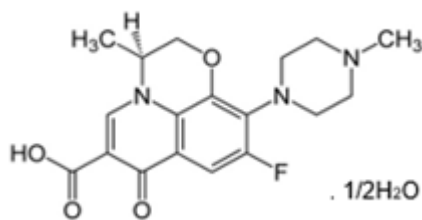


1 **LEVOFLOXACINO**

2
3 $C_{18}H_{20}FN_3O_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ PM: 370,38 138199-71-
4 0

5 **Definición** - Levofloxacin es Ácido (3S)-9-
6 Fluoro-3-metil-10-(4-metilpiperazin-1-il)-7-
7 oxo-2,3-dihidro-7H-pirido[1,2,3-de][1,4]
8 benzoxazin-6-carboxílico, hemihidrato. Debe
9 contener no menos de 98,0 por ciento y no más
10 de 101,0 por ciento de $C_{18}H_{20}FN_3O_4$, calculado
11 sobre la sustancia anhidra y debe cumplir con las
12 siguientes especificaciones.

13 **Caracteres generales** - Polvo fino blanco o
14 ligeramente amarillo. Fácilmente soluble en
15 ácido acético; moderadamente soluble en agua y
16 metanol; ligeramente soluble en etanol.
17 Presenta polimorfismo.

18 **Sustancias de referencia** - Levofloxacin
19 SR-FA. Impureza A de Levofloxacin SR-FA:
20 Ácido (S)-9-Fluoro-2,3-dihidro-3-metil-7-oxo-
21 10-(piperazina-1-il)-7H-pirido[1,2,3-
22 de][1,4]benzoxazin-6-carboxílico. Impureza B
23 de Levofloxacin SR-FA: Ácido (S)-9,10-
24 difluoro-2,3-dihidro-3-metil-7-oxo-7H-
25 pirido[1,2,3-de][1,4]benzoxazin-6-carboxílico.

26 **CONSERVACIÓN**

27 En envases de vidrio inactínico bien
28 cerrados.

29 **ENSAYOS**30 **Identificación**

31 **A** - Absorción infrarroja <460>. *En fase*
32 *sólida*.

33 **B** - Absorción ultravioleta <470>

34 *Solvente*: metanol.

35 *Concentración*: 7,5 µg por mL.

36 Las absorbancias a 298,2 nm, calculadas
37 sobre la sustancia anhidra, no deben diferir en
38 más de 3,0 %.

39 **Determinación de la rotación óptica** <170>

40 *Rotación específica*: entre -92° y -106°.

41 *Solución muestra*: 5 mg por mL en metanol,
42 determinado a 20 °C.

43 **Determinación de agua** <120>

44 *Titulación volumétrica directa*. Entre 2,0 % y
45 3,0%.

46 **Pureza enantiomérica**

47 *Realizar este procedimiento si la Impureza B*
48 *de Levofloxacin es una posible impureza.*

49 *Sistema cromatográfico* - Emplear un equipo
50 para cromatografía de líquidos con un detector
51 ultravioleta ajustado a 294 nm y una columna de
52 15,0 cm × 4,6 mm con fase estacionaria
53 constituida por octadecilsilano químicamente
54 unido a partículas porosas de sílice de 3,5 µm de
55 diámetro. El caudal debe ser aproximadamente
56 0,7 mL por minuto.

57 *Solución A* - Disolver 1,32 g de *D*-fenilalanina
58 y 0,75 g de sulfato cúprico pentahidratado en
59 1.000 mL de agua y homogeneizar.

60 *Fase móvil* - *Solución A* y metanol (85:15).
61 Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes
62 necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100.
63 *Cromatografía*).

64 *Solución de aptitud del sistema* - Pesar
65 exactamente alrededor de 5 mg de *Ofloxacin* y
66 5 mg de Levofloxacin SR-FA, transferir a un
67 matraz aforado de 50 mL, disolver y completar a
68 volumen con agua. Transferir 1 mL de esta
69 solución a un matraz aforado de 10 mL,
70 completar a volumen con agua y mezclar.

71 *Solución muestra* - Pesar exactamente
72 alrededor de 40 mg de Levofloxacin, transferir a
73 un matraz aforado de 50 mL, disolver en agua,
74 completar a volumen con el mismo disolvente y
75 homogeneizar. Transferir 5 mL de esta solución a
76 un matraz aforado de 50 mL y completar a
77 volumen con agua.

78 *Aptitud del sistema* (ver 100. *Cromatografía*)

79 - Cromatografiar la *Solución de aptitud del*
80 *sistema*, registrar los cromatogramas y medir las
81 respuestas de los picos según se indica en el
82 *Procedimiento*: la resolución *R* entre los picos de
83 ofloxacin y de levofloxacin no debe ser menor
84 de 2,0; los tiempos de retención relativos deben
85 ser aproximadamente 0,91 para ofloxacin y 1,0
86 para levofloxacin.

87 *Procedimiento* - Inyectar en el cromatógrafo
88 aproximadamente 10 µL de la *Solución muestra*,
89 registrar los cromatogramas y medir las
90 respuestas de todos los picos. Calcular el
91 porcentaje de ofloxacin en la porción de
92 Levofloxacin en ensayo, en relación a la suma
93 de las respuestas de todos los picos. No debe
94 contener más de 1,0 % de ofloxacin.

95 **Sustancias relacionadas**

96 *Realizar este procedimiento si la Impureza B*
97 *de Levofloxacinó es una posible impureza.*

98 PROCEDIMIENTO 1 -

99 [NOTA: conservar las soluciones preparadas
100 al resguardo de la luz.]

101 *Sistema cromatográfico* - Emplear un equipo
102 para cromatografía de líquidos con un detector
103 ultravioleta ajustado a 280 nm y una columna de
104 15,0 cm × 4,6 mm con fase estacionaria
105 constituida por octadecilsilano químicamente
106 unido a partículas porosas de sílice de 3 µm de
107 diámetro. Mantener la temperatura de la
108 columna aproximadamente a 38 °C. El caudal
109 debe ser aproximadamente 1,0 mL por minuto.
110 Programar el cromatógrafo del siguiente modo:

Tiempo (min)	Solución A (%)	Solución B (%)	Etapas
0-5	100	0	Isocrático
5-10	100→82	0→18	Gradiente lineal
10-15	82→40	18→60	Gradiente lineal
15-30	40	60	Isocrático
30-30,1	40→100	60→0	Gradiente lineal
30,1-38	100	0	Isocrático

111 *Solución reguladora* - Disolver 3,08 g de
112 acetato de amonio y 8,43 g de perclorato de sodio
113 monohidrato en 800 mL de agua y agitar hasta
114 disolución. Ajustar a pH 2,2 con ácido fosfórico,
115 completar a volumen con agua y mezclar.

116 *Solución A* - Acetonitrilo y *Solución*
117 *reguladora*. (16:84). Filtrar y desgasificar.

118 *Solución B* - Acetonitrilo, metanol y *Solución*
119 *reguladora* (30:20:50). Filtrar y desgasificar.

120 *Fase móvil* - Emplear mezclas variables de
121 *Solución A* y *Solución B*, según se indica en
122 *Sistema cromatográfico*. Hacer los ajustes
123 necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100.
124 *Cromatografía*).

125 *Solución de impureza A* - Pesar exactamente
126 alrededor de 2,5 mg de Impureza A de
127 Levofloxacinó SR-FA, transferir a un matraz
128 aforado de 50 mL, disolver con hidróxido de
129 sodio al 0,2 % en metanol y completar a volumen
130 con el mismo solvente.

131 *Solución de Levofloxacinó* - Pesar
132 exactamente alrededor de 4 mg de Levofloxacinó
133 SR-FA, transferir a un matraz aforado de 10 mL,
134 disolver con 800 µL de acetonitrilo y completar a
135 volumen con agua.

136 *Solución de aptitud del sistema* - Transferir 1
137 mL de *Solución de impureza A* y 2,5 mL de
138 *Solución de Levofloxacinó* a un matraz aforado de
139 10 mL y completar a volumen con agua.

140 *Solución estándar de impureza B* - Transferir

141 una cantidad exactamente pesada de Impureza B
142 de Levofloxacinó SR-FA y hacer diluciones
143 cuantitativas en metanol para obtener una
144 solución de 0,04 mg por mL.

145 *Solución estándar madre de Levofloxacinó* -
146 Pesar exactamente alrededor de 2 mg de
147 Levofloxacinó SR-FA, disolver en 10 mL de
148 acetonitrilo y completar a volumen final con una
149 mezcla de acetonitrilo y agua (1:10).

150 *Solución estándar*- Transferir volúmenes
151 exactamente medidos de *Solución estándar de*
152 *impureza B* y *Solución estándar madre de*
153 *Levofloxacinó* a un matraz apropiado y diluir con
154 una mezcla de acetonitrilo y agua (1:10) para
155 obtener una solución de 0,4 µg de Levofloxacinó
156 SR-FA y 0,8 µg de Impureza B de Levofloxacinó
157 SR-FA por mL.

158 *Solución muestra* - Pesar exactamente
159 alrededor de 40 mg de Levofloxacinó, transferir a
160 un matraz aforado de 100 mL, disolver con 8 mL
161 de acetonitrilo y completar a volumen con agua.

162 *Aptitud del sistema* (ver 100. *Cromatografía*)
163 - Cromatografiar la *Solución estándar* y registrar
164 las respuestas de los picos según se indica en
165 *Procedimiento*: los tiempos de retención relativos
166 deben ser 1,0 para levofloxacinó y 2,9 para
167 impureza B. Cromatografiar la *Solución muestra*
168 y registrar las respuestas de los picos según se
169 indica en *Procedimiento*: la desviación estándar
170 relativa para inyecciones repetidas no debe ser
171 mayor de 2,0 % para el pico de levofloxacinó.

172 *Procedimiento* - Inyectar por separado en el
173 cromatógrafo volúmenes iguales
174 (aproximadamente 10 µL) de la *Solución*
175 *muestra*, registrar los cromatogramas y medir las
176 respuestas de todos los picos. Inyectar en el
177 cromatógrafo aproximadamente 10 µL de la
178 *Solución estándar* y de la *Solución muestra*,
179 registrar el cromatograma y medir las respuestas
180 de todos los picos. Identificar los picos que
181 pudieran estar presentes, calcular el porcentaje de
182 impureza B con respecto al pico de Impureza B
183 de la *Solución estándar*; y calcular el porcentaje
184 de cualquier otra impureza individual con
185 respecto al pico de Levofloxacinó de la *Solución*
186 *estándar*. Debe cumplir con los requisitos de la
187 siguiente tabla:

Sustancia relacionada	Tiempo de retención relativo	Límite (%)
Impureza A	0,9	0,20
Levofloxacinó	1,0	-
Impureza B	2,9	0,13
individual desconocida	-	0,10

totales - 0,50

188 PROCEDIMIENTO 2
 189 Realizar este procedimiento si la impureza N-
 190 óxido de Levofloxacinó es una posible impureza.
 191 Sistema cromatográfico - Emplear un equipo
 192 para cromatografía de líquidos con un detector
 193 ultravioleta ajustado a 360 nm y una columna de
 194 25,0 cm × 4,6 mm con fase estacionaria
 195 constituida por octadecilsilano químicamente
 196 unido a partículas porosas de sílice de 5 µm de
 197 diámetro. Mantener la temperatura de la
 198 columna aproximadamente a 45 °C. El caudal
 199 debe ser aproximadamente 0,8 mL por minuto.
 200 Solución reguladora - Disolver 8,5 g de
 201 acetato de amonio, 1,25 g de sulfato cúprico
 202 pentahidratado y 1,3 g de L-isoleucina en 1.000
 203 mL de agua.
 204 Fase móvil - Metanol y Solución reguladora
 205 (3:7). Filtrar y desgasificar. Hacer los ajustes
 206 necesarios (ver *Aptitud del sistema* en 100.
 207 *Cromatografía*).
 208 Solución muestra - Pesar exactamente
 209 alrededor de 50 mg de Levofloxacinó, transferir a
 210 un matraz aforado de 50 mL y completar a

211 volumen con *Fase móvil*.
 212 Solución muestra diluida - Realizar
 213 diluciones cuantitativas de la *Solución muestra*
 214 con Fase móvil para obtener una concentración
 215 de 0,3 µg por mL
 216 Aptitud del sistema (ver 100. *Cromatografía*)
 217 - Cromatografiar la *Solución muestra* y registrar
 218 las respuestas de los picos según se indica en
 219 *Procedimiento*: la desviación estándar relativa
 220 para inyecciones repetidas no debe ser mayor de
 221 1,0 % para el pico de levofloxacinó.
 222 Cromatografiar la *Solución muestra diluida* y
 223 registrar las respuestas de los picos según se
 224 indica en *Procedimiento*: la relación señal-ruido
 225 no debe ser menor de 10.
 226 *Procedimiento* - Inyectar en el cromatógrafo
 227 aproximadamente 10 µL de la *Solución muestra*,
 228 registrar los cromatogramas y medir las
 229 respuestas de todos los picos. Identificar los
 230 picos que pudieran estar presentes y calcular el
 231 porcentaje de cualquier impureza con respecto al
 232 pico de Levofloxacinó de la *Solución muestra* y
 233 multiplicar por el factor de respuesta
 234 correspondiente. Debe cumplir con los requisitos
 235 de la siguiente tabla:

Sustancia relacionada	Tiempo de retención relativo	Factor de respuesta relativo	Impureza (%)
Impureza A derivado de diamina ^(a)	0,47	1,0	0,3
N-óxido de levofloxacinó ^(b)	0,52	0,9	0,3
levofloxacinó 9-desfluoro ^(c)	0,63	1,1	0,3
levofloxacinó isómero D ^(d)	0,73	1,0	0,8
individual desconocida	1,0	1,0	0,1

249 **VALORACIÓN**
 250 Pesar exactamente alrededor de 300 mg de
 251 Levofloxacinó y disolver en 50 mL de ácido
 252 acético. Titular con ácido perclórico 0,1 M (SV)
 253 determinando el punto final
 254 potenciométricamente (ver 780. *Volumetría*).
 255 Realizar una determinación con un blanco y
 256 hacer las correcciones necesarias. Cada mL de
 257 ácido perclórico 0,1 M equivale a 36,14 mg de
 258 C₁₈H₂₀FN₃O₄.

totales -

237 *No incluir el isómero D en el cálculo de impurezas totales.
 238 (a) Ácido (S)-4-(6-Carboxi-9-fluoro-2,3-dihidro-3-metil-10-[2-
 239 (metilamino)etilamino]-7-oxo-7H-pirido[1,2,3-
 240 de][1,4]benzoxazin-6-carboxílico. 0,3
 241 (b) (S)-4-(6-Carboxi-9-fluoro-2,3-dihidro-3-metil-7-oxo-7H-
 242 pirido[1,2,3-de][1,4]benzoxazin-10-il)-1-metil-piperazin-1-
 243 óxido. 1,1 0,3
 244 (c) Ácido (S)-2,3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-piperazinil)-7-
 245 oxo-7H-pirido[1,2,3-de][1,4]benzoxazin-6-carboxílico.
 246 (d) Ácido (R)-9-Fluoro-2,3-dihidro-3-metil-10-(4-metil-1-
 247 piperazinil)-7-oxo-7H-pirido[1,2,3-de][1,4]benzoxazin-6-
 248 carboxílico. 1,0 0,1