

## INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

### FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES  
REPUBLICA ARGENTINA

FAX 5411-4340-0853

## BESILATO DE AMLODIPINA

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control N° 117022)

Bencenosulfonato de 3-etil-5-metil-(4RS)-2-[(aminoetoxi)metil]-4-(2-clorofenil)-6-metil-1,4-dihidropiridina-3,5-dicarboxilato.

$C_{20}H_{25}ClN_2O_5 \cdot C_6H_6O_3S$

P. Mol.: 567,1

**Descripción:** polvo blanco fino.

#### **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:** 0,08 % (determinaciones efectuadas: 14; desviación estándar: 0,008).

Determinado por coulombimetría.

Equipo: coulombímetro Metrohm, modelo Titrand 851.

#### **Espectro de absorción ultravioleta:**

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

Concentración de la solución: 0,026 mg/ml.

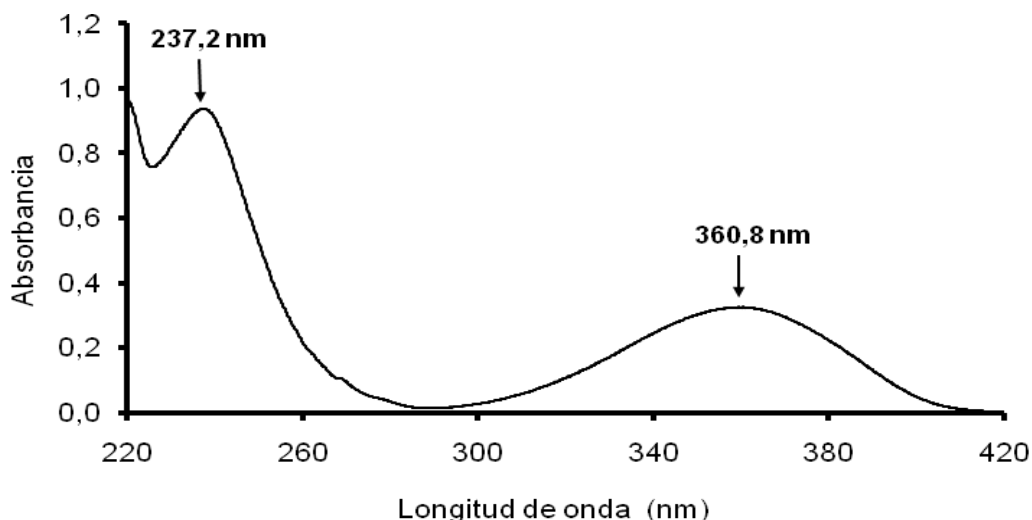
Disolvente: solución de ácido clorhídrico al 1 % V/V en metanol.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 0,5.

Barrido UV entre 220 y 420 nm, efectuado con velocidad lenta.

Equipo: espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV 2700.



### Absorbancia:

Disolvente, cubetas, slit, equipo y precauciones: ídem "Espectro de absorción ultravioleta".

Concentración de la solución: 0,024 mg/ml.

$\lambda$ : 237,2 nm.

$A = 0,827$  (determinaciones efectuadas: 10; desviación estándar: 0,003).

**Nota:** la lectura de cada solución se realizó entre los 10 y los 20 minutos luego de su preparación.

**Rotación óptica:**  $\alpha$  (20 °C, D) = - 0,003° (determinaciones efectuadas: 8, desviación estándar: 0,002).

Concentración de la solución: 10 mg/ml.

Disolvente: metanol.

Equipo: Polarímetro Anton Paar, modelo MCP 300.

### Cromatografía en capa delgada:

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

Fase fija: cromatofolio de gel de sílice 60 F 254, 20x20 cm, Merck art. 5735.

Fase móvil: emplear la fase superior de una mezcla de metilisobutilcetona, agua y ácido acético glacial (50:25:25).

Disolvente: metanol.

Volumen sembrado de las soluciones: 10  $\mu$ l.

Sustancia A (muestra): Besilato de Amlodipina.

Concentración de la solución  $A_1$ : 70 mg/ml.

Cantidad sembrada  $a_1$ : 700  $\mu$ g.

Concentración de la solución  $A_2$ : 0,2 mg/ml.

Cantidad sembrada  $a_2$ : 2,0  $\mu$ g.

Concentración de la solución  $A_3$ : 0,07 mg/ml.

Cantidad sembrada  $a_3$ : 0,7  $\mu$ g.

Concentración de la solución  $A_4$ : 0,035 mg/ml.

Cantidad sembrada  $a_4$ : 0,35  $\mu$ g.

Condiciones de desarrollo: cámara con recubrimiento interno de papel de filtro, saturada durante 2 horas.

Corrida de 15 cm a partir del punto de siembra.

Revelador: luz UV de 254 y 366 nm.

Resultado:

Rf de la mancha principal  $\cong 0,45$ .

Rf de la soluciones diluidas  $\cong 0,45$ .

Para las cantidades sembradas  $a_2$ ,  $a_3$  y  $a_4$  se detectan las manchas correspondientes.

Para la cantidad sembrada  $a_1$ :

- con luz UV de 254 nm, se detectan la mancha principal y una cola difusa y además dos manchas secundarias de Rf  $\cong 0,65$  y Rf  $\cong 0,72$ . Ambas han sido estimadas de intensidad menor a  $a_4$ , es decir menores a 0,05 %.

- con luz UV de 366 nm, se detectan la mancha principal y además dos manchas secundarias de Rf  $\cong 0,65$  y Rf  $\cong 0,72$ . Ambas han sido estimadas de intensidad menor a  $a_4$ , es decir menores a 0,05 %.

### **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 Synergi-Hydro PR 80A, C18; longitud: 25,0 cm; diámetro interno: 4,6 mm, diámetro de partícula: 5  $\mu\text{m}$ .

Longitud de onda: 237 nm.

Temperatura: 30 °C.

Fase móvil: solución de trietilamina pH 3,0 - metanol - acetonitrilo (60:30:10).

Solución de trietilamina pH 3,0: agregar 21 ml de trietilamina a 2.400 ml de agua bidestilada y homogeneizar. Ajustar a pH 3,0  $\pm$  0,1 con ácido fosfórico, llevar a 3.000 ml con agua bidestilada y homogeneizar.

Flujo: 1,5 ml/minuto.

Disolvente de la muestra y de los testigos: fase móvil.

Muestra: Besilato de Amlodipina.

Concentración: ~ 1,0 mg/ml.

Preparación de la solución muestra: pesar exactamente alrededor de 25 mg de Besilato de Amlodipina, transferir a un matraz aforado de 25 ml, llevar a volumen con disolvente y homogeneizar.

Solución de referencia: solución diluida de Besilato de Amlodipina.

Concentración: ~ 0,003 mg/ml.

Preparación de la solución de referencia: pesar exactamente alrededor de 4 mg de Besilato de Amlodipina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, llevar a volumen con disolvente y homogeneizar. Transferir 2 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, llevar a volumen con disolvente y homogeneizar.

Solución para aptitud del sistema: Besilato de Amlodipina + impureza B (degradado).

Impureza B: 3-Etil-5-metil-2-[(2-aminoetoxi)metil]-4-(2-clorofenil)-6-metilpiridina-3,5-dicarboxilato.

Preparación de la solución de aptitud del sistema: pesar exactamente alrededor de 25 mg de Besilato de Amlodipina, transferir a un recipiente apropiado, diluir con 25 ml de peróxido de hidrógeno al 30 % y mezclar. Transferir a un erlenmeyer y calentar a 70 °C durante 45 minutos en baño de agua termostatzado. Dejar enfriar.

Volumen inyectado para todas las soluciones: 15 µl.

Cantidad de soluciones de muestras independientes inyectadas: 12.

Cantidad de soluciones de referencia independientes inyectadas: 13.

Resultado: se detecta la presencia de 18 impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de la solución de referencia
Impureza desconocida	1,8	0,001
Impureza desconocida	2,8	0,020
Impureza desconocida	3,1	0,007
Impureza desconocida	3,5	0,004
Impureza desconocida	4,2	0,002
Impureza desconocida	3,7	0,004
Impureza D	7,0	0,008
Impureza desconocida	7,5	0,002
Impureza desconocida	8,5	0,005
Impureza desconocida	9,0	0,004
Impureza desconocida	11,5	0,004
Amlodipina	13,8	pico principal
Impureza desconocida	18,1	0,008
Impureza desconocida	22,7	0,009
Impureza desconocida	26,3	0,022
Impureza desconocida	37,1	0,012
Impureza desconocida	45,7	0,007
Impureza desconocida	49,3	0,012
Impureza desconocida	55,6	0,025

Impurezas totales estimadas: 0,15 %.

**Análisis térmico:** la pureza estimada por Calorimetría Diferencial de Barrido, sobre sustancia tal cual, fue de 99,49 moles % (determinaciones efectuadas: 4, coeficiente de variación: 0,13 %).

Equipo: termoanalizador Mettler Toledo, modelo DSC 821<sup>e</sup>.

Se emplearon crisoles de aluminio light de 20 µl con atmósfera de nitrógeno (caudal: 155 ml/min).

Temperatura inicial: 183 °C.

