МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

**ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ**

|  |
| --- |
|  |

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Изоникотиноилгидразин железа сульфат дигидрат** |  | **ФС.2.1.0597** |
| **Изоникотиноилгидразин железа сульфат** |  |  |
| **Isonicotinoylhydrazini ferri sulfas dihydricus** |  | **Взамен ВФС 42-2998-97** |

|  |
| --- |
|  |

|  |
| --- |
|  |
| C6H7N3O·FeSO4·2H2O | М.м. 325,08 |

ОПРЕДЕЛЕНИЕ

(Изоникотиноилгидразино-*O*,*N*ʹ)железа(II) сульфат дигидрат.

Содержит не менее 98,0 % и не более 102,0 % изоникотиноилгидразина железа сульфата C6H7N3O·FeSO4 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

Содержит не менее 46,5 % и не более 48,5 % изониазида в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

Содержит не менее 51,7 % и не более 53,3 % железа(II) сульфата FeSO4 в пересчёте на безводное и свободное от остаточных органических растворителей вещество.

СВОЙСТВА

**Описание**. От оранжевого до оранжево-коричневого цвета кристаллический порошок с характерным запахом.

**Растворимость**. Практически нерастворим в воде, спирте 96 % и ацетоне.

\*Мало растворяется в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М, допускается образование мутных растворов.

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 изоникотиноилгидразина железа сульфата.

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

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 50 мг субстанции, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М 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 хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до метки.

Спектр поглощения испытуемого раствора в области длин волн от 220 нм до 300 нм должен иметь максимум при 266 нм и минимум при 235 нм.

*3. Качественная реакция.* Растворяют 10 мг субстанции в 2 мл хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М и прибавляют 1 мл калия феррицианида раствора 5 %. Полученный раствор должен давать характерную реакцию на железо(II) (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

*4. Качественная реакция.* Растворяют 2 мг субстанции в 2 мл хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М. Полученный раствор должен давать характерную реакцию на сульфаты (ОФС «Общие реакции на подлинность»).

ИСПЫТАНИЯ

**Родственные примеси**. Определение проводят методом ТСХ (ОФС «Тонкослойная хроматография»).

***1. Изониазид***

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля FG254.

*Подвижная фаза (ПФ).* Вода—ацетон—метанол—этилацетат 10:20:20:50.

*Испытуемый раствор.* Перемешивают 2,5 г субстанции и 35 мл ацетона на магнитной мешалке в течение 30 мин. Полученную смесь фильтруют. Осадок промывают 15 мл ацетона, фильтрат переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объём ацетоном до метки.

*Раствор стандартного образца изониазида (А).* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца изониазида, растворяют в 60 мл ацетона и доводят объём раствора тем же растворителем до метки.

*Раствор стандартного образца изониазида (Б).* К 4,0 мл раствора стандартного образца изониазида (А) прибавляют 1,0 мл ацетона.

*Раствор стандартного образца изониазида (В).* К 3,0 мл раствора стандартного образца изониазида (А) прибавляют 2,0 мл ацетона.

*Раствор стандартного образца изониазида (Г).* К 2,0 мл раствора стандартного образца изониазида (А) прибавляют 3,0 мл ацетона.

*Раствор стандартного образца изониазида (Д).* К 1,0 мл раствора стандартного образца изониазида (А) прибавляют 4,0 мл ацетона.

*Раствор для проверки чувствительности хроматографической системы.* К 0,5 мл раствора стандартного образца изониазида (А) прибавляют 4,5 мл ацетона.

На линию старта пластинки наносят по 4 мкл испытуемого раствора (200 мкг), раствора стандартного образца изониазида (А) (1 мкг), раствора стандартного образца изониазида (Б) (0,8 мкг), раствора стандартного образца изониазида (В) (0,6 мкг), раствора стандартного образца изониазида (Г) (0,4 мкг), раствора стандартного образца изониазида (Д) (0,2 мкг) и раствора для проверки чувствительности хроматографической системы (0,1 мкг). Пластинку с нанесёнными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в камеру с ПФ и хроматографируют восходящим способом. Когда фронт ПФ пройдёт около 80–90 % длины пластинки от линии старта, её вынимают из камеры, сушат на воздухе до удаления следов растворителей и просматривают в УФ свете при 254 нм.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы должна обнаруживаться чёткая зона адсорбции.

На хроматограмме испытуемого раствора допускается наличие только одной дополнительной зоны адсорбции, не превышающей по совокупности величины и интенсивности флуоресценции зону адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца изониазида (А) (не более 0,5 %).

***2. Гидразин***

*Пластинка.* ТСХ пластинка со слоем силикагеля F254.

*Подвижная фаза (ПФ).* Хлористоводородной кислоты раствор 0,5 М—ацетон—метанол—этилацетат 10:20:20:50.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 10 мл помещают 0,8 г субстанции и 5 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М, перемешивают в течение 10 мин на ультразвуковой бане, охлаждают раствор до комнатной температуры и доводят объём раствора ацетоном до метки.

*Раствор стандартного образца гидразина сульфата.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 80 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца гидразина сульфата, растворяют в 50 мл хлористоводородной кислоты раствора 1 М и доводят объём раствора ацетоном до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

На линию старта пластинки наносят 5 мкл (400 мкг) испытуемого раствора, 1 мкл (0,2 мкг) и 0,5 мкл (0,1 мкг) раствора стандартного образца гидразина сульфата. Пластинку с нанесёнными пробами высушивают на воздухе в течение 5 мин, помещают в 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 диметиламинобензальдегида спиртовым раствором и просматривают при дневном свете.

*Пригодность хроматографической системы*. На хроматограмме раствора стандартного образца гидразина сульфата, содержащей 0,1 мкг гидразина сульфата, должна обнаруживаться чёткая зона адсорбции основного вещества.

На хроматограмме испытуемого раствора допускается наличие только одной дополнительной зоны адсорбции, не превышающей по совокупности величины и интенсивности флуоресценции зону адсорбции на хроматограмме раствора стандартного образца гидразина (не более 0,05 %).

Зону адсорбции на линии старта при оценке не учитывают.

**Вода.** Не более 14,0 % (ОФС «Определение воды», метод 1). Для определения используют 50 мг (точная навеска) субстанции и, в качестве растворителя, смесь 1 мл уксусной кислоты безводной и 5 мл метанола.

Тяжёлые металлы. Не более 0,001 % Определение проводят в соответствии с ОФС «Тяжёлые металлы» (метод 3Б) в зольном остатке, полученном после сжигания 1 г субстанции, с использованием эталонного раствора 1.

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

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

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ

Определение проводят методом спектрофотометрии (ОФС «Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях»).

***1. Изониазид***

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,1 г (точная навеска) субстанции, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М, при необходимости обрабатывая ультразвуком, доводят объём раствора тем же растворителем до метки и фильтруют (раствор А). В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл раствора А и доводят объём раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 42 мг (точная навеска) фармакопейного стандартного образца изониазида и 0,12 г (точная навеска) железа(II) аммония сульфата, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки (раствор Б).

В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 5,0 мл раствора Б и доводят объём раствора хлористоводородной кислоты раствором 0,1 М до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

Измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 266 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М.

Содержание изониазида в субстанции в пересчёте на безводное вещество в процентах *(Х)* вычисляют по формуле:

$$X=\frac{A\_{1}∙a\_{0}∙P∙100·100·5·100}{A\_{0}∙a\_{1}·100·100·5·(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A*1 | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *A*0 | − | оптическая плотность стандартного раствора; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска фармакопейного стандартного образца изониазида, мг; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в фармакопейном стандартном образце изониазида, %. |

***2. Железа(II) сульфат***

*о-Фенантролина раствор 0,5 %.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 0,5 г *о*-фенантролина сульфата, растворяют в хлористоводородной кислоты растворе 0,1 М и доводят объём раствора тем же растворителем до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Натрия ацетата раствор 2,5 %.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 25 мл натрия ацетата раствора 10 % и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Испытуемый раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл раствора А (количественное определение изониазида), прибавляют 1 мл натрия ацетата раствора 2,5 % и 2 мл *о*-фенантролина раствора 0,5 %, выдерживают 1 ч и доводят объём раствора водой до метки.

*Стандартный раствор.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 2,0 мл раствора Б (количественное определение изониазида), прибавляют 1 мл натрия ацетата раствора 2,5 % и 2 мл *о*-фенантролина раствора 0,5 %, выдерживают 1 ч и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

*Раствор сравнения.* В мерную колбу вместимостью 100 мл помещают 1 мл натрия ацетата раствора 2,5 % и 2 мл *о*-фенантролина раствора 0,5 %, выдерживают 1 ч и доводят объём раствора водой до метки. Раствор используют свежеприготовленным.

Измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 510 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Содержание железа(II) сульфата в субстанции в процентах в пересчёте на безводное вещество *(*$X$*)* вычисляют по формуле:

$$X=\frac{A\_{1}∙a\_{0}∙P∙100·100·2·100·0,3873}{A\_{0}∙a\_{1}·100·100·2·(100-W)} ,$$

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| где | *A*1 | − | оптическая плотность испытуемого раствора; |
|  | *A*0 | − | оптическая плотность стандартного раствора; |
|  | *а*1 | − | навеска субстанции, мг; |
|  | *а*0 | − | навеска железа(II) аммония сульфата, мг; |
|  | *W* | − | суммарное содержание воды и остаточных органических растворителей в субстанции, %; |
|  | *P* | − | содержание основного вещества в железа(II) аммония сульфате, %; |
|  | *0,3873* | − | поправочный коэффициент. |

***3. Изоникотиноилгидразина железа сульфат***

Содержание изоникотиноилгидразина железа сульфата рассчитывают как сумму содержания изониазида и железа(II) сульфата.

ХРАНЕНИЕ

В защищённом от света месте.

\*Приводится для информации.