

## Comparación de dos métodos analíticos para la determinación de hidroclorotiazida en medicamentos

### Comparison of two analytical methods for hydrochlorothiazide determination in pharmaceutical formulations



Tiffany Jireh Ulloa Cerda, Edith Madaí Colunga Urbina, Hilda Aguayo Morales,  
Iliana Margarita de la Garza Rodríguez\*

Departamento de Química Analítica Ambiental, Universidad Autónoma de Coahuila,  
Facultad de Ciencias Químicas, Blvd. Venustiano Carranza S/N, 25280 Saltillo, Coahuila  
México.

\*Correspondencia para autor: Iliana Margarita de la Garza-Rodríguez  
Universidad Autónoma de Coahuila  
Correo electrónico: [ilianagarza@uadec.edu.mx](mailto:ilianagarza@uadec.edu.mx)

## Resumen

La hipertensión es una de las enfermedades cardiovasculares que más afectan a la población mundial. Para su tratamiento, se pueden administrar diuréticos tiazídicos como la hidroclorotiazida que es ampliamente utilizada en México. Para la industria farmacéutica la técnica oficial para determinar este fármaco en medicamentos es HPLC, sin embargo, debido a la alta cantidad de muestras que deben analizarse en algunas etapas en el proceso de fabricación, es necesario contar con metodologías más rápidas. Los métodos espectrofotométricos UV y sistemas acoplados como el FIA (Análisis por Inyección en Flujo) representan una opción rápida, sencilla y de bajo costo para el análisis farmacéutico. Por lo cual, en este trabajo se tuvo por objetivo la comparación de los métodos analíticos antes mencionados (UV y FIA/UV) para la determinación de hidroclorotiazida en medicamentos de venta al público de 25 mg. Se analizaron dos medicamentos genéricos (MG) de diferentes casas comerciales y uno de patente (MP). Se encontró para el MG1 un contenido de  $22.33 \pm 0.08$  mg, MG2  $23.94 \pm 1.32$  mg y para MP  $22.97 \pm 0.50$  mg. Al realizar el comparativo de métodos no se encontraron diferencias significativas entre ellos, sin embargo, una de las ventajas que presenta el método FIA/UV es el corto tiempo de análisis, aunque carente de selectividad para sustancias relacionadas.

**Palabras clave:** hidroclorotiazida, FIA, espectrofotometría, tabletas

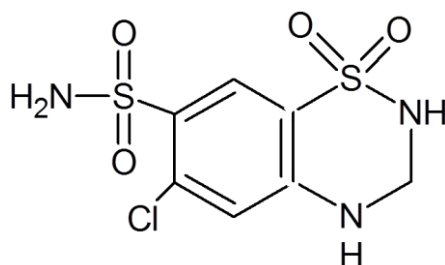
## Abstract

The hypertension is one of the cardiovascular diseases that most affect the world population. For its treatment, thiazide diuretics, like hydrochlorothiazide, are widely used in Mexico. In the pharmaceutical industry, the official technique to determine this drug on pharmaceutical formulations is chromatography. However, due to the high number of samples that need to be analyzed at some stages of the manufacturing process is necessary to have faster methodologies. UV spectrophotometric methods and coupled systems such as FIA (Flow Injection Analysis) represent a fast, simple, and low-cost option for pharmaceutical analysis. Therefore, this work aimed to compare the previously mentioned analytical methods (UV and FIA/UV) for the determination of hydrochlorothiazide in 25 mg retail pharmaceutical formulations. Two generic medicines (MG) from different commercial houses and one patent (MP) were analyzed. Through the UV spectrophotometric method, it was found for MG1 a content of  $22.33 \pm 0.08$  mg, for MG2  $23.94 \pm 1.32$  mg, and for MP1  $22.97 \pm 0.50$  mg. While through FIA/UV method, contents of  $24.82 \pm 1.17$  mg for MG1,  $21.31 \pm 0.47$  mg for MG2, and  $23.98 \pm 0.82$  mg for MP were obtained. When comparing both methods, no significant differences were found between them, however, one of the advantages of the FIA/UV method is the short analysis time, but without selectivity to related impurities.

**Key words:** hydrochlorothiazide, FIA, spectrophotometry, tablets

## Introducción

Las enfermedades cardiovasculares (ECV) son definidas por la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2017) como trastornos que afectan tanto al corazón como a los vasos sanguíneos; una de estas enfermedades es la hipertensión, la cual es una de las principales causas de muerte a nivel mundial (Rosas y Jiménez, 2018). Esta enfermedad se presenta cuando las personas tienen valores de presión sanguínea mayores o igual a 130/80 mmHg (Whelton y col., 2017). Para el tratamiento de la hipertensión, el Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud (CENETEC, 2014) sugiere utilizar una gran variedad de medicamentos como los diuréticos tiazídicos, los cuales, de acuerdo con la mayoría de las guías clínicas, están clasificados como tratamientos de primera línea (Williams y col., 2018; Quinn y col., 2021). En México, uno de los diuréticos tiazídicos más utilizados es la hidroclorotiazida (HTZ) ya que presenta ventajas frente a otros antihipertensivos en términos de eficiencia en su funcionamiento y en prevención de futuros eventos cardiovasculares (Ramírez y col., 2016; Rosas y col., 2016; Whelton y col., 2017). La función principal de la hidroclorotiazida (**Figura 1**) es favorecer la eliminación de sodio y agua. De forma comercial se encuentra disponible para su venta al público en presentación de tabletas de 25 mg. Este fármaco es un polvo cristalino blanco, ligeramente soluble en agua, tiene un peso molecular de 297.74 g/mol, tiene dos pKa's de 7.9 y 9.2 (IARC, 2011; Cirri y col., 2020; De Luca y col., 2020) y presenta su señal de máxima absorción a una longitud de onda de 226 nm (Ansary y col., 2012).



**Figura 1.** Estructura química de la hidroclorotiazida.

Debido al amplio uso de este medicamento, es necesario contar con procedimientos analíticos para su determinación. La Farmacopea de los Estados Unidos (USP, 2017) y la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM, 2018) recomiendan el uso de HPLC para la determinación de este fármaco (Lima y Reis, 2017). Aunque esta técnica tiene diversas ventajas en términos de precisión y exactitud, también presenta algunas limitaciones como la instrumentación costosa, alta capacitación del analista, largos tiempos de análisis, etc. y en la industria farmacéutica constantemente deben procesarse y analizarse grandes cantidades de muestras, por lo que se vuelve necesario contar con metodologías que sean más rápidas (Zhang y col., 2020). Una de las técnicas que presenta una opción rápida y de bajo costo para el análisis farmacéutico es la espectrofotometría UV-Vis, la cual puede ser empleada en diferentes etapas del proceso de fabricación de medicamentos (Passos y Saravaia, 2019). Aunado a esto, puede recurrirse a la

automatización o semi-automatización de las metodologías analíticas; esto se ha vuelto un proceso clave en el análisis farmacéutico moderno de escala industrial, pues permite desarrollar de forma más rápida y eficiente las tareas rutinarias y/o de investigación (Cerdà, 2006; Bezerra y col., 2020). Esta automatización puede realizarse mediante el empleo de sistemas de flujo, ya que con estos también es posible disminuir el costo del análisis debido a que se requiere de menor cantidad de reactivos y, por lo tanto, se emite un menor volumen de residuos (Lima y Reis, 2017; Cerdà y col., 2014; Trojanowicz, 2012). Uno de los primeros sistemas de flujo desarrollado fue el Análisis por Inyección en Flujo (FIA), que se ha aceptado a nivel mundial como una herramienta analítica para el análisis cuantitativo debido a su simplicidad, costo y a las mejoras en rendimiento y reproducibilidad que se pueden obtener (Trojanowicz, 2012; Zagatto y col., 2012, De Faria y col., 2020). El sistema FIA puede utilizarse para el desarrollo de reacciones químicas, separaciones no cromatográficas (diálisis o extracción líquido-líquido) o como un medio de introducción de muestra que permite realizar la conexión entre métodos manuales y el instrumento analítico que se esté utilizando (Valcárcel y Luque de Castro, 1990; Coverly, 2005; Zhang y col., 2020). Debido a las ventajas que presenta el uso de métodos espectrofotométricos UV-Vis y sistemas acoplados como el FIA, el objetivo de este trabajo fue realizar una comparación entre los métodos UV y FIA/UV para la determinación de hidroclorotiazida en medicamentos de venta al público de 25 mg.

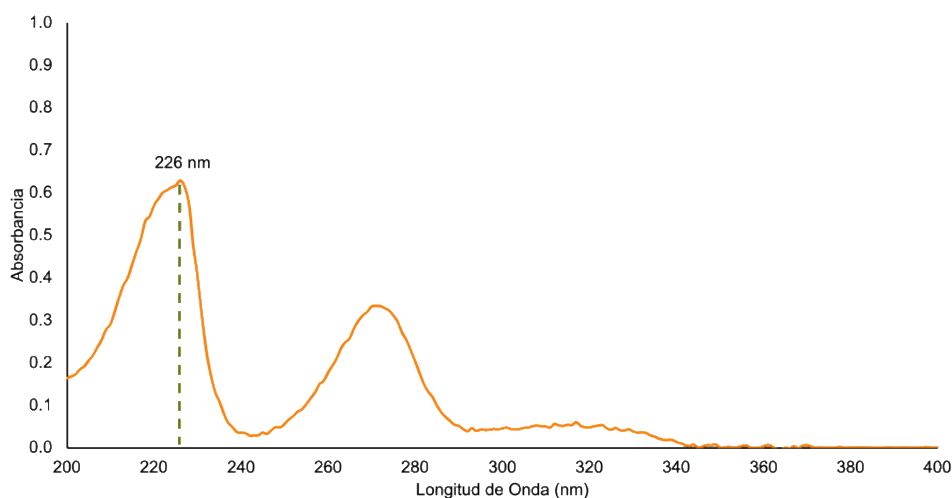
## **Materiales y Métodos**

Para poder llevar a cabo el análisis en tabletas de hidroclorotiazida primero se realizó la determinación de la señal analítica del fármaco para lo cual, se preparó una disolución de hidroclorotiazida (HTZ) de 5 mg/L a partir de una disolución madre de 50 mg/L. Posteriormente se midió el espectro de absorción de 200 a 400 nm en un espectrofotómetro UV/Vis modelo Cary 50Bio de Varian. Para el análisis de tabletas se utilizaron 3 medicamentos de venta al público de 25 mg de hidroclorotiazida fabricados por diferentes industrias farmacéuticas, dos de ellos fueron medicamentos genéricos (MG) y uno fue de patente (MP). Cada tableta se seleccionó de forma aleatoria, se registró su peso, se molió en un mortero hasta obtener un polvo fino y se tomó el equivalente a 3 mg de HTZ. Inmediatamente se disolvió la muestra en agua desionizada y se filtró con papel filtro (poro 4  $\mu\text{m}$ ). Por último, a la muestra se adicionaron 10  $\mu\text{L}$  de HCl 0.1 M para ajustar el pH a 7 y se aforó a 100 mL. Una vez que se tuvieron las muestras preparadas, se verificó que no hubiera efecto de matriz; para esto se utilizaron 5 estándares de hidroclorotiazida con concentraciones en un intervalo de 1 a 10 mg/L a un pH de 7, a la par se prepararon otros 5 estándares de HTZ en el mismo intervalo de concentraciones a los cuales se les adicionó el volumen correspondiente de la muestra y se procedió a realizar el estudio por espectrofotometría UV. Subsiguientemente, se realizó la determinación de HTZ mediante el método UV; en el cual se utilizaron disoluciones de muestras equivalentes a 3 mg/L de HTZ con un pH de 7, las cuales se llevaron a lectura en el espectrofotómetro. Para el desarrollo del método FIA/UV primero se optimizaron diferentes variables hidrodinámicas para poder establecer la configuración del sistema más adecuada para el análisis; para esto se utilizó una bomba peristáltica Minipuls 3 Gilson de 4 canales, una válvula de inyección de baja presión con 6 entradas, un reactor y como detector se utilizó el espectrofotómetro UV-Vis. Las variables estudiadas fueron el diámetro interno (D.I.) de

las tuberías (0.3 y 0.8 mm), caudal (1-3 mL/min), volumen de inyección (18, 30 y 75  $\mu\text{L}$ ), longitud de reactor (20, 50 y 80 cm) y el intervalo de concentración (1-24 mg/L). Una vez que se optimizaron las variables se realizó la determinación de HTZ mediante este método utilizando agua desionizada como disolución acarreadora y muestras equivalentes a 3 mg/L de HTZ con pH 7; se obtuvieron los fiagramas correspondientes a la longitud onda establecida.

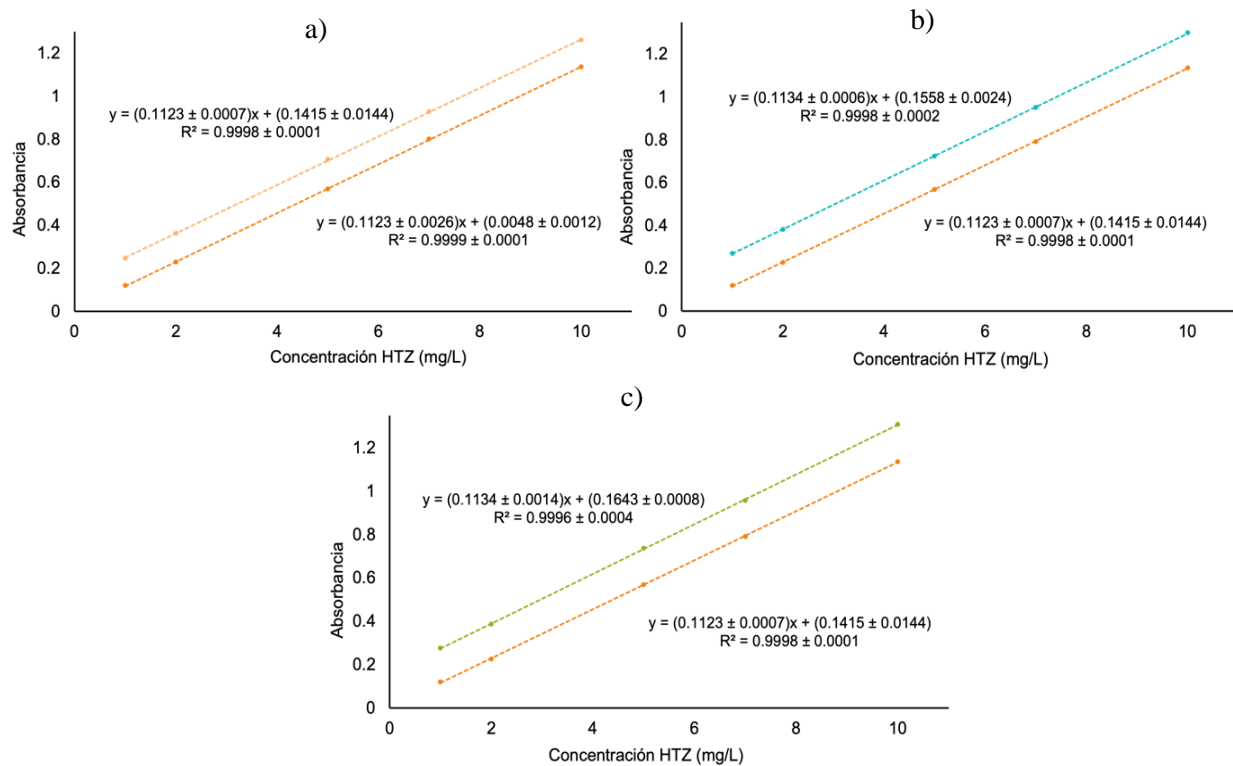
## Resultados y Discusión

En la **Figura 2** se presenta el espectro de hidrocortiazida obtenido con un estándar de 5 mg/L, observando una señal de máxima absorción a una longitud de onda ( $\lambda$ ) de 226 nm, la cual fue seleccionada para las posteriores determinaciones.

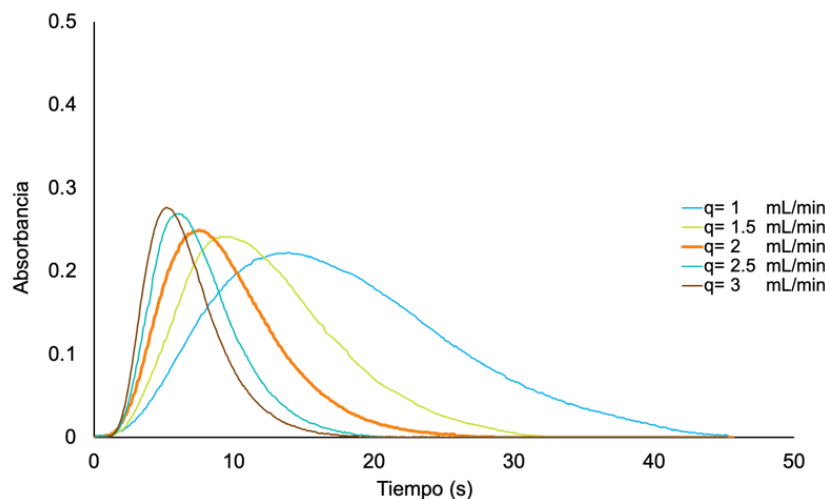


**Figura 2.** Espectro de hidrocortiazida.

En la **Figura 3** se presentan las curvas obtenidas mediante el método de adición de estándar de las tres muestras de estudio, con las cuales se realizaron las pruebas estadísticas t-Student y F de Fisher obteniendo con el MG1 valores de 0 y de 1.93 para t experimental ( $t_{\text{exp}}$ ) y F experimental ( $F_{\text{exp}}$ ) respectivamente; con el MG2, se obtuvo un valor de  $t_{\text{exp}}$  de -0.001 y para  $F_{\text{exp}}$  un valor de 0.93; de la misma forma, para el MP se obtuvieron valores de -0.001 y 1.41 para  $F_{\text{exp}}$  y  $F_{\text{exp}}$  respectivamente. Estos resultados se compararon con los valores teóricos de t (4.303) y de F (19), y en todos los casos los valores experimentales fueron menores a los valores teóricos de tal forma que se pudo determinar que no se presentan diferencias significativas entre las pendientes de las curvas de calibración y sus curvas de adición respectivas, esto indica que no hay presencia de efecto de matriz para ninguno de los medicamentos estudiados por lo cual es posible proceder con el resto de los análisis.



**Figura 3.** Curvas de adición de estándar para medicamentos de hidroclorotiazida. a) medicamento genérico 1 b) medicamento genérico 2 c) medicamento de patente.

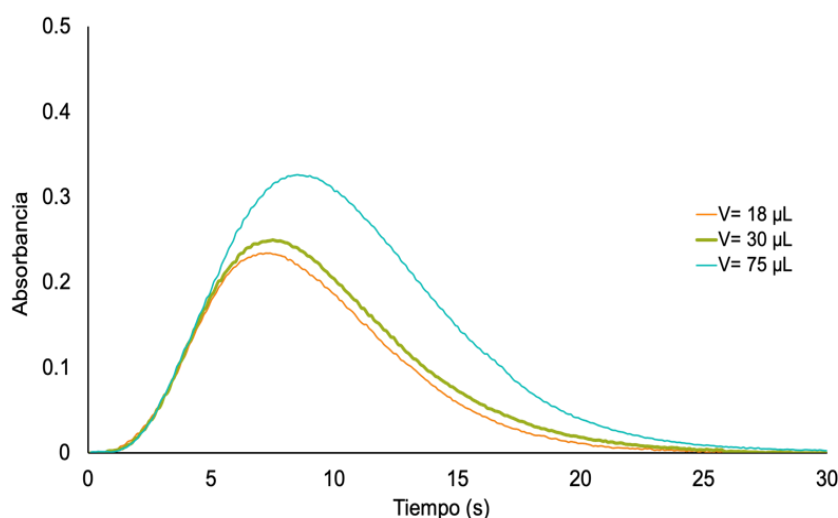


**Figura 4.** Diagrama obtenido con estándares de 5 mg/L de hidroclorotiazida a diferentes caudales.

En el desarrollo del sistema FIA/UV, utilizando tuberías de 0.3 mm de D.I. se pudo observar un menor tiempo de arranque que con tuberías de 0.8 mm D.I. sin embargo, con las primeras, se

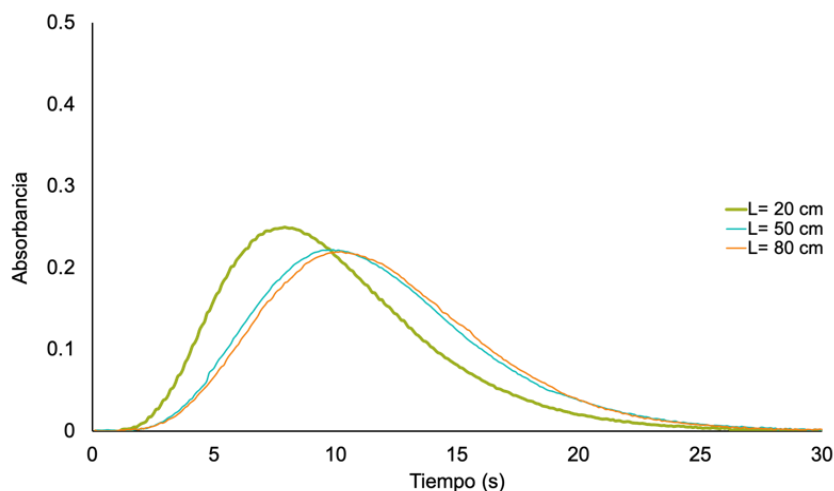
presentó formación de burbujas que dificultaba el análisis por lo que se optó por trabajar con tuberías de 0.8 mm. En la **Figura 4** se presentan los fiagramas obtenidos para los diferentes caudales estudiados (1-3 mL/min), en donde se puede observar que, a menor caudal, mayor es el tiempo de residencia y menor es la absorbancia, sin embargo, se decidió utilizar un caudal de 2 mL/min ya que la absorbancia obtenida no presenta diferencias significativas con las absorbancias de los caudales de 2.5 y 3 mL/min y un caudal de 2 mL/min permite que el analista tenga mayor tiempo para inyectar la siguiente muestra.

En la **Figura 5** se puede observar el fiagrama obtenido con diferentes volúmenes de inyección, en el cual se determinó que a medida que se aumentaba el volumen de inyección, también se obtiene una mayor absorbancia y un mayor tiempo de residencia, por lo tanto, se optó por utilizar un volumen de 30  $\mu\text{L}$  con el fin de no tener tiempos de análisis tan largos, pero manteniendo una buena señal analítica.



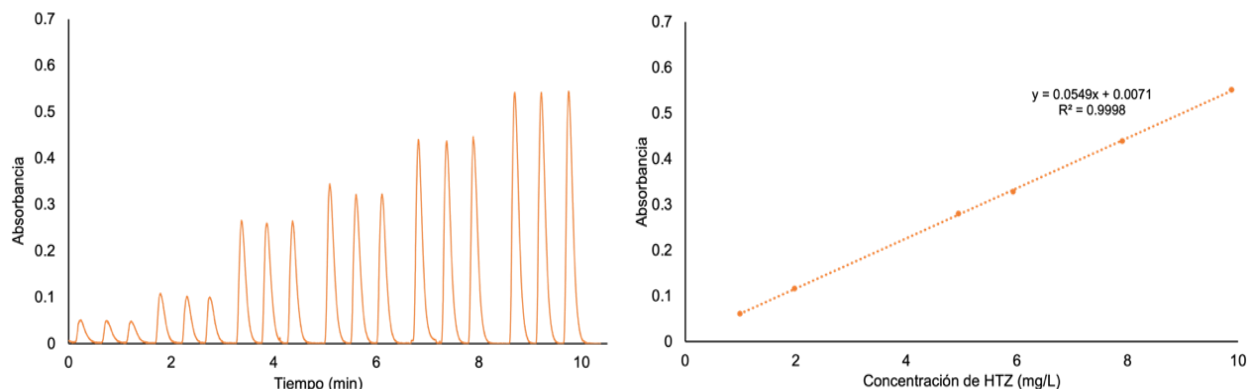
**Figura 5.** Fiagrama obtenido con diferentes volúmenes de inyección de estándares de 5 mg/L de hidroclorotiazida.

Para determinar la longitud de reactor más adecuada, se obtuvieron los resultados presentados en la **Figura 6**, donde se puede observar que a mayor longitud, mayor es el tiempo de arranque y de residencia, por lo cual se estableció como óptimo, el reactor de 20 cm, con el que se obtienen los menores tiempos de análisis y la mayor absorbancia.



**Figura 6.** Fiagrama obtenido con estándares de 5 mg/L de hidroclorotiazida y reactores de diferentes longitudes.

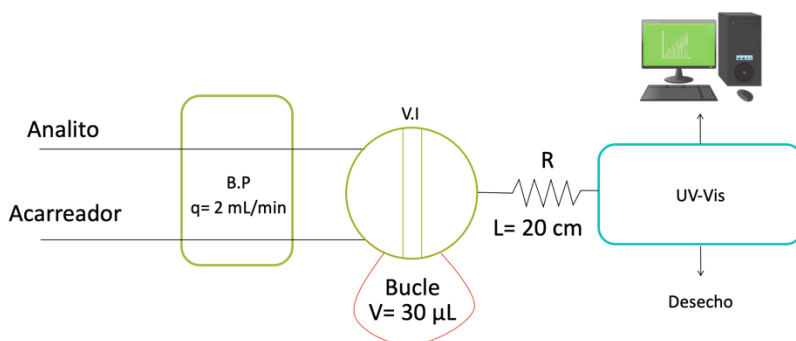
Con el fin de establecer el intervalo de concentración óptimo para este trabajo, se utilizaron estándares de HTZ en un intervalo de concentración de 1 a 24 mg/L, sin embargo, se observó que a mayores concentraciones ya no se presentaba una buena linealidad, por lo cual se optó por trabajar solamente en el intervalo de 1 a 10 mg/L y en la **Figura 7** se presenta un ejemplo, de al menos tres réplicas, de los fiagramas y curvas de calibrado obtenidos.



**Figura 7.** Fiagrama y curva de calibración para hidroclorotiazida.  $q = 2 \text{ mL/min}$ ,  $V = 30 \text{ }\mu\text{L}$ ,  $L = 20 \text{ cm}$ .

Con todos estos resultados, fue posible construir el sistema con la configuración que se presenta en la **Figura 8** y de esta forma proceder a la determinación de HTZ.





**Figura 8.** Configuración del sistema FIA utilizado para la determinación de hidroclorotiazida.  
*q:* Caudal, *V.I:* válvula de inyección, *V:* volumen de inyección, *R:* reactor, *L:* longitud del reactor.

Una vez que se llevó a cabo la determinación de HTZ mediante ambos métodos se obtuvieron los resultados que se presentan en la Tabla 1. Posteriormente, con estos resultados se realizó el análisis estadístico t-Student y F de Fisher que de la misma forma se presentan en la **Tabla 1**.

**Tabla 1.** Resultados obtenidos con tres réplicas del análisis estadístico t-Student y F de Fisher para la comparación de los métodos UV y FIA/UV en la determinación de hidroclorotiazida en medicamentos.

		UV	FIA/UV
n		3	
t		2.78	
F		19.00	
MG1	Promedio (mg)	22.33	24.82
	Desviación Estándar	0.08	1.17
	s <sup>2</sup>	1.91	
	t experimental	2.21	
	F experimental	0.004	
MG2	Promedio (mg)	23.94	21.31
	Desviación Estándar	1.32	0.22
	s <sup>2</sup>	2.31	
	t experimental	2.11	
	F experimental	7.76	
MP	Promedio (mg)	22.97	23.98
	Desviación Estándar	0.50	0.82
	s <sup>2</sup>	1.61	
	t experimental	0.97	
	F experimental	0.37	

Con los resultados obtenidos fue posible observar que al tener valores de  $t$  experimentales menores al valor de  $t$  teórica, así como valores de  $F$  experimental menores a  $F$  teórica, no se presentan diferencias significativas entre los métodos estudiados .

## Conclusiones

Con los resultados obtenidos se puede concluir que con los dos métodos estudiados UV y FIA/UV es posible realizar la determinación de hidroclorotiazida en medicamentos de venta al público de 25 mg. Al no encontrar diferencias significativas entre los métodos estudiados, se concluye que ambos son una buena alternativa para agilizar el análisis farmacéutico en algunas etapas del proceso de fabricación de medicamentos. Sin embargo, ninguno de los 2 métodos comparados aquí es selectivo, por lo que además de cuantificar la HTZ se cuantifica al mismo tiempo todas las impurezas contenidas en el principio activo, cuyos espectros de absorción se traslapan.

## Agradecimientos

Se agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por la beca 758981.

## Referencias

- Ansary, A., Abdel-Moety, M., Abdel-Gawad, F., Mohamed, E., & Khater, M. (2012). Simultaneous Determination of Carvedilol and Hydrochlorothiazide in Tablets and Spiked Human Plasma using Derivative Spectrophotometry. *Pharmaceutica Analytica Acta*. 3:1–6. DOI: 10.4172/2153-2435.1000186.
- Bezerra, M. A., Lemos, V. A., de Oliveira, D. M., Novaes, C. G., Barreto, J. A., Alves, J. P. S., Cerqueira, U. M. F. da M., Santos, Q. O. dos, & Araújo, S. A. (2020). Automation of continuous flow analysis systems – a review. *Microchemical Journal*. DOI: 10.1016/j.microc.2020.104731.
- Centro Nacional de Excelencia Tecnológica en Salud. (2014). *Diagnóstico y tratamiento de la Hipertensión Arterial en el primer nivel de atención*.
- Cerdà, V., Ferrer, L., Avivar, J., & Cerdà, A. (2014). Evolution and Description of the Principal Flow Techniques. In *Flow Analysis* (pp. 1-42). Elsevier B. V.
- Cerdà, V. (2006). *Introducción a los métodos de análisis en flujo* (Primera edición). Sciware.
- Cirri, M., Maestrelli, F., Mennini, N., Di Cesare Mannelli, L., Micheli, L., Ghelardini, C., & Mura, P. (2020). Development of a stable oral pediatric solution of hydrochlorothiazide by the combined use of cyclodextrins and hydrophilic polymers. *International Journal of Pharmaceutics*, 587:1-9. DOI: 10.1016/j.ijpharm.2020.119692.

Coverly, S. (2019). Flow analysis | Segmented flow analysis. In *Encyclopedia of Analytical Science* (pp. 220–226). Elsevier Ltd.

De Faria, L. V., Lisboa, T. P., de Farias, D. M., Araujo, F. M., Machado, M. M., de Sousa, R. A., Matos, M. A. C., Muñoz, R. A. A., & Matos, R. C. (2020). Direct analysis of ascorbic acid in food beverage samples by flow injection analysis using reduced graphene oxide sensor. *Food Chemistry*. 319. DOI: 10.1016/j.foodchem.2020.126509.

De Luca, M., Ioele, G., Grande, F., Platikanov, S., Tauler, R., & Ragno, G. (2020). Photostability study of multicomponent drug formulations via MCR-ALS: The case of the hydrochlorothiazide-amiloride mixture. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 186:1-10. DOI: 10.1016/j.jpba.2020.113332.

International Agency for Research on Cancer (2011). *Hydrochlorothiazide*.

Lima, M. J. A., & Reis, B. F. (2017). A clean photometric method for the determination of losartan potassium in pharmaceuticals exploiting light scattering effect and employing a multicommutated flow analysis approach. *Talanta*. 164:183–188. DOI: 10.1016/j.talanta.2016.11.011.

Organización Mundial de la Salud. (2017). *Enfermedades Cardiovasculares*. Disponible en: [https://www.who.int/cardiovascular\\_diseases/es/](https://www.who.int/cardiovascular_diseases/es/)

Passos, M., & Saraiva, M. L. (2019). Detection in UV-visible spectrophotometry: Detectors, detection systems, and detection strategies. *Measurement: Journal of the International Measurement Confederation*. 135:896–904. DOI: 10.1016/j.measurement.2018.12.045.

Pharmacopeia Convention of the United States of America. (2017). *United States Pharmacopeia*.  
Quinn, A. E., Ronksley, P. E., BscPharm, L. B., Au, F., Wick, J., Leung, A. A., McBrien, K. A., Manns, B. J., & Beall, R. F. (2021). Antihypertensive prescribing for uncomplicated, incident hypertension: Opportunities for cost savings. *CJC Open*. DOI: 10.1016/j.cjco.2020.12.026

Ramírez, E., Santos, E., Díaz, E., Rodríguez, M., Pérez-Ruiz, C. E., & López, R. (2016). *Consenso de Hipertensión Arterial Sistémica en México*.

Rosas-Peralta, M., & Jiménez-Genchi, G. M. (2018). New Challenges for Hypertension Treatment. *Archives of Medical Research*. 49:548–557. DOI: 10.1016/j.arcmed.2018.11.005.

Secretaria de Salud. (2018). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos* (Décimo octava edición) México.

Trojanowicz, M. (2012). Flow-injection analysis as a tool for determination of pharmaceutical residues in aqueous environment. *Talanta*, *96*, 3–10. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2011.12.081>.

Valcárcel, M., & de Castro, M. D. L. (1990). Flow injection analysis: A useful alternative for solving analytical problems. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*. *337*:662–666. DOI: 10.1007/BF00323100.

Whelton, P. K., Carey, R. M., Aronow, W. S., Casey, D. E., Collins, K. J., Himmelfarb, C. D., DePalma, S. M., Gidding, S., Jamerson, K. A., Jones, D. W., MacLaughlin, E. J., Muntner, P., Ovbigele, B., Smith, S. C., Spencer, C. C., Stafford, R. S., Taler, S. J., Thomas, R. J., Williams, K. A., ... Hundley, J. (2018). 2017 ACC/AHA/AAPA/ABC/ACPM/AGS/APhA/ASH/ASPC/NMA/PCNA guideline for the prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults a report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Clinical pr. *Hypertension*. *71*. DOI: 10.1161/HYP.0000000000000065.

Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Rosei, E. A., Azizi, M., Burnier, M., Clement, D., Coca, A., De Simone, G., Dominiczak, A., Kahan, T., Mahfoud, F., Redon, J., Ruilope, L., Zanchetti, A., Kerins, M., Kjeldsen, S., Kreutz, R., Laurent, S., ... Desormais, I. (2018). 2018 practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European society of cardiology and the European society of hypertension ESC/ESH task force for the management of arterial hypertension. *Journal of Hypertension*. *36*. DOI: 10.1097/HJH.0000000000001961.

Zagatto, E. A. G., Oliveira, C. C., Townshend, A., & Worsfold, P. J. (2012). Flow Analysers. In *Flow Analysis with Spectrophotometric and Luminometric Detection* (pp. 147–203). Elsevier Inc.

Zhang, G. Q., Li, Y. S., Zhao, Y., Luo, Y. X., & Gao, X. F. (2020). A rapid and automated flow injection spectrophotometric determination method for pioglitazone/metformin hydrochloride in pharmaceutical preparation and to confirmation of its reaction principle using PCX column. *Microchemical Journal*. *155*. DOI: 10.1016/j.microc.2020.104698.