

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES

FAX 5411-4340-0853

REPÚBLICA ARGENTINA

ESPIRONOLACTONA

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control N° 122058)

γ -Lactona del Ácido (7 α ,17 α)-7-(Acetiltio)-17-hidroxi-3-oxopregn-4-eno-21-carboxílico

C₂₄H₃₂O₄S

P. Mol.: 416,57

Descripción: polvo blanco fino.

Espectro de absorción infrarrojo:

Sustancia recristalizada en metanol.

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

Disco de KBr.

(Ver espectro adjunto).

Pérdida por secado: 0,10 % (determinaciones efectuadas: 6; desviación estándar: 0,05).

Temperatura: 105 °C.

Tiempo: 2 horas.

Rotación óptica específica: $[\alpha]_{20\text{ °C}}$, D = - 43,0° (determinaciones efectuadas: 9, desviación estándar: 0,49).

Concentración de la solución: 10 mg/ml.

Disolvente: etanol.

Equipo: Polarímetro Anton Paar, modelo MCP 300.

Rango de fusión: 204,4 – 207,1 °C (promedio de 15 determinaciones).

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

Capilar colocado a 120 °C a una velocidad de calentamiento de 10 °C/min hasta 170°C.

Posteriormente, alrededor de 10 °C antes del inicio de la fusión reducir la velocidad a 3 °C/min.

Equipo: Stanford Research Systems, OptiMelt, modelo MPA 100.

Espectro de absorción ultravioleta:

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

Concentración de la solución: 0,015 mg/ml.

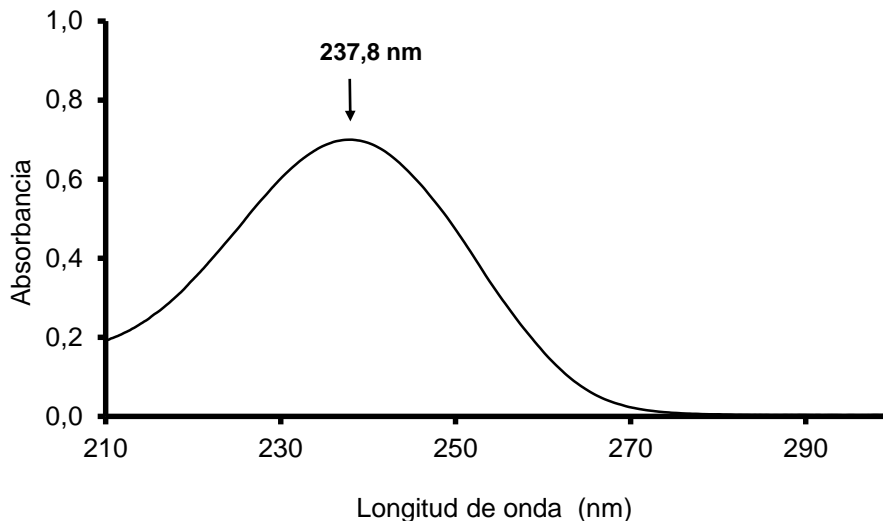
Disolvente: metanol.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 1,0.

Barrido UV entre 210 y 300 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 : 237,8nm.

$A = 0,705$ (determinaciones efectuadas: 11; desviación estándar: 0,003).

Nota: la lectura de cada solución se realizó inmediatamente después 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 F₂₅₄, 10 x 20 cm, Merck art. 5735.

Fase móvil: n-butilacetato.

Disolvente: etanol.

Volumen sembrado de las soluciones: 10 μ l.

Sustancia A (muestra): Espironolactona.

Concentración de la solución A₁: 10 mg/ml.

Cantidad sembrada a₁: 100 μ g.

Concentración de la solución A₂: 0,10 mg/ml.

Cantidad sembrada a₂: 1 μ g.

Concentración de la solución A₃: 0,05 mg/ml.

Cantidad sembrada a₃: 0,5 μ g.

Concentración de la solución A₄: 0,025 mg/ml.

Cantidad sembrada a₄: 0,25 μ g.

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

Corrida de 17 cm a partir del punto de siembra.

Revelador: solución de ácido sulfúrico y metanol (1:10).

Pulverizar el cromatofolio con el reactivo revelador y luego calentar en estufa a 105 °C durante 10 minutos.

Resultado:

R_f de la mancha principal \cong 0,39.

R_f de las soluciones diluidas \cong 0,36.

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 0,25 %.

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; longitud: 15,0 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 3,0 μ m.

Longitud de onda: 254 nm.

Temperatura: 40 °C.

Fase móvil: acetonitrilo, tetrahidrofurano, metanol y agua (15:20:425:540).

Disolvente y blanco: acetonitrilo y agua (50:50).

Flujo: 1,2 ml/minuto.

Muestra: Espironolactona.

Concentración de la muestra: ~ 2,0 mg/ml.

Testigo: Espironolactona para aptitud del sistema CRS Farmacopea Europea Lote 2.0.

Contiene:

- Impureza A: S-[(2'R)-3,5'-dioxo-5'H-espiro[androst-4-eno-17,2'-furan]-7 α -il]etanotioato.
- Impureza C: (2'R)-3',4'-dihidro-5'H-espiro[androst-4-eno-17,2'-furan]-3,5'-diona.
- Impureza D: S-[(2'R)-3,5'-dioxo-3',4'-dihidro-5'H-espiro[androst-4-eno-17,2'-furan]-7 α -il] etano(ditioperoxato).
- Impureza E: S-[(2'R)-3,5'-dioxo-3',4'-dihidro-5'H-espiro[androst-4-eno-17,2'-furan]-7 β -il] etanotioato.
- Impureza I: S-[17 α -(etoximetil)-17 β -hidroxi-3-oxoandrost-4-en-7 α -il] etanotioato.

Preparación de la solución para aptitud del sistema: disolver el contenido de un vial de Espironolactona para aptitud del sistema CRS Farmacopea Europea en 1 ml de disolvente y sonicar durante 5 minutos.

- Impureza F (Canrenona): (2'R)-3',4'-dihidro-5'H-espiro[androst-4,6-dieno-17,2'-furan]-3,5'-diona).

Preparación de la solución de Impureza F: pesar alrededor de 5 mg de Impureza F, transferir a un matraz de 25 ml, disolver con 2,5 ml de tetrahidrofurano y completar a volumen con disolvente. Transferir 3 ml de esta solución a un matraz de 100 ml y homogeneizar.

Concentración: 0,006 mg/ml.

Solución de referencia: solución diluida de Espironolactona.

Concentración: ~ 0,01 mg/ml de Espironolactona.

Volumen de inyección de todas las soluciones: 20 µl.

Cantidad de soluciones de muestras independientes inyectadas: 12.

Cantidad de soluciones de referencia independientes inyectadas: 6.

Resultado: se detecta la presencia de veinticinco impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de la solución de referencia
Impureza desconocida	7,8	0,001
Impureza desconocida	8,3	0,001
Impureza desconocida	8,7	0,001
Impureza desconocida	9,6	0,002
Impureza desconocida	10,1	0,001
Impureza desconocida	10,4	0,001
Impureza desconocida	11,5	0,001
Impureza desconocida	12,5	0,002
Impureza desconocida	13,4	0,032
Impureza desconocida	14,2	0,027
Impureza desconocida	17,3	0,026
Impureza desconocida	18,5	0,010
Impureza desconocida	20,1	0,001
Impureza desconocida	25,0	0,001
Impureza desconocida	25,3	0,006
Impureza desconocida	26,5	0,001
Impureza A	27,1	0,002
Espironolactona	29,0	pico principal
Impureza desconocida	31,4	0,002
Impureza F	33,8	0,050
Impureza C	42,8	0,002
Impureza desconocida	44,2	0,017
Impureza D	46,3	0,034
Impureza E	48,4	0,007
Impureza desconocida	51,4	0,023
Impureza I	54,9	0,011

Impurezas totales estimadas: 0,26 %.

Análisis térmico: la pureza estimada por Calorimetría Diferencial de Barrido, sobre sustancia tal cual, fue de 99,52 moles % (determinaciones efectuadas: 6, coeficiente de variación: 0,07%).

Equipo: termoanalizador Mettler Toledo, modelo DSC 821e.

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

Temperatura inicial: 190 °C.

Velocidad de calentamiento: 3 °C/minuto.

Temperatura de fusión de los últimos cristales: 207,4°C.

Valoración por cromatografía líquida de alta eficacia: 100,1 % (expresada sobre la sustancia seca; determinaciones efectuadas: 13; coeficiente de variación: 0,56 %).

Equipo, columna, temperatura, longitud de onda, flujo, volumen de inyección, disolvente y fase móvil ídem "Estimación de impurezas presentes por cromatografía líquida de alta eficacia".

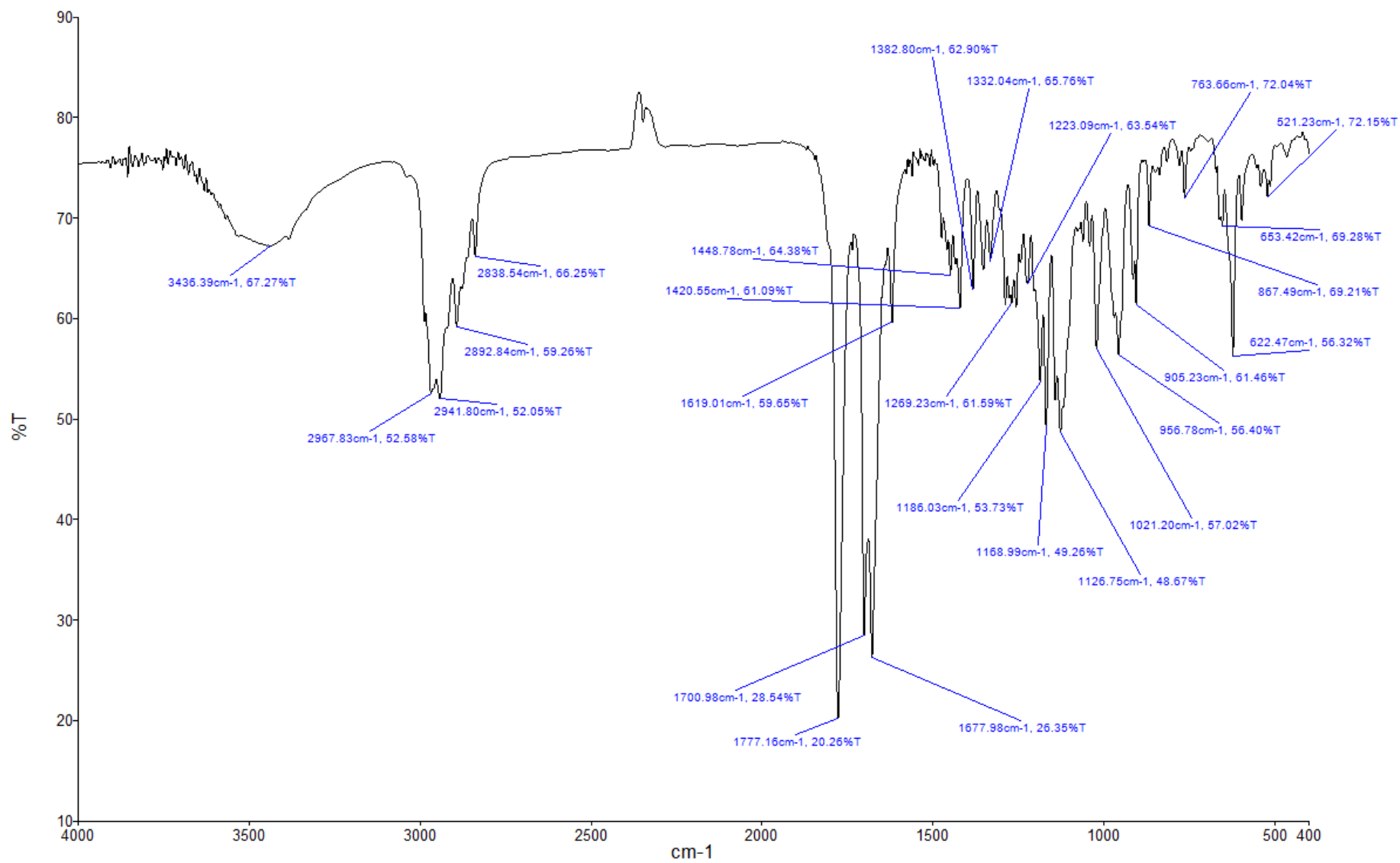
Estándar: Espironolactona CRS, Farmacopea Europea Lote 4.0.

Concentración de las soluciones de muestra y de estándar: ~ 0,02 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 Espironolactona 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.



Espironolactona - Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina