

Espectrofotometría derivada en la cuantificación de una mezcla binaria de metformina y sitagliptina en tabletas

Derivative spectrophotometry in the quantification of a binary mixture of metformin and sitagliptin in tablets

P. Rincón-Jiménez , A. Sanjuan-Hernández , E. G. Carrillo-Cedillo *

Facultad de Ciencias Químicas e Ingeniería, Universidad Autónoma de Baja California, 22427, Tijuana, Baja California, México.

Resumen

En el análisis cuantitativo de una mezcla binaria de metformina (Met) y sitagliptina (Sgt) mediante la técnica de espectrometría derivada, se utiliza el método de punto de anulación de la primera o segunda derivada. Una de las ventajas de esta técnica es que la derivada mide la pendiente espectral y por ello la meseta de un espectro de absorción; el máximo y mínimo de la primera derivada corresponde a los puntos de inflexión del espectro y para el caso de la segunda derivada corresponde a la curvatura del espectro original. En este trabajo se estudió primeramente los métodos de extracción de principios activos en tabletas combinadas utilizadas para controlar la diabetes Mellitus tipo 2 con su posterior aplicación del método modificado de espectrofotometría de relación derivada con adición de estándar para la sitagliptina; esto se hace por la composición de la tableta (Sgt - Met 50 mg - 850 mg).

Palabras Clave: metformina, sitagliptina, espectroscopia de relación derivada, espectro de absorción, método de extracción.

Abstract

In the quantitative analysis of a binary mixture of metformin (Met) and sitagliptin (Sgt) by the derivative spectrometry technique, the first or second derivative cancellation point method is used. One of the advantages of this technique is that the derivative measures the spectral slope and thus the plateau of an absorption spectrum; the maximum and minimum of the first derivative correspond to the inflection points of the spectrum and for the case of the second derivative it corresponds to the curvature of the original spectrum. In this work we first studied the methods of extraction of active principles in combined tablets used to control diabetes Mellitus type 2 with its subsequent application of the modified method of spectrophotometry of derivative ratio with addition of standard for sitagliptin; this is done by the composition of the tablet (Sgt - Met 50 mg - 850 mg).

Keywords: metformin, sitagliptin, derivative ratio spectroscopy, absorption spectrum, extraction method.

1. Introducción

La Diabetes Mellitus es una enfermedad caracterizada por niveles elevados de glucosa en sangre. De acuerdo con la Organización Panamericana de la Salud (OPS) estima que en el mundo existen actualmente más de 442 millones de personas con diabetes. En México, en el 2021 el INEGI encontró que la Diabetes Mellitus (DM) ocupa el tercer lugar de muerte a nivel nacional. Se pueden considerar cuatro grupos: diabetes mellitus tipo 1 (DMT-1), diabetes mellitus tipo 2 (DMT-2), diabetes gestacional y otros tipos (PROY-NOM-015-SSA2-, 2018).

La DMT2 es un grupo heterogéneo de trastornos metabólicos con grados variables de resistencia a la insulina y/o deficiencia en la secreción de insulina, de naturaleza progresiva. Para el manejo farmacológico los medicamentos que pueden utilizarse para el control de la DMT-2 son sulfonilureas, metformina, inhibidores de la alfa glucosidasa, tiazolidinedionas, glinidas, terapias basadas en incretinas como: análogos del receptor de péptido parecido al glucagón tipo 1 e inhibidores de la enzima dipeptidil peptidasa 4, inhibidores de los cotransportadores renales de sodio-glucosa tipo 2, insulinas o las combinaciones de estos medicamentos así como otros que tengan la aprobación de la indicación del

*Autor para la correspondencia: gaby@uabc.edu.mx

Correo electrónico: paul.rincon@uabc.edu.mx (Paul Rincón-Jiménez), asanjuan@uabc.edu.mx (Adriana Sanjuan-Hernández), gaby@uabc.edu.mx (Eugenia Gabriela Carrillo-Cedillo).

tratamiento de la DM, por parte de la Secretaría de Salud. (PROY-NOM-015-SSA2-, 2018).

La metformina (Met) pertenece al grupo de las biguanidas y es el medicamento de primera elección en el tratamiento de DMT-2. La sitagliptina (Sgt) es un inhibidor de la dipeptidil-peptidasa 4, enzima que inactiva las hormonas incretinas las cuales participan en la homeostasis de la glucosa (Januvia, 2008).

Se han estudiado diferentes formas para cuantificar Met y Sgt entre los cuales se encuentran los métodos por cromatografía de líquidos (Modi, Parejiya, & Patel, 2013), (Merey, Ramadan, Diab, & Moustafa, 2017), métodos por electroforesis capilar (Salim, El-Enany, Belal, Walash, & Patonay, 2012), métodos por espectrofotometría (Nyola & Jeyabalan, 2012), métodos de relación de absorbancia (Hinge & Patel, 2016). Asimismo, se ha reportado la cuantificación de Sgt formando un precipitado con la 2,4 dinitrofenilhidrazina (Disha & Gurupadhayya, 2015).

En este trabajo se estudió el método modificado de espectrofotometría de relación derivada con adición de estándar para la Sgt en la cuantificación de los principios activos contenidos en las tabletas combinadas utilizadas para controlar la diabetes Mellitus tipo 2.

1.1. Espectrofotometría derivada

En el manuscrito de (Kamal, El-Malla, & Hammad, 2016) menciona que la espectrofotometría derivada consiste en la conversión de un espectro de orden cero en su primer, segundo o mayor espectro derivado mediante la diferenciación de la absorbancia de la muestra con respecto a la longitud de onda (λ). Esto conduce a la separación de las señales superpuestas, elimina las señales de fondo causadas por la presencia de otros compuestos en una muestra, mejora la resolución de las mezclas, aumenta la detectabilidad de las características espectrales menores, y mejora de la sensibilidad y especificidad.

1.2. Espectrofotometría de relación derivada

El espectro de absorción obtenido de la mezcla se divide por el espectro de la disolución estándar de un componente y luego se calcula la primera derivada del espectro de la relación y es posible incluir un factor de suavizado. En el trabajo (Abdel-Ghany, Abdel-Aziz, Ayad, & Tadros, 2014) menciona que el método de espectrofotometría de relación derivada tiene la posibilidad de hacer mediciones fáciles en correspondencia de los picos; la presencia de muchos máximos y mínimos es una ventaja, estas longitudes de onda dan la oportunidad de determinar los compuestos activos en presencia de otros compuestos y excipientes que posiblemente interfieran con el ensayo.

2. Materiales y métodos

Reactivos: Clorhidrato de metformina (Met) estándar BP. Spectrum Chemical (Pureza 98.5-101.0), fosfato monohidratado de Sitagliptina estándar USP Sigma-Aldrich, etanol 96% (v/v), Spectronorm para espectroscopia. Las tabletas Janumet con número de lote y fecha de caducidad T038154 (08 de septiembre de 2022), Sitagliptina, Metformina (50 mg, 850 mg) fueron proporcionadas por el IMSS.

Materiales y equipo: Espectrofotómetro (HACH) modelo DR5000 con celdas de cuarzo VWR de 1.0 cm de longitud de paso óptico, Balanza Analítica (PB 303-5 Mettler Toledo), Sonicador (Branson 2510).

2.1. Preparación de disoluciones madre y estándar

Se pesó 25 mg de Met y Sgt se disolvieron en etanol por separado en dos matraces volumétricos de 25 mL. Los estándares se disolvieron mezclándolos con un sonicador durante 10 minutos y el volumen final se ajustó con etanol para obtener las disoluciones madre estándar de Met y Sgt (1 mg/mL). Además, las disoluciones madre se convirtieron en disoluciones estándar de trabajo de 200 $\mu\text{g/mL}$ para Met y de 800 $\mu\text{g/mL}$ para Sgt, añadiendo la cantidad necesaria de etanol a la alícuota de la disolución madre.

2.2. Preparación de mezclas de la tableta comercial

Se pesaron 20 tabletas comerciales, se pasaron a un mortero y se procedió a molerlas hasta dejar un polvo homogéneo. Se pesó con precisión una cantidad equivalente a 850 mg de Met y 50 mg de Sgt y se aforó a 250 mL con etanol. Las disoluciones se mezclaron y sonicaron por 10 minutos, posteriormente se filtraron con papel filtro Whatman No. 41 y se continuó con el procedimiento descrito en el apartado 2.3.

2.3. Método modificado de espectrofotometría de relación derivada con adición de estándar

Se transfirieron ocho alícuotas de mezclas de Met y Sgt a matraces volumétricos de 5 mL, para obtener la cantidad de Met en el intervalo lineal de 6 a 40 mg/L y para el caso de Sgt se le agregó a cada mezcla un estándar puro de Sgt para lograr obtener el intervalo lineal entre 40 a 300 mg/L. Se realizaron los espectros de absorción de orden cero en la región de UV de estas mezclas en el rango de 200 a 300 nm, utilizando etanol como disolvente. Por separado, se prepararon y escanearon disoluciones de estándares puros de Met y Sgt de 20 mg/L y 240 mg/L respectivamente.

Para la medición de Met, se generaron espectros de relación de cada mezcla dividiendo los espectros de las mezclas de Met y Sgt entre el espectro del estándar puro de Sgt de 240 mg/L. Además, estos espectros se convirtieron en espectros derivados de primer orden suavizado con $\Delta\lambda = 16$ nm.

A continuación, se generó la curva de linealidad determinando la altura del pico a 264 nm y trazando el gráfico frente a la concentración respectiva de Met. Del mismo modo, para la medición de la Sgt, se generaron espectros de relación dividiendo los espectros de la mezcla de Met y Sgt entre el espectro del estándar puro de la Met de 20 mg/L, seguido de la conversión a espectros de primera derivada, suavizado con $\Delta\lambda = 16$ nm.

2.4. Método de extracción

El proceso de extracción de Met y Sgt se realizó utilizando etanol como disolvente, se molieron y pulverizaron 2 tabletas de cada principio activo, se sonicaron por 10 minutos y se procedió a filtrar con papel filtro Whatman No. 41, los cristales obtenidos se colocan en capsulas de vidrio.

3. Resultados y discusión

3.1. Cristales del proceso de extracción de principios activos

En la Figura 1 se muestran los cristales obtenidos en el proceso de extracción de Met y Sgt. La cápsula de vidrio superior se encuentran los cristales en forma de agujas de Met, para el caso de Sgt están en la cápsula inferior.



Figura 1: Extracción de Met y Sgt de tabletas comerciales.

3.2. Espectros de orden cero

En la Figura 2 se observan los espectros de absorción de orden cero para los estándares puros de Met y Sgt; ambos principios activos se encuentran solapados, por lo tanto, se aplicará la espectrofotometría derivada para la resolución de estas señales superpuestas. Pareciera que la Sgt se puede cuantificar a 268 nm, pero su concentración es muy pequeña en comparación a la Met en la tableta comercial y esto dificulta su cuantificación en la mezcla, por tal motivo se aplica el método de relación derivada.

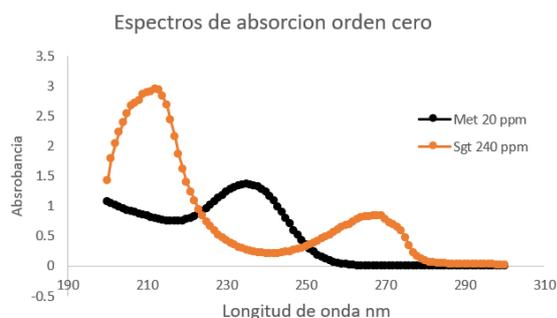


Figura 2: Espectro de absorción de orden cero para Met y Sgt.

3.3. Espectros de relación derivada con adición de estándar

El espectro de absorción obtenido de la mezcla se divide por el espectro de la disolución estándar de Sgt y, a continuación, se calcula la primera derivada del espectro de la relación, se puede apreciar: el punto máximo de absorción, el punto isobéptico y el punto mínimo de absorción, ver Figura 3. En la espectrofotometría de relación derivada se generan máximos y mínimos y en estas secciones se selecciona la longitud de onda que tiene la mejor ecuación de regresión lineal para cuantificar al analito.

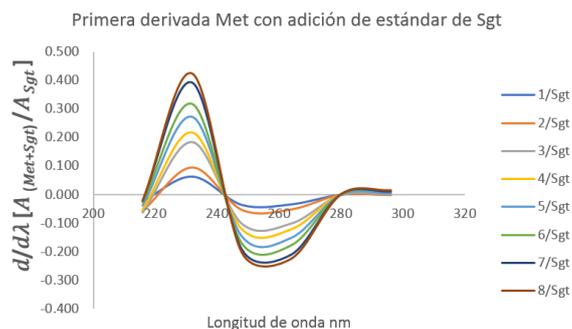


Figura 3: Primera derivada para Met con adición de estándar de Sgt

El espectro de absorción obtenido de la mezcla se divide por el espectro de la disolución estándar de Met y, a continuación, se calcula la primera derivada del espectro de la relación (ver Figura 4), se puede apreciar: el punto máximo de absorción, el punto isobéptico y el punto mínimo de absorción.

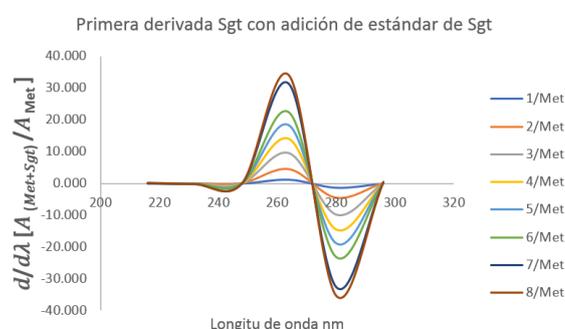


Figura 4: Primera derivada para Sgt con adición de estándar de Sgt

3.4. Gráficos de dispersión de relación derivada con adición de estándar

De acuerdo con el gráfico de dispersión de la Figura 5, la Met se ha determinado a 264 nm en el intervalo lineal de concentración de 6.8 a 35.4 mg/L, utilizando el espectro de Sgt (240 mg/L) como divisor y el etanol como blanco.

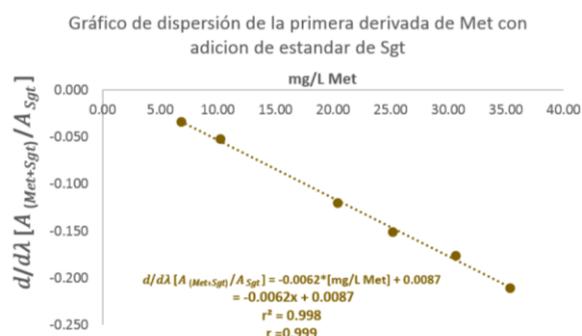


Figura 5: Gráfico de dispersión de la primera derivada para Met con adición de estándar de Sgt.

La Sgt se ha determinado a 264 nm en el intervalo lineal de concentración de 40.6 a 302.4 mg/L, utilizando el espectro de

Met (20 mg/L) como divisor y el etanol como blanco, ver Figura 6.

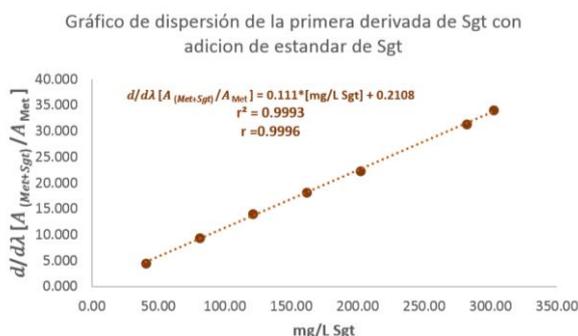


Figura 6: Gráfico de dispersión de la primera derivada para Sgt con adición de estándar de Sgt.

4. Linealidad y precisión

4.1. Linealidad

Se analizaron por triplicado ocho disoluciones de Met (5, 10, 15, 20, 25, 30, 35 y 40 mg/L) y de Sgt (30, 60, 90, 120, 180, 240, 280 y 320 mg/L). La Met mostró linealidad en el intervalo de 6 a 40 mg/L con un coeficiente de regresión lineal de $r^2=0.9991$ y para la Sgt en el intervalo de 40 a 300 mg/L con un coeficiente de regresión lineal ($r^2= 0.9993$).

4.2. Límites de detección y cuantificación

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LQ) se determinaron de acuerdo con las recomendaciones de IUPAC y la asociación mexicana de QFB (García, et al., 2002): $LD = 3s/b$ y $LQ = 10s/b$, donde "s" es la desviación estándar de la respuesta analítica y "b" es la pendiente del rango lineal dinámico. Para Met $LD=1.5$ mg/L, $LC=4.6$ mg/L, en el caso de Sgt $LD=10.2$ mg/L, $LC=31.0$ mg/L.

4.3. Precisión

Se determinó precisión como repetibilidad a partir de las disoluciones estándar de Met de 24 mg/L y Sgt de 155 mg/L, se analizó siete veces por triplicado cada estándar de cada principio activo. Para Met se obtuvo un promedio de 100.7 mg/L, %CV= 1.0, en el caso de Sgt el promedio fue de 100.1 y %CV=1.4.

5. Aplicación al análisis químico de tabletas

Se obtuvieron los espectros de absorción de los estándares puros para el intervalo lineal de Met entre 6 y 40 mg/L, para el caso de Stg entre 40 y 300 mg/L. Para el caso de las mezclas se realizaron primeramente mezclas sintéticas a partir de los estándares puros y posteriormente se analizaron las mezclas de las tabletas. Los resultados obtenidos muestran que, de acuerdo con la FEUM, 2011 el contenido de metformina debe estar entre el 98.5 y el 101 %, encontramos 99.6 ± 0.8 % lo que indica que la tableta está dentro de las especificaciones. Para el caso de la Sgt se obtuvo 100.7 ± 1.1 % y la Farmacopea

Japonesa, 2019 establece que debe estar entre el 98 y el 102 %; por tanto, las tabletas cumplen con los valores establecidos en la normatividad.

6. Conclusiones

Las ventajas de la espectrofotometría de relación derivada en la cuantificación de principios activos de mezclas binarias evitan que se realicen técnicas de separación previas, como extracciones o pretratamientos; las interferencias de excipientes son eliminadas, esto reduce el tiempo de análisis y el costo.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la Universidad Autónoma de Baja California (<https://ror.org/05xwcq167>).

Referencias

- Abdel-Ghany, M., Abdel-Aziz, O., Ayad, M., & Tadros, M. (2014). Validation of different spectrophotometric methods for determination of vildagliptin and metformin in binary mixture. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 125, 175–182. DOI:10.1016/j.saa.2014.01.055
- Disha, N., & Gurupadhayya, B. (2015). Spectrophotometric determination of Sitagliptin Phosphate in bulk and pharmaceutical formulations. *International Journal of Innovative Science, Engineering & Technology*, 2(7), 702-709.
- García, M., Soberón, E., Cortés, M., Rodríguez, R., Herrera, J., & Alcántara, A. (2002). Guía de Validación de Métodos Analíticos. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos.
- Hinge, M., & Patel, K. (2016). Development and Validation of Spectrophotometric Method for Metformin and Sitagliptin by Absorbance Ratio Method. *J Pharm Sci Bioscientific Res*, 6(5), 733-739.
- Januvia. (2008). Informe de evaluación sitagliptina. Aragón. España: Comité de evaluación de nuevos medicamentos de Aragón. Retrieved from https://www.aragon.es/documents/20127/674325/SITAGLIPTINA_INFO_RME_COMPLETO.pdf/ba7855f0-81c2-2895-55dd-4ec630dd2e8b
- Kamal, A., El-Malla, S., & Hammad, S. (2016). A Review on UV Spectrophotometric Methods for Simultaneous Multicomponent Analysis. *European Journal of Pharmaceutical and Medical Research*, 3(2), 348-360.
- Merey, H., Ramadan, N., Diab, S., & Moustafa, A. (2017). Chromatographic methods for the simultaneous determination of binary mixture of Saxagliptin HCl and Metformin HCl. *Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University*, 55(2), 311-317. DOI:10.1016/j.bfopcu.2017.04.002
- Modi, D., Parejiya, P., & Patel, B. (2013). A Simple and Sensitive HPTLC Method for Simultaneous Determination of Metformin Hydrochloride and Sitagliptin Phosphate in Tablet Dosage Form. *Journal of Chemistry*, 1-4. DOI:10.1155/2013/139561
- Nyola, N., & Jeyabalan, G. (2012). Method Development of Simultaneous Estimation of Sitagliptin and Metformin Hydrochloride in Pure and Tablet Dosage Form by UV-Vis Spectroscopy. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 1(4), 1392--1401.
- PROY-NOM-015-SSA2-. (2018). Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-015-SSA2-2018, Para la prevención, detección, diagnóstico, y control de la Diabetes Mellitus. Secretaría de Salud, 1-42. Retrieved julio 03, 2021, from https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5521405&fecha=03/05/2018
- Salim, M., El-Enany, N., Belal, F., Walash, M., & Patonay, G. (2012). Simultaneous Determination of Sitagliptin and Metformin in Pharmaceutical Preparations by Capillary Zone Electrophoresis and its Application to Human Plasma Analysis. *Analytical Chemistry Insights*, 7, 31-46. DOI:10.4137/ACIS9940