

## Determinación de Vitamina B<sub>12</sub> en una Formulación Multivitamínica por Espectrofotometría de Derivada de Primer Orden

Lisette Sordo MARTÍNEZ, Laritza SOTO MULET y Rolando GONZALEZ HERNANDEZ\*

*Centro de Química Farmacéutica, Laboratorio Análisis Químico y Control de la Calidad, Calle 200 esquina 21, Atabey, Playa, Apartado Postal 16042, Ciudad de la Habana, Cuba.*

**RESUMEN.** Se desarrolló un método por espectrofotometría de derivadas de primer orden para la determinación de vitamina B<sub>12</sub> en una formulación multivitamínica compuesta por vitamina B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> y B<sub>12</sub>. La amplitud de la señal de la primera derivada se determinó a 378 nm. La validación prospectiva del método demostró que fue lineal ( $r=0,999$ ), preciso (repetibilidad CV= 0 y 1,52%; reproducibilidad CV=2,7 y 1,67%), exacto y selectivo (se determinó B<sub>12</sub> en presencia de las vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> y en presencia de los productos de degradación de cada una de ellas).

**SUMMARY.** "Determination of vitamin B<sub>12</sub> in a multivitamin pharmaceutical by first order derivate spectrophotometry". A method by first derivative spectrophotometry for the determination of vitamin B<sub>12</sub> in a multivitamin pharmaceutical, composed by vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> and B<sub>12</sub>, was developed. The amplitude of the first derivative signal was measured at 378 nm. The prospective validation of the method showed that it was linear ( $r=0,999$ ), precise (repeatability CV= 0 and 1,52%; reproducibility CV= 2,7 and 1,67 %), accurate and selective (vitamin B<sub>12</sub> could be determined in presence of vitamin B<sub>1</sub>, B<sub>6</sub> and degradation products of each one of them).

### INTRODUCCIÓN

De las vitaminas hidrosolubles del complejo B, cianocobalamina (B<sub>12</sub>), tiamina (B<sub>1</sub>) y piridoxina (B<sub>6</sub>) generalmente forman parte en su conjunto de formulaciones farmacéuticas inyectables, debido a su utilización en el tratamiento y prevención de diversas enfermedades como la neuritis periférica, la anemia perniciosa y megaloblástica<sup>1</sup>.

En la literatura se han reportado métodos cromatográficos<sup>2,3</sup> para el análisis simultáneo de algunas vitaminas hidrosolubles, pero presentan como inconveniente que utilizan aditivos de apareamiento iónico como componentes de la fase móvil. Estos reactivos provocan el marcaje de las columnas, lo cual reduce su tiempo de vida y limita su campo de aplicación<sup>4</sup>. Recientemente se han reportado dos técnicas de HPLC que permiten la determinación de vitamina B<sub>12</sub><sup>5,6</sup>. La primera técnica describe su determinación

en preparaciones multivitamínicas mediante un sistema de gradientes de la fase móvil compuesta por agua, metanol y acetonitrilo. La segunda técnica describe la determinación de vitamina B<sub>12</sub> en presencia de otras vitaminas hidrosolubles como vitamina C, nicotinamida, ácido nicotínico, ácido fólico, y vitamina B<sub>2</sub> en dos etapas. La primera etapa incluye una separación utilizando la extracción de fase sólida usando cartuchos de C18 para eliminar las vitaminas liposolubles. En la segunda etapa se realiza la separación cromatográfica mediante un sistema de gradientes de una fase móvil compuesta por metanol y una disolución amortiguadora (buffer) de acetato de amonio. Comercialmente se encuentra disponible una columna que asegura la separación de vitamina B<sub>12</sub> de otras vitaminas hidrosolubles, tales como B<sub>1</sub> y B<sub>6</sub><sup>7</sup>. La fase estacionaria recomendada está compuesta por fase reversa (C18) y la fase móvil por una mezcla de

**PALABRAS CLAVE:** Determinación de vitamina B<sub>12</sub>, Espectrofotometría de derivadas, Vitamina B<sub>1</sub>, Vitamina B<sub>6</sub>, Validación.

**KEY WORDS:** Determination of vitamin B<sub>12</sub>, Derivative Spectrophotometry, Vitamin B<sub>1</sub>, Vitamin B<sub>6</sub>, Validation.

\* Autor a quien dirigir la correspondencia. E-mail: cqf@infomed.sld.cu. Fax: +53 - 7 -33 64 71