

DETERMINAÇÃO ESPECTROFOTOMÉTRICA DE ERITROMICINA EM MEDICAMENTOS *

Waldomiro PREGNOLATTO **
Neusa Santesso GARRIDO **

RIAL-A/399

PREGNOLATTO, W. & GARRIDO, N.S. — Determinação espectrofotométrica de eritromicina em medicamentos. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, 34: 47-51, 1974.

RESUMO: Neste trabalho foi descrito um método simples para a dosagem de eritromicina em medicamentos. O método envolve a determinação espectrofotométrica, a 540 nm, do composto formado quando da reação da eritromicina com xantidrol em meio ácido.

Estabeleceram-se as condições ideais para a reação e verificou-se a possibilidade de interferência de algumas substâncias que possam ser encontradas em mistura com eritromicina em medicamentos.

Testes de recuperação foram feitos. O erro do método é da ordem de 2%.

Também foram estabelecidas condições para separação e dosagem da eritromicina e seus sais, quando em mistura com tetraciclina e espiramicina, por cromatografia em camada delgada.

DESCRITORES: eritromicina em medicamentos, determinação espectrofotométrica; cromatografia em camada delgada, na determinação de eritromicina.

I N T R O D U Ç Ã O

A determinação da eritromicina em medicamentos constitui, ainda hoje, um problema, apesar de que a literatura já registra alguns métodos, tanto biológicos como químicos.

FORD *et alii*¹ preconizaram o uso de ácido sulfúrico 27 N como reagente para a determinação espectrofotométrica da eritromicina, enquanto que KORCHAGIN *et alii*² usaram como reagente ácido sulfúrico

18 N e leitura espectrofotométrica no visível, usando filtro azul.

Estes métodos são aplicáveis para eritromicina pura e não o são para preparados contendo antibióticos em misturas diversas.

PESEZ³ recomenda o uso de sulfato de metila na determinação de eritromicina usando como solvente etilmetilcetona. Este método apresenta os mesmos defeitos dos anteriores, com a desvantagem ainda de se ter que trabalhar com sulfato de metila.

* Realizado na Seção de Cosméticos e Produtos de Higiene do Instituto Adolfo Lutz, São Paulo, S.P.

** Do Instituto Adolfo Lutz.

A literatura registra ainda outros métodos para dosar eritromicina como o de WASHBURN⁸ (por espectrofotometria no infra-vermelho), só aplicável para a substância pura, pois para xaropes ou comprimidos este método é impraticável.

Os métodos de KUZEL *et alii*⁴ e TEPE *et alii*⁷ (hidrólise em meio alcalino e leitura em espectrofotômetro a 236 nm) também são aplicáveis para a substância pura.

KAKEMI *et alii*² (através de hidrólise alcalina, extração e reação com ácido bórico e metilorange e leitura espectrofotométrica em 508 nm), descrevem método trabalhoso envolvendo reação de hidrólise e extração, com resultados duvidosos.

OCHAB *et alii*⁵ recomendam um método para dosar eritromicina em presença de tetraciclina, que consiste em separá-las primeiramente por cromatografia em papel, usando como solvente a mistura clorofórmio — etanol — ácido acético anidro — água (100:10:10:1). A mancha correspondente à eritromicina é localizada pela imersão do papel em uma solução de ácido tricloroacético etanólico a 25%, contendo 0,4% de cloramina. A mancha é eluída com 5 ml de ácido acético glacial e a solução assim obtida é tratada com xantidrol (20 mg em 100 ml de ácido acético glacial ao qual se juntam 2 ml de ácido clorídrico concentrado. A reação se processa em banho-maria fervente por 3 minutos, segundo recomendação dos autores.

Procurou-se, neste trabalho, estabelecer um método rápido e prático para determinar eritromicina em medicamentos (xaropes, comprimidos e elixires), tendo como base a reação de Ochab *et alii* por nós modificada. Quantidades apropriadas do medicamento são dissolvidas em solução de ácido acético — etanol (1:1). Aliquotas dessa solução são tratadas com um reagente à base de xantidrol e o produto colorido resultante é dosado espectrofotometricamente a 540 nm. As leituras obtidas são comparadas em uma curva padrão pré-estabelecida.

MATERIAL E MÉTODOS

Material

Espectrofotômetro Coleman Junior II
Cubas de 16 mm de diâmetro
Cuba cromatográfica
Micropipetas
Placas de vidro de 20 x 20 cm

Reagentes

Xantidrol (9-xanthenol) a 0,15% p/v em ácido clorídrico — ácido acético (12:1)
Ácido acético — etanol (1:1)
Eritromicina
Ácido acético glacial
Ácido clorídrico
Sílica gel G
Acetato de amônio 15% (acertar até pH = 10,1 com hidróxido de amônio)

Solvente

Acetato de etila — isopropanol — acetato de amônio 15% — pH = 10,1 (9:7:8)

Técnicas

1. Determinação direta

Transfira para um balão volumétrico uma quantidade da amostra do produto a ser analisado de maneira que a solução final contenha de 50 a 200 µg de Eritromicina por ml e complete o volume com a solução de ácido acético-etanol (1:1). Homogeneize. Filtre, se necessário.

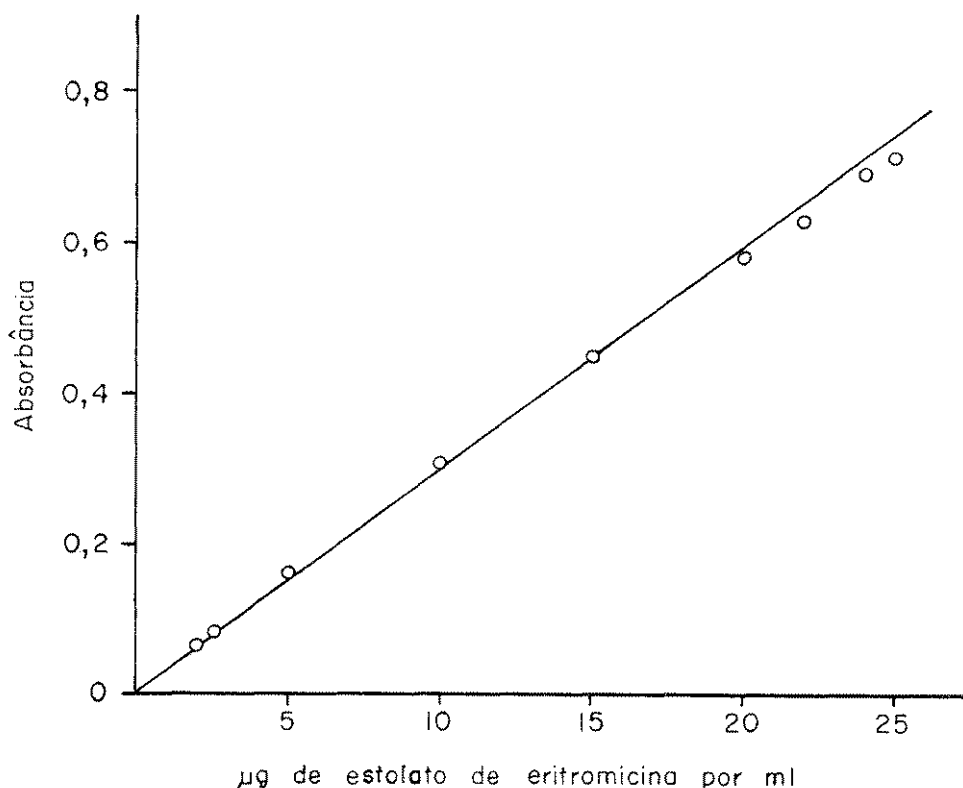
Em tubo de ensaio, pipete, pela ordem, 1 ml da solução amostra, 1 ml do reagente xantidrol e 8 ml de ácido acético glacial. Agite cuidadosamente.

Aqueça em banho-maria fervente durante, exatamente, um minuto e esfrie rapidamente em banho de gelo.

Transfira a solução para cuba de espectrofotômetro, espere 5 minutos, determine a absorbância a 540 nm, usando como branco o reagente + ácido acético (1:9).

Calcule, comparando a leitura em curva padrão pré-estabelecida (fig. pag. seguinte).

Observação: Os reagentes devem ser adicionados na ordem e os tempos indicados devem ser rigorosamente obedecidos.



Curva padrão para determinação espectrofotométrica de estolato de eritromicina. Espectrofotômetro Coleman Jr., 540 nm, cuba de 16 mm.

2. *Determinação em presença de substâncias interferentes (tetraciclina e/ou espiramicina)*

No caso em que a eritromicina esteja associada a tetraciclina ou espiramicina ou outras substâncias que possam interferir, torna-se necessário separá-las inicialmente, o que se consegue por cromatografia em camada delgada.

Transfira para placas de Sílica gel G de 20 x 20 cm e 0,25 mm de espessura, dividida de 3 em 3 cm, previamente ativada a 105°C por 30 minutos, alíquotas de uma solução que contenha de 25 a 50 µg de eritromicina em mistura com tetraciclina, espiramicina ou outros interferentes.

Desenvolva o cromatograma usando como solvente a solução de acetato de etila — isopropanol — acetato de amônio 15% — pH = 10,1 (9:7:8). Seque ao ar. Revele com a solução de xantidrol a 0,15%, aquecendo em estufa a 105°C, durante 2 minutos. A mancha a um Rf de 0,81 corresponde ao estolato de eritromicina, a de Rf 0,22 a tetraciclina e a de Rf 0,68 a espiramicina.

Retire o material da placa no Rf 0,81, elua em 10 ml de ácido acético — etanol (1:1), determine a absorbância no espectrofotômetro a 540 nm.

Calcule, comparando a leitura em curva padrão pré-estabelecida nas mesmas condições.

*Teor de eritromicina em diversos medicamentos **

Forma medicamentosa	Amostras analisadas	Teor declarado mg/unidade	Teor encontrado (variação) máximo-mínimo mg/unidade
Comprimidos simples	6	125	130-115
Comprimidos simples	6	250	258-242
Suspensão	20	180	182-172
Comprimidos em mistura com tetraciclina	12	125	127-118

* Os produtos analisados são de três diferentes laboratórios.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O método apresentado é simples, reproduzível, realizável em qualquer laboratório modesto e pode ser usado na determinação da eritromicina diretamente na grande maioria das especialidades farmacêuticas que a contenham (comprimidos, xaropes) seja na forma básica ou de seus sais, como o estolato, por exemplo.

A lei de Beer é obedecida entre concentrações de 2,5 a 15,00 μg de eritromicina por ml nas condições estabelecidas.

Para se estabelecerem as melhores condições da reação em função do tempo e da temperatura, experimentos foram feitos, resultando que a reação se completa em banho-maria fervente em um minuto, sendo este o tempo máximo ideal de aquecimento. Tempos maiores de aquecimento levam à decomposição do composto colorido formado, com valores menores de absorção e não reproduzíveis.

O reagente xantidrol deve ser guardado em geladeira e usado após cinco dias de preparado.

Com esta técnica, determinamos o teor de eritromicina em diversos medicamentos. Os resultados obtidos nestes testes são dados na tabela acima.

Em provas de recuperação por nós feitas, sempre encontramos o teor de eritromicina adicionado. O erro do método é de 2,0%.

Verificou-se a interferência de várias substâncias (penicilina, neomicina, cloranfenicol, bacitracina, tetraciclina, polimixina B, espiramicina, estreptomina). Destas, somente a tetraciclina e espiramicina interferem, sendo que a espiramicina, de maneira muito mais evidente.

Método para separação cromatográfica e dosagem da eritromicina em presença de substâncias interferentes, como a tetraciclina e a espiramicina, também está descrito.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Laboratil S. A. — Indústria Farmacêutica, pelo fornecimento de eritromicina e estolato de eritromicina padronizados.

RIAL-A/399

PREGNOLATTO, W. & GARRIDO, N.S. — Spectrophotometric determination of erythromycin in pharmaceuticals. *Rev. Inst. Adolfo Lutz*, **34**: 47-51, 1974.

SUMMARY: A simple method to determine the dosage of erythromycin in pharmaceuticals is herein described.

The method comprises the spectrophotometric detection at 540 nm of the compound resulting from a reaction between erythromycin and xanthydrol, in an acid medium.

The ideal condition for the reaction to take place were established and the possibility of interference by some chemical element that might be found in mixture with the erythromycin contained in such pharmaceuticals were investigated.

Recovery tests were made. Error rate method is around 2%.

The necessary conditions for thin-layer chromatography separation and determination of erythromycin and its salts when mixed with tetracycline and spiramycin were also established.

DESCRIPTORS: erythromycin in pharmaceuticals, spectrophotometric determination; thin-layer chromatography to determine erythromycin.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. FORD, J.H.; PRESCOTT, G.C. HINMAN, J.W. & CARON, E.L. — Colorimetric determination of erythromycin. *Analyt. Chem.*, **25** (8): 1195-7, 1953.
2. KAKEMI, K.; UNO, T. & YAMASHINA, H. — Chemical methods for the determination of antibiotics. VI. Colorimetric determination of erythromycin. *J. Pharm. Soc. Japan*, **76** (10): 1116-8, 1956 apud *Analyt. Abstr.*, **4**: 3104, 1957.
3. KORCHAGIN, V.B.; SEMENOV, S.M. & SAVUSHKINA, L.N. — Colorimetric determination of erythromycin. *Antibiotiki*, **6** (4): 311-4, 1961 apud *Analyt. Abstr.* **8**: 4818, 1961.
4. KUZEL, N.R.; WOODSIDE, J.M.; COMER, J.P. & KENNEDY, E.E. — Spectrophotometric determination of erythromycin in pharmaceutical products. *Antibiot. & Chemother.*, **4** (12): 1234-41, 1954 apud *Analyt. Abstr.*, **2**: 1308, 1955.
5. OCHAB, S.; MALYZS, D. & BOROWIECKA, B. — Determination of erythromycin in the presence of tetracycline in pharmaceuticals. *Chem. Anal., Warsaw*, **8** (4): 597-600, 1963 apud *Analyt. Abstr.*, **11**: 3926, 1964.
6. PESEZ, M. — Colorimetric determination of erythromycin by means of methylsulphate. *Ann. Pharm. Franç.*, **13** (7-8): 513-6, 1955 apud *Analyt. Abstr.*, **3**: 1857, 1955.
7. TEPE, J.B. & ST. JOHN, C.V. — Determination of erythromycin by ultraviolet spectrophotometry. *Analyt. Chem.*, **27** (5): 744-6, 1955.
8. WASHBURN, W.H. — The infra-red determination of erythromycin. *J. Amer. Pharm. Ass. Sci. Ed.* **43** (1): 48-9, 1954 apud *Analyt. Abstr.*, **1**: 1632, 1954.

Recebido para publicação em 31 de maio de 1974.

