

# Método analítico por cromatografía líquida de alta resolución en fase reversa para la determinación de cefadroxilo en suero humano

MARISOL GÓMEZ FERNÁNDEZ\*, MARITZA GONZÁLEZ DAZA

## Resumen

Se desarrolló un método analítico exacto, preciso, reproducible y sensible por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) en fase reversa para la determinación de cefadroxilo (CEF) en las muestras de suero humano. La fase móvil consistió en una mezcla de buffer acetato pH 4,0: metanol HPLC (85:15). La velocidad de flujo fue 1,4 mL/min, y la detección se realizó empleando un detector ultravioleta a la longitud de onda de 264 nm. Para la precipitación de las proteínas en el suero humano fue utilizado el ácido perclórico al 30%v/v. Se empleó como estándar interno hidrocortizida (HCT) (6-cloro-3,4-dihidro-7 sulfanil-2H-1,2,4-benzotiadiazina-1-1-dioxido) a la concentración de 0,8 µg/mL. El análisis resultó ser exacto y preciso en un rango de concentraciones de 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL; 2,0 µg/mL; 2,5 µg/mL; y 5,0 µg/mL para el CEF. La desviación estándar relativa promedio de los ensayos intradiarios para el CEF fue 1,78% y la desviación estándar relativa promedio para los ensayos interdiarios para el CEF fue 1,98%. El límite de detección para CEF fue de 0,10 µg/mL y el límite de cuantificación fue de 0,30 µg/mL.

**Palabras claves:** Cefadroxilo, suero humano.

## Abstract

It was developed an accurate, precise, reproducible and sensitive reversed-phase high performance liquid chromatography method for the quantitative determination of Cefadroxil (CEF) in human serum. The mobile phase consisted of a mixture of acetate buffer pH 4.0: methanol HPLC (85:15). Analysis was run at a flow-rate of 1.4 mL/min, and detection was performed using an ultraviolet detector at the wavelength of 264 nm. For the precipitation of proteins in human serum 30%v/v perchloric acid was used. Hydrochlorothiazide (HCT) (6-chloro-3,4-dihydro-7 sulfanyl-2H-1,2,4-benzothiadiazine-1-1-dioxide) was used as an internal standard at a concentration of 0.8 µg/mL. The analysis turned out to be accurate and precise in the range of concentrations 0.5 µg/mL; 1.0 µg/mL; 2.0 µg/mL; 2.5 µg/mL; and 5.0 µg/mL for Cefadroxil. The relative standard deviation of the within-day assays for the CEF was: 1.78% and the relative standard deviation of the day-to-day assays for the CEF was: 1.98%. The limit of detection was 0.10 µg/mL and the limit of quantification was 0.30 µg/mL.

**Key words:** Cefadroxil, human serum.

## Introducción

El cefadroxilo (CEF) 7-(D-(-)-α-amino-α-(4-hidroxi-fenil) acetamido)-3-metil-3-cefem-4-ácido carboxílico (figura 1) (Valassis y col., 1999) es una cefalosporina semisintética de primera generación, que posee actividad antimicrobiana contra cepas de *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli*, *Klebsiella species* y *Staphylococcus aureus* re-

sistentes a la penicilina (Buck y col., 1977; Pfeiffer y col., 1977).

El antibiótico es rápida y completamente absorbido en el tracto gastrointestinal. Presenta la ventaja de tener una vida media larga y solamente se administra dos veces al día, a diferencia de otras cefalosporinas orales que deben administrarse tres o cuatro veces al día. Su mayor solubilidad lipídica facilita

\* Cátedra de Análisis Farmacéutico, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. [mgomezfernandez@hotmail.com](mailto:mgomezfernandez@hotmail.com)

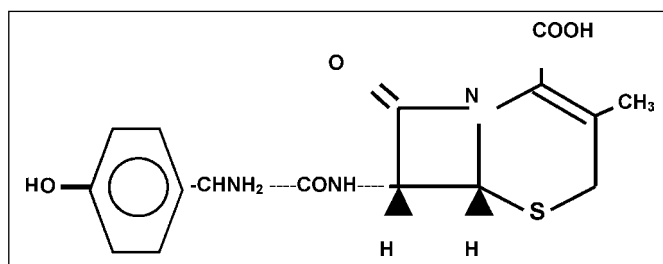


Figura 1  
Estructura química del cefadroxilo

una mayor penetración dentro de los tejidos y los fluidos corporales, encontrándose altas concentraciones de CEF en las amígdalas, los pulmones, los huesos, los músculos, la cápsula sinovial, la próstata, los tejidos ginecológicos, la piel y los fluidos corporales, incluyendo el fluido pleural, el humor acuoso; además atraviesa la placenta y se excreta en la leche materna (Drug Information Handbook, 2005).

Su uso está indicado en pacientes con faringitis, infecciones del tracto respiratorio inferior, infecciones biliares, infecciones cutáneas y de tejidos blandos, infecciones genitourinarias, infecciones óseas, infecciones en quemaduras, otitis media aguda y sinusitis (Garrigues y col., 1991; Drug Information Handbook, 2005).

Existen numerosas situaciones en donde se requiere el análisis cuantitativo de cefadroxilo. Los análisis durante la elaboración de las formulaciones farmacéuticas son obligatorios; muchos estudios farmacológicos requieren de determinaciones cuantitativas para establecer las cantidades en la dosificación, la toxicidad y las respuestas alérgicas, así como la deducción de los mecanismos de resistencia de las cepas bacterianas.

Para la cuantificación del cefadroxilo se han empleado diferentes métodos analíticos; los ensayos microbiológicos están disponibles, pero no son específicos para un antibiótico en particular. A fin de lograr esta especificidad muchos métodos químicos emplean sistemas de separación, como cromatografía de capa fina, cromatografía de gases, cromatografía líquida de alta resolución y la electroforesis capilar (Farag, 1998).

Estos métodos descritos anteriormente presentan como ventaja la separación de CEF del fluido biológico para su posterior análisis; pero tienen la desventaja de emplear un proceso previo a la extracción para separar las proteínas y de esta manera poder cuantificar el CEF, lo que conlleva a una pérdida parcial de la muestra, además de extender el tiempo del análisis encareciendo asimismo el método analítico. En el trabajo de Lindgren y col. puede notarse que el tiempo de corrida de cada inyección es de 11 minutos.

El objetivo del presente proyecto es desarrollar un método analítico exacto, preciso, reproducible, sensible y económico por Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) en fase reversa, con detección ultravioleta, utilizando previamente un proceso de separación simple y confiable, que permita la determinación del *cefadroxilo* en el suero humano, a diferencia de los métodos previamente publicados donde se requiere un proceso de extracción previa mucho más complejo.

## Materiales y métodos

### REACTIVOS Y MATERIALES

Acetato de Sodio Trihidratado, Ácido Acético, Ácido perclórico, Ácido tricloroacético, todos son grado reactivo marca Riedel-De Haën AG, Seelze-Hannover. Buffer acetato de sodio pH 4,00. Metanol grado HPLC marca Merck KGaA, Darmstadt, Alemania. Cefadroxilo monohidrato BP lote 043034 100%p/p, suministrado por Meyer Productos Terapéuticos. Hidroclorotiazida (HCT) 99,57% p/p suministrado por Laboratorios Leti. Las muestras de suero provienen de sujetos sanos libres del Virus de Inmunodeficiencia Humana, libres de cefadroxilo y del estándar interno, donadas por el Laboratorio de la Unidad de Detección de Medicamentos y Química Clínica del Instituto de Medicina Experimental (UNIDEME) de la Universidad Central de Venezuela.

### EQUIPOS

Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución marca Waters, equipado con un inyector manual modelo U6K, una bomba de distribución de solventes modelo 510, un detector ultravioleta modelo 484, un módulo de datos modelo 745B, una columna Lichrosorb® RP-18 de 30 cms de longitud y 10µm de tamaño de partícula. La fase móvil se filtró utilizando un equipo de filtración Millipore® con un filtro sostenedor Parte #4 (Filter Holder Part #4) que utiliza los filtros Millipore tipo HA 0,45 µm (Estados Unidos). Las muestras de suero fueron almacenadas en un Frizer Ultra-Low de rango de temperatura de 0 a -60 °C y centrifugadas en una Centrífuga Refrigerada de Alta Velocidad marca Sorvall® RC-5B Du-Pont Instruments.

### CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Atenuación: 4.

Ancho de pico (PW): 2

Longitud de onda de absorción: 264 nm.

Sensibilidad del detector: 0,02 AUFS.

Tiempo de corrida: 8 minutos.

Velocidad de flujo: 1,4 mL/minuto.

Velocidad del papel: 0,5 cm/minuto.

Volumen de inyección: 20 mL.

#### PREPARACIÓN DE LA FASE MÓVIL

La fase móvil se preparó mezclando una solución de buffer ácido acético-acetato de sodio (pH 4,00) y metanol grado HPLC en una proporción de (85:15). Esta solución fue filtrada a través de un equipo de filtración Millipore® Filter Holder Part #4 equipado con filtros Millipore tipo HA 0,45 µm, desgasificada por aplicación de vacío y agitación magnética durante 5 minutos seguida por ultrasonido por 10 minutos.

#### SOLUCIONES ESTÁNDAR

Se prepararon diariamente las soluciones patrones de trabajo a las concentraciones finales de 0,5, 1,0, 2,0, 2,5 y 5 µg/mL, a partir de una solución madre de CEF de concentración final 50 µg/mL.

Se preparó diariamente la solución de trabajo del estándar interno a una concentración final de 0,8 µg/mL, a partir de una solución madre de concentración 40 µg/mL.

Las muestras de la mezcla combinada de suero humano de varios voluntarios sanos, fueron recolectadas en tubos de vidrio con tapa y congeladas a una temperatura de -20 °C hasta el momento de ser analizadas. A dichas muestras se les adicionó la solución madre de CEF de 50 µg/mL hasta obtener las concentraciones finales de 0,5, 1,0, 2,0, 2,5 y 5,0 µg/mL.

#### PREPARACIÓN DE LA MUESTRA DE SUERO HUMANO

Se ensayaron dos técnicas de precipitación de proteínas:

- a) empleando una solución de ácido perclórico al 30% v/v; y
- b) utilizando una solución de ácido tricloroacético al 6% p/v.

El CEF y HCT (estándar interno) fueron separados de la mezcla combinada de suero humano por una técnica de precipitación de proteínas. En 2 tubos de centrifuga Eppendorf® de polipropileno de 1,5 mL de capacidad, previamente rotulados, fueron adicionados 50 µL de la mezcla combinada de suero humano. En ambos tubos se añadieron cantidades adecuadas de la solución patrón de CEF de 50 µg/mL (de acuerdo con la concentración de CEF a preparar

para el posterior análisis) y 100 µL de la solución de HCT de 40 µg/mL. Al tubo 1 se agregó 100 µL de la solución precipitante de ácido perclórico al 30% v/v, mientras que al tubo 2 se adicionó igual cantidad pero de la solución precipitante de ácido tricloroacético al 6% p/v. Posteriormente, fue adicionada a ambos tubos agua desionizada en cantidad suficiente para 1 mL; se agitaron en un vórtex durante 15 segundos y centrifugaron durante 10 minutos a 12.000 revoluciones por minuto a una temperatura de 10 °C.

Transcurrido el tiempo se procedió a transferir una alícuota de 200 µL del sobrenadante y 800 µL de la fase móvil a un vial de vidrio de 3 mL de capacidad con tapa; posteriormente la mezcla fue sometida a agitación en el vórtex durante 15 segundos. Una alícuota de 20 µL de esta última solución fue inyectada en el cromatógrafo líquido.

CURVA DE CALIBRACIÓN DE CEFADROXILO EN SUERO.  
RANGO DE CONCENTRACIONES DE 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL; 2,0 µg/mL; 2,5 µg/mL Y 5,0 µg/mL

En 6 tubos de centrifuga Eppendorf® de polipropileno de 1,5 mL de capacidad, previamente rotulados, fueron agregados 50 µL de la mezcla combinada de suero humano. En los tubos 1, 2, 3, 4 y 5 se añadieron 50 µL, 100 µL, 200 µL, 250 µL y 500 µL, respectivamente de la solución patrón de CEF de concentración 50 µg/mL y 100 µL de la solución de HCT de concentración 40 µg/mL a cada uno de los tubos. En el tubo 6, rotulado como blanco, se omitió la adición de las soluciones de CEF y HCT. Estos seis (6) tubos se agitaron en el vórtex por 15 segundos y posteriormente se procedió según el método de preparación de la muestra de suero e inyección en el cromatógrafo líquido, previamente descrito. Las soluciones resultantes se conservaron a -20 °C hasta ser empleadas en el estudio de linealidad, precisión y exactitud del método.

#### EXACTITUD Y PRECISIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

La precisión intradiaria (repetibilidad) del método fue expresada como la desviación estándar relativa de cuatro curvas de calibración de CEF idénticas (rango de concentración: 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL; 2,0 µg/mL; 2,5 µg/mL y 5,0 µg/mL), las cuales se prepararon e inyectaron por triplicado en el cromatógrafo líquido en un mismo día.

La precisión interdiaria (reproducibilidad) del método se expresó como la desviación estándar relativa de tres curvas de calibración de CEF idénticas (rango de concentración: 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL;

2,0 µg/mL; 2,5 µg/mL y 5,0 µg/mL), las cuales se prepararon e inyectaron en el cromatógrafo líquido por triplicado durante tres días consecutivos.

La exactitud del método fue expresada como el porcentaje de recuperación obtenido en las muestras durante los ensayos de precisión intradiaria e interdiaria.

#### LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección corresponde a la menor concentración de analito que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse en una muestra, en las condiciones establecidas para el análisis y se expresa en unidades de concentración. Su determinación puede efectuarse de manera experimental, inyectando por triplicado una muestra del analito que produzca una respuesta con respecto al blanco, cuya relación señal/ruido sea igual a 3:1 o 2:1. Para llevar a cabo esta determinación experimental se procedió a preparar 5 soluciones de concentración 0,4 µg/mL, 0,3 µg/mL, 0,2 µg/mL, 0,1 µg/mL y 0,08 µg/mL de CEF según el método de preparación de la muestra de suero e inyección en el cromatógrafo líquido, previamente descrito. Estas soluciones fueron preparadas e inyectadas en el cromatógrafo por triplicado durante 3 días consecutivos.

El límite de detección puede así mismo determinarse de manera matemática, empleando para ello la fórmula enunciada por la International Conference on Harmonisation (ICH).

#### LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de cuantificación se define como la menor concentración de analito que puede determinarse con precisión y exactitud bajo las condiciones establecidas para el análisis y se expresa en unidades de concentración. Su determinación puede efectuarse de manera experimental, inyectando por triplicado una muestra del analito que produzca una respuesta, con respecto al blanco, cuya relación señal/ruido sea igual a 10:1. Para su determinación se emplearon las soluciones preparadas en la determinación de límite de detección previamente descrita.

Así mismo, el límite de cuantificación puede determinarse de manera matemática empleando para ello la fórmula enunciada por la International Conference on Harmonisation (ICH).

## Resultados y discusión

#### CROMATOGRAFÍA

Se obtuvo una separación bien definida entre el CEF, HCT y los compuestos endógenos del suero em-

pleando un sistema HPLC en fase reversa y la fase móvil constituida por buffer acetato a pH 4,00: metanol (85:15). La velocidad de flujo de 1,4 mL/min de la fase móvil resultó en un tiempo de análisis de siete minutos que es menor al reportado en la literatura (Lindgren, 1987).

#### TRATAMIENTO DEL SUERO

Para minimizar la interferencia de los compuestos endógenos del suero se utilizó la técnica de precipitación de proteínas en el suero con una solución de ácido perclórico al 30% v/v. La selección de dicho agente precipitante se basó en lograr una buena separación entre el Cefadroxilo, el estándar interno y los compuestos endógenos del suero humano, obteniéndose una recuperación relativa del cefadroxilo superior a 90% mientras que, con el agente precipitante ácido tricloroacético no se obtuvo una separación adecuada entre los componentes mencionados y la recuperación relativa del cefadroxilo fue inferior a 70%. El esquema de la figura 2 muestra el procedimiento que fue seleccionado para determinar y cuantificar CEF en el fluido biológico.

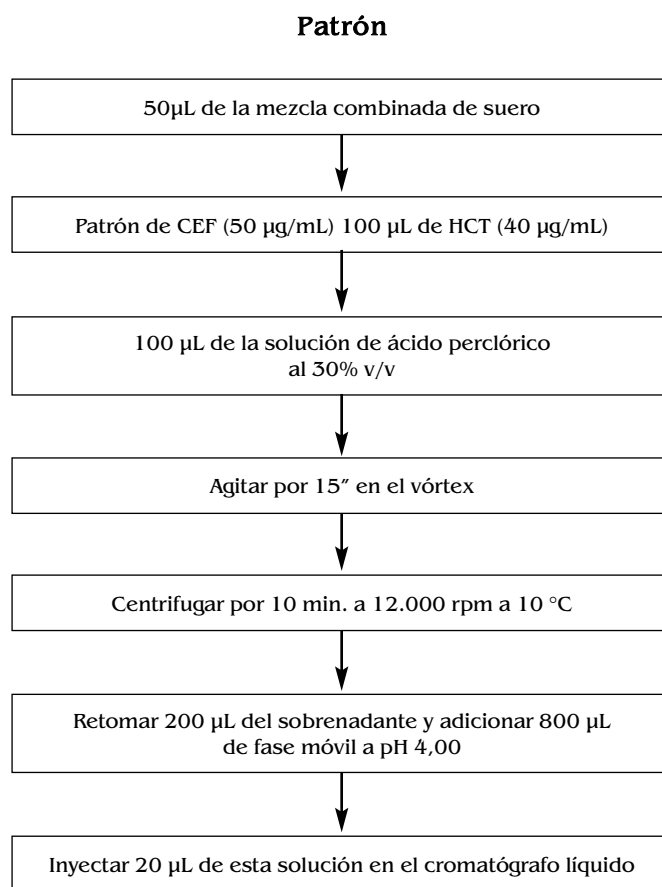


Figura 2  
Esquema de la técnica de precipitación de proteínas en el suero humano

Puede observarse en el mismo que CEF y HCT son extraídos del suero por un proceso simple. En la figura 3 se muestra el cromatograma obtenido después de la inyección del blanco de la mezcla combinada de suero humano preparada como fue descrito previamente, e inyectada en el cromatógrafo líquido. En la figura 4 se puede observar el cromatograma obtenido con la inyección de la solución patrón de CEF (concentración 2,0 µg/mL) y el patrón interno HCT (concentración 0,8 µg/mL) en la mezcla combinada de suero humano. Los tiempos de retención fueron: 3,66 minutos y 5,99 minutos, respectivamente.

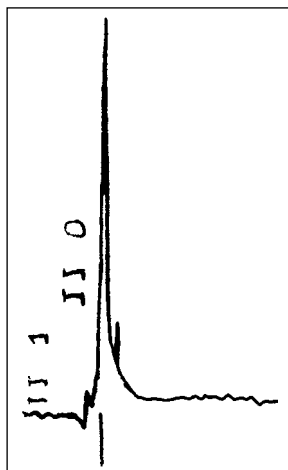


Figura 3  
Cromatograma correspondiente a la inyección del blanco de la mezcla combinada de suero humano

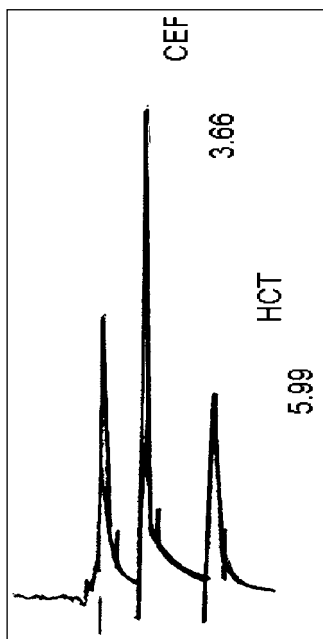


Figura 4  
Cromatograma correspondiente a la inyección de una solución patrón de CEF (concentración 2,0 µg/mL) y HCT (patrón interno, concentración 0,8 µg/mL) en la mezcla combinada de suero humano

#### LINEALIDAD Y SENSIBILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO

El estudio de linealidad del método en la mezcla combinada de suero humano se realizó mediante la construcción de la curva de calibración en la que se representa, en el eje de las ordenadas, la relación área de los picos CEF/HCT contra la concentración sérica de CEF en el eje de las abscisas.

La curva corregida por el método de regresión de los mínimos cuadrados resultó en la siguiente ecuación:  $Y = 0,5568 X - 0,04235$ ; con un coeficiente de correlación ( $r^2$ ) de 0,99977 (Figura 5).

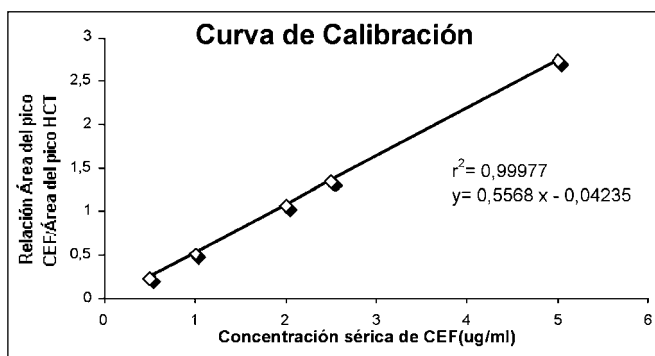


Figura 5  
Curva de calibración de cefadroxilo en suero humano. Rango de concentraciones: 0,5 µg/mL; 1,0 µg/mL; 2,0 µg/mL; 2,5 µg/mL; y 5,0 µg/mL.

#### LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

El límite de detección fue calculado siguiendo las técnicas descritas en la sección de materiales y métodos. Mediante el empleo de la fórmula matemática, el valor correspondiente al límite de detección fue 0,10 µg/mL de CEF. De igual manera, con el cromatograma de la concentración de CEF 0,10 µg/mL se obtuvo la relación señal/ruido 3:1 (establecido en la literatura como Límite de Detección (ICH)).

El límite de cuantificación se determinó siguiendo las técnicas descritas en la sección de materiales y métodos. Mediante el empleo de la fórmula matemática, el valor correspondiente al límite de cuantificación fue 0,30 µg/mL de CEF; del mismo modo, con el cromatograma de la concentración de CEF 0,3 µg/mL se obtuvo la relación señal/ruido 10:1 (establecido en la literatura como Límite de Cuantificación (ICH)), cuyo valor se corresponde con el obtenido matemáticamente.

#### EXACTITUD Y PRECISIÓN

Nuestros resultados demuestran una desviación estándar inferior a la reportada en la literatura (Quanyun y col., 1999; Samanidou y col., 2003). En efecto, la desviación estándar relativa promedio para CEF en los ensayos intradiarios fue 1,78% (Tabla I). De igual modo, la desviación estándar relativa promedio para CEF en los ensayos interdiarios fue 1,98% (Tabla II) y representó una desviación inferior a la reportada en la literatura (Samanidou y col., 2003). Finalmente, el porcentaje de recuperación obtenido en el ensayo de precisión intradiaria osciló entre 95,80% y 97,27%; mientras que el porcentaje

Tabla I  
Precisión y exactitud intradiaria de cefadroxilo en las muestras de la mezcla combinada de suero humano a cinco niveles de concentración

Concentración de CEF µg/mL	% Promedio de recuperación	% DER <sup>a</sup>	Número de muestras
0,5	97,27	1,84	4
1,0	96,85	1,27	4
2,0	96,64	1,88	4
2,5	96,02	1,99	4
5,0	95,80	1,46	4
% de desviación estándar relativa promedio:		<b>1,78%</b>	

Se realizaron cuatro curvas de calibración independientes, preparadas en el mismo rango de concentración e inyectadas por triplicado durante el mismo día. a= Desviación estándar relativa.

Tabla II  
Precisión y exactitud interdiaria de cefadroxilo en las muestras de la mezcla combinada de suero humano a cinco niveles de concentración.

Concentración de CEF µg/mL	% Promedio de recuperación	% DER <sup>a</sup>	Número de muestras
0,5	96,63	1,90	9
1,0	96,20	2,14	9
2,0	97,89	1,67	9
2,5	94,38	2,34	9
5,0	95,25	1,69	9
% de desviación estándar relativa promedio:		<b>1,98%</b>	

Se realizaron tres curvas de calibración independientes, preparadas diariamente en el mismo rango de concentración e inyectadas por triplicado durante tres días consecutivos. a= Desviación estándar relativa.

de recuperación obtenido en el ensayo de precisión interdiaria osciló entre 94,38% y 97,89%.

## Conclusiones

En resumen, el método de análisis por HPLC con detección ultravioleta para la determinación de cefadroxilo en el suero humano requiere pequeñas cantidades de muestra; es un método reproducible, sensible, selectivo, exacto y preciso, con un límite de detección de 0,10 µg/mL y de cuantificación de 0,30 µg/mL de CEF.

La determinación de la concentración de anti -

bióticos en fluidos biológicos tales como el suero es importante para el cálculo de los parámetros farmacocinéticos y la realización de los estudios de biodisponibilidad, por lo que consideramos que este método analítico tiene aplicación para estos fines.

## Agradecimientos

A la Unidad de Detección de Medicamentos y Química Clínica del Instituto de Medicina Experimental (UNIDEME) de la Universidad Central de Venezuela por la colaboración brindada. Al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas Proyecto N° IIF.03/2003 al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico.

## Referencias bibliográficas

- AKIMOTO Y, KOMIYA M, KANEKO K, FUJII A. 1994. Cefadroxil concentrations in human serum, gingiva, and mandibular bone following a single oral administration. *J Oral Maxillofac Surg*, 52:397-400; discussion 400-1.
- BARBHAIYA R. 1996. A pharmacokinetic comparison of cefadroxil and cephalexin after administration of 250, 500 and 1000 mg solution doses. *Biopharm Drug Dispos*, 17:319-330.
- BOULANGER B, CHIAP P, DEWE W, CROMMEN J, HUBERT P. 2003. An analysis of the SFSTP guide on validation of chromatographic bioanalytical methods: progress and limitations. *J Pharm Biomed Anal*, 32:753-765.
- BRISSEON A, FOURTILLAN J. 1981. Determination of cephalosporins in biological material by reversed-phase liquid column chromatography. *J Chromatogr*, 223:393-399.
- BUCK R, PRICE K. 1977. Cefadroxil a new-broad spectrum cephalosporin. *Antimicrob. Agents Chemother*, 11:324-30.
- DRUG INFORMATION HANDBOOK. 2005. (13<sup>th</sup> Edition). Editorial Advisory Panel. Páginas 272-273.
- FARAG S. 1998. Simultaneous Liquid chromatographic analysis of the beta-lactam antibiotics cefazolin, cefadroxil, cephalexin, ampicillin and cephadrine in solution. *J AOAC Int*, 81:381-385.
- GARRIGUES T, MARTIN U, PERIS-RIBERA J, PRESCOTT L. 1991. Dose-dependent absorption and elimination of cefadroxil in man. *Eu J Clin Pharmacol*, 41: 179-183.
- GUSTAFERRO C, STECKELBERG J. 1991. Cephalosporin antimicrobial agents and related compounds. *Mayo Clin Proc*, 66: 1064-1073.
- ICH TOPIC Q2B NOTE FOR GUIDANCE ON VALIDATION OF ANALYTICAL PROCEDURES: METHODOLOGY 1996. The European Agency for the Evaluation of Medicinal Products Human Medicines Evaluation Unit, Step 4, Consensus Guideline.
- LINDGREN K. 1987. Determination of cefadroxil in serum by high-performance liquid chromatography with cephradine as internal standard. *J Chromatogr* 413: 347-350.
- MANDELL G, PETRI W. 1996. Fármacos antimicrobianos: penicilinas, cefalosporinas y otros antibióticos  $\beta$ -lactámicos. En: *Las bases farmacológicas de la terapéutica* (J.G., Hardman, L.E. Limbird., Molinoff, P.B., Ruddon, A. Goodman Gilman, Eds.). (novena edición). Editorial Mc Graw-Hill Interamericana. Editores, S.A. de C.V. de México. Capítulo: 31, páginas 1141-1172.
- OLIVEIRA C, SALMON J, SUCUPIRA M, ILHA J, DE NUCCI G. 2000. Comparative bioavailability of two cefadroxil formulations in healthy human volunteers after a single-dose administration. *Biopharm Drug Dispos*, 21:243-247.
- PFEFFER M, JACKSON A, XIMENES J, PERCHE J. 1977. Comparative Human Oral Clinical Pharmacology of Cefadroxil, Cephalexin, and Cephadrine. *Antimicrob. Agents Chemother*, 11:331-338.
- QUANYUN AX, LAWRENCE A, TRISSEL H. 1999. Stability- Indicating HPLC Methods for Drug Analysis.
- VALASSIS, I, PARISSI-POULOU M, MACHERAS P. 1999. Quantitative determination of cefepime in plasma and vitreous fluid by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr B Biomed Sci Appl*, 721:249-55.
- SAMANIDOU V, HAPESHI E, PAPADOYANNIS I. 2003. Rapid and sensitive high-performance liquid chromatographic determination of four cephalosporin antibiotics in pharmaceuticals and body fluids. *J. Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci*, 788:147-158.