

Universidad Nacional Autónoma de México

FACULTAD DE QUIMICA



**“ASPECTOS MONOGRAFICOS DE
LA ERITROMICINA Y SUS SALES”**

**TRABAJO MONOGRAFICO
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A:**

María del Socorro Alpizar Ramos

1 9 8 2



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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.

" I N D I C E "

	Pág.
CAPITULO I : INTRODUCCION - - - - -	1
CAPITULO II : PROPIEDADES FISICOQUIMICAS - - - - -	4
II.1.- Eritromicina - - - - -	5
II.2.- Estearato de Eritromicina - - - - -	13
II.3.- Estolato de Eritromicina - - - - -	17
II.4.- Etilcarbonato de Eritromicina - - - - -	22
II.5.- Etilsuccinato de Eritromicina - - - - -	24
II.6.- Gluceptato de Eritromicina - - - - -	26
II.7.- Lactobionato de Eritromicina - - - - -	32
CAPITULO III : FARMACOLOGIA Y TOXICOLOGIA - - - - -	39
III.1.- Generalidades - - - - -	40
III.2.- Actividad Antibacteriana - - - - -	41
III.3.- Mecanismo de Accion - - - - -	42
III.4.- Uso clínico - - - - -	43
I.- Infecciones Estafilocócicas - - - - -	43
II.- Infecciones por otros Cocos - - - - -	46
III.- Diversas Infecciones - - - - -	48
III.5.- Uso Profiláctico - - - - -	51
III.6.- Toxicología - - - - -	52
III.7.- Interacción con otros Fármacos - - - - -	62

	Pág.
CAPITULO IV : METODOS DE ANALISIS - - - - -	65
IV.1.- Generalidades - - - - -	66
IV.2.- Identificación y Determinación Semicuantitativa- de Eritromicina; Estearato de Eritromicina; Esto- lato de Eritromicina y Etilsuccinato de Eritromi- cina - - - - -	68
IV.3.- Método Espectrofotométrico para cuantificar Eri- tromicina - - - - -	71
IV.4.- Determinación Colorimétrica de la Eritromicina -	74
IV.5.- Determinación Densitométrica de Eritromicina en- Preparaciones Farmacéuticas Posterior a una Cro- matografía en capa fina - - - - -	75
IV.6.- Determinación Microbiológica de Eritromicina y - sus sales - - - - -	78
IV.7.- Determinación Fluorométrica de Eritromicina - --	89
IV.8.- Cromatografía de Gases de Eritromicina y Deriva- dos - - - - -	94
IV. Cromatografía de Líquidos a Alta Presión - - - -	97
CAPITULO V : IMPORTANCIA ACTUAL - - - - -	103
V.1.- Generalidades - - - - -	104
V.2.- Preparados, Dosis y Vías de Administración - - -	107
V.2.1. Eritromicina - - - - -	108
V.2.II. Estearato de Eritromicina - - - - -	108
V.2.III Estolato de Eritromicina - - - - -	109
V.2.IV. Etilsuccinato de Eritromicina - - - - -	109
V.2.V. Propionato-Lauril-Sulfato de Eritromicina - - -	110
CAPITULO VI : CONCLUSIONES - - - - -	112

Pág.

BIBLIOGRAFIA - - - - - 115

CAPITULO I

INTRODUCCION

La Eritromicina es un antibiótico de espectro intermedio, -- producido por el actinomiceto Streptomyces erythreus.

Este antibiótico se absorbe rápidamente y se distribuye en la mayoría de los fluidos y tejidos corporales, después de ser ingerido. La vía principal de excreción es la renal.

El Estolato de Eritromicina es el derivado que produce niveles más altos y de mayor duración después de su administración. Es eficaz en infecciones provocadas por microorganismos grampositivos.

La Eritromicina se utiliza con gran acierto en pacientes que son alérgicos a la penicilina. También es eficaz en infecciones provocadas por Mycoplasma pneumoniae.

La Eritromicina base se absorbe bien por la parte alta del intestino delgado; el contenido alimenticio del estómago retrasa su absorción final.

En el PLM, se encuentran reportados 22 productos conteniendo Eritromicina Base o alguna de sus sales; esto demuestra que es un antibiótico muy utilizado en la terapia moderna (1).

El método de valoración farmacopéico es el microbiológico. Este tiene una sensibilidad mediana capaz de determinar concentraciones de 2 - 15 mcg/ml. Sin embargo, los niveles séricos usuales se encuentran entre 1 a 2 mcg/ml; por lo que la sensibilidad del método farmacopéico se considera baja -- para su utilización en estudios clínicos. (2).

Esto hace necesario el encontrar métodos de valoración más sensibles con el fin de poder detectar estos niveles.

Debido a su baja solubilidad en agua; al gran consumo y a --
los efectos secundarios presentados es necesario realizar --
una revisión bibliográfica de este fármaco.

C A P I T U L O I I

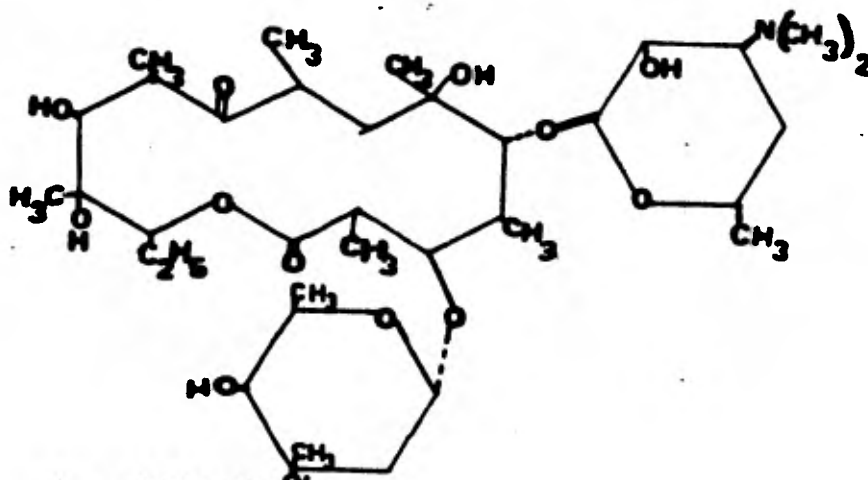
PROPIEDADES FISICOQUIMICAS

II.1. **ERITROMICINA :**

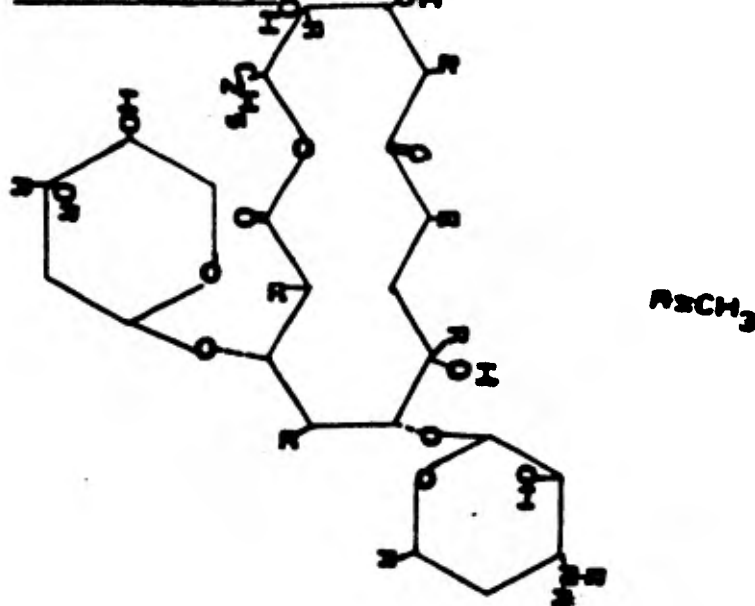
Eritrocin; Brycin; Holycin. $C_{37}H_{67}NO_{13}$ Peso molecular = 733.92. C 60.55%; H 9.2%; N 1.91%; O 28.34% - (3), (4), (5), (8), (18), (43); (59).

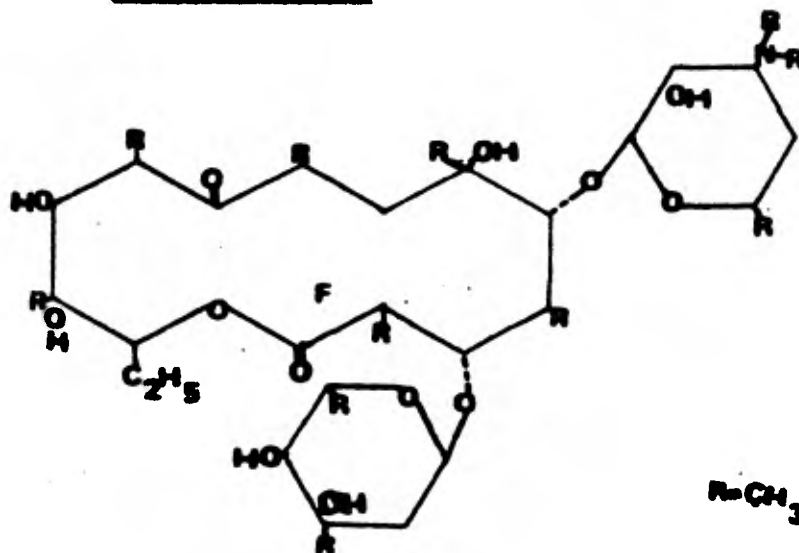
Una preparación comercial de Eritromicina normalmente contiene: Eritromicina A, B y C. A continuación se describen las fórmulas desarrolladas.

Eritromicina A :



Eritromicina B :



Eritromicina C :

La Eritromicina A es el componente que se encuentra en mayor proporción y el que posee mayor actividad antimicrobiana. - Bajo condiciones ácidas, la Eritromicina se degrada a anhidroeritromicina y en 8, 9-anhidroeritromicina y 6, 9-hemiacetal. Las enzimas de los microorganismos inactivan a la Eritromicina y forman Eritrasolamina, Eritronilida y otros compuestos.

- 1.- Descripción : Es un polvo microcristalino, blanco o ligeramente amarillo; inodoro, amargo; poco higroscópico.
- 2.- Solubilidad : Soluble en agua a concentraciones de 2 - mg/ml. la solubilidad decrece cuando la temperatura se eleva. Muy soluble en acetona, alcohol, etílico, cloroformo, acetato de etilo y acetonitrilo, moderadamente soluble en éter y acetato de amilo.

- 3.- PH : Entre 8.0 y 10.5; en una solución metanol-agua a una concentración de 2.0 mg/ml. Una solución a pH=6.3- presenta una absorción máxima a 280 nm, y un pKa=8.8.
- 4.- Ensayos de Identidad :
- A) El espectro de absorción infrarrojo, entre 2 micras y 12 micras de una solución al 5%, de la muestra en cloroformo, es igual al que exhibe una solución de Eritromicina, Patrón de Referencia igualmente tratada.
 - B) A 5 ml de la muestra se agregan 2 ml de S.R. de ácido sulfúrico y se agita suavemente, se produce una coloración café-rojiza.
 - C) Se disuelven 3 mg de la muestra en 2 ml de S.R. de acetona y se agregan 2 ml de ácido clorhídrico; se produce coloración anaranjada que cambia a rojo y - enseguida a rojo - púrpura oscuro. Se agregan 2 - ml de cloroformo y se agita: la capa clorofórmica- toma coloración púrpura.
- 5.- Residuo Sulfatado a la Ignición : En un crisol de porcelana tarado, se deposita aproximadamente un gramo de la muestra. Se incinera a baja temperatura hasta carbonización completa, durante la cual se puede cubrir parcialmente, con una tapa de porcelana. Se deja enfriar- y enseguida se agregan 2 ml de ácido nítrico y cinco gotas de ácido sulfúrico. Se calienta con precaución hasta que se producen humos blancos. Inmediatamente se incinera entre 500 y 600 grados, de preferencia en una --

mufla, hasta incineración total. El crisol se enfría - en un desecador y se pesa. El residuo sulfatado así -- obtenido es cuando más el dos por ciento del peso de la muestra incinerada.

6.- Determinación de Agua : Método - Karl-Fischer.

Se pesan 300 mg de la muestra y se transfieren a un matraz seco para titulación y se agrega un exceso del -- reactivo de K.F.; enseguida se retitula con una solución valorada de metanol, hasta obtener el punto final. El tanto por ciento de agua se calcula por medio de la siguiente fórmula:

$$(V_1 - V_2 f) \times e \times 100 / p.$$

donde : V_1 = volumen de reactivo de Karl Fischer. ,

V_2 = volumen utilizado de metanol.

f = factor de equivalencia entre la solución de metanol y el reactivo de Karl Fischer.

e = Factor de equivalencia, en mg de agua, del reactivo de Karl Fischer.

p = peso de la muestra en mg.

Límite.- Cuando más contiene el 10%

7.- Metales Pesados : Reactivos :

A) Sol. reactivo de amoníaco.- Se prepara una solución acuosa que contenga de 9 a 10 gramos de amoníaco, - por 100 ml.

B) Solución de ácido acético diluido.- Se diluyen 60 - ml de ácido acético glacial con suficiente agua hasta 1000 ml.

- C) Sol. reactivo de sulfuro de hidrógeno.- Se prepara una solución saturada de sulfuro de hidrógeno, burbujeando ácido sulfhídrico en agua fría durante tiempo suficiente. Esta solución es adecuada si produce un abundante precipitado, cuando se agrega a un volumen igual de solución 1N de cloruro férrico. -- Esta solución reactivo de sulfuro de hidrógeno debe prepararse justamente antes de emplearla.
- D) Sol. tipo concentrada de plomo.- Se disuelven 159.8 mg de nitrato de plomo en 100 ml de agua, a la que se le agrega 1 ml de ácido nítrico y se diluye con agua hasta 1000 ml esta solución se prepara y se conserva en recipientes de vidrio libres de sales de plomo solubles.
- E) Sol. tipo diluida de plomo.- En un matraz volumétrico de 100 ml se depositan 10 ml de la solución tipo concentrada de plomo, se diluyen con agua hasta el aforo y se mezcla. Esta solución debe prepararse cuando va a efectuarse la prueba. Cada ml de esta solución equivale a 10 p.p.m. de plomo.

Preparación de la muestra : La prueba se verifica empleando las cenizas sulfatadas de la muestra, obtenidas según se indica en " Residuo sulfatado a la ignición ". Se agregan 2 ml de ácido clorhídrico y en baño de vapor; se evapora lentamente hasta sequedad. El residuo se humedece con una gota de ácido clorhídrico, se agregan 10 ml de agua caliente y se

digiere durante dos minutos. Se agrega solución -- reactivo de amoníaco gota a gota, hasta alcalinizar la solución al papel tornasol. Enseguida se agrega ácido acético diluido hasta acidificar ligeramente la solución (a papel tornasol). Se agrega 2 ml - de la solución ácida de el acético diluido. Se filtra si es necesario, se lavan el crisol y el filtro con cerca de 10 ml de agua y se diluye hasta 25 ml.

Procedimiento.- En un tubo de Nessler se colocan 2- ml de solución de ácido acético diluida y la por--- ción de la solución tipo diluida de plomo, que con- tenga la cantidad de plomo equivalente al límite de metales pesados especificado. Se agrega agua hasta 25 ml.

Los 25 ml de la solución de la muestra, obtenidos - según se indica en " preparación de la muestra ", - se pasan a un tubo de Nessler de 50 ml, igual al -- que se emplea para tratar la solución tipo diluida- de plomo. A cada tubo se agregan 10 ml de la S.R.- de sulfuro de hidrógeno, se mezclan, se dejan repo- sar durante diez minutos y se observan hacia abajo- sobre una superficie blanca. La coloración de la - solución de la muestra no deberá ser más oscura -- que la de la solución tipo que contiene la porción- de plomo, equivalente al límite permitido de meta-- les pesados: Cuando más 50 p.p.m.

7.A.-Metales Pesados :

Disuelva 1 gramo en 10 ml de metanol y 0.5 ml de ácido-acético glacial y suficiente metanol para obtener 15 ml. Añada 2 ml de sulfuro de hidrógeno en solución, de igual forma prepare una solución estandar. Las dos soluciones se dejan reposar 10 minutos. Se aforan a 50 ml y se determina la intensidad del color desarrollado por cada solución. La solución problema no deberá presentar mayor intensidad que la solución estandar. La solución estandar contiene 20 p.p.m. de plomo.

8.- Rotación Optica Especifica :

Una solución al 2% en metanol absoluto, presenta una rotación de -71° a -78° , si se determina 30 minutos después de la preparación de la solución.

9.- Cristalinidad :

Se suspende la muestra en aceite mineral, se observa -- bejo un microscopio polarizador; se observa birrefringencia que se extingue a medida que se hace girar el -- microscopio.

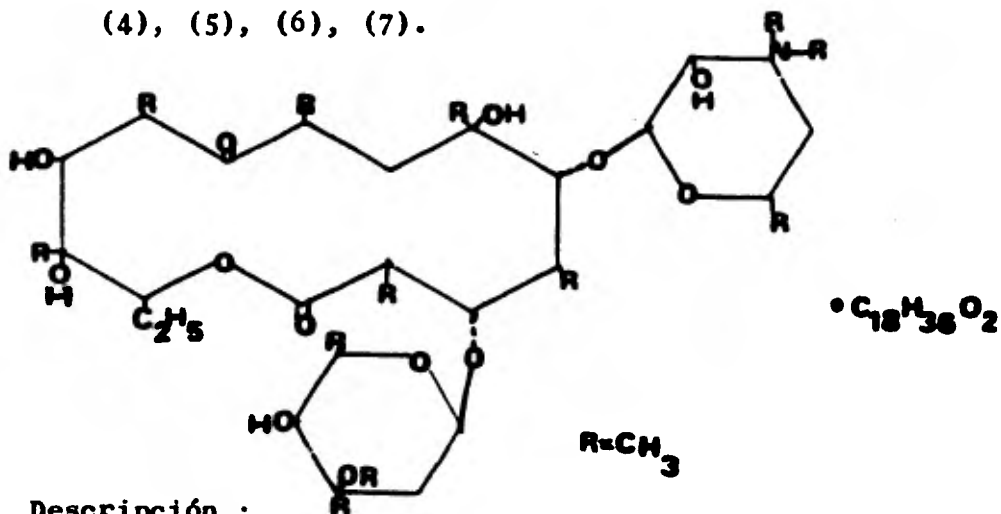
10.- Toxicidad :

A cada uno de 5 ratones; que pesen entre 18 y 25 gramos se les administra por vía oral, 1 ml de una suspensión de la muestra que contenga 30 mg de Eritromicina. Si ningún animal muere dentro de las 48 horas siguientes, la muestra no es tóxica y se considera aprobada esta -- prueba, por el contrario si uno o más animales mueren -- dentro de las 48 horas, la prueba se repite una o más --

veces empleando en cada ensayo, cinco ratones que nunca se hayan utilizado en ninguna prueba biológica y cuyo peso individual sea de 20 ± 0.5 g, si el total de las muertes, dentro de las 48 horas, no es superior al 10% del número total de animales utilizados en la prueba, - incluyendo la original, la muestra no es tóxica.

