

INSTITUTO NACIONAL DE MEDICAMENTOS (INAME)
FARMACOPEA ARGENTINA

AV. CASEROS 2161

1264 BUENOS AIRES
REPÚBLICA ARGENTINA

FAX 5411-4340-0853

AMOXICILINA

Sustancia de Referencia para Ensayos Físico - Químicos
(Control N° 114017)

Trihidrato del ácido [2S-[2 α ,5 α ,6 β (S*)]]-6-[[amino(4-hidroxifenil)acetil]amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-tia-1-azabiciclo[3.2.0] heptano-2-carboxílico

C₁₆H₁₉N₃O₅S. 3H₂O

P. Mol.: 419,5

Descripción: polvo blanco cristalino.

Espectro de absorción infrarrojo:

Sustancia tal cual.

Equipo: espectrómetro FT-IR Perkin Elmer, modelo Spectrum Two.
Disco de KBr.

Concentración: aproximadamente 1 mg en 100 mg de KBr.
(Ver espectro adjunto).

Contenido de agua: 13,33 % (Determinaciones efectuadas: 8; desviación estándar: 0,093 %).

Determinado por coulombimetría.
Equipo: coulombímetro Metrohm, modelo Titrando 851.

pH: 5,0.

Determinado en solución al 0,2 %, P/V, en agua libre de dióxido de carbono.
Equipo: Metrohm, modelo 716 DMS Titrino.

Espectro de absorción ultravioleta:

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

Concentración de las soluciones, en solución de ácido clorhídrico 0,1 N.

A: 0,004 %, P/V.

B: 0,035 %, P/V.

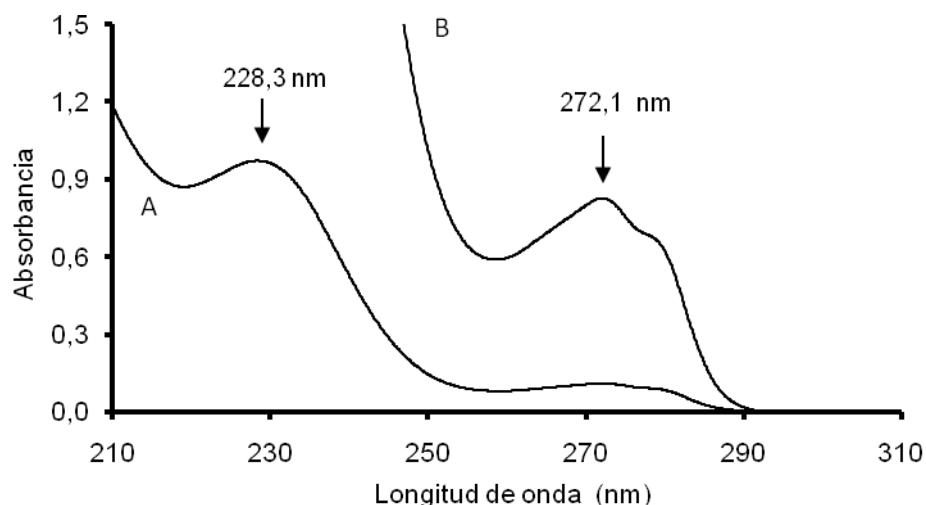
Blanco: solución de ácido clorhídrico 0,1 N.

Cubetas de 1 cm de paso óptico.

Slit: 1

Barrido U.V. entre 210 y 310 nm, efectuado con velocidad lenta.

Equipo: espectrofotómetro Shimadzu, modelo UV - 2101PC.



Absorbancia:

Concentración de las soluciones, disolvente, cubetas, slit, equipo, y precauciones ídem espectro de absorción ultravioleta.

Concentración de la solución: 0,004 %, P/V.

λ : 228,3 nm

A = 0,907 (Determinaciones efectuadas: 7; desviación estándar: 0,006).

Concentración de la solución: 0,035 %, P/V.

λ : 272,1 nm

A = 0,898 (Determinaciones efectuadas: 7; desviación estándar: 0,008).

Rotación óptica específica: $[\alpha]_{20}^{\circ} \text{C}$, D = + 298,4° (Determinaciones efectuadas:

7; coeficiente de variación: 0,90 %).

Concentración de la solución: 0,15 %, P/V, en agua .

Equipo: Polarímetro Anton Paar MCP 300 .

Límite de dimetilanilina:

Equipo: cromatógrafo gaseoso Shimadzu, modelo GC FID/MASAS QP 2010 Ultra.

Inyector automático: AOC 20i Shimadzu.

Detector: FID

Procesador de datos: GCSolution.

Columna: Zebron Phase ZB-WAX-Phenomenex, longitud: 30 m; diámetro interno: 0.32 mm; diámetro de partícula: 0.25 μm .

Fase estacionaria: polietilenglicol.

Gas estacionaria: p_0

Velocidad lineal: 35 cm/ seq.

Velocidad final es en

Relación de epít. 10.11. Temperaturas:

Temperaturas. Inyect

Injector: 200 °C
Detector: 260 °C

Detector: 200 °C.
Horno: inicial a 100 °C.

Horno: - Iniciar a 100 °C, incremento a 15 °C /minuto hasta 145 °C, de 145 °C a 25 °C /minuto hasta 220 °C

- de 145 °C a 25 °C /minuto hasta 220 °C, mantener a 220 °C durante 1 minuto.

- mantener a 220 °C durante 1 minuto.

Preparación del estandar interno: se pesan exactamente alrededor de 2,5 mg de bifenilo y se transfiere a un matraz aforado de 50 ml. Se disuelven con ciclohexano y se llevan a volumen con el mismo disolvente.

Preparación de la solución estándar de dimetilanilina: se pesan exactamente alrededor de 50,0 mg de N,N dimetilanilina y se transfieren a un matraz aforado de 50 ml. Se agregan 25 ml de ácido clorhídrico 1 N y se agita por rotación hasta disolución. Se lleva a volumen con agua y se mezcla. Se transfieren 5,0 ml de la solución resultante a un matraz aforado de 250 ml, se lleva a volumen con agua y se mezcla. Posteriormente 1,0 ml de esta solución se coloca en un tubo de centrífuga, se agregan 5,0 ml de hidróxido de sodio 1 N y 1,0 ml de solución de estándar interno, se agita vigorosamente durante 1 minuto y se centrifuga. Se emplea la solución sobrenadante (0,002 %).

Preparación de la solución muestra: se pesan exactamente alrededor de 1,0 g de Amoxicilina, se transfieren a un tubo de centrífuga, se agregan 5 ml de hidróxido de sodio 1 N y se agita hasta disolución. Se agrega 1,0 ml de solución de estándar interno, se agita vigorosamente durante 1 minuto y se centrifuga. Se emplea la solución sobrenadante.

Volumen de inyección para todas las soluciones: 1 μ l.

Resultado: no se detecta dimetilanilina en la muestra.

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 LabSolution.

Columna: Phenomenex Luna C18 (2) 100 Å; longitud: 25,0 cm; diámetro interno: 4,6 mm; diámetro de partícula: 5 µm.

Longitud de onda: 254 nm.

Temperatura: 30 °C.

Fase móvil: Solución A: solución de fosfato diácido de potasio 0,2 M pH 5 - acetonitrilo (99:1).

Solución B: solución de fosfato diácido de potasio 0,2 M pH 5 - acetonitrilo (80:20).

Preparación de la solución de fosfato diácido de potasio 0,2 M pH 5: 13,6 g de fosfato diácido de potasio se disuelven en 500 ml de agua bidestilada, se ajusta el pH a $5,0 \pm 0,1$ con solución de hidróxido de sodio 1N y se completa el volumen a 2000 ml.

Flujo: 1 ml/minuto

Condición de la corrida: gradiente.

Programa de gradiente en función del tiempo:		
minutos	% A (V/V)	% B (V/V)
0-13	92	8
13-38	92 → 0	8 → 100
38-53	0	100
53-72	92	8

Disolvente de la muestra: solución de fosfato diácido de potasio 0,2 M pH 5 - acetonitrilo (95: 5).

Muestra: Amoxicilina.

Concentración de la muestra: 1,5 mg/ml.

Preparación de la solución muestra: se pesan exactamente alrededor de 37,5 mg de amoxicilina, se transfieren a un matraz aforado de 25 ml, se lleva a volumen con disolvente y se sonica durante 10 minutos.

Solución de referencia: solución diluida de amoxicilina.

Concentración de la solución de referencia: 0,015 mg/ml.

Volumen inyectado: 50 µl.

Resultado: se detecta la presencia de treinta y dos impurezas.

Tiempo de retención minutos	% de área respecto de la solución de referencia
2,8	0,096
3,2	0,010
5,2	0,006
7,0	0,078
8,2	0,007
8,9	pico principal
10,2	0,026
14,5	0,062
16,0	0,058
17,3	0,048
24,4	0,127
24,8	0,016
26,2	0,048
26,9	0,030
28,0	0,008
29,5	0,068
29,8	0,023
30,5	0,006
31,3	0,025
31,9	0,059
33,4	0,010
34,1	0,048
34,5	0,025
34,7	0,152
35,5	0,027
36,4	0,033

38,2	0,014
38,6	0,009
38,7	0,022
40,0	0,004
40,8	0,004
41,4	0,007
44,9	0,014

Impurezas totales estimadas: 1,17 %.

Valoración por cromatografía líquida de alta eficacia: 99,8 %, (expresado sobre la sustancia anhidra; determinaciones efectuadas: 5; coeficiente de variación: 0,46 %).

Equipo, columna, longitud de onda, temperatura, flujo, Solución A, Solución B, volumen inyectado y disolvente, ídem "Estimación de impurezas presentes por cromatografía líquida de alta eficacia".

Fase móvil: Solución A - Solución B (92:8).

Estándar: Amoxicilina USP Reference Standard, lote LOK 359, título: 86,6 µg/mg.

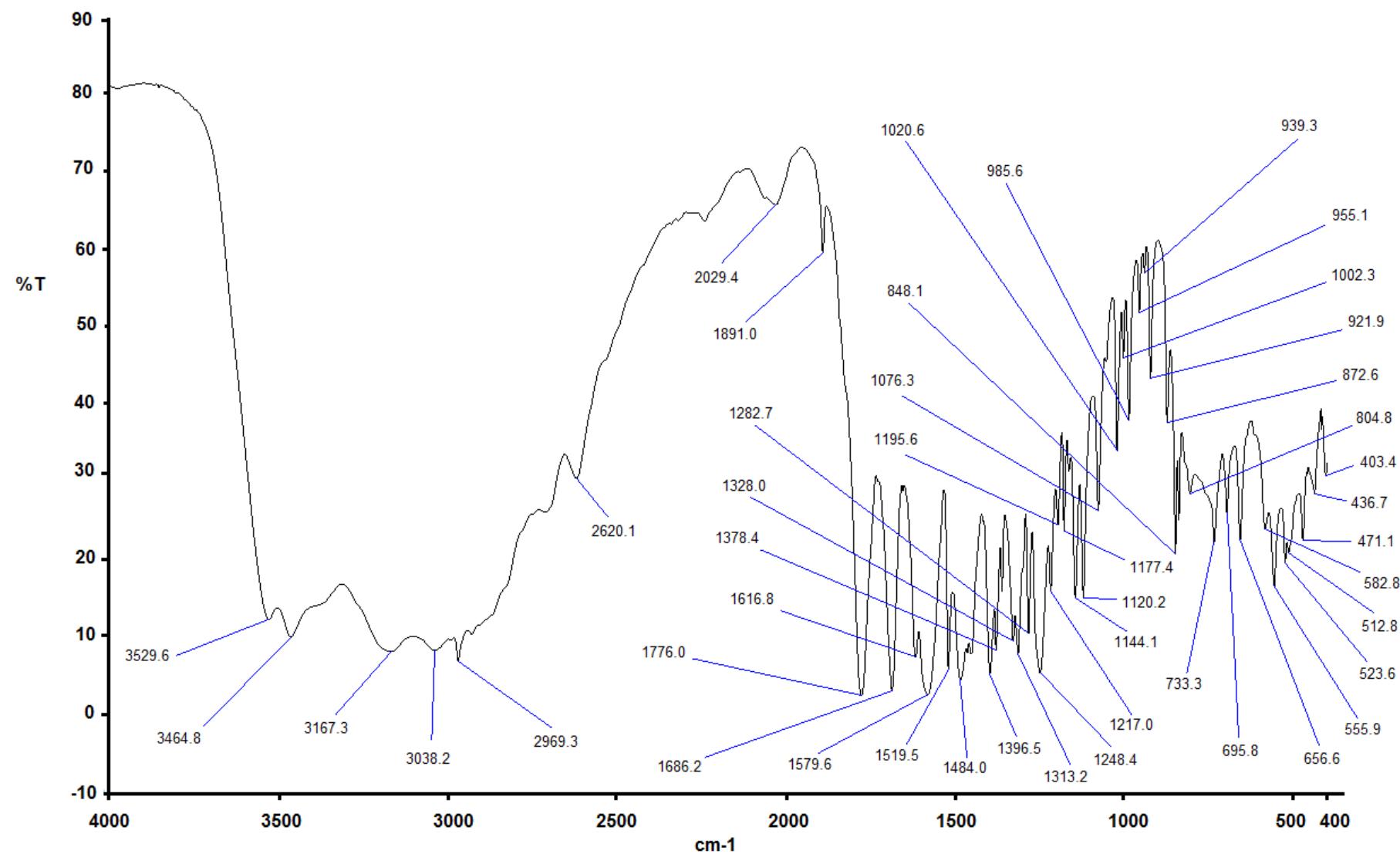
Concentración de las soluciones de muestra y de estándar: 0,6 mg/ml.

Preparación de la soluciones de muestra: se pesan exactamente alrededor de 30 mg de Amoxicilina, se transfieren a un matraz aforado de 50 ml, se llevan a volumen con el disolvente y se agitan en agitador magnético durante 7 minutos.

Preparación de las soluciones de estándar: se pesan exactamente alrededor de 15 mg de Amoxicilina, se transfieren a un matraz aforado de 25 ml, se llevan a volumen con el disolvente y se agitan en agitador magnético durante 7 minutos.

Precauciones: durante todo el procedimiento, 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 6 °C ± 2 °C.



Amoxicilina trihidrato – Sustancia de Referencia Farmacopea Argentina