

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO
FACULTAD DE QUIMICA

LAS AMPICILINAS Y SU CONTROL

T E S I S

PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A

PATRICIA RAQUEL MARIN CAMELO

1973

M-172404



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado originalmente según el tema:

Presidente: Oscar Amor Dodero

Vocal: Miguel A. Ceballos Leal

Secretario: Bice V. Novi Avila

1er. Suplente: Ethelvina Medrano de Jaimes

2o. Suplente: Mario Miranda Castro

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorios Sanfer, S. A.

Sustentante: Patricia Raquel Marín Camelo

Asesor del tema: Q.F.B. Bice V. Novi Avila

A la memoria de mi Padre.

A mi Madre.

A mis hermanos.

A mi Abuelita.

A la Srita. Q.F.B. Bice V. Novi Avila
con especial agradecimiento.

I N T R O D U C C I O N

Un microbio es un pequeñísimo ser viviente, visible solo bajo la lente de un microscopio.

Desde el momento mismo del descubrimiento de los microbios y del poder de algunos de ellos para producir enfermedad, una de las principales preocupaciones del hombre ha sido hallar la forma de destruirlos. Surgieron así los antibióticos, grupo de medicamentos capaces de detener el crecimiento de bacterias patógenas en el cuerpo.

El primer antibiótico conocido fue la Penicilina, descubierta en 1929 por Alexander Fleming (1881-1955), quien la obtuvo a partir del cultivo de ciertos hongos de la familia *Penicillium*.

La mayoría de los antibióticos proceden de cultivos de hongos y bacterias; así, durante años, la humanidad se dedicó a buscar nuevos mohos productores de antibióticos, hasta que los Laboratorios Beecham emprendieron, en 1955, una investigación con el propósito de penetrar en los secretos de la estructura y síntesis de la penicilina y lograron, en 1959, aislar el núcleo de la molécula de la misma, haciendo realidad la predicción de Sir Alexander Fleming: "...debe haber un futuro para aquellos antibióticos derivados de la penicilina y obtenidos del antibiótico maestro por modificación química o síntesis..." ya que es posible fabricar gran cantidad de nuevos antibióticos, uniendo a ese núcleo multitud de distintas cadenas por medio de reacciones químicas.

"Estos nuevos antibióticos hechos ya por el hombre, han demostrado ser, en ocasiones, más eficaces que otros antibióticos usuales".

C A P I T U L O I

CONSIDERACIONES GENERALES SOBRE ANTIBIOTICOS.

Los seres parasitados han sido dotados para eliminar eficazmente a los microorganismos parásitos o microbios, aunque para ello hay un solo mecanismo, la fagocitosis y la posterior digestión intracelular de los mismos.

Todos los demás mecanismos de defensa frente a la infección, son únicamente formas de ayudar a la fagocitosis o de acelerar la destrucción intracelular del microbio.

Hay tres formas de ayudar a la fagocitosis:

- a) Acelerándola mediante administración de anticuerpos específicos contra el microorganismo, ya sea en forma pasiva (por aplicación de sueros inmunes) o por inmunización activa, induciendo a la formación de anticuerpos dentro del organismo (por aplicación de vacunas).
- b) Interfiriendo el ciclo vital del microbio, con el uso de medidas de control epidemiológico y de higiene como medidas externas que impidan la reinoculación del microbio, y con la inoculación de cepas inocuas que compitan con el germen virulento.
- c) Reduciendo el número de microbios vivos por medio de la

aplicación de un medicamento antimicrobiano, lo que permite que una cantidad normal de fagocitos acabe con el reducido número de ellos que escapa a la acción del fármaco.

De hecho, los sueros y vacunas se emplean más bien como medidas profilácticas que terapéuticas, no ocurriendo lo mismo con el uso de medicamentos antibióticos. Respecto a éstos, cabe puntualizar que no acaban con una infección sino que ayudan a los fagocitos a realizar su función.

Se da el nombre de Antibióticos a cierta clase de compuestos químicos que inhiben la multiplicación de determinados microorganismos.

Estos agentes fueron originalmente obtenidos del metabolismo de células microbianas (*Penicillium notatum*); posteriormente de macrohongos, algas, líquenes y vegetales superiores y finalmente son obtenidos por síntesis.

Las características de un antibiótico que se acerque al ideal incluyen:

- 1.- Ser bactericida, no bacteriostático, con el objeto de reducir efectivamente el número de bacterias y no solo detener su crecimiento.
- 2.- Poseer un espectro lo más estrecho posible, siempre y - -

cuando aún incluya a la entidad infectante. Esto tiene por objeto modificar la flora normal del organismo lo menos -- posible, evitando así superinfecciones por gérmenes oportu nistas.

- 3.-No ser tóxico. Actuar de preferencia sobre estructuras pre sentes en el microbio e inexistentes en el enfermo. Aunque la absoluta carencia de toxicidad es un ideal no alcanzado hasta ahora, sí se puede pedir que exista un amplio margen entre la dosis mínima bactericida y la dosis mínima tóxica.
 - 4.-Poder ser administrado por cualquier vía. Tener el recurso de aplicación parenteral en casos de diarrea o vómito, o poder evitar las inyecciones en caso de infecciones leves o tratamientos prolongados.
 - 5.-Debe ser rápida y eficazmente absorbido y convenientemente distribuido en el organismo.
 - 6.-Ser suficientemente estable en presencia de tejidos del or ganismo.
 - 7.-No debe eliminarse muy rápidamente ni acumularse en exceso.
 - 8.-Ser estable; es decir, que se pueda conservar por largos -- períodos sin necesidad de precauciones especiales.
- Los antibióticos se pueden agrupar, para su estudio, tomando en

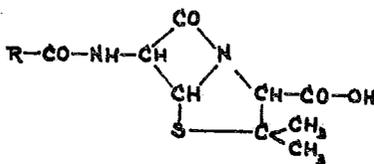
cuenta sus características: estructura química, presencia de ciertos grupos funcionales, mecanismo de acción, etc.

Tomando en cuenta el mecanismo de acción de los medicamentos antimicrobianos sobre el microorganismo correspondiente, se integran cuatro grupos:

- 1) Medicamentos que actúan inhibiendo la síntesis de proteínas: Aminoglicósidos, Tetraciclinas, Cloranfenicol, Polipéptidos, Macrólidos.
- 2) Medicamentos que actúan sobre el núcleo celular o DNA: Fungicidas, Acido nalidíxico, Novobiocina.
- 3) Medicamentos que actúan sobre la membrana celular (detergentes): Polipéptidos.
- 4) Medicamentos que actúan sobre la pared celular: Penicilinas, Cefalosporinas.

Debe considerarse que debido a que los antibióticos de los tres primeros grupos actúan sobre estructuras que también están presentes en el ser humano, son tóxicos a dosis poco superiores a las empleadas comúnmente. Por el contrario, los antimicrobianos del grupo 4 actúan sobre estructuras celulares que no tienen equivalencia en las células humanas, y así, son tolerados en dosis superiores a las habituales.

PENICILINAS



"Las penicilinas son una serie de compuestos de estructura similar, que difieren en la estructura del ácido unido por enlace amídico. Las variaciones en la molécula producen diferencias en su efecto antibiótico y en ciertas propiedades físicas y químicas que determinan su estabilidad".

Se han aislado penicilinas de los productos de fermentación. Algunas son naturales y otras biosintetizadas por alteración del medio de cultivo.

La estructura química de la penicilina ha sido confirmada por síntesis. Contiene un anillo β lactama de cuatro miembros condensados con uno de tiazolidina.

Las penicilinas son fácilmente degradadas por agentes como ácidos y alcalis; "desde el punto de vista clínico, las transformaciones más significativas son causadas por la acidez gástrica y por la enzima penicilinasasa". La fuerte acidez del estómago rompe la cadena lateral amídica y abre el anillo lactámico, haciendo perder la actividad del antibiótico. La penicilinasasa provoca también apertura del - -

anillo lactámico y con ello, pérdida de actividad. Esta enzima está presente en muchos microorganismos como un antagonista natural y,-- cuando existe en una cantidad significativa, produce la resistencia a la penicilina.

Algunas penicilinas semisintéticas recientes han sido creadas para aumentar la resistencia a la hidrólisis ácida, a la acción de la penicilinasas y para obtener un espectro de acción más amplio.

CLASIFICACION DE LAS PENICILINAS

Todos los antibióticos del grupo de las penicilinas tienen una estructura química muy semejante. Comparten el ácido penicilánico y sus diferentes propiedades se basan en la presencia de cadenas laterales diferentes. Se distinguen cuatro grupos de penicilinas:

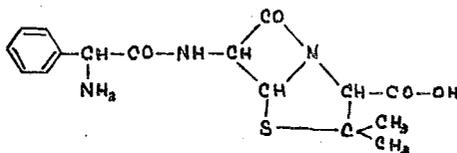
- A) Las penicilinas naturales (G, K, X, F, O). Son producidas por alguna variedad de *Penicillium*. Son de espectro relativamente estrecho; normalmente actúan sobre gérmenes Gram positivos y solamente en dosis muy grandes -- afectan a los Gram negativos. Son parcialmente degradadas en medio ácido y su absorción a partir del intestino, es muy irregular.
- B) Las penicilinas fenoxialquílicas (Penicilina V). Difieren de las anteriores en su estabilidad en medio ácido y su buena absorción a nivel intestinal.

- o
- C) Las penicilinas resistentes a la penicilinas del Estafilococo (Meticilina, Nafcilina, Oxacilina y Cloxacilina), son penicilinas semisintéticas que se obtienen cambiando una cadena lateral en las penicilinas naturales. Son algo menos efectivas que la Penicilina G contra algunos Gram positivos pero, en cambio, no son destruidas por la penicilinas del estafilococo. El uso de estas penicilinas debe ser limitado a casos en que se sospecha o preferiblemente se ha confirmado la existencia del estafilococo, o con el fin de retardar la aparición de cepas resistentes.
- D) Las penicilinas de amplio espectro (Ampicilina, Hetacilina, Carbenicilina) son penicilinas semisintéticas en las que la nueva cadena lateral confiere propiedades antibacterianas inexistentes en las penicilinas naturales.

C A P I T U L O I I

LAS AMPICILINAS Y SU IMPORTANCIA

La Ampicilina ó Acido 6-D(-) alfa-aminofenilacetamido-penicilánico, es un derivado semisintético de la penicilina.



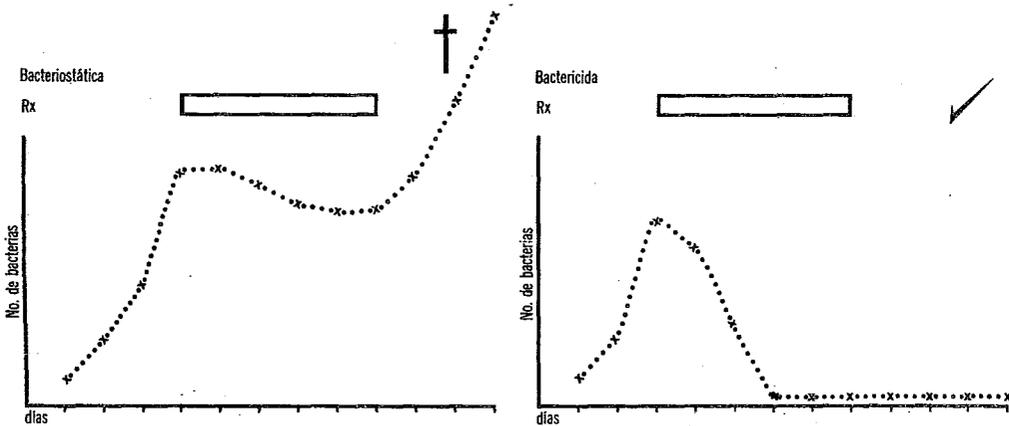
P.M. 349.41

Se presenta en forma anhidra, forma de trihidrato y en forma de sal sódica.

La Ampicilina es obtenida por síntesis a partir del ácido 6-aminopenicilánico ó 6-APA. Este nuevo antibiótico posee propiedades especiales que difieren considerablemente de otras penicilinas, aunque en algunos aspectos es similar a las tetraciclinas y cloranfenicol. Tiene un rango de acción comparable con Penicilina G; es ligeramente menos activo que ésta, pero más activo que tetraciclina y cloranfenicol contra Gram positivos.

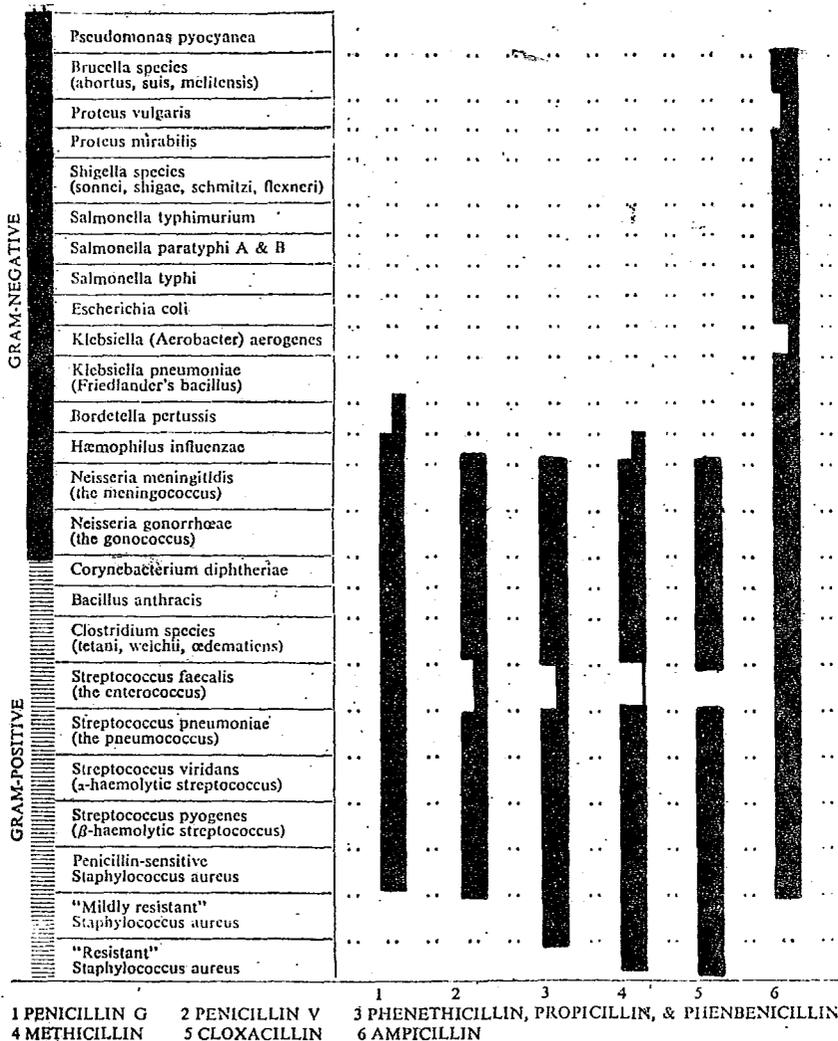
Las características básicas de la ampicilina son las siguientes:

- 1) Actividad bactericida y no solamente bacteriostática; destruye y elimina por completo los microorganismos patógenos, en vez de limitarse a reprimirlos, evitando así la tendencia a las recidivas y a la cronicidad.



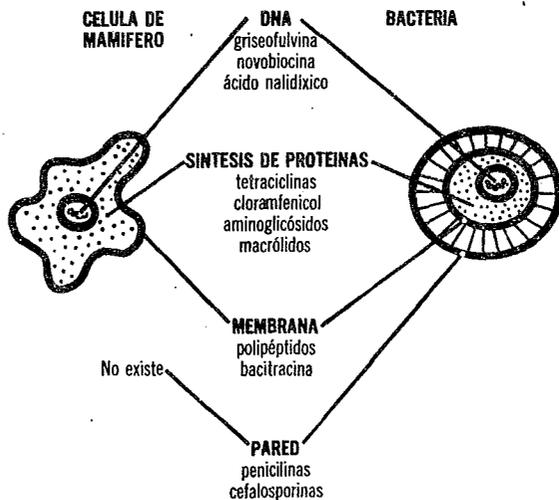
- 2) Alta tolerancia por el sistema digestivo y estabilidad en medio ácido, lo cual permite la administración por vía oral, hecho de suma importancia, ya que se ha comprobado que es ésta la vía de administración menos alergénica.
- 3) Rapidez de absorción y obtención de altos niveles hemáticos - dentro de 1-3 horas después de su administración.
- 4) Lenta excreción (por tractos urinario y biliar) y concentraciones efectivas en la sangre después de 4-6 horas de su administración.

5) Amplio espectro antibacteriano, el cual cubre casi la totalidad de la flora Gram negativa y Gram positiva, excluyendo a bacterias productoras de penicilinas, al *Aerobacter aerogenes*, *Pseudomonas* sp. y *Serratia marense*.



Espectro antibacteriano de las Penicilinas. (Sutherland, Rolinson, et. al)

- 6) No entorpecen la síntesis proteica, característica muy importante, sobre todo cuando se trata de enfermos desnutridos y de niños, ya que el entorpecimiento de la síntesis cuando el catabolismo es intenso, a menudo produce una enfermedad carencial proteica, como la Kwashiorkor o, por lo menos, -- inhibe la formación de anticuerpos y las reacciones inflamatorias, retardando la curación.
- 7) Muy baja toxicidad, ya que las ampicilinas son antibióticos que actúan sobre la pared celular, estructura que no tiene equivalente con las células humanas, y son, por ello, toleradas en dosis muy superiores a las habituales en la clínica -- prácticamente sin producir efectos secundarios que a menudo se observan con otros antibióticos de amplio espectro y que, en ocasiones, hacen necesario interrumpir el tratamiento terapéutico.



- 8) Es de suma importancia considerar la producción de las ampicilinas por síntesis química (en la segunda fase de su obtención) con lo que se logra reducir las probabilidades de contaminación por impurezas proteínicas, que son las que desencadenan las reacciones alérgicas.

ACCIONES Y USOS

La ampicilina es la primera penicilina semisintética que tiene actividad contra bacterias Gram (-). Se usa en tratamientos de infecciones producidas por Shigella, Salmonella, E. coli, H. influenzae, Aerobacter y P. mirabilis. Su espectro "in vitro" es similar al de la Penicilina G contra cocos Gram (+), pero generalmente es menos efectiva, excepto contra Streptococcus faecalis. Es pobremente efectiva contra organismos productores de penicilinas. Es utilizada eficazmente en infecciones del tracto urinario causadas por E. coli, P. mirabilis, Estreptococo no hemolítico y Enterococo resistente a la Penicilina G. Es especialmente indicada en infecciones del tracto respiratorio causadas por H. influenzae y D. pneumoniae. Puesto que la ampicilina es excretada por bilis, es apreciable su valor en infecciones del tracto biliar. Responde satisfactoriamente a la salmonelosis intestinal y en meningitis infantil, producida por Meningococo. Pneumococo, H. Influenzae.

FORMAS FARMACEUTICAS Y DOSIS USUALES

- 1) Cápsulas U.S.P.; Ampicilina anhidra y ampicilina trihidrato equivalente a 125, 250, 500 mg.
- 2) Suspensión oral U.S.P. (Ampicilina anhidra y trihidrato equivalente): 100 mg/ml. 1.5 g. en 15 y 60 ml. 2g/20 y 80 ml. 3.75g/150 ml. 4 g/80 ml. 7.5 g/150 ml.
- 3) Inyectable: Ampicilina sódica estéril, 125, 250, 500 mg. 1 y 2 g.

Dosis usual: 1-4 g. diariamente en dosis divididas.

Niños: 25 - 50 mg/kg. cada 6 horas.

Veterinaria: (perro y gato) 10 mg/kg. peso

3 - 4 veces diarias.

C A P I T U L O I I I

M O N O G R A F I A S

Las citas bibliográficas se indicarán como sigue:

- I) para C. F. R. 1970
- II) para Farmacopea Británica. 1968

AMPICILINA TRIHIDRATO

Es la forma cristalina trihidratada de la D(-) alfa aminobenzil penicilina.

a) Potencia, pureza, identidad.

- 1) Contiene no menos de 900 (I) ó 950 (II) microgramos por miligramo de ampicilina en base anhidra.
- 2) Pasa prueba de toxicidad.
- 3) Contiene no menos de 12% y no más de 15% de humedad.
- 4) Su pH en solución acuosa de 10 mg/ml. se encuentra entre 3.5 y 6.0 (I) ó de 2.5 mg/ml es de 3.5 a 5.5 (II)
- 5) Su contenido en ampicilina es de no menos de 90% en base anhidra.
- 6) Da positivas las pruebas de identidad para las ampicilinas y el espectro de absorción al infrarrojo muestra

picos bien definidos a 2.9, 3.33, 5.65, 5.92, 6.71,
7.94 micras, con dobletes a 6.25-6.35, 7.25-73,
7.57-7.63 micras (± 0.03)

7) Es soluble, a 20°C, en 150 partes de agua, casi insoluble en alcohol (95%), cloroformo, eter y aceites fijos.

8) Presenta rotación óptica, en solución al 0.25% de +280 a +300

b) Envasado

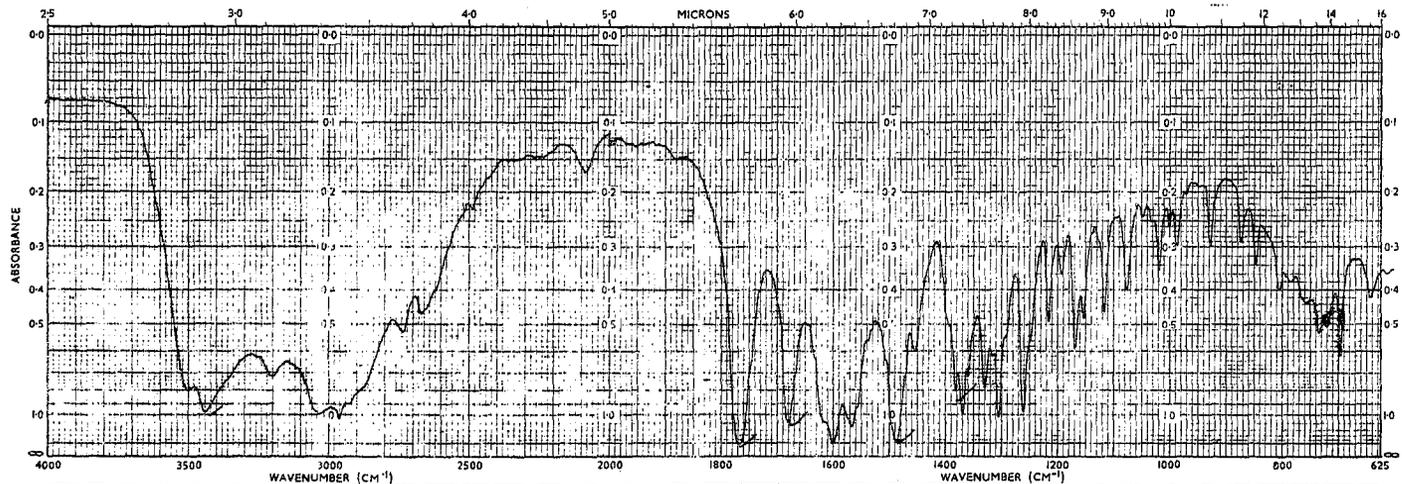
La ampicilina debe estar siempre contenida en envases herméticos y de composición tal, que no produzcan ningún cambio en la potencia y la pureza del contenido, aparte de los cambios normales e inevitables.

c) Rotulado

Cada envase debe llevar indicado lo siguiente:

- 1) El número de lote.
- 2) El número de microgramos por miligramo, así como la cantidad contenida en el envase.
- 3) La fecha de expiración.
- 4) La declaración: "Para uso en la manufactura de fármacos no parenterales solamente".

5) La declaración: "Precaución: prohibida por la Ley Federal la administración sin prescripción".



| | | | | |
|-----------------------------------|---------------------|---------|---------------------|--------------------------|
| SAMPLE <u>ANFIBOLITA TRIMONTO</u> | SOLVENT <u>CCl₄</u> | REMARKS | SCAN SPEED <u>F</u> | OPERATOR <u>AMB</u> |
| 15 | CONCENTRATION _____ | | SLIT <u>H</u> | DATE <u>SEP. 20 1971</u> |
| ORIGIN <u>BRIDE 12</u> | CELL PATH _____ | | PERKIN - ELMER | REF No. _____ |
| | REFERENCE _____ | | PART No. 472 - 5200 | |

ESPECTRO DE ABSORCION AL INFRARROJO

AMPICILINA SÓDICA

Es la sal sódica cristalina de la D(-) alfa aminobenzil penicilina.

- a) Potencia, pureza, identidad.
 - 1) Contiene no menos de 845 (I) ó 850 (II) microgramos de ampicilina por miligramo, en base anhidra.
 - 2) Es estéril.
 - 3) Pasa prueba de toxicidad.
 - 4) Es libre de pirógenos.
 - 5) Contiene menos de 2% de humedad.
 - 6) Su pH en solución acuosa de 10 mg/ml es de 8.0 a 10.0 (I) ó de 7.5 a 9.5 (II).
 - 7) Contiene no menos de 90% de ampicilina sódica.
 - 8) Da positivas las pruebas de identidad para las ampicilinas y el espectro de absorción al infrarrojo muestra picos bien definidos a las mismas longitudes de onda que una muestra patrón de ampicilina, a 5.65, 5.99, 6.21, 6.62, 7.19, 7.63, -- 8.93, 14.5
 - 9) Es soluble en 2 partes de agua y en 50 partes de acetona y casi insoluble en eter, parafina y aceites fijos, aunque ligeramente soluble en cloroformo.

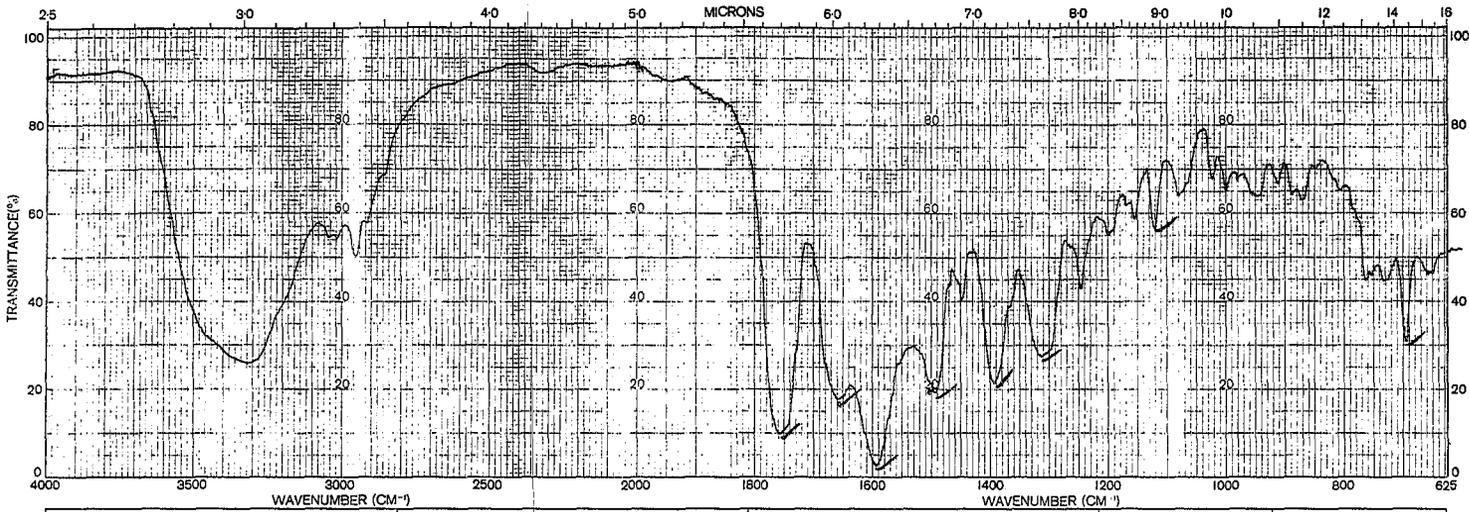
b) Envasado.

El recipiente debe ser hermético, según U.S.P. y debe tener tal composición que no cause cambios en la pureza y potencia del contenido, salvo algún límite conforme a los patrones.

c) Rotulado.

Cada envase debe llevar indicado lo siguiente:

- 1) Número de lote.
- 2) Número de microgramos por miligramo y cantidad que va contenida en el envase.
- 3) La fecha de expiración.
- 4) La aclaración: "Las soluciones preparadas deben ser usadas inmediatamente".
- 5) La declaración: "Precaución: prohibida por la Ley Federal la administración sin prescripción".



| | | | | |
|--|-------------------------------|--|-----------------------------------|------------------------|
| SAMPLE <i>AMPRIKIDA SADIKA</i> <i>NO. 12708</i> | SOLVENT <i>Et</i> | REMARKS <i>E. 15 2.2</i> <i>ABSORB. 0.11</i> <i>MAN. 0.62</i> <i>0.17</i> | SCAN SPEED <i>T</i> | OPERATOR <i>E.M.S.</i> |
| ORIGIN <i>BREHAN PHARM.</i> | CONCENTRATION <i>2.500 mg</i> | | SLIT <i>2</i> | DATE |
| | CELL PATH | | PERKIN ELMER PART NO. 472-5089 | REF. No. |
| | REFERENCE <i>AIR</i> | | | |

ESPECTRO DE ABSORCION AL INFRARROJO

2

1

AMPICILINA SÓDICA

Es la sal sódica cristalina de la D(-) alfa aminobenzil penicilina.

a) Potencia, pureza, identidad.

1) Contiene no menos de 845 (I) ó 850 (II) microgramos de ampicilina por miligramo, en base anhidra.

2) Es estéril.

3) Pasa prueba de toxicidad.

4) Es libre de pirógenos.

5) Contiene menos de 2% de humedad.

6) Su pH en solución acuosa de 10 mg/ml es de 8.0 a 10.0 (I) ó de 7.5 a 9.5 (II).

7) Contiene no menos de 90% de ampicilina sódica.

8) Da positivas las pruebas de identidad para las ampicilinas y el espectro de absorción al infrarrojo muestra picos bien definidos a las mismas longitudes de onda que una muestra patrón de ampicilina, a 5.65, 5.99, 6.21, 6.62, 7.19, 7.63, -- 8.93, 14.5

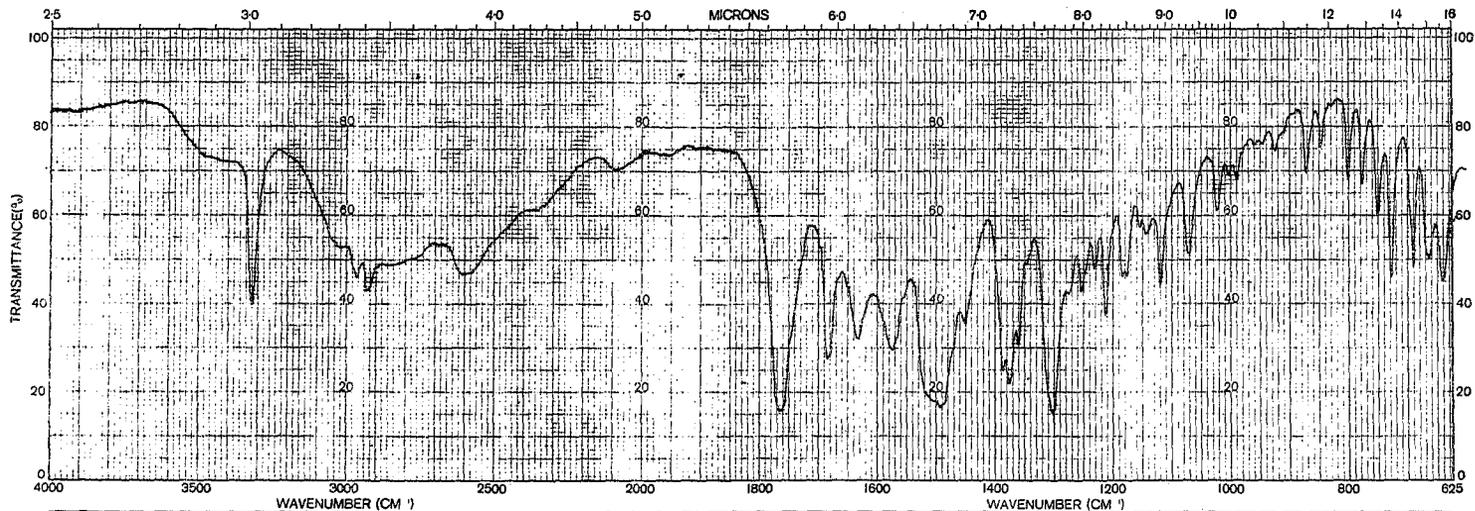
9) Es soluble en 2 partes de agua y en 50 partes de acetona y casi insoluble en eter, parafina y aceites fijos, aunque ligeramente soluble en cloroformo.

pureza del contenido, aparte de los cambios normales e inevitables.

c) Rotulado.

Cada envase debe llevar indicado lo siguiente:

- 1) El número de lote.
- 2) El número de microgramos por miligramo, así como la cantidad contenida en el envase.
- 3) La fecha de expiración.
- 4) La declaración: "Para uso en la manufactura de fármacos no parenterales solamente".
- 5) La declaración: "Precaución: prohibida por la Ley Federal la administración sin prescripción".



| | | | | |
|--|--|---------------------------------|---|---|
| SAMPLE <u>ANILINA ADIBRA</u> <u>57</u> ORIGIN <u>BERNAN PHARM.</u> | SOLVENT <u>EtAc</u> CONCENTRATION _____ CELL PATH _____ REFERENCE <u>EtAc</u> | REMARKS _____ _____ _____ | SCAN SPEED <u>F</u> SLIT <u>A</u> PERKIN-ELMER PART NO. 472 - 5089 | OPERATOR <u>Pa.S.</u> DATE <u>ABRIL 10, 1958</u> REF. No. _____ |
|--|--|---------------------------------|---|---|

ESPECTRO DE ABSORCION AL INFRARROJO

C A P I T U L O I V

M E T O D O S D E C Ó N T R O L

POTENCIA

Usando un patrón de comparación, la valoración de la potencia puede hacerse por cualquiera de los siguientes métodos, aunque los resultados obtenidos en el método biológico deben ser concluyentes.

1) Método biológico.

- a) Cilindros: Usar cilindros de acero con un diámetro exterior de 8 mm (± 0.1), un diámetro interno de 6 mm y una longitud de 10 mm
- b) Medio de cultivo: Usar ingredientes conforme a lo prescrito en la U.S.P. o el N. F.
- c) Buffer fosfato de potasio 0.1 M, pH 8.0: Fosfato dibásico de - de potasio: 16.73 g; Fosfato monobásico de potasio: 0.523 g; H₂O dest. c.s.p. 1,000 ml.
- d) Muestra patrón: Pesarse una cantidad adecuada de ampicilina patrón y disolver en una solución buffer de fosfato de potasio 0.1 molar, pH 8.0, para obtener una solución primaria, a partir de la cual se obtendrán posteriores diluciones para preparar la curva patrón.

- e) Preparación de la muestra: Disolver la muestra y hacer diluciones adecuadas con la solución buffer de fosfato de potasio hasta obtener una concentración final de 0.1 microgramos de ampicilina por mililitro.
- f) Preparación del organismo de prueba: El organismo de prueba es *Sarcina lutea* (ATCC 9341), la cual es mantenida en una superficie inclinada de medio U.S.P. en agar. Lavar el organismo con unos tres mililitros de solución estéril de cloruro de sodio, sobre una superficie extensa del agar (Botella de Roux): extender la suspensión con ayuda de perlas de vidrio estériles. Incubar durante 24 horas a 32°-35°C y lavar el crecimiento resultante con unos 50 ml. de solución de cloruro de sodio estéril. Estandarizar la suspensión a que una dilución 1:40 produzca una transmisión de luz de 25%, utilizando un colorímetro fotoeléctrico con filtro de 580 m μ y un tubo de 13 mm de diámetro. Correr placas de prueba para determinar la cantidad de suspensión (usualmente 0.5 ml.) - que se deben agregar a cada 100 ml. de buffer, para obtener zonas de inhibición de tamaño adecuado.
- g) Preparación de placas: Distribuir el agar (unos 21 ml.) en las cajas y esperar a que endurezca. Fundir suficiente cantidad de agar y enfriar a 48°C. Agregar la cantidad necesaria del organismo de prueba y mezclar. Añadir 4 ml. del - -

agar inoculado a cada placa y distribuirlo adecuadamente. Después de que ha endurecido, colocar seis cilindros en la superficie del agar de manera que queden adecuadamente distribuidos.

- h) Curva Patrón: Preparar subdiluciones de la solución primaria de muestra patrón con el buffer de fosfatos, pH 8.0, a obtener concentraciones de 0.064, 0.080, 0.1, 0.125, 0.156 microgramos por mililitro. Usar tres placas para cada punto de la curva, excepto para la correspondiente a concentración de 0.1 mcg/ml. En cada una de tres placas, llenar tres cilindros con la dilución de la muestra patrón correspondiente a 0.1 mcg/ml. y los otros tres con una dilución de las concentraciones restantes de la misma muestra patrón. Se obtienen así, 36 determinaciones de 0.1 mcg/ml y 9 para cada uno de los otros puntos de la curva. Después de incubar, leer los diámetros de las zonas de inhibición y promediar las lecturas correspondientes a la concentración de 0.1 mcg/ml y las lecturas de los puntos para cada serie de tres placas. El promedio de las 36 lecturas de la concentración de 0.1 mcg/ml es el punto de corrección de la curva. Corregir el valor promedio obtenido para cada punto, de acuerdo con las lecturas de la concentración de 0.1 mcg/ml para cada serie de tres placas. Por ejemplo, si corrigiendo el punto correspondiente a la concentración de 0.08 mcg/ml, el

promedio de las 36 lecturas de 0.1 mcg/ml fuera de 15 mm y el promedio de lecturas en esta serie de tres placas fuera de 14.8 mm, la corrección deberá ser de 0.2 mm. Ahora, si el promedio de lecturas para 0.08 mcg/ml de esa serie de placas es de 14 mm, el valor corregido debe ser de 14.2 mm. Para trazar la curva, colocar los puntos de los valores corregidos, incluyendo el promedio de lecturas correspondiente a la concentración de 0.1 mcg/ml, en papel semilogarítimico de dos ciclos, usando la ordenada para la concentración en mcg/ml y la abscisa para el diámetro de las zonas de inhibición. Trazar la curva patrón a través de esos puntos, ya sea por unión de los mismos o por medio de la ecuación:

$$L = \frac{3a + 2b + c - 3}{5}$$

$$H = \frac{3e + 2d + e + a}{5}$$

Donde:

L = Diámetro de zona corregido, para la concentración mas baja de la curva patrón.

H = Diámetro de zona corregido, para la concentración más alta de la curva patrón.

C = Promedio de diámetro de zonas de las 36 lecturas correspondientes a la concentración de 0.1 mcg/ml de muestra patrón.

a, b, c, d = Valores promedio corregidos para 0.064, 0.08, 0.125 y 0.156 mcg/ml de solución patrón, respectivamente.

Colocar los valores obtenidos y conectarlos mediante una línea recta.

- i) Valoración: Usar tres placas para cada muestra. Llenar tres cilindros de cada placa con la solución de 0.1 mcg/ml de solución patrón y los otros tres cilindros con una dilución de la muestra, que tenga una concentración estimada de 0.1 mcg/ml. Incubar todas las placas, incluyendo las que contienen la curva patrón, a 32°C, durante toda la noche y medir entonces el diámetro de inhibición de cada zona.
- Para estimar la potencia de la muestra, promediar los valores de las zonas de inhibición de la muestra patrón y las lecturas de las zonas de inhibición de la muestra problema, en las tres placas usadas. Si la muestra problema da tamaños de zona mayores que el promedio de la muestra patrón, agregar la diferencia entre ellos a la zona de 0.1 mcg/ml en la curva patrón. Si el promedio de los valores del problema es más bajo que el promedio de valores del patrón, restar la diferencia entre ellos del valor de 0.1 mcg/ml en la curva patrón. Leer en la misma, la concentración correspondiente a esos valores de tamaños de zona corregidos y multiplicar el valor obtenido por el factor de dilución para obtener el

contenido de antibiótico en la muestra problema.

2) Método Yodométrico.

A) Reactivos:

- a) Solución de tiosulfato de sodio 0.01 N
- b) Solución de yodo 0.01 N
- c) Hidróxido de sodio 1.0 N
- d) Acido clorhídrico 1.2 N (Iguales volúmenes de hidróxido de sodio 1.0 N y ácido clorhídrico 1.2 N, al mezclarse, producen una solución con pH 1.0)
- e) Solución reactivo de almidón.
- f) Buffer de fosfato de potasio 1%, pH 6.0:
 - Fosfato dibásico de potasio: 2.0 g.
 - Fosfato monobásico de potasio: 8.0 g.
 - Agua destilada, c.s.p.: 1,000 ml.

B) Preparación de la muestra patrón: Usar una solución acuosa de muestra patrón de ampicilina, conteniendo 1.0 mg/ml.

C) Preparación de la muestra problema: Disolver y diluir una porción adecuada de muestra a obtener una concentración final de aproximadamente 1.0 mg/ml, utilizando el diluyente adecuado.

- a) Ampicilina..... Agua destilada
- b) Ampicilina trihidrato... Agua destilada
- c) Ampicilina sódica..... Buffer de fosfato de potasio 1%, pH 6.0

D) Valoración: Trabajar simultáneamente con la muestra patrón y con la muestra problema.

Transferir una alícuota de 2 ml. de muestra a cada uno de dos matraces de yodo. A uno de ellos añadir 2 ml de hidróxido de sodio 1.0 N y dejar reposar a temperatura ambiente por 15 minutos. Agregar entonces 2 ml de ácido clorhídrico 1.2 N y 10 ml. de solución de yodo 0.01 N. Después de un reposo de 15 minutos, titular el exceso de yodo con la solución de tiosulfato de sodio 0.01 N; cerca del punto final de la titulación; agregar una gota de solución de almidón o unos 5 ml de tetracloruro de carbono; continuar la titulación por adición de porciones de unos 0.02 ml. de tiosulfato de sodio 0.01 N, agitando vigorosamente después de cada adición. El punto final de la titulación es alcanzado cuando el color azul del complejo almidón-yodo desaparece, o cuando la capa de tetracloruro de carbono se torna incolora.

Al matraz que no fue tratado con hidróxido de sodio, añadirle 10 ml. del yodo 0.01 N y titular inmediatamente con el -

tiosulfato de sodio 0.01 N, para la determinación del blanco.

- E) Cálculos: Calcular el F, factor (microgramos de actividad en cada mililitro de tiosulfato de sodio 0.01 N consumido), por medio de la fórmula:

$$F = \frac{W_s \times P}{V_s}$$

Donde:

W_s = Peso en mg. de muestra patrón en los 2 ml. titulados.

P = Potencia de muestra patrón en microgramos por miligramo.

V_s = Mililitros de tiosulfato de sodio usados en la titulación del blanco de la muestra patrón menos mililitros de tiosulfato de sodio usados en la titulación de la muestra patrón hidrolizada con el álcali (la diferencia es el equivalente al número de mililitros de yodo 0.01 N absorbidos por el patrón hidrolizado).

Calcular la potencia de la muestra problema, en microgramos por miligramo, por medio de la siguiente fórmula:

$$\text{mcg/mg} = \frac{V_u \times F}{W_u}$$

Donde:

V_u = Mililitros de tiosulfato de sodio usados en la determinación del blanco del problema menos mililitros de tiosulfato de sodio usados en la titulación de la muestra hidrolizada (la diferencia es el equivalente al número de mililitros de yodo 0.01 N absorbidos por la muestra que fue hidrolizada).

W_u = Peso en miligramos, en los 2 ml. de muestra problema titulados.

3) Método de Valoración Colorimétrica por Hidroxilamina:

A) Reactivos:

- a) Solución de clorhidrato de hidroxilamina. Disolver 350 g. de clorhidrato de hidroxilamina en suficiente agua a obtener un litro.
- b) Solución buffer. Disolver 173 g. de hidróxido de sodio y 20.6 g. de acetato de sodio, en agua a obtener un litro de solución.
- c) Hidroxilamina neutra. Mezclar volúmenes iguales de a) y b); checar el pH y ajustar, si es necesario, a $\text{pH } 7.0 \pm 0.1$. A un volumen de esta solución neutralizada, agregar 8 volúmenes de agua destilada y 2 volúmenes de --

etanol 95%. Esta solución debe utilizarse el mismo día.

d) Sulfato férrico amónico. Disolver 272 g. de sulfato férrico amónico en una mezcla de 26 ml. de ácido sulfúrico concentrado y agua suficiente para hacer un litro. Este reactivo puede utilizarse dentro de una semana si es mantenido a temperatura ambiente dentro de un recipiente ámbar.

e) Buffer de fosfato de potasio 1%, pH 6.0 Disolver 2 g. de fosfato dibásico de potasio y 8 g. de fosfato monobásico de potasio en cantidad suficiente de agua destilada para obtener un litro.

B) Preparación de la muestra patrón: Disolver una porción adecuada de muestra patrón en suficiente buffer de fosfato de potasio 1%, pH 6.0 para tener una concentración final de 2 mg./ml de patrón.

C) Preparación de la muestra problema: Disolver y diluir una porción adecuada de muestra en suficiente buffer de fosfatos 1% pH 6.0 a hacer una solución conteniendo 2 mg/ml.

D) Procedimiento, Utilizando un volumen de 1 a 2 ml. de muestra (patrón y problema), agregar igual volumen de agua y mezclar. Añadir 25 volúmenes de hidroxilamina neutra y dejar reaccionar 5 minutos; adicionar 1.25 volúmenes de sulfato férrico amónico, mezclar y determinar, después de un reposo de - -

exactamente 3 minutos, la absorbancia de las soluciones resultantes, a una longitud de onda de 480 $m\mu$, usando un adecuado espectrofotómetro y un blanco de reactivos preparado por tratamiento de un volumen de agua, de la misma manera que la muestra patrón y la muestra problema. El tiempo transcurrido entre la adición del sulfato férrico amónico y la lectura de la absorbancia debe ser el mismo.

E) Cálculos: Determinar la potencia así:

$$\% = \frac{A_1 \times \text{potencia patrón (en mcg/ml)}}{A_2}$$

Donde:

A_1 = Absorbancia problema

A_2 = Absorbancia patrón

4.- Método Espectrofotométrico con Buffer de Sulfato de Cobre.

- a) Solución buffer de sulfato de cobre, pH 5.2: Disolver 15.22 g. de fosfato de sodio anhidro en suficiente agua a obtener 536 ml. y agregar una solución de ácido cítrico al 2.1% w/v hasta que el pH de la solución esté entre 5.15 y 5.25 (unos 464 ml.) Mezclar 985 ml. de la solución resultante con 15 ml. de solución 0.393% w/v de sulfato de cobre.

b) Procedimiento: Disolver aproximadamente 0.1 g. de muestra, adecuadamente pesado, en suficiente agua a producir 100 ml. Diluir 2 ml. a 100 ml. con solución buffer de sulfato de cobre, pH 5.2; transferir 10 ml. de solución resultante a un tubo de ensayo - tapado y calentar en un baño de agua a 75° por 30 minutos. Rápidamente enfriar a temperatura ambiente, ajustando el volumen si es necesario a 10 ml. con agua y medir la extinción de una capa de 1 cm. a una máxima de 320 m μ aproximadamente, usando en la celda de referencia la solución buffer no calentada de la substancia que se está examinando. Calcular el contenido de ampicilina relacionando la extinción de la muestra a la extinción de una muestra patrón de ampicilina trihidrato y al contenido declarado de ampicilina de la misma.

PUREZA E IDENTIDAD

1) Toxicidad.

Preparar la muestra de acuerdo con la siguiente tabla:

(C. F. R. 1970):

| <u>Muestra</u> | <u>Solvente</u> | <u>Conc.</u> mg/ml |
|-----------------------|---------------------------|-----------------------|
| Ampicilina | Hidróxido de sodio 0.04 N | 20 |
| Ampicilina trihidrato | Hidróxido de sodio 0.04 N | 20 |
| Ampicilina sódica | Agua destilada estéril | 40 |

Inocular intravenosamente a cada uno de cinco ratones de peso comprendido entre 18 y 25 g. con 0.5 ml. de solución de la muestra preparada según monografía. La inyección debe efectuarse dentro de un período de no más de cinco segundos. Si ningún animal muere dentro de 48 horas, la muestra es atóxica. Si uno o más animales muere dentro de las 48 horas, repetir la prueba una o más veces, usando para cada prueba cinco o más ratones no utilizados previamente, que tengan un peso de 20 g. (± 0.5) cada uno. Si el total de muertes en 48 horas es menor del 10% del número total de animales probados, incluyendo la prueba original, la muestra se considera como atóxica.

2) Humedad

A) Ampicilina y Ampicilina Trihidrato.

Transferir unos 100 mg. de polvo fino a un recipiente tarado - equipado con un tapón de vidrio esmerilado y tapar. Pesar y meter dentro de un horno de vacío, colocando el tapón del recipiente de manera que no cierre durante el período de secado. Secar a 60°C a una presión de 5 mm de mercurio o menos, por 3 horas. Al finalizar el tiempo de secado, llenar el vacío con aire seco pasado a través de un agente secante (silica gel o ácido sulfúrico). Ajustar el tapón y dejar enfriar el recipiente en un desecador. - Calcular el porcentaje de pérdida.

B) Ampicilina sódica.

- a) Equipo: Utilizar un aparato adecuado consistente de buretas - automáticas, agitador magnético, electrodos de platino conectados a un dispositivo electrométrico adecuado, etc.
- b) Reactivos: Reactivo de Karl Fischer y solución de metanol-agua U.S.P.
- c) Estandarización del reactivo de Karl Fischer. Agregar un volumen conocido de reactivo de Karl Fischer a un vaso para titulación previamente secado a 105°C y mantenido en un desecador. - Introducir la barra agitadora y los electrodos de platino que están conectados a un aparato electrométrico adecuado para medir el punto final. Agitar y titular con la solución metanol-agua hasta punto final. Calcular los mililitros de reactivo de Karl Fischer equivalentes a cada mililitro de solución metanol-agua. Añadir una porción adecuada de agua (aproximadamente 50 mg.) a un vaso para titulación seco. Agregar un exceso de reactivo de Karl Fischer y entonces titular con la solución metanol-agua. Calcular 10 miligramos de agua que equivalen a cada mililitro de reactivo de Karl Fischer. Estandarizar el reactivo - de esta manera diariamente.

$$e = \frac{w}{v_1 - v_2}$$

Donde

e = mg. de agua equivalentes a 1 ml. de reactivos de Karl -
Fischer.

w = Peso de agua en mg.

v_1 = Volumen de reactivo de Karl Fischer usado.

v_2 = Volumen de solución metanol-agua usado.

f = Volumen de reactivo de Karl Fischer equivalente a 1 ml.
de solución metanol-agua.

- d) Procedimiento: Pesar adecuadamente unos 300 mg. de muestra en el vaso para titulación seco. Agregar un exceso de reactivo de Karl Fischer y titular con solución metanol-agua hasta que el punto final es alcanzado.

$$\text{Porcentaje de agua} = \frac{(v_1 - v_2 f) \times e \times 100}{w_s}$$

Donde:

w_s = Peso de la muestra en mg.

3) pH

Preparar una solución acuosa conteniendo 10 mg./ml. Determinar el pH de esta solución a 25°C utilizando un potenciómetro equipado con electrodos de vidrio y de calomel.

4) Cristalinidad.

Suspender una pequeña cantidad de muestra en una gota de aceite

mineral y observar por medio de un microscopio polarizado. La ampicilina muestra partículas que revelan un fenómeno de birrefringencia (interferencia de colores). La ampicilina revela - también índices de refracción cuando es examinada por el método de inmersión.

5) Contenido de Ampicilina.

- a) Titulación ácido: Transferir una porción de muestra de unos 400 mg. a un matraz Erlenmeyer de 125 ml. Agregar 50 ml. de dimetilformamida; agitar hasta disolver y mientras se agita, titular con solución de metóxido de litio 0.1 N, usando como indicador cuatro gotas de azul de bromotimol en dimetilformamida. Cada ml. de metóxido de litio 0.1 N es equivalente a 34.94 mg. de ampicilina. Calcular el contenido en base seca.
- b) Titulación amina: Transferir unos 400 a 500 mg. de muestra a un matraz Erlenmeyer. Añadir 50 ml. de ácido acético glacial; calentar en un baño de agua a 70°C agitando hasta disolución total. Agregar 3 gotas de solución al 0.5% de violeta cristal en ácido acético y titular con ácido perclórico 0.1 N. Cada ml. del ácido es equivalente a 34.94 mg. de ampicilina. Calcular en base anhidra.

6) Pirógenos.

- a) Material: Las jeringas, agujas y material de vidrio deben estar

libres de pirógenos, lo que se logra por calentamiento a 250°C por no menos de 30 minutos, o por otro método adecuado. Antes de inyectar, el producto que va a ser probado debe estar a una temperatura aproximada de 37°C.

- b) Animales de prueba: Usar conejos sanos, maduros, que tengan un peso superior a 1.5 Kg. Los animales deben mantenerse en jaulas individuales en una área de temperatura uniforme ($\pm 3^\circ\text{C}$) y libres de cualquier excitación. Antes de usar animales por vez primera, seguir cuidadosamente lo descrito bajo procedimiento, eliminando la inyección. No usar los animales antes de 48 horas después de la última vez y no antes de dos semanas, si la muestra resultó pirogénica.

Hacer la prueba en condiciones similares a aquellas bajo las cuales se encuentran normalmente los conejos.

- c) Temperatura: Usar un termómetro clínico para el cual el tiempo necesario para alcanzar la máxima temperatura es conocido. Insertar el termómetro en el recto del animal, a una profundidad de no menos de 7.5 cms. y determinar la temperatura después de un tiempo no menor que el determinado previamente como suficiente. Utilizar ésta como temperatura de control.

En cualquier prueba utilizar animales cuyo control de temperatura no varíe más de un grado uno de otro y no usar animales cuya temperatura exceda de 39.8°C.

d) Procedimiento: Diluir la muestra con agua destilada libre de pirógenos (en autoclave, a 121°C no menos de 20 minutos) a una concentración de 20 mg. de ampicilina por ml. Inyectar - 1 ml. por kilo de peso del animal, en la vena marginal de la oreja de cada uno de tres conejos, dentro de los 30 minutos subsiguientes a la toma de la temperatura de control. Determinar las temperaturas de los animales 1, 2 y 3 horas después de la inyección.

e) Interpretación: Si ningún conejo muestra un aumento de temperatura de más de 0.6°C y la suma de las tres elevaciones no es mayor de 1.4°C , el producto está libre de pirógenos. En caso contrario, repetir la prueba con cinco conejos. Si no más de tres de los ocho conejos muestran un aumento de 0.6°C y la suma de los ocho incrementos no es mayor de 3.7°C , el material pasa la prueba.

7) Identificación.

a) Absorción al infrarrojo. Preparar una tableta al 0.5% en bromuro de potasio seco y correr su gráfica de absorción. Las ampicilinas muestran picos a las mismas longitudes de onda que una muestra patrón.

b) Suspender 10 mg. de muestra en un mililitro de agua. Añadir 2 ml. de una mezcla de 2 ml. de tartrato de cobre y potasio y 6 ml. de agua. Se produce un color magenta violeta inmediato.

c) Cuando unos 2 mg. de muestra son tratados con 2 mg. de ácido - cromotrópico sal sódica y 2 ml. de ácido sulfúrico, y se sumergen en un líquido a 150°C, la solución, al mezclarse y observarse cada 30 segundos, exhibe:

| <u>Min.</u> | <u>Color</u> |
|-------------|-----------------|
| 0 | Incoloro |
| 1/2 | Incoloro |
| 1 | Incoloro |
| 1 1/2 | Incoloro |
| 2 | Púrpura |
| 2 1/2 | Púrpura obscuro |
| 3 | Violeta |
| 3 1/2 | Violeta |
| 4 | Negro |

C A P I T U L O V

P A R T E E X P E R I M E N T A L

El trabajo práctico se realizó en el Departamento de Control Analítico de Laboratorios Sanfer, S. A., ensayándose exclusivamente lotes de Ampicilina Trihidrato, debido a que de esta materia prima se dispuso de mayor número de muestras.

Todos los lotes analizados son de fabricación nacional, elaborados por Orsabe, S. A., filial de Beecham Research Laboratories.

Los resultados obtenidos fueron:

| Lote | pH | Humedad | P. Química | | P. Microb. mcg/mg | Tox. | I. R. |
|------|------|---------|-----------------------------|---------------------|----------------------|------|-------|
| | | | CuSO ₄ mcg/mg | Yodom. | | | |
| 1 | 4.5 | 13.0 | 975 ⁺⁺ | 976 ⁺⁺⁺ | 969 ⁺ | Pasa | Pasa |
| 2 | 4.25 | 13.7 | 964 ⁺⁺⁺ | 931 ⁺ | 950 ⁺⁺ | " | " |
| 3 | 4.2 | 13.7 | 963 ⁺⁺ | 983 ⁺⁺⁺ | 958 ⁺ | " | " |
| 4 | 4.8 | 13.3 | 982 ⁺⁺ | 1023 ⁺⁺⁺ | 961 ⁺ | " | " |
| 5 | 4.4 | 13.2 | 992 ⁺⁺ | 995 ⁺⁺⁺ | 982 ⁺ | " | " |
| 6 | 4.0 | 13.5 | 960 ⁺⁺ | 959 ⁺ | 968 ⁺⁺⁺ | " | " |
| 7 | 4.0 | 13.8 | 990 ⁺⁺⁺ | 981 ⁺ | 987 ⁺⁺ | " | " |
| 8 | 4.24 | 14.1 | 981 ⁺⁺ | 988 ⁺⁺⁺ | 957 ⁺ | " | " |
| 9 | 4.05 | 12.8 | 985 ⁺⁺⁺ | 975 ⁺⁺ | 936 ⁺ | " | " |
| 10 | 4.6 | 13.7 | 986 ⁺⁺ | 988 ⁺⁺⁺ | 969 ⁺ | " | " |
| 11 | 4.55 | 14.4 | 1002 ⁺⁺⁺ | 1000 ⁺⁺ | 998 ⁺ | " | " |

| Lote | pH | Humedad | P. Química | | P. Microb. mcg/mg | Tox. | I.R. |
|------|------|---------|-----------------------------|---------------------|----------------------|------|------|
| | | | CuSO ₄ mcg/mg | Yodom. | | | |
| 12 | 4.0 | 13.4 | 956 ⁺ | 963 ⁺⁺ | 984 ⁺⁺⁺ | Pasa | Pasa |
| 13 | 4.0 | 13.1 | 980 ⁺⁺ | 984 ⁺⁺⁺ | 931 ⁺ | " | " |
| 14 | 4.0 | 13.8 | 993 ⁺⁺ | 1000 ⁺⁺⁺ | 987 ⁺ | " | " |
| 15 | 4.0 | 13.5 | 981 ⁺⁺ | 987 ⁺⁺⁺ | 967 ⁺ | " | " |
| 16 | 4.0 | 13.5 | 979 ⁺⁺ | 983 ⁺⁺⁺ | 950 ⁺ | " | " |
| 17 | 4.7 | 13.3 | 972 ⁺⁺⁺ | 970 ⁺⁺ | 932 ⁺ | " | " |
| 18 | 4.1 | 13.1 | 946 ⁺⁺⁺ | 921 ⁺ | 935 ⁺⁺ | " | " |
| 19 | 4.05 | 13.4 | 947 ⁺ | 951 ⁺⁺ | 992 ⁺⁺⁺ | " | " |
| 20 | 4.25 | 13.9 | 967 ⁺⁺ | 981 ⁺⁺⁺ | 947 ⁺ | " | " |
| 21 | 4.2 | 13.8 | 967 ⁺⁺ | 977 ⁺⁺⁺ | 929 ⁺ | " | " |
| 22 | 4.0 | 13.6 | 959 ⁺⁺⁺ | 954 ⁺⁺ | 926 ⁺ | " | " |
| 23 | 4.0 | 13.5 | 958 ⁺⁺⁺ | 955 ⁺⁺ | 931 ⁺ | " | " |
| 24 | 4.1 | 13.2 | 935 ⁺⁺ | 928 ⁺ | 962 ⁺⁺⁺ | " | " |
| 25 | 4.0 | 13.2 | 966 ⁺⁺ | 976 ⁺⁺⁺ | 940 ⁺ | " | " |
| 26 | 4.0 | 13.4 | 947 ⁺⁺ | 945 ⁺ | 958 ⁺⁺⁺ | " | " |
| 27 | 4.0 | 13.4 | 965 ⁺⁺⁺ | 963 ⁺⁺ | 938 ⁺ | " | " |
| 28 | 4.05 | 13.7 | 978 ⁺⁺⁺ | 944 ⁺⁺ | 934 ⁺ | " | " |
| 29 | 4.0 | 14.0 | 986 ⁺⁺ | 992 ⁺⁺⁺ | 980 ⁺ | " | " |
| 30 | 4.0 | 14.0 | 982 ⁺⁺ | 991 ⁺⁺⁺ | 959 ⁺ | " | " |
| 31 | 4.03 | 13.9 | 947 ⁺⁺ | 961 ⁺⁺⁺ | 943 ⁺ | " | " |
| 32 | 4.25 | 13.7 | 941 ⁺ | 944 ⁺⁺ | 986 ⁺⁺⁺ | " | " |

Se señalan en las listas anteriores con 1, 2 y 3 asteriscos, - los diversos grados de potencia encontrados para cada lote por los - - tres diferentes métodos de valoración empleados.

+ representa los valores más bajos.

++ representa los valores intermedios.

+++ representa los valores más altos

De la comparación de estos resultados, señalamos para el método microbiológico, lo siguiente:

| | |
|---|-------------|
| 1) Porcentaje de valores con potencia más baja: | 71.9 % |
| 2) Porcentaje de valores con potencia intermedia: | 9.4 |
| 3) Porcentaje de valores con potencia más alta: | <u>18.7</u> |
| | 100.0 % |

Para el método yodométrico:

| | |
|---|-------------|
| 1) Porcentaje de valores con potencia más baja: | 18.8 % |
| 2) Porcentaje de valores con potencia intermedia: | 31.2 |
| 3) Porcentaje de valores con potencia más alta: | <u>50.0</u> |
| | 100.0 % |

Para el método de sulfato de cobre:

| | |
|---|-------------|
| 1) Porcentaje de valores con potencia más baja: | 9.4 % |
| 2) Porcentaje de valores con potencia intermedia: | 59.3 |
| 3) Porcentaje de valores con potencia más alta: | <u>31.2</u> |
| | 100.0 % |

C O N C L U S I O N E S

De los resultados obtenidos en la parte experimental de este trabajo puede concluirse lo siguiente:

1.- El método microbiológico, reconocido oficialmente como el procedimiento de elección para determinar la potencia de cualquier tipo de ampicilina, no siempre es el más acertado ya que: "Los procedimientos biológicos son generalmente menos precisos, requieren más tiempo y están más condicionados que las valoraciones químicas". Así, se ha observado que es éste un método que está sujeto a múltiples factores, como son: comportamiento del microorganismo, variaciones en la temperatura de incubación, efectividad del medio de cultivo y manipulaciones. Por otra parte, queda demostrado que un alto porcentaje de resultados tienden a ser bajos en relación a los otros métodos de valoración probados. De lo expuesto anteriormente, puede deducirse que esta técnica no es aconsejable para análisis de productos en proceso, sino más bien para materia prima y producto terminado en que es indispensable la determinación de la potencia microbiológica.

2.- Para la determinación de la potencia en cualquier ampicilina, el método yodométrico es el más adecuado, sobre todo para el análisis de productos en proceso, cuando se requiere, por ejemplo, determinar la homogeneidad de una mezcla y su contenido, para poder continuar con el proceso y cuando el factor tiempo es de suma importancia, ya que es éste un método rápido, con el que se tienen resultados reproducibles y -

✓

con el que es posible trabajar varias muestras en serie, dos muestras - patrón y doce muestras problema, los cuales dan lugar a un total de 52 titulaciones: 26 blancos y 26 muestras reaccionantes. Para lograr lo anterior, es necesario contar con el equipo apropiado como son microburetas, pipetas, jeringas semi-automáticas y agitadores magnéticos, con lo que se logra rapidez y precisión.

4.- El método espectrofotométrico con buffer de sulfato de cobre es poco práctico y requiere de un tiempo igual o mayor que el método de yodo. Se encontró que pequeñas fluctuaciones en la temperatura, variación en el período de calentamiento, así como en el de enfriamiento y entre este último y la determinación de la absorbancia de las muestras, afectan los resultados. Además, la necesidad de utilizar un blanco para cada muestra ocasiona que la determinación en serie se dificulte.

5.- La prueba de toxicidad es sencilla y relativamente sin problemas. Ningún lote analizado ha resultado tóxico.

6.- En el caso del contenido de humedad, se encontró que es útil emplear el método de Karl Fischer (B.P.) ya que con él se obtienen resultados confiables, siendo, además, más preciso que el de secado al vacío. (C. F. R.).

7.- Se considera que la determinación del contenido de ampicilina es de poca importancia, ya que el mismo se puede deducir de la potencia encontrada.

8.- En el caso de la identificación, se piensa que el espectro de absorción al infrarrojo es suficiente para garantizar la idoneidad de la muestra.

B I B L I O G R A F I A

- 1.- Acred. P; Brown, D.M., et. al. Pharmacology and Chemotherapy of ampicillin. Brit. J. Pharmacol. 18; 356 (1962)
- 2.- Batchelor, F.R. et. al. Lancet I; 1175 (1967)
- 3) Betancourt, L.V.M.; Rosas, H.; et. al. Estudio Clínico del Na-274. Sem. Med. Mex.; Vol LIX, Num. 757 (1969)
- 4.- Biro C.; Antibioticoterapia. 1-12 (1970)
- 5.- British Pharmacopeia; General Med. Council. The Pharmaceutical press. London. 1968. P. 46-51
- 6.- Barber, M. Chain, E.B.; Antibacterial Chemotherapy. Semisynthetic Penicillins. Am Rev. Pharmacol. 4, 115 (1964)
- 7.- Cannata, C.; Oral Therapy of Syphilis with ampicillin. Civic Hospital "S. Paolo". Dermatological Div. (1970)
- 8.- Code of Federal Regulacions. Title: 141.2-141.5; 141a5; 141a.111; 141a.123; 141a.127; 146a.6; 146a.119. Food and Drugs. 1970
- 9.- Eichenwald, H.F., Terapia Antimicrobiana en Países de Desarrollo. Sobretiro de Reportes Médicos. Vol. I Núm. 11, 30-31 (1970)
- 10.- Holloway, W.J., et. al., Clinical Experience with oral and parenteral ampicillin. Antimicrobial Agents and Chem., 311 (1963)

- 11.- Hidalgo y Mondragón, M. C., Farmacia Química; Ed. Alhambra; Madrid, 1969. p. 489-504.
- 12.- Martindale., Extra Pharmacopeia, Ed. 25th., R.G. Todd, Londres, 1967.
- 13.- O'Neil, B., The Penicillins; Can. Pharm. J., Num, 101, 90-5 (1968)
- 14.- Poole, J.W., Bahal, C.K.; Dissolution Behaviour and Solubility of Ampicillins; J. Pharm. Sciences, Num, 57, 1945-1948 (1968)
- 15.- Chase, G.D.; Deno. R. A.; Martin A.N., et. al. Remington's Pharmaceutical Sciences, 14 th. Ed.; Mack Publishing Co.; Pag. 12-6-8, 1223-6. 1970
- 16.- Salle, A. J.; Bacteriología. Segunda edición. Ed. Gustavo Gili. 1965; Pag.79-81, 495, 498-506
- 17.- Simón, H.I., The Newer Penicillins; Calif. Med., Num. 97, 135 (1962)
- 18.- Sánchez R. J. M., Gutiérrez G., Meningoencefalitis Purulenta; Gaceta Médica de Méx., Vol. 101, Num. 6, 747-56 (1971)
- 19.- Stewart, G. T., et. al., J. Amer. Med., Num. 208, 2007, (1969)
- 20.- Sutherland, Rolinson, et. al. The Pharm. Journal, 117-9, (1966)