

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)

FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES
REPUBLICA ARGENTINA

FAX 5411-4340-0853

ISONIAZIDA

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químicos

(Control N° 123065)

Hidrazida del ácido 4-piridincarboxílico.

$C_6H_7N_3O$

P. Mol.: 137,14

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: 0,12 % (determinaciones efectuadas: 6; desviación estándar: 0,04).

Temperatura: 105 °C.

Tiempo: 4 horas.

Rango de fusión: 171,3 – 172,6 °C (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 160 °C a una velocidad de calentamiento de 1°C/min.

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

pH: 6,9 (promedio de 6 determinaciones).

Determinado en una solución de 100 mg/ml en agua libre de dióxido de carbono.

Equipo: titulador automático Metrohm, modelo Titrando 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: 0,022 mg/ml.

Preparación de la muestra: pesar exactamente alrededor de 5,5 mg de Isoniazida, transferir a un matraz aforado de 25 ml, completar a volumen con agua y mezclar.

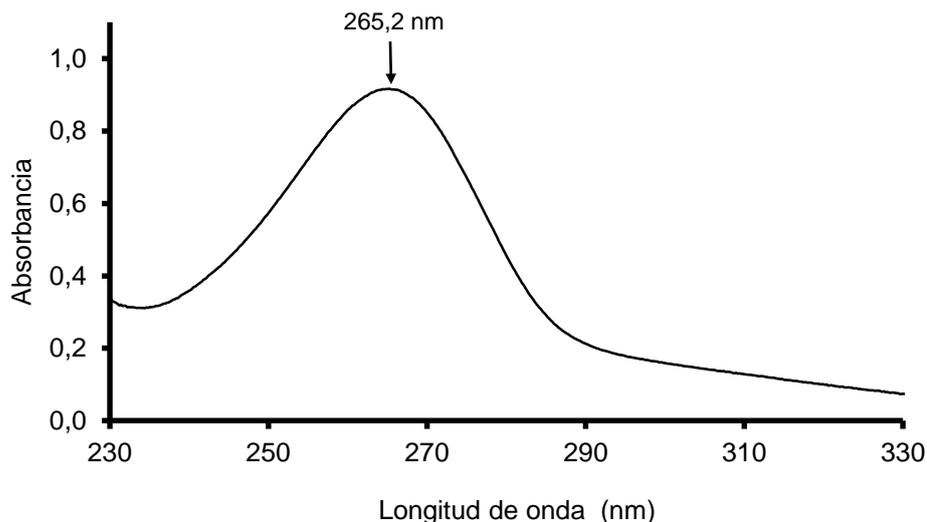
Transferir 5 ml de esta solución a un matraz aforado de 50 ml, agregar 1 ml de ácido clorhídrico 0,1 M y completar a volumen con agua.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 0,5.

Barrido UV entre 230 y 330 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 : 265,2 nm.

$A = 0,913$ (determinaciones efectuadas: 11; desviación estándar: 0,005).

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

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 InterClone C18 (3); longitud: 25,0 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 5,0 μm .

Longitud de onda: 266 nm.

Temperatura: 30 °C.

Fase móvil: mezclas variables de Solución A y B.

Solución A: solución de pH 6,9 y metanol (97:3).

Solución de pH 6,9: pesar aproximadamente 13,6 g de fosfato diácido de potasio, disolver en 950 ml de agua y ajustar a pH 6,9 con hidróxido de sodio 1 N. Agregar 30 mg de trietanolamina, llevar a 1000 ml con agua y homogeneizar.

B: metanol.

Condición de la corrida: gradiente.

Programa de gradiente en función del tiempo

minutos	% A (V/V)	% B (V/V)
0 – 12	100	0
12 – 20	100 → 85	0 → 15
20 – 28	85	15
28 – 30	85 → 100	15 → 0

Disolvente y blanco: solución A.

Flujo: 1,5 ml/minuto.

Muestra: Isoniazida.

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

Testigos:

Impureza A: ácido piridin-4-carboxílico (ácido isonicotínico).

Impureza B: piridin-4-carboxamida (isonicotinamida).

Impureza D: piridin-3-carbohidrazida (nicotinil hidrazida).

Preparación de la solución de resolución: pesar exactamente alrededor de 2,5 mg de cada impureza (A, B y D) y 2,5 mg de Isoniazida, transferir a un matraz aforado de 100 ml, completar a volumen con disolvente y homogeneizar. Transferir 1 ml de esta solución a un matraz aforado de 10 ml, completar a volumen con disolvente y homogeneizar.

Concentración: 0,0025 mg/ml de Isoniazida + 0,0025 mg/ml de cada impureza (A, B y D).

Solución de referencia: solución diluida de Isoniazida.

Concentración: ~ 0,0025 mg/ml de Isoniazida.

Volumen de inyección de todas las soluciones: 10 µl.

Cantidad de soluciones de muestras independientes inyectadas: 12.

Cantidad de soluciones de referencia independientes inyectadas: 8.

Resultado: se detecta la presencia de siete impurezas.

	Tiempo de retención aproximado (minutos)	% de área respecto de la solución de referencia
Impureza desconocida	2,4	0,002
Impureza A	3,2	0,006
Impureza desconocida	5,1	0,002
Isoniazida	6,6	pico principal
Impureza D	7,9	nd
Impureza B	8,9	0,004
Impureza desconocida	17,8	0,005
Impureza desconocida	23,1	0,004
Impureza desconocida	24,1	0,010

nd: no detectable.

Impurezas totales estimadas: 0,03 %.

Análisis térmico: la pureza estimada por Calorimetría Diferencial de Barrido, sobre sustancia tal cual, fue de 99,96 moles % (determinaciones efectuadas: 6; coeficiente de variación: 0,01 %).

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: 162 °C.

Velocidad de calentamiento: 2 °C/minuto.

Temperatura de fusión de los últimos cristales: 170,8 °C.

Valoración: 100,3 %; calculado sobre la sustancia seca (determinaciones efectuadas: 11; coeficiente de variación: 0,23 %).

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

Patrón primario: biftalato de potasio.

Disolvente del patrón primario: 60 ml de ácido acético glacial.

Disolvente de la muestra: 60 ml de una mezcla de ácido acético glacial y anhídrido acético (50:10).

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

Electrodo de referencia: Ag/ClAg.

Electrodo indicador de vidrio.

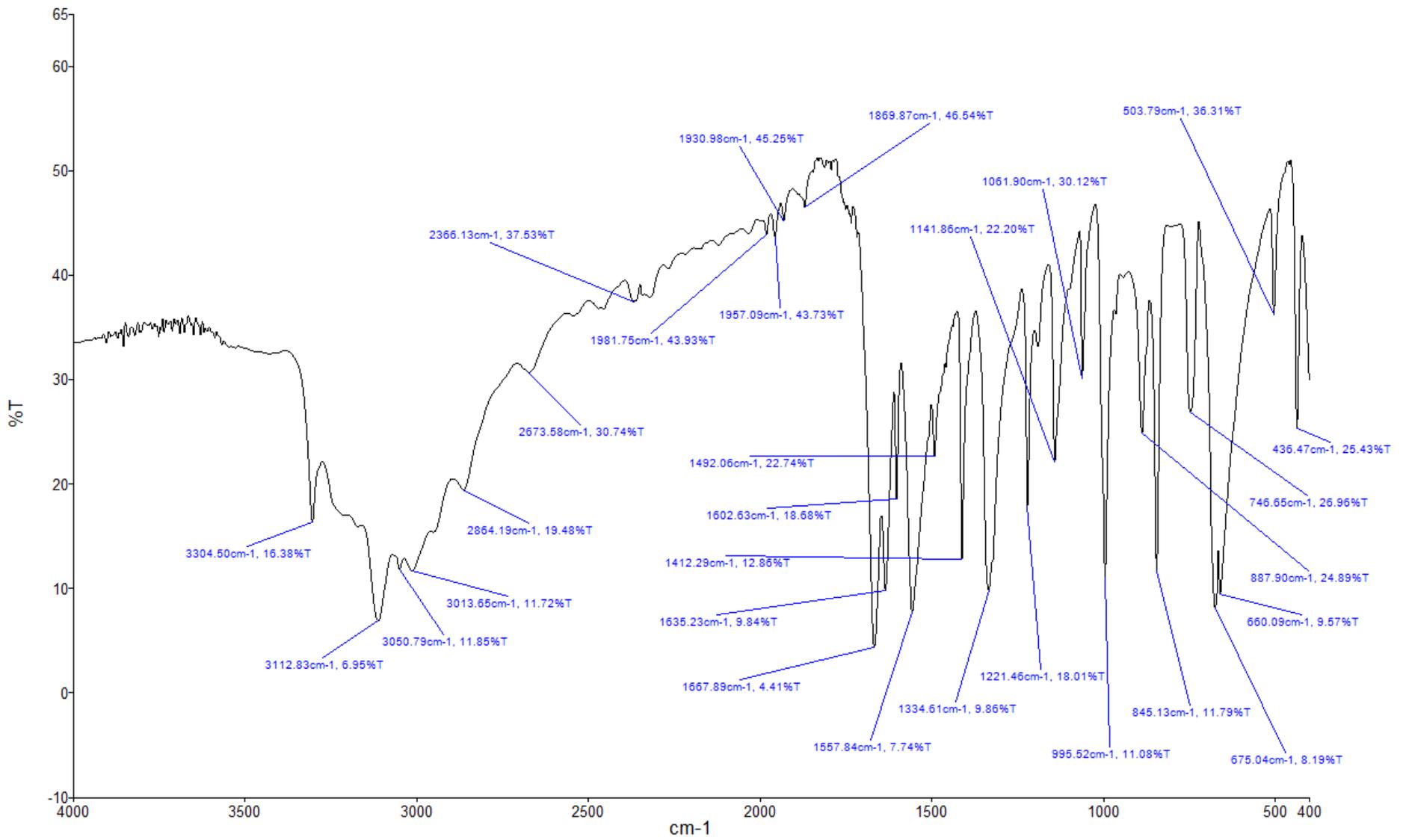
Tiempo de agitación: 2 minutos.

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

Precauciones: 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 °C \pm 3 °C y en ambiente de baja humedad.

Uso: la Sustancia de Referencia Isoniazida 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.



Isoniazida – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina