

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES
REPUBLICA ARGENTINA

FAX 5411-4340-0853

HIDROCLOROTIAZIDA

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control N° 116028)

6-Cloro-3,4-dihidro-2*H*-1,2,4-benzotiadiazina-7-sulfonamida-1,1-dióxido

$C_7H_8ClN_3O_4S_2$

P. Mol.: 297,7

Descripción: polvo cristalino blanco.

Espectro de absorción infrarrojo:

Sustancia tal cual.

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

Disco de KBr.

Concentración: aproximadamente 1 mg en 100 mg de KBr.

(Ver espectro adjunto).

Pérdida por secado: 0,0 % (Determinaciones efectuadas: 6; desviación estándar: 0,02).

Temperatura: 105 °C.

Tiempo: 4 horas.

pH: 5,9.

Determinado en una suspensión de 20 mg/ml en agua libre de dióxido de carbono.

Equipo: Metrohm, modelo 716 DMS Titrimo.

Espectro de absorción ultravioleta:

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

Concentración de las soluciones:

A - 0,013 mg/ml.

B - 0,088 mg/ml.

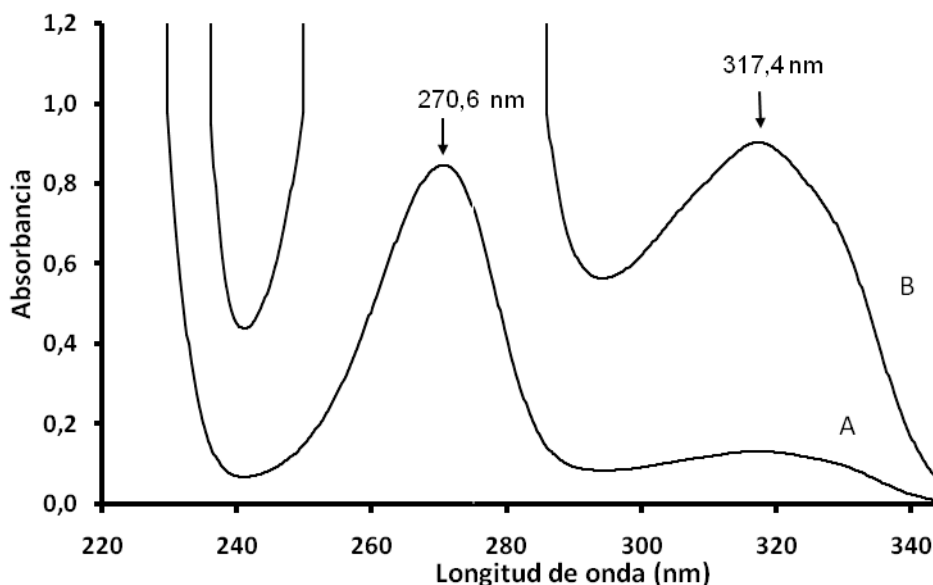
Disolvente: etanol.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 0,5.

Barrido UV entre 220 y 350 nm, efectuado con velocidad lenta.

Equipo: espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV 2700 PC.



Absorbancia:

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

Solución A.

λ : 270,6 nm.

A = 0,892 (Determinaciones efectuadas: 8; desviación estándar: 0,006).

Solución B.

λ : 317,4 nm.

A = 0,923 (Determinaciones efectuadas: 7; desviación estándar: 0,005).

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

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.

Activación: 1 hora a 105 °C.

Fase móvil: acetato de etilo.

Disolvente: acetona.

Volumen sembrado de las soluciones: 10 μ l.

Sustancia A (muestra): Hidroclorotiazida.

Concentración de la solución A₁: 25 mg/ml.

Cantidad sembrada a₁: 250 µg.

Sustancia B (testigo): 4-amino-6-clorobenceno-1,3-disulfonamida.

Concentración de la solución B₁: 0,125 mg/ml.

Cantidad sembrada b₁: 1,25 µg.

Concentración de la solución B₂: 0,10 mg/ml.

Cantidad sembrada b₂: 1,0 µg.

Concentración de la solución B₃: 0,075 mg/ml.

Cantidad sembrada b₃: 0,75 µg.

Condiciones de desarrollo: cámara con recubrimiento interno de papel de filtro, saturada durante 1 hora y 30 minutos.

Corrida de 15 cm a partir del punto de siembra.

Revelador: luz UV de 254 nm.

Resultado:

R_f de la mancha principal \cong 0,36.

R_f de las soluciones del testigo \cong 0,44.

Para las cantidades sembradas b₁, b₂ y b₃ se detectan las manchas correspondientes.

Para la cantidad sembrada a₁ se detecta la mancha principal y además se detecta una mancha secundaria de R_f \cong 0,44, que se corresponde con el R_f del testigo, de intensidad similar a b₂, es decir aproximadamente 0,4 %.

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: Shimadzu Shim-pack GIST C18; longitud: 15,0 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 3 µm.

Longitud de onda: 224 nm.

Temperatura: 30 °C.

Fase móvil: Solución A – Solución B.

Solución A: solución de fosfato monobásico de sodio – metanol - tetrahidrofurano (94:6:1).

Solución B: solución de fosfato monobásico de sodio – metanol - tetrahidrofurano (50:50:5).

Preparación de la solución de fosfato monobásico de sodio: disolver 38,5 g de fosfato monobásico de sodio en 1 litro de agua bidestilada y ajustar a pH 3,2 \pm 0,1 con ácido fosfórico. Diluir 100 ml de esta solución a 2 litros con agua bidestilada y homogeneizar.

Flujo: 0,8 ml/minuto.

Condición de la corrida: gradiente.

Programa de gradiente en función del tiempo:

minutos	% A (V/V)	% B (V/V)
0-17	100→55	0→45
17-35	55	45
35-40	55→100	45→0
40-50	100	0

Disolvente 1: acetonitrilo - metanol (1:1).

Disolvente 2: transferir 50 ml de disolvente 1 a un matraz aforado de 200 ml, completar a volumen con solución de fosfato monobásico de sodio y homogenizar.

Muestra: Hidroclorotiazida.

Concentración: 1,5 mg/ml.

Preparación de la muestra: pesar exactamente alrededor de 37,5 mg de Hidroclorotiazida, transferir a un matraz aforado de 25 ml, agregar 6,25 ml de disolvente 1, completar a volumen con solución de fosfato monobásico de sodio y homogeneizar.

Solución de referencia: solución diluida de Hidroclorotiazida.

Concentración: 0,0075 mg/ml.

Preparación de la solución de referencia: pesar aproximadamente 3,75 mg de Hidroclorotiazida, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con disolvente 1 y homogeneizar. Transferir una alícuota de 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con disolvente 2 y homogeneizar.

Solución para aptitud del sistema: Hidroclorotiazida + clorotiazida + 4-amino-6-clorobenceno-1,3-disulfonamida.

Concentración: 0,0075 mg/ml de cada componente.

Preparación de la solución para aptitud del sistema: pesar aproximadamente 3,75 mg de Hidroclorotiazida, 3,75 mg de clorotiazida y 3,75 mg de 4-amino 6- clorobenceno-1,3- disulfonamida, transferir a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con disolvente 1 y homogeneizar. Transferir una alícuota de 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con disolvente 2 y homogeneizar.

Volumen inyectado de las soluciones de muestra y de referencia: 10 µl.

Cantidad de muestras independientes inyectadas: 6.

Cantidad de soluciones de referencia independientes inyectadas: 5.

Resultado: se detecta la presencia de dieciséis impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de la solución de referencia
Impureza desconocida	2,3	0,001
Impureza 4-amino- 6-clorobenceno-1,3-disulfonamida	10,7	0,450
Impureza desconocida	12,4	0,001
Impureza clorotiazida	13,2	0,016
Hidroclorotiazida	14,7	pico principal
Impureza desconocida	16,2	0,002
Impureza desconocida	16,8	0,004
Impureza desconocida	21,2	0,003
Impureza desconocida	22,5	0,005
Impureza desconocida	23,3	0,053
Impureza desconocida	26,2	0,001
Impureza desconocida	28,3	0,008
Impureza desconocida	28,9	0,011
Impureza desconocida	29,8	0,014
Impureza desconocida	34,0	0,070
Impureza desconocida	35,5	0,024
Impureza desconocida	37,6	0,019

Impurezas totales estimadas: 0,68 %.

Análisis térmico: la pureza estimada por Calorimetría Diferencial de Barrido, sobre sustancia tal cual, fue de 99,60 moles %. (Determinaciones efectuadas: 8, coeficiente de variación: 0,05 %).

Equipo: termoanalizador Mettler Toledo, modelo DSC 821^e.

Se emplearon crisoles de aluminio de 40 µl cerrados, con tapa perforada y con atmósfera de nitrógeno (caudal: 155 ml/min).

Temperatura inicial: 258 °C.

Velocidad de calentamiento: 2 °C/minuto.

Temperatura de fusión de los últimos cristales: 268,3 °C (Determinaciones efectuadas: 8).

Valoración: por cromatografía líquida de alta eficacia: 99,6 % (expresada sobre la sustancia secada; determinaciones efectuadas: 11; coeficiente de variación: 0,04 %). Equipo, longitud de onda, temperatura, fase móvil, disolvente 1, disolvente 2, volumen inyectado: ídem "Estimación de impurezas presentes por cromatografía líquida de alta eficacia".

Columna: Phenomenex Gemini C18 110 A; longitud: 10,0 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 3 µm.

Flujo: 1,6 ml/min.

Condición de la corrida: gradiente.

Programa de gradiente en función del tiempo:

minutos	% A (V/V)	% B (V/V)
0-4	80	20
4-10	80→20	20→80
10-15	20→80	80→20
15-20	80	20

Estándar: Hidroclorotiazida CRS, Farmacopea Europea Lote 7.

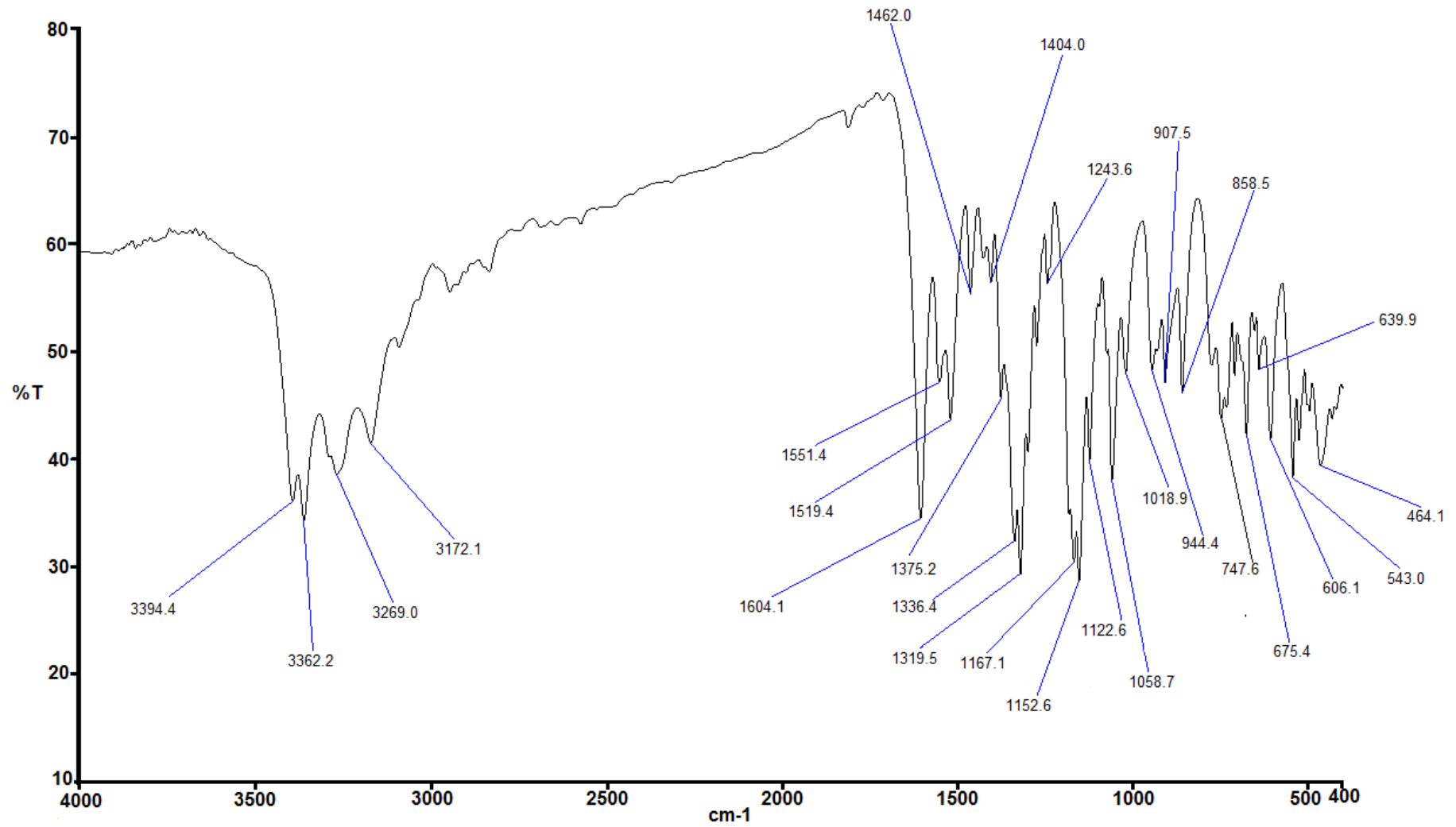
Concentración de las soluciones de muestra y de estándar: 0,075 mg/ml.

Preparación de la muestra: pesar exactamente alrededor de 37,5 mg de Hidroclorotiazida, transferir a un matraz aforado de 50 ml y agregar 12,5 ml de disolvente 1. Completar a volumen con disolvente 2 y homogeneizar. Transferir una alícuota de 5 ml a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con disolvente 2 y homogeneizar.

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 °C ± 3 °C y en ambiente de baja humedad.

Uso: la Sustancia de Referencia Hidroclorotiazida 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.



Hydroclorotiazida – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina