

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES
REPÚBLICA ARGENTINA

FAX 5411-4340-0853

MIDAZOLAM

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control N° 121049)

8-Cloro-6-(2-fluorofenil)-1-metil-4*H*-imidazol[1,5- α][1,4]benzodiazepina.

$C_{18}H_{13}ClFN_3$

P. Mol.: 325,77

Descripción: polvo blanco cristalino.

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: 0,05 % (determinaciones efectuadas: 6; desviación estándar: 0,05).

Temperatura: 105 °C.

Tiempo: 2 horas.

Rango de fusión: 162,3 – 163,0 °C (promedio de 12 determinaciones).

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

Capilar colocado a 152 °C, con velocidad de calentamiento de 1 °C/minuto.

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: 0,008 mg/ml.

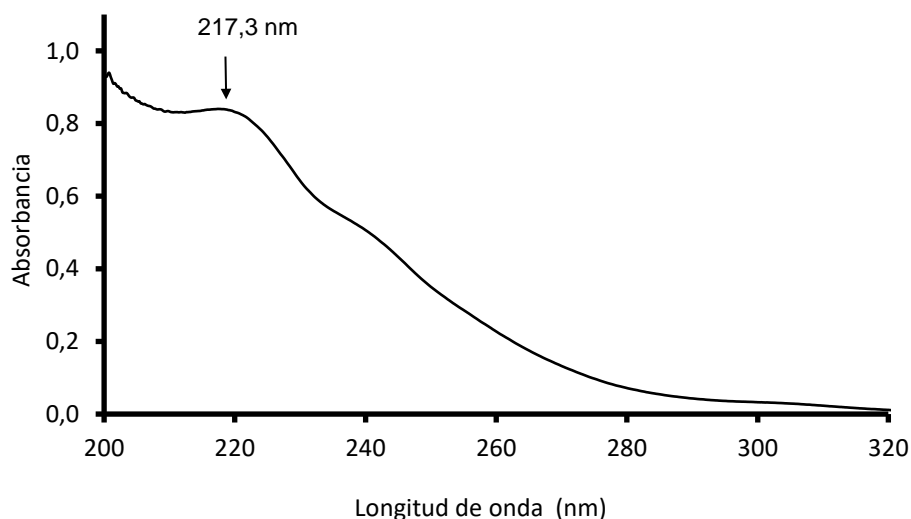
Disolvente: metanol.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 1,0.

Barrido UV entre 200 y 320 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 : 217,3 nm.

$A = 0,860$ (determinaciones efectuadas: 9; desviación estándar: 0,005).

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

Límite de impureza C por cromatografía en capa delgada:

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

Fase fija: cromatoplaqueta de gel de sílice 60 F 254, 10 x 20 cm, Merck art. 5715.

Fase móvil: acetato de etilo – metanol – agua – ácido acético glacial (80:20:15:2).

Disolvente de muestra: etanol.

Disolvente de testigo: metanol

Volumen sembrado de las soluciones: 5 μ l.

Sustancia A (muestra): Midazolam.

Concentración de la solución A1: 40 mg/ml.

Cantidad sembrada a1: 200 μ g.

Sustancia B (testigo): Impureza C de Midazolam CRS Lote 01387 Farmacopea Europea (ácido 8-cloro-6-(2-fluorofenil)-1-metil-4H-imidazol[1,5-a][1,4]benzodiazepina-3-carboxílico).

Concentración de la solución B₁: 0,04 mg/ml.

Cantidad sembrada b₁: 0,2 µg.

Solución de resolución (C): Midazolam + Impureza C.

Concentración de la solución C₁: 40 mg/ml + 0,04 mg/ml.

Cantidad sembrada c₁: 200 µg + 0,2 µg.

Concentración de la solución C₂: 20 mg/ml + 0,02 mg/ml.

Cantidad sembrada c₂: 100 µg + 0,1 µg.

Condiciones de desarrollo: cámara con recubrimiento interno y saturación de 1 hora y 30 minutos.

Corrida de 15 cm a partir del punto de siembra.

Revelador: luz ultravioleta.

