**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯИ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Рутозид тригидрат** |  | **ФС.2.1.0175** |
| **Рутозид** |  |  |
| **Rutosidum trihydricum** |  | **Взамен ФС.2.1.0175.18** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C27H30O16·3H2O | М.м. 664,56 |
| [250249-75-3] |  |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

3-{[6-*O*-(6-дезокси-α-L-маннопиранозил)-β-D-глюкопиранозил]окси}-2-(3,4-дигидроксифенил)- 5,7-Дигидрокси-4*H*-1-бензопиран-4-он тригидрат.

СВОЙСТВА

Cодержит не менее 95,0 % и не более 101,0 % рутозида С27H30O16 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

**Описание.** Жёлтый или зеленовато-жёлтый кристаллический порошок.

**Растворимость.** Растворим в метаноле, умеренно или мало растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в воде.

\*Растворяется в растворах гидроксидов щелочных металлов.

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 рутозида тригидрата.

*2. Спектрофотометрия* (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 250 мл помещают 50 мг (точная навеска) субстанции, растворяют в метаноле и доводят этим же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5 мл полученного раствора и доводят объём раствора метанолом до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области спектрального диапазона от 210 до 450 нм должен иметь максимумы при 257 нм и 358 нм. Удельное поглощение при максимуме поглощения при 358 нм должно быть от 305 до 330 нм (безводное вещество).

3. *Тонкослойная хроматография* (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля F254.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 25 мг субстанции, растворяют в метаноле, доводят этим же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца рутозида тригидрата.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 25 мг фармакопейного стандартного образца рутозида тригидрата, растворяют в метаноле, доводят этим же растворителем до метки.

*Подвижная фаза (ПФ).* Бутанол―уксусная кислота безводная―вода―метилэтилкетон―этилацетат 5:10:10:30:50.

На линию старта хроматографической пластинки наносят по 10 мкл испытуемого раствора (25 мкг) и раствора стандартного образца рутозида тригидрата (25 мкг).

Пластинку с нанесёнными пробами сушат на воздухе, помещают в (предварительно насыщенную, в течение 1 ч) камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат до удаления следов растворителей, опрыскивают смесью 2,5 мл железа (III) хлорида раствора 10 % и 7,5 мл раствора калия феррицианида и просматривают в течение 10 мин в видимом свете.

*Результат.* Основная зона адсорбции на хроматограмме испытуемого раствора по положению и окраске должна соответствовать зоне адсорбции рутозида тригидрата на хроматограмме раствора стандартного образца рутозида тригидрата.

4*. Качественная реакция.* Растворяют 10 мг субстанции в 5 мл спирта 96 %, прибавляют 1 г цинка и 2 мл хлористоводородной кислоты раствора 25 %. Раствор должен окраситься в красный цвет.

ИСПЫТАНИЯ

**Вещества нерастворимые в метаноле**. Не более 3,0 %.

*Испытуемый раствор.* Встряхивают 2,5 г субстанции в 50 мл метанола при температуре 20–25 °С в течение 15 мин. Раствор фильтруют при пониженном давлении через фильтр из пористого стекла с диаметром пор 1,6 мкм, предварительно высушенный в течение 15 мин при температуре 100–105 °C, охлаждённый в эксикаторе и взвешенный. Фильтр промывают тремя порциями метанола по 20 мл, сушат при температуре 100–105 °C в течение 30 мин, охлаждают и взвешивают. Масса вещества на фильтре не должна превышать 75 мг.

**Светопоглощающие примеси.** Спектр поглощения полученного раствора в диапазоне длин волн от 450 до 800 нм в кювете с толщиной слоя 1 см не должен превышать 0,10.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 0,2 г субстанции, растворяют в 40 мл 2-пропанола, перемешивают в течение 15 мин, доводят объём раствора до метки и фильтруют. В качестве раствора сравнения используют 2-пропанол.

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

Все растворы должны быть свежеприготовленными.

*Буферный раствор.* В химическом стакане вместимостью 1000 мл помещают 15,6 г натрия дигидрофосфата дигидрата, растворяют в 900 мл воды, доводят рН раствора фосфорной кислотой концентрированной до 3,0. Полученный раствор количественно переносят в мерную колбу вместимостью 1000 мл, доводят объём раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор 0,45 мкм.

*Подвижная фаза А* (ПФА).Тетрагидрофуран—буферный раствор 5:95.

*Подвижная фаза Б* (ПФБ). Тетрагидрофуран—буферный раствор 40:60.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,1 г (точная навеска) субстанции, растворяют в 20 мл метанола и доводят объём раствора ПФБ до метки.

*Раствор стандартного образца рутозида тригидрата.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 10,0 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца рутозида тригидрата, растворяют в 2 мл метанола и доводят объём раствора ПФБ до метки.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 1,0 мл испытуемого раствора, доводят объём раствора ПФБ до метки и перемешивают.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* В мерную колбу вместимостью 20 мл помещают 1 мл раствора сравнения, доводят объём раствора ПФБ до метки и перемешивают. Концентрация раствора составляет 0,1 % от концентрации испытуемого раствора.

Примечание

Примесь А: 5,7-дигидрокси-3-(β-D-глюкофуранозилокси)-2-(3,4-дигидроксифенил)-4*H*-1-бензопиран-4-он (изокверцитрозид). [21637-25-2].

Примесь В: 5,7-дигидрокси-2-(4-гидроксифенил)-3-{[6-*O*-(6-дезокси-α-L-маннопиранозил)-β-D-глюкопиранозил]окси}-4*H*-1-бензопиран-4-он. [17650-84-9].

Примесь С: 3,5,7-тригидрокси-2-(3,4-дигидроксифенил)-4*H*-1-бензопиран-4-он (кверцетин). [117-39-5].

*Хроматографические условия*

|  |  |
| --- | --- |
| Колонка | 250 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм; |
| Температура колонки | 30 °С; |
| Скорость потока | 1,0 мл/мин; |
| Детектор | спектрофотометрический, 280 нм; |
| Объём пробы | 20 мкл. |

*Режим хроматографирования*

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Время, мин | ПФА, % | ПФБ, % |
| 0–10 | 50 → 0 | 50 → 100 |
| 10–15 | 0 | 100 |
| 15–16 | 0 → 50 | 100 → 50 |
| 16–20 | 50 | 50 |

Хроматографируют раствор для проверки чувствительности хроматографической системы, раствор стандартного образца рутозида тригидрата, раствор сравнения и испытуемый раствор.

*Относительное время удерживания соединений.* Рутозид – 1 (около 7 мин); примесь В – около 1,1; примесь А – около 1,2; примесь С – около 2,5.

*Пригодность хроматографической системы.* На хроматограмме раствора стандартного образца рутозида тригидрата *разрешение (R)* между пиками рутозида и примеси B должно быть не менее 2,5.

*Поправочные коэффициенты.* Для расчёта содержания площади пиков следующих примесей умножаются на соответствующие поправочные коэффициенты: примеси А – 0,8; примеси В – 1,0; примеси С – 0,5.

*Допустимое содержание примесей.* На хроматограмме испытуемого раствора:

- площадь каждого из пиков примесей А, В и С не должна превышать площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 2,0 %);

- суммарная площадь пиков всех примесей не должна превышать двукратную площадь основного пика на хроматограмме раствора сравнения (не более 4,0 %).

Не учитывают пики, площадь которых менее площади основного пика на хроматограмме раствора *для проверки чувствительности хроматографической системы* (менее 0,1 %).

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

$$X=\frac{S\_{1}∙a\_{0}·P∙K ∙1∙100·100}{S\_{0}∙a\_{1}·10∙50∙100} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *S*1 | – | среднее значение площади пика любой единичной примеси на хроматограммах испытуемого раствора; |
|  | *S*0 | – | среднее значение площади пика рутозида на хроматограммах раствора сравнения; |
|  | *a*1 | – | навеска субстанции, мг; |
|  | *a*0 | – | навеска фармакопейного стандартного образца рутозида тригидрата, мг; |
|  | *P* | – | содержание рутозида тригидрата в стандартном образце рутозида тригидрата, %; |
|  | *K* | – | поправочный коэффициент для единичной примеси. |

Суммарное содержание примесей в субстанции вычисляют арифметическим сложением найденного содержания каждой единичной примеси.

Вода. От 7,5 % до 9,5 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 0,1 г (точная навеска) субстанции.

Сульфатная зола. Не более 0,10 % (ОФС «Сульфатная зола»). Для определения используют 1,0 г (точная навеска) субстанции.

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом титриметрии (ОФС «Титриметрия (титриметрические методы анализа)»).

Растворяют 0,2 г (точная навеска) субстанции в 20 мл диметилформамида и титруют 0,1 М раствором тетрабутиламмония гидроксида. Конечную точку титрования определяют потенциометрически.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1М раствора тетрабутиламмония гидроксида соответствует 30,53 мг рутозида С27H30O16.

ХРАНЕНИЕ

В герметично укупоренной упаковке, в защищённом от света месте.