

УДК 543.544:615.454.1:616.53

## ВИКОРИСТАННЯ МЕТОДУ РІДИННОЇ ХРОМАТОГРАФІЇ ДЛЯ ВИЗНАЧЕННЯ КОЄВОЇ КИСЛОТИ В КОСМЕТИЧНОМУ ЗАСОБІ ДЕПІГМЕНТУЮЧОЇ ДІЇ

О.В.Чуб, С.М.Губарь

Національний фармацевтичний університет,  
61000, м. Харків, вул. Блюхера, 4. E-mail: aromafarm@gala.net

*Ключові слова:* коєва кислота; косметичний засіб; депігментуюча дія

**Розроблена методика кількісного визначення коєвої кислоти у тоніку з відбілюючим ефектом методом високоефективної рідинної хроматографії з попередньою пробопідготовкою, що дозволяє контролювати її якість у косметичного засобу депігментуючої дії.**

**THE LIQUID CHROMATOGRAPHY APPLICATION FOR DETERMINATION OF THE KOJIC ACID IN A COSMETIC AGENT WITH THE BLEACHING ACTION**

**Ye.V.Chub, S.N.Gubar**

**The method for the quantitative determination of the kojic acid in the tonic with the bleaching effect has been developed by the HPLC with the preliminary assay preparation. It allows controlling its quality in the cosmetic agent with the bleaching action.**

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ МЕТОДА ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОЕВОЙ КИСЛОТЫ В КОСМЕТИЧЕСКОМ СРЕДСТВЕ ДЕПИГМЕНТИРУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ**

**Е.В.Чуб, С.Н.Губарь**

**Разработана методика количественного определения коевой кислоты в тонике с отбеливающим эффектом методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с предварительной пробоподготовкой, что позволяет контролировать ее качество в косметическом средстве депигментирующего действия.**

Серед сучасних відбілюючих субстанцій — інгібіторів тирозинази коєва кислота (5-гідрокси-2-гідроксиметилупірон) займає одне з провідних місць. Крім того, вона чинить відлущуючу дію, здатна зв'язувати іони двовалентного заліза і захоплювати вільні радикали. Нами був розроблений депігментуючий тонік, до складу якого входить коєва кислота [1, 6].

Метою даної роботи є розробка методики кількісного визначення коєвої кислоти — активного компоненту тоніку з відбілюючим ефектом для його подальшої стандартизації.

Встановлено, що найбільш придатним методом для визначення вмісту коєвої кислоти у тоніку є метод високоефективної рідинної хроматографії [4, 5, 8].

Визначення проби коєвої кислоти проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором. Для визначення коєвої кислоти використовували колонку Microsorb 100 C<sub>8</sub>, 5 μm розміром 250 x 4,6 мм з рухомою фазою: метанол Р — 0,1% розчин трифтороцтової кислоти у воді (20:80) у %, швидкість рухомої фази — 2,0 мл/хв; температура колонки + 30°C.

Детектування проводили спектрофотометрично за довжиною хвилі λ=254 нм.

Як розчини порівняння використовували розчин, приготований із фармакопейного стандартного зразка (ФСЗ) ДФУ коєвої кислоти.

### Експериментальна частина

#### 1. Кількісне визначення коєвої кислоти

##### *Приготування випробовуваного розчину препарату*

Близько 1,50 г (точна наважка) препарату поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, розчиняють у 10 мл рухомої фази, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують.

Розчин використовують свіжоприготованим.

##### *Приготування розчину порівняння кислоти коєвої*

Близько 50 мг (точна наважка) ФСЗ ДФУ кислоти коєвої поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 30 мл рухомої фази, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують (розчин 1).

1,0 мл розчину 1 поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою Р до позначки і перемішують (кислота коєва 0,1 мг/мл).

Розчини використовують свіжоприготованими.

По 20 мкл випробовуваного розчину та розчину порівняння кислоти коєвої попеременно хроматографують на рідинному хроматографі з УФ-детектором, отримуючи не менше 5 хроматограм для кожного розчину у наступних умовах:

— колонка Microsorb 100 C<sub>8</sub>, 5 μm розміром 250x4,6 мм;

— рухома фаза: метанол Р — 0,1% розчин трифтороцтової кислоти у воді (20:80), %;

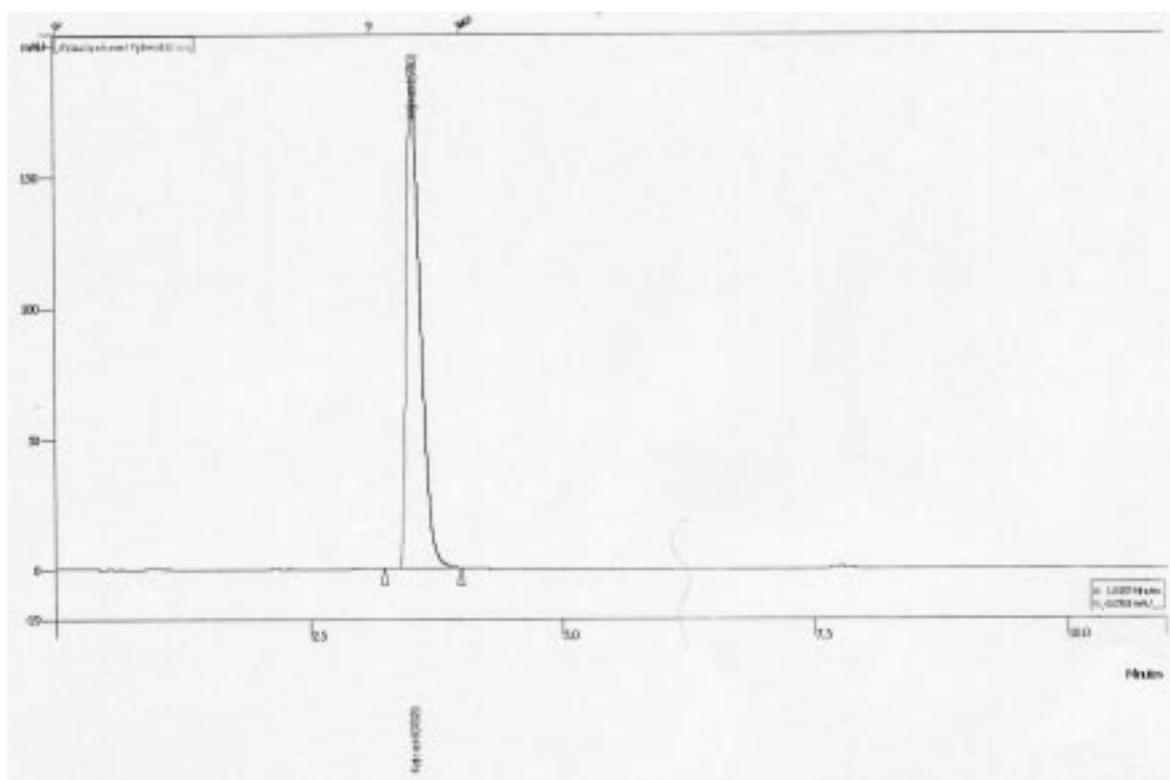


Рис. 1. Хроматограма розчину порівняння кислоти коєвої.

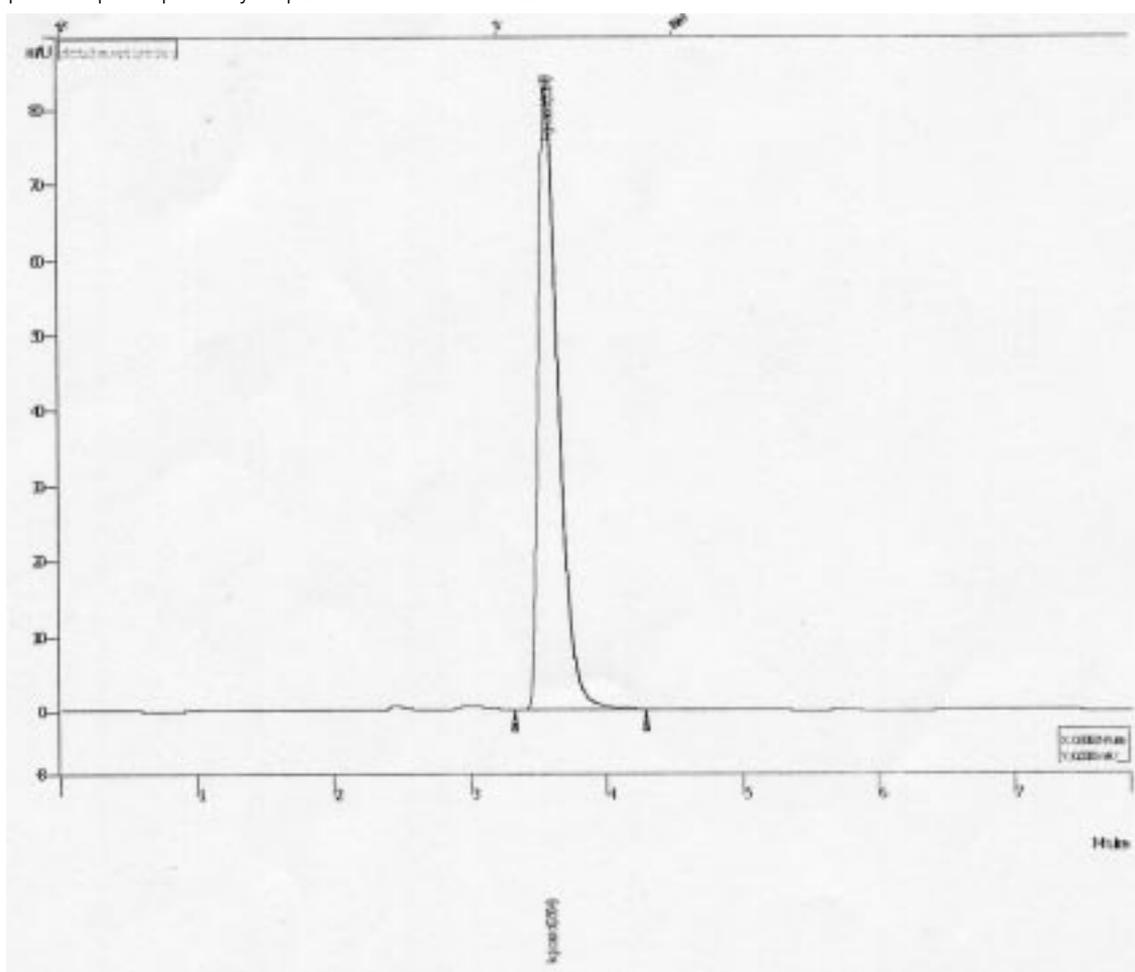


Рис. 2. Хроматограма випробовуваного розчину препарату.

- швидкість рухомої фази — 2,0 мл/хв;
- детектування за довжиною хвилі  $\lambda=254$  нм;
- температура колонки  $t=+30^\circ\text{C}$ .

Вміст кислоти коєвої (X) (мг) в 1 мл препарату обчислюють за формулою:

$$X_i = \frac{S_i \times m_{oi} \times 1 \times 25 \times \rho}{S_{oi} \times 50 \times 10 \times m} = \frac{S_i \times m_{oi} \times \rho}{S_{oi} \times m \times 20},$$

де:  $S_i$  — середнє значення площ піків кислоти коєвої, обчислене з хроматограм випробовуваного розчину;

$S_{oi}$  — середнє значення площ піків кислоти коєвої, обчислене з хроматограм розчину порівняння кислоти коєвої;

$m$  — маса наважки препарату, г;

$m_{oi}$  — маса наважки ФСЗ ДФУ кислоти коєвої, мг;

$\rho$  — густина препарату, г/мл.

Вміст  $\text{C}_6\text{H}_6\text{O}_4$  (кислоти коєвої) в 1 мл препарату має бути від 16,5 мг до 13,5 мг (15,0 мг  $\pm$  10 %).

*Примітки.*

1. *Перевірка придатності хроматографічної системи.*

Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються наступні умови:

— ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком кислоти коєвої, має бути не менше 7000 теоретичних тарілок (ДФУ, 1 вид., 2.2.29);

— відносне стандартне відхилення, розраховане для площі піку кислоти коєвої, має бути не більше 2,0%;

— коефіцієнт симетрії піку, розрахований за піком триклозану, має бути не більше 1,22 (ДФУ, 1 вид., 2.2.29).

2. *Приготування 0,1% розчину трифторооцтової кислоти.* 1,0 мл кислоти трифторооцтової поміщають у мірну колбу місткістю 1000 мл, додають 500 мл води Р, перемішують, доводять об'єм розчину водою Р до позначки та перемішують.

Розчин використовують свіжоприготованим.

#### Висновки

Розроблена методика кількісного визначення активного компонента тоніку депігментуючої дії (коєвої кислоти) методом високоефективної рідинної хроматографії з попередньою пробопідготовкою, що дозволяє контролювати його якість у косметичному засобі, який використовується для відбілювання шкіри.

#### Література

1. Авраменко Г.В., Войткевич С.А., Гульї С.Е. и др. Толковый словарь по косметике и парфюмерии: В 2 т./ Под общ. ред. Т.В.Пучковой. — М.: Клавель, 2000. — Т. 2. — С. 13-14.
2. Державна фармакопея України/ Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІРЕГ, 2001. — 556 с.
3. Рудаков О.Б., Востров И.А., Федоров С.В. и др. Спутник хроматографиста. — Воронеж, 2004. — 527 с.
4. Схунмакерс П. Оптимизация селективности в хроматографии. — М.: Мир, 1989. — 339 с.
5. Фицпатрик Т.Е., Джонсон Р., Вулф К. Дерматология: Атлас-справочник / Пер. с англ. — М.: Практика, 1999. — 1088 с.
6. Эрнандес Е.В. // Косметика и медицина. — 2000. — №1. — С. 19-16.
7. Poole C.F., Poole S.R. Chromatography today. Ed. 5. — Amsterdam, he Netherlands: Elsevier, 1991. — 1026 p.
8. Regos J., Hiltz H. // J. Zentralbl. Bakteriол. — 1994. — Vol. 3, №226. — P. 390-401.
9. Regos J., Zak O., Solf R. et al. // J. Dermatologica. — 1990. — Vol. 1, №156. — P. 72-79.
10. Fitzpatrick T.B. Dermatology in General Medicine. — New York; St. Louis, 1987. — 2611 p.

Надійшла до редакції 17.08.2006 р.