

ФАРМАЦИЯ PHARMACIA

Том/Volume LVIII

2011

Книжка/Number 1-4

СПИСАНИЕ НА БЪЛГАРСКОТО НАУЧНО ДРУЖЕСТВО ПО ФАРМАЦИЯ

Главен редактор: Ст. Николов

Секретар: Ал. Златков

Редакционна колегия:

Зл. Димитрова, Св. Богданова, И. Иванов, Г. Китанов, И. Йонкова, Н. Данчев, Г. Петрова,
Д. Обрешкова, Ст. Титева, И. Костадинова, Ф. Клерфьой, Е. Х. Хансен,
М. Шефер, Р. Грьонинг, Л. Пистели, М. Унзета

JOURNAL OF THE BULGARIAN PHARMACEUTICAL SCIENTIFIC SOCIETY

Editor in Chief: St. Nikolov

Assistant Editor: Al. Zlatkov

Editorial Board:

Zl. Dimitrova, Sv. Bogdanova, I. Ivanov, G. Kitanov, I. Jonkova, N. Danchev, G. Petrova, D. Obreshkova, St. Titeva, I.
Kostadinova, F. Clerfeuille, E. H. Hansen, M. Schaefer,
R. Gröning, L. Pistelli, M. Unzeta

Адрес на редакцията

Фармацевтичен факултет
ул. "Дунав" 2, София 1000
Факс (02) 987 987 4

Гл. редактор: ☎ (02) 987 987 4

E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

Address of Editorial Board

Faculty of Pharmacy
2, Dunav str., Sofia 1000
Fax (02) 987 987 4

Editor in Chief: ☎(+359 2) 987 987 4

E-mail: snikolov@mbox.pharmfac.acad.bg

СЪДЪРЖАНИЕ

Оригинални статии

<i>I. Манолов.</i> Синтез, структурни изследвания и свойства на някои производни на 4-хидроксикумарина.....	3
<i>A. Златков, B. Цветкова, Л. Андонова и П. Пейков.</i> Синтез, структурен анализ и определяне на лекарствено подобие на някои имидазолови производни.....	18
<i>M. Георгиева, A. Бижев и И. Ненчева.</i> Изолиране и характеризирание на пиролови хидразони с евентуална туберкулостатична активност. сравняване на методи за сепарирание.....	26
<i>И. Манолов, Ч. Майхле-Мьосмер, E. Нике, Г. Момеков и X.-Ю. Махула.</i> Синтез, структура и цитотоксична активност на производно на 2-нитрофенилаланина.....	32
<i>Б. Николова-Младенова, Г. Момеков и Д. Иванов.</i> Синтез на физикохимична характеристика на нов дериват на салицилалдехид бензол хидразона с висока цитотоксична активност.....	41
<i>Л. Пейкова, И. Пенчева, М. Манова и Г. Петрова.</i> Изследване с високоефективна течна хроматография на двойни и тройни смеси, съдържащи Venlafaxine, Citalopram, Sibutramine.....	45
<i>М. Манова, И. Пенчева, П. Пейков, Г. Петрова и Б. Цветкова.</i> Валидиране на течнохроматографски метод за количествено определяне на HMG Co-A редуктазни инхибитори.....	50
<i>A. Тачев.</i> Бързи методи за количествено определяне на флавоноиди и танини в козметични продукти.....	55
<i>Б. Костова, Р. Попова и Д. Рачев.</i> Получаване и оптимизиране на матрични системи с включено лекарствено вещество със слабобазични свойства на база Kollidon® Sr.....	59
<i>C. Георгиева и Я. Колева.</i> Естрогенна активност на метаболитите на някои съединения, действащи върху ендокринната система.....	65
<i>C. Лазаров, Р. Николов, А. Момчилова и E. Янев.</i> Ефекти на Nimesulide върху фосфолипидния състав на алвеоларния сърфактант при плъхове с модел на септичен респираторен дистрес синдром.....	77
<i>A. Стоименова, A. Савова, М. Манова, Г. Драганов, Г. Петрова и A. Златков.</i> Взаимодействия на Ginkgo biloba с лекарствени продукти.....	83
<i>E. Кожухарова, П. Михнев, Pier-Luigi Nimis.</i> Проектът „Ключ към природата” – интерактивно електронно пособие за изучаване и разпознаване на лечебни растения.....	91
<i>X. Лебанова, E. Григоров и И. Гетов.</i> Материовигиланс – основни понятия и законодателна рамка.....	98
<i>Б. Кирилов, E. Григоров и И. Гетов.</i> Проучване на приложението на витамини с антиоксидантни свойства и анализ на пазара в България.....	104
Обзори	
<i>Д. Обрешкова.</i> Аналитично проучване и качествен контрол на български продукти от растителен произход с антиоксидантна активност.....	108
Инструкции към авторите	115

