

Одеський національний університет імені І. І. Мечникова

Факультет хімії та фармації

Кафедра фармакології та технології ліків

Д и п л о м н а р о б о т а

на здобуття ступеня вищої освіти «магістр»

на тему: « **Фізико-хімічне дослідження екстракту *Acorus calamus* та розробка косметологічного засобу на його основі**»

« **Physico-chemical study of *Acorus calamus* extract and development of a cosmetic product based on it**»

Виконала: студентка заочної форми навчання
Спеціальності 102 Хімія
Гросу Анастасія Олександрівна

Керівник: к. б. н., доц. Еберле Л.В. _____
Рецензент: к.х.н., доц. Кіосе Т.О.

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

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

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

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

Одеса – 2021

Реферат

Дипломна робота виконана на кафедрі фармакології та технології ліків факультету хімії та фармації Одеського національного університету імені І.І. Мечникова і присвячена дослідженню хімічного складу екстракту з кореневища *Acorus calamus* та створення косметичного засобу на його основі.

Основна мета роботи полягала у детальному вивченні поліфенольного складу рослинної сировини методом вискоєфективної рідинної хроматографії. Оскільки, саме біологічно активні речовини фенольної природи забезпечують екстракт *Acorus calamus* антиоксидантними, протизапальними та репаративними властивостями.

За результатами проведеного дослідження було встановлено сумарний вміст поліфенольних сполук та проведена ідентифікація окремих представників фенольних груп, що входять до складу аїру звичайного. Методом *in vivo* показано, що екстракт *Acorus calamus* по параметрам токсичної дії (ТД₅₀) при трансдермальному нанесенні відноситься до V класу сполук – малотоксичні сполуки.

Експериментально доведено, що екстракт *Acorus calamus* володіє вираженою антиоксидантною дією, репаративними властивостями та сприяє інтенсивному дозріванню епітеліальної тканини і пришвидшує процес регенерації шкіри.

Кваліфікаційна робота викладена на 51 сторінках друкованого тексту та містить: 12 таблиць; 4 рисунків; використано 44 літературних джерел.

ЗМІСТ

ВСТУП	4
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	6
1.1. Ботанічна характеристика та хімічний склад <i>Acorus calamus</i>	6
1.2. Біологічна активність поліфенольних сполук.....	9
1.3. Косметичні властивості флаваноїдів.....	12
1.4. Шкіра як об'єкт косметологічної дії. Будова шкіри.....	13
РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА	18
2.1. Об'єкт дослідження.....	18
2.2. Методики проведення експерименту.....	18
2.2.1. Аналіз поліфенольних сполук в екстракті <i>Acorus calamus</i> методом високоефективної рідинної хроматографії.....	18
2.2.2. Встановлення токсичної дії екстракту <i>Acorus calamus</i>	20
2.2.3. Визначення антиоксидантної активності в екстракті <i>Acorus calamus</i>	21
2.2.4. Підбір мажевої основи для косметологічного засобу.....	23
2.2.5. Дослідження репаративної активності екстракту <i>Acorus calamus</i>	25
2.2.6. Статистична обробка результатів експерименту.....	25
2.3. Результати та їх обговорення.....	28
2.3.1. Дослідження поліфенольних сполук в екстракті <i>Acorus calamus</i> методом високоефективної рідинної хроматографії.....	28
2.3.2. Дослідження токсичної дії крему з екстрактом <i>Acorus calamus</i> за умов трансдермального нанесення.....	33
2.3.3. Дослідження антиоксидантної активності екстракту <i>Acorus calamus</i>	35
2.3.4. Оптимальний вибір кремової основи для косметологічного засобу.....	36

2.3.5. Дослідження репаративної активності крему з екстрактом <i>Ascoris calatus</i>	39
ВИСНОВКИ.....	44
СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ.....	45

ВСТУП

В останні роки стрімко зростає попит на косметичні продукти, що містять у своєму складі компоненти натурального походження (екстракти рослин, смоли фруктових дерев, продукти бджолярства (віск, мед); протеїни та кератин зі стриженої шерсті та ін.). При цьому косметичні вироби повинні не тільки мати моментальний ефект (пом'якшення, зволоження, надання певного кольору, тону), але й мати привабливий зовнішній вигляд, а також містити в своєму складі речовини, що мають різні функціональні властивості (антиоксидантну, репаративну, протизапальну активність, скорочення зморшок, стимуляція синтезу колагену і т.д.).

Особлива увага на сьогоднішній день приділяється косметичним засобам, які містять у своєму складі антиоксиданти, що сприяють захисту клітин шкіри від окислювального стресу, негативного впливу УФ-випромінювання, отже, і від передчасного старіння.

Одним із найперспективніших джерел природних антиоксидантів є *Acorus calamus*, що містить кілька класів сполук поліфенольної природи: антоціани, фенолокислоти, флавоноли, флавони, флаваноїди, катехіни та їх олігомери, проантоціанідіни, звані танінами [1 - 5].

Інтерес до фенольних сполук рослинного походження не випадковий і пов'язаний з широким спектром їхньої біологічної активності та низькою токсичністю (за винятком самого фенолу). Поліфенольні речовини, будучи природними синергістами аскорбінової кислоти, підвищують міцність капілярів, зменшують їхню проникність, послаблюють дію гормонів щитовидної залози при її гіперфункції, стимулюють протизапальні та регенеративні властивості шкіри [6 – 8].

Тому застосування екстракту *Acorus calamus* як біологічно активної добавки при виробництві косметичних виробів, вивчення його властивостей та фізіологічного впливу на шкіру актуальне та перспективне.

Метою дипломної роботи було фітохімічне і фармакологічне дослідження екстракту *Acorus calamus* та розробка косметичного засобу на його основі.

Для досягнення поставленої мети були встановлені наступні завдання:

1. Провести аналіз поліфенольних сполук в водно-етанольному екстракті *Acorus calamus* методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ).
2. Дослідити токсичну дію (ТД₅₀) екстракту *Acorus calamus* за умов однократного та тривалого нанесення.
3. Встановити антиоксидантну активність екстракту *Acorus calamus*
4. Розробка рецептури жирного косметичного крему для рук із використанням екстракту *Acorus calamus*.
5. Визначити ранозагоювальну активність косметичного крему для рук з екстрактом *Acorus calamus*

Об'єкт дослідження – водно-етанольний екстракт з кореневища *Acorus calamus*.

Предмет дослідження– аналіз ВЕРХ екстракту *Acorus calamus*, підбір рецептури жирного косметичного крему для рук, фармакологічне дослідження крему з екстрактом *Acorus calamus*.

Методи дослідження: спектрофотометричні, фармакологічні, статистичні.

ВИСНОВКИ

1. Аналіз високоефективної рідинної хроматографії спиртового екстракту *Acorus calamus*, показав, присутність в зразках рослинного матеріалу такі поліфенольні сполуки як: фенольні кислоти (466 мкг/мл), катехіноподібні речовини (266,17 мкг/мл) катехіни (643,26 мкг/мл), флаваноїди (2184,5 мкг/мл) та флавони (34,31 мкг/мл).

2. Методом *in vivo* встановлено, що по параметрам токсичної дії при трансдермальному нанесенні щурам екстракту *Acorus calamus* відноситься до V класу сполук(малотоксичні сполуки), $TD_{50} = 385 \text{ мг/ см}^2$.

3. Показано, що екстракт аїру звичайного володіє вираженою антиоксидантною активністю та в реакції аутоокиснення адреналіну сприяє зниженню швидкості реакції на 24 %, а показник інгібування реакції по відношенню до контролю складав 76,67.

4. Розроблена та підібрана основа для крему до складу якої входять: віск бджолиний, спермацет, ланолін безводний, вазелін, церезин, ляна, кукурудзяна олії та олія з виноградної кісточки в різних співвідношеннях.

5. Встановлено, що крем для рук з екстрактом *Acorus calamus* володіє вираженими репаративними властивостями та сприяє інтенсивному дозріванню епітеліальної тканини і пришвидшує процес регенерації шкіри

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Яременко М. С., Гонтова Т. М. Контроль якості препаратів на основі лепехи звичайної. Матеріали V науково-практичної конференції Школи молодих науковців ПАТ «Фармак». Київ, 2017 С. 49–51.
2. Яременко М. С., Гонтова Т. М., Котова Е. Е. Кількісне визначення суми поліфенолів у кореневищах та листі лепехи звичайної. Теоретичні та практичні аспекти дослідження лікарських рослин : матеріали III Міжнар. наук.–практ. internet–конф., м. Харків, 26–28 листоп. 2018 р. Харків, 2018. С .276–277.
3. Корган Л. А., Яременко М. С. Питання безпеки спиртового екстракту листя лепехи звичайної. Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку : матеріали X наук.-практ. конф., м. Харків, 21 трав. 2018 р. Харків : Видво НФаУ, 2018. С. 44.
4. Yaremenko M. S., Gontova T. M., Kotova E. E. Perspective for using *Acorus calamus* leaves in medicine. Sciences and Pharmacy Practice 2018 : Book of abstracts 9th International Conference dedicated to the 100-th anniversary of independent Lithuania's pharmacy, Kaunas, 9 November, 2018. P. 60.
5. The Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. Botanical Journal of the Linnean Society. 2016. № 181. P. 1–21.
6. Яременко М. С., Гонтова Т. М., Руденко В. П. Дослідження кількісного вмісту водорозчинних полісахаридів листя лепехи звичайної. Сучасні проблеми фармакології, косметології та ароматології : матеріали наук.-практ. конф., м. Одеса, 4 жовт. 2019 р. Одеса, 2019 р. С. 74–80.
7. Morphological characterization of diploid and triploid *Acorus calamus* (Acoraceae) from southern Western Siberia, parthenocarpy in sterile plants and occurrence of aneuploidy / D. D. Sokoloff et al. Botanical Journal of the Linnean Society. 2020. Vol. XX. P. 1-27.

8. Яременко М. С., Гонтова Т. М., Котова Е. Е. Перспективи застосування денситометрії при визначенні кількісного вмісту азарону в кореневищах лепехи звичайної. Сучасна фармація: історія, реалії та перспективи розвитку : матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю, присвяч. 20-й річниці заснування Дня фармац. працівника України, м. Харків, 19-20 верес. 2019 р. : у 2 т. / редкол. : А. А. Котвіцька та ін. Харків : НФаУ, 2019. Т. 1. С. 281–282.

9. Мінарченко В. М. Ресурсознавство. Лікарські рослини : навч. посіб. ; Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України. Київ : Фітосоціоцентр, 2014. С. 248.

10. Яременко М. С., Гонтова Т. М., Гапоненко В. П. Дослідження кількісного вмісту полісахаридних фракцій листя лепехи звичайної. Актуальні питання клінічної фармакології та клінічної фармації : матеріали наук.-практ. internet-конф., м. Харків, 22-23 жовт. 2019 р. / редкол. : А. А. Котвіцька та ін. Х. : НФаУ, 2019. С. 341–347.

11. Essential oil safety: A guide for health care professionals / R. Tisserand et al. 2nd ed. Edinburgh, 2013. P. 784.

12. Molecular and chemical profiling of 'sweet flag' (*Acorus calamus* L.) germplasm from India / T. S. Rana et al. *Physiology and molecular biology of plants : an international journal of functional plant biology*. 2013. № 19 (2). P. 231–237.

13. Raal A., Orav A., Gretchushnikova T. β -Asarone content and essential oil composition of *Acorus calamus* L. rhizomes from Estonia. *Journal of Essential Oil Research*. 2016. Vol. 28, № 4. P. 299–304.

