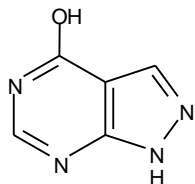


1
2 Actualización

3 ALOPURINOL



4
5
6 $C_5H_4N_4O$ PM: 136,11 315-
7 30-0

8 **Definición** - Alopurinol es 1H-Pirazol [3,4-
9 d]pirimidin-4-ol. Debe contener no menos de
10 98,0 por ciento y no más de 102,0 por ciento de
11 $C_5H_4N_4O$, calculado sobre la sustancia seca y
12 debe cumplir con las siguientes
13 especificaciones.

14 **Caracteres generales** - Polvo fino blanco o
15 casi blanco. Soluble en soluciones diluídas de
16 hidróxidos alcalinos y en amonio; muy poco
17 soluble en agua, etanol y dimetilformamida;
18 prácticamente insoluble en éter y cloroformo.

19 **Sustancias de referencia** - Alopurinol SR-
20 FA. Impureza A de Alopurinol SR-FA:
21 Hemisulfato de 3-Aminopirazol-4-
22 carboxamida. Impureza B de Alopurinol SR-
23 FA: 5-(Formilamino)-1H-pirazol-4-
24 carboxamida. Impureza C de Alopurinol SR-
25 FA: 5-(4H-1,2,4-Triazol-4-il)1H-pirazol-4-
26 carboxamida. Impureza D de Alopurinol SR-
27 FA: 5-Amino-1H-pirazol-4carboxilato de etilo.
28 Impureza E de Alopurinol SR-FA: 5-
29 (Formilamino)-1H-pirazol-4-carboxilato de
30 etilo.

31 CONSERVACIÓN

32 En envases bien cerrados.

33 ENSAYOS

34 Identificación

35 **A** - Absorción infrarroja <460>. *En fase*
36 *sólida*.

37 **B** - Disolver 10 mg de Alopurinol en 1 mL
38 de hidróxido de sodio 0,1 M y diluir a 100 mL
39 con ácido clorhídrico 0,1 M. Transferir 10 mL
40 de esta solución a un matraz aforado de 100 mL
41 y completar a volumen con ácido clorhídrico
42 0,1 M. Examinar entre 220 y 350 nm (ver 470.
43 *Espectrofotometría ultravioleta y visible*). La
44 solución debe presentar un máximo de

45 absorción a aproximadamente 250 nm y un
46 mínimo a aproximadamente 231 nm. La
47 relación de absorbancias medidas a 231 y
48 250 nm, se debe encontrar entre 0,52 y 0,62.

49 **Pérdida por secado** <680>

50 Secar a 105 °C durante 5 horas a una presión
51 no mayor de 2 mm de Hg: no debe perder más
52 de 0,5 % de su peso.

53 **Pureza cromatográfica**

54 [NOTA: conservar e inyectar las soluciones
55 preparadas aproximadamente a 8 °C.]

56 **Sistema cromatográfico** - Emplear un
57 equipo para cromatografía de líquidos con un
58 detector ultravioleta ajustado a 220 nm y una
59 columna de 25,0 cm × 4,6 mm con fase
60 estacionaria constituida por octadecilsilano
61 químicamente unido a partículas porosas de
62 sílice de 5 µm de diámetro. Mantener la
63 columna a 30 °C. El caudal debe ser
64 aproximadamente 1,0 mL por minuto.

65 **Solución A** - Pesar aproximadamente 1,25 g
66 de fosfato diácido de potasio, diluir a 1.000 mL
67 con agua y mezclar.

68 **Solución B** - Metanol.

69 **Fase móvil** - Emplear mezclas variables de
70 **Solución A** y **Solución B**. Programar el
71 cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo	<i>Solución A</i> (%)	<i>Solución B</i> (%)	Etapas
0-30	90→70	10→30	Gradiente lineal
30-35	70	30	Isocrático
35-36	70→90	30→10	Gradiente lineal
36-46	90	10	Isocrático

72

73
74 **Disolvente** - *Solución A* y *Solución B*
75 (90:10).

76 **Solución estándar** - Pesar aproximadamente
77 alrededor de 2,5 mg de Alopurinol SR-FA, 2,5
78 mg de Impureza A de Alopurinol SR-FA, 2,5
79 mg de Impureza B de Alopurinol SR-FA, 2,5
80 mg de Impureza C de Alopurinol SR-FA, 2,5
81 mg de Impureza D de Alopurinol SR-FA y 2,5
82 mg de Impureza E de Alopurinol SR-FA.
83 Transferir a un matraz aforado de 100 mL,
84 disolver con 2 mL de hidróxido de sodio 0,1 M
85 y sonicar durante 1 minuto. Completar a
86 volumen con *Disolvente*, sonicar durante 5
87 minutos y mezclar. Transferir 2 mL de la
88 solución anterior a un matraz aforado de
89 100 mL, completar a volumen con *Disolvente* y
90 mezclar.

91 **Solución muestra** - Pesar exactamente

92 alrededor de 25 mg de Alopurinol, transferir a
 93 un matraz aforado de 100 mL y agregar 5 mL de
 94 hidróxido de sodio 0,1 M. Sonicar hasta
 95 disolución, completar a volumen con *Disolvente*
 96 y mezclar.
 97 *Aptitud del sistema* (ver 100.
 98 *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución*
 99 *estándar* y registrar las respuestas de los picos
 100 según se indica en *Procedimiento*: la resolución
 101 *R* entre los picos de impureza C y de impureza
 102 B no debe ser menor de 0,8. El factor de
 103 asimetría no debe ser mayor de 1,5 para el pico
 104 de alopurinol.
 105 *Procedimiento* - Inyectar por separado en el
 106 cromatógrafo volúmenes iguales
 107 (aproximadamente 40 µL) de la *Solución*
 108 *estándar* y la *Solución muestra*, registrar los
 109 cromatogramas y medir las respuestas de todos
 110 los picos. Calcular el porcentaje de cada
 111 impureza en la porción de Alopurinol en ensayo.
 112 Debe cumplir con los requisitos de la
 113 siguiente tabla:

Sustancia relacionada	Tiempo de retención relativo	Límite (%)
Impureza A	0,62	0,2
Impureza C	0,79	0,2
Impureza B	0,81	0,2
Alopurinol	1,0	-
Impureza D	4,4	0,2
Impureza E	4,8	0,2
(E/Z)-3-(2-carbetoxi-2-cianoetenil)amino-1H-pirazol-4-carboxilato de etilo individual desconocida	-	0,1
totales	-	1,0

114

115 **Límite de hidrazina**

116 [NOTA: la hidrazina presente en la muestra
 117 reacciona con benzaldehído para formar
 118 benzalazina.]

119 *Sistema cromatográfico* - Emplear un
 120 equipo para cromatografía de líquidos con un
 121 detector ultravioleta ajustado a 310 nm; y una
 122 columna de 25 cm × 4,0 mm con fase
 123 estacionaria constituida por grupos nitrilos
 124 químicamente unidos a partículas porosas de
 125 sílice de 5 µm de diámetro. El caudal debe ser
 126 aproximadamente 1,5 mL por minuto.

127 *Fase móvil* - Hexano y 2-propanol (95:5).
 128 Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes
 129 necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100.
 130 *Cromatografía*).

131 *Solución de hidróxido de sodio 2 M* -
 132 Disolver 8,5 g de hidróxido de sodio en agua y
 133 diluir a 100 mL con el mismo solvente.

134 *Diluyente* - Metanol y solución de hidróxido
 135 de sodio 2 M (50:50).

136 *Solución de benzaldehído* - Disolver 4 g de
 137 benzaldehído en 100 mL de *Diluyente*. [NOTA:
 138 preparar esta solución inmediatamente antes de
 139 usar].

140 *Solución de hidrazina* - Preparar una
 141 solución que contenga 0,2 µg de sulfato de
 142 hidrazina por mL de *Diluyente*.

143 *Solución blanco* - Transferir 5 mL de
 144 *Diluyente* a un recipiente apropiado, agregar 4
 145 mL de *Solución de benzaldehído*, mezclar y
 146 dejar en reposo durante 2,5 horas a temperatura
 147 ambiente. Agregar 5,0 mL de hexano y agitar
 148 durante 1 minuto. Dejar que las capas se separen
 149 y usar la superior.

150 *Solución estándar* - Transferir 5,0 mL de
 151 *Solución de hidrazina* a un recipiente apropiado,
 152 agregar 4 mL de *Solución de benzaldehído* y
 153 mezclar. Dejar en reposo durante 2,5 horas a
 154 temperatura ambiente. Agregar 5,0 mL de
 155 hexano y agitar durante 1 minuto. Dejar que las
 156 capas se separen y usar la superior.

157 *Solución muestra* - Pesar exactamente
 158 alrededor de 250 mg de Alopurinol, transferir a
 159 un recipiente apropiado y disolver con 5 mL de
 160 *Diluyente*. Agregar 4 mL de *Solución de*
 161 *benzalaldehído*, mezclar y dejar en reposo durante
 162 2,5 horas a temperatura ambiente. Agregar 5,0
 163 mL de hexano y agitar durante 1 minuto. Dejar
 164 que las capas se separen y emplear la capa
 165 superior.

166 *Aptitud del sistema* (ver 100. *Cromatografía*) -
 167 Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar
 168 las respuestas de todos los picos según se indica
 169 en *Procedimiento*: los tiempos de retención
 170 relativos son aproximadamente 0,8 para
 171 benzalazina y 1,0 para benzaldehído; la
 172 resolución *R* entre los picos de benzalazina y
 173 benzaldeído no debe ser menor de 2,0 y la
 174 desviación estándar relativa para inyecciones
 175 repetidas para el pico de benzalazina no debe ser
 176 mayor de 15,0 %.

177 *Procedimiento* - Inyectar por separado en el
 178 cromatógrafo volúmenes iguales
 179 (aproximadamente 20 µL) de la *Solución*
 180 *estándar* y de la *Solución muestra*, registrar los
 181 cromatogramas y calcular el porcentaje del pico
 182 presente de benzalazina en la porción de
 183 Alopurinol en ensayo por la fórmula siguiente:

184
$$1.000(32,05/130,12)(C_M/C_E)(r_M/r_E)$$

185 en la cual 32,0 es el peso molecular de hidrazina,
186 130,12 es el peso molecular de sulfato de
187 hidrazina, C_M es la concentración de la muestra
188 en mg por mL, C_E es la concentración de sulfato
189 de hidrazina en μg por mL, r_M y r_E son las
190 respuestas de los picos correspondientes al pico
191 de benzalazina a partir de la *Solución muestra* y
192 la *Solución estándar*, respectivamente: no debe
193 contener más de 10 ppm.

194 VALORACIÓN

195 [NOTA: conservar e inyectar las soluciones
196 preparadas aproximadamente a 8 °C.]

197 *Sistema cromatográfico* - Emplear un
198 equipo para cromatografía de líquidos con un
199 detector ultravioleta ajustado a 230 nm y una
200 columna de 25,0 cm x 4,6 mm con fase
201 estacionaria constituida por octadecilsilano
202 químicamente unido a partículas porosas de
203 sílice de 3 a 10 μm de diámetro. El caudal debe
204 ser aproximadamente 1,8 mL por minuto.

205 *Fase móvil* - Pesar aproximadamente 1,25 g
206 de fosfato diácido de potasio, diluir a 1.000 mL
207 con agua y mezclar.

208 *Solución de aptitud del sistema* - Pesar
209 aproximadamente alrededor de 2,5 mg de
210 Alopurinol SR-FA, 2,5 mg de Impureza B de
211 Alopurinol SR-FA, 2,5 mg de Impureza C de
212 Alopurinol SR-FA. Transferir a un matraz
213 aforado de 100 mL, disolver con 2 mL de
214 hidróxido de sodio 0,1 M y sonicar durante 1
215 minuto. Completar a volumen con *Fase móvil*,
216 sonicar durante 5 minutos y mezclar. Transferir
217 2 mL de la solución anterior a un matraz aforado
218 de 100 mL, completar a volumen con *Fase*
219 *móvil* y mezclar.

220 *Preparación estándar* - Pesar exactamente
221 alrededor de 20 mg de Alopurinol SR-FA y
222 transferir a un matraz aforado de 250 mL.
223 Agregar 5,0 mL de hidróxido de sodio 0,1 M y
224 disolver. Completar a volumen con *Fase móvil*
225 y mezclar.

226 *Preparación muestra* - Pesar exactamente
227 alrededor de 20 mg de Alopurinol, transferir a
228 un matraz aforado de 250 mL, disolver con
229 5,0 mL de hidróxido de sodio 0,1 M, completar
230 a volumen con *Fase móvil* y mezclar.

231 *Aptitud del sistema* (ver 100.
232 *Cromatografía*) - Cromatografiar la *Solución de*
233 *aptitud del sistema* y registrar las respuestas de
234 los picos según se indica en *Procedimiento*: los
235 tiempos de retención relativos deben ser 0,7 para
236 impureza B, 0,8 para impureza C y 1,0 para
237 alopurinol. La resolución R entre los picos de
238 impureza B y de impureza C no debe ser menor

239 de 1,1 y entre los picos de impureza C y
240 alopurinol no debe ser menor a 6,0.
241 Cromatografiar la *Preparación estándar* y
242 registrar las respuestas de los picos según se
243 indica en *Procedimiento*: la desviación estándar
244 para inyecciones repetidas no debe ser menor a
245 2,0 %.
246 *Procedimiento* - Inyectar por separado en el
247 cromatógrafo volúmenes iguales
248 (aproximadamente 20 μL) de la *Preparación*
249 *estándar* y la *Preparación muestra*, registrar los
250 cromatogramas y medir las respuestas de los
251 picos principales. Calcular la cantidad de
252 $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}$ en la porción de Alopurinol en ensayo.