|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Количественное определение антраценпроизводных соединений в лекарственном растительном сырье, фармацевтических субстанциях растительного происхождения, лекарственных растительных препаратах и лекарственных препаратах растительного происхождения** |  | **ОФС**    **Вводится впервые** |
|  |  |  |

|  |
| --- |
|  |

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на методы количественного определения антраценпроизводных соединений в лекарственном растительном сырье, фармацевтических субстанциях растительного происхождения, лекарственных растительных препаратах и лекарственных препаратах растительного происхождения.

Антраценпроизводные соединения разделяются на три основные группы в зависимости от структуры углеродного скелета:

1. мономерные соединения, представленные окисленными антраценпроизводными (антрахиноны и их гликозиды) и восстановленными антраценпроизводными (антроны, антранолы и их производные);
2. димерные соединения;
3. конденсированные соединения.

Окисленные мономерные антраценпроизводные соединения, в свою очередь, подразделяют на две подгруппы: 1) подгруппа ализарина и его производных (например, кислота руберитриновая); 2) подгруппа хризацина и его производных (например, эмодин, франгулаэмодин, реин, хризофановая кислота).

К димерным антраценпроизводным соединениям относятся сеннозиды А и Б.

Характерным представителем конденсированных антраценпроизводных соединений является гиперицин.

Определение антраценпроизводных соединений в лекарственном растительном сырье, фармацевтических субстанциях растительного происхождения, лекарственных растительных препаратах и лекарственных препаратах растительного происхождения проводят, как правило, методом спектрофотометрии в видимой области спектра.

Определение суммы антраценпроизводных осуществляют в пересчете на преобладающее в данном лекарственном растительном сырье соединение, которое указано в фармакопейной статье и/или нормативной документации.

Подготовку аналитической пробы лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения приводят в фармакопейной статье и/или нормативной документации.

Нормы содержания суммы антраценпроизводных в лекарственном растительном сырье, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственном растительном препарате, лекарственном препарате растительного происхождения должны быть указаны в фармакопейной статье и/или нормативной документации.

В получаемых из данного лекарственного растительного сырья: фармацевтических субстанциях растительного происхождения, лекарственных растительных препаратах, лекарственных препаратах растительного происхождения используют ту же методику.

Приведенные далее методики определения антраценпроизводных соединений не являются альтернативными и используются в зависимости от преобладающих групп антраценпроизводных соединений.

***Методика 1. Определение суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на франгулин А***

Около 1,0 г (точная навеска), если не указано иное в фармакопейной статье/нормативной документации, аналитической пробы помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл спирта 40 %, взвешивают с точностью до ± 0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане (умеренное кипение) в течение 60 мин. После охлаждения колбу закрывают той же пробкой, снова взвешивают, восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр (раствор А испытуемого раствора).

1,0 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки и перемешивают (раствор Б испытуемого раствора). Раствор Б испытуемого раствора переносят в колбу вместимостью 100 мл, нагревают в течение 15 мин на водяной бане с обратным холодильником, а затем охлаждают до комнатной температуры.

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 524 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения.

В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1,0 мл раствора А испытуемого раствора доведенный щелочно-аммиачным раствором до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл перемешивают и обрабатывают аналогично раствору Б испытуемого раствора.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО франгулина А на спектрофотометре при длине волны 524 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют раствор, состоящий из 1 мл спирта 70 %, доведенный щелочно-аммиачным раствором до метки в мерной колбе вместимостью 50 мл, перемешивают и обрабатывают аналогично раствору Б СО франгулина А.

Содержание суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на франгулин А и абсолютно сухое лекарственное растительное сырье, фармацевтическую субстанцию растительного происхождения, лекарственный растительный препарат, лекарственный препарат растительного происхождения в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

где *A* – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

*Ao* – оптическая плотность раствора Б СО франгулина А;

*a* – навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г;

*aо* – навеска СО франгулина А, г;

*P* – содержание франгулина А в СО, %;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %.

Допускается содержание суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на франгулин А вычислять с использованием удельного показателя поглощения комплекса франгулина А со щелочно-аммиачным раствором по формуле:

где *A*– оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

– удельный показатель поглощения франгулина А со щелочно-аммиачным раствором при длине волны 524 нм, равный 180;

*a* – навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) франгулина А.* Около 0,02 г (точная навеска) СО франгулина А помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл спирта 70 % при нагревании на водяной бане. После охлаждения содержимого колбы до комнатной температуры доводят объем раствора спиртом 70 % до метки и перемешивают (раствор А СО франгулина А). Срок годности раствора 1 мес при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

1,0 мл раствора А СО франгулина А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки и перемешивают. Затем раствор помещают в колбу вместимостью 100 мл, нагревают в течение 15 мин на водяной бане с обратным холодильником и охлаждают до комнатной температуры. (раствор Б СО франгулина А). Срок годности раствора 3 мес при хранении в хорошо укупоренной упаковке, в прохладном защищенном от света месте.

***Методика 2. Определение суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на франгулаэмодин***

Около 0,5 г (точная навеска), если не указано иное в фармакопейной статье/нормативной документации, аналитической пробы помещают в колбу со шлифом вместимостью 50 мл, прибавляют 25 мл спирта 70 %. Колбу закрывают пробкой и взвешивают с точностью до ± 0,01 г, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане (умеренное кипение) в течение 1 ч. Затем охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр в колбу вместимостью 50 мл.

1,0 мл полученного фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки и перемешивают (раствор А). Раствор А помещают в колбу вместимостью 100 мл, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин и затем охлаждают до комнатной температуры (испытуемый раствор).

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют щелочно-аммиачный раствор.

Содержание суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на франгулаэмодин и абсолютно сухое лекарственное растительное сырье, фармацевтическую субстанцию растительного происхождения, лекарственный растительный препарат, лекарственный препарат растительного происхождения в процентах (X) вычисляют по формуле:

гдеA – оптическая плотность испытуемого раствора;

– удельный показатель поглощения продуктов реакции СО франгулаэмодина со щелочно-аммиачным раствором при длине волны 510 нм, равный 465;

25 – объем экстрагента, мл;

50 – объем раствора А, мл;

1 – объем фильтрата, используемого для получения раствора А, мл;

*a* – навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %.

***Методика 3. Определение суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на глюкофрангулин А***

Около 0,25 г (точная навеска), если не указано иное в фармакопейной статье/нормативной документации, аналитической пробы помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл спирта 80 %, взвешивают с погрешностью ± 0,01 г, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 15 мин. После охлаждения до комнатной температуры колбу вновь взвешивают и доводят до первоначальной массы спиртом 80 %. Содержимое колбы фильтруют через бумажный складчатый фильтр.

5,0 мл фильтрата помещают в делительную воронку вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды и 0,1 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и осторожно взбалтывают в течение 2 – 3 мин с 20 мл петролейного эфира. После полного расслоения фаз нижний водный слой переносят в стакан вместимостью 100 мл, верхний эфирный слой переносят в колбу вместимостью 250 мл. Далее водный слой из стакана переносят в ту же делительную воронку и аналогичным образом обрабатывают еще 4 раза петролейным эфиром (порциями по 20 мл). Водный слой переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл. Объединенные петролейные извлечения переносят обратно в делительную воронку и промывают водой 2 раза (порциями по 15 мл), водный слой помещают в ту же мерную колбу вместимостью 100 мл, оставляя темные хлопья в эфирном слое. В мерную колбу с объединенными водными извлечениями прибавляют 5 мл натрия карбоната раствора 5 %, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор А).

50,0 мл раствора А пипеткой переносят в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 20 мл железа(III) хлорида раствора (плотность 1,07–1,08), присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане при периодическом перемешивании в течение 20 мин, погружая колбу в воду бани выше уровня раствора в колбе. Затем в колбу прибавляют 2 мл хлористоводородной кислоты концентрированной и продолжают нагревать в течение 20 мин, часто встряхивая, до растворения осадка.

Колбу охлаждают и ее содержимое переносят в делительную воронку вместимостью 500 мл, колбу ополаскивают 30 мл эфира, присоединяют к основному раствору в делительной воронке и осторожно взбалтывают в течение 2–3 мин. После полного расслоения фаз нижний водный слой переносят в ту же колбу вместимостью 250 мл, а эфирный слой собирают в колбу вместимостью 100 мл. Извлечение повторяют еще 2 раза аналогичным образом. Объединенные эфирные извлечения переносят обратно в делительную воронку и промывают 2 раза водой (по 15 мл), водный слой отбрасывают. Эфирные извлечения фильтруют через воронку с бумажным фильтром, содержащим 3,0 г натрия сульфата безводного, в мерную колбу вместимостью 100 мл. Воронку с натрия сульфатом безводным промывают эфиром, доводят объем раствора тем же растворителем до метки, перемешивают и оставляют на 1 ч (раствор Б).

20,0 мл раствора Б переносят в круглодонную колбу вместимостью 200 мл, отгоняют растворитель с помощью роторного испарителя при температуре водяной бани не выше 40 °С досуха. Сухой остаток растворяют в 10,0 мл магния ацетата раствора спиртового 0,5 % (раствор В).

Оптическую плотность раствора В измеряют на спектрофотометре при длине волны 515 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют спирт 96 %.

Содержание суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на глюкофрангулин А и абсолютно сухое лекарственное растительное сырье, фармацевтическую субстанцию растительного происхождения, лекарственный растительный препарат, лекарственный препарат растительного происхождения в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

где *А* − оптическая плотность раствора В;

– удельный показатель поглощения глюкофрангулина А при длине волны 515 нм, равный 204;

*а* − навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %.

***Метод 4. Определение суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на 8-O-β-D-глюкозид эмодина***

Около 1,0 г (точная навеска), если не указано иное в фармакопейной статье/нормативной документации, аналитической пробы помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл спирта 70 %, взвешивают с точностью до ± 0,01 г, присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане (умеренное кипение) в течение 90 мин. Затем охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают и восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы. Извлечение фильтруют через бумажный фильтр (раствор А испытуемого раствора).

1,0 мл раствора А испытуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки, перемешивают. Содержимое колбы переносят в колбу вместимостью 100 мл, нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 15 мин и охлаждают (раствор Б испытуемого раствора).

Оптическую плотность раствора Б испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют: 1 мл спирта 70 %, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки, перемешивают и нагревают в течение 15 мин на водяной бане с обратным холодильником.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Б СО 8-O-β-D-глюкозида эмодина в аналогичных условиях. В качестве раствора сравнения используют: 1 мл спирта 96 % помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором в мерной колбе вместимостью 50 мл до метки, перемешивают; переносят полученный раствор в колбу вместимостью 100 мл, нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 15 мин и охлаждают.

Содержание суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на 8-O-β-D-глюкозида эмодин в абсолютно сухом лекарственном растительном сырье, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственном растительном препарате, лекарственном препарате растительного происхождения в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

где *A* – оптическая плотность раствора Б испытуемого раствора;

*Ao* – оптическая плотность раствора Б СО 8-O-β-D-глюкозида эмодина;

*a* – навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г;

*aо* – навеска СО 8-O-β-D-глюкозида эмодина, г;

*Р* – содержание основного вещества в СО 8-O-β -D-глюкозида эмодина, %;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) 8-O-β-D-глюкозида эмодина.* Около 0,02 г (точная навеска) СО 8-O-β-D-глюкозида эмодина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл спирта 96 % при нагревании. Затем содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают (раствор А СО 8-O-β-D-глюкозида эмодина). Срок годности раствора не более 1 мес при хранении в прохладном, защищенном от света месте.

1,0 мл раствора А СО 8-O-β-D-глюкозида эмодина помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора щелочно-аммиачным раствором до метки, перемешивают, затем раствор переносят в колбу вместимостью 50 мл, нагревают с обратным холодильником на водяной бане в течение 15 мин и охлаждают (раствор Б СО 8-O-β-D-глюкозида эмодина).

***Методика 5. Определение суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на руберитриновую кислоту***

Около 0,03 г (точная навеска), если не указано иное в фармакопейной статье/нормативной документации, аналитической пробы помещают в колбу коническую со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл воды и растворяют на водяной бане при температуре 60 °С в течение 30 мин. К полученному раствору после охлаждения прибавляют 1 мл уксусной кислоты ледяной. Затем раствор количественно при помощи воды переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр (раствор А).

20,0 мл раствора А при помощи пипетки помещают в делительную воронку вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл хлороформа, взбалтывают в течение 1 мин и отстаивают. После разделения слоев нижний хлороформный слой, содержащий свободные антраценпроизводные, сливают. К верхнему водному слою прибавляют 25 мл хлороформа и снова извлекают свободные антраценпроизводные. Извлечение хлороформом проводят таким способом еще два раза. При этом, последнее (третье) хлороформное извлечение не должно давать положительную реакцию с натрия гидроксида раствором 30 % на наличие оксиантрахинонов - не должно быть фиолетово-красного окрашивания.

Водный слой, содержащий сумму антрагликозидов, фильтруют через бумажный фильтр в плоскодонную колбу вместимостью 50 мл (раствор Б).

Оптическую плотность раствора Б измеряют на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на руберитриновую кислоту и абсолютно сухую фармацевтическую субстанцию растительного происхождения в процентах (Х) вычисляют по формуле:

где *А* – оптическая плотность раствора Б;

– удельный показатель поглощения руберитриновой кислоты при

410 нм, равный 122;

– навеска фармацевтической субстанции растительного происхождения, г;

W – влажность фармацевтической субстанции растительного происхождения, %.

***Методика 6. Определение суммы агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту***

Около 0,40 г (точная навеска), если не указано иное в фармакопейной статье/нормативной документации, аналитической пробы помещают в колбу со шлифом вместимостью 250 мл, прибавляют 100 мл воды, перемешивают 10 мин и нагревают с обратным холодильником в водяной бане (уровень жидкости в колбе должен находиться на уровне поверхности воды) в течение 20 мин при периодическом перемешивании; после охлаждения под струей воды дают отстояться в течение 10 мин и фильтруют через бумажный складчатый фильтр.

25,0 мл фильтрата переносят в делительную воронку вместимостью 100 мл и дважды извлекают эфиром (порциями 40 и 20 мл). Фильтрат после экстракции помещают в колбу со шлифом вместимостью 200 – 250 мл. Объединенные эфирные извлечения дважды промывают водой по 10 мл. Воду отделяют и присоединяют к фильтрату в колбе со шлифом вместимостью 200 – 250 мл. Эфирные извлечения отбрасывают. Колбу с объединенными водными извлечениями нагревают на водяной бане до исчезновения запаха эфира, прибавляют 0,1 г натрия гидрокарбоната и 10 мл железа(III) хлорида раствора (плотность 1,07–1,08), присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане при периодическом перемешивании в течение 20 мин; затем прибавляют 5 мл серной кислоты раствора 50 % и продолжают нагревать еще в течение 30 мин.

После охлаждения раствор переносят в делительную воронку вместимостью 300 мл, колбу ополаскивают 20 мл воды, затем 75 мл эфира; промывную воду и эфир присоединяют к основному раствору в делительной воронке и перемешивают в течение 5 мин. После разделения эфирный слой переносят в делительную воронку вместимостью 500 мл, оставляя темные хлопья в водном слое; из водного раствора дважды повторяют извлечение эфиром (порциями 30 и 20 мл). Объединенные эфирные извлечения фильтруют через стеклянный фильтр (ПОР 100), затем дважды промывают водой по 30 мл. К эфирному извлечению прибавляют 100 мл щелочно-аммиачного раствора и осторожно перемешивают в течение 5 мин. После отстаивания прозрачный водный слой сливают в мерную колбу вместимостью 250 мл, следя за тем, чтобы хлопья промежуточного слоя оставались в воронке. К эфирному извлечению прибавляют 20 мл воды и 3 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, воронку охлаждают под струей воды, смесь перемешивают в течение 2 мин и после разделения слоев водный слой сливают в ту же мерную колбу. Эфирное извлечение еще раз перемешивают с 50 мл щелочно-аммиачного раствора в течение 2 мин и после отстаивания водный слой сливают в ту же мерную колбу. Объединенные щелочно-аммиачные извлечения доводят щелочно-аммиачным раствором в мерной колбе вместимостью 250 мл до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Через 15 мин измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 523 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют щелочно-аммиачный раствор.

Содержание суммы агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту рассчитывают одним из способов: или по калибровочному графику, или с использованием величины удельного показателя поглощения.

*Расчет с использованием калибровочного графика*. Концентрацию суммы агликонов антраценового ряда в растворе в пересчете на хризофановую кислоту определяют по калибровочному графику, построенному по растворам кобальта хлорида.

*Построение калибровочного графика.* Калибровочный график строят по растворам кобальта хлорида, исходя из того, что кобальта хлорида раствор 1 % по оптической плотности соответствует 4,3 мг хризофановой кислоты в 1 л щелочно-аммиачного раствора. Готовят кобальта хлорида растворы 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 и 4 %, которые имеют поглощение, соответствующее концентрациям хризофановой кислоты 4,3; 6,45; 8,6; 10,75; 12,9; 15,05 и 17,2 мг в 1 л. Измеряют оптическую плотность этих растворов на спектрофотометре при длине волны 523 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения воду. По оси ординат откладывают значения оптической плотности, а по оси абсцисс – концентрацию производных антрацена в миллиграммах на 1 л.

Содержание суммы агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту в абсолютно сухом лекарственном растительном сырье, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственном растительном препарате, лекарственном препарате растительного происхождения в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

где *С* – концентрация суммы агликонов антраценового ряда, найденная по калибровочному графику, в мг на 1 л;

*а* – навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %.

Допускается содержание суммы агликонов антраценового ряда в пересчете на хризофановую кислоту вычислять с использованием величины удельного показателя поглощения по формуле:

где *А* – оптическая плотность раствора А;

− удельный показатель поглощения хризофановой кислоты при длине волны 523 нм, равный 432;

*а* – навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %.

***Методика 7. Определение суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на сеннозид Б***

Около 1,0 г (точная навеска), если не указано иное в фармакопейной статье/нормативной документации, аналитической пробы помещают в колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 30 мл 70 % спирта. Колбу закрывают пробкой и взвешивают с точностью ± 0,01 г. Колбу присоединяют к обратному холодильнику и нагревают на водяной бане в течение 1 ч. Затем охлаждают в течение 30 мин, закрывают той же пробкой, снова взвешивают, восполняют недостающий экстрагент до первоначальной массы и извлечение фильтруют.

1,0 мл фильтрата помещают в колбу вместимостью 25 мл, доводят объем щелочно-аммиачным раствором до метки и перемешивают (испытуемый раствор). Испытуемый раствор помещают в колбу вместимостью 25 мл и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 15 мин.

После охлаждения измеряют оптическую плотность испытуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 530 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на сеннозид Б и абсолютно сухое лекарственное растительное сырье, фармацевтическую субстанцию растительного происхождения, лекарственный растительный препарат, лекарственный препарат растительного происхождения в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

|  |  |
| --- | --- |
| *X*  = | *А*  25 30 100 |
|  |
| *а*  (100 *W*) |

где   *А* – оптическая плотность испытуемого раствора;

*а* – навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г;

– удельный показатель поглощения сеннозида Б при 530 нм, равный 240;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %.

*Приготовление растворов.*

*Щелочно-аммиачный раствор.* 50 г натрия гидроксида растворяют при перемешивании в 870 мл воды. После охлаждения раствора прибавляют 80 мл аммиака раствора концентрированного 25 % и перемешивают. Раствор годен в течение 1 сут.

***Методика 8. Определение суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на гиперицин***

Около 0,8 г (точная навеска), если не указано иное в фармакопейной статье/нормативной документации, аналитической пробы помещают в круглодонную колбу с магнитной мешалкой вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл смеси тетрагидрофурана и воды (80:20). Смесь кипятят на водяной бане с обратным холодильником при температуре 70 °С в течение 30 мин, затем центрифугируют при 700 об/мин в течение 2 мин. Надосадочную жидкость отделяют и переносят в коническую колбу вместимостью 250 мл. Осадок помещают в круглодонную колбу с магнитной мешалкой вместимостью 100 мл, прибавляют 60 мл смеси тетрагидрофурана и воды (80:20), нагревают с обратным холодильником при температуре 70 °С в течение 30 мин и центрифугируют при 700 об/мин в течение 2 мин. Надосадочную жидкость отделяют, переносят в колбу с первым извлечением и выпаривают на водяной бане досуха. Сухой остаток растворяют в 15 мл метанола с помощью ультразвука. Полученный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, в которую прибавляют 5-7 мл метанола после промывания колбы вместимостью 250 мл, доводят объем раствора этим же растворителем до метки. Центрифугируют и фильтруют 10 мл надосадочной жидкости через мембранный фильтр (0,2 мкм), отбрасывая первые 2 мл фильтрата.

5,0 мл фильтрата переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора метанолом до метки и перемешивают (испытуемый раствор).

Оптическую плотность испытуемого раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 590 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм относительно раствора сравнения. В качестве раствора сравнения используют метанол.

Содержание суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на гиперицин и абсолютно сухое лекарственное растительное сырье, фармацевтическую субстанцию растительного происхождения, лекарственный растительный препарат, лекарственный препарат растительного происхождения в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

|  |  |
| --- | --- |
| *X*  = | *А*  125 |
|  |
| *а*  (100 *W*) |
|  |  |

где   *А* – оптическая плотность испытуемого раствора;

*а* – навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г;

– удельный показатель поглощения гиперицина при 590 нм, равный 870;

*W* – влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %.

***Методика 9. Определение суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на алоэ-эмодин***

Около 1,0 г (точная навеска), если не указано иное в фармакопейной статье/нормативной документации, аналитической пробы помещают в колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл этанола, закрывают колбу пробкой и оставляют на 1 ч. Затем колбу соединяют с обратным холодильником, нагревают до кипения и кипятят в течение 2 ч.

Колбу с содержимым охлаждают до около 20 °С, раствор фильтруют через бумажный фильтр в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объём раствора этанолом до метки и перемешивают.

25,0 мл фильтрата помещают в круглодонную колбу вместимостью 100 мл и выпаривают на водяной бане. Сухой остаток растворяют в 2 мл метанола, прибавляют 30 мл горячей воды (80±2) °С и взбалтывают в течение 30 мин. Полученный раствор фильтруют через вату, предварительно смоченную водой, в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём раствора водой до метки.

20,0 мл фильтрата помещают в коническую колбу со шлифом вместимостью 100 мл, прибавляют 12 мл хлористоводородной кислоты концентрированной, 1,2 г железа(III) хлорида и нагревают на водяной бане в течение 1 ч с обратным холодильником. Раствор охлаждают, количественно переносят с помощью 20 мл воды в делительную воронку вместимостью 250 мл и экстрагируют хлороформом 3 раза по 20 мл.

Объединенные хлороформные извлечения помещают в делительную воронку, промывают водой 2 раза по 10 мл, затем фильтруют через бумажный фильтр с 2 г натрия сульфата безводного, помещают в круглодонную колбу и выпаривают на роторном испарителе при температуре не выше 40 °С. Сухой остаток растворяют в 25 мл метанола, фильтруют через фильтр «белая лента» (испытуемый раствор А).

5,0 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, прибавляют 5 мл магния ацетата раствор 0,5 % в метаноле, перемешивают, доводят до метки тем же раствором и вновь перемешивают (испытуемый раствор Б).

Оптическую плотность испытуемого раствора Б измеряют на спектрофотометре при длине волны 512 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют магния ацетата раствор 0,5 % в метаноле.

Содержание суммы антраценпроизводных соединений в пересчете на алоэ-эмодин и абсолютно сухое лекарственное растительное сырье, фармацевтическую субстанцию растительного происхождения, лекарственный растительный препарат, лекарственный препарат растительного происхождения в процентах (*X*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *А* | – | оптическая плотность испытуемого раствора Б; |
|  |  | – | удельный показатель поглощения алоэ-эмодина после проведения реакции с магния ацетатом при 512 нм, равный 255; |
|  | *a* | – | навеска лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, г; |
|  | *W* | – | влажность лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, лекарственного препарата растительного происхождения, %. |

Приведенные методики определения антраценпроизводных соединений не являются альтернативными и используются в зависимости от преобладающих групп антраценпроизводных соединений.