**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Диацереин** |  | **ФС.2.1.0407** |
| **Диацереин** |  |  |
| **Diacereinum** |  | **Вводится впервые** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C19H12O8 | М.м. 368,29 |
| [13739-02-1] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

4,5-Бис(ацетилокси)-9,10-диоксоантрацен-2-карбоновая кислота.

Cодержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % диацереина C19H12O8 в пересчёте на сухое вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. Жёлтый кристаллический порошок.

**Растворимость**. Растворим в диметилацетамиде, мало растворим в тетрагидрофуране, практически нерастворим в воде и этаноле.

ИДЕНТИФИКАЦИЯ

*1.* *ИК-спектрометрия* (ОФС «Спектрометрия в средней инфракрасной области»)*.* Инфракрасный спектр субстанции в области от 4000 до 400 см–1 по положению полос поглощения должен соответствовать спектру фармакопейного стандартного образца диацереина.

*2.* *ВЭЖХ.* Время удерживания основного пика на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пика диацереина на хроматограмме раствора стандартного образца диацереина (раздел «Количественное определение»).

ИСПЫТАНИЯ

**Родственные примеси.** Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Испытание проводят в защищённом от света месте.

***1.* *Примеси В и Н***

*Лимонной кислоты раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,4 г лимонной кислоты, растворяют в воде и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Тетрагидрофуран—ацетонитрил—лимонной кислоты раствор 80:275:645.

*Раствор А.* Растворяют 14,7 г натрия хлорида и 18,8 г глицина в 500 мл воды.

*Раствор Б.* Смешивают25,3 мл натрия гидроксида раствора 2 % и 74,6 мл раствора А, при необходимости доводят значение рН натрия гидроксида раствором 8,5 % или серной кислоты раствором 1 М до 9,5.

*Испытуемый раствор.* Растворяют 0,1 г субстанции в 30 мл натрия гидроксида раствора 2 %, перемешивают в течение 10 мин, прибавляют 70 мл раствора А и при необходимости доводят значение рН натрия гидроксида раствором 8,5 % или серной кислоты раствором 1 М до 9,5. Полученный раствор экстрагируют тремя порциями метиленхлорида, каждая по 25 мл, извлечения объединяют, промывают раствором Б 2 раза по 8 мл, и 1 раз серной кислоты раствором 0,01 М 10 мл. Органический слой отделяют и упаривают при температуре 33 °С досуха, высушивание завершают, используя сжатый воздух. Полученный сухой остаток растворяют в 2,0 мл ПФ.

*Раствор стандартного образца примеси В.* В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 7,5 мгфармакопейногостандартного образца примеси В, растворяют в тетрагидрофуране, доводят объём раствора тем же растворителем до метки, обрабатывают полученный раствор ультразвуком в течение не более 30 с и охлаждают до комнатной температуры. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора натрия гидроксида раствором 2 % до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора натрия гидроксида раствором 2 % до метки. Смешивают 5,0 мл полученного раствора и 25 мл натрия гидроксида раствора 2 %, перемешивают в течение 10 мин, прибавляют 70 мл раствора А и при необходимости доводят значение рН натрия гидроксида раствором 8,5 % или серной кислоты раствором 1 М до 9,5. Полученный раствор экстрагируют тремя порциями метиленхлорида, каждая по 25 мл, извлечения объединяют, промывают раствором Б 2 раза по 8 мл, и 1 раз серной кислоты раствором 0,01 М 10 мл. Органический слой отделяют и упаривают при температуре 33 °С досуха, высушивание завершают, используя сжатый воздух. Полученный сухой остаток растворяют в 2,0 мл ПФ.

Примечание – Время между растворением фармакопейного стандартного образца примеси В и экстракцией не должно превышать 30 мин.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 1,0 мл раствора стандартного образца примеси В и доводят объём раствора ПФ до метки.

Примечание

Примесь В: 1,8-дигидрокси-3-(гидроксиметил)антрацен-9,10-дион [481-72-1].

Примесь Н: 3-[(ацетилокси)метил]-9,10-диоксоантрацен-1,8-диил диацетат [25395-11-3].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 125 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 16 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин;  |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 100 мкл; |
| Время хроматографирования | 2,5-кратное от времени удерживания пика примеси В. |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительностихроматографической системы, раствор стандартного образца примеси В и испытуемый раствор.

*Время удерживания* примеси В – около 11 мин.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика диацереина должно быть не менее 10.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора сумма площадей пиков примесей В и Н не должна превышать площадь пика примеси В на хроматограмме раствора стандартного образца примеси В (не более 0,0015 %).

***2. Другие примеси***

*Подвижная фаза А (ПФА).* Смешивают 353 мл воды и 147 мл фосфорной кислоты концентрированной. В мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки.

*Подвижная фаза Б (ПФБ).* Ацетонитрил.

*Растворитель.* ПФА—ПФБ 500:500.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,1 г субстанции, растворяют в 50 мл тетрагидрофурана и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора и доводят объём раствора тетрагидрофураном до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,1 г субстанции, прибавляют 10 мл натрия гидроксида раствора 0,01 М, 40 мл тетрагидрофурана и доводят объём раствора растворителем до метки (раствор содержит примеси D и E).

*Раствор для идентификации пиков.* Содержимое флакона фармакопейного стандартного образца диацереина смеси примесей, содержащего примеси С и F, растворяют в смеси 0,5 мл тетрагидрофурана и 0,5 мл растворителя.

Примечание

Примесь С: 4,5-дигидрокси-9,10-диоксоантрацен-2-карбоновая кислота [478-43-3].

Примесь D: 5-(ацетилокси)-4-гидрокси-9,10-диоксоантрацен-2-карбоновая кислота [875535-35-6].

Примесь Е: 4-(ацетилокси)-5-гидрокси-9,10-диоксоантрацен-2-карбоновая кислота [875535-36-7].

Примесь F: (10*S*)-3-[(ацетилокси)метил]-10-(2,3,4,6-тетра-*О*-ацетил-β-D-глюкопиранозил)-9-оксоантрацен-1,8-диил диацетат [13928-72-8].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 100 × 4,6 мм, кремнийорганический полимер, аморфный, октадецилсилильный с полярными мостиками, эндкепированный, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,2 мл/мин;  |
| Детектор | спектрофотометрический, 254 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–3 | 80  | 20 |
| 3–13 | 80 → 60 | 20 → 40 |
| 13–20 | 60 | 40 |

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор для идентификации пиков, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений*. Диацереин – 1 (около 13,5 мин); примесь D – около 1,1; примесь Е – около 1,15; примесь С – около 1,2; примесь F – около 1,3.

*Идентификация примесей*. Для идентификации пиков примесей С и F используют относительное время удерживания соединений, хроматограмму раствора для идентификации пиков и хроматограмму, прилагаемую к фармакопейному стандартному образцу диацереина смеси примесей.

Для идентификации пиков примесей D и Е используют относительное время удерживания соединений и хроматограмму раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение (RS)* между пиками примеси D и примеси Е должно быть не менее1,5.

На хроматограмме раствора сравнения *отношение сигнал/шум (S/N)* для пика диацереина должно быть не менее 100.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания примесей площади пиков следующих примесей умножают на соответствующие поправочные коэффициенты: примесь С – 1,4; примесь D – 1,3; примесь Е – 1,3; примесь F – 9,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь пика каждой из примесей D и Е не должна более чем в 5 раз превышать площадь пика диацереина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,5 %);

- площадь пика примеси С не должна более чем в 2 раза превышать площадь пика диацереина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,2 %);

- площадь пика примеси F не должна более чем в 1,5 раза превышать площадь пика диацереина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,15 %);

- площадь пика любой другой примеси не должна превышать площадь пика диацереина на хроматограмме раствора сравнения (не более 0,1 %);

- сумма площадей пиков всех примесей не должна превышать двадцатикратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее 0,5 площади основного пика на хроматограмме раствора сравнения (менее 0,05 %).

**Потеря в массе при высушивании.** Не более 0,5 % (ОФС «Потеря в массе при высушивании», способ 1). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

**Сульфатная зола**. Не более 0,1 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1 г (точная навеска) субстанции.

**Тяжёлые металлы.** Не более 0,002 %. Определение проводят в соответствии с требованиями ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3А или 3Б) с использованием эталонного раствора 2.

**Остаточные органические растворители.** В соответствии с ОФС «Остаточные органические растворители».

**Микробиологическая чистота.** В соответствии с ОФС «Микробиологическая чистота».

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом ВЭЖХ в условиях испытания «Родственные примеси. Другие примеси» со следующими изменениями.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают60 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в тетрагидрофуране и доводят объём раствора тетрагидрофураном до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца диацереина.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 60 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца диацереина, растворяют в тетрагидрофуране и доводят объём раствора тетрагидрофураном до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

Хроматографируют раствор стандартного образца диацереина и испытуемый раствор.

Содержание диацереина C19H12O8 в субстанции в пересчёте на сухое вещество в процентах (*Х*) вычисляют по формуле:

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}∙P∙50∙25∙2∙100}{S\_{0}∙a\_{1}∙2∙50∙25∙(100-W)},$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | **–** | площадь пика диацереина на хроматограмме испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | **–** | площадь пика диацереина на хроматограмме раствора стандартного образца диацереина; |
|  | *a*0 | **–** | навеска фармакопейного стандартного образца диацереина, мг; |
|  | *a*1 | **–** | навеска субстанции, мг; |
|  | *W* | **–** | потеря в массе при высушивании, %; |
|  | *Р* | **–** | содержание диацереина в фармакопейном стандартном образце диацереина, %. |

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, в защищённом от света месте.