

DEPARTAMENTO DE QUIMICA FISICA
FACULTAD DE FARMACIA. UNIVERSIDAD DE GRANADA

APLICACION DEL METODO DE SMITH
AL ESTUDIO DE DEGRADACION DE AMPICILINAS

López, C. Martínez, A. y Thomas, J.

RESUMEN

Se ha aplicado el método de Smith a la valoración de cuatro clases de ampicilinas con estudio de las condiciones óptimas de formación del producto de degradación ácida a 75°C, pH 5,2 y presencia de sal cúprica. Las condiciones no resultan comparables a las obtenidas con el clorhidrato de pivampicilina.

SUMMARY

The degradation of ampicilines has been studied by Smith's method. The experimental conditions are: 75°C, pH 5.2, and the presence of ion Cu^{++} .

The conditions are not comparable with pivampiciline hydrochloride.

INTRODUCCION

Los métodos espectrofotométricos son generalmente utilizados en la determinación de la ampicilina y de ellos, es el de Smith y col. (1) el empleado más comúnmente.

El método tiene sus antecedentes en los trabajos de Herriott (2), Stock (3) y Holbrook (4), que reconocen la presencia de una sustancia intermedia, el ácido penicilénico, en la degradación de la ampicilina en condiciones controladas de concentración protónica. El método de Smith ha sido aplicado a la determinación de antibióticos en medios biológicos (5). A. Doadrio (6) describe un método espectrofotométrico basado en la formación de un complejo cúprico. Otro procedimiento espectrofotométrico es el descrito por Tutt y Schwarts (7) basado en la obtención del derivado α -benzamido-bencil-penicili-

na y posterior determinación espectrofotométrica del ácido α -benzamido-bencil-penicilénico.

En el presente trabajo se da cuenta de los resultados obtenidos para cuatro clases de ampicilinas, mediante la aplicación del método de Smith, con análisis detallado de los pasos del proceso en que se basa dicho método.

MATERIAL Y METODOS

Reactivos.-

Sulfato de cobre crist. Panreac; ácido cítrico crist. Probus; fosfato bisódico crist. Probus; ácido clorhídrico Merck; ampicilina sódica; ampicilina trihidrato; ampicilina benzatina; clorhidrato de pivampicilina.

Instrumental.-

Espectrofotómetro Beckman DU2; espectrofotómetro Beckman DBG7; potenciómetro pH-meter 24 Radiometer; termostato Selecta $\pm 0,1^{\circ}\text{C}$.

La metodología seguida es la descrita en el trabajo de Smith.

RESULTADOS

Efecto del tiempo de calefacción.-

Se ha partido de una disolución de $20\mu\text{g/ml}$ para cada una de las ampicilinas, que se ha tratado como se indica en el trabajo de Smith.

Los resultados se ha representado en la figura 1.

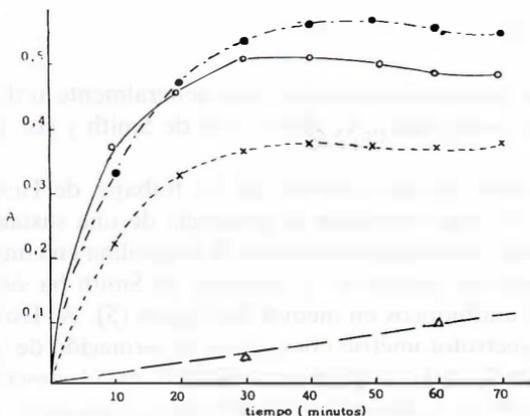


Figura 1.- Valores de absorbancia en función del tiempo de calentamiento. ○ ampicilina sódica; ● ampicilina trihidrato; × ampicilina benzatina y △ clorhidrato de pivampicilina.

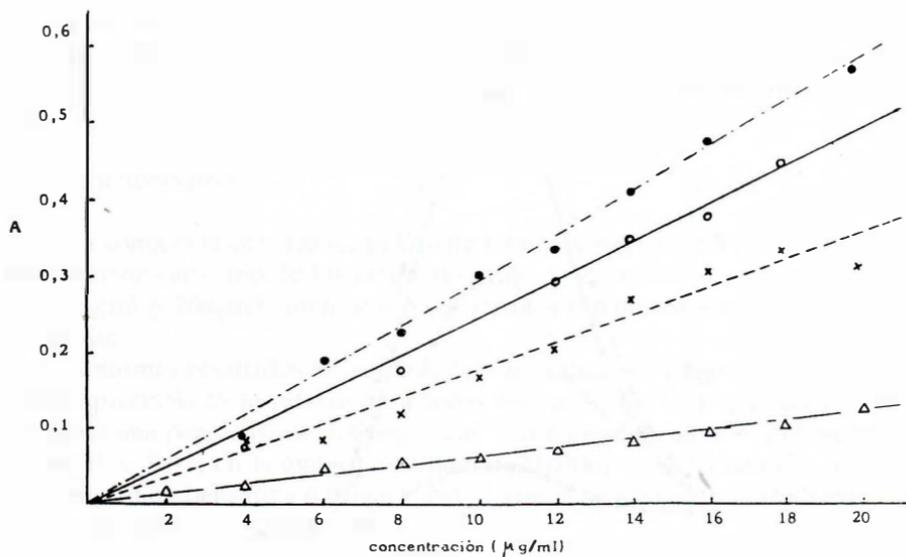
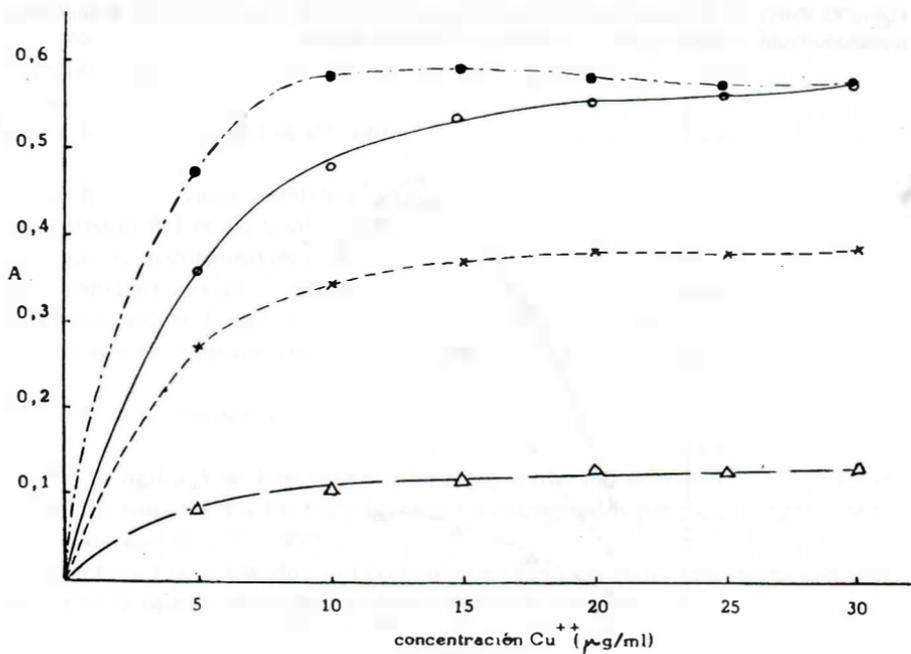


Figura 2.- Valores de absorbancia en función de la concentración de ampicilina. ○ ampicilina sódica; ● ampicilina trihidrato; × ampicilina benzatina y Δ clorhidrato de pivampicilina.



○ ampicilina sódica; ● ampicilina trihidrato; × ampicilina benzatina y Δ clorhidrato de pivampicilina.

Figura 4.- Valores de absorbancia en función de la concentración de Cu²⁺.

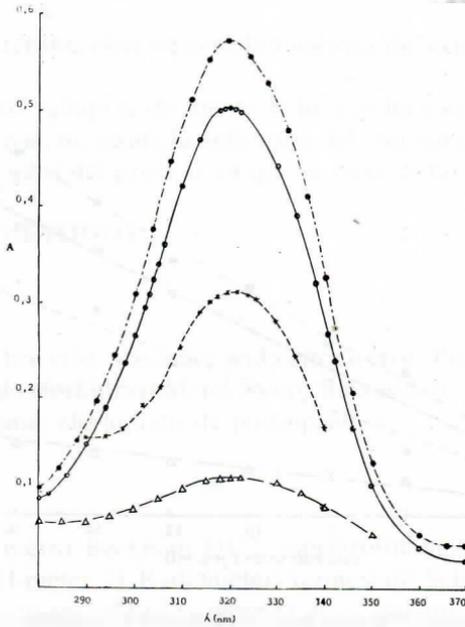


Figura 3.- Valores de absorción a diferentes longitudes de onda. ○ ampicilina sódica; ● ampicilina trihidrato; × ampicilina benzatina y △ clorhidrato de pivampicilina.

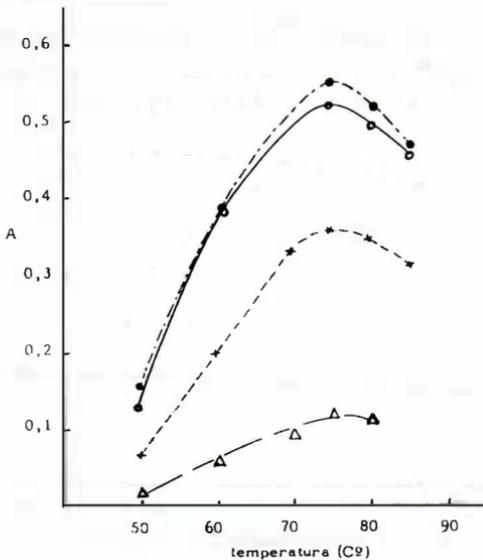


Figura 5.- Valores de absorción del producto de degradación a varias temperaturas. ○ ampicilina sódica; ● ampicilina trihidrato; × ampicilina benzatina y △ clorhidrato de pivampicilina.

Como puede apreciarse, el máximo de absorbancia, se alcanza en un tiempo comprendido entre los 30 y 50 minutos, excepto en el caso del clorhidrato de pivampicilina en el que el máximo se produce a los 100 minutos de calefacción.

Ley de Lambert-Beer.-

Para conocer si se satisface la Ley de Lambert-Beer se han preparado disoluciones de cada uno de los antibióticos, de concentraciones comprendidas entre $4\mu\text{g/ml}$ y $20\mu\text{g/ml}$, sometidas a los mismos tratamientos que en el caso precedente.

Los mismos resultados se han llevado a la gráfica de la figura 2, en donde resulta apreciable la linealidad para todos los casos. En la ampicilina sódica se obtiene una pendiente de $0,026\mu\text{g}^{-1}.\text{cm}^{-2}$, con un coeficiente de determinación de $r^2 = 0,97$; en la ampicilina trihidrato $0,030\mu\text{g}^{-1}.\text{cm}^{-2}$, con r^2 en la ampicilina benzatina $0,018\mu\text{g}^{-1}.\text{cm}^{-2}$, con $r^2 = 0,95$ y en clorhidrato de pivampicilina $0,00564$ y $r^2 = 0,98$.

Espectro de absorción UV.-

Se han registrado las absorciones espectrofotométricas de disoluciones de cada una de las muestras, en un margen de 280 a 370 nm (figura 3) apreciándose que siempre el máximo de absorción se presenta a 320 nm.

Efecto de la concentración de cobre.-

Se ha observado asimismo la influencia de la concentración de cobre en el desarrollo del color final. Para ello se han preparado disoluciones también a las que se incorporaron disoluciones de cobre, resultando así disoluciones cuyas concentraciones de metal van de 5 a $30\mu\text{g/ml}$. Los resultados se han representado en la figura 4, en la que se aprecia que las concentraciones de $15\mu\text{g/ml}$ son las óptimas para el desarrollo de la reacción coloreada.

Efecto de la temperatura.-

En la figura 5 se han representado los datos de absorción de las cuatro penicilinas sometidas a los tratamientos ya consignados pero con calentamientos que oscilan de 50° a 90°C .

También los resultados son coincidentes para las cuatro muestras con una temperatura óptima de calentamiento de 75°C .

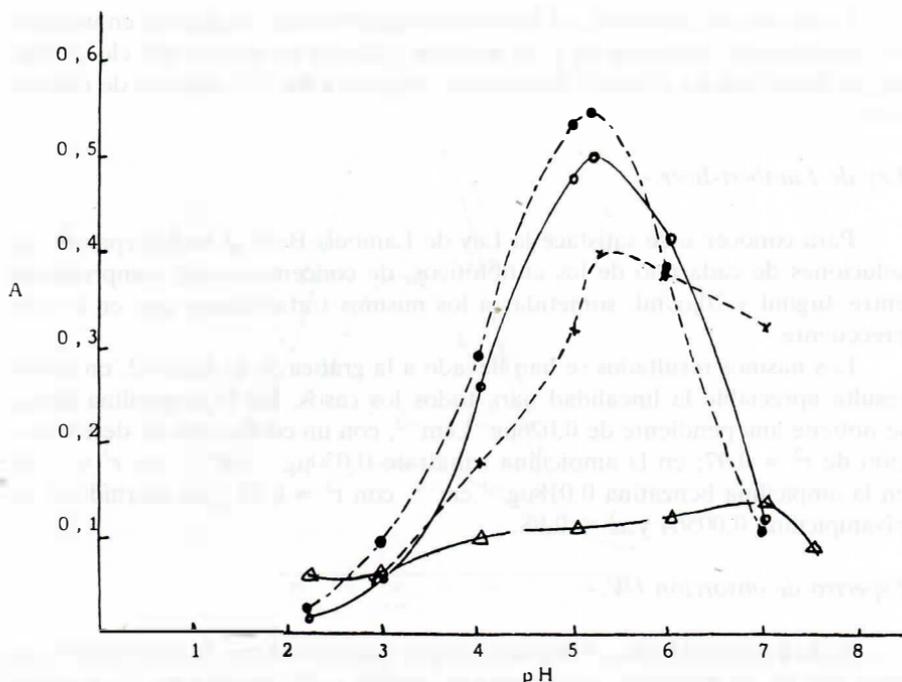


Figura 6.- Valores de absorbancias del producto de degradación a varios valores de pH del medio. ○ ampicilina sódica; ● ampicilina trihidrato; × ampicilina benzatina y △ clorhidrato de pivampicilina.

Efecto del pH del tampón.-

Finalmente se han realizado experiencias con medios tamponados de distintos valor de pH. Los resultados se indican en la figura 6. La óptima concentración protónica es 5,2, en coincidencia con las observaciones de Smith, excepto en el caso del clorhidrato de pivampicilina, en donde se observa que el máximo de absorbancia se consigue con valores de pH aproximadamente de 7.

De las observaciones precedentens puede deducirse que el método de Smith es igualmente aplicable a las cuatro clases de ampicilina. Sin embargo para la determinación cuantitativa de cada una de ellas es preciso construir una gráfica estandard a partir de disoluciones de concentraciones conocidas.

El tiempo óptimo de calefacción para la obtención del producto coloreado viene a ser de treinta a cincuenta minutos, con excepción del clorhidrato de pivampicilina, que es de cien minutos, existiendo una linealidad apreciable entre la concentración de la disolución original de ampicilina y el valor de la absorbancia, para una longitud de onda que es de 320 nm en todos los casos. En lo que respecta a la concentración de cobre, para el desarrollo de la reacción coloreada, se ha comprobado que la de quince μg por mililitro es la óptima y

que la temperatura de calentamiento más adecuada es de 75°C. La concentración protónica óptima es de 5,2 unidades de pH para las tres primeras muestras y de 7 para la cuarta.

BIBLIOGRAFIA

- (1) Smith, J.W.G., Grey, G.E. and Patel, V.J., *Analyst.*, 92, 247 (1967).
- (2) Herriott, R.M., *J. Biol. Chem.*, 164, 725 (1946).
- (3) Stock, F.G., *Analyst.*, 79, 662 (1964).
- (4) Holbrook, A., *J. Pharm. Pharmac.*, 10, 762 (1958).
- (5) Anglucchi, L. and Baldieri, M., *J. Pharm. Pharmacol.*, 23, 471 (1971).
- (6) Doadrio, A. y García-Mirasierra, M. *Ann. R. Acad. Pharm.*, 35, 125 (1969).
- (7) Tutt, D.E. and Schwartz, M.A. *Anal. Chem.*, 43, 338 (1971).