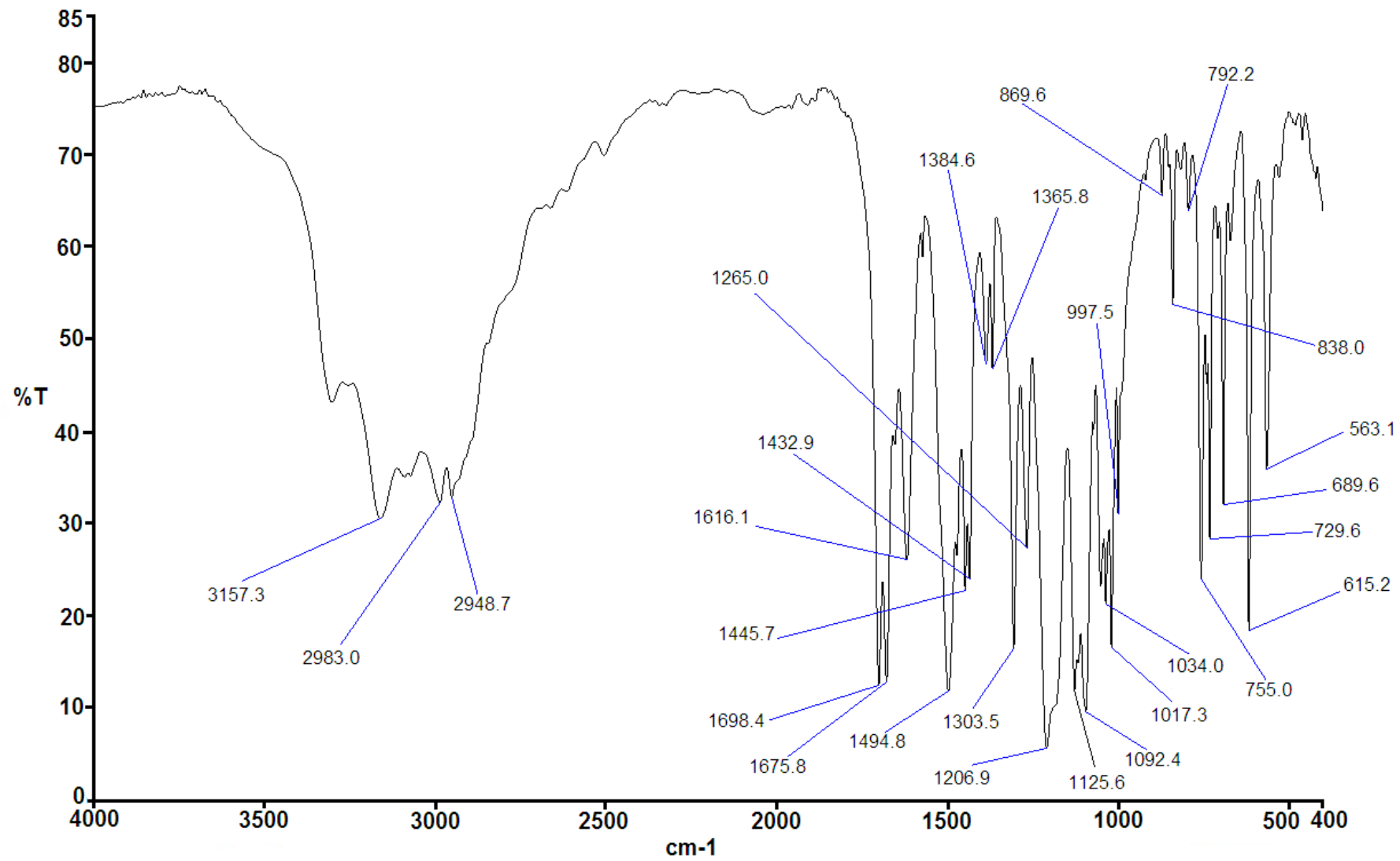
Velocidad de calentamiento: 3 °C/minuto.

Temperatura de fusión de los últimos cristales: 198,7 °C (determinaciones efectuadas: 4).

**Valoración por cromatografía líquida de alta eficacia:** 99,1 % (expresada sobre la sustancia anhidra; determinaciones efectuadas: 11; desvío estándar: 0,32).  
Equipo, columna, fase móvil, temperatura, longitud de onda, flujo y disolvente: ídem "Estimación de impurezas presentes por cromatografía líquida de alta eficacia".  
Volumen de inyección: 20 µl.  
Estándar: Besilato de Amlodipina, USP Reference Standard, lote H0I102.  
Concentración de las soluciones de muestra y de estándar: ~ 0,025 mg/ml.  
**Precauciones:** no exponer la sustancia ni sus soluciones a la luz.

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

**Uso:** la Sustancia de Referencia Besilato de Amlodipina 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.



**Besilato de Amlodipina – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina**