

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И АНАЛИЗА КОСМЕТИЧЕСКОГО КРЕМА НА ОСНОВЕ ТРАВЫ МЕЛИССЫ ЛЕКАРСТВЕННОЙ

Шаталова Т.А.¹, Вдовенко-Мартынова Н.Н.¹, Айрапетова А.Ю.¹, Темирбулатова А.М.¹

¹Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения России, Пятигорск, Россия (357532, Пятигорск, пр. Калинина, 11), e-mail: shata61@bk.ru

Целью настоящей работы является разработка технологии косметического крема на основе водного стабилизированного извлечения из травы мелиссы лекарственной. Проведен товароведческий анализ травы мелиссы лекарственной, определены ее числовые показатели: влажность 6,05%, содержание: суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин — 1,188±0,034%, органических кислот — 2,352±0,051%; кислоты аскорбиновой — 130 мг%; окисляемых веществ — 5,081±0,092%. Изучено влияние режимов экстрагирования сырья на концентрацию экстрактивных веществ в извлечениях. Определены оптимальные условия получения стабилизированного настоя мелиссы, обеспечивающие его качество: 1-я фаза — настаивание на кипящей водяной бане в течение 25 мин, экстрагент — вода очищенная с температурой 95–98°C, 2-я фаза — настаивание при комнатной температуре до полного охлаждения извлечения (не менее 45 мин); количество стабилизаторов (нипагина 0,15 г; трилона Б 0,5 г; натрия метабисульфита 0,5 г). На основе стабилизированного водного извлечения из травы мелиссы был разработан состав косметического крема. Окончательный состав крема: кокосового масла 5,0; эмульгатора Т-2 5,0; ланолина безводного 5,0; масла какао 5,0; скипидара 5,0; настоя мелиссы 1:20 до 100,0. Содержание биологически активных веществ в креме составило: суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин — 0,036 ±0,001%, органических кислот — 0,072 ±0,003%; кислоты аскорбиновой — 1,311±0,061 мг%; окисляемых веществ — 0,112±0,004%.

Ключевые слова: трава мелиссы лекарственной, биологически активные вещества, флавоноиды, настой, экстракция, стабилизация, крем, анализ

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY AND THE ANALYSIS OF COSMETIC CREAM ON THE BASIS OF THE GRASS OF MELISSA OFFICINALIS

Shatalova T.A.¹, Vdovenko-Martynova N.N.¹, Ayrapetova A.Y.¹, Temirbulatova A.M.¹

¹Pyatigorsk medical and pharmaceutical institute, Pyatigorsk branch of the SBEI of HPE Volgograd state medical university, Pyatigorsk, Russia (11, Kalinin ave, Pyatigorsk 357500); e-mail: shata61@bk.ru

The purpose of the real work is development of technology of cosmetic cream on the basis of the water stabilized extraction from a grass of a *Melissa officinalis*. The merchandising analysis of a grass of a *Melissa officinalis* is carried out, its numerical indicators are defined: humidity of 6,05%, contents: the sums of flavonoids, in terms of luteolin, - 1,188±0,034%, organic acids - 2,352±0,051%; acid ascorbic - 130 mg%; the oxidized substances - 5,081±0,092%. Influence of the modes of extraction of raw materials on concentration of extractive substances in extraction was studied. The optimum conditions of receiving the stabilized melissa infusion providing its quality are defined: 1 phase - insisting on the boiling water bath within 25 minutes, экстрагент - water the cleared with a temperature of 95-98 °C, 2nd phase - insisting at the room temperature before full cooling of extraction, not less than 45 minutes; number of stabilizers (nipagin of 0,15 g; trilon B of 0,5 g; sodium of metabisulphit of 0,5 g). On the basis of the stabilized water extraction from a grass of a melissa the composition of cosmetic cream was developed. A final part of cream are coconut oil 5,0; T-2 5,0 emulsifier; lanolin waterless 5,0; cocoa butter 5,0; turpentine 5,0; infusion of a melissa 1:20 to 100,0. The content of biologically active agents in cream made: the sums of flavonoids, in terms of luteolin, - 0,036 ±0,001%, organic acids - 0,072 ±0,003%; acid ascorbic - 1,311±0,061 mg of %; the oxidized substances - 0,112±0,004%.