CONTENTS

Original articles

<i>I. Manolov.</i> Synthesis, structure investigations and properties of some 4-hydroxycoumarin derivatives.....	3
<i>Al. Zlatkov, B. Tsvetkova, L. Andonova and P. Peykov.</i> Synthesis, structural analysis and drug-likeness estimation of some imidazole derivatives.....	18
<i>M. Georgieva, A. Bijev and I. Nenchewa.</i> Isolation and characterization of isomers of pyrrole-hydrazones with possible tuberculostatic activity. comparison of methods for separation.....	26
<i>I. Manolov, C. Maichle-Mössmer, E. Niquet, G. Momekov and H.-J. Machulla.</i> Synthesis, structure and cytotoxic activity of a 2-nitrophenylalanine derivative.....	32
<i>B. Nikolova-Mladenova, G. Momekov and D. Ivanov.</i> Synthesis and physicochemical characterization of new salicylaldehyde benzoyl hydrazone derivative with high cytotoxic activity.....	41
<i>L. Peykova, I. Pencheva, M. Manova and G. Petrova.</i> HPLC study of binary and triple mixtures containing venlafaxine, citalopram and sibutramine.....	45
<i>M. Manova, I. Pencheva, P. Peikov, G. Petrova and B. Tsvetkova.</i> Validation of hplc method for determination of HMG Co-A reductase inhibitors.....	50
<i>A. Tachev.</i> Rapid methods for quantitation of flavonoids and tannins in cosmetic products.....	55
<i>B. Kostova, R. Popova and D. Rachev.</i> Obtaining and optimization of matrix systems which contain drug with weak basic properties based on Kollidon® SR.....	59
<i>S. Georgieva and Y. Koleva.</i> Metabolic estrogenic activity of some endocrine disruptor chemicals.....	65
<i>S. Lazarov, R. Nikolov, A. Momtchilova and E. Yanev.</i> Effects of nimesulide on the phospholipid composition of the alveolar surfactant in rats with model of the septic respiratory distress syndrome.....	77
<i>A. Stoimenova, A. Savova, M. Manova, G. Draganov, G. Petrova and A. Zlatkov.</i> Medicine interactions with Ginkgo biloba.....	83
<i>E. Kozuharova, P. Mihnev and Pier-Luigi Nimis.</i> The Key-to-Nature Project – interactive e-tool for studying and identification of medicinal plants.....	91
<i>H. Lebanova, E. Grigorov and I. Getov.</i> Materiovigilance – Basic Concepts And Legislative Framework.....	98
<i>B. Kirilov, E. Grigorov and I. Getov.</i> Study on the use of antioxidant vitamins on the bulgarian market.....	104
Reviews	
<i>D. Obreshkova.</i> Analytical study and quality control of bulgarian drugs with antioxidant activity.....	108
Instructions To Authors	118

ФАРМАЦИЯ 1-4/2011

ISSN 0428-0296

УДК 615

Организационен секретар *Св. Цветанова*
Стилова редакция *Св. Цветанова и д-р Б. Станчева (на англ. ез.)*
Корекция *Св. Цветанова*
Терминологичен и семантичен контрол *д-р Б. Станчева*
Форматиране *О. Маркова*

Подписана за печат на 09.01.2011 г.

Печатни коли 15, формат 60 x 90/8

Централна медицинска библиотека
1431 София, ул. „Св. Г. Софийски” № 1, тел. 952-16-45, Fax: 851 82 65
e-mail: svetlamu@mail.bg

БЪРЗИ МЕТОДИ ЗА КОЛИЧЕСТВЕНО ОПРЕДЕЛЯНЕ НА ФЛАВОНОИДИ И ТАНИНИ В КОЗМЕТИЧНИ ПРОДУКТИ

А. Тачев

Национален център по опазване на общественото здраве към МЗ – София

Резюме. Много от растителните екстракти, богати на флавоноиди и танини, намират широко приложение в разнообразни козметични продукти – подхранващи и защитни кремове, тоалетни млека и емулсии, шампоани и балсами за коса, лосиони и балсами за след бръснене и др. Флавоноидите и танините оказват благоприятно действие върху кожата и косата. В публикуваните като референтни методи за проверка на състава на козметичните продукти (приложение № 10 на Наредба № 36) не фигурират методи за определяне на флавоноиди и танини в козметични продукти. Това налага разработването на методи за нуждите на контрола. Разработен е достъпен спектрофотометричен метод за определяне на флавоноиди (като рутин) в козметични продукти, основаващ се на взаимодействието на рутин с 10% воден разтвор на амониев молибдат. При това се образува цветно съединение с жълт цвят, което се спектрофотометрира при дължина на вълната 360 nm. Методът е бърз, лесен за изпълнение, не изисква сложна и скъпа апаратура и може да бъде използван при контрола на козметичните продукти. Разработен е достъпен титриметричен метод за определяне на дъбилни вещества (като танини), основаващ се цветна реакция между танините и индикатор (разтвор на индигокармин) и перманганатометрично титриране с 0,1 n (0,02 m) воден разтвор на калиев перманганат. Методът е бърз, лесен за изпълнение, не изисква сложна и скъпа апаратура и може да бъде използван при контрола на козметичните продукти.

Ключови думи: козметични продукти, флавоноиди, танини

RAPID METHODS FOR QUANTITATION OF FLAVONOIDS AND TANNINS IN COSMETIC PRODUCTS

A. Tachev

National Center of Public Health Protection, Sofia

Summary. A variety of plant extracts rich in flavonoids and tannins are widely-used in different cosmetic products – regenerative and skin protection creams, toilet milks and emulsions, hair shampoos and conditioners, lotions and aftershaves etc. Flavonoids and tannins have potential beneficial effects on the skin and hair. In referent methods published for checking the composition of cosmetic products (Annex № 10 of the Ordinance № 36), no methods have been found for determination of flavonoids and tannins in cosmetic products. Therefore, the necessity of developing a method for the needs of control has been arisen. A spectrophotometric method was developed for the quantitation of flavonoids (like rutin) in cosmetic products, based on the interaction of rutin with 10% aqueous solution of ammonium molybdate. The compound formed has yellow colour, which is spectrophotometred at 360 nm wavelength. The proposed method is rapid, easy to be performed and does not require any sophisticated and expensive equipment. Thus, it can be used in the control of cosmetic products. A titrimetric method was developed for the quantitation of tanning extracts (tannins) based on color reaction between the tannins and an indicator (solution of indigo carmine) and the permanganate titration with 0,1 n (0,02 m) aqueous solution of potassium permanganate. The proposed method is rapid, easy to be performed, and does not require any complex and expensive equipment. Therefore, it can be used in the control of cosmetic products.

Key words: cosmetic products, flavonoids, tannins

Напоследък все повече хора се обръщат към козметични продукти, направени изцяло от естествени съставки. Това се отнася най-вече за продуктите за грижа за кожата. Желанието да се

използват стари, традиционни рецепти и съставки от природата излиза на все по-преден план в съзнанието ни, когато избираме какви продукти да използваме. Най-често използваните натурал-

ни съставки, прилагани в козметични продукти, са растителни и билкови екстракти, етерични масла, плодови и семкови масла и органични продукти. Има исторически сведения, че всички древни цивилизации са откривали и използвали действието на натуралните и билковите продукти за козметични цели. Лекарства, козметика, тоалетни принадлежности – всички те са се приготвяли от натурални продукти. Плюсовете от използването на естествени продукти са неизброими. Тяхната ефикасност е доказана във времето, като освен това, заради своята натуралност, те са безвредни за кожата. Добрата комбинация от ефикасни билки може не просто да има козметичен ефект, а и да лекува проблеми по кожата или косата. Натуралните продукти снабдяват кожата с някои от естествените и подхранващи съставки. Етеричните масла, извлечени от някои растения, могат да доведат до невероятни резултати – използвани в състава на кремове и мазила, като ароматерапевтични агенти. Те могат да лекуват физически и психични проблеми и също така да променят настроението и усещанията ни според желанията ни. Натуралните продукти са много разнообразни като средства за лечение и разкрояване, но още по-хубаво тяхно качество е удоволствието, което ни осигуряват. Използването на такива продукти е много по-приятно и усещането, че се сливаш с природата и получаваш благата ° директно през кожата си, е неопишуемо. Естественото изглеждане и хармонията, която излъчват и предават натуралните продукти, не може да бъде имитирана и подменена. Когато един парфюм е направен от естествени масла, уханието му не просто ви привлича, а усещате аромата като жив. Когато маслата, които попиват в тялото ви при масаж или след баня, са естествени растителни масла, те попиват и се сливат с кожата ви, за да ° придадат невероятния вид и здравина не за момента и не изкуствено, а по най-естествен и приятен начин.

Флавоноидите са най-широко познати заради действието си като антиоксиданти. В средствата за масова информация флавоноидите често се наричат „биофлавоноиди“ – двата термина са еквивалентни и взаимозаменяеми, тъй като всички флавоноиди са с биологически произход. Флавоноидите са широко разпространени в растенията, изпълнявайки много функции, като производството на жълта или червена/синя пигментация при цветята и предпазване от атаки на

микроби и насекоми. Широкото разпространение на флавоноидите, тяхното разнообразие и сравнително ниската им токсичност в сравнение с други активни растителни съединения (например алкалоидите) означава, че много животни, включително и хората, поглъщат значителни количества от тях с храната си. Открити са флавоноиди в големи концентрации при пеперудите и молците, получени при поемане в стадия на ларви и впоследствие запазени в тъканите на възрастното насекомо. Флавоноидите защитават клетъчните структури – повечето флавоноиди функционират в човешкото тяло като антиоксиданти. В това си качество те спомагат за неутрализиране на прекомерно реагиращи кислородсъдържащи молекули и предотвратяват разрушаването на клетките от тях. Флавоноидите представляват водноразтворими растителни пигменти. Те се разделят в няколко категории, които са изофлавонони, антоцианидини, флавани, флавоноли, флаволи и флавонони. Някои от най-популярните флавоноиди, като генистеина в соята и кверцетина в лука, се приемат като подкатегории. Въпреки подобната структура на флавоноидите, функцията на отделните категории значително се различава. Към флавоноидите се включват също хесперидинът, рутинът и цитрусовите флавоноиди. До момента са идентифицирани повече от 4000 флавоноида. Групата на флавоноидите включва хесперидин, рутин, нарингин, кверцетин, аргинин и много други.

Танините са полимерни фенолни съединения с молекулно тегло от 1000 до 5000. Те са широко разпространени в растенията, но особено богати на тези вещества са представителите на семействата върбови, букови, лападови, розоцветни, здравецови, бобови, устноцветни, ерикови и др. Танините са главна действаща съставка на лечебните растения от родовете дъб, очибелец, кървавиче, смрадлика и др. Най-често се натрупват в кората на ствола при дървесните видове, но също се съдържат в корените и коренищата, листата и стъблата на тревистите растения. Природните дъбилни вещества се разделят на два вида:

– **Кондензирани танини.** Те са полимери на катехините (флаванол 3) и лейкоцианидините или съполимери на тези два типа флавоноидни съединения. Тук се отнасят танините, които се съдържат в кората на дъба, коренището на очибелеца, плодовете на черната боровинка, стръкове на камшика и др.

– **Хидролизиращи се танини.** Под действието на киселини те се хидролизират до по-прости фенолни съединения, като галова и елагова киселина, и в зависимост от това се разделят на: а) галотанини и б) елаготанини.

Галотанините са естери на галовата и дигаловата киселина с глюкоза, при което към една молекула глюкоза могат да се присъединят до 5 молекули галова или дигалова киселина. В елаготанините захарите са гликозидно свързани с елагова киселина, която няма свободна карбоксилна група и свързването е чрез фенолните хидроксилни групи. Богати на елаготанини са шикалките, листата на смрадликата, коренището на динката и др. Танините се прилагат главно като затягащи (адстрингентни) средства поради тяхното уплътняващо действие върху тъканите и кръвоносните съдове. Те образуват върху външния пласт на лигавицата или кожата коагулационна мембрана, която предпазва тъканите и окончанията на сетивните нерви от дразненето на различни агенти.

В публикуваните като референтни методи за проверка на състава на козметичните продукти (приложение № 10 на Наредба № 36) [1] не фигурират методи за определяне на флавоноиди и танини в козметични продукти. Това налага разработването на методи за нуждите на контрола.

За определянето на флавоноиди и танини в козметични продукти главно се използват сложни, скъпи и трудоемки методи с високоефективна течна хроматография (HPLC) [2, 3, 4, 5, 6]. Не са намерени достъпни, бързи и лесни за приложение методи, каквито са необходими за нуждите на осъществявания от РЗИ контрол на козметичните продукти.

Целта на проучването е разработване на достъпни спектрофотометричен и титриращ метод за определяне на флавоноиди (като рутин) и танини в козметични продукти.

Материал и методи

1. Разработване на достъпен спектрофотометричен метод за определяне на флавоноиди (като рутин), основаващ се на образуването на специфичен цветен комплекс с жълт цвят, на който се измерва абсорбцията при дължина на вълната $\lambda = 360 \pm 2 \text{ nm}$ при компенсация с дестилирана вода.

2. Разработване на лесен и достъпен титриметричен метод за определяне на танини, основаващ се на цветна реакция между танините и

индикатор (разтвор на индигокармин) и перманганатометрично титруване с 0,1 n (0,02 m) воден разтвор на калиев перманганат.

Спектрофотометричен метод за определяне на флавоноиди (като рутин)

Апаратура, реактиви и консумативи:

- спектрофотометър Спекол 11
- кювети с дебелина на слоя 1 cm³
- пипети от 1,00 cm³ и 2,00 cm³
- мерителни колби от 50,00 cm³
- метилов алкохол – чза
- етилов алкохол абсолютен
- амониев молибдат 10% воден разтвор
- дестилирана вода
- стандартен разтвор на рутин: претеглят се 0,1 g рутин с точност $\pm 0,0001 \text{ g}$ и се разтваря в метилов алкохол до 10,00 cm³. От така получен разтвор се отпипетират 2,00 cm³ и се прехвърлят в мерителна колба от 50,00 cm³. Колбата се темперира при 20°C и се долива до марката с абсолютен етилов алкохол.

Извършване на определянето: претеглят се 10,0 g от козметичния продукт с точност $\pm 0,0001 \text{ g}$ и се прехвърлят количествено през хартиен филтър „синя лента” в мерителна колба от 50,00 cm³ с абсолютен етилов алкохол. От този разтвор се отпипетират 1,00 cm³ в друга мерителна колба от 50,00 cm³. Прибавят се 2,00 cm³ дестилирана вода, 5,00 cm³ 10% воден разтвор на амониев молибдат и след темпериране при 20°C се долива до марката с дестилирана вода. На така получения цветен жълт комплекс се измерва абсорбцията при дължина на вълната $\lambda = 360 \pm 2 \text{ nm}$ при компенсация дестилирана вода.

Успоредно с анализираната проба се разработва 1,00 cm³ от 0,04% стандартен разтвор на рутин. Съдържанието на флавоноиди, като рутин (X), в проценти се определя по формулата:

$$X = \frac{As \times Cst \times 50}{Ast \times m} \times 100, \text{ където:}$$

As – абсорбция на пробата

Ast – абсорбция на стандарта

Cst – количество рутин в стандартния разтвор, в g (0,0004 g)

m – маса на анализираната проба, в g

Титриметричен метод за определяне на дълбилни вещества, като танини, в козметични продукти

Апаратура, реактиви и консумативи:

- електромагнитна бъркалка
- калиев перманганат – 0,1 n (0,02 m) воден разтвор
- индикатор (индигокармин – 0,25% воден разтвор)
- мерителни цилиндри от 50,00 cm³ и 100 cm³
- мерителни колби от 100,00 cm³
- пипети от 2,00 cm³

Извършване на определянето – претеглят се около 10,0 g от козметичния продукт с точност ± 0,0001 g и се хомогенизира с 50,00 cm³ дестилирана вода на електромагнитна бъркалка. След темпериране се довежда до мярката с дестилирана вода в мерителна колба от 100,00 cm³. При непрекъснато разбъркване се прибавят 2,00 cm³ от разтвора на индикатора (индигокармин – 0,25% воден разтвор) и се титрира с 0,1 n воден разтвор на калиев перманганат до промяна на цвета от син в зелен. Успоредно с анализираната проба се разработва и празна проба – към 100,00 cm³ дестилирана вода се добавят 2,00 cm³ от разтвора на индикатора (индигокармин – 0,25% воден разтвор) и се титрира с 0,1 n воден разтвор на калиев перманганат до промяна на цвета от син в тъмно жълт. Изчисляването на дъбилните вещества, като танини (X), в проценти се извършва по формулата:

$$X = \frac{(V - V_0) \times F \times 0,0041557}{m} \times 100, \text{ където:}$$

V – количеството 0,1 n калиев перманганат, изразходван при титруване на анализираната проба, в cm³

V₀ – количеството 0,1 n калиев перманганат, изразходван при титруване на празната проба, в cm³

F – фактор на 0,1 n воден разтвор на калиев перманганат

m – маса на анализираната проба, в g
0,0041557 – количеството дъбилни вещества (като танини), в g, отговарящи на 1,00 cm³ 0,1 n воден разтвор на калиев перманганат

Заклучение

Разработените титриметричен метод за определяне на дъбилни вещества (като танини) и спектрофотометричен метод за определяне на флавоноиди (като рутин) в козметични продукти са бързи, лесни за изпълнение, не изискват сложна и скъпа апаратура и могат да бъдат използвани при контрола на козметичните продукти.

Библиография

1. Н а р е д б а № 36 от 30 ноември 2005 г. за изискванията към козметичните продукти (обн., ДВ, бр. 101 от 2005 г., изм. и доп., бр. 44 от 2006 г., изм., бр. 75 от 2006 г., изм. и доп., бр. 39 от 2007 г., изм. и доп., бр. 106 от 2007г., изм. и доп.бр. 80 от 2008 г., изм. и доп., бр. 35 от 2009 г., изм. и доп., бр. 2 от 2010 г., изм. и доп., бр. 62 от 2010 г.).
2. R o l i m, A et al. Validation Assay for Total Flavonoids, as Rutin Equivalents, from *Trichilia catigua* ADR. Juss (Meliaceae) and *Ptychopetalum olacoides* Benth (Omalaceae) Commercial Extract. – Journal of AOAC International, **88**, 2005, № 4.
3. S c h u l z, H. et G. Albroscheit. High-performance liquid chromatographic characterization of some medical plant extracts used in cosmetic formulas. – Journal of Chromatography A, **442**, 1998, 353-361.
4. P i e t t e n, P., E. Manerva et P. Cerva. Simultaneous isocratic high-performance liquid chromatographic determination of flavones and coumarins in *Matricaria chamomilla* extracts. – Journal of Chromatography A, **404**, 1987, 279-281.
5. F a r m a c a l i d i s, E. et P. A. Murphy. Semi-preparative high-performance liquid chromatographic isolation of soybean isoflavones. – Journal of Chromatography A, **295**, 1984, 510-514.
6. T a k a h a s h i, K., H. Kaizuka et Y. Oshima. Application of three-dimensional UV absorbance-high-performance liquid chromatographic patterns for the analysis of plant extracts. – Journal of Chromatography A, **268**, 1983, № 4, 522-577.

✉ Адрес за кореспонденция:

Антон Колев Тачев
 НЦООЗ
 бул. „Иван Евстатиев Гешов“ № 15
 1431 София
 e-mail: a.tachev@ncphp.government.bg

✉ Address for correspondence:

Anton Kolev Tachev
 NCPHP
 15, Ivan Evstatiev Geshov, bul.
 1431 Sofia
 e-mail: a.tachev@ncphp.government.bg