14. Comparative Study of Chemical Composition and Antioxidant Activity of Essential Oil Extracted from *Acorus calamus* L. Leaves / P. Chaubey et al. *Journal of Herbal Drugs*. 2018. № 8 (4). P. 203–211.

15. Pharmacognostical Evaluation of Leaves of *Acorus calamus* Linn / A. S. Bisht et al. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research. 2013. № 5 (4). P. 278–281.

16. Mehmet N. A., Fikret T. Identification of chemical components from the Rhizomes of *Acorus calamus* L. with gas chromatography-tandem mass spectrometry (GC-MS\MS). Journal of the Institute of Science and Technology. 2018. № 8 (4). P. 181–187.

17. Chandra D., Prasad K. Phytochemicals of *Acorus calamus* (Sweet flag). Journal of Medicinal Plants Studies. 2017. № 5 (5). P. 277–281.

18. Repellant and insecticidal activities of shyobunone and isoshyobunone derived from the essential oil of *Acorus calamus* rhizomes / H. P. Chen et al. Pharmacognosy Magazine. 2015. № 11 (44). P. 675–681.

19. Identification of Insecticidal Constituents of the Essential Oil of *Acorus calamus* Rhizomes against *Liposcelis bostrychophila* Badonnel / C. L. Xin et al. Molecules. 2013. № 18. P. 5684–5696.

20. Lin C. L., Lin G. Y., Cai J. Z. Study on the chemical constituents of the volatile oils from the *Acorus calamus* growing in Zhejiang Province. Chinese Pharmaceutical Journal. 2012. № 23. P. 640–641.

21. Essential oil composition of *Acorus calamus* from district-pithoragarh / D. Chandra et al. World Journal of Pharmaceutical Research. 2017. № 4 (9). P. 1158–1166.

22. Гурьев А. М. Фармакогностическое исследование аира болотного и перспективы создания на его основе новых лекарственных средств : автореф. дис. ... канд. фарм. наук: 15.00.02/ ГОУВПО "Сибирский государственный медицинский университет". Томск, 2004. 132 с.

23. Gyawali R., Kim, K. Volatile organic compounds of medicinal values from nepalese *Acorus calamus* L. Kathmandu university journal of science, engineering and technology. 2009. № 5. P. 51–65.

24. Essam Y. A.-H., Mikhail A. E. Chromatographic analyse of volatile organic compounds in essential oil of *Acorus calamus* L. rhizome. *Assiut Journal of Agricultural Sciences*. 2012. № 43 (Spec. Is.). P. 126–131.
25. Water-soluble polysaccharide obtained from *Acorus calamus* L. classically activates macrophages and stimulates Th1 response / N. V. Belska et al. *International Immunopharmacology*. 2010. № 10 (8). P. 933–942.
26. Ramachandran B., Rajamani K., Kumanan K. *Acorus calamus*: An overview. *Journal of Medicinal Plants Research*. 2010. № 4 (25). P. 2740–2745.
27. Rita W., Swantara I. M., Kawuri, R. Total Phenolic and Flavonoid Contents and Antimicrobial activity of *Acorus calamus* L. Rhizome Ethanol Extract. *Research Journal of Chemistry and Environment*. 2018. № 22. P. 65–70.
28. Anti-inflammatory effects of the saponins obtained from the leaves of *Acorus calamus* / N. Tiwaria et al. *Pharmacologyonline*. 2010. № 2. P. 395–400.
29. (Птицын А.В. и др. Выделение и очистка антоцианов винограда *Vitis Vinifera* L. сорта Изабелла // Биотехнология. 2007. №2. С. 13-20
30. Bagchi M. etc. Smokeless tobacco, oxidative stress, apoptosis, and oxidants in human oral keratinocytes // *Free radic Biol Med*. 1999. 26. P. 992-1000; Cossins E. etc. ESR studies of vitamin C regeneration, order of reactivity of natural source phytochemical preparations // *Biochem Mol Biol Int*. 1998. 45. P. 583-597.
31. Carini M. etc. The protection of polyunsaturated fatty acids in micellar systems against UVB-induced photo-oxidation by procyanidins from *Vitis Vinifera* L., and the protective synergy with vitamin E // *Intl J Cosmetic Sci* 2018. 20. P. 203-215.
32. Tixier J.M. etc. Evidence by In Vivo and In Vitro Studies that Binding of Pycnogenols to Elastin Affects its Rate of Degradation of Elastases // *Biochem Pharmacol*. 2004. 33. P. 3933-3939