Keywords: grass of a melissa officinalis, biologically active agents, flavonoids, infusion, extraction, stabilization, cream, analysis

Установлено, что в настоящее время у 80% женщин возникают структурные изменения в подкожно-жировой клетчатке (целлюлит) (Nicole J. Achenbach, Len Kravitz), причиной которых является совокупность различных факторов: от гормональных нарушений и

избыточного питания, богатого жирами и углеводами, до недостаточной физической активности [8]. Для предотвращения таких изменений используют наружные средства, усиливающие микроциркуляцию и улучшающие обменные процессы в коже. В качестве природных компонентов таких средств чаще всего используют: экстракты плюща, конского каштана, ромашки, арники, хвоща, лимона и др. В их состав входят: эфирные масла, оксикоричные кислоты, флавоноиды, макро- и микроэлементы [8]. Трава Melissa также является перспективным источником эфирного масла (содержит цитраль, цитронеллаль и др.), аскорбиновой кислоты, фенилпропаноидов (содержит розмариновую, кофейную, хлорогеновую кислоты и др.), флавоноидов (содержит лютеолин, апигенин и др.), кумарина эскулетина, макроэлементов калия, кальция, магния; микроэлементов кремния, марганца, меди, цинка, серы, селена и др. [2].

Последние результаты исследований ученых из университета Бастира (Bastyr University в Kenmore, штат Вашингтон, США) доказывают, что экстракты из травы Melissa при наружном применении улучшают микроциркуляцию в коже [4].

Целью настоящей работы явились изучение и разработка технологии косметического крема на основе водного стабилизированного извлечения из травы Melissa лекарственной.

Материалы и методика

На первом этапе исследований было проведено определение подлинности и товароведческих показателей травы Melissa лекарственной. Для исследования было собрано сырье Melissa лекарственной (трава), культивируемое в ботаническом саду Пятигорского медико-фармацевтического института. Для определения подлинности и доброкачественности сырья нами был проведен фармакогностический анализ в соответствии с требованиями фармакопеи [1, 3].

В связи с тем, что для получения извлечений (настоев) использовалась вода очищенная, данный экстрагент применялся и при определении экстрактивных веществ. Определение количества экстрактивных веществ проводили по методике, описанной в ГФ XI, вып. 1 [1]. В сырье устанавливали наличие полифенольных соединений (флавоноидов и дубильных веществ), органических кислот, кислоты аскорбиновой, используя рекомендации ГФ XI, вып. 2 [1, 7]. В частности, идентификацию флавоноидов в водном извлечении из травы Melissa проводили с помощью цветных химических реакций (цианидиновая проба, с раствором основного ацетата свинца, с раствором аммиака, с раствором алюминия хлорида) и методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) [7]. Для наилучшего разделения и обнаружения флавоноидов были изучены различные системы растворителей (спирт н-бутиловый — кислота уксусная — вода (БУВ) (4:1:2), этилацетат — кислота муравьиная — вода (10:2:3),

различные реактивы для детектирования (УФ свет, раствор алюминия хлорида (III), пары раствора аммиака концентрированного).

Для количественного определения флавоноидов использовали метод дифференциальной спектрофотометрии, основанный на реакции комплексообразования флавоноидов с алюминия хлоридом [5]. Дифференциальные спектры настоя мелиссы оказались близки по положению максимума дифференциальному спектру лютеолина, поэтому сумму флавоноидов определяли в пересчете на лютеолин ($\lambda_{\max} = 395 \pm 3$ нм).

Для количественного анализа аскорбиновой кислоты в сырье использовали титриметрическую методику с раствором 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия (0,001 моль/л) [1], для анализа органических кислот — титриметрическую методику с раствором натрия гидроксида. Определение содержания окисляемых веществ проводили с использованием метода перманганатометрии [1].

Затем было проведено изучение влияния режимов экстрагирования на концентрацию экстрактивных веществ в извлечениях из травы мелиссы. Критериями выбора оптимального времени экстрагирования явились: величина сухого остатка, содержание основных групп биологически активных веществ, сохранение их стабильности. Настои мелиссы 1:20 получали с использованием двухфазного режима [1]: 1-я фаза — настаивание на кипящей водяной бане в течение 15 (контроль, экстракция по методике ГФ XI издания [1], экстрагент — вода очищенная комнатной температуры), 20, 25, 30 мин (экстрагент — вода очищенная с температурой 95–98°C); 2-я фаза — настаивание при комнатной температуре до полного охлаждения и не менее 45 мин.

В настоях определяли концентрацию сухого остатка, содержание флавоноидов, дубильных веществ, органических кислот и витамина С, а также стабильность биологически активных веществ (БАВ) с использованием метода ТСХ. Для повышения стабильности БАВ мелиссы были использованы химические стабилизаторы (трилон Б и натрия метабисульфит) и консервант нипагин [5].

На основе стабилизированного водного извлечения из травы мелиссы был разработан состав косметического крема. В качестве компонентов для приготовления основы крема использовали: ланолин безводный, воск, масло кокосовое, скипидар, эмульгаторы: Т-2, палсгаард 6011, палсгаард 2007, твин 80. Компоненты основы подбирали таким образом, чтобы в них можно было ввести максимальное количество настоя мелиссы 1:20. Основы готовили путем сплавления компонентов. В первую очередь расплавляли самый тугоплавкий компонент, затем добавляли компоненты с меньшей температурой плавления (палсгаарды — температура плавления около 63°C; эмульгатор № 1 — температура плавления не менее 50°C; — эмульгатор Т-2 — температура плавления не менее 48°C; ланолин безводный —

температура плавления 38°C; масло кокосовое – температура плавления 28°C; скипидар – жидкий при комнатной температуре), затем добавляли настой Melissa и перемешивали до однородного состояния. Составы кремов представлены в таблице 1.

Таблица 1

Составы кремов на основе водного извлечения Melissa

Наименование компонента и его количество, г	№ состава											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Кокосовое масло	10	10	10	10	10	10	10	10	5	5	5	5
Эмульгатор Т-2	5	-	-	-	-	-	-	5	5	5	5	5
Ланолин безводный	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5
Палсгаард 6011	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Палсгаард 2007	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-	-
Твин 80	-	-	-	-	5	-	-	-	-	-	-	-
Масло какао	-	-	-	-	-	-	-	-	5	5	5	5
Скипидар	-	-	-	-	-	-	-	1	2	3	4	5
Настой Melissa	до 100 частей											

Все полученные составы были изучены на агрегативную устойчивость [6].

Результаты

В результате проведения макроскопического анализа исследуемого сырья были установлены внешние признаки высушенной Melissa травы, позволяющие констатировать подлинность лекарственного растительного сырья (ЛРС):

- 1) листья скрученные, тонкие, яйцевидной формы с клиновидным основанием, край городчатый, жилкование перистое; листья опушенные, зеленого цвета;
- 2) стебли четырехгранные, продольно желобчатые, серо-зеленные, с рыхлой серовато-белой сердцевинкой;
- 3) цветки и бутоны в ложных мутовках, в пазухах верхних листьев, с черешками;
- 4) прицветники эллиптические, заостренные;
- 5) чашечка двугубая, колокольчатая, опушенная, с плоской верхней губой, с 5 зубцами, зеленого цвета;
- 6) венчик двугубый, желтовато-белый;
- 7) запах слабый ароматный; вкус слегка горьковатый.

В результате микроскопического анализа установлены микродиагностические признаки ЛРС (рисунок):

- 1) клетки верхнего эпидермиса многоугольные с извилистыми стенками, клетки нижнего эпидермиса мельче с более извилистыми стенками;
- 2) устьица на обеих сторонах листа окружены двумя клетками эпидермиса, смежные стенки которых перпендикулярны устьичной щели (диацидный тип);

- 3) по жилкам и по краю листа встречаются 3–6-клеточные простые волоски (1) с толстыми стенками и бородавчатой кутикулой;
- 4) по всей поверхности листа имеются сосочковидные (2) и конусовидные (3) волоски с бородавчатой кутикулой; изредка встречаются железистые волоски на короткой одно-трехклеточной ножке с овальной одноклеточной головкой (4);
- 5) на нижней стороне листа в небольших углублениях находятся эфиромасличные железки, состоящие из 8 радиально расположенных выделительных клеток и одноклеточной короткой ножки (5).



Микроскопия листа Melissa лекарственной с поверхности (×40; обозначения в тексте)

При проведении товароведческого анализа сырья Melissa установлено, что содержание влаги в образце травы Melissa лекарственной составило $6,05 \pm 0,19\%$, общей золы — $11,94 \pm 0,49\%$, золы, не растворимой в 10%-ной хлористоводородной кислоте, — $2,18 \pm 0,08\%$. При экстрагировании травы Melissa водой очищенной по методике, описанной в ГФ XI, вып. 1 [2], извлекается около $12,52 \pm 0,51\%$ экстрактивных веществ.

Качественные реакции показали наличие в траве Melissa веществ флавоноидной природы. Наиболее оптимальные результаты были получены в системе БУВ (4:1:2) при обработке 2%-ным раствором алюминия хлорида (III) [7], пластинки «Сорбфил» — УФП — ПТСХ. В сырье в присутствии свидетелей (рутина, лютеолина) обнаружены: рутин ($R_f = 0,63 \pm 0,2$), лютеолин ($R_f = 0,92 \pm 0,2$) и три неидентифицированных пятна, имеющих желтую окраску после детектирования.

Содержание биологически активных веществ в траве Melissa лекарственной составило: суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин — $1,188 \pm 0,034\%$, органических кислот — $2,352 \pm 0,051\%$; кислоты аскорбиновой — 130 мг%; окисляемых веществ — $5,081 \pm 0,092\%$.

Результаты изучения режимов экстрагирования травы мелиссы представлены в таблице 2.

Таблица 2

Содержание сухих веществ, флавоноидов, аскорбиновой кислоты в настоях травы мелиссы, полученных разными способами

Время настаивания (1 фаза экстракции), мин	Экстрагент	Сухой остаток, %	Содержание			
			флавоноидов, %	органических кислот, %	аскорбиновой кислоты, мг %	дубильных веществ, %
15 (по ГФ XI)	вода очищенная, 20°C	0,390± 0,014	0,036± 0,002	0,073± 0,004	4,11± 0,14	0,156± 0,004
15	вода очищенная, 95–98°C	0,442± 0,015	0,042± 0,001	0,082± 0,003	4,59± 0,17	0,179± 0,006
20		0,463± 0,014	0,044± 0,002	0,087± 0,002	4,89± 0,19	0,188± 0,005
25		0,521± 0,016	0,049± 0,003	0,096± 0,004	5,27± 0,21	0,211± 0,008
30		0,498± 0,013	0,042± 0,002	0,097± 0,003	3,21± 0,15	0,213± 0,006
35		0,427± 0,015	0,040± 0,001	0,098± 0,003	2,17± 0,13	0,214± 0,007

Таким образом, при изучении влияния времени экстрагирования на концентрацию экстрактивных веществ в извлечениях из травы мелиссы оказалось, что оптимальное время экстрагирования составляет: 1-я фаза — настаивание на кипящей водяной бане в течение 25 мин, 2-я фаза — настаивание при комнатной температуре до полного охлаждения и не менее 45 мин. При таком режиме экстракции содержание БАВ в траве мелиссы лекарственной составило: суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин — 0,049±0,002%, органических кислот — 0,096±0,004%; кислоты аскорбиновой – 5,27±0,21 мг%; окисляемых веществ — 0,211±0,008%.

Определено количество стабилизаторов для настоя мелиссы 1:20: нипагина 0,15%; трилона Б 0,5%, натрия метабисульфита 0,5%.

По итогам исследований агрегативной устойчивости составов кремов за основу была принята композиция № 1: кокосовое масло 10 частей, эмульгатор Т-2 5 частей, настой мелиссы до 100 частей.

Для того чтобы ввести скипидар (обладает пенетрирующими свойствами), часть кокосового масла заменили на ланолин безводный и масло какао, часть настоя мелиссы заменили на скипидар от 1,0–5,0 г. Наилучшими свойствами обладал состав № 12.

Окончательный состав крема: кокосового масла 5,0; эмульгатора Т-2 5,0; ланолина безводного 5,0; масла какао 5,0; скипидара 5,0; настоя мелиссы до 100,0.

Технология крема состояла в следующем. Подготовленные ингредиенты расплавляли в следующем порядке: эмульгатор Т-2, ланолин б/в, масло какао, кокосовое масло перемешивали, охлаждали до температуры 35°C. В основу добавляли теплый (35°C) стабилизированный настой мелиссы 1:20, затем смешивали до получения однородной массы, охлаждали. В последнюю очередь добавляли скипидар, смешивали до получения однородной массы. Фасовку крема осуществляли в стеклянные широкогорлые баночки с навинчивающимися крышками, предохраняющими крем от внешних воздействий и обеспечивающими стабильность в течение установленного срока хранения.

Количественный анализ крема проводили после пробоподготовки образца. Содержание биологически активных веществ в косметическом креме составило: суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин — 0,036 ±0,001%, органических кислот — 0,072 ±0,003%; кислоты аскорбиновой – 1,311± 0,061 мг%; окисляемых веществ — 0,112±0,004%.

Выводы

1. Определены показатели подлинности ЛРС мелиссы лекарственной: влажность 6,05%, содержание: суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин — 1,188±0,034%, органических кислот — 2,352±0,051%; кислоты аскорбиновой – 130 мг%; окисляемых веществ — 5,081±0,092%.
2. Установлены оптимальные условия получения стабилизированного настоя мелиссы, обеспечивающие его качество: 1-я фаза — настаивание на кипящей водяной бане в течение 25 мин, экстрагент вода очищенная с температурой 95–98°C; 2-я фаза — настаивание при комнатной температуре до полного охлаждения извлечения, не менее 45 мин; количество стабилизаторов (нипагина 0,15%; трилона Б 0,5%; натрия метабисульфита 0,5%).
2. Научно обоснован и разработан состав крема: кокосового масла 5,0; эмульгатора Т-2 5,0; ланолина безводного 5,0; масла какао 5,0; скипидара 5,0; настоя мелиссы 1:20 до 100,0.
3. Проведен анализ основных БАВ извлечения травы мелиссы в составе крема. Содержание биологически активных веществ в косметическом креме составило: суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин — 0,036 ±0,001%, органических кислот — 0,072 ±0,003%; кислоты аскорбиновой – 1,311± 0,061 мг%; окисляемых веществ — 0,112±0,004%.

Список литературы

1. Государственная фармакопея СССР: в 2 вып. — Изд. 11-е - М.: Медицина, 1987 – Вып. 1; 1990. — Вып. 2.

2. Мелисса лекарственная. Режим доступа: http://oblepiha.com/lekarstvennyye_rasteniya/770-melissa-lekarstvennaya.html
3. Морфолого-анатомическое исследование листьев фейхоа *Feijoa sellowiana* berg./Н.Н. Вдовенко-Мартынова, Н.В. Кобыльченко, Т.И. Блинова и др.//Фармация и фармакология. — 2015. — № 1. — С. 4–10.
4. Настой из мелиссы вылечит целлюлит/ Росбалт, 13/03/2011 — Режим доступа: <http://www.rosbalt.ru/style/2011/03/13/827912.html>
5. Получение стабилизированных водных извлечений из плодов софоры, травы душицы, цветков липы / Т.А. Шаталова, А.Ю. Айрапетова, Л.А. Мичник и др.//Известия Самарского научного центра Российской академии наук. — 2011. — Т. 13, № 1–4. — С. 956–959.
6. Тенцова А. И., Грецкий В. М. Современные аспекты исследования и производства мазей. М.: Медицина, 1980. 192 с.
7. Химический анализ лекарственных растений: учеб. пособие для фарм. вузов и фак. / Е.Я. Ладыгина и др.; / Под ред. Н. И. Гринкевич, Л.Н. Софронич. – М.: Высш. школа, 1983. — 176 с.
8. Achenbach Nicole J., Kravitz Len. Cellulite: A Review of Its Anatomy, Physiology and Treatment.// IDEA Fitness Journal. - Volume 7. — Issue 4. Режим доступа: <http://www.idealife.com/fitness-library/cellulite-a-review-of-its-anatomy-physiology-and-treatment>.

Рецензенты:

Попова О.И., д.фарм.н., профессор кафедры фармакогнозии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Пятигорск;

Компанцев В.В., д.фарм.н., профессор кафедры неорганической, физической, коллоидной химии Пятигорского медико-фармацевтического института филиала ГБОУ ВПО «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, г. Пятигорск.