

91  
2ey



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA  
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA



EXAMENES PROFESIONALES  
FAC. DE QUIMICA

DETERMINACION DEL COEFICIENTE DE REPARTO  
Y CONSTANTE DE ACIDEZ DEL CLONIXINATO DE  
LISINA. UN RECIENTE ANALGESICO-  
ANTIINFLAMATORIO NO ESTEROIDAL.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO  
P R E S E N T A :  
GUILLERMINA PALAFOX SALDAÑA



MEXICO, D. F

247896 1998.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

**Universidad Nacional Autónoma  
de México.**

---

**Facultad de Química**

**DETERMINACIÓN DEL COEFICIENTE DE REPARTO Y  
CONSTANTE DE ACIDEZ DEL CLONIXINATO DE LISINA. UN  
RECIENTE ANALGÉSICO - ANTIINFLAMATORIO NO  
ESTEROIDAL.**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO  
P R E S E N T A:  
GUILLERMINA PALAFOX SALDAÑA**

**MÉXICO, D.,F.**

**1998**

---

---

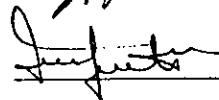
## Jurado asignado


- Presidente:** Profesor José Benjamín Robles García.  
**Vocal:** Profesora Sofía Margarita Rodríguez Alvarado.  
**Secretario:** Profesor Juan Manuel Peguero Zambrano.  
**1er. Suplente:** Profesora María del Socorro Alpizar Ramos.  
**2do. Suplente:** Profesor Ricardo Rodríguez Saenz.

### Sitio donde se desarrolló el tema:

Laboratorio de Biofarmacia 112-113 Edificio E  
Facultad de Química, UNAM.

**Asesor:** QFB Juan M. Peguero Zambrano. 

**Asesor Técnico:** M. en C. Inés Fuentes Noriega. 

**Sustentante:** Guillermina Palafox Saldaña. 

---

---

## Indice General:

	<b>Página</b>
Introducción.	1
Objetivos.	3
Capítulo 1. Antecedentes.	5
. Espectrofotometría U.V.- Visible.	
Capítulo 2. Metodología:	19
1. Determinación de la constante de acidez.	
2. Determinación del coeficiente de reparto.	
Capítulo 3. Resultados.	28
Capítulo 4. Análisis de Resultados.	39
Capítulo 5. Conclusiones.	42
Bibliografía.	45

---

---

**Tablas, Esquemas, Figuras y Diagramas:**

	<b>Página</b>
Tabla 1. Preparación de la muestra para estudios de pKa.	23
Tabla 2. Preparación de la muestra para $K_D$	26
Tabla 3. Promedio de la muestra de clonixinato de lisina a 252nm	30
Tabla 4. Promedio de la muestra de clonixinato de lisina a 282nm	31
Tabla 5. Promedio de la muestra de clonixinato de lisina a 325nm	32
Tabla 6. Promedio de absorbancia vs. pH a 252, 282 y 325nm	33
Tabla 7. Resultados de Curva patrón de abs. Vs. Conc. del coeficiente de reparto	36
Tabla 8. Resultados de las muestras del $K_D$	37
Tabla 9. Preparación de las soluciones amortiguadoras de constante de acidez	21
Esquema 1. Esquema general de actividades. Area preclínica.	7
Esquema 2. Esquema general de actividades. Area clínica.	8
Esquema 3. Espectro electromagnético	17
Esquema 4. Componentes del espectrofotómetro de haz simple	18
Figura 1. Espectro de las muestras de clonixinato de lisina a diferentes pH's	29
Figura 2. Gráfica de absorbancia vs. pH a 252nm (valores promedio)	30
Figura 3. Gráfica de absorbancia vs. pH a 282nm (valores promedio)	31
Figura 4. Gráfica de absorbancia vs. pH a 325nm (valores promedio)	32
Figura 5. Gráfica de absorbancia vs. pH a 252,282 y 325nm	33
Figura 6. Curva patrón de clonixinato de lisina.	37
Diagrama 1. Preparación de las muestras del pKa	22
Diagrama 2. Preparación de la muestra patron del $K_D$	25
Diagrama 3 Preparación de la curva patrón del $K_D$	27



La investigación biofarmacéutica relaciona una serie de parámetros importantes que involucran las propiedades físicas y químicas del fármaco en investigación.

El clonixinato de lisina es un analgésico anti-inflamatorio no esterooidal que hizo su aparición en el mercado nacional en el año de 1995 y que requirió de la determinación de la constante de acidez ( $pK_a$ ) y del coeficiente de reparto ( $K_D$ ) para ser evaluado en su fase inicial y desde el punto de vista biofarmacéutico, ya que no se encontraron datos que hablaran sobre éstos dos parámetros.

Existen diferentes métodos para la determinación de la constante de acidez y dentro de los más comunes tenemos:

1. Potenciometría.
2. Perfil de pH vs. solubilidad
3. Espectrofotometría.

Debido a la a nuestras limitaciones en el equilibrio y por las propiedades fisicoquímicas del principio activo se determinó esta constante por el método espectrofotométrico.

Para nuestros fines, por el fácil acceso de los reactivos y por la disponibilidad de el instrumento de análisis. Para la determinación del coeficiente de reparto ( $K_D$ ), se utilizó la relación  $[Octanol]/[Agua]$  el instrumento de análisis usado fue la espectrofotometría UV-Visible

A los resultados obtenidos en ambas determinaciones, se les realizaron las pruebas estadísticas correspondientes, que incluyeron pruebas de linealidad del sistema, precisión del sistema e intervalo de confianza.

Se encontraron valores de  $pK_a$  de:

1. Primera derivada  $5.5 \pm 0.0$ .
2. Método de las pendientes  $5.625 \pm 0.31$

Se encontraron valores de  $K_D$  de:

$2.69 \pm 0.511$ .

lo que ayudó para los análisis subsecuentes sobre éste fármaco.





**Objetivo General:**

Evaluar en su fase inicial y desde el punto de vista biofarmacéutico al clonixinato de lisina, sobre algunos de sus parámetros fisicoquímicos y coadyuvar con estos datos a otras líneas de investigación en Biofarmacia con éste mismo fármaco.

**Objetivo Particular:**

Determinar  $pK_a$  y el coeficiente de reparto ( $K_D$ ) del Clonixinato de Lisina , usando como método analítico la espectrofotometría UV- Visible.

---

---

# Capítulo 1

## Antecedentes

---

---

**El hombre ha experimentado a través del tiempo la sensación de dolor en todas sus formas y variantes. Por esta razón se ha dedicado a la búsqueda de nuevos analgésicos, con mayor efectividad y menor toxicidad. Varios compuestos químicos son utilizados para aliviar el dolor somático, dependiendo de su intensidad, duración y naturaleza de la causa que lo provoca.(2)**

**Un analgésico, es un compuesto capaz de aliviar el dolor sin causar pérdida de la conciencia del individuo. Los analgésicos se subdividen en dos grupos principales:**

**1.De acuerdo a su mecanismo de acción**

**2.Sobre el tipo de dolor.(2, 10, 9)**

**El mecanismo de acción de los antiinflamatorios no esteroideos (como los corticoides) inhiben la liberación del ácido araquidónico de las reservas de fosfolípidos, otros inhiben a las ciclooxigenasas responsables de la síntesis de las prostaglandinas y sustancias relacionadas. Este es el caso del Clonixinato de Lisina. (2, 10)**

**Los analgésicos no narcóticos ( no esteroideos ), generalmente alivian dolores suaves y como prototipo incluyen a la aspirina.Los analgésicos narcóticos (opiodes), son utilizados para aliviar dolores moderados a fuertes, dentro de los cuales se encuentra la morfina como prototipo.**

**Actualmente se dedica un considerable esfuerzo a la búsqueda de sustancias que produzcan efectos terapéuticos mas selectivos, actuando a diferentes niveles de las vías de biosíntesis de las moléculas que participan en los procesos nociceptivos y que puedan tener mayor eficacia y seguridad, así como menor toxicidad. El Clonixinato de Lisina, es un analgésico-antiinflamatorio no esteroideal de reciente aparición en el mercado, que dentro de los analgésicos pertenece al grupo de los fenamatos, éste debe cumplir con todos los requerimientos desde el punto de vista regulatorio, tanto en la etapa de preformulación, estudios preclínicos (en animales y humanos) y clínicos, tales como farmacocinéticos , farmacodinámicos, toxicológicos, biofarmacéuticos, etc.(11.)**

---

---

Si bien en el orden de las primeras etapas de investigación y el tiempo en que se realiza el estudio y el desarrollo de un medicamento nuevo varía en gran medida.

La primera etapa que observamos dentro de la investigación preclínica del esquema de investigación y desarrollo se denomina etapa de exploración.(11)

### Área Preclínica.(11)

ETAPA→ AREA ↓	EXPLORACIÓN	DEFINICIÓN	FASE O (Cero)
Química	Descubrimiento, Caracterización, Purificación.	Síntesis, Intermediarios Radiofármacos	Procesos Estabilidad
<b>Biológica:</b> Farmacología, Toxicología, Biofarmacia	<b>Cernimiento</b> <b>Farmacológico</b>	<b>DE 50/ DL 50</b> <b>*CADME ó *LADME</b> <b>Corto plazo</b>	Farmacología detallada. Toxicología especial <b>*CADME</b>
<b>Farmacéutica</b>		<b>Preformulación</b> <b>Selección de forma</b> <b>Farmacéutica</b>	<b>Formulación Estabilidad</b> <b>Selección de empaques</b>
Médica	Determinación de necesidades terapéuticas.	Plan de Evaluación Clínica.	Protocolos Clínicos Etiquetas.
Administrativa	Estrategias. Investigación de mercados, Finanzas.	Planeación. Documentación. Patentes.	Control, Interés,Internacional .Trámites, Regulatorios.

**Esquema 1.** Esquema general de actividades típicas para la investigación y el desarrollo de un medicamento nuevo.

\* CADME = C, Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción

\*LADME = L, Absorción, Distribución, Metabolismo, Excreción

## Área Clínica.(11)

ETAPA→ ÁREA↓	FASE I	FASE II	FASE III	FASE IV
Química	Escalación. Proveedores. Control.	Diseño de Planta Especificaciones	Construcción de planta. Producción	Inventarios. Producción normal.
<b>Biológica:</b> Farmacológica Toxicología.	Mecanismo de acción Teratogénesis Toxicomanía	Interacción de Fármacos. Toxicidad Crónica.	Estudios especiales. Toxicidad Crónica	Toxicidad aguda y subaguda a combinaciones
<b>Farmacéutica</b>	Escalación Material clínico Estabilidad.	Extensiones Empaques Documentación.	Transferen- cias de tecnología Extensiones.	Mejoras. Diferenciación Ampliaciones.
<b>Médica</b>	Farmacodinámica Farmacocinética Biodisponibilidad Tolerancia.	Eficacia Tolerancia prolongada	Multicéntricos comparativos. Documentación Estudios especiales.	Ampliaciones Promoción Interacciones.
Administrativa	Definición de recursos Control	Planeación Documentación Registro internacional.	Trámites regulatorios. Plan de lanzamiento.	Evaluación de resultados. Ampliaciones Extensiones.

**Esquema 2.** Esquema general de actividades típicas para la investigación y desarrollo de un medicamento nuevo.

Las áreas y etapas donde impactan los estudios de determinación de constantes fisicoquímicas ( $pK_a$ ,  $K_D$ ), son aquellas que se encuentran resaltadas en las figuras 1 y 2.

El grado al cual se ioniza un fármaco en medio acuoso, depende de tres factores:

1. El pKa.
2. El pH del medio en que se encuentra.
3. La solubilidad de la sustancia en el medio (polar - no polar)

Estos factores intervienen en la difusión de los fármacos a través de las membranas y su relación está descrita por la ecuación de Henderson - Hasselbach. (20, 3)

$$pH = pKa + \log \frac{[\text{Forma ionizada}]}{[\text{Forma no ionizada}]}$$

Cabe mencionar que en el caso en que la relación de las formas ionizada y no ionizada es igual a la unidad, el pKa es igual al pH, es decir, que el fármaco se encuentra ionizado en un 50%. (20)

Así mismo una molécula difundirá a través de una membrana de acuerdo a su coeficiente de reparto y los parámetros que afectan el paso del fármaco son:

1. El coeficiente de reparto entre la membrana lipídica.
2. El pH de las fases acuosas situadas entre un lado y otro de la membrana.
3. La concentración de iones a un lado y otro de la membrana.
4. La solubilidad intrínseca de la sustancia.

El coeficiente de reparto está definido por la relación:

$$K_D = \frac{[\text{Conc. total sustancia en fase orgánica}]}{[\text{Conc. total sustancia en fase acuosa}]}$$

La partición líquido - líquido, es un proceso de distribución de una sustancia disuelta en una fase líquida, que se pone en contacto con una segunda fase líquida inmiscible con la primera, donde la sustancia será transferida de una fase líquida a otra por contacto, de acuerdo a su solubilidad en dicha fase. (5)

**Datos fisicoquímicos del Clonixinato de Lisina.**• Propiedades Físicas:

- Es un polvo fino, seco, color blanco - crema , de olor característico muy irritante y picante de sabor amargo.(14).

- Punto de fusión de 214°C. (25)

• Propiedades Químicas:

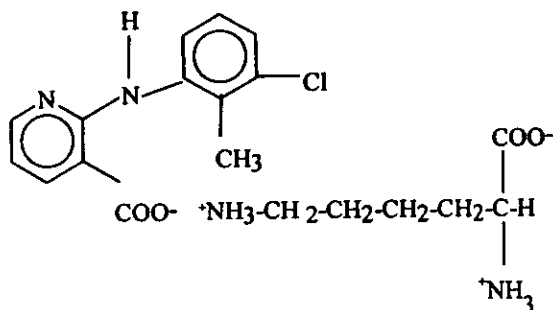
Es un compuesto soluble en agua, metanol y soluciones alcalinas diluidas, ligeramente soluble en etanol, prácticamente insoluble en tolueno, cloroformo y acetona.(14)

• Nombre Químico:

2-[N-(3-cloro-2-metil-fenil)-amino] nicotinato de lisina.(16)

• Peso Molecular: 408.4g / mol.

• Fórmula Condensada: C<sub>19</sub> H<sub>25</sub> O<sub>4</sub> N<sub>4</sub> Cl

• Fórmula Semidesarrollada (16):



Las constantes termodinámicas, son constantes reales que dependen de la temperatura y la actividad de los solutos, puesto que se ha tomado la solución infinitamente diluida como el estado en que los coeficientes de actividad tienen el valor de la unidad. (5)

Lo que determina el valor del coeficiente de actividad, es la fuerza iónica y no la naturaleza del electrolito en solución, además el coeficiente de reparto, depende de la magnitud de la carga eléctrica del ion pero no de su signo. (5)

Los coeficientes de actividad dependen del tamaño de los iones hidratados y en general, la presencia de iones tendrá un menor efecto sobre la actividad de una molécula neutra que sobre la de otro electrolito. La actividad se expresa en las mismas unidades que la concentración. (7)

La fuerza iónica ( $\mu$ ), mide la magnitud de la carga de los iones.

$$\mu = \frac{1}{2} \sum_i C_i Z_i^2$$

Donde:  $C_i$  = Concentración molar.