II.2. ESTEARATO DE ERITROMICINA :

Es la sal del ácido estéarico de la eritromicina -- (que contiene un exceso de Ac. estéarico), producida por ciertas capas de *Streptomyces erithreus* -- Waksman, con ácido estéarico y estearato de sodio; -- cuya fórmula condensada es la siguiente: $C_{37}H_{67}NO_{13}$ $C_{18}H_{36}O_2$. Peso molecular igual a 1018.42. Debe -- conservarse en envases protegidos de la luz. (3), - (4), (5), (6), (7).



1.- Descripción :

Cristales o polvo blanco o ligeramente amarillo, prácticamente inodoro y con ligero sabor amargo.

2.- Solubilidad :

Soluble en alcohol, éter, metanol y cloroformo, prácticamente insoluble en agua. Las soluciones alcohólicas son levóginas.

3.- Ensayos de Identidad :

A) El espectro de absorción I.R.; entre 2 y 12 micras-

de una suspensión de la muestra en aceite mineral - se puede comparar con una suspensión de estearato de eritromicina, patrón de referencia.

- B) A 5 ml de la muestra se agregan 2 ml de una solución reactivo de ácido sulfúrico y se agita suavemente - se produce una coloración café-rojiza.
- C) Se calientan suavemente hasta ebullición, 100 mg de la muestra, 5 ml de ácido clorhídrico y 10 ml de -- agua para que los glóbulos grasos se separen y -- asciendan a la superficie. La solución se enfría - la capa grasosa se retira, se calienta con 3 ml de -- solución de hidróxido de sodio 0.1N y se deja en--- friar; la solución toma consistencia de gel. Se -- agregan 10 ml de agua caliente y se agita; la solución se vuelve espumosa. A 1 ml se le agrega solución reactivo de cloruro de calcio; se produce un - precipitado granular, insoluble en ácido clorhídrico.

4.- PH :

Una suspensión acuosa al uno por ciento de estearato de eritromicina, presenta un pH entre 6.0 y 11.0.

5.- Residuo Sulfatado a la Ignición :

En un crisol de porcelana tarado se deposita aproximadamente 1 gramo de la muestra. Se incinera a baja temperatura hasta carbonización completa, durante la cual se puede cubrir parcialmente, con una tapa de porcelana. - Se deja enfriar y enseguida se agregan 2 ml de ácido --

nítrico y cinco gotas de ácido sulfúrico. Se calienta con precaución hasta que se producen vapores blancos. Inmediatamente se incinera entre 500 y 600 grados, de preferencia en una mufla, hasta incineración total. El crisol se enfría en un desecador y se pesa. El residuo sulfatado así obtenido es cuando más el 2% del peso de la muestra incinerada.

6.- Estearato de Eritromicina :

Se agitan aproximadamente 500 mg de la muestra con 30 ml de cloroformo y enseguida con 3 porciones de 25 ml cada uno. Se filtra cada extracto y el filtro se lava con cloroformo; se evaporan los filtrados en B.V. y los lavados se reúnen hasta cerca de 30 ml. Se agregan 50 ml de ácido acético glacial previamente neutralizados con sol. de ácido perclórico 0.1N; y se titula con la misma solución de HClO_4 0.1N, determinando potenciométricamente el punto final. Cada ml de la solución 0.1N de HClO_4 equivale a 101.8 mg de Estearato de Eritromicina se encuentra cuando menos, el 77% calculado sobre la substancia anhidra.

8.- Estearato de Sodio :

En una cápsula de platino se humedecen 2 gramos de la muestra con ácido sulfúrico y se incineran a 800 grados se enfría y se pesa. Cada gramo del residuo equivale a 4.317 g de Estearato de Sodio; se encuentra cuando más el 6%.

9.- Determinación de Agua :

Se determina por el método de Karl Fischer, para lo cual se pesan aproximadamente 300 mg de la muestra y se depositan en un matraz de titulación seco. Se agregan algunos mililitros del reactivo de K.F. en exceso y se titula con sol. valorada de metanol, hasta alcanzar el punto final. Se calcula el porcentaje de agua; teniendo en cuenta que se trata de una titulación residual, por medio de la siguiente fórmula:

$$\%H_2O = (V_1 - fV_2) \times e \times 100 / p.$$

donde : V_1 = Vol. empleado del reactivo de Karl Fischer.

V_2 = Vol. empleado de la solución valorada de metanol.

f = Factor obtenido de la relación del vol. empleado del reactivo de K.F. al de la sol. utilizada de metanol.

e = Factor de equivalencia en mg de agua, respecto a 1 ml del reactivo de Karl Fischer.

p = peso de la muestra en mg.

La muestra contiene cuando más el 5%.

10.- Contenido Total de Acido Estéarico, Estearatos y Agua :

Es la suma de los resultados encontrados de ácido estéarico libre, estearato de eritromicina, estearato de sodio y agua, por los métodos antes descritos: entre el 98% y el 103%.

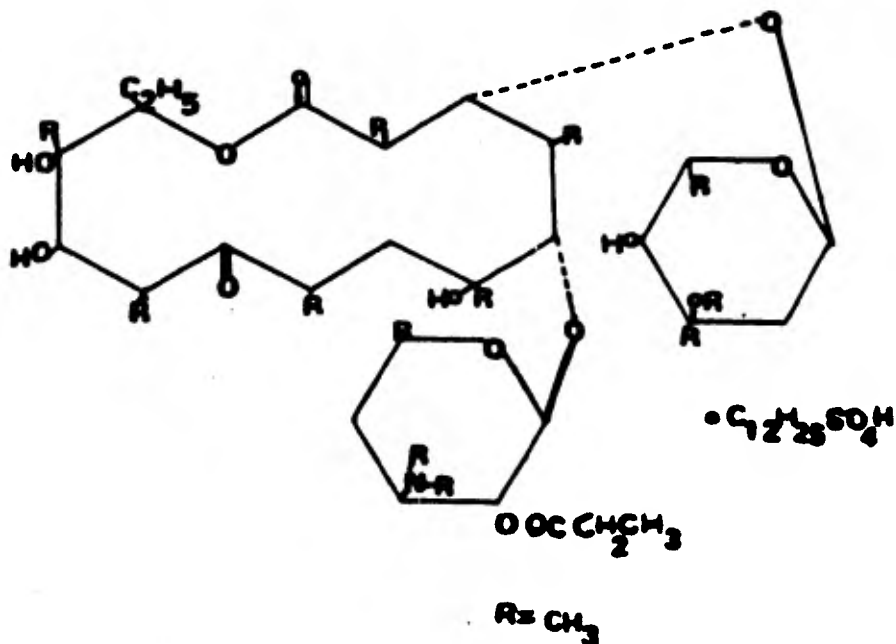
11.- Toxicidad :

A cada uno de 5 ratones, que pesan entre 18 y 25 gramos

se les administra por vía oral, 0.5 ml de una suspensión de la muestra, que contenga el equivalente a 80 mg de - eritromicina por ml y que se prepara pulverizando el -- estearato de eritromicina con agua y agregando una gota de polisorbato 80 por cada 3 g de la muestra. A conti- nuación se procede en forma similar a la descrita para- la Eritromicina, donde se indica: " Si ningún animal -- muero... ".

II.3. ESTOLATO DE ERITROMICINA :

Lauril sulfatado propionato de Eritromicina; Dode-- cyl sulfato propionato de Eritromicina. Eromycin - Lauromicina, Roxomicina, Stellamicina. $C_{40}H_{71}NO_{14}$: $C_{12}H_{26}SO_4$. Peso molecular = 1056.39. Es el éster- propionílico del lauril sulfato de Eritromicina. -- C 59.12%; H 9.26%; O 27.26%, S 3.04%. (3), (4), (5) (6), (7), (10).



1.- Descripción :

Polvo blanco cristalino, inodoro o prácticamente inodoro e insípido.

2.- Solubilidad :

Solubilidad en agua 0.024 mg/ml; soluble en alcohol, -- acetona y cloroformo. Insoluble en ácido clorhídrico -- diluido.

3.- Ensayos de Identidad :

A) El espectro de absorción infrarrojo, de una solución al cinco por ciento en cloroformo, entre dos micras y doce micras, es igual al de una preparación similar de estolato de eritromicina, patrón de referencia.

B) Se prepara un cromatograma en papel por el método -- ascendente, empleando como disolvente, isobutil-- metil-cetona, previamente lavado con solución de bicarbonato de sodio y enseguida con agua. Se deposita adecuadamente sobre el papel 3 microlitros de -- una solución al 0.2% de la muestra, en cloroformo, -- p/v. Se eluye hasta que el disolvente ha recorrido cerca de 19 cm. Se deja secar el papel en el aire -- y la porción correspondiente del cromatograma se -- coloca en un recipiente que contiene medio de cultivo de agar nutritivo, previamente inoculado con una cepa tipo de Bacillus pumilus. El papel se retira -- después de 15 minutos y el recipiente con el medio -- de cultivo se incuba toda la noche; se produce una --

zona de inhibición definida, cerca de la posición - correspondiente a la línea terminal del cromatograma y en cambio no se produce ninguna zona de inhibición en el área correspondiente a la posición de la mitad del cromatograma hacia abajo (distinción de - eritromicina).

- C) Se disuelven 15 mg de la muestra en 2 ml de acetona y enseguida se agregan 2 ml de ácido clorhídrico; - se produce coloración roja-naranja que cambia a - - rojo y después a púrpura intensa. Se agregan 2 ml- de cloroformo y se agita; la capa clorofórmica ad-- quiere coloración púrpura tenue.

4.- Rango de Fusión :

135° a 138°.

5.- PH :

Determinado en una solución acuosa que contenga 100 miligramos de la muestra por ml, es entre 4.5 y 7.0.

6.- Agua :

Se pesan 300 mg de la muestra, se pasan a un matraz, -- para titulación y se agrega un exceso del reactivo de - Karl Fischer enseguida se retitula con solución valorada de metanol, hasta obtener el punto final. El tanto por ciento de agua se calcula mediante la siguiente fórmula :

$$(V_1 - V_2f) \times e \times 100 / p.$$

Donde : V_1 = Volumen de reactivo de Karl Fischer.

V_2 = Volumen empleado de la solución de metanol.

f = Factor de equivalencia entre la solución de metanol y el reactivo de Karl Fischer.

e = Factor de equivalencia, en mg de agua del reactivo de Karl Fischer.

p = Peso de la muestra en mg.

Contiene cuando más un 4%.

7.- Cristalinidad :

La muestra montada en aceite mineral y observada bajo un microscopio polarizador, exhibe birrefringencia, la que se extingue a medida que el microscopio se hace girar.

8.- Acetona :

Disuelva 0.10 g en 100 ml de metanol transfiera 1 ml de esta solución a un segundo matraz, añada 0.1 ml de salicilaldehído y 1.5 ml de una solución saturada de hidróxido de potasio. Deje reposar 20 minutos y añada 6 ml de metanol.

Determine la absorbancia a 490 n.m., la solución resultante no presenta una mayor absorbancia que una solución que contiene 1 ml de una solución de acetona al 0.0020% en metanol tratada de igual forma.

9.- Tiocianato :

Disuelva 0.10 g de la muestra en metanol al 96% y añada 5 ml de una solución preparada solubilizando 3.35 de -- cloruro férrico hexahidratado en agua y añadiendo 52.4 ml de ácido nítrico y llevado a 200 ml afore a 100 ml con metanol al 96%. La absorbancia resultante de esta-

solución determinada a 470 n.m.; no es mayor que la absorbancia obtenida cuando dos ml de una solución de tiocianato de potasio conteniendo 417 microgramos por ml - es tratada en forma similar.

10.- Cenizas Sulfatadas :

En un crisol de porcelana previamente tarado se deposita aproximadamente un gramo de la muestra. Se incinera a baja temperatura hasta carbonización completa, durante la cual se puede cubrir, parcialmente con una tapa de porcelana. Se deja enfriar y enseguida se agrega -- ácido sulfúrico, la mezcla se incinera completamente, a una temperatura cercana a 800°. El crisol se enfría en un desecador y se pesa nuevamente. El residuo así obtenido se pesa y no es mayor que el 0.5% del peso de la muestra.

11.- Contenido de $C_{12}H_{26}O_4S$:

Disuelva 0.5 g en 25 ml de dimetilformamida neutralizada, se titula con una solución de metóxido de sodio, -- utilizando solución indioadora azul de timol al 0.3% en metanol. Cada ml. de MeONa 0.1M es equivalente a - - - 0.02664 gramos de $C_{12}H_{26}O_4S$. El contenido de $C_{12}H_{26}O_4S$ va del 22% al 25% calculado en base seca.

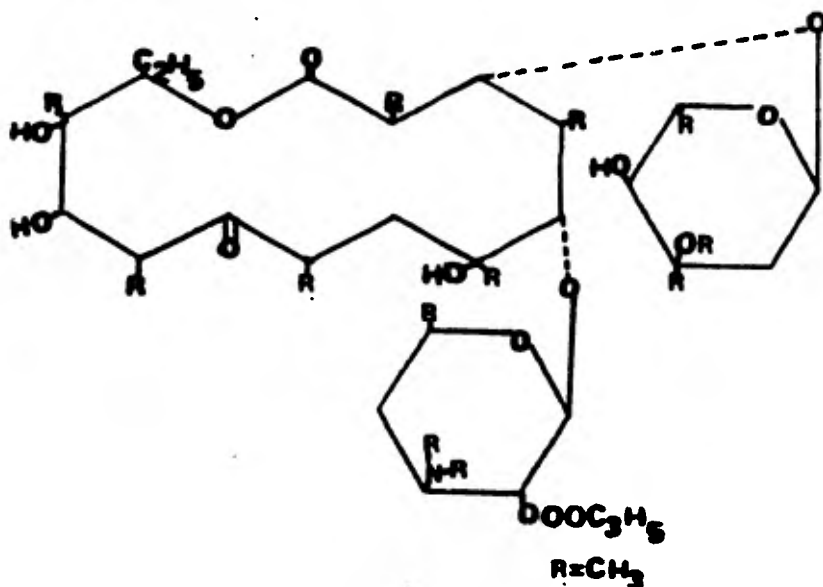
12.- Toxicidad :

A cada uno de 5 ratones de peso entre 18 y 25 gramos se administra por vía oral y mediante una cánula o de algún otro dispositivo adecuado, 0.5 ml de una suspensión de la muestra que contenga el equivalente a 40 mg de --

Eritromicina por ml en una solución al 10% de acacia. -
 A continuación se procede en forma similar a la descrita para la Eritromicina, donde se indica: " Si ningún animal muere... ".

II.4. ETILCARBONATO DE ERITROMICINA :

$C_{40}H_{71}NO_{15}$ Peso molecular = 806.01 (6), (7).



1.- Descripción :

Polvo cristalino blanco, prácticamente inodoro e insípido.

2.- Solubilidad :

Ligeramente soluble en agua y en ciclohexano; muy soluble en alcohol, acetona, cloroformo, éter y dioxano.

3.- Ensayos de Identidad :

A) A 5 ml de la muestra se agregan 2 ml de solución --

reactivo de ácido sulfúrico y se agita suavemente - se produce una coloración café-rojiza.

- B) A 3 mg de la muestra en 2 ml de acetona, se agregan 2 ml de ácido clorhídrico; se produce una coloración anaranjada que cambia a rojo - púrpura oscura. Se agregan 2 ml de cloroformo y se agita la capa cloroformica forma coloración púrpura.
- C) El espectro de absorción infrarrojo de la muestra - en una dispersión en vaselina líquida, determinado entre 2 micras y 12 micras es igual al de una preparación similar de etilcarbonato de eritromicina, -- patrón de referencia.

4.- Agua :

No más del 8% determinado por el método de Karl Fischer como se indica para la Eritromicina.

5.- PH :

Determinado en una solución que se prepara con agua - - libre de bióxido de carbono conteniendo 200 mg por ml - es entre 6.3 y 8.0.

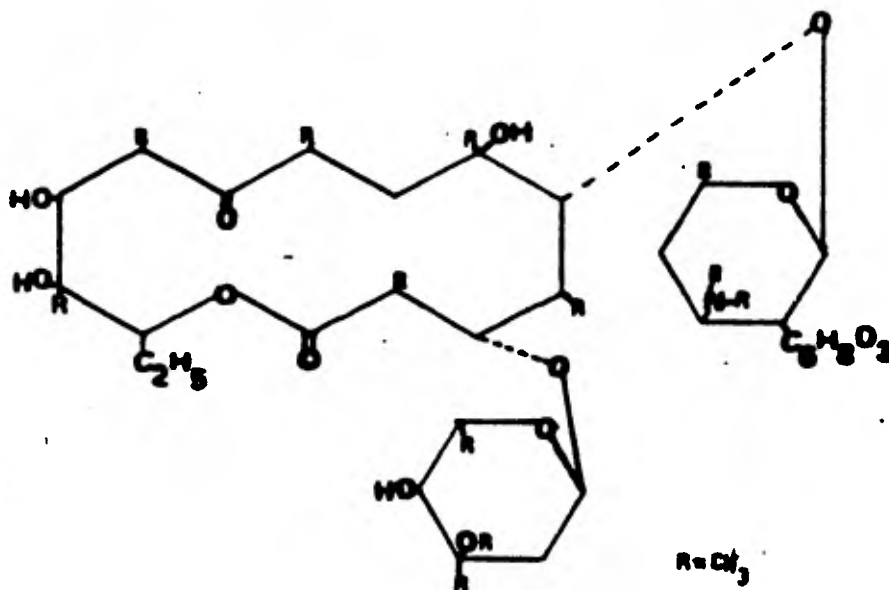
6.- Toxicidad :

A cada uno de 5 ratones con peso entre 18 y 25 gramos - se administra, por vía oral y mediante una cánula o algún otro dispositivo adecuado, 0.5 ml de una suspensión de la muestra que contenga el equivalente de 100 mg de Eritromicina por ml en una solución de acacia al 10%. - A continuación se procede en forma similar a la descrita para la Eritromicina donde se indica: " Si ningún animal

muere...".

II.5. ETILSUCCINATO DE ERITROMICINA :

$C_{43}H_{75}NO_{16}$. Peso molecular 862.06. (4), (6), (7) - (10), (11).



1.- Descripción :

Polvo blanco o ligeramente amarillento e insípido.

2.- PH :

Cuando se determina a una solución acuosa al uno por -- ciento este se encuentra entre 6.0 y 8.5.

3.- Humedad :

Cerca de 300 mg de la muestra se pesan y colocan en un matraz seco, se agrega un exceso del reactivo de Karl - Fischer. Enseguida se retitula con solución valorada - de metanol, hasta obtener el punto final. El tanto por

ciento de agua se calcula por medio de la siguiente fórmula:

$$(V_1 - V_2 f) \times e \times 100 / p.$$

Donde : V_1 = Vol. del reactivo de Karl Fischer.

V_2 = Vol. empleado de la solución de metanol.

f = Factor de equivalencia entre la solución de metanol y el reactivo de Karl Fischer.

e = Factor de equivalencia en mg de agua, del reactivo de K.F.

p = Peso de la muestra en mg.

Contiene cuando más un 3%.

4.- Residuo sulfatado a la ignición :

En un crisol de porcelana previamente tarado, se deposita aproximadamente 1 gramo de la muestra. Se incinera a baja temperatura hasta carbonización completa, durante la cual se puede cubrir parcialmente, con una tapa de porcelana. Se deja enfriar y enseguida se agrega ácido sulfúrico, la mezcla se incinera completamente, a una temperatura cercana a 800°. El crisol se enfría y pasa a un desecador y se pesa nuevamente. El residuo así -- obtenido se pesa y es cuando más el 1% del peso de la muestra.

5.- Identificación :

- A) A 5 mg de la muestra se le agregan 2 ml de S.R. de ácido sulfúrico y se agita suavemente, se produce una coloración café - rojiza.
- B) El espectro de absorción infrarrojo de una suspen--

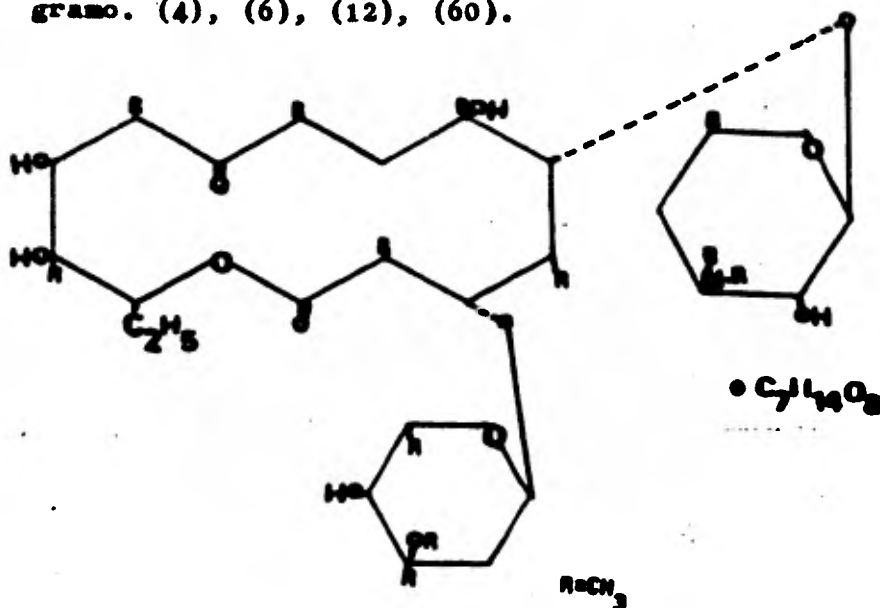
sión de la muestra en aceite mineral, se puede comparar cualitativamente con el de una suspensión de etilsuccinato de Eritromicina patrón de referencia.

6.- Toxicidad:

A cada uno de cinco ratones que pesen entre 18 y 25 gramos, se inyecta rápidamente cuando más en 5 segundos -- por vía intravenosa 0.5 ml de una solución de etilsuccinato de Eritromicina en agua inyectable que contenga -- 4.0 mg por ml. A continuación se procede en forma similar a la descrita para la Eritromicina donde se indica: " Si ningún animal muere... ".

II.6. GLUCEPTATO DE ERITROMICINA:

$C_{37}H_{67}NO_{13}$: $C_7H_{14}O_8$. Peso molecular = 960.10. -- Debido a que es un compuesto soluble en agua; se -- utiliza por vía intravenosa. Tiene una potencia no menor de 600 microgramos de Eritromicina por miligramo. (4), (6), (12), (60).



1.- Descripción :

Polvo blanco inodoro o prácticamente inodoro. Ligeramente higroscópico.

2.- Solubilidad :

Soluble en agua, alcohol, dioxano, acetona, propilenglicol; prácticamente insoluble en éter, tetracloruro de carbono, tolueno y benceno. Una solución al dos por ciento en agua es levógira.

3.- Rango de fusión :

95° a 140°.

4.- Identificación :

El espectro de absorción infrarrojo de una dispersión de la muestra en petrolato líquido es comparable cualitativamente al de una dispersión igualmente preparada de gluceptato de Eritromicina, patrón de referencia.

5.- Agua :

Se determina por el método de Karl Fischer para lo cual se pesan aproximadamente 300 mg de la muestra y se depositan en un matraz de titulación seco. Se agrega un exceso de reactivo K.F. y se retitula con solución de metanol, hasta alcanzar el punto final. Se calcula teniendo en cuenta que se trata de una titulación residual por medio de la fórmula:

$$\% \text{ de Agua} = (V_1 - V_2 f) \times e \times 100 / p.$$

Donde : V_1 = Vol. empleado del reactivo de K.F.

V_2 = Vol. empleado de la solución de metanol.

f = Factor obtenido de la relación del volumen-

empleado del reactivo de K.F. al de la solución utilizada de metanol.

e = Factor de equivalencia en mg respecto a 1 ml del reactivo de K.F.

p = Peso de la muestra en mg.

Contiene cuando más el 5%.

6.- PH :

De una solución acuosa que contenga 25 mg por ml es entre 6.0 y 8.0.

7.- Toxicidad :

A cada uno de 5 ratones con peso entre 18 y 25 g se inyecta por vía intravenosa 0.5 ml de una solución de la muestra que contenga el equivalente a 2 mg de Eritromicina base por ml; se inyecta rápidamente, cuando más en 5 segundos. A continuación se procede en forma similar a la descrita para la Eritromicina donde se indica: -- " Si ningún animal muere... ".

8.- Pirógenos :

Esta prueba se efectúa en aquellos medicamentos que pueden producir reacciones febriles a pacientes a quienes se les administra por vía parenteral. Para esta prueba se requiere del siguiente equipo:

1.- Termómetro :

Para conocer la variación de temperatura, se utiliza un termómetro clínico, cuya exactitud ha sido -- comprobada.

2.- Animales :

Se emplean conejos sanos, adultos, machos, cuyo peso no sea menor de 1.8 kg. El local donde se alojen - los animales debe tener una temperatura uniforme, - con variaciones de $\pm 3^\circ$. El cuarto debera estar -- aislado, tranquilo y sin perturbaciones, con el fin de evitar cualquier excitación a los animales. Las temperaturas de los animales que se van a utilizar- se toman de uno a tres días antes de la prueba, in- troduciendoles el termómetro en el recto, por lo -- menos 7.5 cm y manteniendolo el tiempo previamente- determinado. Los animales cuyas temperaturas sean- mayores a 39.8° , no se pueden emplear así como aque- llos cuya temperatura varíe en más de 1° , de una -- toma a otra.

3.- Jeringas :

Las jeringas y todo el material que se utilizara en la administración, debera esterilizarse a 250° , du- rante 30 minutos.

4.- Dosis :

Usando como dosis de prueba 1 ml de una solución -- que contenga el equivalente de 30 mg de Eritromici- na por ml en agua destilada y libre de pirógenos, - por kilo de peso del animal empleado.

Durante el tiempo que dura la prueba, se retira el- alimento a los animales, dandoles solo agua. Duran- te los 40 minutos anteriores a la iniciación de la- prueba, se determina la temperatura basal, de cada-

animal, que sirve de base para conocer los aumentos de temperatura producidos por la solución a prueba. La solución que se administra, deberá estar en una temperatura de 37° y se inyecta en la vena marginal de la oreja de 3 conejos previamente seleccionados; en los 40 minutos siguientes a la toma de lecturas de la temperatura control.

Transcurridas una, dos y tres horas después de la administración, las temperaturas se determinan.

Si ninguno de los 3 conejos muestra una elevación individual de temperatura de 0.6° o más sobre su respectiva temperatura basal y si la suma de los 3 incrementos máximos de temperatura no excede de 1.4° ; la muestra satisface las especificaciones, de la prueba de ausencia de pirógenos.

Si uno de los conejos muestra una elevación individual de temperatura de 0.6° o más sobre su respectiva temperatura control; o si la suma del incremento de temperatura de los 3 animales es mayor a 1.4° la prueba se repite con un nuevo lote de 5 conejos.

Si tres de los ocho conejos muestran un aumento de temperatura de 0.6° o más sobre su respectiva temperatura de control inicial y si la suma de los incrementos de los 8 conejos no es mayor de 3.7° la muestra satisface las especificaciones respectivas de ausencia de pirógenos.

9.- Esterilidad :

Se realiza por el método directo :

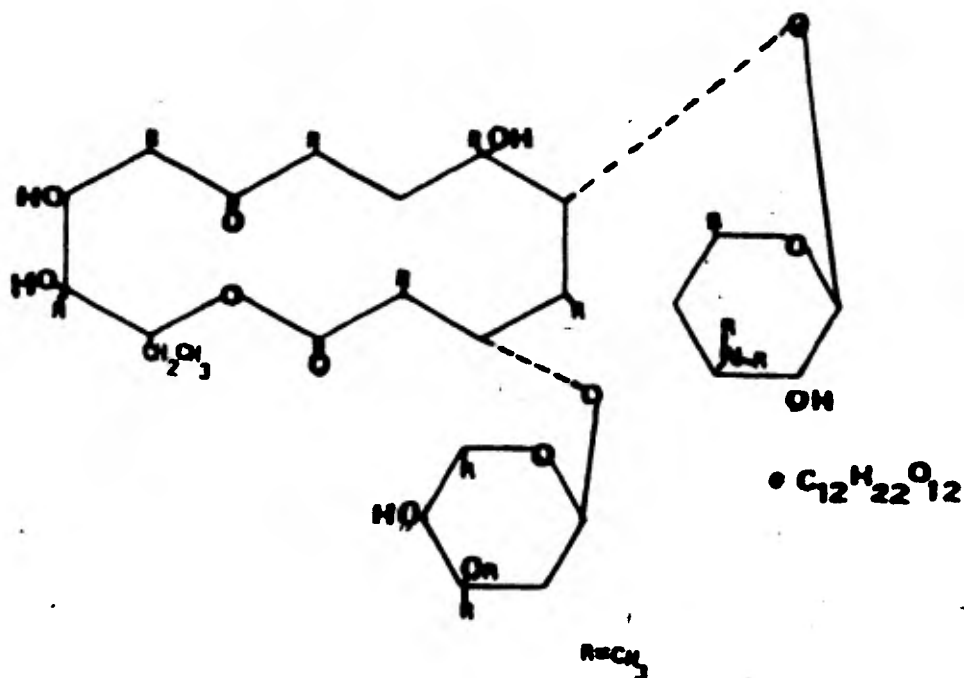
Las muestras que van a analizarse, deberán ser previamente aseptizadas; con un agente desinfectante adecuado se colocaran bajo el flujo laminar o bien en el área -- aséptica; de tal forma que faciliten su manipulación. Se utilizarán 300 miligramos de muestra de cada uno de los 20 envases, del producto terminado o 1 ml de cada uno de los envases, si la muestra está en solución o el contenido total de cada envase, cuando es menor de la cantidad mencionada. La muestra se pasa a tubos de ensayo individuales, estériles (38 x 20 mm) que contengan no menos de 40 ml de medio fluido de sabouraud. De cada muestra se obtienen un tubo con muestra más tioglicolato y un tubo de sabouraud con muestra. Los tubos con medio fluido de tioglicolato se incuban a 32° y los tubos con medio fluido de sabouraud se incuban a 25°. Ambos tubos se incuban 7 días; revisando continuamente el probable desarrollo. Si se llega a percibir desarrollo se confirma por medio de examen microscópico. Si la -- confirmación es positiva se repite la prueba esta vez -- usando 40 muestras del producto. Si no existe desarrollo microbiano en ninguno de los tubos, la muestra ensayada satisface las especificaciones respectivas de la -- prueba de esterilidad.

Si en cualquiera de los 40 tubos de la segunda prueba -- hay desarrollo comprobado de microorganismos, la muestra no satisface las especificaciones respectivas, pero

si existe alguna razón para creer que los resultados positivos de las pruebas (primera y segunda), son atribuibles a otros factores, la prueba se repite una vez más. En tal caso, en ninguno de los tubos de la prueba repetida debe haber desarrollo microbiano y si lo hubiere la muestra no satisface las especificaciones correspondientes. Debe hacerse notar que a cada tubo se le agrega 1 ml de penicilinas para inactivar la Eritromicina, evitando así el obtener falsos resultados.

II.7. LACTOBIONATO DE ERITROMICINA:

$C_{37}H_{67}NO_{13}$; $C_{12}H_{22}O_{12}$. Peso molecular 1092.25. -- Es el compuesto estéril preparado por criodesecación a partir de Eritromicina y del ácido Lactobionico. (6), (7), (60).



1.- Descripción :

Polvo blanco amorfo o ligeramente amarillento, con olor débil característico.

2.- Solubilidad :

Soluble en agua; muy soluble en alcohol y metanol; poco soluble en acetona y en cloroformo y casi insoluble en acetona.

3.- Identificación :

El espectro de absorción infrarrojo de una dispersión de la muestra en petrolato líquido, entre 2 micras y 12 micras, es comparable cualitativamente al de una dispersión preparada similarmente con Lactobionato de Eritromicina estandar patrón de referencia.

4.- PH :

Cuando se determina a una solución al 2% en agua, el pH se encuentra entre 6.0 y 7.5. Si se determina el pH a una solución que contenga 50 mg/ml; el pH se encontrará entre 6.5 y 7.5.

5.- Agua :

Es determinada por el método de Karl Fischer para lo cual se pesan aproximadamente 300 mg de la muestra y se depositan en un matraz de titulación seco. Se agrega un exceso de reactivo de Karl Fischer y se retitula con solución valorada de metanol, hasta alcanzar el punto final. Se calcula el por ciento de agua teniendo en cuenta que es una titulación residual, por medio de la siguiente fórmula:

$$\%H_2O = (V_1 - V_2f) \times e \times 100 / p$$

Donde : V_1 = Vol. de reactivo de Karl Fischer.

V_2 = Vol. empleado de la solución valorada de metanol.

f = Factor obtenido de la relación del volumen-empleado del reactivo de Karl Fischer, al de la solución utilizada de metanol.

e = Factor de equivalencia en mg de agua, respecto a un mililitro del reactivo de Karl Fischer. " No deberá tener más de un 5% ".

6.- Toxicidad :

A cada uno de 5 ratones con peso entre 18 y 25 g, se inyecta por vía intravenosa 0.5 ml de una solución en - - agua destilada estéril, que contenga el equivalente a 3 mg de Eritromicina por ml; se inyecta rápidamente cuando más en 5 seg. A continuación se procede en forma similar a la descrita para la Eritromicina, donde se indica " Si ningún animal muere... ".

7.- Pirógenos :

Para esta prueba se requiere que el equipo que se usará en la administración se esterilice a 250° durante 30 minutos. Se requieren también termómetros de exactitud - comprobada. Se utilizan conejos sanos, adultos, machos cuyo peso no sea menor a 1.8 kg. Estos animales deberán estar alojados en un lugar tranquilo, con temperatura - uniforme; con el fin de evitar cualquier excitación a - los animales. Las temperaturas de los animales que se-

van a utilizar se toman de uno a 3 días antes de la -- prueba, introduciéndoles el termómetro en el recto, por lo menos 7.5 cm y manteniendolo el tiempo previamente determinado. Los animales cuyas temperaturas sean mayores a 39.8° , no se pueden emplear así como aquellos -- cuya temperatura varíe en más de 1° , de una toma a otra.

Dosis :

Se emplea como dosis de prueba por cada kilo de peso -- del animal, un ml de una solución estéril en agua desti-- lada, libre de pirógenos que contenga el equivalente a-- 30 mg de Eritromicina por ml.

Durante el tiempo que dura la prueba, se retira el ali-- mento a los animales, dándoles solo agua. Durante los-- 40 min. anteriores a la iniciación de la prueba, se de-- termina la " temperatura basal de cada animal ", que -- sirve para conocer los incrementos de temperatura produ-- cidos por la solución a prueba.

La solución que se administra deberá estar a una tempe-- ratura de 37° y se administra en la vena marginal de la oreja de 3 conejos previamente seleccionados; en los 40 minutos siguientes a la toma de lecturas de la tempera-- tura control.

Las temperaturas se determinan transcurridas una, dos y tres horas después de la administración.

Si ninguno de los conejos muestra una elevación indivi-- dual de temperatura de 0.6° o más sobre su respectiva -- temperatura basal y si la suma de los 3 incrementos má--

ximos de temperatura excede de 1.4° ; la muestra satisface las especificaciones, de la prueba de ausencia de -- pirógenos.

Si uno de los conejos o más muestra una elevación de -- temperatura mayor a 0.6° ; y la suma de los incrementos de temperatura es mayor a 1.4° , la prueba se repite con un nuevo lote de 5 conejos.

Si nada más 3 de los 8 conejos muestran un aumento de -- temperatura de 0.6° o más sobre su respectiva temperatura de control inicial y si la suma de los incrementos de los 8 conejos no es mayor de 3.7° , la muestra satisface las especificaciones respectivas de ausencia de -- pirógenos.

8.- Esterilidad :

Se realiza por el método de filtración por membrana -- Millipore.

Aparato :

Una unidad apropiada consiste en un receptaculo cerrado y un recipiente receptor entre los cuales se coloca la membrana adecuada. La membrana comunmente utilizada es aquella que tiene una porosidad de 0.45 ± 0.02 mm y un diametro de 47 mm aproximadamente; y una velocidad de -- flujo de 55 a 75 ml de agua por minuto a una presión de 70 cm de Hg. La unidad se ensambla y esteriliza. Las membranas se esterilizan de igual forma antes de utilizarse.

Fluido A :

Se disuelve un gramo del digerido - péptico de tejido - animal o su equivalente, en agua hasta llevar a un litro. Si es necesario se filtra o centrifuga para clarificarlo. Se ajusta el Ph a 7.0 ± 0.2 , se coloca en matraces en cantidad de 100 ml y se esteriliza a 121° durante 20 minutos.

Muestras :

Se utilizan 20 envases. Los envases deberán ser limpiados con un agente desinfectante adecuado y colocarse en el flujo laminar o bien en el area de trabajo; de tal forma que faciliten su manipulación.

Procedimiento :

Transfiera a cada contenedor con una jeringa estéril un volumen aproximado de 5 ml de agua destilada estéril. Sin separar la jeringa; tome el volumen que considere - contiene 300 mg de la muestra. Vacie el contenido de la jeringa en la Unidad Millipore y filtre. Repita la operación para cada uno de los 20 envases. Al terminar filtrar el contenido de los 20 envases; lave la membrana con 3 porciones de 100 ml cada una de fluido A. Una vez que se han lavado las membranas; se procede en condiciones asépticas a cortar aproximadamente a la mitad la membrana, utilizando tijeras y pinzas estériles. -- Una parte de la membrana se coloca en 100 ml de medio digerido de caseína - soya y se incuba de 20° a 25° durante 7 días; la segunda parte de la membrana se coloca en 100 ml de medio fluido de Tioglicolato y se incuba -

de 30° a 35° por 7 días.

Los tubos se revisan diariamente con el fin de investigar la presencia o ausencia de desarrollo microbiano. - Si al término del período de observación los tubos no muestran desarrollo visible se considera la prueba satisfactoria. Pero si se presenta el menor indicio de contaminación; se repite la prueba con 40 muestras. En esta segunda muestra no debiera percibirse desarrollo alguno. En todas las pruebas se correran testigos tanto de medios como de membranas; para comprobar la esterilidad de los mismos.

CAPITULO III

FARMACOLOGIA Y TOXICOLOGIA.

III.1. GENERALIDADES :

La Eritromicina es un antibiótico eficaz por vía oral fué descubierto por McGuire y colaboradores en los -- productos metabólicos de una cepa de Streptomyces erythreus Waksman, hongo que se obtuvo de una muestra de suelo en el Archipiélago de Filipinas. Estos investi-- gadores hicieron los estudios iniciales in vitro, de-- terminando la toxicidad y demostrando la eficacia del medicamento en las infecciones experimentales y natu-- rales causadas por cocos grampositivos.(17).

La Eritromicina es uno de los antibióticos macrólidos llamados así por el gran anillo de lactona de su es-- tructura, al que están unidos uno o más desoxiazúca-- res. Los macrólidos como se ha dicho poseen un am-- plio anillo lactónico, macrocíclico; se trata en rea-- lidad de glucósicos, en que dicha lactona-aglucona -- está unida a 2 azúcares. Por el nitrógeno amínico, -- la Eritromicina es una base poco soluble y de sabor -- muy amargo, por lo que se utiliza en forma de deriva-- dos los cuales se dividen en:

- a).- Sales Ácidas: El Lactobionato de Eritromicina -- soluble para administrarse parenteralmente y el -- estearato de Eritromicina, insoluble y convenien-- te para la administración oral, el cual es prác-- ticamente insípido.
- b).- Esteres del grupo hidróxilo de la desosamina, -- como el estolato de Eritromicina y el Etilsuc-ci-

nato. (14), (15).

La base libre es una sustancia cristalina blanco-grisacea con peso molecular de 736; es inestable especialmente en soluciones ácidas tales como el jugo gástrico. Las tabletas con cubierta entérica previenen su inactivación por las secreciones gástricas, sin embargo esta cubierta retrasa su absorción. Las sales y los ésteres de la eritromicina se absorben mejor, la sal lauril sulfato del éster propíonico permite una absorción uniforme a pesar de la ingestión de alimentos. (16).

III.2. ACTIVIDAD ANTIBACTERIANA :

La Eritromicina es bacteriostática o bactericida, -- según la naturaleza del germen y la concentración del antibiótico. Su eficacia es notable in vitro sobre los cocos grampositivos como Staphylococcus aureus -- (sensibles o resistentes a la penicilina G), estreptococos del grupo A. Neisse, algunas cepas de H. influenzae, Brucella, rickettsias y treponemas; también son inhibidas a concentraciones bajas del antibiótico (7).

Aproximadamente el 85% de las cepas de Mycobacterium-scrofulaceum, son sensibles a 0.5 - 2.0 mcg/ml de la Eritromicina; las demás son inhibidas con 4 - 16 mcg/ml. Casi todas las cepas de M. intracellulare varían en cuanto a sensibilidad. (7).

En la siguiente tabla, se indica la sensibilidad in -

vitro de bacterias susceptibles a la Eritromicina, --
(18).

CONCENTRACION MINIMA INHIBITORIA

mcg/ml

<u>MICROORGANISMO</u>	<u>MEDIA</u>	<u>RANGO</u>
<u>Streptococcus pneumoniae</u>	0.03	0.003-0.4
<u>Corynebacterium diphtheriae</u>	1.6	0.003-3.12
<u>Streptococcus pyogenes</u>	0.04	0.007-0.62
<u>Staphylococcus aureus</u>	0.4	0.005-7.00
<u>Clostridium tetani</u>	0.6	0.2-0.7
<u>Haemophilus influenzae</u>	3.12	0.1-6.25
<u>Bordetella pertussis</u>	0.29	0.02-1.56
<u>Neisseria gonorrhoeae</u>	1.0	0.004-6.25
<u>Neisseria meningitis</u>	3.12	0.20-6.25
<u>Mycoplasma pneumoniae</u>	0.0125	0.006-0.25
<u>Brucella</u>	5.0	0.3-10.0
<u>Mycobacterium Kansasii</u>	1.3	0.5-2.0

III.3. MECANISMO DE ACCION :

La Eritromicina y otros antibioticos macrólidos, inhi
ben la síntesis de proteínas fijándose a las subunida
des ribosómicas 50S de los microorganismos sensibles.
La Eritromicina puede interferir con la fijación de -
cloranfenicol, que también actúa a este nivel. Algun
os microorganismos resistentes con mutaciones en com

ponentes de esta subunidad del ribosoma no fijan este fármaco. La asociación entre Eritromicina y ribosoma es reversible, pero sólo tiene lugar cuando la subunidad 50S ya está liberada de moléculas de tRNA transportando cadenas nuevas de péptidos. Generalmente la producción de péptidos pequeños se lleva a cabo en presencia del antibiótico, sin embargo la de homopéptidos muy polimerizados queda suprimida. Las bacterias grampositivas acumulan Eritromicina unas 100 veces más que los microorganismos gramnegativos.(19). La incorporación de aminoácidos a mitocondrias aisladas de levaduras es fuertemente inhibida por la presencia de Eritromicina; mientras que la incorporación de aminoácidos a mitocondrias de hígado de rata intacto es completamente resistente a la Eritromicina; pero es inhibida por pequeñas dosis de otros macrólidos, como la Carbomicina.(20). De Vries ha sugerido que la falta de sensibilidad de los ribosomas de mamíferos a la Eritromicina es resultado de una barrera de permeabilidad selectiva de la membrana mitocondrial; mientras que la Eritromicina inhibe la incorporación de aminoácidos en mitocondrias con alteración en su membrana.(20).

III.4. USO CLINICO :

Su utilidad se ha demostrado en diversas infecciones por gérmenes grampositivos.

I.- Infecciones Estafilocócicas :

La Eritromicina es muy eficaz en el tratamiento de las infecciones producidas por S. aureus, sensible y resistente a la penicilina. Se han obtenido excelentes resultados en infecciones estafilocócicas como la neumonía, bacteriemia, endocarditis, meningitis, osteomielitis, furúnculos carbunco y las infecciones de heridas.(14).

En un estudio realizado en el HOSPITAL CENTRAL - DE BOSTON; se determinó la susceptibilidad de -- los neumococos frente a algunos antibióticos. -- (21).

Se trabajó con pneumococos aislados de pacientes que se encontraban hospitalizados. Los cultivos de neumococos serotipos 3 y 6 se presentan predominantemente en adultos y en niños menores de 13 años. Los cultivos de pneumococos serotipos 14, 19 y 4 se obtuvieron de supuraciones del oído; - el serotipo 5 se aisló de sangre de niños. Los pneumococos serotipos 7, 9, 6, 8 y 1 fueron aislados de sangre de adultos.(21).

Al finalizar el estudio se encontró que el orden de actividad in vitro de los antibióticos estudiados fué de mayor a menor: 1) Eritromicina, -- 2) Penicilina G; 3) Cefaloridina; 4) Ampicilina- 5) Nafcilina; 6) Oxacilina; 7) Cefalotina y - - 9) Tetraciclina.(21).

La Eritromicina y la Penicilina G; se presenta--

ron actividad similar; la Cefaloridina y Ampicilina, presentaron casi un 50% menos de actividad (21).

Todos los pneumococos aislados fueron altamente-sensibles a la penicilina y a la Eritromicina. - Asimismo, no se han reportado pneumococos resistentes a la Eritromicina.(21).

Sobre esta base la Eritromicina debe ser considerada como el antibiótico de primera elección - - para el tratamiento de infecciones provocadas -- por pneumococos, para pacientes en los cuales la terapia con penicilina sea inadmisibile; e inclu so en pacientes que no presenten alérgia a la -- penicilina.(21).

La aparición de cepas resistentes a la Eritromicina en algunos hospitales está limitando el empleo de este antibiótico. La existencia de penicilinas resistentes a las penicilinasas y de cefalotina ha disminuido la necesidad de usar Eritromicina en infecciones estafilocócicas, sin embargo es un agente útil en las personas alérgicas a la penicilina.(14).

En las infecciones cutáneas y de heridas por estafilococos, suelen bastar 0.5 g de Eritromicina oral cada 6 horas durante 7 a 10 días. Cuando - la infección es más grave por ejemplo bacteriemia, endocarditis, meningitis y osteomielitis; -

el medicamento debe administrarse por vía venosa en dosis de un gramo cada 4 a 6 horas, durante una a 6 semanas.(14).

II.- Infecciones por otros Cocos :

La faringitis, escarlatina y erisipela producidas por Streptococcus pyogenes, responden de manera espectacular a la administración de Eritromicina. La administración oral de 250 a 500 mg de Eritromicina cada 6 horas durante 10 días produce curación rápida de estas enfermedades, impide la aparición de complicaciones supurativas y reprime la formación de antiestreptolisina. El tratamiento con 250 mg dos veces al día lograría una proporción de curaciones aproximadamente igual que la obtenida con penicilina G. La Eritromicina deberá administrarse en casos en que los estreptococos productores de penicilinasas sean la causa de las faringitis estreptocócicas recidivantes después del tratamiento suficiente con penicilina G. La neumonía neumocócica responde pronto al tratamiento oral con 250 a 500 mg de Eritromicina cada 6 horas; el medicamento se sigue administrando hasta 5 días después de que haya desaparecido la fiebre. En pacientes sensibles a la penicilina, la meningitis neumocócica ha sido tratada mediante la inyección intravenosa de un gramo de Eritromicina cada cuatro -

horas durante varios días y a continuación con la misma dosis cada 6 horas durante 2 ó 3 semanas produciendo buenos resultados.(14).

Algunos casos de endocarditis bacteriana, producida por *Streptococcus viridans*, han sido tratadas mediante una infusión intravenosa de un gramo de Eritromicina cada 4 a 6 horas durante 4 semanas. Las infecciones por enterococos responden bastante bien a la Eritromicina.(14).

Recientemente se evaluó la actividad del Estearato de Eritromicina en infecciones del tracto respiratorio. El estudio involucró a 269 pacientes De los cuales 76 presentaron una sensible mejoría casi inmediatamente después de iniciarse el tratamiento. Asimismo se pudo observar excelentes resultados en los casos de infecciones provocadas por S. hemolítico; pero la actividad de este antibiótico frente a H. influenzae fué insuficiente.(22).

En un segundo estudio clínico con 20 pacientes que presentaban bronquitis crónica. Se demostró la excelente actividad del Etilsuccinato de Eritromicina, cuando se administra en dosis de un gramo diariamente; sin presentarse intolerancia alguna. La administración de un gramo de Etilsuccinato de Eritromicina después de la comida, -- presenta un máximo después de 60 minutos de 3.36

microgramos por mililitro. Los niveles sanguíneos al 4 día del tratamiento muestran concentraciones mayores de 4 microgramos por mililitro. - Con la buena absorción; falta de toxicidad y buena difusión en las secreciones bronquiales; puede considerarse que el Etilsuccinato de Eritromicina es el fármaco a elegir en el tratamiento de infecciones en el tracto respiratorio.(22).

III. Diversas Infecciones :

La Eritromicina es un antibiótico muy eficaz para eliminar el estado de portador del bacilo diftérico agudo o crónico; la dosis oral de 500 mg en el adulto y de 250 mg en el niño, cada 6 horas - durante 2 semanas, erradica los gérmenes en un - 100% sin que haya recaídas.

Conviene recordar que en la enfermedad aguda, ni este antibiótico ni ningún otro alteran el curso de la infección, ni disminuyen el riesgo de complicaciones; se deberá administrarse una dosis suficiente de la antitoxina, específica. La Eritromicina (500 mg por vía oral cada 6 horas durante 10 días), se ha utilizado en algunos casos de sífilis, obteniéndose buenos resultados. El medicamento elimina también el Clostridium tetani; sin embargo en casos de tétanos hay que administrar además antitoxina. La Eritromicina es muy eficaz para tratar la neumonía provocada por --

Mycoplasma pneumoniae; sin embargo los microor--ganismos pueden persistir en las vías respirato--rias a pesar de concentraciones plasmáticas ade--cuadas del antibiótico. En general la Eritromi--cina es menos eficaz que la tetraciclina. Algu--nos investigadores proponene el uso de eritromi--cina, en el tratamiento de infecciones urinarias producidas por E. coli, Kpneumoniae, Proteus, mi--rabilis, Pseudomonas y Serratia, a condición de--que el pH de la orina sea alcalino. En el trata--miento de gonorrea, la dosis inicial de Esteara--to de Eritromicina es de 2.5 g, seguida de igual cantidad en dosis fraccionadas durante 2 días si--guientes. Es un buen sustituto de la penicili--na, según algunos investigadores en los casos --crónicos o en la enfermedad profundamente arrai--gada, se administran 500 mg de Eritromicina cada seis horas durante 2 semanas. (14), (15).

En la tosferina, la Eritromicina puede utilizar--se siendo el antibiótico de última elección. Se le utiliza en las dosis usuales y los resultados son aleatorios como sucede por otra parte, con - los otros antibióticos.(14).

En el tracoma, la Eritromicina constituye el an--tibiótico de segunda elección después de las te--traciclinas. Se le utiliza por vía oral, 250 mg cada 4 a 6 horas, durante 12 días; en los niños-

La dosis es de 30 mg Kg, diarios. Los resultados son excelentes. semejantes a los de las tetraciclinas.(15).

En un estudio realizado con 294 pacientes, se encontró que el antibiótico de primera elección -- para el tratamiento de Diphtheria carriers, es la Eritromicina.(23).

Durante un estudio realizado en 1968; 40 pacientes fueron tratados con grageas de 150 mg de Estearato de Eritromicina cubierta entérica; cada 12 horas, los primeros días. Y después cada -- seis horas durante 7 días más, 38 fueron curados de la infección provocada por Entamoeba histolytica. Un tratamiento similar se administro a sujetos infectados por Shigella; obteniendose similares resultados.(24).

III.5. USO PROFILACTICO :

A).- Endocarditis bacteriana subaguda:

Se administra con las mismas indicaciones que la penicilina G, en extracciones dentarias o amigdalectomía en los portadores de cardiopatías congénitas o valvulares, cuando el paciente es alérgico a la penicilina.(15).

Se administrará Eritromicina por vía oral 250 mg cada seis horas en caso de ser para adultos; la dosis para niños es de 30 mg/Kg diarios. Dos días antes de la intervención y dos días después de la misma.(15).

B).- Fiebre Reumática:

Tal como sucede con la penicilina y en reemplazo de la misma, la eritromicina puede evitar la aparición de un ataque agudo reumático, en el tratamiento de la angina estreptocócica; se le utiliza a la misma dosis que en el caso anterior durante 10 días, por lo que es tan efectiva como la penicilina.(15).

Sin embargo, no se aconseja el uso de la Eritromicina como tratamiento continuo para prevenir las reacciones de la fiebre reumática, debido a la posibilidad de la aparición de resistencia de los estreptococos a dicho antibiótico, lo cual no sucede con la penicilina G o las sulfonamidas (15).

III.6. TOXICOLOGIA :

La frecuencia de efectos secundarios durante la administración de Eritromicina y de sus sales es baja. -- Entre las reacciones de hipersensibilidad están: fiebre, eosinofilia y erupción cutánea, que pueden ocurrir aisladas o combinadas, las cuales desaparecen en cuanto se suspende el tratamiento.(25).

La reacción más impresionante es la hepatitis coléctica, que parece producirse solamente después de la administración de Estolato de Eritromicina. Debido a lo anterior; se han realizado numerosos estudios con el fin de determinar el alcance de la misma.(26).

En 1972 (27), se publicó el estudio realizado por J.-Kendler y colaboradores, en el cual quedó demostrado que este problema se debe a la acción hepatotóxica -- del Estolato de Eritromicina sobre el hígado.

El estudio se realizó con ratas; las cuales se les administró Eritromicina Base; Estolato de Eritromicina- y Glucoheptonato de Eritromicina.

La dosis administradas fueron : $2.4 \times 10^{-4} M$
 $5.0 \times 10^{-4} M$

Se compararon los efectos tóxicos que provocaron con 0.06 ml de metanol absoluto.(27). Los resultados de este estudio mostraron que estos derivados de la Eritromicina, pueden interferir significativamente en el funcionamiento del hígado. El alcance de la lesión en el hígado fué directamente proporcional a la con--

centración de fármaco administrado. Sin embargo la disfunción hepática fue más pronunciada después del tratamiento con Estolato de Eritromicina, que con Eritromicina Base o Glucoheptonato de Eritromicina.(27). Las observaciones que se presentaron en este estudio son consistentes con la idea de que mientras mayor es la dosis de Estolato de Eritromicina; mayor es el daño hepático producido. El Estolato de Eritromicina debido a su moderada toxicidad, es el responsable de disminuir la función del hígado observada en pacientes a los que se les administra el fármaco. Cuando se presenta hipersensibilidad; esto intensifica la disfunción. (27).

En el mismo año (1972), en una investigación con cultivos de células de Chang se encontró que después de la administración de Estolato de Eritromicina; se presentó un cambio notable en la tensión superficial de la bilis; así como un cambio en la composición de los ácidos biliares.(28).

Zimmerman en 1973 (29) desarrolló un impresionante estudio. Se trabajó durante su desarrollo con cultivos de células humanas en concentración de 10^6 suspendidas en un ml de solución salina. Se administraron Eritromicina Base ($5 \times 10^{-4}M$, $5 \times 10^{-5}M$, $5 \times 10^{-6}M$); Estolato de Eritromicina ($5 \times 10^{-4}M$, $5 \times 10^{-5}M$, $5 \times 10^{-6}M$); Propionato de Eritromicina ($5 \times 10^{-4}M$, $5 \times 10^{-5}M$, $5 \times 10^{-6}M$) y un control positivo de Etanol

1.7 mM/ml. La reacción se colocó en un baño a 37°C - durante 30 minutos. Al finalizar la incubación; se - centrifugaron los tubos y en el sobrenadante se cuantificó Aspartato aminotransferasa (GOT); Lactato deshidrogenasa (LDH); y Maleato deshidrogenasa (MDH). -- (29).

Al concluir el experimento se encontró que en el caso del control de etanol, había un ligero incremento en la merma de enzimas con respecto a la solución salina (29).

A la concentración más alta del antibiótico (5×10^{-4} M) los 2 derivados de la Eritromicina y la Base; presentan una significativa fuga de las enzimas intracelulares en el medio. Sin embargo, el efecto de el -- Estolato de Eritromicina como medida de fuga de GOT - y MDH; fué significativo y mucho mayor que en el caso de los otros derivados. (29).

Los resultados encontrados son consistentes con la -- hipótesis de que la lesión hepática que se atribuye a el Estolato de Eritromicina; debida a una hipersensibilidad, también depende directamente de los efectos adversos producidos por el fármaco.

En un estudio similar al anterior, se encontró evidencia de daño celular; cuando se administraron concentraciones menores a 5×10^{-5} M de Estolato de Eritromicina; si tomamos en cuenta que en pacientes que están recibiendo dosis terapéuticas; se logra determinar --

concentraciones 20 veces más altas en plasma. Y que además en un estudio realizado en ratas; se encontró que en el hígado se alcanzan concentraciones 15 y hasta 150 veces más altas que aquellas encontradas en plasma. Como consecuencia extrapolando las observaciones; a concentraciones humanas de Estolato de Eritromicina en hígado, se llega a la conclusión de que el daño que puede provocarse es sumamente severo.(30) Lo anterior nos lleva nuevamente a la conclusión de que las lesiones que provoca el Estolato de Eritromicina, no son debidas a tan solo la hipersensibilidad sino también a los efectos adversos del antibiótico. Existen reportes clínicos en los que se mencionan severos daños hepáticos.

En un caso recientemente reportado, se recopilaron los siguientes datos. Un infante de seis semanas de edad, al cual se le diagnosticó otitis; se le asignó un tratamiento con Estolato de Eritromicina.(31).

Cinco días después de iniciarse el tratamiento; el infante presentó agotamiento en sus extremidades, así como llanto prolongado; por lo que el tratamiento se interrumpió. Dentro de las 24 horas siguientes; sus familiares observaron una disminución en la evacuación de orina; la cual aparecía oscura de igual forma se apreció la aparición de ictericia.(31).

El infante fué hospitalizado de inmediato y el laboratorio clínico, le determinó al finalizar los análisis

6.6 mg por cada 100 ml de bilirrubina total; 4.4. - - mg/100 ml de bilirrubina directa y 764 UI/100 ml de - fosfatasa alacalina; lo cual diagnosticaba ictericia-obstruktiva.

Se realizó un examen abdominal con ultrasonido; revelando que la obstrucción era en los conductos extrahepáticos; mientras que los intrahepáticos no presentaban ninguna alteración.

Se trató de detectar antígeno asociado a la hepatitis B; pero estos no se detectaron.

Diecinueve días después de aparecer el cuadro antes descrito; la ictericia desapareció espontáneamente; - así como el oscurecimiento de la orina. Los análisis revelaron parámetros bioquímicos normales.

Elie S. Zafrani; reportó un daño hepatocelular y colestático; que se presentó en nueve pacientes, después de que se les administró Estolato de Eritromicina. Ocho de ellos; desarrollan ictericia durante las 3 semanas después de la iniciación del tratamiento. - El análisis histológico, nos indica colestasis pero - en la mayoría de los casos hay evidencia de lesiones hepatocelulares de severidad variable; una de las - - biopsias mostró necrosis centro-lobular; en otro caso se presentó anomalías en las mitocondrias de los hepatocitos.(32).

Seis pacientes recibieron Estolato de Eritromicina; - durante 7 a 17 días; con dosis de 0.74 a 1.0 g al día

algunos de estos pacientes ya anteriormente se les -- había administrado este antibiótico, sin que durante esa administración se presentara problema alguno. El tratamiento se designó; por diagnosticarles infecciones en el tracto respiratorio con eliminación nasal purulenta.(33).

El caso N° 7 presentaba meningitis de etiología indeterminada; a este paciente se le administró 18 g de Lactobionato de Eritromicina el primer día por vía -- intravenosa y Estolato de Eritromicina en los once -- días subsecuentes. Al paciente N° 9 se le administró 1.2 g de Etilsuccinato de Eritromicina al día durante 7 días. El paciente N° 8 recibió un tratamiento similar a las seis primeros pacientes.

El paciente N° 9 presentó durante los 14 días después de la iniciación del tratamiento, eosinofilia.

Todos los pacientes excepto el N° 2 desarrollaron ictericia; anorexia, fatiga, náuseas, vómito y malestar durante los 10 días siguientes a la iniciación del -- tratamiento.

Los pacientes N° 3 y 5 perdieron peso; el paciente -- N° 8 sufrió dolores abdominales. Cuatro pacientes -- presentaron fiebre (1, 2, 5 y 9). Estos síntomas se presentaron durante 8 a 21 días después de iniciarse la terapia con Estolato de Eritromicina en 5 pacien-- tes y a los 49 días en el paciente N° 5. El paciente N° 3 que ya había sido tratado anteriormente con este

antibiótico, presentó estos trastornos 24 horas después de la iniciación del tratamiento.

En el caso de la administración de Etilsuccinato de Eritromicina, los síntomas ocurren 25 días después de la primera ingestión y ocurren 10 días después en el caso de Lactobionato de Eritromicina.

En todos los casos anteriores se comprobó ausencia de evidencia clínica que indicara hepatitis viral o cirrosis hepática debida al alcohol; los cambios patológicos observados difieren a los debidos a la hepatitis viral o a la ingestión de alcohol. Los análisis clínicos indican claramente que la lesión se debió a la administración del antibiótico.

Toda la sintomatología anterior; desaparece paulatina mente; conforme se interrumpe el tratamiento.

De acuerdo a estudios similares a los antes mencionados se puede concluir que la sintomatología empieza entre 10 y 20 días después del tratamiento y se caracteriza inicialmente por dolor abdominal, que suele recordar al de la colecistitis aguda así como náuseas. Poco después se presenta ictericia, fiebre, leucocitosis, eosinofilia y aumento de transaminasa y bilirrubina plasmática; la colecistografía es negativa. El síndrome recuerda colecistitis aguda, obstrucción biliar extrahepática, pancreatitis o hepatitis por virus. Los hallazgos clínicos y anatemopatológicos son semejantes a los observados en la alteración hepá

tica producida por la cloropromacina. Todas las manifestaciones suelen desaparecer por completo a los pocos días de haber suspendido el tratamiento y es raro que se prolonguen. La administración de una dosis -- pequeña del antibiotico después de la recuperación, -- suele producir todo el cuadro.(14).

La Eritromicina puede producir efectos irritativos. -- La administración oral, especialmente en dosis de un gramo en adultos, suele acompañarse de malestar epigástrico, a veces muy intenso. La inyección intramuscular de más de 100 mg produce dolor intenso que dura horas. La infusión intravenosa de dosis de un gramo -- aun disueltas en mucho vehículo, generalmente produce tromboflebitis.(14).

La Eritromicina tiene efectos insignificantes sobre -- la flora intestinal, a pesar de que puede haber una -- reducción brusca de los componentes grampositivos -- durante su administración oral. Como sucede con otros agentes antimicrobianos, puede aparecer sobreinfección pueden intervenir bacterias gramnegativas, levaduras y hongos, especialmente Candida (14).

No hay contraindicaciones conocidas para el empleo de la Eritromicina, salvo las reacciones anteriores por alergia al antibiotico. A los pacientes con insuficiencia hepática no se les debe administrar el Estolato.(14).

Louis Weinstein, estudió a seis pacientes que presen-

taron dificultad de audición mientras eran tratados - con 4 gramos al día de Eritromicina por vía intravenosa. Este efecto se manifestó en fase temprana al segundo día de tratamiento o tardía como a la tercera semana. Estudios audiométricos demostraron pérdida de percepción de frecuencias altas al principio, que progresó hasta dificultades con la simple conversación si no se interrumpía el tratamiento. La suspensión logra la recuperación completa de la audición en plazo de unos días a dos o más semanas.(14).

Se reportó el problema que se presentó, con dos mujeres de 65 y 67 años respectivamente. Ambas presentaron endocarditis bacteriana. Una de ellas reportó -- alergia a la penicilina, la otra desarrolló náuseas y vómito después de administrarle penicilina.(34).

A la paciente N° 1 se le administró 2.5 g de Eritromicina por vía intravenosa por día, durante dos días y durante 12 horas 4.2 g al tercer día. La pérdida del oído se inició 3 horas después de terminar la administración.(34).

A la segunda paciente primero se le suspendió el tratamiento con penicilina. Después se le administró -- 4.2 g de Eritromicina por vía intravenosa, durante 12 horas. Notandose que dos horas después de iniciarse la administración se presentó la falta de audición. - (34).

El análisis audiométrico realizado en ambas pacientes

confirmo la disminución en la audición. En ambas pacientes al confirmarse esta sintomatología, se procedió a interrumpir el tratamiento. Observándose una recuperación gradual de la audición, hasta llegar a niveles normales; al cabo de 5 a 8 días.

Recientemente se reportó un caso similar de sordera parcial después de la administración de Eritromicina. La paciente era una mujer de 34 años que padecía una severa infección bacteriana provocada por S. aureus como dato adicional la paciente informó que padecía de diabetes juvenil. Después de algunos estudios se le asignó como agente antibacteriano Eritromicina; un gramo cada seis horas por vía oral. (35).

Cuatro días después de empezar el tratamiento; la paciente informó de dificultad en la audición. Se procedió a realizar un audiograma, que confirmó el decremento en la audición. Tres días después la dosis se redujo a 2.0 g al día; 24 horas después se procedió a un nuevo audiograma, determinándose una notable mejoría en la audición; el mismo se repitió algunos días después encontrándose una audición normal. Durante este período no se observó ningún otro síntoma tóxico debido a la administración de Eritromicina.

En 1978, se presentaron seis casos de pérdida de la audición que ocurrieron durante la administración de altas dosis de Eritromicina. Cinco ocurrieron durante la administración intravenosa de Lactobionato de -

Eritromicina y uno durante la administración oral de Eritromicina.(36).

Como todas estas sorderas se eliminaban al disminuir la dosis o eliminarla completamente, es de deducirse que debe considerarsele como un agente ototóxico.(36)

La Eritromicina es un fármaco poco tóxico para los -- animales y el índice quimioterápico es muy elevado la inyección intravenosa en el perro provoca un descenso transitorio de la presión arterial y un discreto aumento de la motilidad intestinal.(15).

Las manifestaciones alérgicas son poco comunes y consisten en erupciones cutáneas maculopapulosas; fiebre y eosinofilia.(14).

III.7. INTERACCION CON OTROS FARMACOS :

Eritromicina - Lincomicina :

La Eritromicina es un antibiótico el cual presumiblemente interfiere con la actividad de un agente bactericida del tipo de la penicilina. Mientras que las penicilinas actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular, agentes como la eritromicina inhiben la síntesis de proteínas lo cual teóricamente enmascara el efecto bactericida de la penicilina.(37).

Jawetz ha indicado que el antagonismo entre antibióticos puede ocurrir solamente bajo condiciones específicas de dosis, orden de la terapia, etc. y probablemente tiene una menor importancia en la medicina clínica (37).

El menciona que la evidencia clínica existe para el antagonismo entre Eritromicina y Penicilinas, en pacientes con faringitis provocada por Streptococos hemolítico A. Sin embargo Kabins, ha indicado que la Eritromicina es bactericida frente a Streptococos - cuando se usa en dosis altas y así puede junto a la penicilina actuar en sinergismo, bajo estas condiciones. (37).

En otros casos se ha usado Eritromicina asociada con Ampicilina en el tratamiento de neocardiosis pulmonar con aparentes buenos resultados. Así la posibilidad de antagonismo existe, pero esto no ha sido suficientemente reportado en estudios clínicos. La combinación de antibióticos es una terapia que debe ser usada solamente cuando sea muy necesario. Mientras que la penicilina y la Eritromicina tienen similar espectro.

Eritromicina - Teofilina :

El mecanismo no se ha establecido. De acuerdo a observaciones clínicas, se determinó un incremento en los niveles de teofilina en 5 pacientes después de la administración de Eritromicina. Se hizo un estudio con once pacientes bajo tratamiento con Eritromicina; - cuatro de ellos presentaron un incremento en los niveles sanguíneos de teofilina. En pacientes con baja administración de teofilina no se apreció este efecto (37).

En pacientes a los que se les administran altas dosis de teofilina así como de Eritromicina; se debe estar alerta para detectar posibles aumentos en los niveles sanguíneos de teofilina.(37).

Eritromicina - Clindamicina :

La incompatibilidad se establece debido a que ambos compiten por el mismo lugar en la síntesis ribosomal. Este antagonismo se ha observado en estudios in vitro (37).

Eritromicina - Benemid :

La administración conjunta de Eritromicina y Benemid; en animales provoca la inhibición en la reabsorción tubular de la Eritromicina.(38).

Eritromicina - Cleocin :

En estudios realizados in vitro se ha demostrado el antagonismo, entre estos dos fármacos; cuando se administran simultáneamente.(38).

También se han reportado incompatibilidad en la administración conjunta de Eritromicina y aminofilina, -- ácido ascórbico, cloranfenicol y complejo B.(32).

CAPITULO IV

METODOS DE ANALISIS.

IV.1. GENERALIDADES :

Una de las industrias que mayor florecimiento ha tenido en nuestros días es la farmacéutica. Su desarrollo ha llevado consigo el estudio de nuevos métodos de valoración.

Los métodos de valoración son considerados herramientas de gran importancia, ya que nos permiten hacer -- una evaluación adecuada de las condiciones bajo las -- cuales se esta trabajando; de igual forma nos indican la calidad de los productos que se estan introduciendo al mercado. De lo anterior se desprende que la -- elección del método más adecuado y su correcta aplicación nos permite evaluar en forma confiable un determinado proceso. Lo cual implica la corrección a tiempo de errores, que de no ser detectados, provocarían un decremento en calidad y cantidad de la producción. Siendo la Eritromicina un antibiotico muy utilizado; -- uno de los objetivos que gran parte de investigadores persiguen, es el desarrollo de nuevos métodos de valoración. La meta es encontrar un método más rápido -- exacto y reproducible, tomando en cuenta que actualmente el método farmacopéico (U.S.P.: B.P.: etc.), el cual es un método microbiológico (Cilindro en placa), es sin lugar a dudas un serio inconveniente que en algunos casos dificulta la producción, ya que la duración mínima de esta determinación es de 18 horas, que de acuerdo a un horario normal de trabajo involucra --

dos días.

Considerando lo anterior, investigadores de la importancia de Kou-Yi Tserng; John G. Wagner; K Tsuji; - - J.H. Robertson; etc. se han dado a la tarea de desarrollar métodos que permitan agilizar la determinación cuantitativa de la Eritromicina.

En este capítulo se enuncian algunos métodos recientemente desarrollados.

Se encuentran reportadas algunas reacciones coloridas para cuantificar Eritromicina.

A).- Cuando se calienta una muestra de Eritromicina con una mezcla de ácido acético glacial y ácido-perclórico, se obtiene una solución colorida que absorbe a 485 nm. La reproducibilidad de este método es buena, pero sus resultados no se correlacionan con los resultados microbiológicos. (39)

B).- La Eritromicina puede ser oxidada con ácido periódico y el formaldehído resultante se determina con ácido cromotrópico.

La reproducibilidad de este método es buena, pero su sensibilidad en caso de soluciones diluidas no es buena. (40).

C).- El reactivo de Triptofan - ácido perclórico, - - reacciona con la Eritromicina produciendo una coloración roja. Este método es reproducible y sensible; sin embargo los productos de degradación de la Eritromicina y las impurezas también-

reaccionan.(41).

D).- El reactivo de Kanthyrol reacciona con la Eritromicina produciendo una coloración roja, que absorbe a 540 nm.(42).

La sensibilidad y reproducibilidad de este método son buenos; sin embargo los productos de degradación de la Eritromicina interfieren en los resultados.(42).

Después de observar todas estas reacciones se encontró que en general estos métodos proporcionaban resultados inexactos ya que dan lecturas erróneas debido a que interfieren las impurezas y productos de degradación.

La cromatografía en papel y en capa fina; son métodos satisfactorios para la identificación de la Eritromicina y derivados; sin embargo estos métodos no son convenientes para una cuantificación precisa.

IV.2. " IDENTIFICACION Y DETERMINACION SEMICUANTITATIVA DE ERITROMICINA; ESTEARATO DE ERITROMICINA; ESTOLATO DE ERITROMICINA Y ETILSUCCINATO DE ERITROMICINA ".(43).

El procedimiento que a continuación se describe es aplicable para Eritromicina o sus sales; tanto como materia prima como en alguna formulación.

Pueden utilizarse placas preparadas, ya sea en folio de plástico o aluminio. El absorbente sera Silica-gel 60 F₂₅₄ (Merck). Se usaran placas de 20 por 20 cm y con un grosor de 0.25 mm. Estas placas deberán ser activadas previamente a 130° durante 30 minutos.

Fase móvil :

Esta fase se compone de 3 sistemas de solventes:

A).- Metanol.

B).- cloroformo-metanol-ác. acético: (90:10:1).

C).- metanol-cloroformo-ác. acético: (90:5:5).

Revelador :

Se disuelven 5 gramos de Dicromato de Potasio en 100-ml de ácido sulfúrico al 40%.

Solución Estandar :

Se preparan soluciones estandar de Estolato de Eritromicina; Etilsuccinato de Eritromicina y Estearato de Eritromicina en cloroformo a una concentración de 50-miligramos por mililitro. En el caso de Eritromicina Base; esta se disuelve en una mezcla 2:1 de cloroformo y metanol.

Solución Problema :

En el caso de materia prima se toma la muestra por -- analizar y se disuelve en un volumen determinado de -- solvente.

En el caso de cápsulas o tabletas; se toma el peso -- equivalente de la muestra a la concentración de Eri-- tromicina por identificar y semicuantificar; se pasa a un tubo de centrifuga; se añaden 5 ml de cloroformo se agita vigorosamente y a continuación se centrifuga hasta obtener un sobrenadante claro, que se aplica en la placa.

En el caso de una suspensión; se toma el volumen equi

valente, a la concentración de Eritromicina por identificar y semicuantificar; se pasa a un embudo de separación, se le agregan 10 mililitros de agua y 5 ml de cloroformo; se agita y se separa la fase orgánica de ella se toma la muestra para desarrollar la cromatoplaaca.

Procedimiento :

Se coloca un microlitro de las muestras en forma de punto con una micropipeta en una placa de silica-gel, previamente activada. Se espera a que sequen completamente. Se introduce la placa en la cámara saturada con la fase móvil A; una segunda placa preparada de igual forma que la anterior se coloca en una cámara saturada con la fase móvil B y una tercera placa se coloca en una cámara saturada con la fase móvil C. -- Se dejan correr las placas 15 cm aproximadamente. La placa se saca, se marca el frente del solvente y se revela.

Las placas que se desarrollan en la fase móvil A y en la fase móvil C; requieren una temperatura de 150° -- durante 20 minutos para obtener un buen revelado.

La placa que se corrió con la fase móvil B; se introdujo a una estufa a 150° durante una hora.

Con el sistema de solventes A pueden diferenciarse la Eritromicina del Estolato de Eritromicina y el Etilsuccinato de Eritromicina.

Con el sistema B pueden diferenciarse la Eritromicina

Base y el Estolato.

Con el sistema C se diferencian plenamente el Etilsuccinato de Eritromicina y el Estearato de Eritromicina.

A continuación se presentan los valores de Rf, que se obtienen con cada uno de los sistemas de solventes empleados.

<u>COMPUESTO</u>	<u>Rf</u>		
	A	B	C
Eritromicina Base	0.29	0.05	0.4
Estearato de Eritromicina	0.29	0.04	0.38
Estolato de Eritromicina	0.75	0.10	0.42
Etilsuccinato Eritromicina	0.74	0.10	0.44

Para que esta técnica sea semicuantitativa; se varían las concentraciones del estandar, se elige la fase -- móvil que de mayor resolución a la muestra por analizar. Al variar las concentraciones del estandar; se puede determinar a cual concentración del estandar se asemeja más a la solución problema.

IV.3. " METODO ESPECTROFOTOMETRICO PARA CUANTIFICAR ERITROMICINA ". (39).

El desarrollo de este método para la determinación de Eritromicina, se basó en la observación de que la hi-

drólisis alcalina de este material produce una absorción de luz en el rango del ultravioleta. Paralelamente se corre un blanco inactivado con ácido, con el fin de corregir la posible absorbancia de las impurezas.

Este método mostró buena sensibilidad, reproducibilidad, los resultados pueden correlacionarse con la valoración microbiológica.

Para esta valoración se requieren las siguientes condiciones:

Reactivos:

NaOH 0.05N; H₂SO₄ 0.05N.

Estandar :

Pese exactamente 25 mg de Eritromicina estandar de referencia; transfíralo a un matraz de 25 mililitros. Añada un ml de metanol, disuelva la Eritromicina; añore con agua destilada. Prepare el estandar minutos antes de iniciar la valoración. Realice las diluciones suficientes para llegar a las siguientes concentraciones : 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700 y 800 microgramos por mililitro.

Transfiera por duplicado a matraces aforados de 10 ml 5 mililitros de la muestra; al matraz identificado como blanco se le añaden 0.5 ml de ácido sulfúrico 0.05N, se deja reposar una hora a temperatura ambiente. Al segundo matraz añada 1.0 mililitro de NaOH 0.05N y caliente 5 minutos en un baño de agua hirvien

do, enfríe y afore con agua destilada.

Determine la absorbancia usando agua destilada como blanco a una longitud de onda de 236 nm, dentro de los 20 minutos siguientes.

Una vez transcurrido el período de reposo de una hora añada a este matraz 1.5 ml de NaOH 0.05N y caliente a ebullición 5 minutos; se enfríe y afore.

Determine su absorbancia usando agua en la celdilla de referencia a una longitud de onda de 236 nm. La diferencia entre las dos absorbancias corresponde al contenido de Eritromicina.

Muestras :

- a).- Si la muestra es seca; simplemente se pesa y se realizan las suficientes diluciones para llegar a una concentración de 500 microgramos por mililitro.
- b).- Si la muestra se encuentra en solución acuosa; se haran las diluciones necesarias para llegar a 500 microgramos por mililitro.
- c).- Si la muestra se encuentra en solución no acuosa evapore la muestra, el residuo se disuelve en 1- o 2 mililitros de metanol; a partir de esta muestra se realizan las diluciones necesarias para llegar a 500 microgramos por mililitro.

Una alternativa a el método anterior; es el extraer la Eritromicina de la solución no acuosa con una solución de ácido Diglicólico a pH=4.0. Posteriormente -

se centrifuga en un baño de hielo.

Una de las principales características de este método de valoración es su alta sensibilidad, ya que se pueden determinar concentraciones de 10 microgramos por mililitro.

Este método presenta una desviación estandar de 0.0076 a una concentración de 50 microgramos por mililitro.

El rango de concentración en el cual trabaja esta técnica es de 10 a 100 microgramos por mililitro.

IV.4. " DETERMINACION COLORIMETRICA DE LA ERITROMICINA ". - (44).

Un método rápido y preciso para la determinación de Eritromicina en todas las fases de su producción, en el colorimétrico. Los resultados que se han obtenido presentan un coeficiente de variación de $\pm 3\%$ en Eritromicina cruda y de $\pm 1\%$ en soluciones acuosas del antibiótico purificado. El método se basa en la intensa absorción a 485 n.m. que se desarrolla bajo las condiciones que a continuación se señalan.

Reactivos :

H_2SO_4 27N

Sol. amortiguadora de carbonatos pH=9.5

Sol. amortiguadora de fosfatos pH=7.0

Procedimiento :

Preparar una solución estandar que contenga 50 microgramos por mililitro aforar con buffer de fosfatos -- pH=7.0. Pipetear 5 mililitros de esta solución en un

matraz y añadir 5 ml de ácido sulfúrico 27N. Dejar - reposar 20 minutos y determine su absorbancia a 485 - nm; usando agua como blanco. De igual forma trate el problema por valorar.

Cuando se trata de muestras del proceso de fermenta-- ción, la muestra se mezcla con sol. amortiguadora de carbonatos pH=9.5; hasta una concentración aproximada de 50 microgramos por ml y se filtra. Se toma una -- alicuota de 20 ml del filtrado y se centrifuga con 20 ml de sol. de acetato de amilo. (agite el acetato de amilo con 0.1 vol. de solución de bicarbonato de pota sio al 5% previamente), 30 segundos.

Se pipetea 10 ml del sobrenadante y se añaden 10 ml- de HCl 0.1N, agite en un embudo pequeño de separación Tome una alicuota de la fase acuosa de 5 ml y desarro lle la coloración normalmente.

La más seria interferencia de este método es la debi- da a los productos de degradación de la Eritromicina. Este método resulta satisfactorio para un rango de -- concentración que va desde 20 a 200 microgramos por - mililitro.

IV.5. " DETERMINACION DENSITOMETRICA DE ERITROMICINA EN PRE PARACIONES FARMACEUTICAS POSTERIOR A UNA CROMATOGRA-- FIA EN CAPA FINA ". (45).

El método que se describe a continuación es específi- co, preciso y adecuado para la determinación de Eri-- tromicina base y del Estolato de Eritromicina.

Este método puede resumirse en dos procedimientos; el primer paso consiste en una resolución por cromatografía en capa fina tanto de Eritromicina como del Estolato de Eritromicina, seguida de una valoración densitométrica directa de las manchas coloridas.

Parte Experimental :

Solución estándar:

Se utilizan estándares de referencia de Eritromicina- y de Estolato de Eritromicina USP y BP; respectivamente se disuelven en metanol y se llevan a un volumen determinado hasta obtener una concentración aproximada de 5 y 10 miligramos por mililitro.

Solución Problema :

Se pesa exactamente una muestra que se disuelve en metanol hasta llegar a una concentración equivalente a 5 miligramos por mililitro de Eritromicina base.

Placas :

Se usan placas de 20 x 20 cm y 0.25 mm de grosor que previamente a su preparación han sido lavadas y desengrasadas. El absorbente se prepara con 50 gramos de sílica-gel G (Merck) y una solución acuosa de acetato de sodio 0.02N (volumen final = 100 ml).

Las placas se ventilan y secan durante la noche.

La fase móvil se compone: Metanol, Acetato de Sodio - 0.02N y en una proporción de 130 : 20.

La cámara se satura previamente durante 60 minutos.

Procedimiento :

Se colocan tres alicuotas idénticas de las muestra a ser analizada, sobre la línea de partida en la región central de la placa a una distancia de dos centímetros arriba de la parte más baja del margen.

Se colocan 4 diferentes concentraciones de una muestra de referencia, aumentando la concentración de izquierda a derecha de la placa, de tal forma que queden en cada lado de las tres manchas de concentración desconocida, dos manchas del estandar.

La placa se corre 15 centímetros aproximadamente; cerca de 40 minutos; después se saca la placa y se rocía uniformemente con una solución reveladora compuesta de la siguiente formulación: dos gramos de glucosa -- disueltos en una mezcla de 10 mililitros de ácido fósfórico al 85%, 40 ml de agua, 30 ml de etanol y 30 ml de n-butanol; que se calienta 5 minutos a 150° C.

Una vez que las placas han sido reveladas, se procede a realizar la determinación densitométrica. Para -- esto se ajusta el registrador aproximadamente a 2 mm sobre la superficie de la placa. Las lecturas se realizan en un cuarto oscuro.

Con las lecturas obtenidas del estandar se traza una curva. Una vez trazada la curva se procede a determinar la concentración del problema de acuerdo al resultado obtenido de las lecturas correspondientes.

Los resultados obtenidos con este método pueden compararse con los obtenidos por el método microbiológico-

siendo los obtenidos por este método más precisos; ya que el método oficial tiene una precisión de $\pm 5\%$. Bajo las condiciones descritas, se estableció una correlación lineal entre las lecturas densitométricas - integradas y la cantidad de muestra aplicada en un -- rango de 5 a 30 microgramos por mililitro.

IV.6. " DETERMINACION MICROBIOLÓGICA DE ERITROMICINA Y SUS-SALES ". (6), (46).

La eficacia de los antibióticos desde el punto de vista terapéutico, se demuestra por la inhibición sobre microorganismos específicos bajo condiciones especiales. Los cambios sutiles debidos a la disminución de la actividad antimicrobiana, aún no se pueden demos--trar por métodos químicos, pero sí mediante valoracio nes microbiológicas, utilizando cultivos tipo.

Los métodos para valorar microbiológicamente a los an tibióticos son : "TURBIDIMETRICO Y CILINDRO PLACA". - El método turbidimétrico, se basa en el desarrollo de un microorganismo en un medio de cultivo fluido, que contiene una solución uniforme de antibiótico. El -- método de cilindro-placa; se basa en la difusión del antibiótico desde un cilindro vertical, sobre una - - capa de agar solidificada que contiene el germen de - prueba depositado en una caja de petri. La zona de - inhibición prevista del microorganismo es una área -- circular que queda alrededor del cilindro que contiene la solución del antibiótico.

I.- ERITROMICINA :Método : Cilindro - Placa.Material :

- a).- Cilindros : Se usan cilindros de acero inoxidable con diámetro exterior de 8 mm, diámetro interior de 6 mm y longitud de $10 \text{ mm} \pm 0.1 \text{ mm}$, en -- todas las medidas.
- b).- Placas : Se usan placas de petri de plástico o - de vidrio de 20 x 100 mm. Las cubiertas de las - cajas pueden ser de porcelana vidriada, pero úni - camente en su parte exterior.
- c).- Sol. amortiguadora : Se disuelven 16.73 gramos - de fosfato dibásico de potasio y 0.523 gramos de fosfato monobásico de potasio en agua, en 1000 - ml. La solución se ajusta a un $\text{pH}=8.0 \pm 0.1$, -- con solución de KOH 10N o con ácido fosfórico -- 18N, según sea necesario.
- d).- Medio de Cultivo : Para la capa base y la capa - de siembra se utiliza el medio número 11; cuya - formulación es la siguiente :
- | | |
|---------------------------------------|--------|
| Peptona | 6 g. |
| Extracto de Levadura | 3 g. |
| Extracto de Carne | 1.5 g. |
| Digérido Pancreático de Caseína | 4 g. |
| Glucosa | 1 g. |
| Agar | 15 g. |
| Agua Destilada c.b.p. | 1 lt. |

Este medio tendrá después de esterilizarse a 121° durante 30 minutos un pH=7.8 a 8.0.

Para la preparación del inóculo se realizan las-
resiembras en medio N° 1; el cual tiene la si-
guiente formulación :

Peptona	6.0 g.
Extracto de Levadura	3.0 g.
Extracto de Carne	1.5 g.
Digérido Pancreático de Caseína	4.0 g.
Glucosa	1.0 g.
Agar	15 g.
Agua Destilada c.b.p.	1 lt.

Este medio después de esterilizarse 30 minutos a 121°; tendrá un pH=6.5 a 6.6.

e).- Microorganismo de Prueba - Sarcina lutea.

f).- Inoculo : Para preparar el inoculo se procede de la siguiente forma: Se resiembra el microorganismos de prueba en tubos con medio N° 1 inclinado- y se incuba entre 32° y 35° durante 24 horas. - El desarrollo se lava con 3 ml de solución salina estéril y se pasa a una botella de Roux que - contenga 250 mililitros de medio N° 1. La sus-
pensión del microorganismo se extiende sobre toda la superficie del agar, con la ayuda de perlas - de vidrio estériles. Se incuba entre 32° y 35°- y el desarrollo se lava con 50 ml de solución sa-
lina estéril.

Esta suspensión se ajusta de la siguiente forma: Se coloca una alicuota de la suspensión en un -- fotocolorimetro (espectrofotometro), se ajusta - diluyéndola hasta obtener un 25% de transmitan-- cia a una longitud de onda de 580 nm y con este-- dato se ajusta el volumen total de la suspensión El volumen de inóculo normalizado por agregar a-- cada 100 ml de agar de la capa siembra es de 1.5 ml.

g).- Soluciones tipo concentrada y diluidas del estandar : La muestra del estandar de Eritromicina se seca en un pesafiltro de vidrio tarado a 60° - - bajo presión reducida de 5 mm de Hg o menos duran-- te 3 horas, en una estufa al vacio. Después de-- secar la muestra se pesa exactamente y se disuel-- ve en metanol hasta un volumen determinado. De-- esta solución conocida como solución concentrada tipo se toman alicuotas que se llevan a un volu-- men determinado con solución amortiguadora pH=8.0 obteniendose las soluciones diluidas a(1.56 mcg-- por ml); b(1.25 mcg/ml); c(1.0 mcg/ml); d(0.80 - mcg/ml) y e(0.64 mcg/ml).

h).- Solución Problema :

1.- Eritromicina : Se pesa una cantidad de mues-- traexactamente y se disuelve en metanol; se to-- man las alicuotas suficientes para llegar a una-- concentración de 1 mcg/ml de Eritromicina.

La muestra debe contener cuando menos 85% (850-mcg/mg) de Eritromicina, calculada sobre base anhidra. El equivalente de unidades es de un microgramo por U.I., calculada sobre base anhidra.

2.- Estearato de Eritromicina : Se disuelven aproximadamente 50 mg de la muestra en suficiente -- alcohol metílico. Se toman las alicuotas suficientes hasta obtener una concentración de 1 mcg ml. Las segundas diluciones se realizan con -- sol. amortiguadora pH=8.0. La muestra contiene por lo menos la cantidad equivalente al 50% de Eritromicina (500 mcg de Eritromicina por mg)- calculado sobre la base anhidra.

3.- Estolato de Eritromicina : Se disuelven 100-mg de Estolato de Eritromicina nuestra en 40 ml- de metanol, contenidos en un matraz volumétrico- de 100 ml y se diluyen hasta el aforo con solu-- ción amortiguadora de fosfatos pH=8.0. y se mezcla. El matraz se tapa parcialmente y se pone -- en baño maría a 60° durante 2 horas para hidrolizar o bien se deja a una temperatura ambiente -- entre 16 y 18 horas.

Si es necesario se agrega más solución amortiguadora para ajustar a 100 ml y se mezcla. De esta solución se mide una alicuota, se pasa a un ma-- traz aforado de capacidad apropiada, se agrega -- solución amortiguadora hasta el aforo, para obte

ner la preparación por valorar de concentración-cercana a 1 mcg de Eritromicina por mililitro. La muestra contiene por lo menos, el equivalente al 60% de Eritromicina (600 mcg de Eritromicina-por mg), calculado sobre la base anhidra.

4.- Etilcarbonato de Eritromicina : Se pesan - - aproximadamente 50 mg de Etilcarbonato de Eritro-micina muestra y se pasan a un matraz aforado de 100 ml; se agregan 40 ml de metanol absoluto y - se agita hasta disolución. Se diluye con agua - al aforo y se mezcla. El matraz parcialmente -- tapado se coloca en baño María a 60°, durante 3- horas o se deja reposar a temperatura ambiente - de 24 a 40 horas, hasta completa hidrólisis. Se repone el agua pérdida se afora y se mezcla. De esta solución se toma una alícuota, medida con - pipeta, se deposita en un matraz aforado y se -- diluye con solución amortiguadora pH=8.0 hasta - obtener una solución por valorar que contenga el equivalente de 1 mcg de Eritromicina por ml. La muestra contiene por lo menos el 77.5% de Eritro-micina (775 mcg de Eritromicina Base por mg), -- calculada en base anhidra.

5.- Gluceptato de Eritromicina : La muestra se - disuelve en agua, enseguida se diluye con sol. - amortiguadora pH=8.0 hasta obtener una concentra-ción de 1 mcg/ml. La muestra contiene entre 90-

y 115% de la cantidad equivalente de Eritromicina Base.

6.- Lactobionato de Eritromicina : Una muestra - exactamente pesada se disuelve en agua hasta obtener una concentración equivalente a 10 mg de Eritromicina por ml. Se toma la alicuota suficiente para llegar a una concentración de 1 mcg/ml de Eritromicina. Las diluciones se harán con solución amortiguadora pH=8.0. La muestra contiene entre el 90% y el 120% de la cantidad equivalente de Eritromicina.

7.- Etilsuccinato de Eritromicina : Se pesa una cantidad de muestra la cual se pasa, a un matraz aforado de 100 mililitros, que contiene 40 ml de metanol se afora con solución amortiguadora - - pH=8.0, se deja reposar. Se toman las alicuotas necesarias hasta obtener una solución por valorar que contenga el equivalente de 1 mcg/ml de Eritromicina.

La muestra contiene cuando menos 76.5% (765 mcg de Eritromicina por mg) de Eritromicina, calculada en base anhidra.

Procedimiento :

A).- Preparación de las placas : La capa base se prepara agregando 21 ml de medio N° 11; se distribuye uniformemente y se deja solidificar de manera que se forme una superficie plana y lisa. La --

capa siembra se prepara agregando 1.5 ml del -- inoculo ajustado a 100 ml con medio N° 11 fundido y enfriado entre 48° y 50° agitando el matraz con movimiento rotatorio para obtener una suspensión homogénea. A cada una de las placas con la capa base sin inocular se agregan 4 ml del agar-siembra, extendiéndolo uniformemente sobre toda la superficie. Las cajas se cubren con sus tapas de porcelana vidriada, se dejan solidificar de manera que se forme una superficie plana y lisa. Cuando la superficie de agar sembrado (inoculado) se ha solidificado, se colocan en cada una de -- las placas 6 cilindros de manera que queden separados entre sí en forma radial a intervalos de 60° a una distancia del eje de 2.8 cm.

B).- Elaboración de la Curva Tipo : Para la elaboración de la curva tipo, se utiliza un total de 12 placas, 3 para cada solución tipo diluida, excepto para la solución tipo, cuya concentración -- corresponde a la dilución media C, con la cual -- se llenan 3 cilindros de cada placa. En cada -- serie de 3 placas se llenan los cilindros alternando 3 con la solución T₃ y los 3 cilindros con una de las otras soluciones diluidas tipo. De esta manera en las 12 placas habrá 36 zonas de -- inhibición para la solución y 9 zonas de inhibición para cada una de las otras 4 soluciones --

(a, b, d, e). Para cada muestra problema por -- valorar se usan 3 placas. En cada una se colocan 6 cilindros, los cuales se llenan alternando así 3 con la solución C y 3 cilindros con la solución de la muestra problema, cuya concentración estimativa corresponda a la solución C. De esta manera habra 9 zonas de inhibición, tanto para la solución C como para la solución de la muestra -- que se ensaya.

Se incuban las placas a 32° o 35°; durante 18 -- horas. Al terminar el período de incubación, se miden los diámetros de la zona de inhibición.

C).- Estimación de la Potencia : Para trazar la curva tipo se promedian en cada una de las 4 series -- formadas por 3 placas, los 9 diámetros de las -- zonas de inhibición correspondientes a la solu-- ción C y los 9 diámetros de las zonas de inhibi-- ción de cada una de las soluciones diluidas tipo de cada serie (a, b, d, e); también se promedian los 36 diámetros de las zonas de inhibición de -- la solución diluida tipo C, correspondiente a -- las 4 series y el promedio obtenido es la base -- para la corrección. Si cada uno de los 4 prome-- dios de C de cada serie, son iguales al promedio base de corrección, no es necesario hacer los -- promedios individuales.

Un ejemplo de como corregir la zona de inhibición

para la sol. diluida tipo E, es el siguiente: --
 Si el promedio base de corrección es de 18 mm --
 (promedio de los 36 halos de inhibición de la -
 solución diluida C) y el promedio de los 9 diáme-
 tros de las zonas de inhibición de la misma solu-
 ción C de la serie respectiva de 3 placas, es de
 17.8 mm, la corrección es de 0.2 mm. Si el pro-
 medio de los 9 diámetros de la misma serie, - -
 correspondiente a la solución diluida tipo E, es
 de 19.0 mm, el valor correcto es de 19.2. Una -
 vez que se han corregido los diámetros de las --
 zonas de inhibición de las soluciones diluidas -
 tipo, incluyendo el promedio de los 36 diámetros
 correspondientes a las zonas de inhibición de la
 solución diluida tipo C y las concentraciones --
 del antibiótico respectivo, en mcg por ml se tra-
 za la curva tipo en papel semilogarítmico de 2 -
 ciclos, anotando en las abcisas los diámetros de
 las zonas de inhibición y las concentraciones --
 del antibiótico, en las ordenadas.

La curva tipo se traza a través de estos puntos-
 o bien se unen los puntos correspondientes a las
 zonas de inhibición de diámetro más alto y más -
 bajo obtenidos por medio de las siguientes ecua-
 ciones:

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

$$A = \frac{3e + 2d + c - a}{5}$$

Donde :

B.- Diámetro calculado en milímetros, para la -- zona de inhibición de la solución tipo diluida - de más baja concentración.(a).

A.- Diámetro calculado en milímetros, para la -- zona de inhibición de la solución tipo de más -- alta concentración.(e).

C.- Diámetro promedio en mm de las zonas de inhibición de las 36 lecturas de la solución C, en -- las 4 series.

a, b, d, e.- Diámetros promedios corregidos, en milímetros de las zonas de inhibición de las - - otras 4 soluciones diluidas tipo.

Para determinar la potencia de la muestra se pro median los diámetros de las 9 zonas de inhibición en las placas, tanto de la solución diluida C, - como de la solución de la muestra problema. Si el diámetro promedio de las zonas de inhibición de la muestra es mayor que el diámetro promedio de las zonas de inhibición de la solución tipo - respectiva, la diferencia se suma al diámetro de la zona de inhibición de la solución diluida - - tipo óptima. Si el diámetro promedio de las zonas de inhibición de la muestra es menor que el producido por la respectiva solución diluida - - tipo, la diferencia se resta del diámetro de inhibición de la solución diluida tipo C. En la -

curva tipo trazada se leen las concentraciones - correspondientes a estos diámetros de zona de -- inhibición corregidos.

Para obtener el contenido de antibiotico en la - muestra la concentración encontrada se multipli- ca por el factor de dilución apropiado.

IV.7. " DETERMINACION FLUOROMETRICA DE ERITROMICINA ". (47)

El método fluorométrico comprende una extracción, a - partir de muestras de sangre o plasma. Posterior a - la extracción, cada compuesto es determinado cuantita- tivamente por el método fluorométrico. Los resulta- dos obtenidos con este método pueden correlacionarse con los datos obtenidos por el método microbiológico, obteniéndose un margen muy pequeño de diferencia.

Parte Experimental :

Los tubos que se utilizarán para la centrifugación; - deberán siliconizarse previamente. Para esto se pre- para una solución compuesta por un mililitro de sili- clad en 100 ml de agua caliente y dos gotas de una so- lución concentrada de hidróxido de amonio.

Los tubos se impregnan con esta solución durante 3 mi- nutos, se vacian y lavan repetidas veces y después se secan a 120° durante 30 minutos. Después del secado- se enfrían y se sumergen en una mezcla de ácido nítri- co-agua (1 : 2) y se calientan a 80° durante 20 mi- nutos.

Los tubos se dejan enfriar y se lavan con agua desti-

lada; seguida de etanol y aire seco. Se dejan reposar a temperatura ambiente; por lo menos un día antes de su uso.

Reactivos :

Tinopal G,S. : En sol. al 1% en ácido cítrico 0.1M.

Cloruro de Metileno : Mezcla 19:1 de cloruro de metileno y alcohol amílico.

Solución Estandar :

Se prepara la solución stock, disolviendo eritromicina base estándar de referencia en acetona para obtener un rango de concentración entre 0.1 a 2.8 mg por mililitro.

Esta solución se conserva bajo refrigeración.

La solución estándar se prepara tomando 10 microlitros de la solución stock de eritromicina en un matraz volumétrico de 10 ml y aforando con ácido cítrico 0.1M.

Curva Estandar de Eritromicina :

Se coloca en un tubo de centrifuga siliconizado un mililitro de la solución de estándar de eritromicina; - se añade 0.5 ml de solución de Tinopal G,S. y 1.5 ml de cloruro de metileno, esta mezcla se agita a alta velocidad durante 5 minutos y después, se centrifuga a 2000 r.p.m. durante 2 minutos.

Se toma un mililitro de la fase orgánica y se transfiere a un tubo de 13 x 100 mm, que contiene 2.2 ml de etanol absoluto. La solución se mezcla perfectamente y se determina la fluorescencia a 430 nm, con -

excitación a 365 nm.

Curva Estandar de Propionato de Eritromicina :

Se prepara al igual que la curva de eritromicina.

Solución Estandar de Eritromicina y Propionato de Eritromicina en Sangre :

Esta solución se prepara con muestras de sangre y solución stock de eritromicina y propionato de eritromicina en acetona.

Curva Estandar de Propionato de Eritromicina en Sangre

Se toma un mililitro de la muestra; se le añade 2 ml de solución amortiguadora de fosfatos (0.1M, ph=5.7) y 2 ml de éter diétilico. El tubo se agita con una inclinación de 30° a baja velocidad; para evitar la formación de una emulsión. A continuación el tubo se centrifuga a 2000 r.p.m. durante 2 minutos.

Se transfiere a un segundo tubo de centrifuga de 5 ml la fase éterea; evitandose transferir la fase acuosa. A este tubo (N° 2); se le añade un mililitro de ácido cítrico 0.1M; con el fin de extraer a la eritromicina en esta fase. Al tubo N° 1, se le añade 2 ml de éter diétilico para repetir la extracción. Ambos tubos se agitan 5 minutos a baja velocidad, con una inclinación de 30°. Después se centrifugan a 2000 r.p.m.; durante dos minutos.

La fase éterea del tubo N° 2; se elimina y se le añade la fase éterea del tubo N° 1.

Esta nueva mezcla se agita 5 minutos con una inclina-

ción de 30° y posteriormente se centrifuga a 2000 - - r.p.m.; durante dos minutos.

Al finalizar la centrifugación; se elimina la fase -- éterea. La solución de ácido cítrico; se transfiere a un tubo de centrifuga siliconizado de 5 cm; donde - se le añade 0.5 ml de Tinopal G.S. y 1.5 ml de cloruro de metileno. La muestra sigue el procedimiento de la curva estandar de eritromicina; en donde se indica " esta mezcla se agita ... ".

Sin embargo, si la mezcla resultante de la agitación- y centrifugación presenta indicios de un precipitado- entre las 2 fases; el contenido del tubo se elimina - ya que ese precipitado, indica que se transfirió acci- dentalmente componentes de la fase sanguínea.

Curva Estandar de Eritromicina en Sangre :

A un mililitro de la muestra se añaden 2 ml de solu- ción amortiguadora de fosfatos $ph=6.0$; 3 gotas de so- lución saturada de carbonato de sodio y bicarbonato - de sodio. La solución alcalina se extrae con 2 ml de éter diétilico, agitando 5 minutos el tubo con una in- clinación de 30° y posteriormente centrifugado a 2000 r.p.m. durante dos minutos.

La fase éterea se transfiere a un tubo de centrifuga- siliconizado de 5 ml. El resto del procedimiento es- similar al descrito para la Curva Estandar de Propio- nato de Eritromicina, en donde se indica : " Se trang- fiere a un segundo tubo... ". Excepto que debe adi--

cionarse 3 gotas de solución saturada de carbonato de sodio a la muestra sanguínea, antes de la segunda extracción con éter diétilico.

Separación de Eritromicina y Propionato de Eritromicina:

Morozowich, planteo un procedimiento para la separación de eritromicina y propionato de eritromicina.

El encontró que si el pH de la sangre o plasma es - - ajustado a 6.0; después de 2 extracciones con éter, - el propionato de eritromicina se separa. Si la eritromicina se encuentra también presente, no se extrae con el éter. Sin embargo después de la saturación de la fase acuosa con bicarbonato de sodio y ajustando a un pH alto con una solución saturada de carbonato de sodio; después de dos extracciones con éter la eritromicina se extrae completamente.

De acuerdo a lo anterior el procedimiento a seguir -- para la separación es el siguiente: A un mililitro - de la solución problema, se agregan dos mililitros de solución amortiguadora de fosfatos pH=6.0. Esta solución se extrae 2 veces con éter diétilico. Esta solución sigue el procedimiento descrito en la curva estandar de propionato de eritromicina en sangre; donde se indica: " Se transfiere a un segundo tubo... ".

La fase acuosa resultante; es tratada con solución saturada de carbonato de sodio y bicarbonato de sodio.- A continuación se extrae con éter diétilico.

El extracto étereo, sigue la metodología descrita para la curva estandar de eritromicina; donde se indica: -
 " La fase éterea se transfiere... ".

IV.8. " CROMATOGRAFIA DE GASES DE ERITROMICINA Y DERIVADOS " (52).

A continuación se describe la determinación de Eritromicina y sus derivados por cromatografía de gases. - El método implica la sililación de la Eritromicina con una combinación de N,O-bis-trimetilsililacetamida, N-trimetilsilimidazol y trimetilclorosilano en piridina seguida por una cromatografía en columna de seis pies empacada con V 2250 al 3% BPE-20 a 275°C. El método es capaz de separar las Eritromicinas A, B, C, anhidroeritromicina A; eritrolosamina, mono y dimetilacetil Eritromicina A.

La desviación estandar relativa del método para Eritromicina A es menor al 1%.

Las Eritromicinas sililadas A, B y C; así como sus isómeros y componentes fueron caracterizadas por el uso de un Espectrografo de masas L.K.B. 9000 G.S. MS. Los datos indican que todos los hidrógenos activos de los grupos hidroxil en estos compuestos fueron sililados.

Parte Experimental :

Aparato : Se utiliza un cromatografo de gases con un detector de ionización de flama. Las velocidades de flujo de los gases fueron :

Hidrógeno 40 mililitros por minuto.

Aire 600 mililitros por minuto.

Helio 55 mililitros por minuto.

La velocidad de la carta fué de 0.25 pulgadas por minuto a una temperatura de 275°C.

Columnas : Se usan columnas de vidrio con un diámetro interno de 3 mm y una longitud de 1850 mm; las cuales son empacadas con (1) OV-225 al 3% en gas crom Q malla 100, 120 y (2) PPE-20 al 3% en Supelcoport malla-80-100.

Las columnas para sililar la Eritromicina son preparadas para tener 402 platos teóricos. En las condiciones trabajadas, el OV-225 es estable aproximadamente 3 semanas.

Reactivo Estandar de Sililación Interno :

Este reactivo se prepara de la siguiente forma: 5 mililitros de trimetilclosileno son adicionados a 5 mililitros de N,O-bis(trimetilsilil)acetamida, seguido por dos mililitros de N-trimetilsilimidazol.

Diez mililitros de este reactivo de sililación fueron adicionados a 10 mililitros de una solución de piridina que contiene aproximadamente 4.4 mg de 1,3-dimerigín por mililitro de piridina.

Estandar de Referencia :

Se utilizaron diez miligramos de un estandar de referencia U.S.P. de Eritromicina.

Muestra :

Diez miligramos de polvo de Eritromicina fué exactamente pesado en un frasco vial.

Procedimiento de Sililación :

Se adiciona un mililitro del reactivo estandar interno de sililación a cada frasco vial que contiene la Eritromicina, mediante una jeringa de vidrio tipo tuberculina.

A la tapa de plástico de los viales; se les hizo un diminuto agujerito y se calentaron en un baño de aceite a 75°C por 24 horas.

Al finalizar la reacción de sililación los viales son sacados del baño y las tapas reemplazadas por unas nuevas.

La cantidad de Eritromicina inyectada al cromatógrafo de gases es de 10 microgramos; si se incrementa la sensibilidad, cantidades de 100 nanogramos pueden ser inyectadas obteniéndose una buena respuesta en un marco de baja atenuación.

El rango de concentración que detecta este método va de 100 nanogramos a 10 microgramos.

El método que se ha descrito presenta una alta sensibilidad; buena reproducibilidad y los resultados que de ella se obtienen pueden compararse con los datos obtenidos por el método microbiológico; siendo los obtenidos por este método más precisos.

También otra ventaja es que pueden analizarse muestras de aproximadamente 15 años y no se presenta nin-

guna interferencia.

IV. " CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS A ALTA PRESION " (53).

En este método se usa una columna micro-Bondapak G₁₈ y una fase móvil compuesta por: Acetonitrilo-Metanol-Acetato de amonio 0.2M-Agua (45:10:10:35). La desviación estandar del método es de cerca de 0.6% y el método es capaz de seleccionar y cuantificar a las Eritromicinas A, B y C; los epímeros y los compuestos de degradación en los 15 minutos durante los cuales transcurre la cromatografía.

El método de HPLC es aplicable para varios derivados de la Eritromicina.

Existen reportados otros dos métodos de detección de Eritromicina por cromatografía de líquidos a alta presión. En el primer caso; se usa una columna de Corasil II (silicagel), y como fase móvil cloroformo. -- Con este método se demuestra la separación de anhidro eritromicina A y Eritromicina A.(54).

En el segundo método se usa una columna de Jascopack-SV-02-500; y una fase móvil compuesta de metanol-1/15 M buffer de acetatos-acetonitrilo (35:60:5), a Ph=4.9 Se reportó la separación de la Eritromicina A y B; -- sin embargo se carece de los datos de cuantificación y no se demuestra la separación de los epímeros de la Eritromicina ni de sus productos de degradación.(55).

Parte Experimental :

Se utilizó un cromatógrafo de líquidos; equipado con-

una minibomba de alta presión y un detector de longitud de onda variable, el cual se usa a 215 n.m.

La atenuación del detector va de 0.08 a 0.04 u.p.s. - Se inyecta un volumen de 100 microlitros.

La fase móvil se bombea a una velocidad de 1 ml/min.- (1700 p.s.i.), la columna se opera a temperatura ambiente. La fase móvil utilizada es: Acetonitrilo-Metanol-Acetato de amonio 0.2M Agua (45:10:10:25), a un pH=6.0 a 6.5 para el análisis de Eritromicina Base, - Oxalato de Eritromicina y Estearato de Eritromicina - en el caso de muestras de fluidos biológicos el pH de la fase móvil se ajusta entre 7.0 y 7.8.

Los cambios en el pH de la fase móvil afectan el tiempo de retención, sin embargo la resolución de los picos no se ve afectada. Por lo tanto el pH de la fase móvil deberá ser ajustado rutinariamente de acuerdo a la naturaleza de las muestras por analizar.

Aunque la estabilidad de la Eritromicina se ve afectada por el pH, la cromatografía líquida de alta presión se realiza en 15 minutos de tal forma que el efecto del pH de la fase móvil es mínimo.

Sin embargo cuando se requiere el máximo de estabilidad; el pH de la solución debe acercarse a 8.8.

Estandar : Se pesan exactamente de 8 a 9 mg de Eritromicina Estandar de Referencia; se pasan a un matraz aforado de 10 ml y justo antes del análisis se disuelve en la fase móvil.

Muestras : Se pesan de 8 a 9 mg de Eritromicina base o su equivalente de acuerdo a la sal que se trabaje -- se lleva a un matraz aforado de 10 ml; se disuelve -- justamente antes de efectuar el análisis.

Calculos : El pico mayor fué usado para calcular la -- potencia de la muestra y el por ciento en la composi-- ción de los componentes :

POTENCIA = $(A+0.5B+0.4C/W) \times (W_t/A_t+0.5B_t+0.4C_t) \times F_1 \times F_2$. (microgramos/miligramos).

DONDE :

A, B, C.- Son los picos de las Eritromicinas A, B y C respectivamente en la muestra.

W.- Es el peso de la muestra problema.

A_t , B_t y C_t .- Son los picos de la Eritromicina A, B y C respectivamente del estandar de referencia.

W_t .- Peso del Estandar de Referencia.

F_1 .- Potencia asignada al estandar de referencia.

F_2 .- Factor de dilución.

$$\% \text{ COMPOSICION} = \frac{P}{1000} \cdot \frac{I}{A+0.5 B + 0.4 C}$$

DONDE :

P.- Potencia (microgramos/miligramos), de lá muestra-- determinada por el método HPLC.

I.- Pico alto del componente investigado.

Los factores 0.5 y 0.4 usados en el calculo de la po-- tencia fueron reportados por K.Tsuji y J.H. Robertson

(56).

La precisión del método HPLC para cuantificar Eritromicina A, fué determinado, analizando diversas muestras con distintas potencias de Eritromicina U.S.P. - Estandar de Referencia.

La desviación estandar de este método es de 0.64%.

Los resultados que se obtienen con este método para evaluar la potencia de la Eritromicina son más precisos que los que se obtienen con el método microbiológico.

Este método también es aplicable para la determinación de derivados de Eritromicina. La composición de la fase móvil se modifica de acuerdo al derivado que se desea cuantificar.

Este método presenta las ventajas de ser rápido, preciso y con buena reproducibilidad. Puede utilizarse en formas farmacéuticas; síntesis de derivados y estudios clínicos.

Existen diversos factores los cuales deberán ser tomados en cuenta, cuando se utiliza el método microbiológico para la cuantificación de Eritromicina en plasma

Estos son:

- 1.- Cuando las muestras contienen Propionato de Eritromicina, están sujetas a una intensa hidrólisis durante el proceso microbiológico; donde un porcentaje desconocido del ester se hidroliza a Eritromicina.(47).

El Propionato de Eritromicina es microbiológicamente inactivo y debe ser hidrolizado, en tal forma que al liberar la Eritromicina; esta actúa sobre el microorganismo, que está afectando el organismo.(47).

- 2.- Stephens (48), usando cromatografía en papel encontró que durante la administración de Estolato de Eritromicina en voluntarios, la especie de mayor circulación fué el Estolato de Eritromicina. En este estudio encontro que en sangre, plasma y orina existe un total de un 20% a un 25% de Eritromicina y de un 75% a un 80% de Estolato de Eritromicina.
- 3.- Wiegand y Chun; reportaron que cerca del 10% de Eritromicina, pero solo el 1.5% de Propionato de Eritromicina en suero no esta unido a proteínas (49).

Los métodos de análisis usados para Eritromicina ya sean químicos o el microbiológico, determinan el total del antibiotico (libre y unido a proteínas). De lo anterior se desprende que el método microbiológico, nos provee de datos inexactos.

Existen métodos como el realizado por Anderson (50), que consta de una cromatografía en capa fina con detección de los puntos usando como revelador una mezcla de ácido sulfúrico y ácido

molibdico.

Benaszek, modifica el método anterior con el uso de diferentes sistemas de solventes, desarrollando una mayor sensibilidad, usando como revelador una mezcla de sulfato de cerio y ácido molibdico (51). Más la sensibilidad de estos métodos no es suficiente en el caso de muestras de origen biológico.

En vista de lo anterior los métodos idoneos, para muestras de origen biológico son: EL FLUOROMETRICO (pag.84); LA CROMATOGRAFIA DE GASES (pag.89) Y LA CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS A ALTA PRESION (pag.92).

CAPITULO V

IMPORTANCIA ACTUAL.

V.1. GENERALIDADES :

El término macrólido designa una serie de antibióticos que se caracterizan químicamente por poseer un anillo lactónico sumamente grande, en su estructura. Comprende varios antibióticos, siendo el principal la Eritromicina.

La eritromicina base se absorbe bien por la parte superior del intestino delgado, pero en forma de base es inactivada parcialmente por la acidez del jugo gástrico, de manera que es necesario emplearla en tabletas con capa entérica. Es preferible utilizar el estearato de eritromicina, sal insoluble en agua, que no se altera en el estómago y se hidroliza en el intestino, liberando la base además por ser casi insípida puede ser utilizada en forma de suspensión.(14).

Después de la administración oral de esta sal en dosis de 250-500 mg, se obtiene una concentración máxima en plasma de 0.2 a 0.4 microgramos por mililitro entre las 2 y 4 horas, encontrándose en la sangre al cabo de ocho horas.(14).

Si se administran dosis de 250 a 500 mg cada 6 horas se producen niveles sanguíneos mayores de 1 a 2 microgramos por mililitro. Estos niveles también se obtienen con el etilsuccinato de eritromicina.(14).

El estolato de eritromicina es menos susceptible a los ácidos, conserva su potencia en el jugo gástrico por largo tiempo y se absorbe en mayor proporción.

Los alimentos no alteran en grado sensible su absorción aunque el estolato de eritromicina tarda un poco más en absorberse; su concentración máxima es más alta y persiste más tiempo si se administra después de las comidas.

Después de la administración oral de una dosis única de Estolato de Eritromicina se obtiene una concentración máxima plasmática de 3 microgramos por mililitro aproximadamente al cabo de dos horas.(14).

Por vía intramuscular la Eritromicina en forma de Etil succinato o Lactobionato se absorbe perfectamente, obteniéndose niveles adecuados en sangre a la hora de la inyección. Por vía intravenosa, cuando se emplea la sal soluble, Lactobionato de Eritromicina, las concentraciones son inmediatamente alrededor de 15 mcg/ml pero caen rápidamente, siendo muy bajas a las 3 horas.(7).

Una vez que la Eritromicina ha sido absorbida, se distribuye por todos los órganos particularmente en el hígado, bazo y pulmones.(15).

La Eritromicina se difunde en los líquidos intracelulares. Todos los tejidos excepto el cerebro, contienen concentraciones mayores que la sangre y el antibiótico se encuentra todavía en los tejidos algún tiempo después de haber desaparecido de la circulación. Se difunde en los líquidos pleural y el peritoneal; la concentración en el líquido cefalorraquídeo-

de las personas con meningitis suele ser lo suficientemente altas para destruir neumococos y estafilococos. La Eritromicina atraviesa la placenta; la concentración plasmática fetal es del 5 al 20 por ciento de la materna.(14).

Cuando se administran dosis grandes por vía oral, en el excremento se encuentran a veces hasta 0.5 mg/g. - El antibiótico se concentra en el hígado hasta 250 mcg/ml cuando la concentración sanguínea es muy alta.(14) Aunque una gran proporción de Eritromicina es excretada en la bilis, se reabsorbe hasta tal grado que la excreción renal es el destino final de la porción de Eritromicina no metabolizada.(59).

En la orina se excreta en forma activa solamente del 2 al 5 por ciento de la Eritromicina administrada por vía oral; del 12 al 15 por ciento después de la infusión intravenosa.(14).

Como la Eritromicina es concentrada en el riñón, se alcanzan niveles antibacterianos activos en la orina - alrededor de 25 mcg/ml.(15).

La eliminación del organismo es rápida y la vida media para el caso de la Eritromicina es de 3 horas. - En los casos de insuficiencia renal, dada la exigüidad de la excreción, la vida media de la Eritromicina se eleva, llegando así a 4.5 horas.(15).

Se desconocen las vías metabólicas de degradación de la Eritromicina en el cuerpo.(14).

La propionil Eritromicina es efectiva contra la mayoría de los microorganismos gramnegativos. Este ester produce niveles plasmáticos mucho más altos que la Eritromicina base. La Eritromicina se usa en forma conjunta con el sulfasorazol para profilaxis contra infecciones oculares.(57).

La Eritromicina es estable en estado seco. En solución mantiene su actividad durante largo tiempo bajo refrigeración (5°). La exposición de sus soluciones a 60° provoca una rápida baja en su actividad antibacteriana.(58).

V.2. " PREPARADOS, DOSIS Y VIAS DE ADMINISTRACION ".

La Eritromicina es un antibiótico de amplio espectro similar al de la Penicilina G.

Es uno de los antibióticos de menor toxicidad que se absorbe con rapidez y prácticamente no destruye la flora intestinal. A partir de su descubrimiento en 1952 por Mc. Guire y colaboradores se ha utilizado en forma de base, estearato, estolato, etilsuccinato, etc.; en una gran variedad de formas farmacéuticas, teniendo una gran demanda.

En México, al igual que en todo el mundo; se busca constantemente el dar al público fármacos cuya eficacia sea mayor y cuyos efectos indeseables sean los mínimos posibles.

De acuerdo a lo anterior existe en el mercado una gran diversidad de formas farmacéuticas que incluyen-

dentro de su formulación Eritromicina Base o alguno - de sus derivados esto permite una competencia leal -- entre los laboratorios productores; por la mejora de formulaciones; considerando ante todo la salud del -- paciente.

A continuación se hace mención de las formas farmacéu- ticas que se encuentran en el mercado; registrando la vía de administración.

V.2.1. ERITROMICINA :

<u>Forma Farmacéutica</u>	<u>Contenido</u>	<u>Vía de Admon.</u>
Suspensión	400 mg/10 ml	Oral.
Tableta	500 mg	Oral.

V.2.II ESTEARATO DE ERITROMICINA :

<u>Forma Farmacéutica</u>	<u>Contenido</u>	<u>Vía de Admon.</u>
Cápsula	250 mg	Oral.
Gragea	150 mg	Oral.
Suspensión	250 mg/5 ml	Oral.
Tableta	250 mg	Oral.
Tableta	500 mg	Oral.

V.2.III ESTOLATO DE ERITROMICINA :

<u>Forma Farmacéutica</u>	<u>Contenido</u>	<u>Vía de Admon.</u>
Cápsulas	250 mg	Oral.
Cáp. con núcleo en térico	250 mg	Oral.
Solución	100 mg/ml	Oral.
Suspensión	125 mg/5 ml	Oral.
Suspensión	2.5 g/100 ml	Oral.
Suspensión	3 g/100 ml	Oral.
Tableta	250 mg	Oral.

V.2.IV ETILSUCCINATO DE ERITROMICINA :

<u>Forma Farmacéutica</u>	<u>Contenido</u>	<u>Vía de Admon.</u>
Gotas	5 mg/gota	Oral.
Solución	50 mg/1 ml	I.M.
Solución	100 mg/2 ml	I.M.
Suspensión	125 mg/5 ml	Oral.
Suspensión	200 mg/5 ml	Oral.

V.2V. PROPIONATO - LAURIL - SULFATO DE ERITROMICINA :

<u>Forma Farmacéutica</u>	<u>Contenido</u>	<u>Vía de Admon.</u>
Cápsula	250 mg	Oral.
Suspensión	125 mg/ml	Oral.
Suspensión	250 mg/5 ml	Oral.
Tableta	500 mg	Oral.

Conforme a lo anterior, se puede resumir lo siguiente la dosis oral de Eritromicina para el adulto oscila - entre uno y cuatro gramos al día, en cantidades igualmente divididas y espaciadas, por lo general cada - - seis horas, según la naturaleza y la gravedad de la - infección. Dosis hasta de ocho gramos, parecen ser - bien toleradas, administradas durante tres meses.

No deben administrarse alimentos inmediatamente des--pués de la ingestión de Eritromicina Base; esta pre--caución no es necesaria cuando se administra el esto--lato. La dosis oral para niños es de 30 x 50 mg/Kg.- al día en cuatro tomas.

La inyección intramuscular tiene la limitante de que es dolorosa; esto disminuye añadiendo como en el caso de la inyección del etilsuccinato de Eritromicina, un anestésico local al dos por ciento como el butilamino benzoto.

La administración intravenosa se reserva para el tra-

tamiento de las infecciones graves. La dosis común es de un gramo cada seis horas, durante cuatro semanas sin otro problema que la tromboflebitis en el sitio de la inyección.

Asimismo en general las indicaciones que presentan -- las anteriores formulaciones son: Infecciones de las vías respiratorias altas y bajas; faringitis, amigdalitis, bronquitis, neumonía; producidas por estafilococos, estreptococos, neumococos sensibles y en pacientes alérgicos a la penicilina.

Cuando se encuentra asociada a agentes mucolíticos, -- como el clorhidrato de N-ciclohexil-N-metil-(2-amino-1,6-dibromobencil)amina, permite realizar un tratamiento más efectivo en las infecciones en las vías -- respiratorias, gracias a que Bisolvon fragmenta las -- fibras de mucopolisacáridos ácidos responsables de la viscosidad de su expulsión, por lo cual Bisolvon limpia el epitelio y descongiona los tejidos, haciendo posible una mayor penetración y concentración del antibiótico en el sitio de la infección.

Las contraindicaciones en el caso de la mayoría de las sales; son pacientes con hipersensibilidad. Y en el caso de administración de Estolato de Eritromicina, -- debe tenerse precaución ya que provoca en algunos casos obstrucción biliohepática.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

La Eritromicina es un antibiótico que pertenece al grupo de los mácrolidos; llamados así por tener un gran anillo de lactona en su estructura.

Entre las propiedades fisicoquímicas de la base; se encuentra su baja solubilidad en agua; por lo cual la absorción es baja. Debido a esto se han sintetizado una serie de sales - que aumentan su solubilidad y estabilidad como ejemplo: El-Estolato; El Etilsuccinato; que se utilizan en formas farmacéuticas orales; El Lactobionato y el Gluceptato que se administran por vía intramuscular e intravenosa.

La Eritromicina presenta un espectro mediano de actividad. Es el antibiótico de primera elección en el tratamiento de infecciones del tracto respiratorio; se utiliza con gran acierto en infecciones de las vías urinarias y en amibiasis - es una eficaz ayuda en el tratamiento de pacientes que presentan alergia a la penicilina, debido a que presentan actividad similar.

Los efectos indeseables de este antibiótico que se podrían considerar son: náuseas; prurito y dolor abdominal. Se han reportado algunos casos de disminución en la audición. Al administrar el Estolato de Eritromicina se presenta con cierta frecuencia hepatitis coléstatica.

Debido a su importancia se han desarrollado; diversos métodos de valoración; estos van desde cromatografía en capa fina que se encuentra al alcance de cualquier laboratorio así - como métodos espectrofotométricos ya sea en el umbral del visible o ultravioleta.

El método farmacopéico es el microbiológico; este presenta -
serios inconvenientes; ya que su duración y manipulación in-
volucra una serie costosa de gastos.

Dentro de los métodos que recientemente se han desarrollado;
existen el de " Cromatografía de gases, Cromatografía de lí-
quidos a alta presión ", los cuales cuentan con una mayor --
sensibilidad que el microbiológico, el tiempo de análisis es
mucho menor y permiten realizar estudios de farmacocinética-
y bioequivalencia en los cuales se determina la concentración
del fármaco en fluidos biológicos.

En nuestro país la Eritromicina presenta singular importan--
cia; ya que el número de personas que padecen infecciones --
provocadas por microorganismos sensibles a la Eritromicina -
ha ido en aumento.

Esto ha permitido; que actualmente exista en el mercado una-
gran cantidad de presentaciones farmacéuticas; que incluyen-
dentro de su formulación Eritromicina Base o alguna de sus -
sales.

De acuerdo a todo lo anterior; se contempla la importancia -
de un control estricto en la elaboración de este antibiótico
para dar a la población un mayor margen de seguridad, en la-
adquisición de este antibiótico.

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

- 1.- Diccionario de Especialidades Farmacéuticas.
Vigésima quinta edición.
1979.
- 2.- Pribor, Morrel, Sher.
Drug Monitoring & Pharmacokinetic Data.
Palthotox Publishers Inc.
1980.
- 3.- The United States Pharmacopoeia XIX.
Official from 1, July, 1975.
- 4.- The United States Pharmacopoeia XX.
Official from 1, July, 1980.
- 5.- British Pharmacopoeia.
Effective date : 1 December 1980.
London Her Majesty's Stationary Office, 1980.
- 6.- Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos.
Quinta Edición.
México, 1974.
- 7.- The Merck Index and Encyclopedia of Chemical and Drugs.
Eighth edition.
Published by Merck & Co., Inc.
1968.

- 8.- European Pharmacopoeia.
Council of Europe.
1971

- 9.- FARMACOS 1973.
Cámara Nacional de la Industria de Laboratorios Químicos Farmacéuticos.
México, D.F., 1973.

- 10.- The Pharmaceutical Codex.
Eleventh edition.
The Pharmaceutical Press.
1979.

- 11.- National Formulary.
A P H A .
1970.

- 12.- Martindale.
The Extra Pharmacopoeia
27 th.edition.
Pharmaceutical Press; 1977.

- 13.- John Glasby.
Enciclopedia of Antibiotics.
A Wiley-Interscience Publication.
John Wiley & Sons.
1976.

- 14.- Louis S. Goodman & Alfred Gilman.
Bases Farmacológicas de la Terapéutica.
Quinta edición.
Editorial Interamericana.
1978.
- 15.- Manuel Litter.
Farmacología Experimental y Clínica.
Quinta edición.
editorial " El Ateneo ", S.A.
1975.
- 16.- Victor Drill.
Farmacología Médica.
Editorial " La Prensa Médica Mexicana ".
Primera Edición.
1969.
- 17.- F.H. Meyers : E. Jawetz : A. Goldfien.
Review of Medical Pharmacology.
6 th. edition.
Lange Medical Publications.
1978.
- 18.- Richard H. Meade III.
American Journal of Hospital Pharmacy 36:1185-1189 --
(Sep).
1979.

- 19.- L.P. Garrod : H.P. Lambert : F.O'Grady.
Antibiotic and Chemotherapy.
cuarta edición.
ed.Churchill Livingstone.
1973.
- 20.- Nader G. Ibrahim; J.P. Burke; Diana S. Beattie.
The Journal of Biological Chemistry, vol.249.6808-6811
1974.
- 21.- J. Ward Kislak, M.D.: L.M. B. Razavi, M.B.; A.H.Daly,
B.S.
The American Journal of Medical Sciences.Sep.(53-60).
1965.
- 22.- J.P. Batzler; R.Vanhoof; N. Clumeck; P. de Mol. M.P.-
Vanderlindeu, and E. Yourassowsky.
Chemotherapy 25: 367 - 372 (1979).
- 23.- R.V. Mc..Claskey et.al.
Ann. Intern. Med., 1974, 81, 788.
- 24.- D.L. Alterio; Hospital, Río de Janeiro, 1968, 73, 1207.
Trop. Dis., Bull; 1969, 66, 298.
- 25.- Dukes M.N.
Side Effects of Drugs.
Annual I.
Excepta Médica.
1977.

- 26.- Eric T. Herfindal; J.L. Hirschman.
Clinical Pharmacy and Therapeutics.
ed. The Williams and Wilkins Company.
1975.
- 27.- J. Kendler; S. Anuras; O. Laborda; H.J. Zimmerman.
Proc. Soc. Exp. Biol. Méd. 139 : 1272 - 1275 (1972).
- 28.- C.A. Dujovne; D. Shoeman; J. Bianchine and L. Lasagna.
J. Lab. Clín. Méd. 79, 832-844. (1972).
- 29.- Hyman I. Zimmerman; J. Kendler; Sam Libber.
Proc. Soc. Exp. Biol. Med. vol. 144, 1973.
- 30.- H.I. Zimmerman; J. Kendler; S. Libber; L. Lukacs.
Biochemical Pharmacology vol. 23 (2187-2189), 1974.
- 31.- D. Krawchur; John H. Seashore.
Pediatrics. vol. 64. N° 6; December 1979.
- 32.- Med. Lett., 1972, 14 (Jan); Suppl. 32.
- 33.- E.S. Zafrani, MD.: Kamal G. Ishak MD, PhD, and C. Ruzki, MD.
Digestive Diseases and Sciences, vol. 24. N° 5 (May, 1979).

- 34.- U. Mintz; J. Amir; J. Pinkhas; A. de Vries.
JAMA, Aug. 27, 1973. vol. 225, N° 9 (1122-1123), 1973.
- 35.- M.R. Eckman., MD.: T. Johnson, MD: R. Riess, MD.
New. Eng. J. Med. 292, 649, 1975.
- 36.- Annual Review of Pharmacology and Toxicology.
Vol. 18, 1978. page. 242.
- 37.- Philip D. Hansten.
Drug Interactios.
4th. edition.
Lea & Febiger.
- 38.- Gerald Swidler.
Handbook of Drug Interactios.
John Wiley and Sons. Inc.
1976.
- 39.- John B. Tepe and C. V. St. John.
Analytical Chemistry 27, N° 5,744-746; May, 1955.
- 40.- Bricker C. E., and Johnson H.R.
Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 17,400.(1945).
- 41.- Cohen, S.S.
J. Biol. Chem., 156, 691. (1944).

- 42.- Pesez, M.
Ann. pharm., franc., 10, 104 (1952).
- 43.- A. Vilim, M.J. Lebelle, W.L. Wilson and K.C. Graham.
Journal of Chromatography, 133 (1977), 234-244.
- 44.- Jared H. Ford; G.C. Prescott; J. W. Hinman and L. Ca-
ron.
Analytical Chemistry 25, N° 8; 1195-1197. 1953.
- 45.- C. Radecka, W.I. Wilson and D. W. Hughes.
Journal of Pharmaceutical Sciences, 1972. (430-431).
- 46.- CODE OF FEDERAL REGULATIONS.
Title 20.
Part. 130 to end.
Revised as of January 1, 1966.
- 47.- Kou-Yi Tserng and John G. Wagner.
Analytical Chemistry, vol. 48, N° 2 February, 1976.
- 48.- V. C. Stephens; C. T. Pugh; N. E. Davis; M. M. Hoehn;
R. Ralston; M.C. Sparks and L. Thompkins.
J. Antibiot, 22, 551, (1969).
- 49.- R.G. Wiegand and A.H.C. Chun.
J. Pharm. Sci., 61, 425. (1972).

- 50.- T. T. Anderson.
Journal Chromatography. 14, 127. (1964).
- 51.- A. Banaszek; K. Krowicki and A. Zamajski.
Journal Chromatography, 32, 581. (1968).
- 52.- J.H. Robertson and K. Tsuji.
J. Pharm. Sci., 61. (1972), 1633.
- 53.- Kiyoshi; Tsuji and John F. Goetz.
Journal of Chromatography, 147 (1978), 359-367.
- 54.- E.F. Montoya.
Chromatography Application, Spectra-Physics, Mountain-View California. 1975.
- 55.- S. Omura; Y. Susuki; A. Hakayawa and T. Hata.
J. Antibiot., 26, 794. (1973).
- 56.- K. Tsuji and J.H. Robertson.
Analytical Chemistry 43; 818 (1971).
- 57.- Drugs of Choice. 1980 - 1981.
The C. V. Mosby Co.
- 58.- Arthur Osol; Ph. D., LL.D., Sc. D.;Robertson Pratt, -
Ph. D.
The United States Dispensatory.

27th. edition.

J.B. Lippincott Company.

1967.

59.- E. G. Clarke.

Isolation and Identification of Drugs.

Pharmaceutical Press.

Londres, 1969.

60.- CODE OF FEDERAL REGULATIONS

Title 21

1980.