

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

METODOLOGIA ANALITICA

MA-1

DESCRIPCIÓN:

Inspección visual.

- a) Antes de reconstituir : polvo de color blanco a amarillento, homogéneo.
- b) Después de reconstituir : suspensión de color blanco a amarillento, homogéneo.

IDENTIFICACIÓN (HPLC)

Los tiempos de retención de los principales picos en el cromatograma de la muestra deben corresponderse con los tiempos de retención de los picos principales en el cromatograma del estándar obtenido en el ensayo de valoración de Amoxicilina y Ácido Clavulánico.

VALORACIÓN DE AMOXICILINA Y ACIDO CLAVULANICO (HPLC)

Preparación del buffer fosfato pH 4,4: Disolver 7,8 g de fosfato de sodio monobásico (NaH_2PO_4) en 900 ml de agua ultrapurificada, ajustar el pH a 4,4 ($\pm 0,1$) con solución de hidróxido de sodio 10 N. completar a volumen de 1000 ml con agua ultrapurificada y homogeneizar.

Preparación de la fase móvil: Preparar una solución compuesta de una mezcla de Buffer fosfato pH 4,4 y Metanol grado HPLC, en proporción (95: 5, v/v). Homogeneizar, filtrar por membrana 0,45 μm y desgasificar.

Preparación de los estándares

Estándar 1: Pesar analíticamente alrededor de 27,0 mg de clavulanato de potasio estándar de referencia y transferir a un matraz volumétrico de 50 mL. Adicionar cerca de 30 mL de agua ultrapurificada y colocar en baño de ultrasonido hasta completa solubilización. Esperar enfriar, si es necesario, completar el volumen con agua ultrapurificada y homogeneizar. (Matraz 1).

En otro matraz volumétrico de 50 mL pesar, analíticamente, cerca de 40,0 mg de Amoxicilina trihidrato estándar de referencia. Adicionar cerca de 30 mL de agua ultrapurificada y solubilizar en ultrasonido por cerca de 5 minutos. Esperar enfriar, si es necesario, completar el volumen con agua ultrapurificada y homogeneizar. (Matraz 2).

Pipetear volumétricamente 5,0 mL de matraz 1 y 10,0 mL de matraz 2 y transferir a un matraz volumétrico de 20 mL (ambos en el mismo matraz). Completar el volumen con agua ultrapurificada. Homogeneizar y filtrar a través de membrana de 0.45 μm .

Estándar 2: Pesar analíticamente alrededor de 40,0 mg de clavulanato de potasio estándar de referencia y transferir a un matraz volumétrico de 50 mL. Adicionar cerca de 30 mL de agua ultrapurificada y colocar en baño de ultrasonido hasta completa solubilización. Esperar enfriar, si es necesario, completar el volumen con agua ultrapurificada y homogeneizar. (Matraz 1).

En otro matraz volumétrico de 50 mL pesar, analíticamente, cerca de 60,0 mg de Amoxicilina trihidrato estándar de referencia. Adicionar cerca de 30 mL de agua ultrapurificada y solubilizar en ultrasonido por cerca de 5 minutos. Esperar enfriar, si es necesario, completar el volumen con agua ultrapurificada y homogeneizar. (Matraz 2).

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

MA-2

Pipetear volumétricamente 5,0 mL de matraz 1 y 10,0 mL de matraz 2 y transferir a un matraz volumétrico de 20 mL (ambos en el mismo matraz). Completar el volumen con agua ultrapurificada. Homogeneizar y filtrar a través de membrana de 0.45 μ m.

Preparación de la muestra (por duplicado): Reconstituir el producto conforme a lo descrito: Adicionar aproximadamente 30 mL de agua ultrapurificada en el frasco y homogeneizar hasta resuspender. En seguida, transferir el contenido del frasco a una probeta de 100 mL con tapa. Lavar el frasco varias veces con pequeñas porciones de agua ultrapurificada y transferir a la probeta hasta que esta halla alcanzado un volumen de 70 mL. Transferir el contenido de la probeta a un vaso precipitado. Pesar 3 mL de muestra y transferir a un matraz volumétrico de 500 mL. Adicionar alrededor de 400 mL de agua ultrapurificada y solubilizar en el ultrasonido durante 10 minutos. Esperar que la solución alcance la temperatura ambiente y completar a volumen con agua ultrapurificada y homogeneizar. Homogeneizar y filtrar por membrana de 0.45 μ m.

Observación: utilizar esta solución en un período de 1 hora.

Condiciones Cromatográficas:

Columna: Hypersil BDS . C18 (250 x 4,6 mm; 5 μ m)

Detección: 220 nm, bw4: Ref.Off

Flujo: 1,3 mL / minuto

Volumen de Inyección: 10 μ L

Temperatura: 25 °C

Tiempo de retención de Ácido Clavulánico = aproximadamente 3,7 minutos

Tiempo de retención de Amoxicilina = aproximadamente 6,2 minutos

Tiempo análisis = 10 minutos

Tiempo de estabilización del sistema

Acondicionar la columna con fase móvil por aproximadamente 30 minutos.

Verificar la estabilidad a través de la línea base.

Adecuación del sistema.

Injectar cada estándar 3 veces.

Calcular el RSD (Desviación Relativa Estándar) para los factores de respuesta (RF_o) de las áreas y tiempos de retención.

El RSD deberá ser \leq 2,0 %. El factor de correlación deberá ser \geq 0,995.

En el caso de que el RSD > 2,0% re-evaluar las condiciones del equipamiento y / o preparar una nueva solución estándar e injectarla nuevamente.

Procedimiento:

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

Inyectar la solución muestra (mínimo de 2 inyecciones) y registrar el área de los picos de interés.

MA-3

Cálculo

Valoración de Amoxicilina

$$\frac{AA \times mP \times Pot \times 10 \times 500 \times D \times 5}{AP \times 50 \times 20 \times mA} = \text{mg de Amoxicilina} / 5 \text{ mL}$$

Concentración del estándar (Cp)

$$\frac{mP \times Pot \times 10}{50 \times 20}$$

Factor de multiplicación de la muestra (Fx)

$$\frac{500 \times D \times 5}{mA}$$

Donde:

AA= Área del pico de Amoxicilina en el cromatograma de la muestra

AP = Área promedio del pico de Amoxicilina en el cromatograma del estándar

mP = Peso del estándar en mg

Pot = Potencia del estándar base anhidra en decimal

mA = Peso de la muestra en g

D = Densidad de la muestra a 25°C en g/mL

5 = Para expresar el resultado en 5 mL

Cálculo

Valoración de Ácido Clavulánico / cp

$$\frac{AA \times mP \times Pot \times 5 \times 500 \times D \times 5}{AP \times 50 \times 20 \times mA} = \text{mg de Ácido Clavulánico} / 5 \text{ mL}$$

Concentración del estándar (Cp)

$$\frac{mP \times Pot \times 5}{50 \times 20}$$

Factor de multiplicación de la muestra (Fx)

$$\frac{500 \times D \times 5}{mA}$$

Donde:

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

AA= Área del pico de Ácido Clavulánico en el cromatograma de la muestra
AP = Área promedio del pico de Ácido Clavulánico en el cromatograma del estándar
mP = Peso del estándar de clavulanato de potasio en mg
Pot = Potencia del estándar Ácido Clavulánico en decimal
mA = Peso de la muestra en g
D = Densidad de la muestra a 25°C en g/mL
5 = Para expresar el resultado en 5 mL

MA-4

PESO PROMEDIO DEL CONTENIDO:

- Batir levemente el frasco sobre una superficie rígida para remover el exceso de polvo de la tapa;
- Identificar los frascos y las tapas, respectivamente;
- Pesar los frascos individualmente en balanza analítica y registrar el peso;
- Remover todo el contenido de los frascos;
- Lavar los frascos y las tapas con agua y en seguida secar en estufa hasta remover toda el agua;
- Esperar que enfrién los frascos y pesar nuevamente con sus respectivas tapas.
- Realizar este procedimiento con 10 frascos.

Cálculo:

$P1 \cdot P2 = \text{contenido en g/frasco}$

DENSIDAD

Temperatura : 25°C

Observación: La muestra no puede contener grumos para la realización de este test. Si es necesario, colocar la muestra en un baño de ultrasonido y dejar en reposo hasta que los grumos desaparezcan.

VISCOSIDAD

Reconstituir 4 frascos de cada lote a ser analizado conforme a lo descrito:

- Adicionar aproximadamente 30 mL de agua ultrapurificada en cada uno de los frascos y homogeneizar hasta resuspender (Observación: Utilizar agitador mecánico. No utilizar agitador de astas pues este altera las características físicas de la suspensión)
- En seguida, transferir el contenido de cada uno de los 4 frascos (separadamente) a una probeta de 100 mL con tapa;
- Lavar cada uno de los frascos varias veces con pequeñas porciones de agua ultrapurificada y transferir a la probeta respectiva hasta que alcance un volumen de 70 mL;
- Transferir el contenido de la 4 probetas a un vaso precipitado de vidrio alto, de 300 mL:
- Desairear la muestra por 2 horas en baño de ultrasonido, tomando los cuidados debidos para que no se sobrecaliente la muestra;

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

- Hacer la 1ª lectura 15 minutos después de retirada la muestra del baño de ultrasonido y 2 lecturas mas (con un intervalo de 5 minutos entre cada lectura)
- Reportar el promedio de las 3 lecturas.

Parámetros:

Equipo : Brookfield DV-I

Temperatura : 25°C

Spindle : S62

Velocidad : 30 r.p.m.

* Si no consigue hacer la lectura con esta velocidad, disminuir la rotación.

MA-5

TEST DE SEDIMENTACIÓN DESPUÉS DE LA AGITACIÓN

Reconstituir 2 frascos de cada lote a ser analizado de la manera siguiente:

- Agregar aproximadamente 30 mL de agua ultrapurificada en cada uno de los frascos y homogeneizar hasta resuspender (Observación: Utilizar agitador mecánico. No utilizar agitador de astas pues este altera las características físicas de la suspensión);
- En seguida, transferir el contenido de cada frasco (separadamente) a una probeta de 100 mL con tapa;
- Lavar cada uno de los frascos varias veces con pequeñas porciones de agua ultrapurificada y transferir a la probeta respectiva hasta que esta halla alcanzado un volumen de 70 mL;
- Transferir el contenido de cada probeta a un vaso precipitado y homogeneizar con ayuda de barra magnética;
- Transferir 100 mL de muestra de los vasos precipitados a una probeta de 100 mL con tapa y dejar en reposo durante 24 horas;
- Luego de transcurridas las 24 horas, medir la cantidad de muestra que sedimentó en la probeta.
- Hacer la lectura y anotar el resultado.

Calculo

$$\text{Sedimentación} = \frac{\text{Volumen sedimentado}}{100}$$

PH (DESPUÉS DE LA RECONSTITUCIÓN)

Reconstituir el producto de la siguiente manera:

- Agregar aproximadamente 30 mL de agua ultrapurificada en un matraz y homogeneizar hasta resuspender;
- En seguida, transferir el contenido del matraz a una probeta de 100 mL con tapa;
- Lavar el matraz varias veces con pequeñas porciones de agua ultrapurificada y transferir a la probeta hasta que esta halla alcanzado un volumen de 70 mL;
- Transferir el contenido de la probeta a un vaso precipitado;
- Hacer una lectura en pH-metro adecuado de esta suspensión, inmediatamente después de la reconstitución.

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

HUMEDAD (KARL FISCHER)

Cantidad de muestra: aproximadamente 100 mg

Máximo: 11,0%

UNIFORMIDAD DE DOSIS UNITARIA

(Variación de peso)

- Pesar y registrar el peso individual de 10 frascos conteniendo el polvo (frasco + tapa) e identificar los respectivos frascos y tapas;
- Vaciar, lavar y secar los frascos y tapas en estufa a aproximadamente 60°C;

MA-6

- Dejar enfriar, pesar y registrar nuevamente el peso individual de los 10 frascos con sus respectivas tapas.

Cálculo:

$$\frac{(P_c - P_v) \times T}{PM}$$

P_c = Peso del frasco lleno en g

P_v = Peso del frasco vacío en g

P_M = Peso promedio del contenido del frasco en g

T = Cantidad de activo correspondiente al obtenido en la valoración (en %)

PRODUCTOS DE DEGRADACIÓN: (HPLC)

*Atención: Preparar la muestra y mantenerla a 15°C.
Mantener la temperatura del compartimento de inyección también a 15°C*

Preparación del buffer pH 4.0: Pesar 7,0 g de fosfato de sodio monobásico y disolver en 950 ml de agua ultrapurificada. Ajustar el pH a 4,0 (± 0,05) con ácido fosfórico diluido. Completar a volumen de 1000 mL con agua ultrapurificada y homogeneizar.

Preparación del estándar:

Solución estándar de Amoxicilina: Pesar analíticamente cerca de 38 mg de Amoxicilina trihidrato estándar de referencia a un matraz volumétrico de 100 mL. Agregar cerca de 70 mL de agua ultrapurificada y dejar en ultrasonido hasta completa disolución. Esperar que enfríe si es necesario, completar a volumen con agua ultrapurificada y homogeneizar.

Concentración aproximada Amoxicilina Base: 0,33 mg/mL

Solución estándar de clavulanato de potasio: Pesar analíticamente cerca de 57 mg de clavulanato de potasio estándar de referencia a un matraz volumétrico de 200 mL. Agregar cerca de 150 mL de agua ultrapurificada y dejar en ultrasonido hasta completa disolución. Esperar que enfríe si es necesario, completar a volumen con agua ultrapurificada y homogeneizar.

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

Concentración aproximada Ácido Clavulánico: 0,12 mg/mL

Solución estándar: Pipetear volumétricamente 20,0 mL de solución estándar de Amoxicilina y 4,0 mL de solución estándar de clavulanato de potasio a un mismo matraz volumétrico de 200 mL y completar el volumen con agua ultrapurificada. Homogeneizar, filtrar a través de membrana 0.45 μ m.

Concentración aproximada Amoxicilina Base: 0,033 mg/mL

Concentración aproximada Ácido Clavulánico: 0,0024 mg/mL

Preparación del la muestra: Pesar un frasco lleno y registrar el peso.

Transferir a un matraz volumétrico de 1000 mL, el contenido de un frasco, haciendo sucesivos lavados con agua ultrapurificada hasta obtener aproximadamente 850 mL.

MA-7

Homogeneizar y dejar en ultrasonido por 20 minutos tomando los cuidados debidos para no sobrecalentar la muestra. Esperar que la solución alcance la temperatura ambiente y completar el volumen con agua ultrapurificada.

Homogeneizar y centrifugar la muestra por 10 minutos a 3000 r.p.m.

Pipetear volumétricamente 15 mL de solución sobrenadante a un matraz volumétrico de 50 mL y completar a volumen con agua ultrapurificada.

Homogeneizar y filtrar a través de membrana de 0.45 μ m.

Secar y pesar el frasco vacío y registrar el peso

Concentración aproximada de Amoxicilina base = 1,7 mg/mL

Concentración aproximada de Ácido Clavulánico = 0,24 mg/mL

Condiciones Cromatográficas:

- Columna: symmetry Shiel RP-18, 250 x 4,6 mm - 5 μ m (Waters)
- Detección: 230 nm; bw4; ref. 500; 50 nm
- Flujo: 0,75 ml / minuto (gradiente)
- Volumen de Inyección: 10 μ l
- Temperatura: 25 °C (ambiente)
- Tiempo de retención Amoxicilina Aproximadamente 11 minutos.
- Tiempo de retención Clavulanato de potasio Aproximadamente 23 minutos.
- Tiempo de corrida: 60 minutos

Tabla de gradiente

Tiempo (minutos)	Flujo(mL/min)
0	0,75
27,9	0,75
28,0	1,25

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

Tiempo de estabilización del sistema.

Acondicionar la columna con la fase móvil aproximadamente durante 30 minutos. Verificar estabilidad a través de la línea de base.

Adecuación del sistema.

Injectar la fase móvil 2 veces, calcular el ruido e insertar el valor calculado en la tabla de eventos de integración. En la tabla de integración el área inyectada debe ser 0 y la altura inyectada debe ser el ruido calculado. Injectar la solución estándar 5 veces

Calcular el RSD (Desviación Relativa Estándar), para las repeticiones de las inyecciones.

El RSD deberá ser m3,0%.

Si el RSD es > 3,0% reevaluar las condiciones del equipamiento y/o preparar una nueva solución estándar e inyectar nuevamente.

Descartar cualquier pico referente a fase móvil o placebo.

MA-8

Procedimiento:

Injectar la solución muestra utilizando el gradiente, registrar el área del pico principal y las áreas de los picos de interés.

Preparar las muestras en duplicado

Cálculo concentración estándar Amoxicilina

$$CP = \frac{mP \times Pot \times 20}{100 \times 200}$$

Donde:

mP= Peso del estándar de Amoxicilina en mg

Pot = Potencia del estándar calculada como Amoxicilina en decimal

20, 100 y 200 = Diluciones

Cálculo del factor de respuesta de la muestra

$$FX = \frac{1000 \times 50 \times PM \times 100}{mA \times 15 \times 5600}$$

Donde:

mA= Peso de la muestra en g

5600 = Cantidad declarada de Amoxicilina en mg/frasco

PM = Peso promedio del contenido en g

15, 50, 100 y 1000 = Diluciones

Cálculo de impureza individual para Amoxicilina

$$\% \text{ de cada impureza} = \frac{A_{ii} \times CP \times fx}{\dots}$$

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

Apd

Donde:

Aii= Área de la impureza individual en el cromatograma de la muestra

AP = Área promedio del pico de Amoxicilina en el cromatograma del estándar

cP = Concentración del estándar de Amoxicilina

fx = factor de respuesta de la muestra

Cálculo de impurezas totales relacionadas a Amoxicilina

Sumatoria de cada impureza en % = Impurezas totales en %

Cálculo concentración estándar Clavulanato de potasio

$$CP = \frac{mP \times Pot \times 4}{200 \times 200}$$

MA-9

Donde:

mP= Peso del estándar de Clavulanato de potasio en mg

Pot = Potencia del estándar calculada como Ácido Clavulánico en decimal

4 y 200 = Diluciones

Cálculo del factor de respuesta de la muestra

$$FX = \frac{1000 \times 50 \times PM \times 100}{mA \times 15 \times 798}$$

Donde:

mA= Peso de la muestra en g

798 = Cantidad declarada de Clavulanato de potasio en mg/frasco

PM = Peso promedio del contenido en g

15, 50, 100 y 1000 = Diluciones

Cálculo de impureza individual para Clavulanato de potasio

$$\% \text{ de cada impureza} = \frac{Aii \times CP \times fx}{Apd}$$

Donde:

Aii= Área de la impureza individual en el cromatograma de la muestra

AP = Área promedio del pico de Clavulanato de potasio en el cromatograma del estándar

cP = Concentración del estándar de Clavulanato de potasio

fx = factor de respuesta de la muestra

CLAVAM DUO
Amoxicilina + Ácido Clavulánico
Polvo para Suspensión Oral
400mg + 57mg / 5 mL

Cálculo de impurezas totales relacionadas a Clavulanato de potasio

Sumatoria de cada impureza en % = Impurezas totales en %
--

Total de impurezas

Sumatoria del total de impurezas de Amoxicilina con el total de impurezas de Clavulanato de potasio.

MICROBIOLÓGICO

Según metodología <61> USP