

**INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)**

**FARMACOPEA ARGENTINA**

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES  
REPUBLICA ARGENTINA

FAX 5411-4340-0853

**CLORHIDRATO DE AMILORIDA**

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control N° 119043)

Clorhidrato de *N*-amidino-3,5-diamino-6-cloropirazincarboxamida dihidrato.

$C_6H_8ClN_7O \cdot HCl \cdot 2H_2O$

P. Mol.: 302,12

**Descripción:** polvo amarillo.

**Espectro de absorción infrarrojo:**

Sustancia tal cual.

Equipo: espectrómetro FT-IR Perkin Elmer, modelo Spectrum Two.

Disco de KBr.

(Ver espectro adjunto).

**Contenido de agua:** 10,94 % (determinaciones efectuadas: 6; desviación estándar: 0,18).

Determinado por coulombimetría.

Equipo: coulombímetro Metrohm, modelo Titrand 851.

**Acidez:**

Volumen gastado: 0,03 ml (determinaciones efectuadas: 3; desviación estándar: 0,001).

Concentración de la solución: ~ 10 mg/ml.

Disolvente de la muestra: 50 ml de una mezcla de metanol y agua libre de dióxido (1:1).

Titulación potenciométrica en medio acuoso con solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

Equipo: titulador automático Metrohm, modelo Titrand 904, software Tiamo 2.3.

Electrodo combinado: unitrode, Metrohm 6.0258.010.

### Espectro de absorción ultravioleta:

**Precauciones:** no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

Concentración de la solución: 0,015 mg/ml.

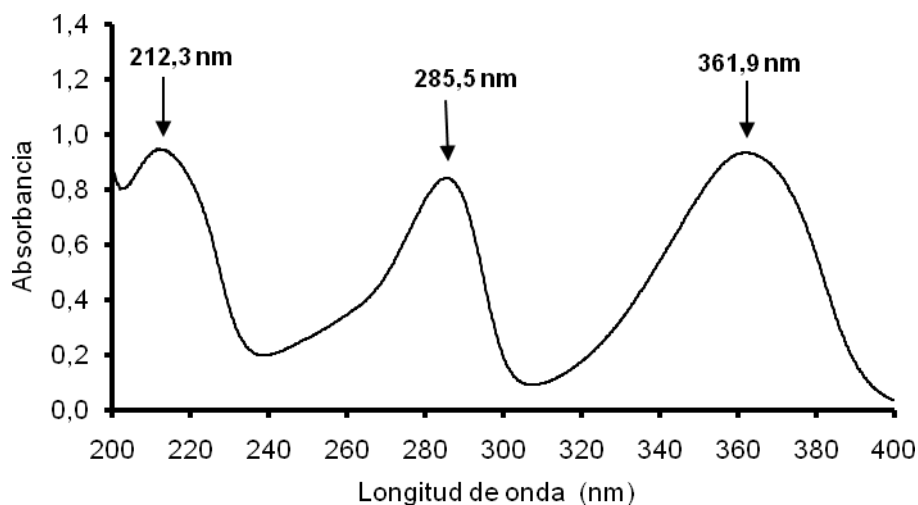
Disolvente: solución de ácido clorhídrico 0,1 N - agua (94:6).

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 0,5.

Barrido UV entre 200 y 400 nm, efectuado con velocidad lenta.

Equipo: espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV 2700.



### Absorbancia:

Concentración de la solución, disolvente, cubetas, slit, equipo y precauciones: ídem "Espectro de absorción ultravioleta".

$\lambda$ : 285,5 nm.

$A = 0,831$  (determinaciones efectuadas: 10; desviación estándar: 0,005).

$\lambda$ : 361,9 nm.

$A = 0,923$  (determinaciones efectuadas: 10; desviación estándar: 0,005).

**Nota:** la lectura de cada solución se realizó inmediatamente luego de su preparación.

### Estimación de impurezas presentes por cromatografía líquida de alta eficacia:

**Precauciones:** no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

Equipo: cromatógrafo líquido de alta eficacia Shimadzu, modelo LC-20A, con procesador de datos LabSolutions.

Columna: Phenomenex Luna C8 (2); longitud: 15 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 3  $\mu$ m.

Longitud de onda: 210 nm.

Temperatura: 30 °C.

Fase móvil: 0,8 g de hexanosulfonato de sodio monohidrato en una mezcla de 80 ml de acetonitrilo y 920 ml de solución de fosfato pH 3,0.

Solución de fosfato pH 3,0: pesar aproximadamente 2,76 g de fosfato monobásico de sodio monohidrato, disolver en 850 ml de agua destilada y homogeneizar. Ajustar a pH 3,0 ± 0,1 con ácido fosfórico y diluir a 1000 ml con agua destilada.

Disolvente y blanco: solución de fosfato pH 3,0 - metanol (9:1).

Flujo: 1,5 ml/minuto.

Volumen de inyección de todas las soluciones: 20 µl.

Muestra: Clorhidrato de Amilorida.

Concentración de la muestra: ~ 2 mg/ml.

Preparación de la solución muestra: pesar exactamente alrededor de 20 mg de Clorhidrato de Amilorida, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 1 ml de metanol y agitar vigorosamente hasta disolver. Completar a volumen con solución de fosfato pH 3,0 y homogeneizar.

Testigo: Impureza A: 3,5-diamino-cloropirazin-2-carboxilato de metilo CRS, Farmacopea Europea, Lote 3.0.

Solución de resolución: Clorhidrato de Amilorida + impureza A.

Concentración: ~ 0,1 mg/ml de Clorhidrato de Amilorida + 0,2 mg/ml de impureza A.

Preparación de la solución resolución: pesar exactamente alrededor de 1 mg de Clorhidrato de Amilorida y 2 mg de impureza A, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 0,5 ml de metanol y agitar vigorosamente hasta disolver. Completar a volumen con solución de fosfato pH 3,0 y homogeneizar.

Solución de referencia: solución diluida de Clorhidrato de Amilorida.

Concentración: ~ 0,01 mg/ml de Clorhidrato de Amilorida.

Preparación de la solución de referencia: pesar exactamente alrededor de 2,5 mg de Clorhidrato de Amilorida, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 1 ml de metanol y agitar vigorosamente hasta disolver. Completar a volumen con solución de fosfato pH 3,0 y homogeneizar. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 20 ml, completar a volumen con solución de fosfato pH 3,0 y homogeneizar.

Cantidad de soluciones de muestras independientes inyectadas: 12.

Cantidad de soluciones de referencia independientes inyectadas: 8.

Resultado: se detecta la presencia de catorce impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de la solución de referencia
Impureza desconocida	2,6	0,001
Impureza desconocida	3,7	0,001
Impureza desconocida	3,8	0,001
Impureza desconocida	5,9	0,001
Impureza desconocida	6,5	0,013
Impureza desconocida	7,1	0,085
Impureza desconocida	8,4	0,018
Impureza A	10,1	0,017
Clorhidrato de Amilorida	12,1	pico principal
Impureza desconocida	14,3	0,003
Impureza desconocida	15,0	0,078
Impureza desconocida	16,3	0,001
Impureza desconocida	18,1	0,001
Impureza desconocida	26,7	0,001
Impureza desconocida	39,6	0,012

Impurezas totales: 0,23 %.

**Valoración:** 100,6 %; calculado sobre la sustancia anhidra (determinaciones efectuadas: 9; coeficiente de variación: 0,20 %).

Método: titulación potenciométrica con solución de hidróxido de sodio 0,1 N.

Patrón primario: biftalato de potasio.

Disolvente del patrón primario: 50 ml de una mezcla de agua y ácido clorhídrico 0,01 N (45 + 5).

Disolvente de la muestra: 50 ml de una mezcla de etanol y ácido clorhídrico 0,01 N (50 + 5).

Preparación de la muestra: se pesan exactamente alrededor de 243 mg de Clorhidrato de Amilorida, se agregan 50 ml de etanol y luego 5 ml de ácido clorhídrico 0,01 N. Se calienta con agitación magnética hasta 45 °C aproximadamente durante 10 minutos y se titula.

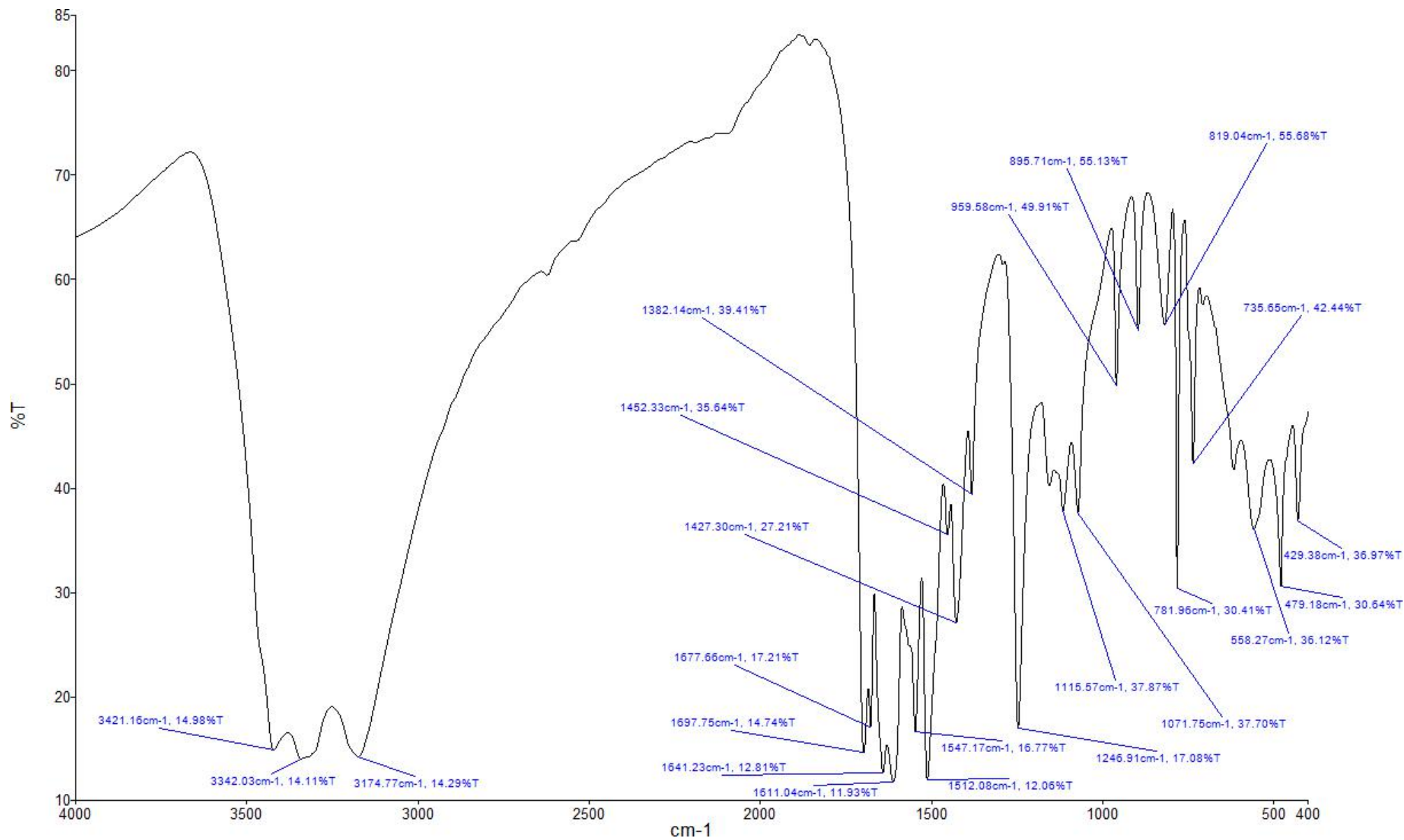
Equipo: titulador automático Metrohm, modelo Titrando 904, software Tiamo 2.3.

Electrodo combinado: unitrode, Metrohm 6.0258.010.

**Precauciones:** proteger de la luz la sustancia y sus soluciones durante todo el procedimiento.

**Conservación:** esta Sustancia de Referencia debe conservarse al abrigo de la luz, en envase herméticamente cerrado, a  $5\text{ °C} \pm 3\text{ °C}$  y en ambiente de baja humedad.

**Uso:** la Sustancia de Referencia Clorhidrato de Amilorida está destinada exclusivamente a ser usada en ensayos físico-químicos y no debe ser utilizada para consumo humano o animal. El riesgo y las eventuales consecuencias de su uso con propósitos diferentes al previsto será exclusiva responsabilidad del usuario.



**Clorhidrato de Amilorida – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina**