

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES
REPUBLICA ARGENTINA

FAX 5411-4340-0853

BROMAZEPAM

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control Nº 118039)

7-Bromo-1,3-dihidro-5-(2-piridinil)-1H-1,4-benzodiazepin-2-ona.

$C_{14}H_{10}BrN_3O$

P. Mol.: 316,16

Descripción: polvo cristalino blanco.

Espectro de absorción infrarrojo:

Sustancia tal cual.

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

Disco de KBr.

(Ver espectro adjunto).

Pérdida por secado: 0,02 % (determinaciones efectuadas: 6; desviación estándar: 0,01).

Temperatura: 80 °C.

Presión: no mayor a 20 mm de Hg.

Tiempo: 4 horas.

Espectro de absorción ultravioleta:

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

Concentración de la solución: 0,008 mg/ml.

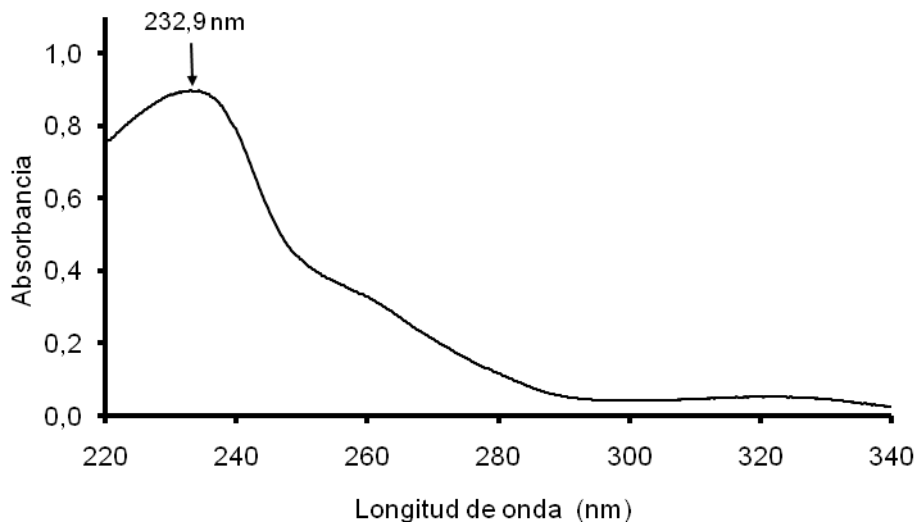
Disolvente: metanol.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 0,5.

Barrido UV entre 220 y 340 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".

λ : 232,9 nm.

$A = 0,835$ (determinaciones efectuadas: 11; desviación estándar: 0,005).

Nota: la lectura de cada solución se realizó entre los 15 y los 25 minutos luego de su preparación.

Estimación de impurezas por cromatografía en capa delgada:

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

Fase fija: cromatofolio de gel de sílice 60 F₂₅₄, 20 x 20 cm, Merck art. 5735.

Fase móvil: acetato de etilo - hidróxido de amonio concentrado - etanol absoluto (38:1:1).

Disolvente de la muestra y del testigo: acetona - metanol (3:2).

Volumen sembrado de las soluciones: 20 μ l.

Sustancia A (muestra): Bromazepam.

Concentración de la solución A₁: 10 mg/ml.

Cantidad sembrada a₁: 200 μ g.

Concentración de la solución A₂: 0,05 mg/ml.

Cantidad sembrada a₂: 1,0 μ g.

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

Cantidad sembrada a₃: 0,4 μ g.

Concentración de la solución A₄: 0,01 mg/ml.

Cantidad sembrada a₄: 0,2 μ g.

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

Corrida de 15 cm a partir del punto de siembra.

Revelador: luz UV de 254 nm.

Resultado:

Rf de la mancha principal \cong 0,44.

Rf de las soluciones diluidas \cong 0,44.

Para las cantidades sembradas a₂, a₃ y a₄ se detectan las manchas correspondientes.

Para la cantidad sembrada a₁ se detecta la mancha principal y no se detectan manchas secundarias. Consecuentemente la eventual presencia de alguna impureza 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: Shimadzu Shim-pack GIST C18; longitud: 15 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 3 μ m.

Longitud de onda: 235 nm.

Temperatura: 50 °C.

Fase móvil: acetonitrilo - metanol - solución de fosfato (5:45:50).

Preparación de la solución de fosfato: disolver 11,33 g de fosfato monobásico de potasio en agua y ajustar a pH 7,0 con solución de hidróxido de potasio 1M. Luego completar a 1 litro con el mismo disolvente y homogeneizar.

Flujo: 1,0 ml/minuto.

Disolventes de la muestra y del testigo: mezcla de acetonitrilo y metanol (1:9) y solución de fosfato.

Volumen inyectado de todas las soluciones: 20 μ l.

Muestra: Bromazepam.

Concentración de la muestra: \sim 0,5 mg/ml.

Preparación de la solución muestra: pesar exactamente alrededor de 25 mg de Bromazepam, transferir a un matraz aforado de 50 ml y disolver con 25 ml de una mezcla de acetonitrilo y metanol (1:9). Luego completar a volumen con solución de fosfato y homogeneizar.

Testigos: Bromazepam para aptitud del sistema Farmacopea Europea CRS lote 2, contiene Bromazepam e impurezas A, B, C, D y E.

-Impureza A: (2-amino-5-bromofenil)(piridin-2-il)metanona.

-Impureza B: N-[4-bromo-2-(piridin-2-ilcarbonil)fenil]-2-cloroacetamida.

-Impureza C: 7-bromo-5-(6-metilpiridinil-2-il)-1,3-dihidro-2H-1,4-benzodiazepin-2-ona.

-Impureza D: 3-amino-6-bromo-4-(piridin-2-il)quinolin-2(1H)-ona.

-Impureza E: 2-bromo-N-[4-bromo-2-(piridin-2-ilcarbonil)fenil]acetamida.

Solución de resolución: pesar exactamente alrededor de 2,0 mg de Bromazepam para aptitud del sistema, transferir a un matraz aforado de 5 ml disolver con 2 ml de fase móvil, luego completar a volumen con el mismo disolvente y homogeneizar.

Solución de referencia: solución diluida de Bromazepam.

Concentración: \sim 0,0005 mg/ml.

Preparación de la solución de referencia: pesar exactamente alrededor de 2,5 mg de Bromazepam, transferir a un matraz aforado de 100 ml, disolver con 50 ml de una mezcla de acetonitrilo y metanol (1:9), completar a volumen con solución de fosfato y homogeneizar. Transferir 1 ml de esta

solución a un matraz aforado de 50 ml completar a volumen con fase móvil y homogeneizar.

Cantidad de soluciones de muestras independientes inyectadas: 6.

Cantidad de soluciones diluidas independientes inyectadas: 6.

Resultado: se detecta la presencia de siete impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de la solución de referencia
Impureza desconocida	4,1	0,008
Impureza desconocida	4,2	0,026
Bromazepam	6,0	pico principal
Impureza desconocida	7,7	0,003
Impureza desconocida	10,3	0,008
Impureza desconocida	11,0	0,002
Impureza desconocida	14,6	0,003
Impureza desconocida	16,2	0,002

Impurezas totales: 0,05 %.

Valoración: 100,0 %; calculado sobre la sustancia secada (determinaciones efectuadas: 11; coeficiente de variación: 0,11 %).

Método: titulación potenciométrica con solución de ácido perclórico 0,05 N.

Patrón primario: biftalato de potasio.

Disolvente de la muestra: 20 ml de ácido acético glacial + 50 ml de anhídrido acético.

Disolvente del patrón primario: 50 ml de ácido acético glacial.

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

Electrodo indicador de vidrio Metrohm EA 109.

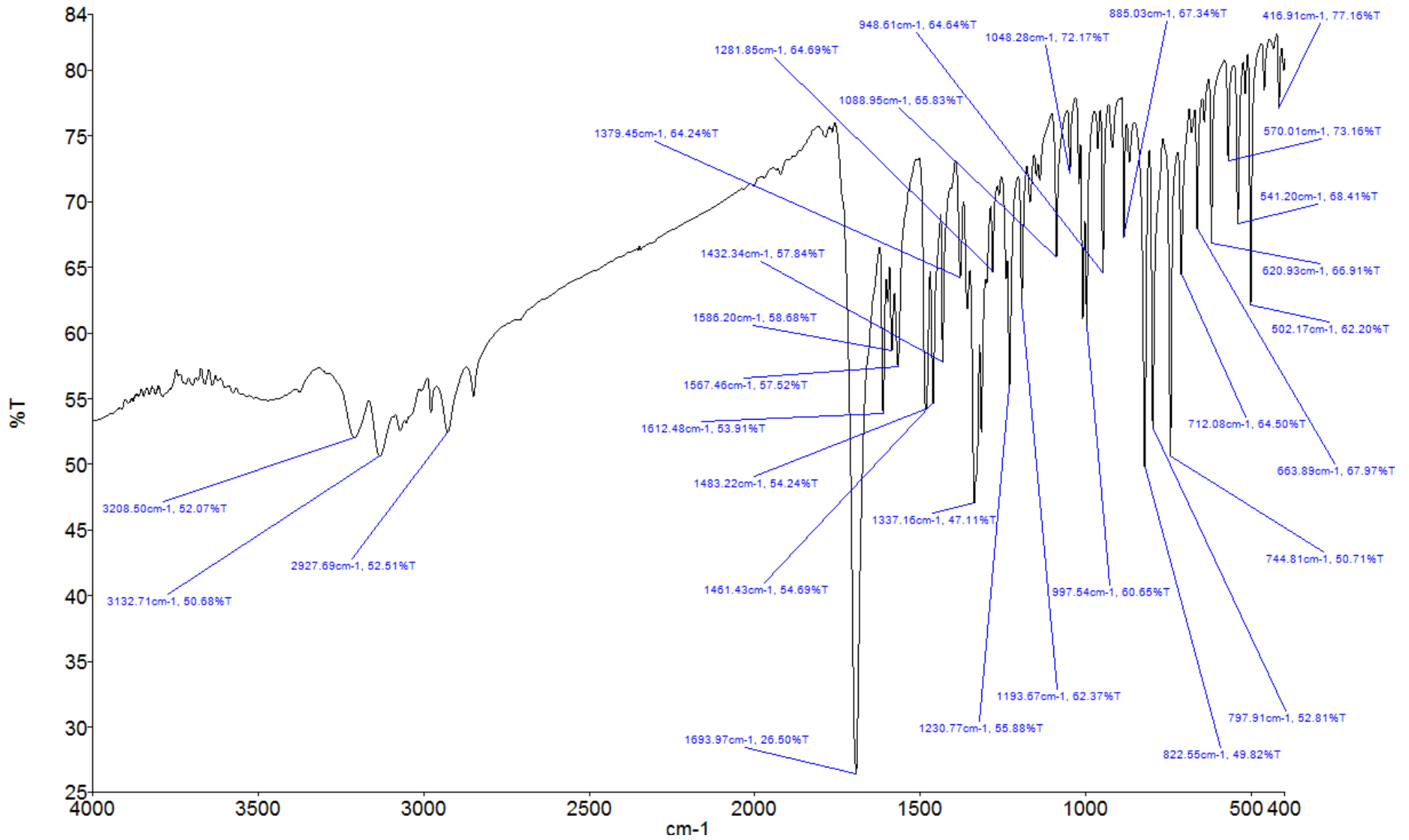
Electrodo de referencia: electrodo de Ag/AgCl para medio no acuoso, Metrohm EA 440.

Efectuar las correcciones por blancos tanto para la valoración de la solución titulante como así también para la valoración de la sustancia.

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 $5\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$ y en ambiente de baja humedad.

Uso: la Sustancia de Referencia Bromazepam 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.



Bromazepam – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina