

DESARROLLO DE UN MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO PARA LA CUANTIFICACIÓN DE CLARITROMICINA EN SUSPENSIÓN ORAL

Development of a spectrophotometric method for the quantification of clarithromycin in oral suspension

Laura Irais Ojeda Martínez, Verónica Abril Flores Villegas, Ximena Valdez Sánchez, Silvia Alejandra López Juárez,² Marco Antonio Ramírez Morales,¹ Clara Alba Betancourt.¹

¹ Universidad de Guanajuato, Campus Guanajuato, División de Ciencias Naturales y Exactas, departamento de Farmacia, ² Universidad de Guanajuato, Campus León, División de Ciencias e Ingenierías.
c.albabetancourt@ugto.mx¹

Resumen

Los estudios de estabilidad son fundamentales para determinar la vida útil, almacenamiento y transporte óptimos de productos farmacéuticos. La claritromicina, un antibiótico macrólido de amplio uso clínico, posee una estructura sensible a condiciones ácidas que puede ser aprovechada para su cuantificación. Tradicionalmente, se utiliza HPLC para determinar su concentración; sin embargo, este método presenta limitaciones en cuanto a costos y requerimientos técnicos.

Este estudio propone una metodología alternativa de cuantificación basada en espectroscopía UV-Visible, mediante la hidrólisis ácida de la claritromicina que genera un producto con absorbancia a 450 nm. Se desarrolló una curva de calibración utilizando tanto un estándar puro como una suspensión comercial del medicamento. La prueba demostró que la suspensión ofrece resultados más cercanos a los valores esperados, posiblemente debido a una hidrólisis más eficiente en comparación con el estándar.

Se observó que el producto de degradación es fotosensible, por lo que se optimizó el método utilizando un medio de reacción simplificado (agua y ácido sulfúrico), lo que mejoró la estabilidad del color generado. La metodología mostró buena linealidad ($R^2 = 0.998$) y reproducibilidad entre diferentes analistas, lo que la hace adecuada para fines didácticos y de investigación.

En conclusión, el método propuesto representa una alternativa sencilla, económica y reproducible para la cuantificación de claritromicina, favoreciendo tanto el aprendizaje estudiantil como el desarrollo de métodos accesibles en contextos con recursos limitados.

Palabras clave: claritromicina, suspensión oral, ultravioleta-visible, cuantificación.

Introducción

Los estudios de estabilidad constituyen una base científica fundamental para la determinación de la vida útil de fármacos, medicamentos y productos herbolarios. Estos ensayos permiten establecer con precisión los periodos de caducidad, la viabilidad de almacenamiento de productos a granel o intermedios, las condiciones óptimas para la conservación y el transporte, así como la selección adecuada del sistema de envasado.¹ En los productos farmacéuticos, pueden ocurrir transformaciones irreversibles de naturaleza química, física o microbiológica que comprometen la estabilidad tanto del ingrediente farmacéutico activo (IFA) como de los excipientes. La intensidad y la cinética de dichas alteraciones dependen de las características fisicoquímicas de la formulación y su envase primario, así como por factores ambientales externos tales como la temperatura, la exposición lumínica, la presencia de oxígeno y la humedad relativa.²

La claritromicina pertenece a la familia de los macrólidos, clase destacada de compuestos antibacterianos con alta actividad frente a cocos Gram positivos y Gram negativos. Es un fármaco antibacteriano de alta eficiencia empleado ampliamente en el tratamiento de infecciones bacterianas del tracto respiratorio, piel y tejidos blandos.³⁻⁵

Los antibióticos macrólidos contienen un grupo básico de dimetilamina $[-N(CH_3)_2]$, capaz de captar un protón. Su característica estructural principal es un anillo de lactona macrocíclico que incluye uno o dos residuos de

azúcar. Específicamente, la claritromicina (figura 1) es un anillo de lactona de 14 miembros con diez centros asimétricos y dos moléculas de azúcar (L-cladinosa y eritralosamina).

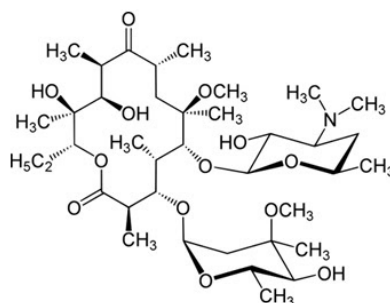


Figura 1. Estructura química de la claritromicina.

La claritromicina es estable en medio ácido, manteniendo una elevada actividad antimicrobiana frente a una amplia variedad de bacterias Gram positivas y Gram negativas. Su metabolismo principal, tanto en animales como humanos, conduce a la formación del metabolito biológicamente activo **14-hidroxi-6-O-metil-claritromicinamicina** (Figura 2). La inactivación de la claritromicina puede ocurrir mediante la eliminación hidrolítica del residuo del azúcar cladinosa, proceso que se desarrolla bajo condiciones ácidas.⁶

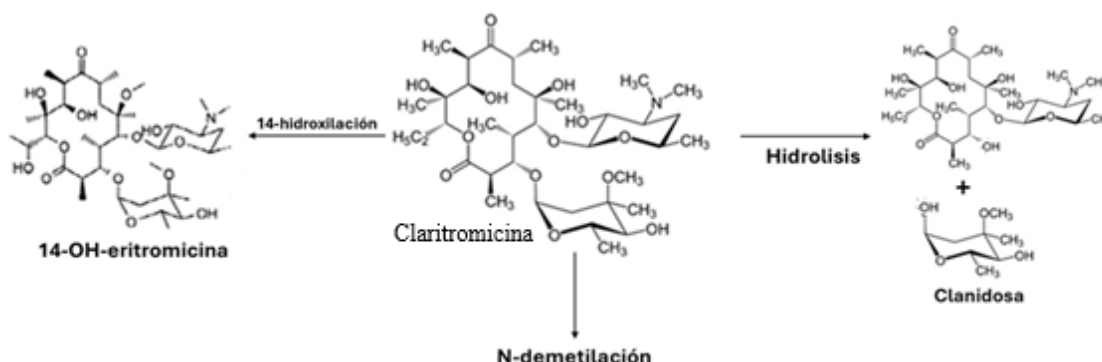


Figura 2. Metabolismo de la claritromicina.

Actualmente el método disponible para la cuantificación de la claritromicina en todas sus formas farmacéuticas es la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), técnica comúnmente utilizada. No obstante, este método presenta ciertas limitaciones, siendo principalmente el alto costo del equipo y la necesidad de personal especializado para su operación.⁷⁻⁸

Los antibióticos macrólidos carecen de suficientes grupos cromóforos, lo que impide su determinación directa mediante espectrofotometría.⁹ En cambio, la claritromicina reacciona con ácido sulfúrico concentrado, generando una coloración amarilla atribuible a la interacción de la fracción azucarada con el ácido, presentando una absorbancia máxima a 450 nm.¹⁰

Por lo anterior, en el presente trabajo se propone un método de cuantificación sencillo y de bajo costo, para determinar la concentración de un antibiótico macrólido - en este caso la claritromicina- basado en la reacción de hidrólisis del principio activo. Este proceso induce la eliminación hidrolítica del residuo azucarado de cladinosa (figura 2) generando una coloración naranja que absorbe en la región visible del espectro.

Objetivos

- Desarrollar un método espectroscópico por Ultravioleta-visible para determinar la presencia de la claritromicina.

- Facilitar a los alumnos participantes la comprensión de los principios básicos para la determinación de un metabolito por espectroscopia Ultravioleta-visible.
- Los resultados de la investigación facilitaran el proceso de difusión del conocimiento por los canales comunes como congresos, artículos científicos y presentaciones, tanto en foros dentro y fuera de la universidad.

Metodología

Colección de la muestra

Para este estudio se utilizó una marca comercial de medicamento genérico “KROBICIN”, suspensión oral de claritromicina con una concentración de 250 mg/ 5 ml, fabricada por laboratorios Mavi Farmacéutica S.A. de C. V.

Reactivos

Se prepararon soluciones de ácido clorhídrico 0.1 M y acetato de sodio trihidratado 0.1 M. El ácido sulfúrico concentrado se obtuvo de una marca comercial reconocida.

Instrumentación

Se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis de la marca Thermo Fisher. La detección UV se efectuó a una longitud de onda de 450 nm para la identificación de los picos correspondientes a las muestras analizadas.

Preparación de la curva de calibración

Se preparó una solución madre utilizando claritromicina pura de la marca Sigma-Aldrich. Para ellos, se pesaron 50 miligramos de claritromicina, inmediatamente se mezcló con 50 ml de solución de acetato de sodio trihidratado 0.1 M. La muestra se sometió a sonicación para optimizar la disolución del reactivo. A continuación, se añadieron 10 ml de ácido sulfúrico concentrado y la solución resultante fue filtrada. Finalmente, el volumen se ajustó a 100 ml con ácido clorhídrico 0.1 M en un matraz aforado. Posteriormente, se realizaron diluciones en cinco matraces volumétricos de 10 ml, siguiendo la Tabla 1, utilizando la solución madre y ajustando volumen con ácido clorhídrico 0.1M.

Tabla 1. *Concentración de diluciones realizadas para la curva de calibración*

Concentración	ml de la solución madre
50 µg/ml	1 ml
100 µg/ml	2 ml
200 µg/ml	4 ml
300 µg/ml	6 ml
400 µg/ml	8 ml



Las muestras fueron analizadas mediante espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 450 nm, a partir de la cual se obtuvo la ecuación de la recta de calibración.

Preparación de muestra

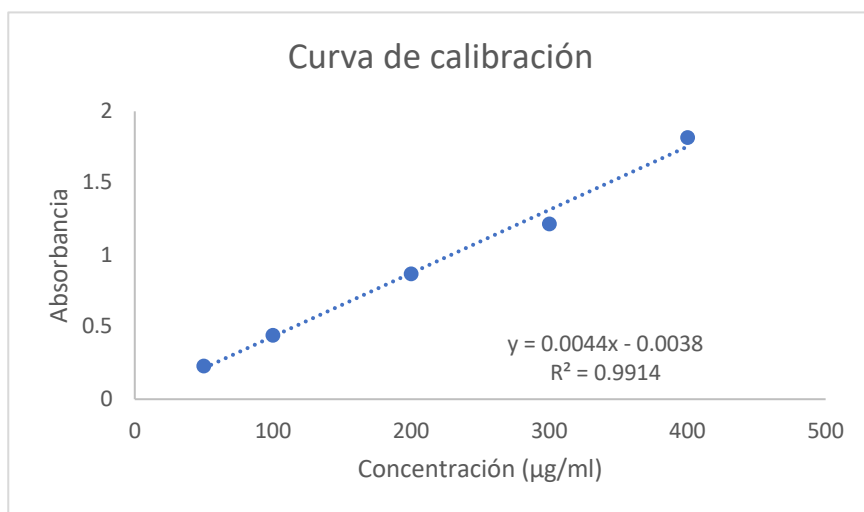
La muestra se preparó conforme a las indicaciones utilizando 60 ml de agua purificada. Se agitó hasta la disolución completa de los grumos y posteriormente se sometió a sonicación durante 10 minutos. A continuación, se tomó 1 ml de la solución preparada y se transfirió a un matraz aforado de 100 ml, al cual se añadieron 50 ml de solución de acetato de sodio, seguido de otra sonicación de 10 minutos. Seguidamente, se adicionaron 10 ml de ácido sulfúrico concentrado; este paso es crítico, ya que el ácido debe incorporarse rápidamente y observarse la formación inmediata de un color amarillo (Figura 3). Una vez alcanzado el color deseado, la solución se filtró y se llevó a volumen final con ácido clorhídrico 0.1 M hasta los 100 ml en el matraz aforado. Posteriormente, se tomaron 4 ml de esta solución y se diluyeron en un matraz aforado de 10 ml, completando el volumen con ácido clorhídrico 0.1 M para obtener una concentración final de 200 mg/ml. Las diluciones se prepararon por triplicado (ver Figura 3) y se analizaron mediante espectrofotometría UV-Vis a una longitud de onda de 450 nm.



Figura 3. Preparación de la muestra y diluciones

Discusión de Resultados

Se elaboró una curva de calibración utilizando el estándar de claritromicina, a partir de las distintas diluciones preparadas. En la gráfica (gráfica 1) se observa que la absorbancia es directamente proporcional a la concentración del analito (tabla 1). El coeficiente de determinación (R^2) obtenido fue de 0.998, lo que evidencia una excelente linealidad en el rango de las concentraciones evaluadas.



Grafica 1. Curva de calibración del estándar de claritromicina.

Posteriormente, se planteó realizar la lectura al día siguiente para evaluar la estabilidad del método; sin embargo, se observó que la solución adquirió una coloración verde, lo que indica que la reacción no es estable

o que el producto es fotosensible. Por esta razón, se repitió el procedimiento, pero esta vez la muestra se almacenó protegida de la luz, observándose que la coloración naranja se mantenía durante tres días, lo cual sugiere que el producto de degradación es fotosensible.

Se plante entonces la hipótesis de que simplificar el medio de reacción podría mejorar la estabilidad del método. Se realizó la misma prueba utilizando únicamente agua y ácido sulfúrico, generando la coloración naranja que mostró una mayor estabilidad en comparación con el medio que contenía el acetato de sodio y ácido clorhídrico. Por lo tanto, se decidió conservar el medio con agua y ácido sulfúrico.

Adicionalmente, se realizó un barrido espectral de la muestra para detectar la señal correspondiente al producto de degradación de la claritromicina, la cual se presenta a una longitud de onda de 450 nm.

Se utilizó la solución para elaborar una curva de calibración, con el propósito de que los alumnos pudieran realizar individualmente sus propias curvas y evaluar la reproducibilidad del método al variar el analista. Los resultados demostraron que el proceso es reproducible y presenta una adecuada linealidad, evidenciada por la ecuación de la recta y un coeficiente de determinación (R^2) satisfactorio (gráfico2).

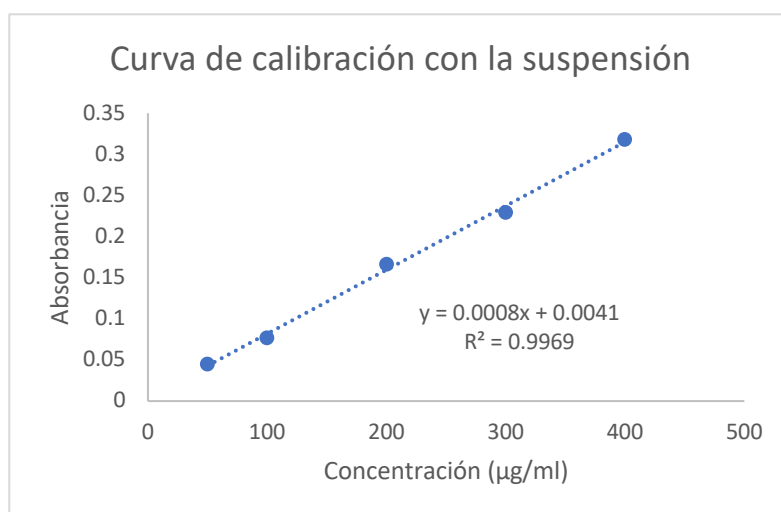


Gráfico 2. Datos de la curva de calibración usando la suspensión como fuente de claritromicina.

Una vez confirmada la reproducibilidad de las condiciones de hidrólisis, se procedió a realizar la cuantificación utilizando tanto la curva de calibración estándar de referencia como la obtenida con la suspensión del medicamento. Para ello, se procesó una tableta, ajustando su concentración a 200 µg/ml y se midió la absorbancia correspondiente.

Tabla 2. Comparativa de los valores obtenidos.

Absorbancia curva con estándar de referencia	Valor en microgramos	Absorbancia curva con la suspensión	Valor en microgramos
0.1415	33.19	0.1449	125
0.1875	43.07	0.2043	177
0.3123	71.73	0.2675	232
Promedio	49.34	Promedio	178

Los resultados de las pruebas de cuantificación indican que la curva obtenida a partir de la suspensión presenta un valor más próximo al esperado, en comparación con la curva basada en la sustancia de referencia, la cual muestra una mayor desviación. Esta discrepancia puede atribuirse a que la hidrólisis no fue completa al utilizar la sustancia de referencia, lo que conduce a valores inferiores a los esperados. En

cambio, al emplearse la suspensión como fuente de claritromicina, la cuantificación resulta más precisa y se aproxima mejor al valor teórico esperado.

Conclusión

Se diseñó una experiencia didáctica para que los estudiantes comprendieran la cuantificación de principios activos, fundamental en el desarrollo farmacéutico. El método exploró el uso de una técnica novedosa, evaluando su viabilidad.

Se identificaron limitaciones como inestabilidad del sistema, dificultad para precisar el punto final de hidrólisis y falta de exactitud en resultados. La formulación comercial mostró buena concordancia con valores teóricos, a diferencia del estándar de referencia, afectado por hidrólisis incompleta.

Con optimización, el método puede mejorarse, destacando por su sencillez y bajo costo. En conclusión, la espectroscopía UV-Vis es una técnica eficaz y económica para cuantificar claritromicina frente a métodos convencionales.

Bibliografía

1. Secretaría de Gobierno. (2015). *NORMA Oficial Mexicana NOM-073-SSA1-2015, Estabilidad de fármacos y medicamentos, así como de remedios herbolarios*. Diario Oficial de la Federación. Recuperado de: https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5440183
2. Zilker, M., Sörgel, F. & Holzgrabe, U. (2019). A systematic review of the stability of finished pharmaceutical products and drug substances beyond their labeled expiry dates. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2019.01.016>
3. Cumba, A., & Calderón, C. (2011). Desarrollo y Validación de un Método Espectrofotométrico para Cuantificación de Claritromicina en Comprimidos. *Química Central*, 2(1), 13-18.
4. Zuckerman, J. M., Qamar, F., & Bono, B. R. (2009). Macrolides, ketolides, and glycyclines: Azithromycin, clarithromycin, telithromycin, tigecycline. *Infectious Disease Clinics of North America*, 23(4), 997-1026. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2009.06.013>
5. Beauduy C.E., & Winston L.G. (2024). Tetraciclinas, macrólidos, clindamicina, cloranfenicol, estreptograminas, oxazolidinonas y pleuromutilinas. Vanderah T.W.(Ed.), Katzung. *Farmacología básica y clínica*, 16e. McGraw Hill Education. <https://accessmedicina.mhmedical.com/content.aspx?bookid=3445§ionid=285915276>
6. Hewala, I. I., & Afifi, S.A. (2011). Development and validation of stability-indicating UV-spectrophotometric and RP-HPLC methods for the determination of claritromycin in bulk powder and pharmaceutical formulations, *Journal of AOAC international*, 94(1), 185-192. DOI: [10.13171/mjic64/01706211420-tzouganaki](https://doi.org/10.13171/mjic64/01706211420-tzouganaki)
7. García-Mayor, M. A. *et al.* Occurrence of erythromycin residues in sheep milk. Validation of an analytical method. *Food and Chemical Toxicology* **78**, 26-32 (2015).
8. Wang, Z. *et al.* Hapten synthesis, monoclonal antibody production and development of a competitive indirect enzyme-linked immunosorbent assay for erythromycin in milk. *Food Chem* **171**, 98-107 (2015).
9. Rattanapoltaveechai, R., Vongkom, W., Suntornsuk, W., & Suntornsuk, L. (2007). *Simple and Rapid Spectrophotometric Method for the Analysis of Erythromycin in Pharmaceutical Dosage Forms*. *Journal of Food and Drug Analysis*, 15(1). <https://doi.org/10.38212/2224-6614.243710>
10. Tan, J., Chu, J., Hao, Y., Wang, Y., Yao, S., Zhuang, Y., & Zhang, S. (2013). A high-throughput screening strategy for accurate quantification of erythromycin. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 44(4), 538-544. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2012.12.024>
11. Deokate, U. A., Ahire, S., & Lahane-Ahire, S. (2020). Available Analytical Method for Macrolide Antibiotic. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 26(2), 256-261. https://www.researchgate.net/publication/338335818_Available_Analytical_Method_for_Macrolide_Antibiotic
12. Wankhade, R., Bhalerao, S., Panchory, H., Pundir, A., & Pradhan, R. (2012). Analysis of Erythromycin and Benzoyl Peroxide in Combined Dosage Form by UV-Visible Spectrophotometry. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 4(4), 527-531. https://web.archive.org/web/20180413020302id_/http://ijppsjournal.com/Vol4Suppl4/4612.pdf