|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Количественное определение флавоноидных соединений в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения** |  | **ОФС**  **Вводится впервые** |
|  |  |  |

Настоящая общая фармакопейная статья распространяется на методы количественного определения флавоноидных соединений в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения (фармацевтических субстанциях растительного происхождения и лекарственных препаратах растительного происхождения).

Флавоноиды - фенольные соединения, содержащие в своей структуре фрагмент дифенилпропана и представляющие собой чаще всего производные 2-фенилхромана (флаван) или 2-фенилхромона (флавон). Флавоноиды встречаются как в свободном состоянии (агликоны), так и в виде гликозидов (за исключением катехинов), которые под влиянием ферментов расщепляются на агликоны и сахара.

Классификация флавоноидных соединений основана на трех основных признаках:

* положении бокового фенильного радикала;
* степени окисленности кольца С или пропанового фрагмента;
* наличия или отсутствия гетероцикла (С).

             В зависимости от места присоединения бокового фенильного радикала флавоноидные соединения делят на 4 группы:

1. собственно флавоноиды (эуфлавоноиды): боковой фенильный радикал присоединяется в положении 2;
2. изофлавоноиды: боковой фенильный радикал присоединяется в положении 3 (производные изофлавона и его гликозиды – ононин, птерокарпаны);
3. неофлавоноиды: боковой фенильный радикал присоединяется в положении 4 (производные 4-фенилхромона);
4. другие классы флавоноидных соединений: ксантоны (мангиферин (алпизарин)), флаволигнаны (силибин), кумарофлавоноиды, бифлавоноиды.

   По степени окисленности пропанового фрагмента собственно флавоноиды (эуфлавоноиды)разделяют на окисленные и восстановленные.

Восстановленные (производные флавана) представлены 5 группами:

* катехины;
* лейкоантоцианидины;
* антоцианидины и их гликозиды (цианидин-3,5-дигликозид);
* флаваноны (пиностробин, нарингенин);
* флаванонолы.

Окисленные (производные флавона) представлены 2 группами:

* флавоны (апигенин и его гликозиды – витексин, лютеолин и его гликозиды – гнафалозид А);
* флавонолы (кверцетин и его гликозиды: авикулярин, рутин, гиперозид, изокверцитрозид).

В зависимости от структуры гетероцикла флавоноидные соединения могут быть отнесены к подгруппе:

* с разорванным гетероциклом: халконы, дигидрохалконы; типичным представителем халконов является изосалипупрозид;
* пятичленным гетероциклом: ауроны.

Большинство флавоноидных соединений представляют собой кристаллические вещества, окрашенные в желтый цвет (флавоны, флавонолы), оранжевую (ауроны, халконы), от красновато-синей до синей (антоцианы). При этом, наиболее яркие оттенки свойственны антоцианам. Присутствие фенольных гидроксилов и карбоксильной группы в молекуле обуславливают возможность флавоноидных соединений вступать в реакцию комплексообразования с солями металлов.

Вышеперечисленные свойства флавоноидных соединений используют при определении их содержания в лекарственном растительном сырье и лекарственных средствах растительного происхождения. Наибольшее распространение среди методов определения получили физико-химические, прежде всего спектрофотомерия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра.

Метод спектрофотометрии в ультрафиолетовой (УФ-) области спектра, основан на собственном светопоглощении флавоноидных соединений при выбранных длинах волн в ультрафиолетовой области спектра.

Метод спектрофотометрии в видимой области спектра подразделяется на:

а) прямой метод (2.1.) основан на собственном светопоглощении флавоноидных соединений при выбранных длинах волн в видимой области спектра;

б) дифференциальный метод (2.2.) базируется на реакции комплексообразования флавоноидных соединений с алюминия хлоридом, в результате которого происходит батохромный сдвиг первой полосы поглощения флавоноидных соединений с 330 – 350 нм до 390 – 430 нм, что позволяет применить в качестве контроля испытуемый раствор без реактива (алюминия хлорида), и тем самым уменьшить влияние сопутствующих веществ.

Методике определения содержания флавоноидов с помощью выбранного аналитического метода предшествует пробоподготовка, заключающаяся в исчерпывающем извлечении флавоноидов из лекарственного растительного сырья и/или лекарственных средств растительного происхождения, очистке полученного извлечения от соизвлекаемых веществ при необходимости. Очистка получаемых извлечений может быть осуществлена методом хроматографии в тонком слое сорбента, колоночной хроматографией на полиамидном сорбенте и др. способом.

Для выделения флавоноидов из лекарственного растительного сырья, фармацевтической субстанции растительного происхождения и/или лекарственных средств растительного происхождения используют экстракцию, как правило, спиртом этиловым подходящей концентрации, указывая при этом оптимальные условия (количество лекарственного растительного сырья и/или лекарственного средства растительного происхождения, измельченность лекарственного растительного сырья/фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственного растительного препарата, экстрагент и его количество, кратность экстракции, температура экстракции и др.) в фармакопейной статье или нормативной документации.

При определении содержания флавоноидов методами спектрофотометрии в УФ-области или в В-области величина оптической плотности полученного извлечения (испытуемого раствора) при выбранной длине волны должна быть не менее 0,2 и не более 0,9 в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Выбор аналитической длины волны зависит от преобладающей в данном лекарственном растительном сырье и/или лекарственном средстве растительного происхождения группе флавоноидных соединений.

Расчет содержания суммы флавоноидных соединений осуществляют в пересчете на преобладающее в данном лекарственном растительном сырье и/или лекарственном средстве растительного происхождения соединение с использованием соответствующего стандартного образца, приведенного в фармакопейной статье и/или нормативной документации.

В ряде случаев, возможно применение значения удельного показателя поглощения выбранного стандартного образца при конкретной длине волны в качестве альтернативного способа расчета содержания суммы флавоноидов при определении их методом спектрофотометрии в УФ- и В-области.

Нормы содержания суммы флавоноидных соединений в лекарственном растительном сырье, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственном растительном препарате, лекарственном препарате растительного происхождения указывают 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.

Метод дифференциальной спектрофотомерии в В-области на основе реакции образования комплекса с алюминия хлорида раствором является предпочтительным, так как позволяет минимизировать вклад соэкстрагируемых веществ в оптическую плотность испытуемых растворов.

В случае использования данного метода оптимальные условия проведения фотометрической реакции (объем испытуемого раствора, концентрация алюминия хлорида раствора, его количество, количество уксусной кислоты и ее концентрация, время образования продуктов фотометрической реакции, аналитическую длину волны, используемый стандартный образец) указывают в фармакопейной статье или нормативной документации.

При определении содержания флавоноидов методом дифференциальной спектрофотометрии в В-области величина оптической плотности полученного извлечения (испытуемого раствора) при выбранной длине волны также должна быть не менее 0,2 и не более 0,9 в соответствии с требованиями ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях». Выбор аналитической длины волны зависит от преобладающей в данном лекарственном растительном сырье и/или лекарственном средстве растительного происхождения группе флавоноидных соединений.

Расчет содержания суммы флавоноидных соединений осуществляют в пересчете на преобладающее в данном лекарственном растительном сырье и/или лекарственном средстве растительного происхождения соединение с использованием соответствующего стандартного образца, приведенного в фармакопейной статье и/или нормативной документации.

В ряде случаев, возможно применение значения удельного показателя поглощения комплекса выбранного стандартного образца с алюминия хлоридом при конкретной длине волны в качестве альтернативного способа расчета содержания суммы флавоноидов при определении их методом дифференциальной спектрофотометрии в В-области, что должно быть предусмотрено фармакопейной статьей или нормативной документацией.

Нормы содержания суммы флавоноидных соединений в лекарственном растительном сырье, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственном растительном препарате, лекарственном препарате растительного происхождения, установленные с помощью выбранного метода, приводят 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.

Для определения содержания суммы флавоноидов в лекарственном растительном сырье, фармацевтической субстанции растительного происхождения, лекарственном растительном препарате, лекарственных препаратах растительного происхождения могут быть использованы валидированные в соответствии с требованиями ОФС «Валидация аналитических методик» методики на основе использования других физико-химических методов.