Resultado:

R_f de la mancha principal y las soluciones diluidas: ~ 0,56.

R_f de la impureza C: ~0,31.

Para las cantidades sembradas b₁, c₁ y c₂ 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 impureza C sería menor a 0,05 %.

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 C8 (2); longitud: 25,0 cm; diámetro interno: 4,0 mm; diámetro de partícula: 5 µm.

Longitud de onda: 254 nm.

Temperatura: 30 °C.

Fase móvil: solución de pH 5,3 y metanol (47:53).

Solución de pH 5,3: pesar aproximadamente 7,7 g de acetato de amonio, disolver en 900 ml de agua, agregar 15,4 ml de hidróxido de tetrabutilamonio 1 M y mezclar. Ajustar a pH 5,3 con ácido acético glacial y llevar a 1000 ml con agua.

Disolvente y blanco: metanol.

Flujo: 1,2 ml/minuto.

Muestra: Midazolam.

Concentración: ~ 1,0 mg/ml.

Preparación de la muestra: pesar exactamente alrededor de 50 mg de Midazolam, transferir a un matraz aforado de 50 ml, agregar disolvente, agitar hasta disolución y completar a volumen con el mismo disolvente. Homogeneizar.

Testigos: - Midazolam para aptitud del sistema CRS Farmacopea Europea Lote 3.0.

Contiene,

- Impureza A: (6RS)-8-cloro-6-(2-fluorofenil)-1-metil-5,6-dihidro-4H-imidazol[1,5- α][1,4]benzodiazepina (y enantiómero).
- Impureza B: (6RS)-8-cloro-6-(2-fluorofenil)-1-metil-6H-imidazol[1,5- α][1,4]benzodiazepina (y enantiómero).
- Impureza E: [(2RS)-7-cloro-5-(2-fluorofenil)2,3-dihidro-1H-1,4-benzodiazepina-2-il]metanamina (y enantiómero).
- Impureza G: 8-cloro-1-metil-6-fenil-4H-imidazol[1,5- α][1,4]benzodiazepina.
- Impureza H: 6-cloro-4-(2-fluorofenil)-2-metilquinazolina.

Preparación de la solución de aptitud del sistema: disolver el contenido de un vial de Midazolam para aptitud del sistema CRS Farmacopea Europea en 1 ml de disolvente y homogeneizar.

Solución de referencia: solución diluida de Midazolam.

Concentración: ~ 0,0025 mg/ml.

Preparación de la solución de referencia: pesar exactamente alrededor de 2,5 mg de Midazolam, transferir a un matraz aforado de 20 ml, agregar disolvente, agitar hasta disolución y completar a volumen con el mismo disolvente. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, completar a volumen con disolvente y homogeneizar.

Volumen de inyección de todas las soluciones: 10 μ l.

Cantidad de soluciones de muestras independientes inyectadas: 11.

Cantidad de soluciones de referencia independientes inyectadas: 6.

Resultado: no se detecta la presencia de impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de la solución de referencia
Impureza E	10,1	nd
Impureza A	18,9	nd
Midazolam	20,3	pico principal
Impureza G	25,7	nd
Impureza H	38,5	nd
Impureza B	47,2	nd

nd: no detectable.

La eventual presencia de impurezas se estima como menor a 0,001 %.

Análisis térmico: la pureza estimada por Calorimetría Diferencial de Barrido, sobre sustancia tal cual, fue de 99,82 moles % (determinaciones efectuadas: 7, coeficiente de variación: 0,02 %).

Equipo: termoanalizador Mettler Toledo, modelo DSC 821e.

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

Temperatura inicial: 147 °C.

Velocidad de calentamiento: 2 °C/minuto.

Temperatura de fusión de los últimos cristales: 162,2 °C (determinaciones efectuadas: 7).

Valoración: 99,9 %; calculado sobre la sustancia seca (determinaciones efectuadas: 12; coeficiente de variación: 0,15 %).

Método: titulación potenciométrica en medio no acuoso con solución de ácido perclórico 0,05 N.

Patrón primario: biftalato de potasio.

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

Disolvente de la muestra: ácido acético glacial + anhídrido acético (3+2).

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

Electrodo de referencia: Ag/ClAg.

Electrodo indicador de vidrio.

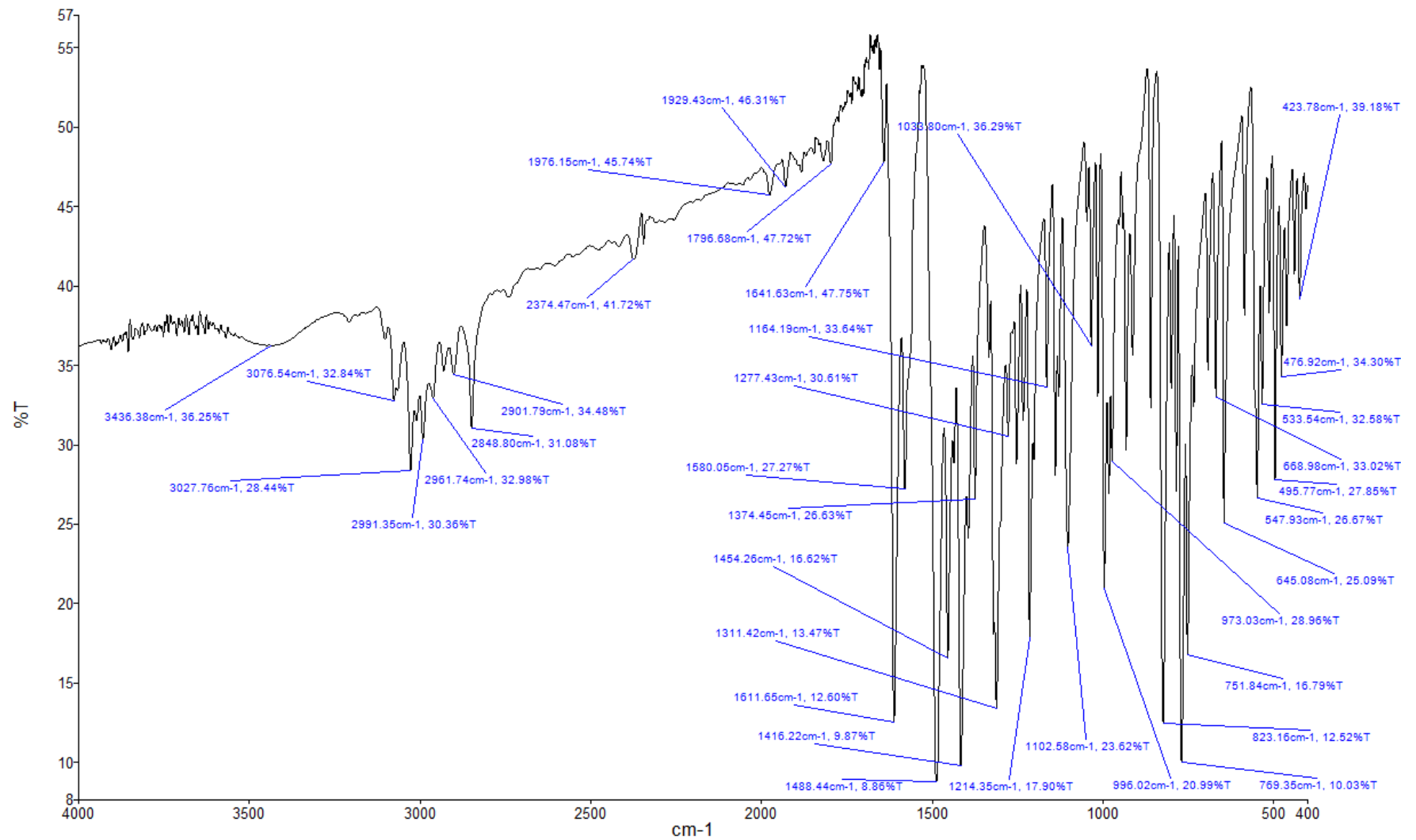
Tiempo de agitación: 2 minutos.

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 Midazolam 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.



Midazolam – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina