

INFORME TECNICO

ZIDOVUDINA

SUSTANCIA QUIMICA DE REFERENCIA

Lote N° 1023

$C_{10}H_{13}N_5O_4$

P. Mol.: 267,2

3'-Azido-3'-deoxitimidina.

Descripción: polvo blanco.

Espectro de absorción infrarrojo:

Sustancia tal cual.

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

Disco de KBr.

Concentración: aproximadamente 1 mg de sustancia en 100 mg de KBr.

(Ver espectro adjunto).

Rango de fusión: 122,5 a 124,0 °C (Promedio de 6 determinaciones).

Realizado sobre sustancia previamente secada al vacío sobre gel de sílice, durante 24 horas a temperatura ambiente.

Capilar colocado a 114 °C, con velocidad de calentamiento de 1 °C/minuto.

Equipo: Stanford Research Systems, OptiMelt, modelo MP A 100.

Contenido de agua: 0,20 % (Determinaciones efectuadas: 4; desviación estándar: 0,018 %).

Determinado por coulombimetría.

Equipo: coulombímetro Metrohm, modelo 851Titrand.

Poder rotatorio específico: $[\alpha]_{20}^{\circ}C$, D = + 62,59 ° (Determinaciones efectuadas: 3).

Concentración de la solución: 1 % p/v en alcohol.

Espectro de absorción ultravioleta:

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

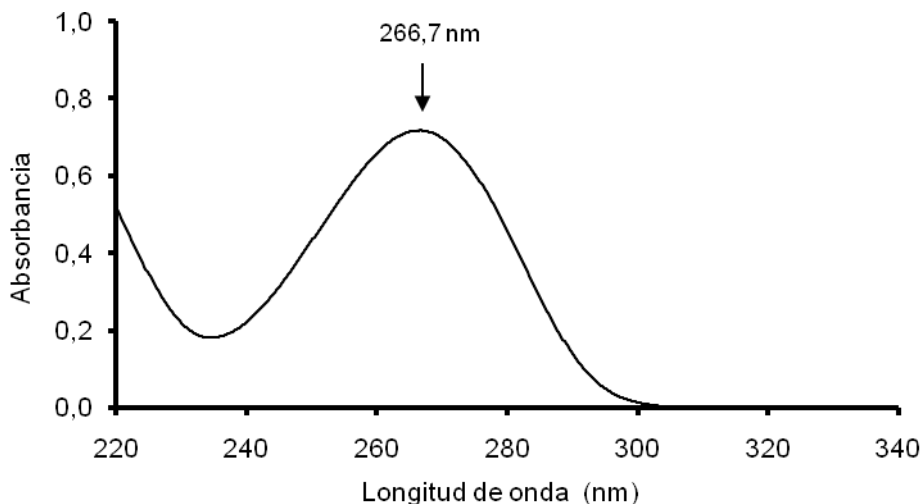
Concentración de la solución: 0,002 % p/v en el disolvente.

Disolvente: ácido sulfúrico 0,2 M.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 1.

Barrido UV entre 220 y 340 nm, efectuado con velocidad lenta.
Equipo: espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV 2101 PC.



Absorbancia:

Equipo, slit, disolvente, concentración de la solución, cubetas y precauciones ídem espectro de absorción ultravioleta.

λ : 266,7 nm

$A = 0,732$ (Determinaciones efectuadas: 7; desviación estándar: 0,005).

Nota: la lectura de cada solución se realizó dentro de los 20 minutos de su preparación.

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 F₂₅₄, 20 x 20 cm, Merck art. 5735.

Fase móvil: cloroformo - metanol (9:1).

Disolvente de la muestra y de los testigos: metanol.

Volumen sembrado de las soluciones: 20 μ l.

Sustancia A (muestra): Zidovudina.

Concentración de la solución A: 20 mg/ml

Cantidad sembrada a: 400 μ g.

Concentración de la solución A₁: 0,1 mg/ml

Cantidad sembrada a₁: 2 μ g.

Concentración de la solución A₂: 0,06 mg/ml

Cantidad sembrada a₂: 1,2 μ g.

Concentración de la solución A₃: 0,02 mg/ml

Cantidad sembrada a₃: 0,4 μ g.

Solución B (testigo): Trifenilmetanol.

Concentración de la solución B₁: 0,1 mg/ml

Cantidad sembrada b₁: 2 μ g.

Concentración de la solución B₂: 0,06 mg/ml

Cantidad sembrada b₂: 1,2 μ g.

Concentración de la solución B₃: 0,02 mg/ml

Cantidad sembrada b₃: 0,4 μ g.

