|  |  |
| --- | --- |
| **Дигидрокверцетин** | **ФС** |
| ***Dihydroquercetinum*** | **Взамен ФС 42-3854-99** |

Настоящая фармакопейная статья распространяется на дигидрокверцетин [2,3-дигидро-3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4*Н*-1-бензопиран-4-он], получаемый из древесины лиственницы сибирской (*Larix sibirica* Ledeb.) и лиственницы даурской (*Larix gmelinii*  (Rupr.) Rupr., синоним *L. daurica* Turcz.), сем. сосновых - *Pinaceae*, применяемый для производства лекарственных препаратов.



|  |  |
| --- | --- |
| С15Н12O7 | М.м. 304,3 |

Cодержит не менее 90,0 % дигидрокверцетина С15Н12O7 в пересчёте на сухое вещество.

**Описание**. Мелкокристаллический или аморфный порошок от светло-желтого до желтого с зеленоватым оттенком цвета.

**Растворимость**. Легко растворим в спирте 96 %, очень мало растворим в воде, практически нерастворим в хлороформе.

**Подлинность**

1. *ВЭЖХ.* Время удерживания пика основного вещества на хроматограмме испытуемого раствора, полученной в условиях количественного анализа, должно соответствовать времени удерживания пика дигидрокверцетина на хроматограмме раствора СО дигидрокверцетина.
2. *Качественная реакция.* 0,02 г субстанции растворяют в 1 мл спирта 96 %, к полученному раствору прибавляют 0,5 мл кислоты хлористоводородной концентрированной и 0,05 г цинка гранулированного; должно появится сине-красное окрашивания (флавоноиды).

**Родственные примеси**. Суммарное содержание идентифицированных примесей должно быть не более 7,5 %. Любой неидентифицированной единичной примеси не более 1,5 %; суммарное содержание неидентифицированных единичных примесей должно быть не более 2,5 %.

*Приготовление растворов.*

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*. Около 0,005 г стандартного образца (СО) дигидрокемпферола, 0,0050 г СО эриодиктиола, 0,0050 г СО нарингенина, 0,0050 г СО пиноцембрина, 0,020 г кверцетина и 0,020 г кемпферола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 70 мл смеси ацетонитрил – вода (30 : 70), и доводят объём раствора той же смесью до метки и перемешивают.

1,0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объём раствора смесью ацетонитрил – вода (30 : 70) до метки и перемешивают (раствор А).

1,0 мл раствора А и 0,5 мл испытуемого раствора (раздел «Количественное определение) помещают в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объём раствора смесью ацетонитрил – вода (30 : 70) до метки и перемешивают.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы*:

Около 0,05 г (точная навеска) СО дигидрокверцетина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 25 мл смеси ацетонитрил – вода (30 : 70), доводят объём раствора той же смесью до метки и перемешивают.

1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объём раствора смесью ацетонитрил – вода (30 : 70) до метки и перемешивают.

5,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объём раствора смесью ацетонитрил – вода (30 : 70) до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

 На хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы, полученной в условиях количественного определения, относительные времена удерживания пиков идентифицированных примесей по отношению к времени удерживания пика дигидрокверцетина: дигидрокемпферола - около 1,22; эриодиктиола - около 1,49; кверцетина - около 1,54; нарингенина - около 1,80; кемпферола – около 1,88 и пиноцембрина - около 2,44.

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

- разрешение между пиками эриодиктиола и кверцетина должно быть не менее 1,3; разрешение между пиками остальных соединений должно быть не менее 2,0;

- соотношение «сигнал/шум» для пика дигидрокверцетина должно быть не менее 10.

Содержание любой единичной неидентифицированной примеси в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *Si* | – | площадь пика единичной неидентифицированной примеси на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *Sn* | – | сумма площадей пиков идентифицированных и неидентифицированных примесей на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S* | – | площадь пика дигидрокверцетина на хроматограмме испытуемого раствора. |

Содержание суммы идентифицированных или неидентифицированных примесей в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

,

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *Sn* | – | сумма площадей пиков идентифицированных или неидентифицированных на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *SΣ* | – | сумма площадей всех пиков на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S* | – | площадь пика дигидрокверцетина на хроматограмме испытуемого раствора. |

 Не учитываются пики растворителя и пики, площадь которых менее площади пика дигидрокверцетина на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (менее 0,05 %).

**Сульфатная зола.** Не более 0,3 %.Из 1,0 г субстанции (точная навеска) в соответствии с требованиями ОФС «Сульфатная зола».

**Тяжелые металлы**. Не более 0,001 % в соответствии с требованиями ОФС «Тяжелые металлы».

**Потеря в массе при высушивании**. Не более 7,0 %. Около 0,5 г субстанции (точная навеска) сушат в сушильном шкафу до постоянной массы в соответствии с требованиями ОФС «Потеря в массе при высушивании». Способ 1.

**Микробиологическая чистота**.В соответствии стребованиямиОФС «Микробиологическая чистота».

**Количественное определение**. Определение проводят методом ВЭЖХ.

*Приготовление растворов.*

*Раствор стандартного образца (СО) дигидрокверцетина.* Около 0,05 г (точная навеска) СО дигидрокверцетина помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 25 мл смеси ацетонитрил – вода (30 : 70), доводят объём раствора той же смесью до метки и перемешивают.

1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объём раствора смесью ацетонитрил – вода (30 : 70) до метки и перемешивают.

*Раствор для проверки пригодности хроматографической системы*.

Около 0,01 г (точная навеска) стандартного образца (СО) кверцетина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют в 80 мл смеси ацетонитрил – вода (30 : 70), растворяют при нагревании до 50 °С, охлаждают, доводят объём раствора той же смесью до метки и перемешивают.

К 10,0 мл полученного раствора прибавляют 10,0 мл раствора СО дигидрокверцетина, перемешивают и центрифугируют при 11500 об/мин в течение 5 мин.

Раствор используют свежеприготовленным.

Около 0,05 г (точная навеска) субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 25 мл смеси ацетонитрил – вода (30 : 70), доводят объём раствора той же смесью до метки и перемешивают.

1,0 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, доводят объём раствора смесью ацетонитрил – вода (30 : 70) до метки, перемешивают и центрифугируют при 11500 об/мин в течение 5 мин (испытуемый раствор).

*Проверка пригодности хроматографической системы.*

Хроматографируют раствор для проверки пригодности хроматографической системы.

- разрешение между пиками дигидрокверцетина и кверцетина должно быть не менее 5,0.

Хроматографируют раствор СО дигидрокверцетина не менее 5 раз:

- коэффициент асимметрии для пика основного вещества должен быть от 0,8 до 1,7;

- относительное стандартное отклонение площади пика дигидрокверцетина должно быть не более 2 %.

Хроматографируют испытуемый раствор и раствор СО дигидрокверцетина не менее 3 раз и определяют площади пиков.

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 2 мм × 75 мм, силикагель октадецил-модифицированным силикагелем (С18), 5 мкм |
| Скорость потока | 0,2 мл/мин |
| Температура колонки, °С | 37 |
| Подвижная фаза | элюент А – уксусной кислоты раствор 0,1 % элюент Б – ацетонитрил |
| Детектор | Спектрофотометрический |
| Длина волны, нм | 290 |
| Объём пробы | 10 мкл |
| Время хроматографирования | 50 мин |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время,мин | Элюент А, % | Элюент Б, % |
| 0 | 88 | 12 |
| 0-19 | 88→60 | 12→40 |
| 19-27 | 60→0 | 40→100 |
| 27-32 | 0 | 100 |
| 32-33 | 0→88 | 100→12 |
| 33-50 | 88 | 12 |

Время удерживания пика дигидрокверцетина - около 10 мин. Содержание дигидрокверцетина в пересчёте на сухое вещество в субстанции в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S* | – | площадь пика дигидрокверцетина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S0* | – | площадь основного пика на хроматограмме СО дигидрокверцетина; |
|  | *а* | – | навеска субстанции, г; |
|  | *a0* | – | навеска СО дигидрокверцетина, г; |
|  | *Р* | – | содержание основного вещества в CO дигидрокверцетина, %; |
|  | *W* | – | потеря в массе при высушивании субстанции, %. |

**Хранение**. В сухом, защищенном от света месте при температуре не выше 25 °С.