

CUANTIFICACION DE ACIDO α -LIPOICO EN COMPRIMIDOS POR CULOMBIMETRIA

María del C. SARNO⁽¹⁾ y Mario R. DELFINO⁽¹⁾

RESUMEN: El ácido α -lipoico es un poderoso antioxidante capaz de regenerar tanto a vitaminas hidrosolubles como liposolubles, a lo que suma además su característica hipoglucemiante. Si bien no se han detectado efectos tóxicos producidos por su consumo, una sobredosificación puede provocar fatiga, ansiedad y confusión, sin que haya un incremento en los beneficios que aporta esta sustancia. Se propone un método coulombimétrico con lectura potenciométrica del punto final para su cuantificación en comprimidos de uso farmacológico. El tiempo necesario para completar la electrólisis a corriente constante, es proporcional a la cantidad de ácido α -lipoico introducida en la celda. Las condiciones operativas seleccionadas en base a la repetibilidad (C.V: 1,28%) y exactitud (Error relativo: 0,50%) de los resultados son: potencial aplicado: 3V; resistencia: 615 Ω ; intensidad de corriente: 5mA; temperatura: 25°C; pH de la solución electrolítica: 1,80. Este procedimiento, rápido, preciso y factible de automatizar, compite favorablemente con el método espectrofotométrico debido a la turbidez, de difícil eliminación, generada por los excipientes. Por otra parte, la falta de selectividad de la coulombimetría lo hacen aplicable sólo a comprimidos farmacéuticos que lo contienen como monodroga, acompañado de un estudio espectrofotométrico identificatorio.

ABSTRACT: Alpha lipoic acid is a potent antioxidant capable of regenerate hydrosoluble and liposoluble vitamins. Also, it has hypoglucemiant characteristic. An overdose can induce fatigue, anxiety and confusion. We propose a coulometric titration with potentiometric end point for alpha lipoic acid quantitation in pharmacologic tablets. Necessary time for complete constant current electrolysis is proportional to alpha lipoic acid quantity in the cell. The operative conditions that conduce to satisfactory results (Relative Error: 0,50% ; RSD: 1,28%) are: applied potential: 3V; resistance: 615 Ω ; current intensity: 5mA; temperature: 25°C; pH of electrolitic solution: 1,80. The proposed method is quick, precise and capable to automatize. Due to turbidity generated in the solution by excipients, this method is suitable as opposed to spectrophotometric analysis. Likewise, the absence of selectivity at coulometric method restricts its applications to monodrug formulations.

Palabras claves: ácido lipoico, antioxidante, coulombimetría secundaria, comprimido, cuantificación

Key words: lipoic acid, antioxidant, secondary coulometric titration, tablet, quantitation.

INTRODUCCIÓN

El ácido α -lipoico o tióctico (ácido α -1,2-ditiolan-3-pentanoico) es un micronutriente de marcado poder antioxidante que actúa como cofactor de las enzimas protectoras frente a los radicales libres (Kagan *et al.*, 1993). En estado puro es un sólido cristalino amarillo brillante de punto de fusión: 61,9°C y punto de ebullición 162,4°C, soluble tanto en medio lipídico como en medio acuoso y con capacidad para regenerar a las vitaminas C, D y E de sus formas oxidadas (Packer *et al.*, 1995) por lo que se lo considera el antioxidante universal (Shumathi, 1993). Es además un efectivo imitador de la insulina en el transporte de la glucosa dentro de las células del cuerpo, manteniéndola fuera del torrente sanguíneo (Melhem *et al.*, 2001), lo cual ayuda a prevenir y en algu-

(1) Cátedra de Análisis Instrumental. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales y Agrimensura (UNNE). Av. Libertad 5570 (3400) Corrientes, Argentina.

nos casos a revertir las complicaciones diabéticas, tales como los problemas renales, la neuropatía y la ceguera.

Su efecto hipoglucemiante se debe a su intervención en el proceso de glicólisis, proceso responsable de convertir el azúcar sanguíneo en energía; el ácido α -lipoico tiene un efecto imitador de la insulina sin efectos secundarios de manera que aumenta significativamente la utilización de glucosa en sangre aumentando así la producción de energía y disminuyendo la acumulación de grasa en el organismo (Nichols, 1997).

Se sabe poco acerca de los alimentos que contienen este nutriente. Sin embargo, se piensa que los alimentos que contienen mitocondrias, como las carnes rojas, proporcionan la mayor cantidad de ácido α -lipoico (Neff *et al*, 1997). Nuestro organismo inclusive es capaz de sintetizar ácido lipoico de manera natural, a partir del aminoácido cisteína, pero en poca cantidad. Es por ello que es posible complementar nuestra dieta con su aporte.

El ácido lipoico se comercializa en forma de comprimidos y cápsulas para la ingesta por vía oral y además como ingrediente en fórmulas en polvo con creatina, aminoácidos o hidratos de carbono y proteínas, también para la ingesta por vía oral.

Si bien no se le ha encontrado efectos tóxicos, en su administración a pacientes no se debe sobrepasar las dosis recomendadas: 200 a 300 mg diarios para lograr efectos antioxidantes y entre 100 y 200 mg/día inicialmente y luego 400-600 mg/día para el tratamiento de la diabetes. Una sobredosificación puede provocar fatiga, ansiedad, confusión sin que haya un incremento en los beneficios que aporta esta sustancia.

El objetivo del presente trabajo es diseñar las condiciones experimentales que posibiliten la cuantificación del ácido α -lipoico contenido en los comprimidos mediante una coulombimetría, que cumpla a la vez con los requisitos analíticos que aseguren la calidad de los resultados.

En trabajos previos, se ha ensayado el dosaje de otras sustancias antioxidantes por este método (Sarno *et al.*, 1997; Bercheñi *et al.*, 2000) que presenta las ventajas de su sencillez, bajo costo, rapidez y factibilidad de automatización.

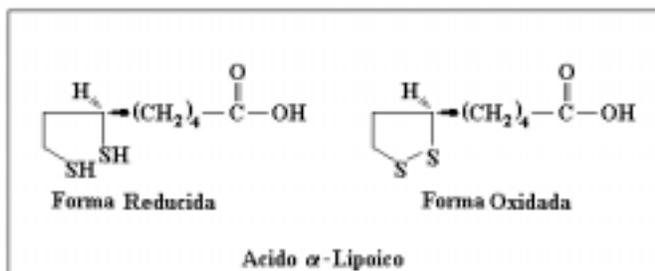
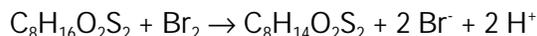


Fig. 1: Formas reducida y oxidada del ácido α -lipoico

EXPERIMENTAL

La molécula de ácido α -lipoico (Fig. 1) exhibe su carácter reductor frente al bromo generado electrolíticamente en una celda de titulación coulombimétrica, de acuerdo a la siguiente reacción:



El tiempo consumido para totalizar la electrólisis a corriente constante (Skoog *et al.*, 2001), determinado potenciométricamente, es usado para calcular el contenido de ácido α -lipoico disuelto en su forma reducida.

Reactivos

- ✓ Acido α -1,2-ditiolan-3-pentanoico (ácido α -lipoico), forma reducida ($\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_2\text{S}_2$). Reactivo Sigma. Ampolla 98% pureza.
- ✓ Solución madre de ácido α -lipoico: 10 mg/mL. Se disuelve 250 mg de la droga en 25 mL de agua destilada. Manteniéndola refrigerada, es estable por 2 días.
- ✓ Soluciones estándares de ácido α -lipoico: 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; y 6,0 mg/mL. A partir de la solución madre, se preparan en el momento de efectuar el análisis, por dilución en agua destilada.
- ✓ Solvente electrolítico: Se vuelcan en el interior de la celda 25 mL de agua destilada y 15 mL de ácido acético glacial.
- ✓ Reactivo generador de Br_2 : Solución 1 M de NaBr. Se adicionan 10 mL de reactivo al solvente electrolítico.

Muestra de partida

- ✓ Neurotioc 200: comprimidos recubiertos (TRB Pharma S.A.). Contienen 200 mg de ácido α - ácido lipoico/comprimido.

Tratamiento de la muestra

- ✓ Se disuelve el comprimido en 50 mL de agua, se agita suavemente la solución y se lleva a un volumen de 100 mL en matraz aforado. Se deja decantar el excipiente.

Equipo

El dispositivo experimental utilizado es un coulombímetro de laboratorio (Fig. 2). Consta de dos circuitos: a) Circuito coulombimérico: Una fuente rectificadora (entrada 220V AC y salida 3,0V DC), en serie con un resistor variable de 1 K Ω a escala total, genera una corriente constante en el orden de 2 a 10 mA entre dos electrodos de platino sumergidos en la solución de NaBr. El circuito se completa con un microamperímetro que permite verificar continuamente el valor y la constancia de la corriente circulante. En el ánodo se genera Br_2 . El cátodo es rodeado de un protector de vidrio para permitir que el gas hidrógeno producido sea rápida y eficientemente eliminado a la atmósfera.

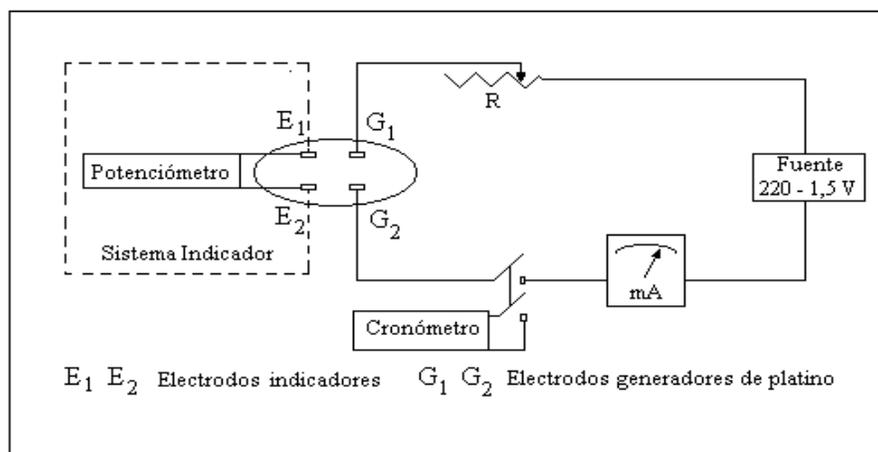


Fig. 2: Esquema del equipo utilizado

b) Un circuito potenciométrico indicador del punto final de la titulación, comprende un electrodo indicador de Pt y otro de referencia de calomel saturado. Ambos conectados a un potenciómetro monitorean la titulación del ácido α -lipoico con el Br_2 electrogenerado. La celda, de 100 mL de volumen útil, posee un encamisado de agua circulante a temperatura regulada a 25°C y es montada sobre un agitador magnético.

Procedimiento

Una vez introducido en la celda el solvente electrolítico y el reactivo generador de Br_2 , se realiza una pretitulación con el fin de agotar toda sustancia oxidante presente y alcanzar los valores de potencial que corresponden al punto final de la titulación. Finalizada la pretitulación, se abre el circuito generador y se adicionan 1,0 mL de la solución muestra o estándar.

A tiempo cero se cierra el circuito y simultáneamente se activa el cronómetro. El potencial de la celda cae a por debajo de 100 mV y se mantiene sin variaciones hasta segundos antes del punto final potenciométrico. El amperímetro, ubicado en serie en el circuito generador, indica en forma continua la magnitud de la corriente circulante, manteniéndose estable en 5 mA. En las cercanías del punto final se produce un notable aumento en el potencial de la celda (Fig. 3).

Una vez titulada una muestra, puede procederse inmediatamente a una posterior determinación sin necesidad de recurrir a la etapa de pretitulación.

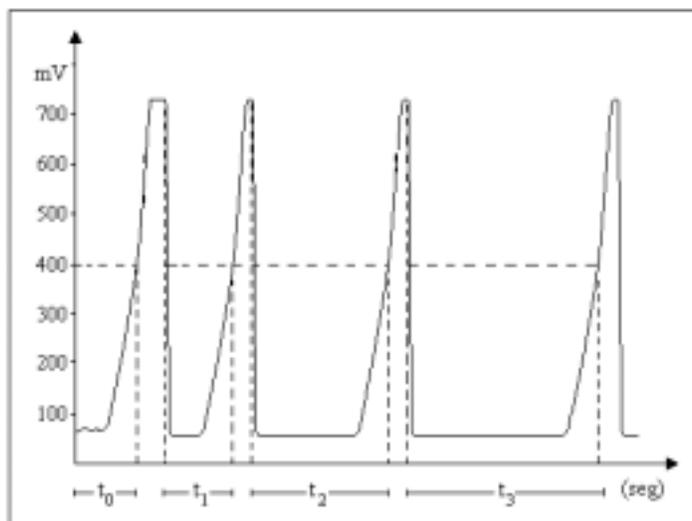


Fig. 3: Esquema de las variaciones del potencial observadas para una serie de titulaciones consecutivas de cantidades crecientes de ácido lipoico.

Las condiciones operativas que se seleccionaron en base a la repetibilidad y exactitud son las siguientes:

- Potencial aplicado: 3 V
- Resistencia: 615 Ω
- Intensidad de corriente: 5mA
- Temperatura: 25°C
- Punto final: 400 mV
- pH de la solución electrolítica: 1,80

Paralelamente, se obtuvieron los espectrogramas de tres estándares de ácido α -lipoico en metanol, a fin apreciar sus cualidades absorbivas y usarlas a título identificatorio. Se operó con un espectrómetro UV-Visible Marca Agilent 8453 con arreglo de diodos, observándose un máximo en 330 nm (Fig. 4).

RESULTADOS

El punto final de la titulación se estableció en 400 mV dado que para ese valor del potencial la pendiente de la curva alcanza su máximo y es coincidente con el punto de equivalencia al titular 1 ml de una solución estándar de ácido α -ácido lipoico de 2,0 mg/mL (Fig. 3).

Para las soluciones estándares, se midieron los tiempos necesarios para titular 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0; y 6,0 mg de ácido α -lipoico. Sobre este rango se ha encontrado probada linealidad. En base a ello se calculó el valor experimental de la constante de Faraday, resultando igual a 96.726 culombios.

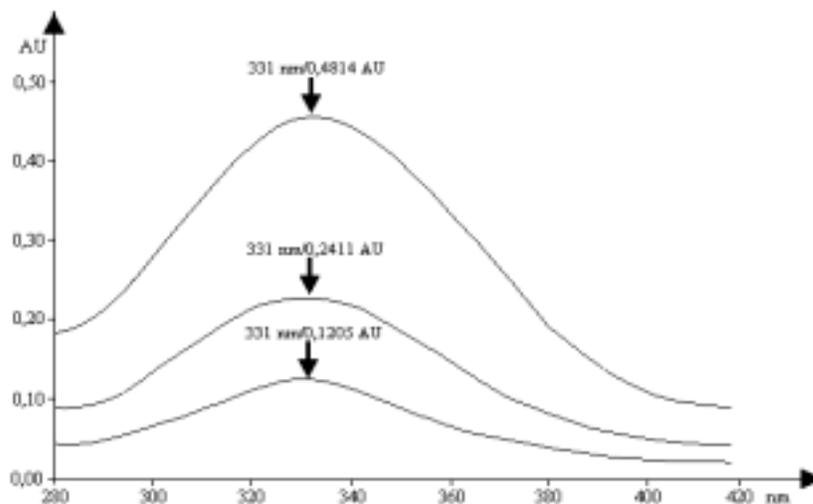


Fig. 4: Espectrograma característico del ácido α -lipoico. Soluciones patrón de 0,4; 1,0; y 2,0 mg/ml

Efectuando por septuplicado la titulación de 1 ml de solución de trabajo de la muestra (aprox. 2 mg ácido α -lipoico/mL), se ha alcanzado una desviación estándar de $\pm 0,025$ mg y un coeficiente de variación de 1,28% (Miller *et al.*, 1993) (Tabla 1).

Tabla 1: Repetibilidad del método usado

Nº	X _i (mg)	(X _i - \bar{X}) ²
1	1,99	0,0004
2	2,02	0,0001
3	1,97	0,0016
4	2,05	0,0016
5	2,02	0,0001
6	2,00	0,0001
7	2,02	0,0001
	$\bar{X} = 2,01$	S = 0,025
		CV = 1,28%

CONCLUSIONES

Se propone un método coulombimétrico con determinación potenciométrica del punto final para la determinación de ácido α -lipoico en comprimidos de uso farmacológico, que reúne las siguientes características:

- ❖ Intervalo de linealidad: 0,5 a 6 mg de ácido α -lipoico. Se recomienda emplear cantidades inferiores a los 5 mg para reducir el tiempo de análisis.
- ❖ Tiempo de análisis: \approx 3 min por mg de ácido α -lipoico.
- ❖ Precisión: CV \approx 1,2 %
- ❖ Posibilidad de efectuar determinaciones secuenciales.
- ❖ Factible de automatizar.
- ❖ Compite favorablemente con el método espectrofotométrico, dado que a 331 nm el α -lipoico presenta un máximo (Fig. 4), con una absorptividad molar del orden de 50 L cm⁻¹ mol⁻¹. Sin embargo la turbidez que generan los excipientes hace dificultosa su lectura.
- ❖ Es aplicable a comprimidos farmacéuticos que contienen ácido α -lipoico como monodroga. Debería complementarse con un estudio espectrofotométrico identificatorio.

BIBLIOGRAFÍA

- BERCHEÑI, A.; M. del C. SARNO y M.R DELFINO, 2001. Número de bromo: un método preliminar para estimar la capacidad antioxidante de frutos naturales. *Anales de la Asociación Química Argentina*, Vol. 89 (1-2): 23-28.
- KAGAN, V; S. KHAN y C. SWANSON, 1993, Antioxidant action of thiocctic acid and dihydrolipoic acid. *Free Radic. Biol. Med.*, 9: 15.
- MELHEM, M.F.; P.A. CRAVEN y F.R. DERUBERTIS, 2001. Effects of dietary supplementation of alpha-lipoic acid on early glomerular injury in diabetes mellitus. *J. Am. Soc. Nephrol.*, 12: 124-133.
- MILLER, J.C. y J.N. MILLER, 1993. *Estadística para Química Analítica*. 2nd Ed. Addison-Wesley Iberoamericana.
- NEFF, J. y J.R. HOLMAN, 1997, How the latest products toe the fine line between foods and drugs. *Food Proc.*, 58 (4): 23-26.
- NICHOLS, T.W.Jr., 1997, Alpha-lipoic acid: biological effects and clinical implications. *Altern. Med. Rev.*, 2: 177, 83.
- PACKER, L.; E. WITT y H.J. TRITSCHLER, 1995. Alpha-lipoic acid as a biological antioxidant. *Free Radic. Biol. Med.*, 19: 227, 50.
- SARNO, M.C. y M.R. DELFINO, 1997. Método coulombimétrico optimizado para la determinación de ácido ascórbico en comprimidos efervescentes. *Revista Información Tecnológica*, 8 (4): 141-144.
- SKOOG, D.A.; F.J. HOLLER y T.A. NIEMAN, 2001. *Principios de Análisis Instrumental*. Ed. Mc Graw Hill.
- SHUMATHI, R., 1993. Effect of DL-alpha-lipoic acid on tissue lipid peroxidation and antioxidant system in normal and glycollate treated rats. *Pharmacol. Res.*, 27 (5-6), 309-318.

Recibido/Received/: 18-set-04
Aceptado/Accepted/: 19-oct-04