Condiciones de desarrollo: cámara con recubrimiento interno de papel de filtro, saturada durante 1 hora y 10 minutos.

Corrida de 16 cm a partir del punto de siembra.

Reveladores: Luz UV de 254 nm y reactivo revelador.

Reactivo revelador: solución de vainillina al 1 % p/v en ácido sulfúrico.

Resultado:

Rf de la mancha principal \cong 0,34

Rf de las manchas de las soluciones diluidas de zidovudina \cong 0,33

Rf del testigo de trifenilmetanol \cong 0,72

Para las cantidades sembradas a_1 , a_2 y a_3 , con luz UV de 254 nm se detectan las manchas correspondientes.

Para las cantidades sembradas b_1 , b_2 y b_3 , con reactivo revelador se detectan las manchas correspondientes.

Para la cantidad sembrada a , con luz UV de 254 nm se detectan la mancha principal y dos manchas secundarias, una de Rf \cong 0,19 de intensidad similar a a_3 , es decir \cong 0,1 % y otra de Rf \cong 0,57 de intensidad menor a a_3 , es decir menor a 0,1 %.

Con la aplicación del reactivo revelador, no se detectan manchas secundarias. Consecuentemente la eventual presencia de trifenilmetanol sería menor a 0,1 %.

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: 265 nm.

Fase móvil: agua – metanol (80:20).

Temperatura de trabajo: 30 °C.

Flujo: 1,0 ml/minuto.

Disolvente de la muestra y de los testigos: metanol.

Muestra: Zidovudina.

Concentración de la muestra: 0,1 mg/ml.

Preparación de la muestra: pesar exactamente alrededor de 25 mg de Zidovudina, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver y llevar a volumen con disolvente. Tomar una alícuota de 10 ml con pipeta de doble aforo y transferir a un matraz de 25 ml, llevar a volumen con disolvente y homogeneizar.

Testigos: Timina y 3'-Cloro-3'-deoxitimidina.

Preparación de la solución de testigos: pesar exactamente alrededor de 2 mg de timina y transferir a un matraz aforado de 10 ml, agregar 7,5 ml de disolvente y sonicar durante 15 minutos. Agregar a esta solución 1 mg de 3'-Cloro-3'-deoxitimidina, exactamente pesado, llevar a volumen con disolvente y homogeneizar.

Solución de aptitud del sistema e identificación de picos: Zidovudina + Timina + 3'-Cloro-3'-deoxitimidina.

Concentración de la solución de aptitud del sistema e identificación de picos: 0,1 mg/ml de Zidovudina, 0,002 mg/ml de Timina + 0,001 mg/ml de 3'-Cloro-3'-deoxitimidina.

Preparación de la solución de aptitud del sistema e identificación de picos: pesar exactamente alrededor de 10 mg de zidovudina y transferir a un matraz aforado de 100 ml, agregar 75 ml de disolvente y mezclar. Transferir a esta solución 1 ml de la solución de testigos, llevar a volumen con disolvente y homogeneizar.

Volumen inyectado de las soluciones de muestra y de aptitud: 15 μ l.

Cantidad de muestras independientes inyectadas: 5.

Resultado: se detecta la presencia de cuatro impurezas.

Tiempo de retención aproximado (minutos)		% de área respecto del área total
Timina	4,39	0,052
Impureza desconocida	5,19	0,041
Zidovudina	22,92	Pico principal
Impureza desconocida	24,49	0,006
3'-Cloro-3'-deoxitimidina	25,63	0,068

Impurezas totales estimadas: 0,17 %.

Análisis térmico: la pureza estimada por Calorimetría Diferencial de Barrido, sobre sustancia tal cual, fue de 99,75 moles %. (Determinaciones efectuadas: 6; coeficiente de variación: 0,03 %).

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: 110 °C.

Velocidad de calentamiento: 2 °C/minuto.

Temperatura de fusión de los últimos cristales: 123,1 °C (Determinaciones efectuadas: 6; coeficiente de variación: 0,28 %).

Valoración por cromatografía líquida de alta eficacia: 99,6 % (expresada sobre la sustancia anhidra, determinaciones efectuadas: 73).

Columna: Lichrospher Merck, C18; longitud: 25 cm; diámetro interno: 4,0 mm; diámetro de partícula: 5 µm.

Longitud de onda: 265 nm.

Fase móvil: agua - metanol (80:20).

Flujo: 1,0 ml/minuto.

Disolvente: metanol.

Estándar: Zidovudina, USP Reference Standard, lote G, título 991 µg/mg.

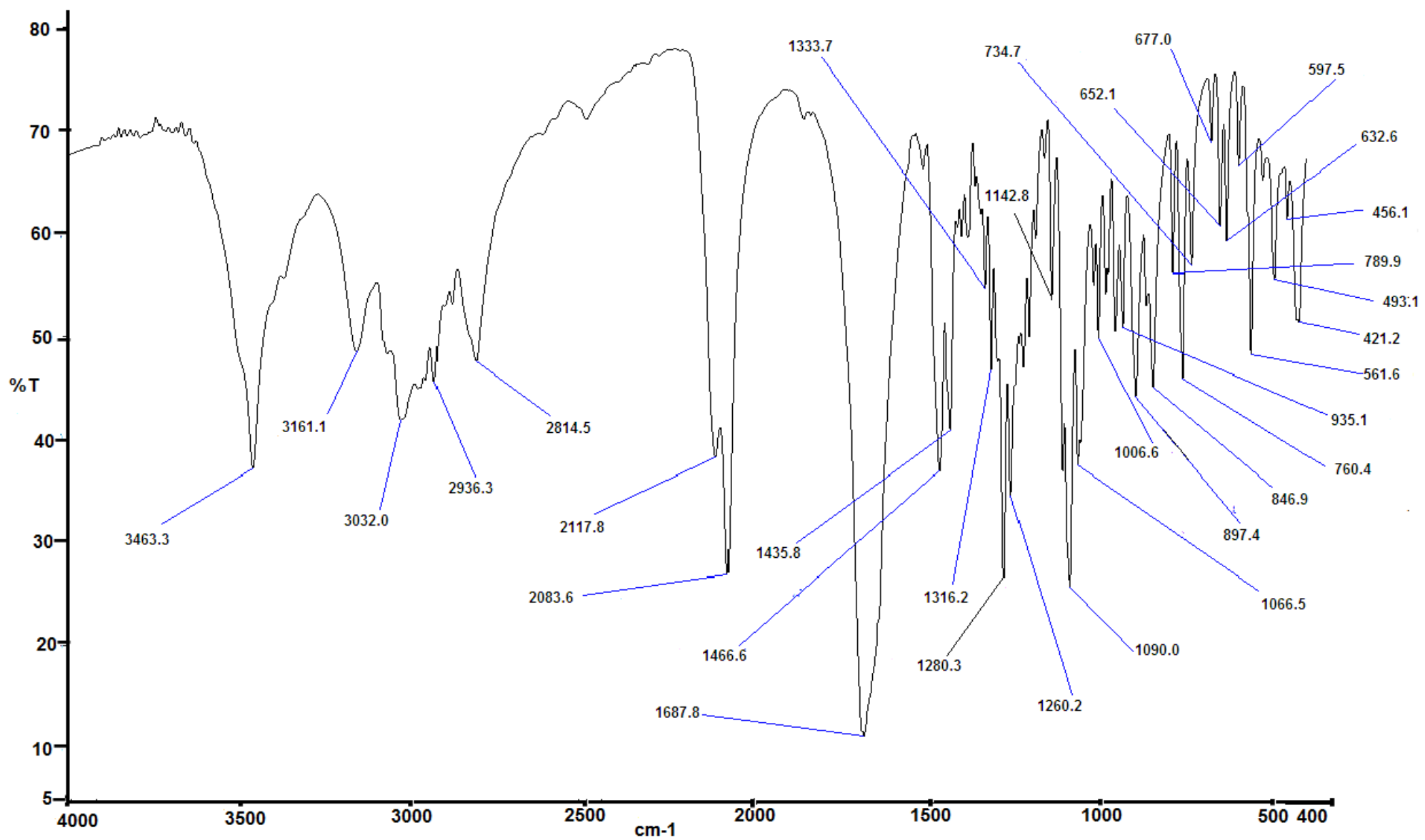
Volumen inyectado: 10 µl.

Conservación: esta Sustancia de Referencia debe conservarse en envase herméticamente cerrado al abrigo de la luz, a una temperatura de 5 °C ± 3 °C y en ambiente de baja humedad.

Uso

La Sustancia Química de Referencia Zidovudina está destinada exclusivamente a ser usada en ensayos y valoraciones químicas 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.

Esta Sustancia de Química de Referencia proveniente de la Farmacopea Brasileña, ha sido reconocida por la ANMAT mediante Disposición N° 2604/2010.



Zidovudina – Sustancia de Referencia Farmacopea Brasileña – Farmacopea Argentina