

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES
REPUBLICA ARGENTINA

FAX 5411-4340-0853

HIDROCORTISONA

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control Nº 115023)

(11 β)11, 17, 21-Trihidroxi-pregn-4-eno-3,20-diona

C₂₁H₃₀O₅

P. Mol.: 362,5

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: 0,07 % (Determinaciones efectuadas: 6; desviación estándar: 0,02).

Temperatura: 105 °C.

Tiempo: 4 horas.

Espectro de absorción ultravioleta:

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

Concentración de la solución: 0,02 mg/ml en disolvente.

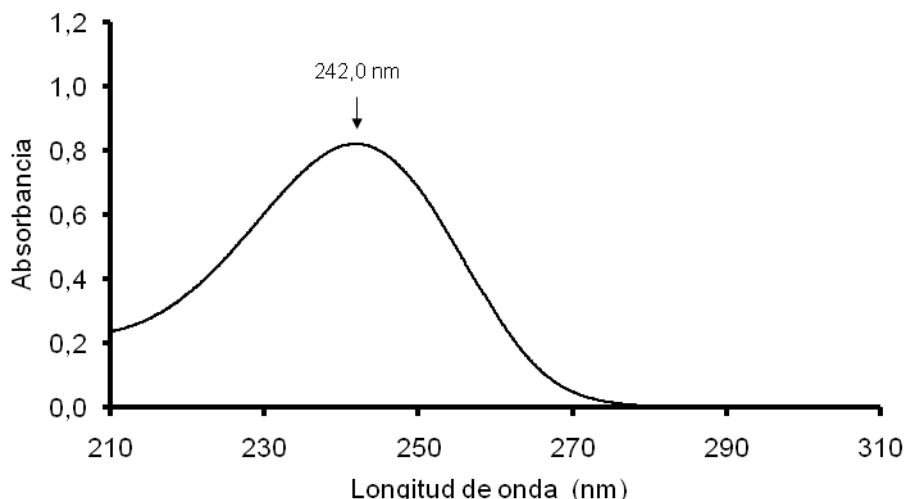
Disolvente: metanol.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 0,5.

Barrido UV entre 210 y 310 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”.

λ : 242,0 nm

$A = 0,896$ (Determinaciones efectuadas: 6; desviación estándar: 0,003).

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

Rotación óptica específica: $[\alpha]$ (20 °C, D) = 163,5° (Determinaciones efectuadas: 6, coeficiente de variación: 0,40 %).

Concentración de la solución: 8 mg/ml en metanol.

Equipo: Polarímetro Anton Paar, modelo MCP 300.

Estimación de impurezas presentes por cromatografía en capa delgada:

Precauciones: las pesadas y las soluciones se realizaron con iluminación atenuada.

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

Fase móvil: cloroformo - etanol (17:3).

Disolvente: cloroformo - metanol (9:1).

Volumen sembrado de las soluciones: 10 μ l.

Sustancia A (muestra): Hidrocortisona.

Concentración de la solución A_1 : 8 mg/ml.

Cantidad sembrada a_1 : 80 μ g.

Concentración de la solución A_2 : 0,04 mg/ml.

Cantidad sembrada a_2 : 0,4 μ g.

Concentración de la solución A_3 : 0,02 mg/ml.

Cantidad sembrada a_3 : 0,2 μ g.

Concentración de la solución A_4 : 0,01 mg/ml.

Cantidad sembrada a_4 : 0,1 μ g.

Condiciones de desarrollo: cámara con recubrimiento interno de papel de filtro, saturada durante 1 hora y 15 minutos.

Corrida de 17 cm a partir del punto de siembra.

Revelador: luz UV de 254 nm.

Resultado:

Rf de la mancha principal \cong 0,32.

Rf de la soluciones diluidas \cong 0,32.

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

Para la cantidad sembrada a_1 se detecta la mancha principal y además se detecta una mancha secundaria de Rf \cong 0,53 de intensidad menor a a_4 , es decir menor a 0,125 %.

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 C18 (2) 100 A; longitud: 25,0 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 5 μ m.

Longitud de onda: 254 nm.

Temperatura: 45 °C.

Fase móvil: agua - tetrahidrofurano (78:22).

Flujo: 1,0 ml/minuto.

Muestra: Hidrocortisona.

Concentración de la muestra: 2,5 mg/ml.

Preparación de la muestra: pesar exactamente alrededor de 25 mg de Hidrocortisona, transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 2,2 ml de tetrahidrofurano, completar a volumen con agua y homogeneizar.

Solución de referencia: solución diluida de Hidrocortisona.

Concentración: 0,025 mg/ml.

Preparación de la solución de referencia: pesar aproximadamente 2,5 mg de Hidrocortisona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 22 ml de tetrahidrofurano, completar a volumen con agua y homogeneizar.

Solución para aptitud del sistema: Hidrocortisona + prednisolona.

Concentración: 0,02 mg/ml de Hidrocortisona + 0,02 mg/ml de prednisolona.

Preparación de la solución para aptitud del sistema: pesar aproximadamente 2 mg de Hidrocortisona y 2 mg de prednisolona, transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 22 ml de tetrahidrofurano, completar a volumen con agua y homogeneizar.

Volumen inyectado de las soluciones de muestra y de referencia: 20 μ l.

Cantidad de muestras independientes inyectadas: 6.

Cantidad de soluciones de referencia independientes inyectadas: 5.

Resultado: se detecta la presencia de veintiséis impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de la solución de referencia
Impureza desconocida	3,5	0,004
Impureza desconocida	3,6	0,001
Impureza desconocida	5,2	0,011
Impureza desconocida	7,7	0,001
Impureza desconocida	8,2	0,001

Impureza desconocida	9,2	0,001
Impureza desconocida	10,0	0,002
Impureza desconocida	11,4	0,002
Impureza desconocida	12,4	0,002
Impureza desconocida	13,2	0,004
Impureza desconocida	14,3	0,013
Impureza desconocida	14,8	0,025
Impureza desconocida	15,6	0,064
Impureza desconocida	15,9	0,106
Hidrocortisona	16,8	pico principal
Impureza desconocida	17,7	0,042
Impureza desconocida	20,4	0,008
Impureza desconocida	22,6	0,005
Impureza desconocida	23,5	0,003
Impureza desconocida	25,5	0,010
Impureza desconocida	27,1	0,002
Impureza desconocida	28,1	0,003
Impureza desconocida	29,3	0,013
Impureza desconocida	34,8	0,007
Impureza desconocida	51,4	0,003
Impureza desconocida	54,3	0,031
Impureza desconocida	60,2	0,006

Impurezas totales estimadas: 0,37 %.

Valoración: por cromatografía líquida de alta eficacia: 99,8 % (expresada sobre la sustancia secada; determinaciones efectuadas: 9; coeficiente de variación: 0,28 %).

Equipo, longitud de onda, ídem "Estimación de impurezas presentes por cromatografía líquida de alta eficacia".

Columna: Phenomenex Luna C18 longitud: 25,0 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 5 µm.

Temperatura: 30 °C.

Fase móvil: agua - metanol - acetonitrilo (50:25:25).

Flujo: 1,2 ml/min.

Estándar: Hidrocortisona, USP Reference Standard, lote NOF289.

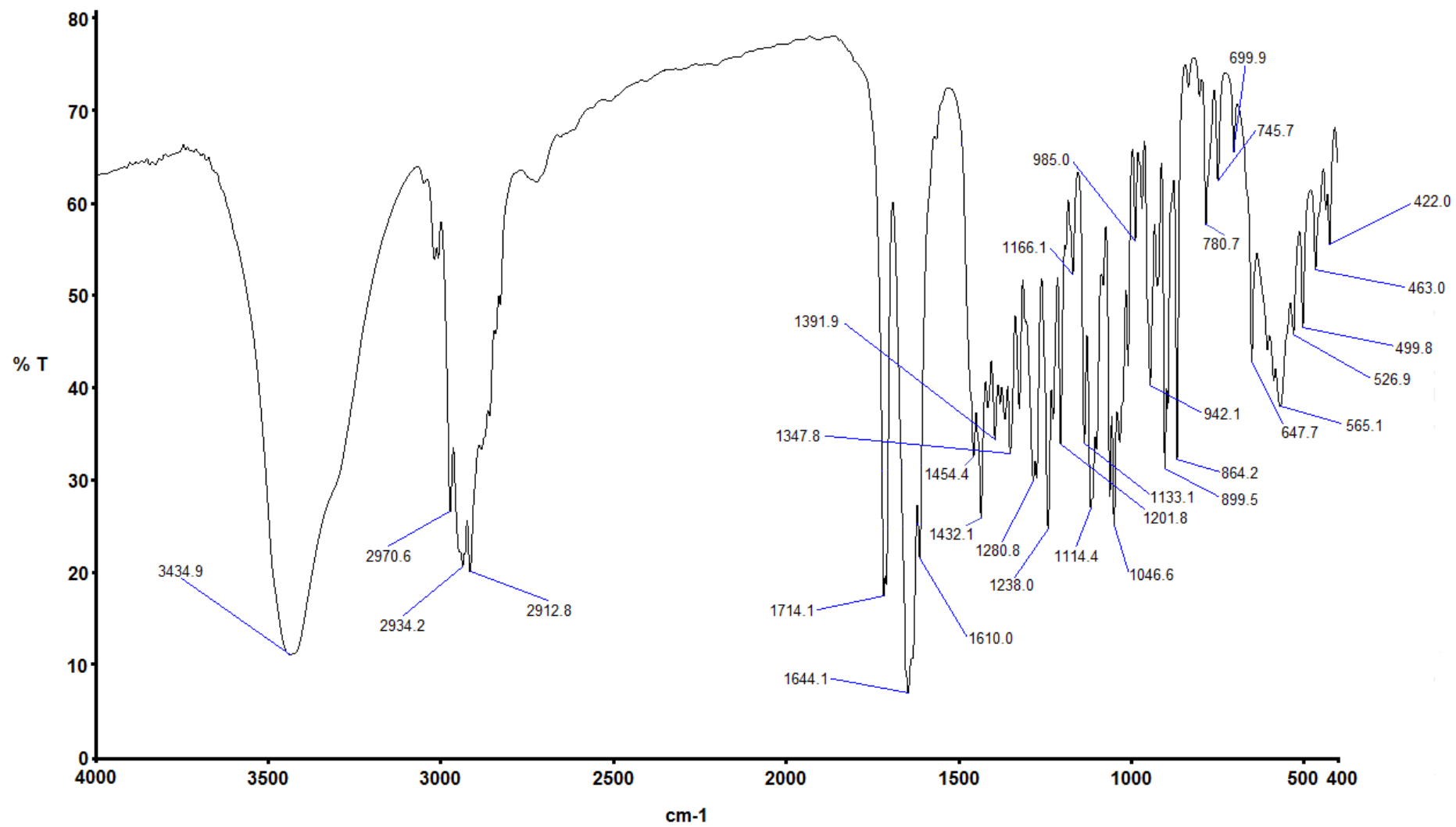
Concentración de las soluciones de muestra y de estándar: 0,02 mg/ml.

Disolvente: agua – metanol (50:50).

Volumen inyectado: 20 µl.

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.



Hidrocortisona – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina