

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

**Изониазид+Пиразинамид+Рифампицин,
таблетки диспергируемые**

ФС.3.1.0142.22

**Изониазид+Пиразинамид+Рифампицин,
таблетки диспергируемые**

**Isoniazidum+Pyrazinamidum+Rifampicinum,
tabulettae dispersibiles**

Вводится впервые

Настоящая фармакопейная статья распространяется на лекарственный препарат изониазид+пиразинамид+рифампицин, таблетки диспергируемые. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Таблетки» и нижеприведённым требованиям.

Содержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества изониазида $C_6H_7N_3O$.

Содержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества пиразинамида $C_5H_5N_3O$.

Содержит не менее 90,0 % и не более 110,0 % от заявленного количества рифампицина $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$.

Описание. Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Таблетки».

Подлинность. ВЭЖХ. Время удерживания трёх основных пиков на хроматограмме испытуемого раствора должно соответствовать времени удерживания пиков изониазида, пиразинамида и рифампицина на хроматограмме стандартного раствора (раздел «Количественное определение»).

Распадаемость. Не более 3 мин (ОФС «Таблетки», ОФС «Распадаемость таблеток и капсул»).

Растворение. Определение проводят в соответствии с ОФС «Растворение для твердых дозированных лекарственных форм». Количество изониазида, пиразинамида и рифампицина, перешедшее в среду растворения, определяют методом ВЭЖХ в условиях испытания «Количественное определение» со следующими изменениями.

Условия испытания

Аппарат: «Лопастная мешалка»;
Объем среды растворения: 900 мл;
Скорость вращения: 100 об/мин;
Время растворения: 45 мин.

Среда растворения. Растворяют 8,4 г динатрия гидрофосфата безводного в 6 л воды и доводят рН раствора фосфорной кислотой до $6,80 \pm 0,05$.

Испытуемый раствор. В каждый сосуд для растворения с предварительно нагретой средой растворения помещают одну таблетку. Через 45 мин отбирают пробу раствора и фильтруют, отбрасывая первые порции фильтрата. При необходимости полученный раствор дополнительно разводят средой растворения до ожидаемой концентрации изониазида 33 мкг/мл.

Стандартный раствор. Готовят раствор стандартных образцов изониазида, пиразинамида и рифампицина в растворителе с концентрациями, соответствующими ожидаемым концентрациям изониазида, пиразинамида и рифампицина в испытуемом растворе. Раствор используют в течение 10 мин.

Количество изониазида $C_6H_7N_3O$, пиразинамида $C_5H_5N_3O$ и рифампицина $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$, перешедшее в раствор, в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot C_0 \cdot 900 \cdot F \cdot P}{S_0 \cdot L},$$

- где S_1 – площадь пика изониазида, пиразинамида или рифампицина на хроматограмме испытуемого раствора;
- S_0 – площадь пика изониазида, пиразинамида или рифампицина на хроматограмме стандартного раствора, соответственно;
- C_0 – концентрация стандартного образца изониазида, пиразинамида или рифампицина в стандартном растворе, соответственно, мг/мл;
- F – фактор дополнительного разведения испытуемого раствора;
- P – содержание изониазида, пиразинамида или рифампицина в стандартном образце изониазида, пиразинамида или рифампицина, соответственно, %;
- L – заявленное количество изониазида, пиразинамида или рифампицина в одной таблетке, соответственно, мг.

Через 45 мин в раствор должно перейти не менее 70 % (Q) изониазида $C_6H_7N_3O$.

Через 45 мин в раствор должно перейти не менее 70 % (Q) пиразинамида $C_5H_5N_3O$.

Через 45 мин в раствор должно перейти не менее 70 % (Q) рифампицина $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$.

Дисперсность. В соответствии с ОФС «Таблетки».

Родственные примеси

1. Примеси изониазида. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Буферный раствор. Растворяют 8,98 г калия дигидрофосфата и 0,1 г натрия дигидрофосфата безводного в 900 мл воды и доводят pH раствора фосфорной кислотой до $4,40 \pm 0,05$. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1,0 л и доводят объем раствора водой до метки.

Подвижная фаза (ПФ). Буферный раствор—ацетонитрил 500:500.

Растворитель. Ацетонитрил—вода 70:30.

Раствор бензальдегида. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 г бензальдегида, растворяют в 90 мл смеси метанол—вода 90:10 и доводят объем раствора тем же растворителем до метки.

Испытуемый раствор. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают точную навеску порошка растёртых таблеток, соответствующую около 35,7 мг изониазида, прибавляют 1 мл воды, 4 мл раствора бензальдегида, доводят объём раствора водой до метки, перемешивают и центрифугируют при 2500 об/мин в течение 20 мин. В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

Раствор гидразина сульфата. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 82 мг (точная навеска) гидразина сульфата, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора водой до метки. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 1,0 мл полученного раствора, прибавляют 4 мл раствора бензальдегида, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают в течение 20 мин. В мерную колбу вместимостью 5 мл помещают 2,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

Хроматографические условия

Колонка	125 × 4,0 мм, силикагель октадецилсилильный для хроматографии, 5 мкм;
Температура колонки	25 °С;
Скорость потока	1,0 мл/мин;
Детектор	спектрофотометрический, 310 нм;
Объём пробы	50 мкл;
Время хроматографирования	1,5-кратное от времени удерживания пика гидразина.

Хроматографируют раствор гидразина сульфата и испытуемый раствор.

Время удерживания соединений. Гидразин – около 23 мин.

Пригодность хроматографической системы. На хроматограмме раствора гидразина сульфата:

- *фактор асимметрии пика (A_s)* гидразина должен быть не более 2,0;

- *относительное стандартное отклонение* площади пика гидразина должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки (N)*, рассчитанная по пику гидразина, должна составлять не менее 10000 теоретических тарелок.

Содержание гидразина в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 10 \cdot 1 \cdot 5 \cdot 1 \cdot 2 \cdot P \cdot G \cdot 32,04}{S_0 \cdot a_1 \cdot 100 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 10 \cdot 5 \cdot L \cdot 130,12} = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot G \cdot 32,04}{S_0 \cdot a_1 \cdot 10000 \cdot L \cdot 130,12}$$

где S_1 – площадь пика гидразина на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – площадь пика гидразина на хроматограмме раствора гидразина сульфата;

a_1 – навеска порошка растёртых таблеток, мг;

a_0 – навеска гидразина сульфата, мг;

P – содержание основного вещества в гидразина сульфате, %;

G – средняя масса одной таблетки, мг;

L – заявленное количество изониазида в одной таблетке, мг;

32,04 – молекулярная масса гидразина;

130,12 – молекулярная масса гидразина сульфата.

Допустимое содержание примесей:

- гидразин – не более 0,02 %.

2. Примеси пиразинамида. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Все растворы используют свежеприготовленными.

Раствор натрия дигидрофосфата. В мерную колбу вместимостью 1,0 л помещают 0,78 г натрия дигидрофосфата безводного, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

Подвижная фаза (ПФ). Ацетонитрил—раствор натрия дигидрофосфата 50:950.

Растворитель. Ацетонитрил—вода 5:95.

Испытуемый раствор. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают точную навеску порошка растёртых таблеток, соответствующую около 50 мг пиразинамида, прибавляют 70 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора растворителем до метки, перемешивают и центрифугируют при 2500 об/мин в течение 5 мин.

Раствор стандартного образца пиразинамида. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 10 мг (точная навеска) стандартного образца пиразинамида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

Раствор стандартного образца изониазида. В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 9,3 мг стандартного образца изониазида, растворяют в воде и доводят объём раствора тем же растворителем 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 10 мл помещают 5 мг стандартного образца пиразинамида, растворяют в растворителе и доводят объём раствора растворителем до метки. В мерную колбу вместимостью 25 мл помещают 9,0 мл полученного раствора, прибавляют 1 мл хлористоводородной кислоты раствора 0,5 М, выдерживают на водяной бане при температуре 80 °С в течение 1 ч, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора растворителем до метки.

Хроматографические условия

Колонка	250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм;
Температура колонки:	20 °С;
Скорость потока	1,0 мл/мин;

Детектор	спектрофотометрический, 275 нм;
Объём пробы	20 мкл;
Время хроматографирования	15 мин.

Хроматографируют раствор для проверки разделительной способности хроматографической системы, раствор стандартного образца изониазида, раствор стандартного образца пиразинамида и испытуемый раствор.

Пригодность хроматографической системы

На хроматограмме раствора для проверки разделительной способности хроматографической системы *разрешение* (R_S) между пиком продукта деструкции с относительным временем удерживания около 0,5 и пиком пиразинамида должно быть не менее 4,0.

На хроматограмме раствора стандартного образца пиразинамида:

- *относительное стандартное отклонение* площади пика пиразинамида должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- *эффективность хроматографической колонки* (N), рассчитанная по пику пиразинамида, должна составлять не менее 7500 теоретических тарелок.

Содержание каждой из примесей в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 1 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot a_1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot L} = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot a_1 \cdot 100 \cdot L}$$

где S_1 – площадь пика каждой из примесей на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – площадь пика пиразинамида на хроматограмме раствора стандартного образца пиразинамида;

a_1 – навеска порошка растёртых таблеток, мг;

a_0 – навеска стандартного образца пиразинамида, мг;

P – содержание пиразинамида в стандартном образце пиразинамида, %;

G – средняя масса одной таблетки, мг;

L – заявленное количество пиразинамида в одной таблетке, мг.

Допустимое содержание примесей:

- любая примесь – не более 0,2 %;
- сумма примесей – не более 0,6 %.

Пик, соответствующий изониазиду, не учитывают.

3. Примеси рифампицина. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Раствор для приготовления подвижной фазы. Растворяют 1,9 г натрия перхлората в 200 мл воды, прибавляют 1 мл фосфорной кислоты концентрированной, 5,9 г лимонной кислоты, 20,9 г калия дигидрофосфата, доводят водой до 1000 мл и перемешивают.

Подвижная фаза (ПФ). Ацетонитрил—раствор для приготовления подвижной фазы 35:65.

Растворитель. К 10 объемам 21,01 % раствора лимонной кислоты прибавляют 23 объема 13,61 % раствора калия дигидрофосфата, 77 объемов 17,42 % раствора дикалия гидрофосфата, 250 объемов ацетонитрила и 640 объемов воды.

Испытуемый раствор. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают точную навеску порошка растёртых таблеток, соответствующую около 0,2 г рифампицина, прибавляют 30 мл ацетонитрила, обрабатывают ультразвуком в течение 20 мин, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и фильтруют. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

Стандартный раствор. В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают около 10 мг (точная навеска) стандартного образца рифампицина, около 10 мг (точная навеска) стандартного образца рифампицина хинона, около 10 мг (точная навеска) стандартного образца рифампицина *N*-оксида, около 10 мг (точная навеска) стандартного образца 3-формил-рифампицина, растворяют в 70 мл ацетонитрила, обрабатывая ультразвуком, охлаждают до комнатной температуры и доводят объём раствора тем же растворителем до

метки. В мерную колбу вместимостью 50 мл помещают 5,0 мл полученного раствора и доводят объём раствора растворителем до метки.

Примечание

Рифампицина хинон:

([(2*S*,12*Z*,14*E*,16*S*,17*S*,18*R*,19*R*,20*R*,21*S*,22*R*,23*S*,24*E*)-5,17,19-тригидрокси-2,4,12,16,18,20,22-гептаметил-8-[*N*-(4-метилпиперазин-1-ил)метанимидоил]-23-метокси-1,6,9,11-тетраоксо-1,2,6,9-тетрагидро-2,7-(эпоксипентадека[1,11,13]триеназано)нафто[2,1-*b*]фуран-21-ил]ацетат, CAS 13983-13-6.

Рифампицина *N*-оксид:

[(2*S*,12*Z*,14*E*,16*S*,17*S*,18*R*,19*R*,20*R*,21*S*,22*R*,23*S*,24*E*)-5,6,9,17,19-пентагидрокси-2,4,12,16,18,20,22-гептаметил-8-[*N*-(4-метил-4-оксидопиперазин-4-ий-1-ил)метанимидоил]-23-метокси-1,11-диоксо-1,2-дигидро-2,7-(эпоксипентадека[1,11,13]триеназано)нафто[2,1-*b*]фуран-21-ил]ацетат, CAS 51963-55-4.

3-Формил-рифамицин: 1,2-дигидро-5,6,9,17,19,21-гексагидрокси-23-метокси-2,4,12,16,18,20,22-гептаметил-1,11-диоксо-2,7-(эпоксипентадека[1,11,13]триенимино)нафто[2,1-*b*]фуран-8-карбоксальдегид 21-ацетат, CAS 13292-22-3.

3-(Изоникотиноилгидразонметил)-рифамицин, CAS 13292-53-0.

Хроматографические условия

Колонка	100 × 4,6 мм, силикагель октилсилильный для хроматографии, 5 мкм;
Температура колонки:	30 °С;
Температура образца:	10 °С;
Скорость потока	1,5 мл/мин;
Детектор	спектрофотометрический, 254 нм;
Объём пробы	50 мкл;
Время хроматографирования	45 мин.

Хроматографируют стандартный и испытуемый растворы.

Относительное время удерживания соединений. Рифампицин – 1; рифампицина хинон – около 0,59; рифампицина *N*-оксид – около 1,20; 3-(изоникотиноилгидразонметил)-рифамицин – около 1,51; 3-формил-рифамицин – около 2,97.

Пригодность хроматографической системы. На хроматограмме стандартного раствора:

- разрешение (R_S) между пиками рифампицина хинона и рифампицина должно быть не менее 4,0;

- разрешение (R_S) между пиками рифампицина и рифампицина N -оксида должно быть не менее 4,0;

- фактор асимметрии пика (A_S) рифампицина должен быть не более 4,0;

- относительное стандартное отклонение площади пика рифампицина должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- эффективность хроматографической колонки (N), рассчитанная по пику рифампицина, должна составлять не менее 2000 теоретических тарелок.

Поправочные коэффициенты. Для расчёта содержания площадь пика 3-(изоникотиноилгидразонметил)-рифамицина умножается на поправочный коэффициент 0,82.

Содержание рифампицина хинона, рифампицина N -оксида и 3-формил-рифамицина в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 5 \cdot 50 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot a_1 \cdot 100 \cdot 5 \cdot 50 \cdot L} = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot a_1 \cdot L},$$

где S_1 – площадь пика рифампицина хинона, рифампицина N -оксида или 3-формил-рифамицина на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – площадь пика рифампицина хинона, рифампицина N -оксида или 3-формил-рифамицина на хроматограмме стандартного раствора, соответственно;

a_1 – навеска порошка растёртых таблеток, мг;

a_0 – навеска стандартного образца рифампицина хинона, рифампицина N -оксида или 3-формил-рифамицина, соответственно, мг;

P – содержание рифампицина хинона, рифампицина N -оксида или 3-формил-рифамицина в стандартном образце рифампицина хинона, рифампицина N -оксида или 3-формил-рифамицина, соответственно, %;

G – средняя масса одной таблетки, мг;

L – заявленное количество рифампицина в одной таблетке, мг.

Содержание 3-(изоникотиноилгидразонметил)-рифамицина и любой другой примеси в препарате в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 50 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot a_1 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 50 \cdot L} = \frac{S_1 \cdot a_0 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot a_1 \cdot L},$$

где S_1 – площадь пика 3-(изоникотиноилгидразонметил)-рифамицина или любой другой примеси на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – площадь пика рифампицина на хроматограмме стандартного раствора;

a_1 – навеска порошка растёртых таблеток, мг;

a_0 – навеска стандартного образца рифампицина, мг;

P – содержание рифампицина в стандартном образце рифампицина, %;

G – средняя масса одной таблетки, мг;

L – заявленное количество рифампицина в одной таблетке, мг.

Допустимое содержание примесей:

- 3-(изоникотиноилгидразонметил)-рифампицин – не более 5,0 %;
- рифампицина хинон – не более 3,0 %;
- рифампицина *N*-оксид – не более 1,5 %;
- 3-формил-рифампицина – не более 1,5 %;
- любая другая примесь – не более 1,5 %.

Однородность дозирования. В соответствии с ОФС «Однородность дозирования».

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

Количественное определение. Определение проводят методом ВЭЖХ (ОФС «Высокоэффективная жидкостная хроматография»).

Буферный раствор. Растворяют 1,4 г динатрия гидрофосфата безводного в 800 мл воды, перемешивают и доводят рН раствора фосфорной кислотой до $6,80 \pm 0,05$. Переносят полученный раствор в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объём раствора водой до метки.

Подвижная фаза А (ПФА). Буферный раствор—ацетонитрил 960:40.

Подвижная фаза Б (ПФБ). Буферный раствор—ацетонитрил 450:550.

Растворитель. Метанол—буферный раствор 4:96.

Испытуемый раствор. Точную навеску порошка растёртых таблеток, соответствующую около 8 мг изониазида, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 90 мл растворителя, обрабатывают ультразвуком в течение 10 мин, охлаждают до комнатной температуры, доводят объём раствора растворителем до метки, перемешивают и фильтруют. Раствор используют в течение 2 ч.

Стандартный раствор. Готовят раствор стандартных образцов изониазида, пиразинамида и рифампицина в растворителе с концентрациями, соответствующими ожидаемым концентрациям изониазида, пиразинамида и рифампицина в испытуемом растворе. Раствор используют в течение 10 мин.

Хроматографические условия

Колонка	250 × 4,6 мм, силикагель октадецилсилильный, деактивированный по отношению к основаниям, эндкепированный для хроматографии, 5 мкм;
Температура колонки	25 °С;
Скорость потока	1,5 мл/мин;
Детектор	спектрофотометрический, 238 нм;
Объём пробы	20 мкл.

Режим хроматографирования

Время, мин	ПФА, %	ПФБ, %
0–5	100	0
5–6	100 → 0	0 → 100
6–15	0	100

Хроматографируют стандартный и испытуемый растворы.

Относительное время удерживания соединений. Пиразинамид – 1 (около 5 мин); изониазид – около 0,7, рифампицин – около 1,8.

Пригодность хроматографической системы. На хроматограмме стандартного раствора:

- разрешение (R_S) между пиками изониазида и пиразинамида должно быть не менее 4,0;

- фактор асимметрии каждого из пиков (A_S) изониазида, пиразинамида и рифампицина должен быть не более 2,0;

- относительное стандартное отклонение площади каждого из пиков изониазида, пиразинамида и рифампицина должно быть не более 2,0 % (6 определений);

- эффективность хроматографической колонки (N), рассчитанная по пику рифампицина, должна составлять не менее 50000 теоретических тарелок;

- эффективность хроматографической колонки (N), рассчитанная по пику изониазида, должна составлять не менее 6000 теоретических тарелок;

- эффективность хроматографической колонки (N), рассчитанная по пику пиразинамида, должна составлять не менее 10000 теоретических тарелок.

Содержание изониазида $C_6H_7N_3O$, пиразинамида $C_5H_5N_3O$ или рифампицина $C_{43}H_{58}N_4O_{12}$ в препарате в процентах от заявленного количества (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_1 \cdot C_0 \cdot 100 \cdot P \cdot G}{S_0 \cdot a_1 \cdot L},$$

где S_1 – площадь пика изониазида, пиразинамида или рифампицина на хроматограмме испытуемого раствора;

S_0 – площадь пика изониазида, пиразинамида или рифампицина на хроматограмме стандартного раствора, соответственно;

a_1 – навеска порошка растёртых таблеток, мг;

C_0 – концентрация стандартного образца изониазида, пиразинамида или рифампицина в стандартном растворе, мг/мл;

P – содержание изониазида, пиразинамида или рифампицина в стандартном образце изониазида, пиразинамида или рифампицина, соответственно, %;

G – средняя масса одной таблетки, мг;

L – заявленное количество изониазида, пиразинамида или

рифампицина в одной таблетке, соответственно, мг.

Хранение. В защищённом от света месте.