

ANÁLISIS DE DIAZEPAM Y NORTRIPTILINA EN CÁPSULAS DE ELABORACIÓN PROPIA POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE DERIVADA

Randa Farhat; María del Carmen Bedmar Abril; Antonio Cerezo Galán

Facultad de Farmacia, Dpto. de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Universidad de Granada. Campus de cartuja s/n, 18071- Granada, España.

Introducción

La asociación de diazepam y nortriptilina en la misma forma farmacéutica se encuentra disponible en el mercado para el tratamiento de la depresión con componente ansioso (1). Pero existen pocas referencias sobre técnicas analíticas que permitan la determinación de ambos principios activos si se encuentran presentes en la misma muestra. Numerosos trabajos publicados, tanto en el ámbito nacional como internacional, sobre el uso y las ventajas de la espectrofotometría de derivada, ponen de manifiesto la utilidad de este método en la determinación simultánea de grupos terapéuticos con similitud estructural, sin separación previa de los compuestos (2-5).

Este método se basa en la utilización de los espectros derivados. La diferenciación de los espectros no aumenta el contenido de información del espectro directo, pero permite una interpretación más completa del mismo. Las principales ventajas de interpretación se refieren a que el estudio de la derivada informa sobre la pendiente de un espectro y evidencia con mayor claridad sus máximos, mínimos y puntos de inflexión, resaltando con ello su estructura. Por otra parte, la diferenciación afina las bandas de absorción y permite aislarlas cuando estas se solapan parcialmente para formar un espectro ancho e indiferenciado. Finalmente, la utilización de espectros derivados elimina la influencia perturbadora de los ruidos instrumentales (6-10).

El objetivo del presente trabajo es poner a punto este método analítico valorando mezclas binarias

de diazepam y nortriptilina aplicarlo posteriormente a la valoración de cápsulas de elaboración propia, reproduciendo las del mercado que contienen los mismos principios en las dosis habituales (2,5 mg de diazepam y 12,5 mg de nortriptilina), con el fin de verificar la uniformidad de contenido.

Materiales y Métodos

Todos los reactivos fueron grado analítico. Diazepam y nortriptilina fueron suministrados por los laboratorios Roig Pharma y Guinama, respectivamente. Los excipientes talco y fosfato cálcico, fueron suministrados por los laboratorios Guinama y Panreac Química S.A., respectivamente. El disolvente utilizado fue metanol grado espectrofotometría (Laboratorios Panreac Química S.A).

Las medidas espectrofotométricas se realizaron utilizando un espectrofotómetro Perkin-Elmer modelo Lambda 16 conectado a un sistema informático (Win 3.11). Los espectros derivados se obtuvieron frente al blanco utilizando cubetas de cuarzo de 1.0 cm de espesor desde 220-300 nm, a una velocidad de registro de 120 nm/min y $\Delta\lambda = 3.2$ nm. Se empleó un baño ultrasónico, Ultrason Selecta p modelo 513.

Elaboración cápsulas: Se preparan 100 cápsulas de gelatina rígidas del nº 3, con la fórmula siguiente:

Diazepam.....2,5 mg

Nortriptilina..... 12,5 mg

Fosfato cálcico y talco..... aa .c.s.

Preparación de muestras: Las soluciones patrón de los dos principios activos se preparan

4 VI Congreso SEFIG y 3^{as} Jornadas TF

disolviendo una cantidad exactamente pesada de cada principio activo en metanol, en matraces de 100 mL y se enrasa con el mismo disolvente hasta conseguir concentraciones finales de 100 $\mu\text{g/mL}$.

Las mezclas binarias de diazepam y nortriptilina fueron preparadas manteniendo fija la concentración de uno y variando la de otro, para obtener una concentración final de 1-3,5 $\mu\text{g/ml}$ de diazepam en presencia de 13 $\mu\text{g/ml}$ de nortriptilina (Mezclas I) o 5-15 $\mu\text{g/ml}$ de nortriptilina en presencia de 2,5 $\mu\text{g/ml}$ de diazepam (Mezclas II). La amplitud de la segunda derivada fue obtenida mediante la técnica de punto de anulación midiendo a 261,6 y 272,0 nm para nortriptilina y diazepam, respectivamente. Las gráficas de calibrado para ambos compuestos se obtuvieron relacionando la señal en segunda derivada y concentración mediante regresión lineal.

Para el análisis de las formas farmacéuticas, el contenido de la cápsula se disuelve en 25 ml de metanol, se lleva al baño ultrasónico durante 30 minutos y se filtra; del filtrado se toma 1ml que se transfiere a un matraz de 10 mL y se enrasa con metanol. La señal en derivada se mide de acuerdo con lo descrito para las mezclas binarias. Finalmente las concentraciones de diazepam y nortriptilina se determinan haciendo uso de la correspondiente ecuación de regresión.

Resultados y Discusión

En los espectros derivados de segundo orden de diazepam y nortriptilina en metanol se observa un punto de anulación a 261,6 nm para diazepam y a 272,0 nm para nortriptilina, longitudes de onda a las cuales se pueden cuantificar ambas sustancias aplicando la técnica de punto de anulación; la señal medida a 272,0 se anota como h_1 y la medida a 261,6 nm como h_2 (figura 1). La figura 2a recoge los espectros derivados correspondientes a las mezclas binarias tipo I, por otra parte la figura 2b recoge los correspondientes a las mezclas tipo II. En estos espectros los valores de h_1 y h_2 son proporcionales a las concentraciones de diazepam y nortriptilina, respectivamente.

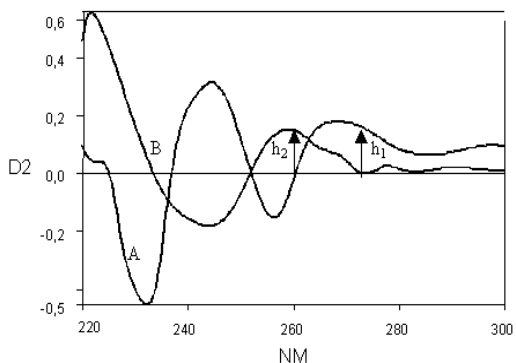


Figura 1. Espectros de segunda derivada de (A) diazepam (10 ng/ml), and (B) nortriptilina (10 ng/ml).

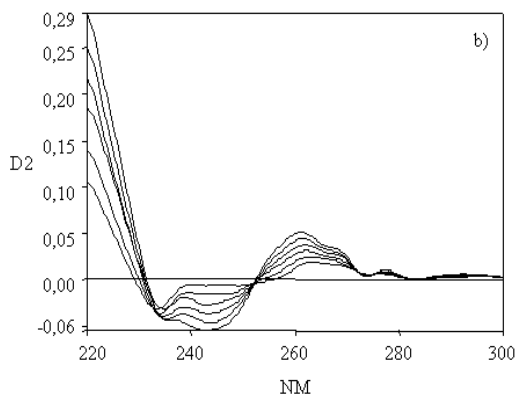
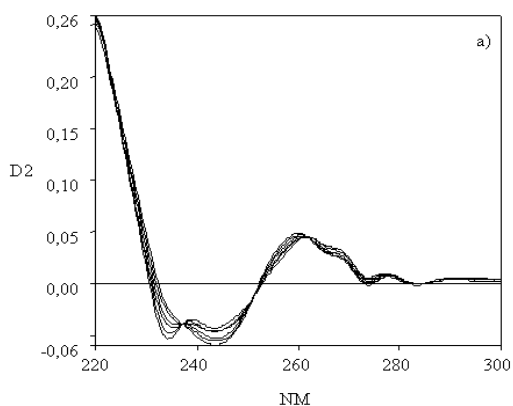


Figura 2. Espectros de segunda derivada de mezclas de: (a) nortriptilina (13 $\mu\text{g/ml}$) and diazepam (1; 1,5; 2; 2,5; 3 y 3,5 $\mu\text{g/ml}$); (b) diazepam (2,5 $\mu\text{g/ml}$) y nortriptilina (5; 7; 9; 11; 13 y 15 $\mu\text{g/ml}$).

La tabla 1 recoge los valores obtenidos para los parámetros de las ecuaciones de regresión obtenidos al relacionar datos de concentración y señal en segunda derivada para las distintas mezclas ensayadas considerando las respectivas longitudes de onda de trabajo. En esta tabla, se observa que la relación lineal entre los datos está perfectamente establecida ($r = 0,9996$ y $0,9997$ para diazepam y nortriptilina, respectivamente).

Tabla 1: Ecuaciones de regresión lineal obtenidos para diazepam y nortriptilina en segunda derivada.

Analito	Ecuación de regresión
Diazepam	$h_1 = 0,00014 + 0,0029 \cdot C$ ($r = 0,9996$)
Nortriptilina	$h_2 = 0,00032 + 0,0033 \cdot C$ ($r = 0,9997$)

Establecidas las pautas del método analítico, se procede al cálculo de los parámetros de exactitud y precisión mediante el análisis de una mezcla de ambos compuestos de concentración conocida. Los valores de coeficiente de recuperación (CR %), de error relativo (ER %) y de coeficiente de variación (CV %) se incluyen en la tabla 2. Estos valores obtenidos para diazepam y nortriptilina reflejan una buena exactitud (recuperación casi total de los productos con valores de ER inferiores al 1%). También se puede confirmar el alto grado de precisión, dado los bajos valores obtenidos para el coeficiente de variación ($CV < 0,7$ %).

Tabla 2: Parámetros de exactitud y precisión para diazepam y nortriptilina por segunda derivada.

C_T ($\mu\text{g/ml}$)		Nort.	Diaz.
Nort.	Diaz.	CR %	CR %
12,5	2,5	100,4	99,6
12,5	2,5	99,9	100,8
12,5	2,5	100,2	102,0
12,5	2,5	99,8	100,4
12,5	2,5	100,0	99,6
CV, %		0,47	0,65
ER, %		0,22	0,90

Por último, el método fue aplicado a la determinación de diazepam y nortriptilina en las cápsulas elaboradas en nuestro laboratorio, para ello, se analiza de forma individual un lote, de 20 cápsulas, y se realizan las medidas en los espectros derivados de segundo orden, empleando la técnica de punto de anulación a 272,0 nm para diazepam y a 261,6 nm para nortriptilina.

Los resultados obtenidos para el coeficiente de recuperación (CR), coeficiente de variación y de error relativo quedan expuestos en la tabla 3. Se han obtenido valores de CR situados entre 97,2-104,8 % para diazepam y 98,4-101,4 % para nortriptilina; valores que cumplen de forma satisfactoria las normas de la RFE (11). En cuanto a los valores obtenidos para los parámetros de exactitud y precisión, se han encontrado valores de error relativo global y de coeficiente de variación inferiores al 3%, en todos los casos.

Tabla 3: Determinación de diazepam y nortriptilina en cápsulas de elaboración propia por segunda derivada.

	CR, %	ER, %	CV, %
Nort.	98,4-101,4	0,5	0,1
Diaz.	97,2-104,8	0,1	1,2

Se puede concluir, basándonos en los resultados anteriormente obtenidos, que el método propuesto ha resultado altamente útil y aplicable al ensayo de uniformidad de contenido de la forma farmacéutica elaborada. Además, por su sencillez, rapidez, precisión y exactitud, podría aconsejarse como método alternativo a los recogidos en las farmacopeas para valorar benzodiazepinas y sus asociaciones en formas farmacéuticas.

Bibliografía

1. Catálogo de Especialidades Farmacéuticas. Consejo General de Colegios Oficiales de Farmacéuticos, Madrid (2002).
2. P. Mazzeo, M.G. Quaglia y F. Segnalini, J. Pharm. Pharmacol., 34, 470 (1982).
3. L. Meal, Anal. Chem., 55, 2448 (1983).

6 VI Congreso SEFIG y 3^{as} Jornadas TF

4. B. Morelli, *Analyst*, 108, 1506 (1983)
5. M. Mariaud, P. Dubois y P. Levillain, *Analyst*, 113, 929 (1988).
6. V.J. Hammond y W.C. Price, *J. Opt. Soc. Am.*, 43, 924(1953).
7. I.G. Mc William, *Anal. Chem.*, 41, 674 (1969).
8. T.C. O'Haver y G.L. Green, *International Laboratory*, 11(1975).
9. A.R. Howthorne y J.M. Thorngate, *Appl. Optics*, 17, 724 (1978).
10. T.C. O'Haver, *Clin. Chem.*, 25, 1548 (1979).
11. *Real Farmacopea Española*, 1ª Ed., Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid (1997).

Autor de contacto:

Randa Farhat

randa@ugr.es

Facultad de Farmacia, Universidad de Granada

Campus de cartuja s/n, 18071-Granada

Telf.: 958-243904

Fax: 958-248958