

Rev. Cienc. Tecnol.  
Año 7 / N° 7a / 2005 / 18-27

# CUANTIFICACIÓN DE AMOXICILINA EN FORMAS FARMACÉUTICAS POR CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN EN FASE REVERSA

<sup>1</sup>De Battista, G. A. / <sup>2</sup>Valdéz, J. R.

<sup>1</sup>Laboratorio de la Cátedra de Calidad de los Medicamentos, Departamento de Farmacia, F.C.E.Q.y N. UNaM. Avenida Mariano Moreno 1252, gdebattista@fceqyn.unam.edu.ar.

<sup>2</sup>Laboratorio Químico y Toxicológico-Dirección Criminalística de la Policía de la Provincia de Misiones, Posadas, Argentina.

DETERMINATION OF AMOXICILLIN IN PHARMACEUTICAL PREPARATIONS BY RP-HPLC.

## ABSTRACT

A method for amoxicillin assay from pharmaceutical preparations by HPLC that offers the advantage of using conventional columns and isocratic system was developed. The chromatographic conditions comprise the use of reverse-phase column C18 (250 x 4 mm x 5 m), pore diameter of 100Å, and without use of pre-column, as mobile phase of phosphates buffer and acetonitrile as modifier, in proportion (39:1) at pH 5,0 ( $\pm 0,1$ ) with a flow of mobile phase of 0,7 ml min<sup>-1</sup>. The eluate was monitored at 238 nm. The method exhibited high selectivity to quantify amoxicillin in presence of related organic substances allowing its use for studies of stability and pharmaceutical quality.

KEY WORDS: amoxicillin, pharmaceutical preparations, validation, RP-HPLC.

## RESUMEN

La Farmacopea Nacional Argentina en ninguna de sus ediciones codifica métodos para valorar amoxicilina en formas farmacéuticas, las Farmacopeas de reconocimiento internacional la determinan por cromatografía líquida de alta performance. Se desarrolló un método que ofrece la ventaja de utilizar columnas cromatográficas convencionales, cuyas condiciones cromatográficas comprenden el uso de una columna en fase reversa C18 (250 x 4mm x 5 mm), diámetro de poro de 100Å, y sin el uso de precolumna; se utilizó como fase móvil buffer de fosfatos y acetonitrilo como modificador, en proporción (39:1) a pH 5,0 ( $\pm 0,1$ ) con un flujo de fase móvil de 0,7ml/min y monitoreando el eluato a 230 nm. El método exhibió una excelente precisión con dispersión menor al 1%, con un porcentaje de recuperación mayor al 98% y una alta selectividad para cuantificar amoxicilina en presencia de impurezas orgánicas relacionadas permitiendo su utilización para estudios de estabilidad y calidad farmacéutica.

PALABRAS CLAVES: amoxicilina, formas farmacéuticas sólidas, validación, HPLC.

## INTRODUCCIÓN

La amoxicilina (AMX) es un antibiótico de la clase de los betalactámicos, que pertenece al grupo de las penicilinas semisintéticas de espectro ampliado. Abarca, además de las bacterias grampositivas, una serie de bacilos gramnegativos, como la *Escherichia coli*, los géneros *Haemophilus*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Shigella*, *Salmonella* entre otros. [1].

Farmacológicamente actúa inhibiendo la biosíntesis de la pared bacteriana, en la fase de transpeptidación, formación de enlaces peptídicos cruzados, en microorganismos en fase de crecimiento logarítmico con el consecuente efecto bactericida por shock osmótico.

De acuerdo al listado de la Organización Mundial de la Salud (OMS) integra el grupo de los medicamentos esenciales y es ampliamente utilizada tanto en los países desarrollados como en desarrollo. La amoxicilina es un parahidroxiderivado de la ampicilina y tiene la ventaja sobre esta de tener mejor absorción a nivel del tracto digestivo y mayor actividad por vía oral. También presenta ventajas en su administración conjunta con alimentos, pues su absorción no es influida por los mismos [1].

Químicamente es el ácido 6-[D(-)-alfa-amino-p-hidroxifenilacetamido] penicilámico. Es ligeramente soluble en agua, alcohol etílico, alcohol metílico e insoluble en solventes orgánicos no polares como el cloroformo y éter. En soluciones acuosas ácidas se produce la disociación de tres protones; el del ácido carboxílico, del hidroxilo aromático y el del grupo amonio [2].

Esta droga semisintética es producida a partir de dos compuestos, a saber la 4-hidroxifenilglicina (4-HPG) y el ácido 6-amino penicilánico (6-APA). El 6-APA es producido por la ruptura química del núcleo benzilpenicillium. El camino más común de producir benzilpenicillium es por un proceso de fermentación que involucra al hongo *Penicillium chrysogenum* [3].

La humedad y la temperatura por encima de los 30° C tiene efecto adverso sobre su estabilidad. La degradación se puede producir por dimerización o por ruptura hidrolítica del anillo b-lactámico. La dimerización de la amoxicilina se produce a través del ataque nucleofílico del grupo amino de una molécula con el grupo carbonilo del anillo b-lactámico de otra. La degradación por hidrólisis se produce por ataque del ión fenóxido en una molécula de amoxicilina con el anillo b-lactámico de una segunda molécula [2].

Los productos de la mayoría de las rutas de descomposición de la AMX son el ácido peniciloico producido por hidrólisis, el cual pierde inmediatamente CO<sub>2</sub> para formar el ácido peniloico y el dímero de la amoxicilina.

Otras rutas menores de descomposición son la formación de trímeros o tetrámeros, pero menos significativa que la anterior.

Se presenta en los medicamentos en la forma de amoxicilina trihidrato en cápsulas y en suspensiones orales para reconstituir; y como amoxicilina sódica en soluciones inyectables. Su administración en dosis sub-terapéuticas tiene implicancia directa en los cuidados de la salud de la población, ya que puede contribuir al desarrollo de resistencia bacteriana a la misma.

La Farmacopea Argentina en su VI Edición no incluye la monografía de la AMX como tampoco de las formas farmacéuticas de presentación. En la nueva edición, aún no editada, la monografía de amoxicilina es un documento en revisión.

El método de cuantificación que utiliza la Farmacopea de Estados Unidos (USP) 24a edición para cuantificar amoxicilina en materia prima y en tabletas es por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC). La columna que utiliza para la cuantificación de amoxicilina es una de fase reversa ligada a octadecilsilanos (ODS) de 3,9 x 30 cm, y como precolumna una de 2x2cm, también de ODS [4].

En trabajos de otros autores se validan métodos para cuantificar amoxicilina por HPLC teniendo en cuenta los productos de degradación y las sustancias relacionadas a su proceso de producción. No obstante algunos protocolos presentan desventajas, como los largos tiempos de análisis o deriva de línea de base al usar sistemas de elución de gradiente ternarios [5, 6, 7, 8, 9].

Shakoor y colaboradores en 1978 desarrollan un método por HPLC que utiliza un sistema de fase móvil isocrático, que permite cuantificar amoxicilina en presencia de sus sustancias relacionadas en cortos tiempos de análisis, resultando ventajoso para controles de calidad de medicamentos que contienen esta droga. Dicho método utiliza una columna ODS de 100 x 2 mm, y también ha sido validado para cápsulas y suspensiones [3].

El objetivo del presente trabajo es validar un método alternativo de análisis por Cromatografía Líquida de Alta Resolución en Fase Reversa, que permita cuantificar amoxicilina en presencia de sus potenciales productos de degradación usando columnas convencionales de base de sílica ligada a octadecilsilanos.

## MATERIALES Y MÉTODOS

La amoxicilina sustancia de referencia (AMX-SR) para ensayos físico-químicos fue adquirida en el Instituto Nacional de Medicamento (ANMAT-INaMe). La pureza declarada sobre sustancia anhidra (HPLC) fué del 98,6%

con un DSR de 0,09%; y la humedad declarada del 13,96%.

La identidad de la sustancia de referencia ANMAT-INaMe fue determinada mediante barridos espectrales entre 190 y 450 nm, usando un espectrofotómetro de arreglo de fotodiodos modelo Hewlett Packard 8453.

Se utilizaron comprimidos que se adquirieron en el mercado para los ensayos de validación correspondiendo a productos de distintas marcas comercializadas en el país representativos de la diferente composición en excipientes para las formulaciones de estos medicamentos.

### Preparación de la Muestra

De la muestra constituida por 20 unidades (comprimidos) se seleccionaron 5 aleatoriamente para ser procesadas. Se trituraron hasta grado de polvo, tomando una cantidad equivalente correspondiente a 250 mg de AMX que se llevó a un volumen de 200 mL con buffer fosfato Salino al 068 % y pH = 5,0. Se procedía a sonicar en baño de ultrasonido a 42 KHz ( $\pm 6\%$ ) durante 5 minutos a temperatura ambiente, enrasando posteriormente con el mismo buffer a 250 ml. Se agitó esta solución por 30 minutos. Para su análisis se tomaba una porción, se centrifugaba por 10 minutos a 3300 r.p.m. y filtraba (membranas de nylon) para su posterior inyección en el cromatógrafo.

Se evaluaba el comportamiento espectral de la muestra entre 200 y 400 nm a fin de determinar la presencia de máximos de absorción semejantes a los de amoxicilina.

Se procesaron muestras de tres laboratorios con distintas fecha de vencimiento, correspondiendo a comprimidos de amoxicilina de 500 mg con y sin cobertura, y polvo para reconstituir, suspensiones extemporáneas.

### Selección y optimización de las Condiciones Cromatográficas

El sistema cromatográfico utilizado fue un cromatógrafo modular Hewlett Packard modelo HP 1100, integrado por un sistema de bomba cuaternaria, módulo de desgasificación por vacío, sistema autoinyector, módulo de termostatación de columna y detector de arreglo de fotodiodos y fluorescencia. Para el desarrollo experimental se utilizaron reactivos de calidad analítica y los solventes del sistema cromatográfico fueron de grado HPLC y filtrados para su utilización.

Se disponían de dos columnas cromatográficas de dimensiones y características semejantes a las utilizadas en los trabajos de Shakoor y col; y por la USP 24<sup>o</sup> Ed.

Para comparar las respuestas en la separación de AMX se utilizó una columna Hypersil ODS-5 de 125 x 4mm x 5

um, con diámetro de poro de 120 Å en condiciones similares a las propuestas por Shakoor et al [3]. Como fase móvil se utilizó una mezcla de solución reguladora de Fosfatos a pH=7,0 ( $\pm 0,1$ ) y metanol como modificador orgánico en proporción (97:3); a un caudal de 0,4 ml/min y sin control de temperatura. El volumen de AMX-SR inyectado fue de 10ml (100 mg), monitoreando la elución de los picos a 229 nm y 273 (ancho de banda de 8nm) con referencia a 400nm (ancho de banda 100nm) y complementando la evaluación de la respuesta en todo el espectro UV-Vis (200 - 600nm).

Para comparar las metodologías en condiciones isocráticas se modificó la composición de la fase móvil de las condiciones propuestas por Shakoor y col, de manera de ajustar y mejorar la elución de la AMX y poder compararla con las condiciones definidas en la USP 24<sup>o</sup> Ed.

Considerando la metodología codificada por la USP utilizando la Lichrospher RP 100 18 e, de dimensiones 250 x 4mm x 5 mm, diámetro de poro de 100Å, y sin el uso de precolumna; se utilizó como fase móvil buffer de fosfatos y acetonitrilo al 2,5% como modificador. El pH de la fase móvil en este caso fue ajustado a 5,0 ( $\pm 0,1$ ). Se usó la misma cantidad de masa para la inyección al cromatógrafo y el monitoreo de los picos fue realizado en las mismas longitudes de onda.

La selección de las condiciones cromatográficas preliminares fue determinada mediante comparación de los valores factor de capacidad, eficiencia, pureza y simetría de pico, entre las metodologías analizadas, tras inyección de la AMX-SR.

Se optimizaron las condiciones cromatográficas realizando modificaciones del flujo de la fase móvil. El diámetro de poro de membranas de filtración para la muestra y solventes que se probaron fueron de 0,22 y 0,45mm.

En la selección de la longitud de onda de detección se procedió a comparar la respuesta espectral de la AMX en los diferentes protocolos, analizándolo entre los 200 y 600nm mediante gráficos de isoabsorbancia y tridimensionales.

### Validación del Método

El método optimizado fue validado evaluando la exactitud, precisión, comportamiento lineal, sensibilidad y especificidad tras la inyección de AMX SR en las condiciones propuestas en este trabajo.

La exactitud del método se determinó por adición de AMX SR a las muestras de los comprimidos de una marca líder del mercado nacional. Las experiencias se realizaron por triplicado, analizando las respuestas en mg de AMX tras la separación de las muestras con y sin agre-

gado de la sustancia de referencia. La cantidad total de masa inyectada fue seleccionada considerando la región de mayor precisión en áreas de la curva de calibración.

La precisión del método se evaluó mediante un estudio de repetibilidad de 10 inyecciones (de 10 ml) procesadas en el mismo día, usando una muestra de AMX SR de concentración de 1,75 µg/µl. La precisión del sistema fue determinada mediante inyecciones a los 8 y 16 días para la misma cantidad de muestra. A su vez se determinó el perfil de precisión para diferentes cantidades de masa inyectada en la curva de calibración.

Para definir la linealidad se prepararon por cuatuplicado cinco niveles de calibración de soluciones acuosas del estándar de AMX comprendidas del 50% al 150% del valor esperado de potencia del medicamento. Se integraron las áreas, determinando la curva de regresión por el método de los cuadrados mínimos y el grado de significación mediante análisis de varianza usando software de estadística (STAT Graphics plus 7.1).

En el estudio de la sensibilidad del método se estimaron los límites de detección operativos y de cuantificación, considerando puntos de masas en la región inferior de la curva de regresión obtenida en el ensayo de linealidad. A tal fin se seleccionaron masas comprendidas entre 0,04 µg y 1,7 µg, ensayando las muestras por duplicado.

Para definir la especificidad del pico eluído se sometió a la AMX SR a condiciones de estrés para producir la degradación acelerada de la AMX en polvo y determinar

la incidencia de los compuestos de degradación en la cuantificación. Los factores analizados fueron: a) Temperatura, en los niveles temperatura ambiente 25°C y 100°C (controlado en estufa de circulación); y b) Radiación no ionizante, en los niveles de exposición a la luz ultravioleta de 360 y 254 nm. También se evaluó la respuesta en condiciones de estrés de soluciones de AMX, mediante la exposición en condiciones ambientales de 25°C y exposición a radiación solar en solución reguladora a pH 5,0 luego de 7 días de su preparación. Los espectros de los picos de degradación fueron comparados mediante espectrofotometría UV VIS con el de la de la AMX SR, a través de gráficos de isoabsorbancia y tridimensionales.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al estudiar el comportamiento espectral de la AMX SR se obtuvo máximos de absorción a los 198, 230, 259 y 271nm (Figura N°1). El valor de 230 nm se seleccionó para la cuantificación y con una absorbancia de referencia a los 400nm, datos que concuerdan con los obtenidos del material bibliográfico.[4, 11].

Al comparar el método de Shakoore *et al.* (método 1) y método 1 modificado, con el método propuesto por la USP edic. XXIV, tabla N°1, se observa que al modificar la composición de la fase móvil se disminuye el tiempo de retención a 6,9 min.

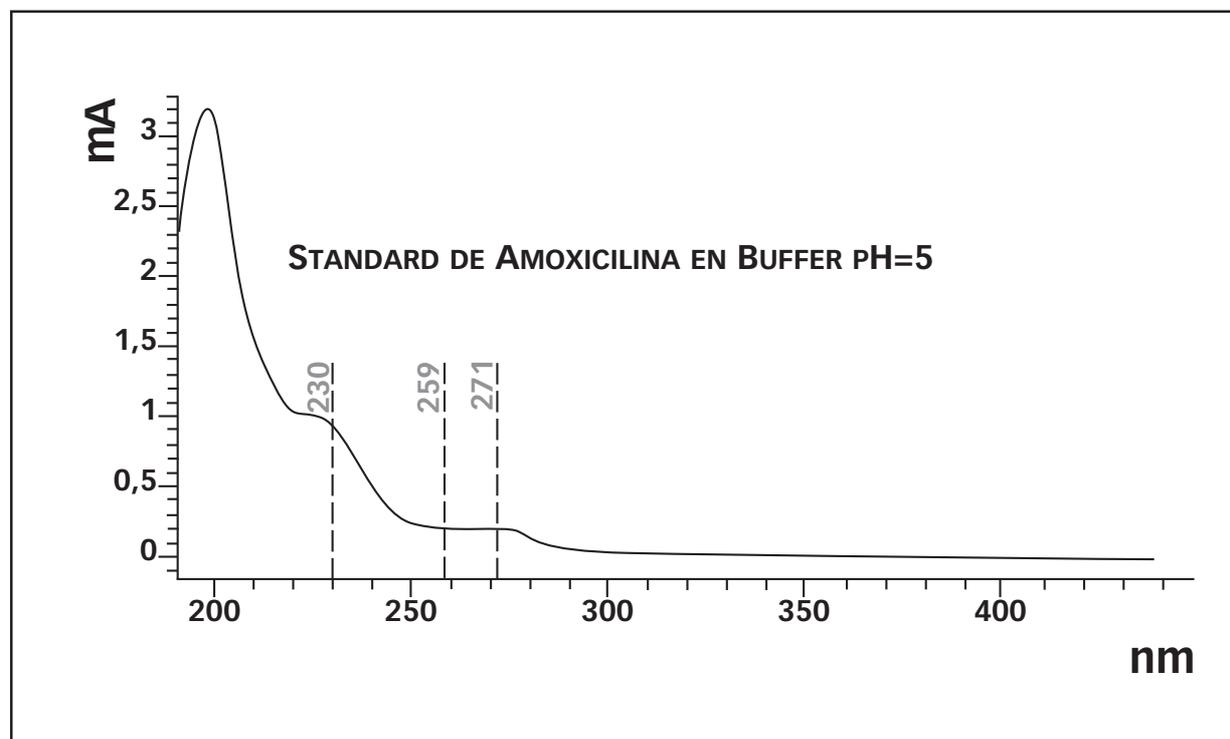


FIGURA 1: Espectro de absorción ultravioleta. Concentración 0,1%.

Si bien se logra mejorar los tiempos, no ocurre lo mismo con la difusión y la simetría de los picos, resultando inaceptable para la cuantificación de AMX en presencia de sus impurezas orgánicas relacionadas.

Con el Metodo USP (método 2), se logró eficiencia semejante a la obtenida por el método 1 logrando alturas de plato teórico comprendidas entre 4500 y 6800. El factor de capacidad y la resolución obtenida con la columna de fase reversa de C18 se encuentran dentro de los valores requeridos por la USP en relación a la aptitud del sistema, ver Tabla N°2.

La filtración de las muestras y solventes tanto como el control del pH del buffer constituyen pasos importantes en la separación y en particular en el presente trabajo, uno de los puntos críticos se relaciona con el diámetro de poro de la membrana filtrante, pues se observó un aumento de la presión del sistema y hasta la obstrucción de capilares con membranas de diámetro mayores a los de 0,22  $\mu\text{m}$ .

El pH de la fase móvil también mostró diferencias importantes entre los diferentes métodos, así en el caso del buffer de pH=7 se observó un fuerte coleo con la consiguiente deficiencia en la asimetría de pico. Este efecto no fue observado para el buffer a pH=5. Esto podría explicarse por la coexistencia de distintas especies de amoxicilina presentes en el buffer a pH=7 mientras que a pH=5 las mismas se desplazan hacia una forma preponderante mejorando la calidad del eluido. Además a pH=5 se mejora la estabilidad del fármaco permitiendo realizar la separación en un mayor período de tiempo luego de haber preparado la muestra.

#### Validación Interna del Método

##### Exactitud

En la experiencia de recuperación se inyectó una masa de AMX entre los 10 y 25  $\mu\text{g}$ , correspondiente a la zona de máxima precisión en áreas para el método propuesto en este trabajo.

**Tabla 1:** Comparación de métodos. Método 1: propuesto por Shakoor *et al.* Método 2: USP 24 edic.

Variables Cromatográficas	Método 1 (3% Metanol)	Método 1 (13% Metanol) modificado	Método 2	Requisitos según USP 24 Ed
Factor de Capacidad	4,22	1,01	1,14	1,1 - 2,8
Eficiencia	3131	5312	5279	May 1750
Simetría de pico	0,29	0,48	2,50	*mayor 2,5

**Tabla 2:** Optimización de las condiciones cromatográficas; Columna en fase reversa de C18, modificación del flujo de la fase móvil.

Variables cromatográficas	Flujo ml/min		
	0.4	0.7	1.5
Factor de capacidad	4.22	1.15	-
Eficiencia	3131	5217	4468
Resolución	16.96	3.64	0.62

**Tabla 3:** Experiencia de Recuperación

% Agregado de AMX-SR	% Recuperado		
50%	103,00	100,15	98,43
100%	97,32	97,26	98,30
150%	97,94	97,40	99,15
		n=9	98,77%
		S=	1,85
		DSR=	1,87

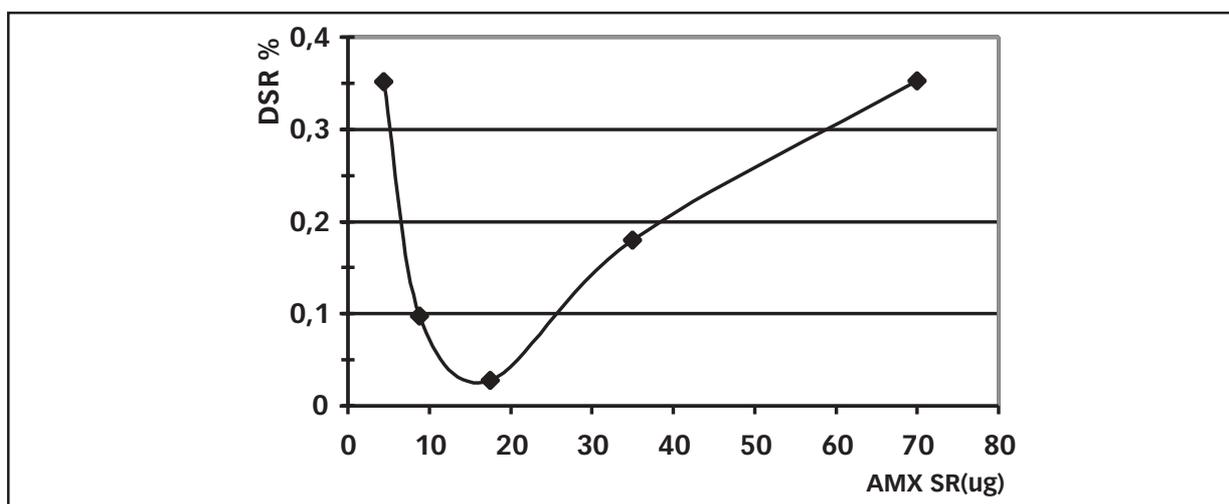
Referencias: del análisis estadístico (t experimental de 1,97; t para  $\gamma$ :8 y  $\alpha$ :0,05 fué de 2,306) surge que no existe diferencias significativas entre la recuperación obtenida en las experiencias (98,77%) y el 100% de recuperación esperado.

Los resultados obtenidos para los diferentes porcentajes de estándar agregados se analizaron según el trabajo de Hoffman F- La Riche [11], como se expresan en la tabla N° 3, lográndose una recuperación superior al 98%.

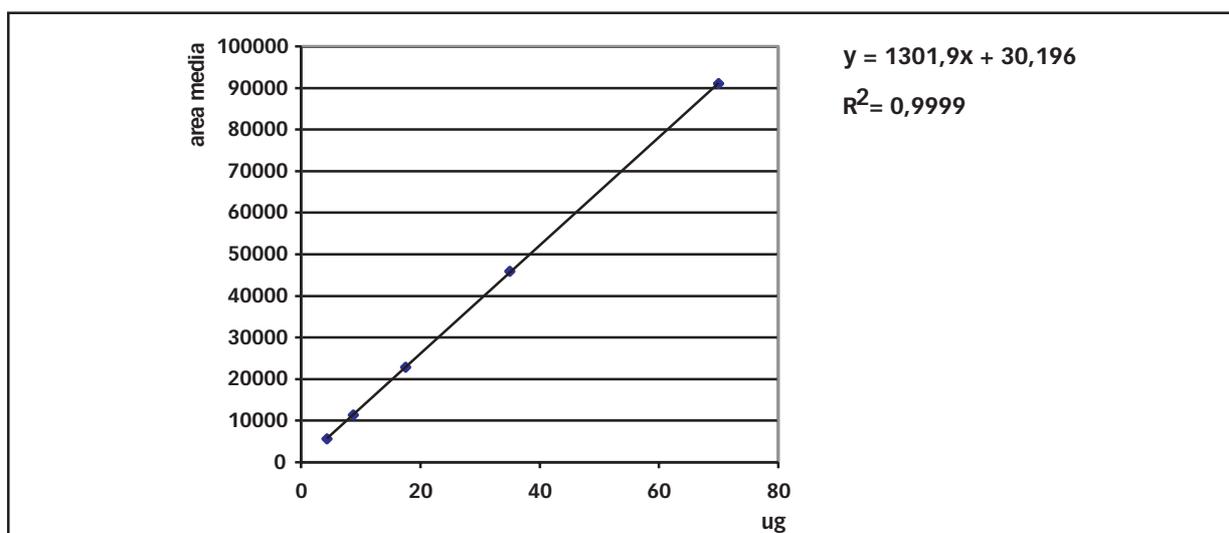
### Precisión

Del análisis de los resultados se obtuvo un desvío estándar relativo porcentual (DSR%) de 0,74 para el tiempo de retención y de 0,91% para una masa inyectada de AMX SR de 17,5ug. En referencia a la precisión del sistema, para una inyección de AMX SR de 17,5ug, el desvío estándar relativo para el tiempo de retención fue de 0,24 % y de 1,74 % en función de masa analizada. El perfil de precisión (Figura N° 2), muestra la dispersión porcentual del DSR para los diferentes niveles de calibración analizados.

Los resultados obtenidos indican un nivel satisfactorio de precisión del método en la región de masa inyectada de 10 y 25 ug con un mínimo de dispersión en los 16ug, correspondiente a la cantidad de AMX sugerida a inyectar en las condiciones propuestas en este trabajo. Los resultados concuerdan con los fenómenos de ensanchamiento de banda, y consecuente incremento en la dispersión de las áreas de picos eluidos para volúmenes extremos en los niveles de calibración, el máximo volumen de inyección permisible dependerá a su vez de la eficiencia de la columna, su radio y longitud, no recomendándose inyectar volúmenes que superen los 17ul en columnas convencionales. No obstante en el presente trabajo es factible hasta un incremento cercano al 120% de la masa inyectada con DSR menor a 0,2%, lo que es explicado por la menor dispersión de banda que ocurre al solubilizar los componentes en un solvente débil como



**FIGURA 2:** Perfil de Precisión. Referencias: se observa una máxima precisión (% DSR menor a 0,05%) para inyecciones entre 14 y 16  $\mu$ g de AMX SR ( $n=4$ ).



**FIGURA 3:** Curva estándar media de calibración de amoxicilina. Referencias: sustancia de referencia ( $n=4$ ). Columna Lichrospher RP 100 18 e. Fase móvil: 0,68% buffer fosfato a pH5, modificador acetonitrilo al 2,5%. Flujo : 0,7 ml/min a 230 nm.

agua o buffer, pues determina su concentración en la cabeza de columna previa a la elución con la fase móvil [11], que, sumado a la eliminación de la imprecisión debida al operador por el uso del sistema autoinyector, resulta en una elevada repetibilidad y reproducibilidad del sistema de análisis [13].

#### Linealidad

Al estudiar los cinco niveles de calibración, por cuadruplicado, se observó un muy buen ajuste lineal ( $p=0,0001$ ), y un  $r=0,9999$ , figura N° 3. La ecuación ajustada por el método de los mínimos cuadrados fue  $y=1301,900x + 30,196$ , con un CV% de 0,3969% para el valor de pendiente y un DS de 64 unidades de área para la ordenada al origen.

El método mostró un excelente comportamiento lineal en el rango de masas de 4,4 a 70 mg de AMX, permitiendo cuantificar con gran precisión en las formas farmacéuticas estudiadas, ajustadas a las concentraciones definidas en la preparación de muestras.

#### Sensibilidad

Los límites de detección operativo y de cuantificación se estimaron considerando la curva de regresión obtenida del ensayo de linealidad  $y=1301,9x + 30,196$ . Se tomaron tres masas comprendidas entre 0,04 mg y 1,7 mg y se ensayaron por duplicado. La respuesta a concentración cero fue  $y_{bl}=32,409$ . Para determinar el desvío estándar a concentración cero se determinó la curva de regresión de la concentración versus el desvío

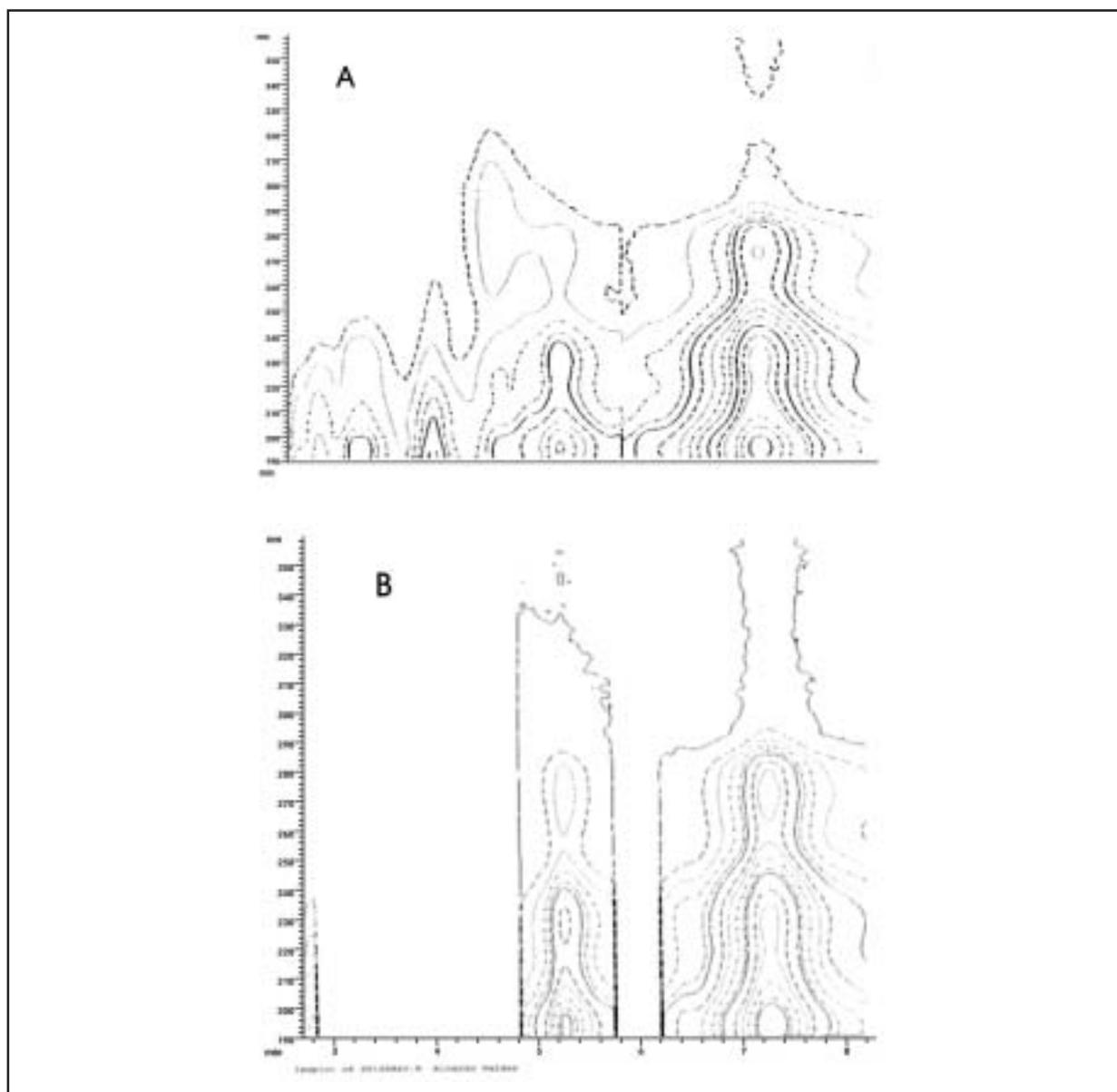


FIGURA 4: AMX SR. Referencias: topogramas de isoabsorción: A: 100°C durante 5 horas B: 3 tres días a temperatura ambiente.

estándar de cada una de las masas. La recta calculada fue  $y = -19,727x + 28,337$ . El desvío del estándar del blanco,  $S_b = 28,337$ .

De los datos obtenidos se determinó el límite de detección operativo correspondiendo a un valor de  $0,33 \mu\text{g}$  y el límite de cuantificación de  $1 \mu\text{g}$ . La sensibilidad de calibración del método fue de  $1302 \text{ unid área}/\mu\text{g}$  de AMX, y la sensibilidad analítica de  $251 \text{ unidades de área}$ .

### Especificidad

La AMX sometida a estrés térmico mostró resultados significativos, con una mayor degradación del pico de interés, y con el consecuente aumento de los productos

de degradación a elevadas temperaturas ( $100^\circ\text{C}$ ), mientras que a temperatura ambiente no se observó diferencias de alteración durante el período de tiempo estudiado y en ausencia de radiación, ver Figura N°4.

La acción deletérea de la radiación ultravioleta fue puesta de manifiesto por la aparición de numerosos picos de degradación de AMX tras su incubación a  $254 \text{ nm}$ , y con una alteración ligeramente menor a  $360 \text{ nm}$  después de incubar la AMX SR durante 5 horas a temperatura ambiente, ver Figura N°5.

En todos los picos se observó un comportamiento espectral semejante, con máximos a  $230, 259, \text{ y } 271 \text{ nm}$ , comparables con los indicados en el protocolo de la sus-

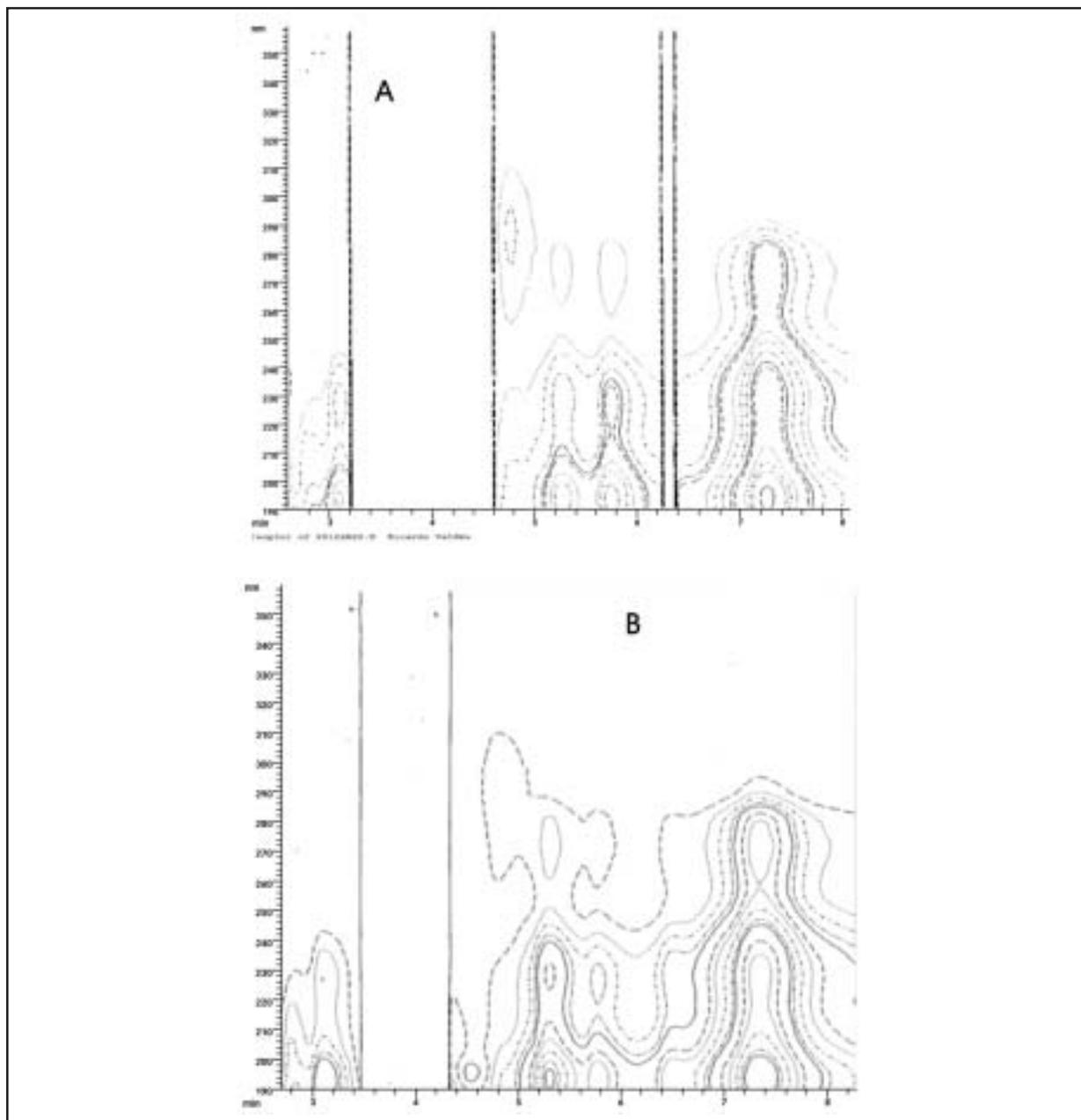


FIGURA 5: Topogramas de isoabsorción. Referencias: A: degradación a  $360 \text{ nm}$  durante 5 horas, B: degradación a  $254 \text{ nm}$ .

tancia de referencia nacional (INaMe) para la amoxicilina estándar, la semejanza espectral es explicada por las pequeñas diferencias estructurales entre los derivados químicos de la AMX, que sin embargo son eficientemente resueltos por el sistema cromatográfico. La pureza de pico se determinó usando detección PDA por comparación de los espectros eluidos. La amoxicilina estándar y la amoxicilina luego de la degradación dieron una pureza de 1.

En las condiciones del método optimizado se observó la elución de los componentes de degradación en los diferentes factores y niveles evaluados en el estudio de especificidad a valores de  $k'$  menores que la AMX, según se observa en la Figura N°6, y en concordancia con los resultados obtenidos por otros autores [3, 11].

Se procesaron muestras de diferentes laboratorios y con distintas fecha de vencimiento, cumpliendo las mis-

mas con los requisitos de valoración. Los análisis efectuados a la primer muestra, Tabla N° 4, indican que la cantidad de amoxicilina se encuentra en el límite inferior de las especificaciones farmacopeicas, faltando 3 meses aún para la fecha de vencimiento.

## CONCLUSIÓN

La nueva edición de la Farmacopea Argentina (año 2000) ha publicado su primer volumen que comprende ensayos generales. La ediciones anteriores no contemplan monografías para el control de calidad de formas farmacéuticas. Las farmacopeas de referencia internacional codifican para el control de calidad de amoxicilina en formas farmacéuticas métodos por cromatografía líquida de alta performance.

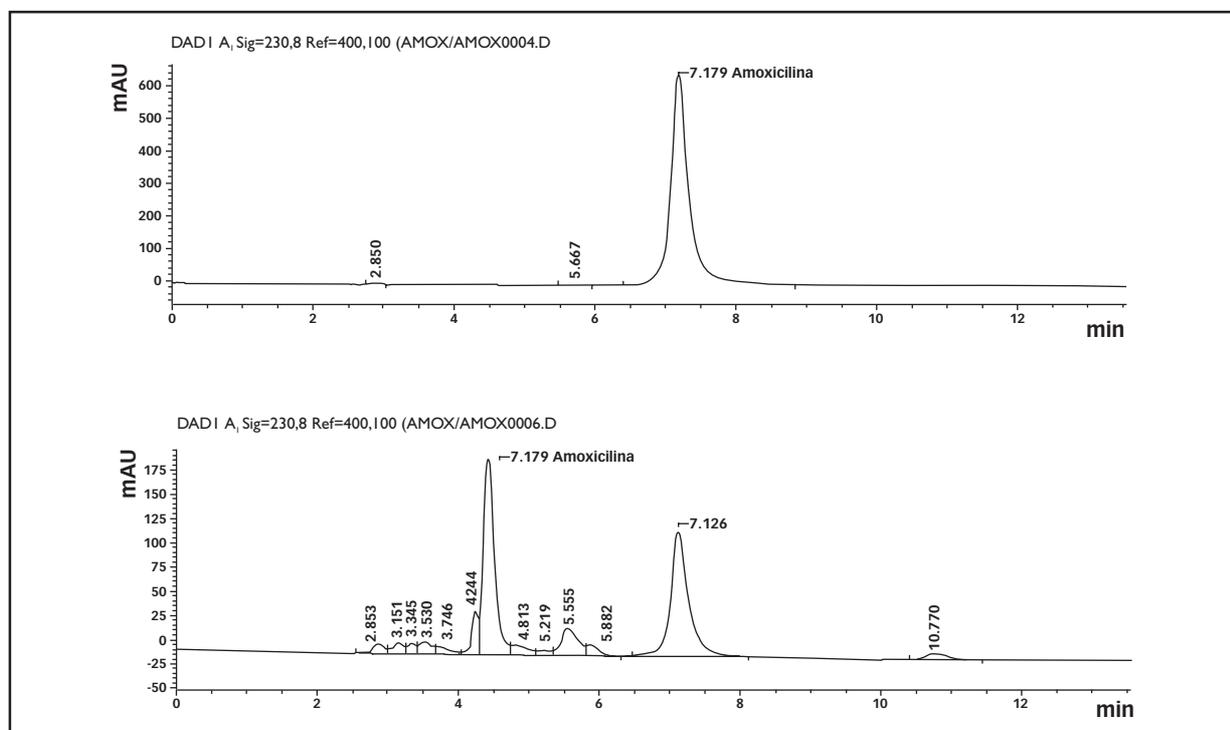


FIGURA 6: Separación de AMX - SR por el Método Optimizado. Referencias: en el cromatograma (A) se observa la separación de AMX SR Lichrospher RP100, con Buffer Fosfatos pH=5,0. En (B) la separación de AMX SR sometida a 100°C durante 300 min.

Tabla 4: Análisis de comprimidos del mercado

Producto	Fecha de análisis Fecha de vencimiento	Muestras Ensayadas	Porcentaje con respecto a la dosis declarada
Laboratorio A-comprimidos AMX 500mg	Enero 02 Abril 03	5	90.0%
Laboratorio B -comprimidos con cobertura AMX 500mg	Diciembre 02 Julio 03	5	96.0%

Referencias: Requerimientos de la Farmacopea de Estados Unidos indican que debe contener no menos del 90 y no más del 120 % de la cantidad declarada.

En nuestro país la grave situación socioeconómica hace que sea difícil contar con la totalidad de los insumos requeridos en los métodos codificados en Farmacopeas, pero la necesidad de disponer de medicamentos que cumplan los requisitos de calidad, hace imprescindible la adaptación de métodos con la consecuente validación.

La situación geográfica de la Provincia de Misiones en relación a la peculiaridad de las condiciones climáticas y considerando las características de estabilidad de la amoxicilina, hace necesario evaluar su comportamiento durante el período de postcomercialización a los efectos de evitar efectos negativos en la salud de la población ante la posibilidad de dosis subterapéuticas.

El método desarrollado permite cuantificar amoxicilina en formas farmacéuticas sólidas orales en presencia impurezas orgánicas relacionadas y ofrece la alternativa de utilizar una columna convencional, mediante condiciones isocráticas.

## AGRADECIMIENTO

Al Director de la Dirección Criminalística de la Policía de la Provincia de Misiones Comisario General Carlos Soarez, por haber permitido la utilización del equipamiento para la realización del trabajo.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

### 1. Litter, M.

*Farmacología Experimental y Clínica*. El Ateneo. Séptima edición, p. 1460-1471, 1988.

### 2. Connors, K. A.

*Chemical stability of pharmaceuticals*. Segunda edición, p.: 182:192, 1986.

### 3. Shakoore, O.; Taylor, R. B.; Moody, R. R.

*Analysis of amoxicillin in capsules and oral suspensions by high-performance liquid chromatography*. Analyst, 120 [8], 2191-4 (English) 1995.

4. United States Pharmacopeial Convention USP XXIV: United States Pharmacopeia. 24a. ed. 2000.

### 5. Hossain, M. G.; Rafiquzzaman, M. D.; Hoque, M. M.

*Quality and stability studies of marketed antibiotic dry syrups In Bangladesh-amoxicillin: a case study* Indian Drugs, 36(8), 529-530 (English) 1999.

### 6. Zarpakar, S. S.; Halkar, U. P.; Rane, S. H.

*Reverse phase high-performance liquid chromatographic determination of amoxicillin, probenecid and tinidazole in tablets*. Indian Drugs, 36(3), 181-184, (English) 1999.

### 7. El-Shanawani, A. A.

*HPLC analysis of clavulanic acid, amoxicillin, ticarcillin and their related substances in vials, tablets and suspensions*. Acta Pol. Pharm., 55 [1], 15-19. 1998.

### 8. Valvo, L.; Ciranni, E.; Alimenti, R.; Alimonti, S.; Draisci, R.; Giannetti, L.; Lucentini, L.

*Development of a simple liquid chromatographic method with UV and mass spectrometric detection for the separation of substances related to amoxicillin sodium*. J. Chromatogr., A, 797(1 + 2), 311-316 (English) 1998.

### 9. Zarpakar, S. S.; Kolte, S. S.; Bhandari, N. P.

*High performance liquid chromatographic determination of amoxicillin trihydrate and probenecid simultaneously from pharmaceutical preparation*. Indian Drugs, 35(2), 107-109 (English) 1998.

10. *Statistical validation: Quantitative determination (General Explanations)*.

Basle: Hoffman F. La Roche, 1-9. 1987.

11. *Protocolo de Sustancia de Referencia para Ensayos Físico-Químico. Amoxicilina*. INAME. Argentina.

### 12. Castillo Aguilar, B.; Gonzalez Hernández, R.

*Protocolo de validación de métodos analíticos para la cuantificación de fármacos*. Rev Cubana Farm: 30(1). 1997.

### 13. Quattrochi O. A.; De Andrizzi, S. A.; Laba, L. F.

*Introducción a la HPLC: aplicación y práctica*. Buenos Aires, Artes Gráficas Farro, 39-63. 1992.

Recibido: 19 de Febrero de 2004.

Aprobado: 06 de Septiembre de 2004.