

## INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

### FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES  
REPÚBLICA ARGENTINA

FAX 5411-4340-0853

## CLORHIDRATO DE PIRIDOXINA

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control N° 120047)

Clorhidrato de 5-hidroxi-6-metil-3,4-piridindimetanol.

$C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$

P. Mol.: 205,64

**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:** 0,02 % (determinaciones efectuadas: 8; desviación estándar: 0,02).

Temperatura ambiente.

Presión: no mayor a 5 mm de Hg.

Tiempo: 4 horas.

**Rango de fusión:** 206,4 – 207,5 °C, con descomposición (promedio de 6 determinaciones).

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

Capilar colocado a 200 °C, con velocidad de calentamiento de 1 °C/minuto.

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

**pH:** 2,7 (promedio de 6 determinaciones).

Determinado en una solución de 50 mg/ml en agua libre de dióxido de carbono.

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

Electrodo combinado: unitrode, Metrohm 6.0258.010.

### **Espectro de absorción ultravioleta:**

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

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

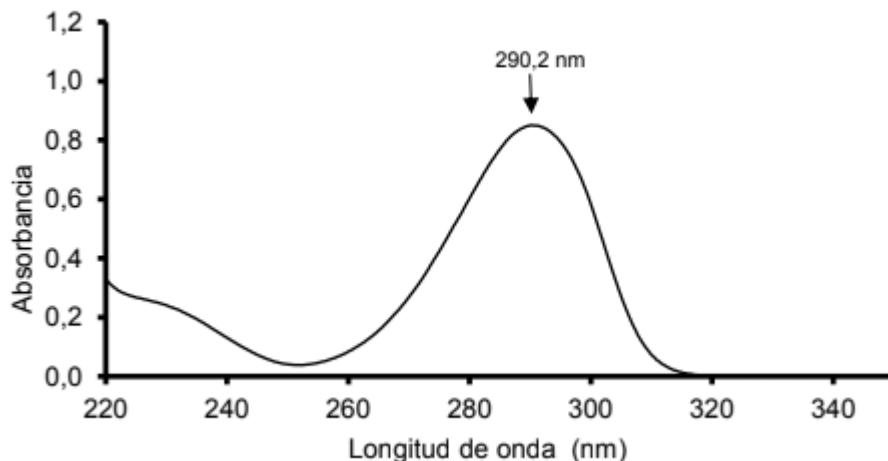
Disolvente: ácido clorhídrico 0,1 M.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 0,5.

Barrido UV entre 220 y 350 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".

$\lambda$ : 290,2 nm.

$A = 0,850$  (determinaciones efectuadas: 12; 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 F<sub>254</sub>, 20 x 20 cm, Merck art. 5735.

Fase móvil: acetona – tetracloruro de carbono - tetrahidrofurano – amoníaco concentrado (65:13:13:9).

Disolvente: etanol – agua (50:50).

Volumen sembrado de las soluciones: 10  $\mu$ l.

Sustancia A (muestra): Clorhidrato de Piridoxina.

Concentración de la solución A1: 100 mg/ml.

Cantidad sembrada a1: 1000  $\mu$ g.

Concentración de la solución A2: 0,04 mg/ml.

Cantidad sembrada a2: 0,4  $\mu$ g.

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

Cantidad sembrada a3: 0,2  $\mu$ g.

Condiciones de desarrollo: cámara sin saturación.

Corrida de 17 cm a partir del punto de siembra.

Reveladores: 1) solución de carbonato de sodio al 5 % p/v en etanol – agua, (3:7).

2) 2,6-dicloroquinonaclorimida al 0,1 % p/v en etanol.

Pulverizar con la solución 2 inmediatamente después de finalizado el pulverizado con la primera solución.

Observar inmediatamente luego de finalizado el segundo pulverizado.

Resultado:

Rf de la mancha principal 0,29.

Rf de las soluciones diluidas 0,36.

Para las cantidades sembradas a<sub>2</sub> y a<sub>3</sub> se detectan las manchas correspondientes.

Para la cantidad sembrada a<sub>1</sub> se detecta la mancha principal y no se detectan manchas secundarias. Consecuentemente la eventual presencia de alguna impureza sería menor a 0,02 %.

### **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); longitud: 25,0 cm; diámetro interno: 4,0 mm; diámetro de partícula: 3 μm.

Longitud de onda: 210 nm.

Temperatura: 35 °C.

Fase móvil: solución de pH 3,0.

Solución de pH 3,0: pesar aproximadamente 2,72 g de fosfato diácido de potasio, disolver en 800 ml de agua, ajustar a pH 3,0 con ácido fosfórico diluido y llevar a 1000 ml con el mismo disolvente.

Disolvente y blanco: agua.

Flujo: 1,0 ml/minuto.

Muestra: Clorhidrato de Piridoxina.

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

Preparación de la solución muestra: pesar exactamente alrededor de 25 mg de Clorhidrato de Piridoxina, transferir a un matraz aforado de 10 ml, disolver con agua, completar a volumen y homogeneizar.

Testigos: -Impureza A: 6-metil-1,3-dihidrofuro[3,4-c]piridin-7-ol.

-Impureza B: 5-(hidroximetil)-2,4-dimetilpiridin-3-ol.

Solución de resolución: 0,04 mg/ml de impureza A + 0,04 mg/ml de impureza B.

Preparación de la solución resolución: pesar exactamente alrededor de 2 mg de Impureza A y 2 mg de Impureza B, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con agua, completar a volumen y homogeneizar.

Solución de referencia: solución diluida de Clorhidrato de Piridoxina.

Concentración: ~ 0,0125 mg/ml de Clorhidrato de Piridoxina.

Preparación de la solución de referencia: pesar exactamente alrededor de 3,125 mg de Clorhidrato de Piridoxina, transferir a un matraz aforado de 50 ml, disolver con agua, completar a volumen y homogeneizar. Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con disolvente y homogeneizar.

Volumen de inyección de todas las soluciones: 5 µl.

Cantidad de soluciones de muestras independientes inyectadas: 10.

Cantidad de soluciones de referencia independientes inyectadas: 5.

Resultado: se detecta la presencia de nueve impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de la solución de referencia
Impureza desconocida	2,8	0,025
Impureza desconocida	3,1	0,005
Impureza desconocida	5,0	0,001
Impureza desconocida	8,5	0,001
Piridoxina	9,1	pico principal
Impureza desconocida	12,8	0,005
Impureza A	15,8	nd
Impureza B	16,2	0,013
Impureza desconocida	22,8	0,003
Impureza desconocida	24,8	0,002
Impureza desconocida	46,7	0,004

nd: no detectable.

Impurezas totales estimadas: 0,06 %.

**Valoración:** 99,8 %; calculado sobre la sustancia seca (determinaciones efectuadas: 11; coeficiente de variación: 0,27 %).

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 fórmico + anhídrido acético, (5 + 50).

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

Electrodo de referencia: Ag/ClAg.

Electrodo indicador de vidrio.

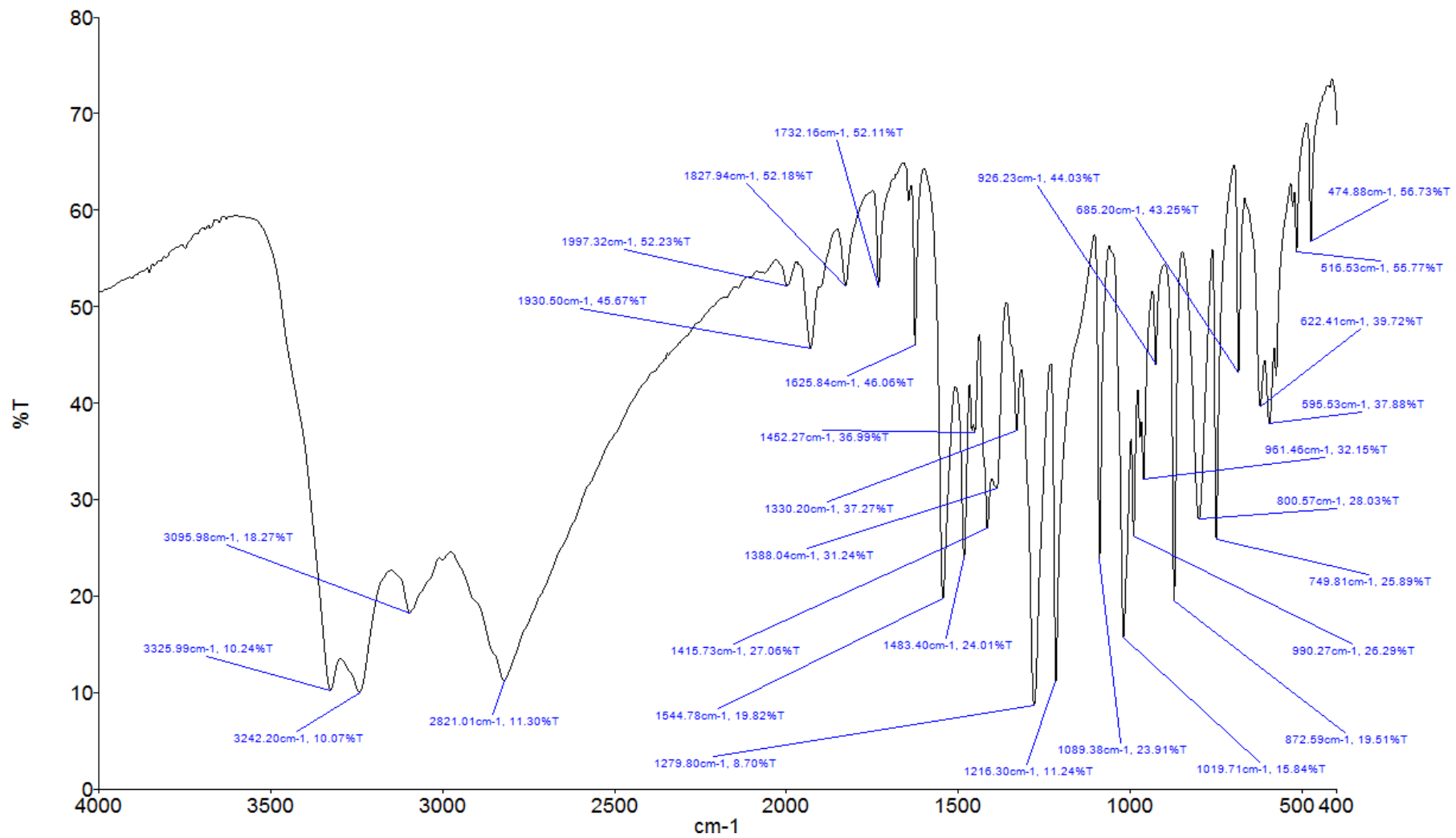
Tiempo de agitación: 2 minutos.

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 °C ± 3 °C y en ambiente de baja humedad.

**Uso:** la Sustancia de Referencia Clorhidrato de Piridoxina 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.



**Clorhidrato de Piridoxina – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina**