_2$	 (3R,6R)-6-ethenyl-2,2,6-trimethyloxan-3-ol	Гетероциклічна сполука, похідне ліналоолу. Має 5-членне кільце, в якому карбон замінений киснем. Має солодкий квітковий запах, часто міститься у різних сортах квітового, чорного і зеленого чаю.	1074	1.19±0.03
<i>транс</i> -ліналоол оксид	$C_{10}H_{18}O_2$	 2-[(2S,5S)-5-ethenyl-5-methyloxolan-2-yl]propan-2-ol	Геометричний (конфігураційний) ізомер <i>цис</i> -ліналоол оксиду	1089	1.08±0.01
ліналоол	$C_{10}H_{18}O$	 3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-ol	Ациклічний монотерпеновий спирт з приємним квітковим ароматом, з ноткою прянощів. Має седативні, антимікробні та інші фармакологічні властивості [28, 30]	1100	38.60±0.37
туйон	$C_{10}H_{16}O$	 (1S,4R,5R)-4-Methyl-1-(propan-2-yl)bicyclo[3.1.0]hexan-3-one	Монотерпеновий кетон, міститься в ефірній олії полину, має психоактивну дію, тому в ДФУ є обмеження щодо його вмісту [6, 7]	1114	0.30±0.03
камфора	$C_{10}H_{16}O$	 1,7,7-Trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-one	Біциклічний монотерпеноїд, кетон Камфора використовується як рідина для бальзамування, як ліки місцевої дії, як речовина для хімічного виробництва та в релігійних церемоніях.	1148	5.94±0.03

борнеол	$C_{10}H_{18}O$	 <chem>CC1(C)C2C(C1)CC2(O)C</chem> <i>endo</i> -1,7,7-trimethylbicyclo[2.2.1]heptan-2-ol	Біциклічний монотерпеновий спирт зі специфічним запахом, досить широко поширений в природі. При окисленні борнеол перетворюються в камфору	1169	6.32±0.08
лавандуол	$C_{10}H_{18}O$	 <chem>CC(C)C=C(C)CC(O)C</chem> 5-Methyl-2-(prop-1-en-2-yl)hex-4-en-1-ol	Ациклічний монотерпеновий спирт, який притаманний ефірній олії лаванди, має слабкий квітково-трав'яний запах	1178	0.54±0.01
терпінен-4-ол	$C_{10}H_{18}O$	 <chem>CC(C)C1=CC(C)C(O)C1</chem> 4-Methyl-1-(propan-2-yl)cyclohex-3-en-1-ol	Монотерпеновий спирт. Ізомер терпінеолу, притаманний ефірній олії чайного дерева (<i>Melaleuca alternifolia</i> Cheel). Є застереження щодо застосування, адже може викликати контактний дерматит	1180	5.33±0.05
α -терпінеол	$C_{10}H_{18}O$	 <chem>CC(C)C(O)C1=CC(C)C(O)C1</chem> <i>p</i> -Menth-1-en-8-ol 2-(4-Methylcyclohex-3-en-1-yl)propan-2-ol	Монотерпеновий спирт з приємним запахом, має антисептичні властивості	1193	3.41±0.08
борніл ацетат	$C_{12}H_{20}O_2$	 <chem>CC(=O)OC12C(C)C(C1)CC2(C)C</chem> (4,7,7-Trimethyl-3-bicyclo[2.2.1]heptanyl) acetate	Біциклічний монотерпеноїд, має характерний хвойно-камфорний запах	1225	0.16±0.01
нерол (цис-гераніол)	$C_{10}H_{18}O$	 <chem>CC(C)C=CC(O)C=C(C)C</chem> (2 <i>Z</i>)-3,7-Dimethyl-octa-2,6-dien-1-ol	Ациклічний монотерпеновий спирт, притаманний ефірним оліям лемонграсу і хмелю. Має свіжий солодкуватий запах.	1233	0.25±0.08
тимолу метиловий ефір	$C_{11}H_{16}O$	 <chem>CC(C)C1=CC(OC)=CC=C1</chem> 2-methoxy-4-methyl-1-(propan-2-yl)benzene	Ароматичний монотерпеноїд з антисептичними властивостями	1246	0.46±0.08

ліналілацетат	$C_{12}H_{20}O_2$	 3,7-Dimethylocta-1,6-dien-3-yl acetate	Ациклічний монотерпеноїд, ацетат ліналоолу, властивий ефірній олії лаванди. Має бергамотово-м'ятний відтінок запаху.	1264	18.26±0.09
борнілацетат	$C_{12}H_{20}O_2$	 (4,7,7-Trimethyl-3-bicyclo[2.2.1]heptan-1-yl) acetate	Біциклічний монотерпеноїд, ацетат борнеолу, використовується як ароматкомпонент	1287	0.19±0.01
лавандуол ацетат	$C_{12}H_{20}O_2$	 2-Isopropenyl-5-methyl-4-hexen-1-yl acetate	Ациклічний монотерпеноїд, ацетат лавандуолу, має приємний ароматний запах	1291	1.34±0.02
тимол	$C_{10}H_{14}O$	 5-Methyl-2-(propan-2-yl)phenol	Ароматичний монотерпеноїд, похідне <i>n</i> -цимену. Має сильні антисептичні властивості, характерний для <i>Thymus vulgaris</i>	1299	8.41±0.10
карвакрол	$C_{10}H_{14}O$	 2-Methyl-5-(propan-2-yl)benzenol	Ароматичний монотерпеноїд, ізомер тимолу. Має значні антисептичні властивості, характерний для <i>Origanum vulgare</i> та ін. видів триби <i>Mentheae</i>	1305	1.30±0.32
неролацетат	$C_{12}H_{20}O_2$	 (2Z)-3,7-Dimethylocta-2,6-dien-1-yl acetate	Ациклічний монотерпеноїд, характерний для ефірної олії плодів цитрусових. Має приємний квітково-фруктовий аромат	1366	0.58±0.05
геранілацетат	$C_{12}H_{20}O_2$	 (2E)-3,7-Dimethylocta-2,6-dien-1-yl acetate	Ациклічний монотерпеноїд, характерний для ефірної олії квіток рослин (троянди та ін.)	1385	1.02±0.07
каріофілен	$C_{15}H_{24}$	 (1R,4E,9S)-4,11,11-Trimethyl-8-methylidenebicyclo[7.2.0]undec-4-ene	Біциклічний сесквітерпен, знайдений в ефірних оліях <i>Syzygium aromaticum</i> (cloves), <i>Cannabis sativa</i> , <i>Rosmarinus officinalis</i>	1423	0.52±0.01

β -фарнезен	C ₁₅ H ₂₄	 (6E)-7,11-dimethyl-3-methylidenedodeca-1,6,10-triene	Ациклічний сесквітерпен, має властивості феромону.	1436	0.33±0.01
β -бісаболен	C ₁₅ H ₂₄	 (S)-1-Methyl-4-(6-methylhepta-1,5-dien-2-yl)cyclohex-1-ene	Ациклічний сесквітерпен, виявлений в ефірних оліях лимону та материнки.	1511	0.07±0.02
нерил пропіонат	C ₁₃ H ₂₂ O ₂	 [(2Z)-3,7-dimethylocta-2,6-dienyl] propanoate	Ациклічний монотерпеноїд, має приємний запах	1547	0.14±0.01
каріофілен оксид	C ₁₅ H ₂₄ O	 (1R,4R,6R,10S)-4,12,12-trimethyl-9-methylidene-5-oxatricyclo[8.2.0.04,6]dodecane	Кисневмісний сесквітерпеноїд, притаманий ефірній олії <i>Melissa officinalis</i> і <i>Melaleuca stypheloides</i>	1589	0.55±0.02

Що стосується сесквітерпеноїдів (каріофілен, каріофіленоксид, β -фарнезен і β -бісаболен), то їхній вміст в ефірній олії був невисоким і сумарно склав 1,47 %. Загальний вміст аліфатичних вуглеводнів (1-октен-3-ол, 3-октатон і 3-октанол) не перевищував 0,5 %, що добре характеризує досліджувану ефірну олію як джерело цінних кисневмісних терпеноїдів.

Варто відзначити, що італійські дослідники Vader та ін. [75] виявили домінування сесквітерпену (β -бісаболену) в ефірній олії підвиду *Thymus richardii* Pers. subsp. *nitidus* (Guss.) Jalas. Ефірні олії 6 популяцій *Thymus richardii*, які були виявлені у різних локаціях в Іспанії, Італії та Боснії і Герцоговині, досліджували Llogens і співавт. [45]. Вони виявили два основні хемотипи цього виду: *p*-цименово- γ -терпіненовий і β -бісаболеновий (>40 %).

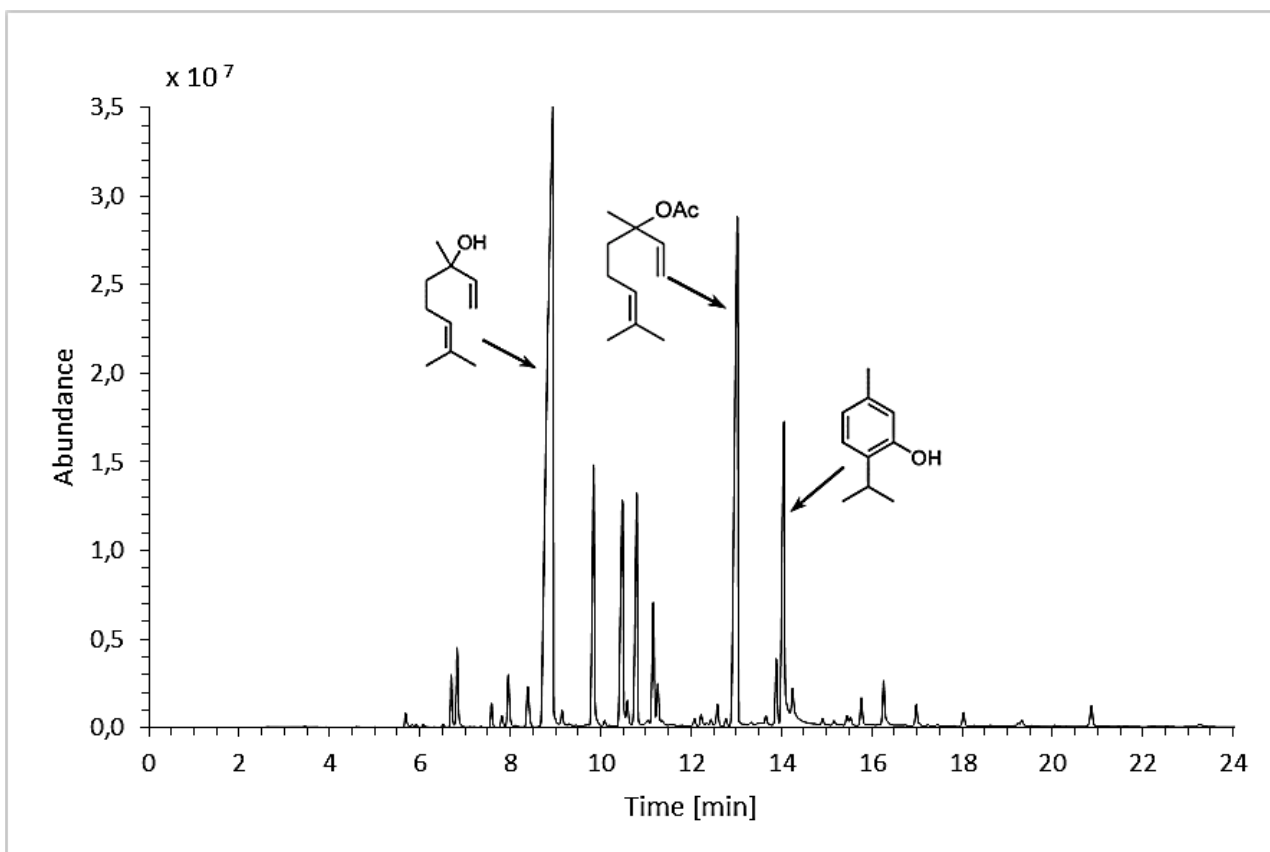


Рис. 3.3 Типова ГХ-МС хроматограма ефірної олії *Thymus richardii* (сорт «Фантазія»)

Основні компоненти ефірної олії досліджуваного нами сорту «Фантазія» *Thymus richardii* значно відрізняються від тих, що містяться в ефірних оліях інших видів роду *Thymus* [7, 37, 40, 43]. Зокрема, основними сполуками фармакопейних видів чебреців [6, 7] є тимол і карвакрол. Тимол, *n*-цимол і карвакрол були домінуючими компонентами трави *Thymus tauricus*, який є видом флори півдня України [21].

Польські науковці Wesołowska і Jadczyk [82] встановили, що тимол був основним компонентом ефірної олії двох культиварів *Thymus vulgaris* – ‘English Winter’ і ‘Summer Thyme de Provence’; його вміст був у межах 38,06–44,97 % і 36,82–37,32 %, відповідно, і дещо коливався залежно від року заготівлі сировини. Mohammadi та співавт. [55] здійснили фітохімічний скринінг деяких іранських екотипів видів роду Чебрець та виявили його елітні генотипи з точки зору терапевтичних властивостей домінуючих компонентів. Які відомо, цілий ряд

факторів може істотно впливати на накопичення вторинних метаболітів у рослинах [81].

Слід відмітити, що переважаючою сполукою ефірної олії *Thymus pulegioides* (сорт «2/6-07») вітчизняної селекції були α -цитраль (27,10 %) та β -цитраль (17,11 %) [37]. Литовські науковці Mockute і Bernotiene [53] визначили наявність п'яти різних хемотипів у різноманітних популяціях дикорослого виду *Thymus pulegioides*. Інші литовські науковці [80] встановили значний вплив кліматичних факторів, а також стадії вегетації рослин на накопичення карвакролу та його прекурсорів у траві *Thymus pulegioides*.

Такі мінорні ефірної олії трави досліджуваного *Thymus richardii* (сорт «Фантазія») як ліналілацетат (18,26 %), лавандуолу ацетат (1,34 %), лавандуол (0,54 %) та борнеолу ацетат (0,16 %) можна розцінювати як її специфічні хемотаксономічні маркери, оскільки вони не трапляються в ефірних оліях інших досліджуваних представників роду *Thymus* вітчизняної селекції [37].

Біологічна активність летких сполук, які виявлено в ефірній олії *Thymus richardii* (сорт «Фантазія»), є досить вагомою. Наприклад, монотерпеновий спирт ліналоол, який властивий багатьом видам родини *Lamiaceae*. Він зумовлює седативну дію ефірної олії лаванди [28], а також антимикробну та антифунгальну активність ефірних олій інших представників родини [37]. Rai та ін. [28] виявили протипсоріатичний ефект ефірної олії лаванди та її переважаючих компонентів ліналолу й ліналілацетату. Ефірна олія *Salvia sclarea*, яка містила 38,67 % ліналілацетату і 20,42 % ліналолу, була ефективною щодо впливу на патогенний *Staphylococcus epidermidis* [30]. За даними різних дослідників, монотерпеноїд ліналоол також має анксиолітичну, антидепресивну, протипухлинну, гепатопротекторну, нефропротекторну активність [62].

Fung та співавт. [71] встановили терапевтичний ефект та механізм впливу інгаляцій ефірних олій на людський організм у випадку невротичних розладів, виявивши істотний зв'язок між нервовою та респіраторною системою. Так лавандова олія, в якій мажорним компонентом був ліналоол, мала істотний вплив на ГАБК-рецептори, викликаючи анксиолітичну та антидепресантну дію [71].

М'які капсули "Лазея" на основі ефірної олії лаванди є ефективним седативним засобом [8].

Виражені антисептичні властивості притаманні ароматичному спирту тимолу [21, 73], який є третім домінуючим компонентом ефірної олії *Thymus richardii* (сорт «Фантазія»).

Порівняльні дані щодо основних летких компонентів, вміст яких складає більше 1 % в ефірній олії як мінімум одного з вказаних сортів досліджуваних видів чебреців, культивованих на дослідних в Херсонській області, наведено у таблиці 3.2.

Як видно з таблиці 3.2, досліджувані види значно відрізнялись за компонентним складом ефірних олій. Так, тимол був домінуючим компонентом (47,33 %) лише в ефірній олії *Thymus vulgaris* (сорт 'Ялос'); карвакрол становив 4,67 % її вмісту. Таким чином, досліджувана ефірна олія *Thymus vulgaris* повністю відповідає вимогам монографії "Чебрець" ДФУ [7], у якій зазначено, що сумарний вміст тимолу і карвакролу в ефірній олії *Thymus vulgaris* повинен становити не менше, ніж 40 %.

Варто відзначити, що при вивченні 12 клонів сорту 'Standard Winter' *Thymus vulgaris* польські науковці Kosakowska та співавт. [54] аналогічно визначили, що тимол був домінуючим компонентом в усіх взірцях; його вміст варіював у діапазоні 36,74-54,59 %.

Відповідно до даних таблиці 3.2, у складі ефірної олії *Thymus pulegioides* (сорт '2/6-07') вітчизняної заготівлі переважали ациклічні кисневмісні терпеноїди α -цитраль (27,10 %) і β -цитраль (17,11 %). Таким чином, можна зробити висновок про те, що ациклічний монотерпеновий спирт ліналоол (38,60 %) домінував лише в складі ефірної олії дослідженого газохроматографічним методом *Thymus richardii*.

Таблиця 3.2

Порівняльні дані щодо компонентного складу ефірних олій окремих представників роду *Thymus*, вирощених в Херсонській області

Компонент	Індекс утримування	Вміст, % \pm SD%		
		<i>Thymus vulgaris</i> (сорт 'Ялос') (за[37])	<i>Thymus pulegioides</i> (сорт '2/6-07') (за[37])	<i>Thymus richardii</i> (сорт 'Фантазія')
β -мірцен	992	1.37 \pm 0.04	0.07 \pm 0.01	–
терпінолен	1017	1.02 \pm 0.02	–	–
<i>o</i> -цимен	1025–1029	14.34\pm0.21	0.40 \pm 0.02	–
евкаліптол	1032–1033	2.65 \pm 0.03	0.31 \pm 0.02	–
γ -терпінен	1060–1063	11.57\pm0.09	0.20 \pm 0.00	–
<i>цис</i> - β -терпінеол	1070	1.07 \pm 0.17	0.07 \pm 0.00	–
<i>цис</i> -ліналоол оксид	1074	–	0.52 \pm 0.04	1.19 \pm 0.03
<i>транс</i> -ліналоол оксид	1090	–	0.51 \pm 0.03	1.08 \pm 0.01
ліналоол	1100	2.85 \pm 0.05	4.84 \pm 0.21	38.60\pm0.37
камфора	1153	1.19 \pm 0.06	0.22 \pm 0.01	5.94\pm0.03
борнеол	1169	2.06 \pm 0.70	0.22 \pm 0.01	6.32\pm0.08
терпінен-4-ол	1180	1.04 \pm 0.05	0.92 \pm 0.05	5.33\pm0.05
α -терпінеол	1193	0.34 \pm 0.02	0.56 \pm 0.02	3.41\pm0.08
нерол (<i>цис</i> -гераніол)	1233	–	2.93 \pm 0.18	–
тимолу метиловий ефір	1246	1.32 \pm 0.06	1.16 \pm 0.21	–
β -цитраль	1247	–	17.11\pm0.22	–
ліналілацетат	1264	–	–	18.26\pm0.09
α -цитраль	1274	–	27.10\pm0.17	
лавандуол ацетат	1291			1.34 \pm 0.02
тимол	1299–1305	47.33\pm0.02	2.48 \pm 0.15	8.41\pm0.10
карвакрол	1309–1310	4.67\pm0.23	–	1.30 \pm 0.32
гераніл формат	1321	–	1.07 \pm 0.15	–
нерол ацетат	1366	–	1.23 \pm 0.24	–
гераніл ацетат	1385	–	6.24\pm0.57	1.02 \pm 0.07
каріофілен	1419–1424	2.23 \pm 0.06	0.18 \pm 0.00	–
β -бісаболен	1511	–	1.31 \pm 0.08	–
каріофіленоксид	1589	–	6.19\pm0.22	–

3.2. Фітохімічний аналіз сполук фенольної природи

3.2.1. ТШХ-аналіз поліфенолів

«Хроматографічні відбитки» фенольних сполук у метанольних витягах трави трьох представників роду *Thymus* представлені на рис. 3.4.

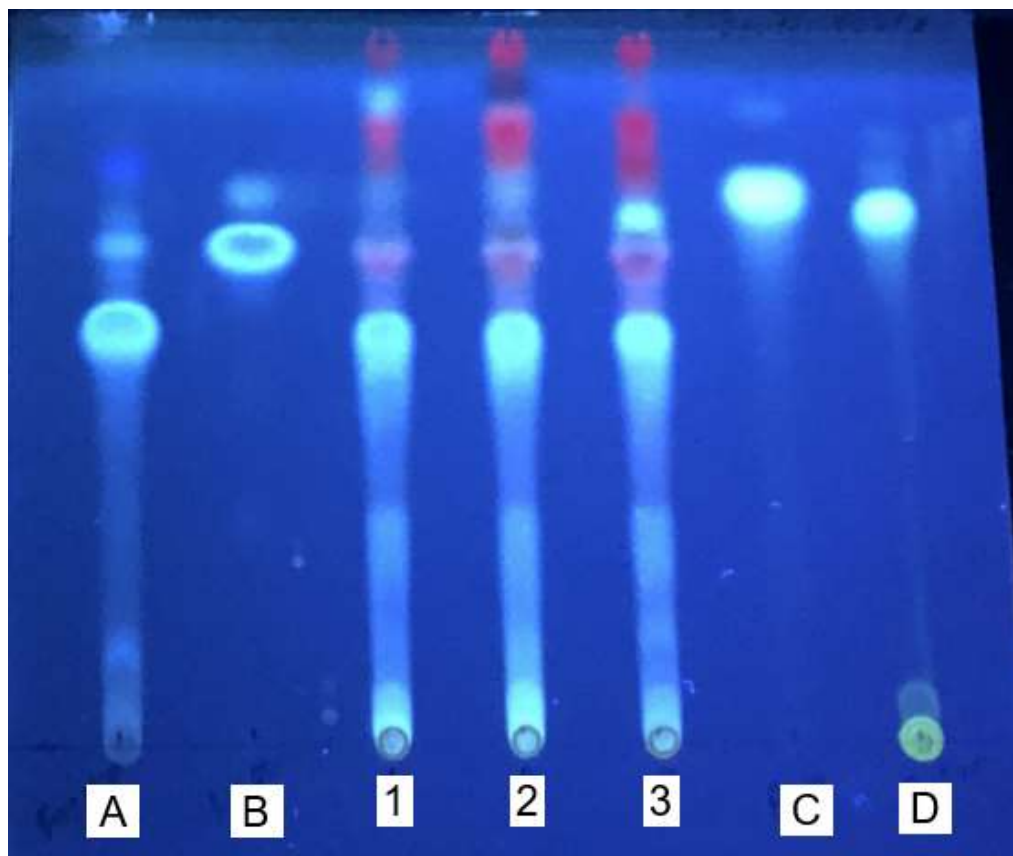


Рис. 3.4. Зображення типових ТШХ-хроматограм поліфенолів у траві трьох представників *Thymus* (УФ-світло, при 366 нм): 1 – *Thymus pulegioides* (сорт '2/6-07'); 2 – *Thymus vulgaris* (сорт 'Ялос'); 3 – *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія'). стандартні зразки: А – розмаринової кислоти; В – кофейної кислоти; С – апігеніну; D – лютеоліну. Рухома фаза: етилацетат, мурашина кислота і вода (15:1:1); дериватизація: 1% розчином $AlCl_3$.

Як видно з рис. 3.4, розмаринову та кофейну гідроксикоричні кислоти було ідентифіковано в метанольних екстрактах трави усіх трьох видів роду *Thymus*. Найбільш інтенсивні світло-блакитні флуоресцентні зони із значенням $R_f=0,72\pm 0,02$ відповідали еталонному стандарту розмаринової кислоти. Слабкі

світло-блакитні зони кофейної кислоти було виявлено трохи вище плями розмаринової кислоти ($R_f=0,80\pm 0,02$) в сировині усіх досліджуваних видів. Уздовж хроматограм кожного виду також було представлено декілька слабких додаткових зон різних відтінків блакитної флуоресценції, що, як правило, відповідає, гідроксикоричним кислотам.

Флавоноїд лютеолін ($R_f=0,83\pm 0,02$) був чітко ідентифікований лише в траві *Thymus richardii* (сорт «Фантазія»). Слабка жовта зона флавоноїду апігеніну ($R_f=0,86\pm 0,02$) виявлена лише в надземній частині *Thymus vulgaris* (сорт «Ялос»). Під фронтом розчинника на усіх досліджуваних треках спостерігалось кілька червоних флуоресцентних плям (хлорофіл).

Загалом, ідентифіковану як основну фенольну сполуку розмаринову кислоту з доведеними антиоксидантними, протизапальними, антимікробними, противірусними, церебропротекторними, гепатопротекторними та іншими цінними терапевтичними властивостями (рис. 3.5) [64, 79] можна вважати основним біологічно активним поліфенолом трави усіх трьох досліджуваних видів. Лютеолін і його глікозиди виявляють значну протизапальну активність [56]. Апігенін має антиоксидантні, протизапальні, анальгетичні, протиракові властивості [70].

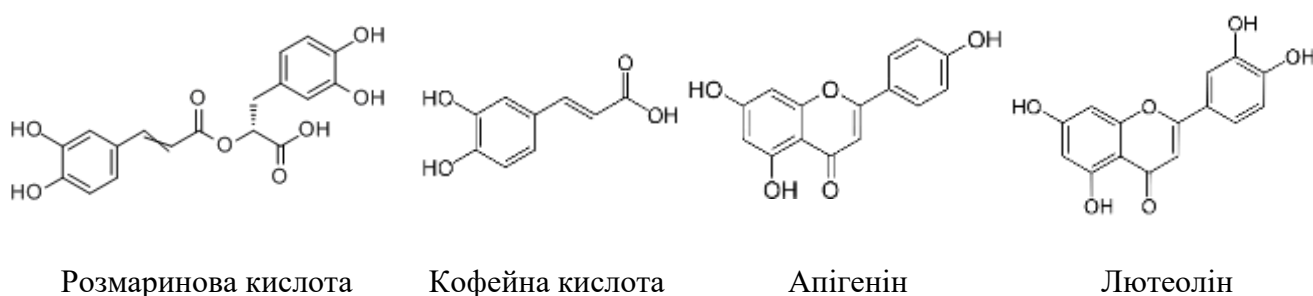


Рис. 3.5. Структурні формули ідентифікованих методом ТШХ у сировині досліджуваних рослин поліфенолів

Варто відзначити, що розмаринова кислота була переважаючою фенольною сполукою в надземних частинах *Thymus serpyllum* L. та інших видів *Thymus* [49], а також представників роду *Melissa* із родини *Lamiaceae* [4]. У водних та водно-

етанольних екстрактах *Thymus pulegioides*, які мали антиоксидантну, нейропротекторну, антивікову та антидіабетичну дію, переважала розмаринова кислота [74]. Аналогічно, проведений іранськими науковцями Sarfaraz та співавт. [65] ВЕРХ-аналіз сировини 11 видів роду *Thymus* показав, що розмаринова кислота (32,3–150,7 мг/100 г трави) домінувала серед виявлених гідроксикоричних кислот, тоді як апігенін, епікатехін і нарінгенін були основними флавоноїдами.

Румунські та молдовські науковці [58] провели спільне дослідження стосовно фітохімічного профілю фенольних сполук та антимікробної активності *Thymus marschallianus*, заготовленого у двох локаціях: в природних місцезростання і в умовах культури. Було встановлено, що в культивованих рослин, порівняно з дикоросами, накопичується більший вміст домінуючих компонентів – лютеолін-7-глюкороніду, метил-розмаринату і розмаринової кислоти, проте сумарний вміст флавоноїдів був вищим у траві рослин з природного місцезростання. Антимікробний потенціал в обох екстрактів *Thymus marschallianus* був добре вираженим, особливо стосовно грам-позитивних патогенних мікроорганізмів [58].

Chizzola та співавт. [38] проаналізували компонентний склад і вміст фенольних сполук в екстракті *Thymus vulgaris* (сорт 'Deutscher Winter'), сировину якого заготовляли в умовах культури у східній Австрії. Високий антиоксидантний потенціал було встановлено для 60% водно-етанольного екстракту листків цього сорту, в складі якого переважала розмаринова кислота. Ефірна олія різних хемотипів цього сорту *Thymus vulgaris* із переважаючим вмістом фенольних складових (тимолу або карвакролу) теж виявила значну антиоксидантну активність [38].

3.2.2. Спектрофотометричний аналіз вмісту флавоноїдів

Методом спектрофотометрії нами було визначено вміст суми флавоноїдів у 50% етанольних витягах трави трьох досліджуваних видів (у перерахунку на апігенін) (рис. 3.6, 3.7).

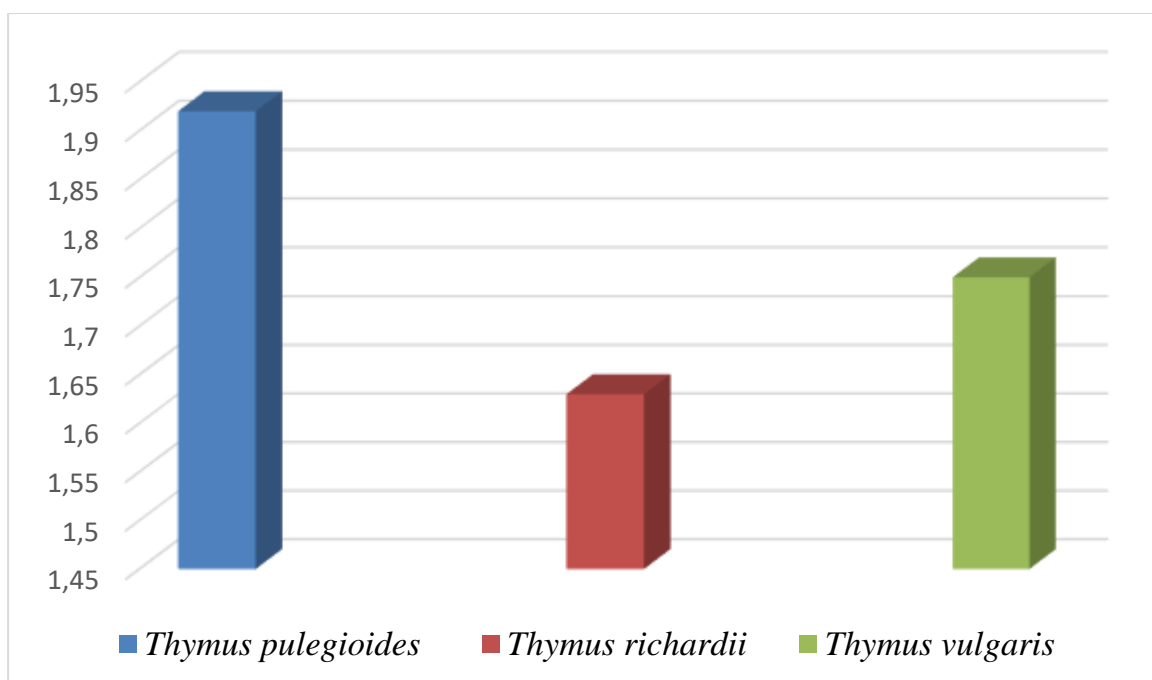


Рис. 3.6. Порівняльні дані сумарного вмісту флавоноїдів (%) у траві досліджуваних видів роду *Thymus*

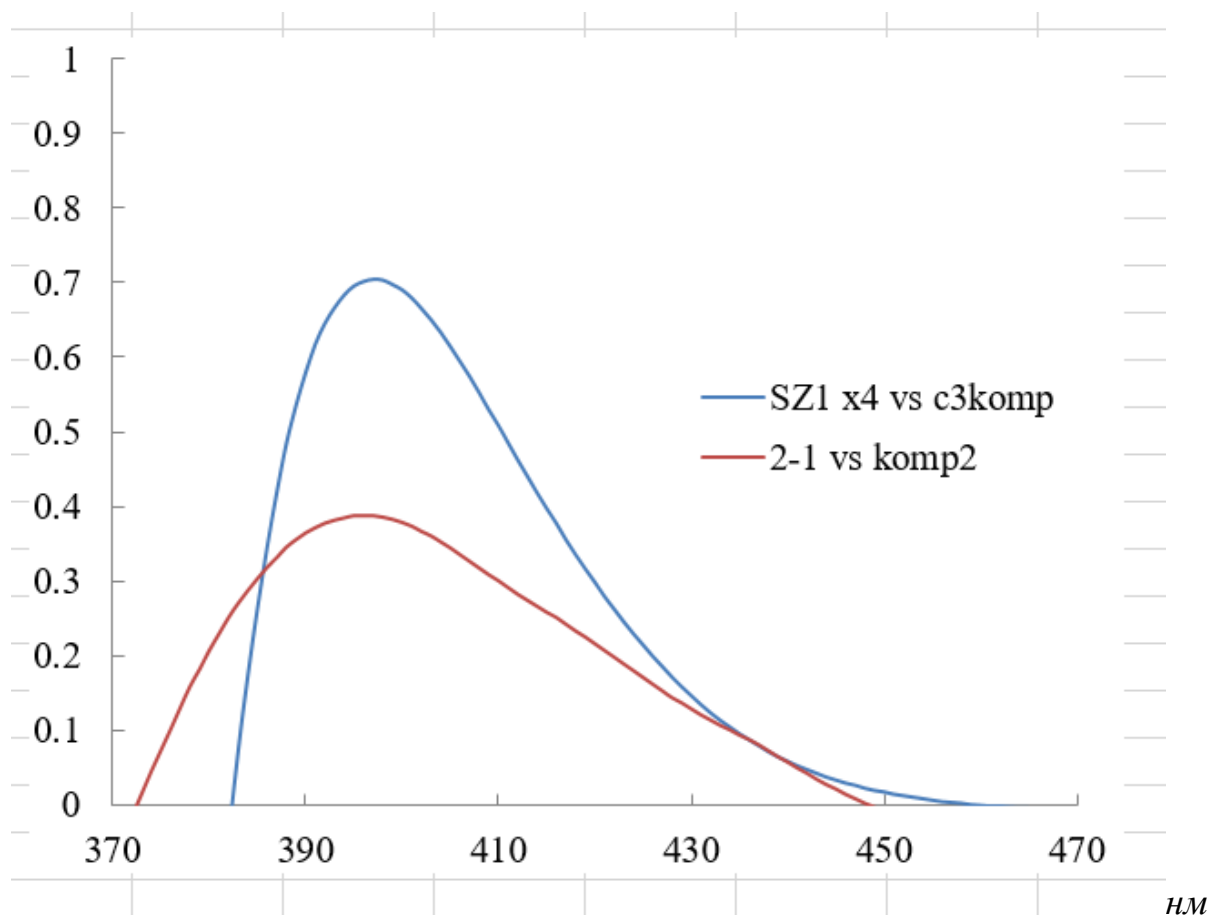


Рис. 3.7. Електронний спектр світлопоглинання розчину стандартного зразка апігеніну (SZ1) та витягу сировини *Thymus pulegioides* (2-1) після додавання алюмінію хлориду реактиву

Дослідження були проведені відповідно до методики, наведеної у [16]. Таке визначення здійснено у зв'язку із співпаданням максимумів поглинання світла досліджуваних витягів трави рослин та стандартного зразка цього флавонового аглікону. Так, на основі аналізу електронних спектрів світлопоглинання досліджуваних 50 % етанольного витягів трави чебреців після додавання до нього розчину алюмінію хлориду виявлено наявність максимумів при $\lambda=394\pm 2$ нм. Це співпадало із показником стандартного зразка апігеніну, тому визначення проводили в перерахунку на апігенін.

Як видно з рис. 3.6, сумарний вміст флавоноїдів знижувався у напрямі: *Thymus pulegiodes* (сорт '2/6-07') – $1,92\pm 0,06\%$ > *Thymus vulgaris* (сорт 'Ялос') – $1,75\pm 0,05\%$ > *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія') – $1,63\pm 0,05\%$. Як видно з отриманих результатів, досліджувані види значно менше відрізнялись за сумарним вмістом флавоноїдів у порівнянні з вмістом ефірних олій (див. рис. 3.2).

3.3 Ідентифікація та визначення вмісту органічних кислот

На основі використання методу ТШХ у водних витягах трави досліджуваних видів були ідентифіковані яблучна, лимонна, бурштинова і щавлева кислоти (табл. 3.3); бензойна кислота не була виявлена, що можна вважати свідченням її незначного вмісту.

Відомо, що органічні кислоти широко розповсюджені в рослинних організмах, мають різноманітну структуру і фармакологічні властивості. Значна кількість органічних кислот (бурштинова, лимонна тощо) є біоактивними речовинами, деякі з них використовуються у харчовій промисловості [61].

Сумарний вміст вільних органічних кислот у водних витягах трави рослин, який визначали титриметрично, був наступним: *Thymus vulgaris* (сорт 'Ялос') – $0,89\pm 0,02\%$, *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія') – $0,82\pm 0,02\%$, *Thymus pulegioides* (сорт '2/6-07') – $0,76\pm 0,01\%$.

Таблиця 3.3

Результати виявлення органічних кислот у сировині чебреців методом тонкошарової хроматографії*

Назва кислоти	Значення Rf	Наявність (+) чи відсутність (-) сполуки		
		<i>Thymus vulgaris</i> (сорт 'Ялос')	<i>Thymus pulegioides</i> (сорт '2/6-07')	<i>Thymus richardii</i> (сорт 'Фантазія')
Лимонна	0,49	+	+	+
Яблучна	0,58	+	+	+
Бензойна	0,60	-	-	-
Щавлева	0,66	+	+	+
Бурштинова	0,81	+	+	+
Примітка: *система розчинників: <i>n</i> -бутанол-мурашина кислота-вода (10:1:4); проявник: дихлорфеноліндофенолу стандартний розчин				

Отримані результати можна буде використовувати при плануванні подальших фармакологічних досліджень з врахуванням того, що органічні кислоти мають детоксикуючі, антиоксидантні, імуномодулюючі властивості.

3.4 Порівняльний морфолого-анатомічний аналіз трави перспективних видів роду *Thymus*

При розробці параметрів стандартизації на нову рослинну сировину, яка є перспективною з точки зору фітохімічних досліджень [60], важливими є встановлення основних характеристик її морфолого-анатомічної будови [67]. Нижче наведено опис сировини *Thymus pulegioides* (сорт «2/6-07») та *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія'), який виконано на основі проведеного макро- та мікроскопічного аналізу.

Так як *Thymus vulgaris* є фармакопейним видом [7], а сировина

досліджуваного сорту "Ялос" фенотипово не відрізняється від типового виду, який описано в ДФУ, її мікроскопічної характеристики не наводимо.

Визначено, що ціла сировина чебрецю блошиного (*Thymus pulegioides*) – це висушені квітучі розгалужені пагони до 15 см завдовжки (рис. 3.8). Стебла червонувато-бурі, чотиригранні, опушені по ребрах, до 2 мм в діаметрі. Листкорозміщення навхрест-супротивне. Листки із дрібними шкірястими пластинками овальної форми до 3 мм завдовжки, черешок короткий. Край листка цілісний, дещо загорнутий вниз; з поверхні листки шорсткі через опушення короткими волосками; на нижньому боці виступають буруваті жилки.



а



б

Рис. 3.8. Висушена сировина *Thymus pulegioides* (сорт «2/6-07»):

а – зовнішній вигляд трави; б – листки.

Квітки з бузково-рожевим двогубим віночком, у головчастих суцвіттях. Верхня губа віночка коротка, з невеликою виїмкою, нижня з трьома овальними лопатями. Чашечка квітки внизу трубчаста, у верхній частині злегка двогуба, червонувато-бурого забарвлення, із загостреними лопатями. Запах сировини приємний ароматний, з лимонною ноткою, смак пряно-пекучий.

Оскільки ефірні олії чебреців відіграють важливу роль в фармацевтичній

промисловості, актуальним є вивчення діагностичних ознак саме залозистих видільних структур, які їх продукують. В епідермі різних надземних органів *Thymus pulegioides* виявлено покривні трихоми специфічної форми та зовнішні видільні ефіроолійні структури – головчасті волоски та пельтатні залозки (рис. 3.9).

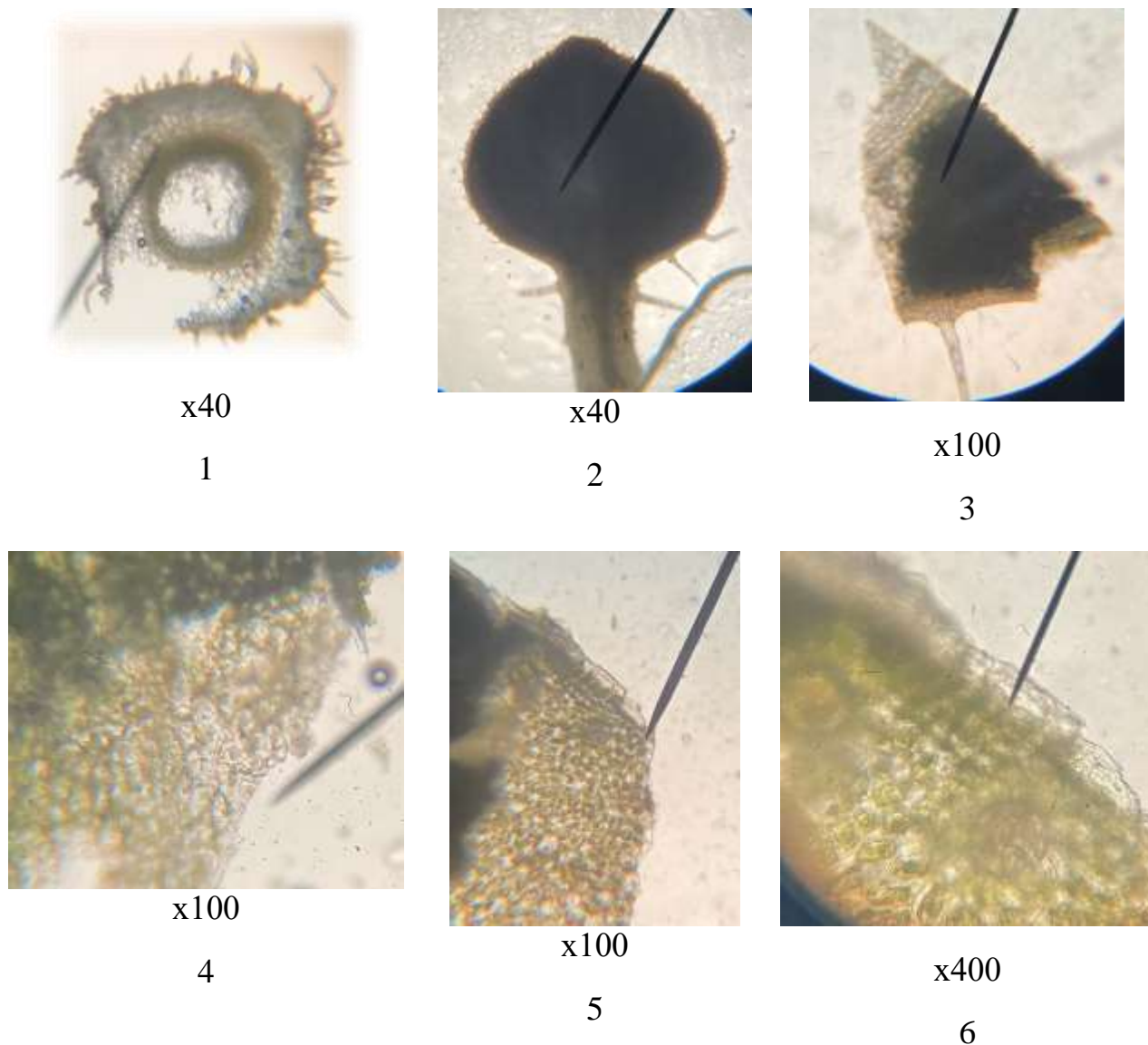


Рис. 3.9. Мікроскопічні особливості сировини *Thymus pulegioides* (сорт «2/6-07»): 1 – поперечний переріз стебла у середній частині; 2 – вигляд листкової пластинки (з поверхні); 3 – фрагмент верхньої епідерми з центральною жилкою; 4 – верхня епідерма (краї листкової пластинки); 5 – фрагмент нижньої епідерми краю листкової пластинки; 6 – фрагмент нижньої епідерми (5) під великим збільшенням

Ефіроолійних залозок в епідермі листкової пластинки *Thymus pulegioides* порівняно мало і локалізовані вони, як і продихи, лише у нижній епідермі (рис. 3.9, 5, 6). Листок має ксероморфну структуру, тому важко піддається мікроскопічному препаруванню і виготовленню поверхневих препаратів. Листки в основі розсіяно вкриті 4-5 клітинними простими відстовбурченими волосками; мають сосочкувату поверхню по краю. Продихи діацитного типу, зосереджені переважно у нижній епідермі листка.

Мікроскопічний аналіз показав, що стебла заокруглено-чотиригранні, з виїмками у міжреберній ділянці, порожнисті всередині, мають непучкову будову. Стебло густо вкрите 2-5 клітинними простими волосками, а також головчастими волосками. Листки густо опушені короткими простими волосками конічної форми, із бородавчастою поверхнею. Клітини верхньої епідерми кутасті; нижньої – із звивистими стінками.

Визначено, що сировина іншого виду – чебрецю Річарда (*Thymus richardii*) – це висушені квітучі пагони до 20 см завдовжки (рис. 3.10). Стебла світло-зелені, заокруглено-чотиригранні, опушені по всій поверхні, до 1,5 мм у діаметрі. Листки до 15 мм завдовжки, із дрібними тонкими листковими пластинками яйцевидно-ланцетної форми з клиновидною основою і загостреною верхівкою; край цілісний, не загорнутий вниз; з поверхні рідко опушені; навхрест-супротивне листкорозміщення.

Квітки *Thymus richardii* з блідо-рожевим двогубим віночком, зібрані в видовжені головчасті суцвіття, до 8 мм у довжину. Чашечка квітки дещо двогуба, з чітко відокремленими 5 загостреними лопатями, опушена, зелена. Верхня губа віночка коротка і широка, з невеликою виїмкою, нижня із трьома видовженими овальними лопатями. Запах сировини приємний квітково-ароматний, смак пряно-пекучий.



а

б

Рис. 3.10. Висушена сировина *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія')

а – зовнішній вигляд трави; б – листки.

Мікроскопічний аналіз показав (рис. 3.11), що стебла *Thymus richardii* чотиригранні, непучкової будови, порожнисті (рис. 3.11, 1, 2), із випуклими ребрами і додатковими вигинами назовні у середній частині. Стебла густо опушені простими волосками різної довжини у середній частині і значно менше їх внизу. Нижня частина стебел здерев'яніла, заокруглено-чотиригранна. Листки густо опушені переважно короткими простими волосками. Ефіроолійні залозки локалізовані переважно у нижній епідермі (рис. 3.11, 3-6).

Визначено, що сировина іншого виду – чебрецю звичайного (*Thymus vulgaris*, (сорт 'Ялос') – це висушені квітучі пагони до 30 см завдовжки (рис. 3.12). Оскільки *Thymus vulgaris* є фармакопейним видом, а сировина сорту "Ялос" фенотипово не відрізнялась від типового виду, який описано в ДФУ, її мікроскопічної характеристики не представлено.

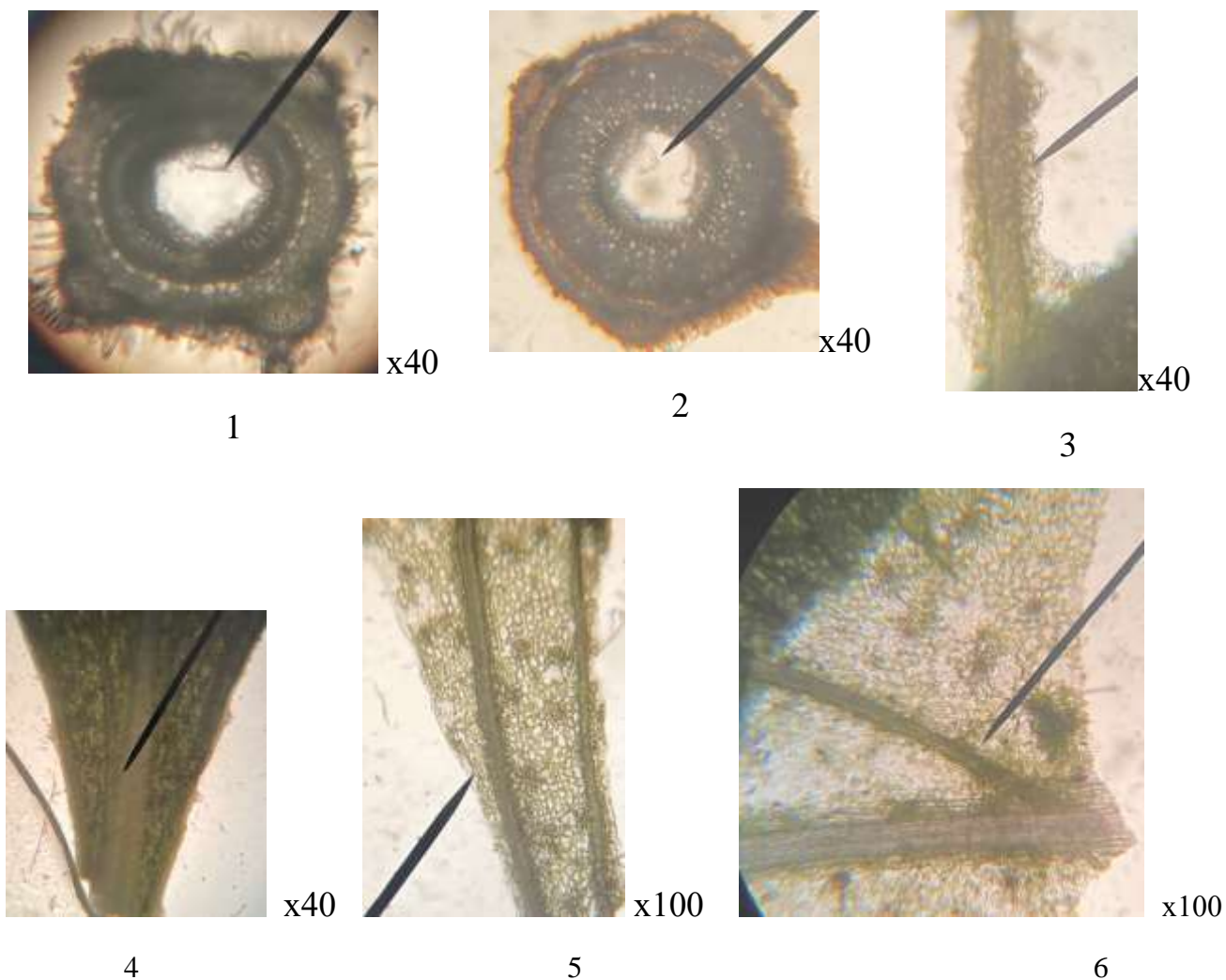


Рис. 3.11. Мікроскопічні особливості сировини *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія'): 1 – поперечний переріз стебла у середній частині; 2 – поперечний переріз стебла у нижній ділянці (здереv'янілій); 3 – фрагмент верхньої епідерми біля центральної жилки листка; 4 – основа листкової пластинки; 5 – фрагмент нижньої епідерми основи листкової пластинки; 6 – фрагмент нижньої епідерми середини листкової пластинки.



Рис. 3.12. Висушена сировина *Thymus vulgaris* (сорт 'Ялос')

а – зовнішній вигляд трави; б – листки.

3.5 Вивчення антимікробної активності ефірних олій рослин в умовах *in vitro*

На сучасному етапі розвитку людства мікробні інфекції, які є стійкими до антибіотиків, становлять глобальну проблему для здоров'я населення. Виникнення антибіотикорезистентності призвело до того, що вже існуючі антибактеріальні препарати є малоефективними чи взагалі неефективними [3, 31]. Тому на сьогодні проводиться пошук різних стратегій подолання стійкості до антибіотиків. Зокрема, вивчаються можливості застосування ефірних олій із рослин для боротьби з бактеріальними та грибковими інфекціями [31]. Хоча, на сьогодні взаємозв'язок між структурою і ефективністю природних сполук та механізмами їхньої дії здебільшого залишається не до кінця вивченим.

Результати проведеного дослідження антимікробного впливу розведень ефірних олій досліджуваних видів і сортів роду *Thymus* щодо поширених штамів

хвороботворних мікроорганізмів, проведеного методом «колодязів», порівняно з референс-препаратами "Гентаміцин" та "Флуконазол", представлені у таблиці 3.4.

Таблиця 3.4

Антимікробні властивості ефірних олій досліджуваних видів роду *Thymus* щодо патогенних музейних мікроорганізмів АТСС

Досліджуваний об'єкт	Зона пригнічення (мм)		
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
<i>Thymus vulgaris</i> (сорт 'Ялос')	30,5±0,8	26,6±0,4	22,0±0,5
<i>Thymus pulegiodes</i> (сорт '2/6-07')	23,9±0,3	16,2±0,2	18,9±0,2
<i>Thymus richardii</i> (сорт 'Фантазія')	26,2±0,4	25,8±0,3	23,7±0,4
Гентаміцин	21,5±0,3	24,8±0,5	–
Флуконазол	–	–	26,1±0,3
Примітка. "–" – не спостерігалась затримка росту патогенного мікроорганізму			

Як видно з таблиці 3.4, ефірна олія *Thymus vulgaris* (сорт 'Ялос') була найбільш активною щодо впливу на життєдіяльність грам-позитивних коків *Staphylococcus aureus* та грам-негативних паличок *Escherichia coli*. Вважаємо, що виявлений значний антимікробний ефект зумовлений домінуванням в ефірній олії рослини ароматичних монотерпенових сполук тимолу (47,33%) і *o*-цимену (14,34%). Проведені групою науковців Salaria та співавт. [46] дослідження з молекулярного докінгу показали хороший ефект зв'язування тимолу як з бактеріальними, так і з грибовими мішенями. За даними польських дослідників Kot та співавт. [Kot], ефірна олія *Thymus vulgaris*, у якій виявлено 61,9% тимолу, показала сильний бактерицидний ефект проти антибіотикорезистентних штамів *Staphylococcus aureus*. Веісу та співавт. [27] встановили, що ефірна олія культивованого в Румунії хемотипу *Thymus vulgaris* містила 40,85% тимолу та мала значний інгібуючий вплив на грам-позитивні патогенні мікроорганізми.

Найновіші дослідження італійських науковців Tardugno та співавт. [77] показали високий рівень антимікробної активності тимольного хемотипу *Thymus vulgaris* щодо мікроорганізмів, які спричиняють псування продуктів харчування.

Тимол може діяти як підсилювач активності антимікробних препаратів, і, таким чином, придатний до використання як потенційний агент для боротьби з резистентністю до традиційних антимікробних препаратів [46].

Lee та співавт. [50] встановили, що ефірні олії материнки та чебрецю, в яких домінували карвакрол та тимол, відповідно, ефективно пригнічували формування біоплівки уропатогенними штамами *Escherichia coli*. Антимікробний вплив досліджуваних ефірних олій стосовно цього патогенного грам-негативного мікроорганізму знижується в напрямі *Thymus vulgaris* (затримка росту 26,6 мм) > *Thymus richardii* (25,8 мм) > *Thymus pulegiodes* (16,2 мм).

Варто відзначити, що *Staphylococcus aureus* є досить частою причиною розвитку внутрішньолікарняних інфекцій [31]. Зважаючи на те, що він найчастіше викликає фурункули, нагноєння ран, пневмонії, трахеобронхіти, актуальними можна вважати подальші клінічні дослідження з вивчення можливості застосування ефірних олій чебреців – насамперед, *Thymus vulgaris* і *Thymus richardii* – у лікуванні інфекцій шкіри та дихальних шляхів. Як видно із даних табл. 3.4, антистафілококовий потенціал знижується у напрямі *Thymus vulgaris* (затримка росту 30,5 мм) > *Thymus richardii* (26,2 мм) > *Thymus pulegiodes* (23,9 мм). Аналогічно, турецькі науковці Gedikoğlu та ін. [44] встановили, що ефірна олія тимольного хемотипу *Thymus vulgaris* спричинила значне інгібування росту *Staphylococcus aureus* ATCC 9144 (27,0 мм).

Як відомо, гриби роду *Candida*, спричиняють немало інфекцій слизових оболонок [3, 25]. Тимолвмісна чебрецева олія ефективно пригнічує ріст цих патогенних грибків [42]. Досліджувана ефірна олія *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія') виявила найбільш значний антифунгальний ефект у відношенні до *Candida albicans*, що можна пояснити значним вмістом ліналоолу (38,60%). Останній, за An і співавт. [62], має значний антигрибковий потенціал – зокрема, ефективно пригнічує ріст дріжджоподібних грибів *Candida*.

Загалом, досить високий рівень антимікробної активності ефірних олій *Thymus vulgaris* і *Thymus richardii*, у порівнянні із *Thymus pulegiodes*, можна пояснити компонентним вмістом ефірних олій кожного із видів.

ВИСНОВКИ

1. Проведено порівняльне фармакогностичне вивчення трави таких представників роду *Thymus*: двох неофіціальних видів *Thymus pulegioides* (сорт '2/6-07') і *Thymus richardii* (сорт 'Фантазія'), а також сорту 'Ялос' офіціального виду *Thymus vulgaris*.

2. У траві рослин ідентифіковано ефірну олію, β -ситостерин, флавоноїди, гідроксикоричні та органічні кислоти. На основі ТШХ-аналізу встановлено "хроматографічні відбитки" поліфенолів і терпеноїдів у траві усіх досліджуваних видів роду *Thymus*. Серед поліфенолів виявлено розмаринову і кофейну кислоти. На ТШХ-хроматограмах терпеноїдів було видно чітко виражені плями ароматичного спирту тимолу лише в траві *Thymus vulgaris*. Слабкі зони β -ситостерину були помітні на хроматограмах усіх досліджуваних видів.

3. На основі аналізу сумарного вмісту флавоноїдів методом диференційної спектрофотометрії (у перерахунку на апігенін) встановлено, що він знижувався у напрямі: *Thymus pulegioides* ($1,92 \pm 0,06\%$) > *Thymus vulgaris* ($1,75 \pm 0,05\%$) > *Thymus richardii* ($1,63 \pm 0,05\%$).

4. В ефірній олії *Thymus richardii*, який визначено найбільш перспективним для досліджень видом, методом ГХ-МС виявлено домінування ациклічних монотерпеноїдів ліналоолу (38,60 %) і ліналілацетату (18,26 %). Це було суттєвою відмінною ознакою від компонентного складу ефірних олій фармакопейних видів чебреців. Отримані дані ГХ-МС аналізу важливі для планування подальших фармакологічних досліджень ефірної олії *Thymus richardii*, враховуючи домінування виявлених компонентів.

5. Макро- та мікроскопічний аналіз сировини *Thymus richardii* і *Thymus pulegioides*, який включав дослідження стебел, листків, квіток і суцвіть, дав змогу встановити їхні основні морфолого-анатомічні діагностичні ознаки, що є важливою передумовою для їхньої подальшої стандартизації.

6. В умовах *in vitro* встановлено досить високий рівень антимікробної активності ефірних олій *Thymus vulgaris* і *Thymus richardii*, у порівнянні із *Thymus pulegioides*, що можна пояснити домінуванням компонентів з вираженими антисептичними властивостями.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бузук А.Г. Изменчивость химического состава эфирного масла *Thymus pulegioides* L. / А.Г. Бузук, Р.А. Юрченко, Г.Н. Бузук. *Вестник фармации (Беларусь)*. 2012. № 1. С. 19–25.
2. Визначення поліфенольних сполук трави чебрецю блошиного (*Thymus pulegioides* L.) / Я. М. Стешенко, О.В. Мазулін, Г.В. Мазулін, Т. В. Опрошанська. *Фітотерапія*. 2019. № 2. С. 33–38.
3. Воробець Н. М., Рівіс О. Ю. Актуальність та перспективи використання лікарських рослин для лікування кандидозу ротової порожнини. *Вісник проблем біології і медицини*. 2017. Вип. 1 (135). С.22–32.
4. Вронська Л. В. Застосування тонкошарової хроматографії для ідентифікації трави меліси лікарської. *Фармацевтичний часопис*. 2011. № 4. С. 64–67.
5. Гудзенко А. В., Цуркан О. О., Ковальчук Т. В. Вітчизняний ринок багатокомпонентних лікарських засобів рослинного походження: аналіз стану структура та перспективи розвитку. *Фармац. журнал*. 2012. № 1. С. 8–12.
6. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: ДП «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2015. Т. 1. 1128 с.
7. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків: ДП «Український науково-експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2014. Т. 3. 732 с.
8. Державний реєстр лікарських засобів України (2022) [Електронний ресурс]. Режим доступу: <http://www.drlz.com.ua>
9. Дослідження складу поліфенольних сполук трави та ліофільного екстракту *Thymus vulgaris* L. / Л. А. Фуклева, О. В. Мазулін, Г. П. Смойловська та ін. *Фітотерапія. Часопис*. 2016. №4. С. 27–30.
10. Зарівна Н.О., Вронська Л.В., Подплетня О.А. Обґрунтування вибору активних маркерів для стандартизації препаратів на основі трави чебрецю.

Фармацевтичний часопис. 2011. № 2. С. 56–60.

11. Зарівна Н. О., Логойда Л. С. Розробка методики ідентифікації флавоноїдів та гідроксикоричних кислот в екстрактах чебрецю повзучого. *Медична та клінічна хімія*. 2020. Вип. 1. С. 107–111.

12. Лікарські рослини: Енциклопедичний довідник / Відп. ред. А. М. Гродзинський. К.: Вид-во "Укр. енциклопедія" ім. М. П. Бажана, 1992. 544 с.

13. Мікроскопічне дослідження діагностичних ознак трави *Thymus x citriodorus* var «Silver Queen» / Я. М. Стешенко, О. В. Мазулін, Т. В. Опрошанська, Г. П. Смойловська. *Фармац. журнал*. 2019. Т. 74. № 5. С. 92–98.

14. Мінарченко В. М. Лікарські судинні рослини України (медичне та ресурсне значення). Ін-т ботаніки НАН України. Київ: Фітосоціоцентр, 2005. 323 с.

15. Мінарченко В. М., Бутко А. Ю. Дослідження вітчизняного ринку лікарських засобів рослинного походження. *Фармац. журнал*. 2017. №1. С. 30–36.

16. Красюк Е. В., Пупыкина К. А. Качественный анализ и разработка методики количественного определения флавоноидов в видах монарды, интродуцируемых в республике Башкортостан. *Мед. вестник Башкортостана*. 2016. Вып. 11. № 5 (65). С. 73–77.

17. Савичук Н. О. Роль і місце ополіскувачів у профілактиці стоматологічних захворювань. *Современная стоматология*. 2014. № 1. С. 13–16.

18. Стешенко Я. М., Мазулін О. В., Поліщук Н. М. Дослідження антибактеріальної та фунгіцидної активності ефірної олії *Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb. var. «Silver Queen». *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2021. Т. 14, № 2(36). С. 211–214.

19. Фармакогнозія: базовий підручник для студ. вищих фарм. навч. закладів IV рівня акредитації / В. С. Кисличенко, І. О. Журавель, С. М. Марчишин та ін. Харків: НФаУ: Золоті сторінки, 2015. 736 с.

20. Фармацевтична енциклопедія. Режим доступу: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/75/chebrec>

21. Фуклева Л. А., Мазулін О. В. Фітохімічне вивчення ефірної олії тим'яну кримського (*Thymus tauricus* L.) флори України. *Запорожский мед. журнал.* 2009. Т. 11, № 4. С. 124–125.
22. Хохлова К. О., Вишневська Л. І., Здорик О.А. Порівняння хроматографічних профілей ефірних олій в екстрактах 13 видів родини *Lamiaceae*. *Фармац. журнал.* 2020. Т. 75, № 3. С. 86–94.
23. Шанайда М. І. Фітохімічний аналіз сполук терпенової природи у сировині деяких представників триби *Menthae* (родина *Lamiaceae*). *Фармацевтичний часопис.* 2021. № 3. С. 5–13.
24. Шанайда М. І., Сіра Л. М., Мінаєва А. О. Морфолого-анатомічна будова трави *Satureja hortensis* L. *ScienceRise.* 2016. 4 (21). С. 30–37.
25. Шанайда М. І., Покришко О. В. Антимікробна активність ефірних олій культивованих представників родини *Lamiaceae* Juss. *Annals of Mechnikov Institute.* 2014. N 4. P. 66–69.
26. Antimicrobial activity of five essential oils from *Lamiaceae* against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* / Kot B., Wierzchowska K., Piechota M. et al. *Nat. Prod. Res.* 2019. Vol. 33(24). P. 3587–3591.
27. Antimicrobial Potential and Phytochemical Profile of Wild and Cultivated Populations of Thyme (*Thymus* sp.) Growing in Western Romania / Beicu R., Alexa E., Obiștioiu D. et al. *Plants.* 2021. 10(9). 1833.
28. Anti-psoriatic effect of *Lavandula angustifolia* essential oil and its major components linalool and linalyl acetate / V. K. Rai, P. Sinha, K. S. Yadav et al. *Journal of Ethnopharmacology.* 2020. N 261. 113127.
29. Assessment of rosmarinic acid content in six *Lamiaceae* species extracts and their antioxidant and antimicrobial potential / D. Benedec, I. Hanganu, I. Oniga, et al. *PJPS.* 2015. 28 (6). P. 2297–2303.
30. Assessment of chemically characterized *Salvia sclarea* L. essential oil and its combination with linalyl acetate as novel plant based antifungal, antiaflatoxic and antioxidant agent against herbal drugs contamination and probable mode of action / V. Kumar Singh, S. Das, A. Kumar Dwivedy et al. *Nat. prod. res.* 2019. P. 1–6.

31. Biological activities of essential oils: from plant chemoeology to traditional healing systems / J.Sharifi-Rad, A.Sureda, G.Tenore et al. *Molecules*. 2017. N 22, 70.
32. Carvacrol and thymol: strong antimicrobial agents against resistant isolates. / M.Y.Memar, P Raei, N.Alizadeh et al. *Rev.in Med. Microb.* 2017. N28 (2). P. 63–68.
33. Chemical, antifungal and cytotoxic evaluation of the essential oil of *Thymus zygis* subsp. *sylvestris* / M.J. Gonçalves, M.T.Cruzb, C.Cavaleiroa, M.C.Lopesb, L.Salgueiro. *Industrial Crops and Products*. 2010. Vol. 32. P. 70–75.
34. Chemical characterization and bioactive potential of *Thymus × citriodorus* (Pers.) Schreb. preparations for anti-acne applications: Antimicrobial, anti-biofilm, anti-inflammatory and safety profiles / Oliveira A. S., Rolo J., Gaspar C. et al. *Journal of ethnopharmacology*. 2022. 287, 114935.
35. Chemical compositions and antimicrobial effects of the essential oils from three *Thymus* species / Shanaida M., Hudz N., Klyzub S. et al. *Current approaches of pharmaceutical science in development and standardization of medicines and dietary supplements that contain components of natural origin: Proceedings of the III Int. Sci. and Pract. Internet-Conf.* (Kharkiv, 2 Apr 2021). Kharkiv, NPhU, 2021. P. 37.
36. Chromatographic analysis of the herbal preparations obtained from the *Monarda*, *Satureja* and *Thymus* species (*Lamiaceae* Family) / Hvozdyk N., Bunchak K., Klyzub S. et al. *Здобутки клінічної та експериментальної медицини: збірник тез підсумк. LXIV наук.-практ. конф.* (Тернопіль, 11 черв. 2021 р.). С. 185–186.
37. Chromatographic profiles and antimicrobial activity of essential oils obtained from some species and cultivars of the *Menthaeae* tribe (*Lamiaceae*) / M. Shanaida, N. Hudz, M. Bialon et al. *Saudi J. of Biol. Sciences*. 2021. Vol. 28 (11). P. 6145–6152.
38. Chizzola R, Michitsch H, Franz C. Antioxidant properties of *Thymus vulgaris* leaves: Comparison of Different Extracts and Essential Oil Chemotypes. *J. Agric. Food Chem.* 2008. N 56, 16. P. 6897–6904.
39. Chromatographic profiles of polyphenols and terpenoids in the herbs of some *Thymus* L. representatives / M. Shanaida, S. Klyzub, L. Svydenko et al. *Pharmaceutical review (Фармац. часопис)*. 2022. N 1. С.12–19.

40. Composition of headspace volatiles and essential oils of three *Thymus* species / G. Stojanović, O. Jovanović, G. Petrović et al. *Nat. Prod. Commun.* 2014. N 9(11). P. 1609–1612.
41. Content and composition of the essential oil of *Thymus serpyllum* L. growing wild in Estonia / A.Raal, U.Paaver, E.Arak, A.Orav. *Medicina.* 2004. N40(8). P. 795–800.
42. Effect of Clove and Thyme Essential Oils on *Candida* Biofilm Formation and the Oil Distribution in Yeast Cells / K. Rajkowska, P. Nowicka-Krawczyk, A. Kunicka-Styczynska et al. *Molecules.* 2019. N24: 1954.
43. European Pharmacopoeia, 2020. 10th ed. Council of Europe: Strasbourg, France.
44. Gedikoğlu A., Sökmen M., Çivit A. Evaluation of *Thymus vulgaris* and *Thymbra spicata* essential oils and plant extracts for chemical composition, antioxidant, and antimicrobial properties. *Food Sci. Nutr.* 2019. N 7(5). P. 1704–1714.
45. Geographical and environment-related variations of essential oils in isolated populations of *Thymus richardii* Pers. in the Mediterranean basin / L. Llorens, J.A. Llorens-Molina, S. Agnello, H. Boira H. *Biochemical Systematics and Ecology.* 2014. N 56. P. 246–254.
46. *In vitro* and *in silico* analysis of *Thymus serpyllum* essential oil as bioactivity enhancer of antibacterial and antifungal agents / Salaria D., Rolta R., Patel Cet al. *Journal of biomolecular structure & dynamics.* 2021. P. 1–20.
47. Introduction to phytochemicals: secondary metabolites from plants with active principles for pharmacological importance / By N. Mendoza and E.M. Escamilla Silva. 2018. DOI: 10.5772/intechopen.78226
48. Jafri H., Ahmad I. *Thymus vulgaris* essential oil and thymol inhibit biofilms and interact synergistically with antifungal drugs against drug resistant strains of *Candida albicans* and *Candida tropicalis*. *J. Med. Mycol.* 2020. N 30 (1). 100911
49. Jarić S., Mitrović M., Pavlović P. Review of ethnobotanical, phytochemical, and pharmacological study of *Thymus serpyllum* L. *Evid. Based Complement. Alternat Med.* 2015. Article 101978

50. Lee J. H., Kim Y.G., Lee J. Carvacrol-rich oregano oil and thymol-rich thyme red oil inhibit biofilm formation and the virulence of uropathogenic *Escherichia coli*. *J. Appl. Microbiol.* 2017. Vol. 123 (6). P. 1420–1428.
51. Ložienė K., Vaičiulytė V. Geraniol and Carvacrol in Essential Oil Bearing *Thymus pulegioides*: Distribution in Natural Habitats and Phytotoxic Effect. *Molecules* 2022. 27(3). 986.
52. Metabolites and Biological Activities of *Thymus zygis*, *Thymus pulegioides*, and *Thymus fragrantissimus* Grown under Organic Cultivation / Afonso A. F., Pereira O. R., Válega M. et al. *Molecules*. 2018. 23(7), 1514.
53. Mockute D., Bernotiene G. Five chemotypes of the essential oils of *Thymus pulegioides* L. growing wild in Lithuania. *JEOP Plants*. 2003. N 6(3). P. 139–147.
54. Morphological and chemical traits as quality determinants of common thyme (*Thymus vulgaris* L.), on the example of ‘Standard Winter’ cultivar / O. Kosakowska, K. Baczek, J. L. Przybył et al. *Agronomy*. 2020. 10, 909.
55. Morphological and phytochemical screening of some *Thymus* ecotypes (*Thymus* spp.) native to Iran in order to select elite genotypes / S. Mohammadi, L. Tabrizi, M. Shokrpour et al. *J. of Applied Botany and Food Quality*. 2020. Vol. 93. P. 186–196.
56. Park C.M., Song Y-S. Luteolin and luteolin-7-*O*-glucoside inhibit lipopolysaccharide-induced inflammatory responses through modulation of NF- κ B/AP-1/PI3K-Akt signaling cascades in RAW 264.7 cells. *Nutr. Res. Pract.* (2013). N 7 (6). P. 423–429.
57. Pharmacological properties and molecular mechanisms of thymol: prospects for its therapeutic potential and pharmaceutical development / M. F. Nagoor Meeran, H. Javed, H. Al Taei et al. *Frontiers in Pharmacology*. 2017. Vol. 8: 380.
58. Phytochemical profile and antimicrobial potential of extracts obtained from *Thymus marschallianus* wild / M. Niculae, D. Hanganu, I. Oniga et al. *Molecules*. 2019, 24, 3101; doi:10.3390/molecules24173101
59. Polyphenol composition and biological activity of *Thymus citriodorus* and *Thymus vulgaris*: Comparison with endemic Iberian *Thymus* species / Taghouti M., Martins-Gomes C., Félix L. M. et al. *Food chemistry*/ 2020/ 331, 127362.

60. Processing and quality control of herbal drugs and their derivatives / J. O. C.Silva Júnior, R. M.Ribeiro Costa, F. M. Teixeira, W. L. R. Barbosa. In: *Quality control of herbal medicines and related areas*. Ed. by Y. Shoyama. 2011. InTech. P. 195–222.
61. Qualitative composition and organic acids content in plants from Families *Lamiaceae*, *Asteraceae*, *Apiaceae* and *Chenopodiaceae*. S. M. Marchyshyn, M. I. Shanayda, I. Z.Kernychna et al. *Int. J. of Med. and Med. Res.* 2016.N2(1). P. 19–22.
62. Recent updates on bioactive properties of linalool / Q. An, J. N. Ren, X. Li. *Food & function*. 2021. N 12(21). P. 10370–10389.
63. Review on *Thymus vulgaris* traditional uses and pharmacological properties / Prasanth R., Ravi V.K., Varsha P.V. et al. *Med Aromat Plants*. 2014. Vol. 3(4). P.1–3.
64. Rosmarinic acid – human pharmacokinetics and health benefits / M. Hitl, N. Kladar, N. Gavarić, B. Božin. *Planta Medica*. 2021. Vol. 87 (4). P. 273–282.
65. Sarfaraz D., Rahimmalek M., Saeidi G. Polyphenolic and molecular variation in *Thymus* species using HPLC and SRAP analyses. *Scientific reports*. 2021. 11(1). 5019.
66. Screening of some rare endemic Italian plants for inhibitory activity on 5-lipoxygenase / J.M. Prieto, A. Bader, F. Martini et al. *Fitoterapia*. 2005.76. P.725–727.
67. Singh J. I., Gupta S. J., Singh A. K. Standardization of Tulsi (*Ocimum sanctum* Linn.). *Int. J. Ayu. Pharm. Chem.* 2015. Vol. 4 (1). P. 165–175.
68. Steshenko Ya. M., Mazulin O.V. Study by GC-MS method of *Thymus x citriodorus* (Pers.) Schreb. var. “Silver Queen” extracts component composition. *Current issues in pharmacy and medicine*. 2022. Vol. 15 (1). P. 46–51.
69. The Plant List. <http://www.theplantlist.org/tpl1.1/search?q=thymus>
70. The Therapeutic Potential of Apigenin / Salehi B., Venditti A., Sharifi-Rad M. et al. *International Journal of Molecular Sciences*. 2019. 20(6), 1305.
71. Therapeutic effect and mechanisms of essential oils in mood disorders: interaction between the nervous and respiratory systems / Fung T.K.H., Lau B.W.M., Ngai S.P.C., Tsang H.W.H. *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22: 4844.
72. Thompson J. D. Population structure and the spatial dynamics of genetic polymorphism in Thyme / In 'Thyme: The Genus *Thymus*' / E. Stahl- Biskup and F. Saez, Eds., Taylor ' & Francis, New York, NY, USA, 2002. P. 44–74.

73. Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses / B. Salehi, A. P. Mishra, I. Shukla et al. *J. Phytotherapy Research*. 2018. N 32(9). P. 1688–1706.
74. *Thymus pulegioides* L. as a rich source of antioxidant, anti-proliferative and neuroprotective phenolic compounds / M. Taghouti, C. Martins-Gomes, J. Schäfer et al. *Food & function*. 2018. N 9(7). P. 3617–3629.
75. *Thymus richardii* Pers. subsp. *nitidus* (Guss.) Jalas: A New *Thymus* type rich in β -bisabolene / A. Bader, G. Flamini, P. Luigi Cioni, I. Morelli. *Journal of Essential Oil Research*. 2001. Vol. 13 (1). P. 8–10.
76. *Thymus vulgaris* essential oil and its biological activity / Galovičová L., Borotová P., Valková V. et al. *Plants*. 2021. Vol. 10(9). 1959.
77. *Thymus vulgaris* L. essential oils from Emilia Romagna Apennines (Italy): phytochemical composition and antimicrobial activity on food-borne pathogens. Tardugno R., Serio A., Purgatorio C. et al. *Nat. prod. res.* 2022. 36(3). P. 837–842.
78. Traditional Uses, Chemical Constituents and Biological Activities of Plants from the Genus *Thymus* / Li X., He T., Wang X. et al. *Chemistry & biodiversity*. 2019. 16(9).
79. Tzima K., Brunton N. P., Rai D. K. Qualitative and quantitative analysis of polyphenols in *Lamiaceae* plants: a review. *Plants*. 2018. Vol. 7 (2). P. 25–35.
80. Vaičiulytė V., Butkienė R., Ložienė K. Effects of meteorological conditions and plant growth stage on the accumulation of carvacrol and its precursors in *Thymus pulegioides*. *Phytochemistry*. 2016. N 128. P. 20–26.
81. Verma N., Shukla S. Impact of various factors responsible for fluctuation in plant secondary metabolites. *J. Appl. Res. Med. Aromat. Plants*. 2015. Vol. 2. P. 105–113.
82. Wesołowska A., Jadczyk D. Comparison of the chemical composition of essential oils isolated from two thyme (*Thymus vulgaris* L.) cultivars. *Not Bot Horti Agrob*, 2019, 47(3). P. 829–835.
83. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound>
84. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/?term=thyme>
85. <https://uk.wikipedia.org/wiki/Thyme>
86. <http://med-arhiv.com/chebrec-c-lyusch-vlastivost-chudo-travi>