33. .Окислительный стресс и антиоксиданты: организм, кожа, косметика. Сборник статей / Под общ. ред. А. Петрухиной. – М.: ООО «Фирма «КЛАВЕЛЬ», 2006. – 288 с.
34. Старение кожи. Серия «Моя специальность – косметология». Под общ. ред. Е.И. Эрнандес. – М.: ООО «ИД Косметика и медицина», 2012. – 208 с.
35. Эрнандес, Е.И. Новая косметология. Том II. / А.И. Деев, Е.И. Губанова, Е.А. Корнеева, Г.К. Спирина, Е.З. Парсагашвили, П.С. Кожевников; Под общ. ред. Е.И. Эрнандес. – М.: ООО «ФирмаКЛАВЕЛЬ», 2007. – 418 с.
36. Draelos, Z.D. Physiology of the skin. 3rd edition / Z.D. Draelos, P.T. Pugliese. – Allured, 2011. – 245 p.
37. Мази в современной фармакотерапии / И. М. Перцев [и др.] // Фармация. – 2002. – № 2. – С. 3-6.
38. Марголина А.А., Эрнандес Е.И. Новая косметология. Том I. М.: ООО «Фирма КЛАВЕЛЬ». 2005. 424 с.
39. Эрнандес Е.И. Кожа как объект косметологического воздействия. М., 2013
40. Стефанов О.В. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації / О.В. Стефанов. – Київ: МОЗ України. Державний фармакологічний центр. – 2001. – 527 с.
41. Hoek A. C. An improved NMR method for the quantification of alpha-acids in hops and hop products / Hoek A. C., Hermans-Lokkerbol A. C. J., Verpoorte R. // Phytochem Anal. – 2001. – №12. – P.53-57.
42. Моргунцова С.А., Беленічев І.Ф. Антиоксидантна активність S-заміщених хіназоліну в умовах інгібування супероксидрадикала in vitro //Вестник ВГУ. Серия: Химия. Биология. Фармация. 2009. №1. С. 143–152.
43. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / [Верстакова О.Л., Арзамасцев Е.В.,

Бабаян Э. А. и др.]. под ред. Р. У. Хабриева. – [2-е изд.]. – М.: ОАО “Издательство “Медицина”. – 2005. – 832 с.

44. Герасимов, А. М. Перспективы фитотерапии в проблемах свободнорадикальных патологий / А. М. Герасимов // Традиционные методы лечения – основные направления и перспективы развития : материалы науч.-практ. конф. – М., 2008. – С. 113-114.

45. Герд, Кутц Косметические кремы и эмульсии: состав, получение, методы испытаний. Перевод с немецкого А.С. Филиппова, под редакцией д.х.н. М.Ю. Плетнева. ООО «Фирма Клавель». – М.: Издательский дом «Косметика и медицина», 2004. – 272 с.

46. Котельников, В. П. Раны и их лечение / В. П. Котельников. – М. : Знание, 1991. – 123 с.

47. Клинико-лабораторное изучение разных лекарственных форм баноцина при лечении раневой инфекции / Л. А. Блатун [и др.] // Хирургия. – 2009. – № 9. – С. 59-65.

48. Исследования по разработке состава мази для лечения раневого процесса / Т.Е. Рюмина [и др.] // Санкт-Петербургский научный Форум – 2003 : материалы 3 междунар. науч.-практ. конф. молодых ученых. – СПб, 2003. – Т. 2. – С. 46-47.