$Z_i$  = Carga de cada especie iónica  
presente en la solución.

## Métodos para la determinación de la constante de acidez

1. **Potenciometría:** La determinación potenciométrica de las constantes de disociación, comprende una medida del pH con una pila de electrodo de vidrio - E.C.S. A partir del conocimiento de los volúmenes y concentraciones del ácido y la base conjugados, puesto que el pH es una medida de la actividad, estas medidas experimentales conducen a la evaluación de una cantidad compuesta, llamada constante aparente  $K'a$ , definida por la siguiente ecuación:

$$K'a = \frac{^a H^+ [A^-]}{[HA]} \qquad K_a = \frac{^a H^+ A^-}{^a HA}$$

No existe mucha diferencia en algunas aplicaciones entre  $K'a$  y  $K_a$ , es solo la precisión con que puede determinarse el pH, que es de hecho una valoración. Cuando se realiza la valoración para determinar el pKa potenciométricamente, cuando se ha llegado al punto medio de la valoración, es decir, se ha valorado la mitad de la muestra y cuando  $[A^-] = [HA]$ , entonces el  $pK'a = pH$ , que proviene de la ecuación:

$$pK'a = pH + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

El procedimiento consiste en efectuar una valoración potenciométrica de pH y en el punto medio de la valoración tomar el pH como el  $pK'a$ . (5)

2. **Perfiles pH vs. Solubilidad:** Se habla de una reacción similar a la que se lleva a cabo en una titulación, ya que se preparan varias soluciones a diferentes valores de pH y se va agregando el reactivo que da la variación de la solubilidad realizando así un perfil que permite saber cual es el punto medio de la reacción, es decir el 50% de ambas especies y por lo tanto  $pH = pK_a$ .

3. **Espectrofotometría:** Método más adecuado, sencillo y sensible para la determinación del pKa y control de la pureza en fármacos. Una de las muchas razones para ser adecuado es la sensibilidad de la metodología que se encuentra en el intervalo de 1 a 10 µg / mL, el cual es comparable al nivel de concentración de muchos fármacos en muestras biológicas.

La determinación de una constante de equilibrio requiere del cálculo de las concentraciones de equilibrio de los reactivos por análisis directo o por análisis combinado, con el conocimiento de la estequiometría de la reacción. Esta es una técnica de la aplicación de la Ley de Beer .

Debido a la gran sensibilidad del análisis espectral, se utilizan concentraciones muy bajas del ácido y su base conjugada. Se controla el pH añadiendo una solución amortiguadora y la contribución de éste a la fuerza iónica es capaz de lograr que los coeficientes de actividad difieran de la unidad. (5). En este caso se utilizó la espectrofotometría, debido a la que la solubilidad del clonixinato de lisina es muy baja en medio ácido y por lo tanto imposible determinar su pKa potenciométricamente.

La actividad y la concentración de un soluto, están proporcionalmente relacionadas, de forma tal que " f " representa el coeficiente de actividad. El convenio más empleado, define arbitrariamente el valor del coeficiente de actividad a dilución infinita como la unidad; para la mayoría de los casos, cabe considerar como infinitamente diluida, una solución  $1 \times 10^{-4}$ .(5)

El coeficiente de actividad de un soluto depende no sólo de su propia concentración, sino también de las concentraciones de los demás solutos existentes. Así, en la solución infinitamente diluida, la actividad de un soluto coincide con su concentración, mientras que para concentraciones más altas la actividad y la concentración acostumbran a diferir en forma no directa (5).

$$\log f \pm 0.512 Z_A Z_B \left\{ \left[ \frac{(\mu)^{1/2}}{1 + (\mu)^{1/2}} \right] - 0.2 \mu \right\}$$

Donde: f = Constante de proporcionalidad

Z<sub>A</sub> y Z<sub>B</sub> = Carga de anión y catión.

µ = Fuerza iónica

---

---

### Consideraciones sobre la actividad ( 5 ).

1. La actividad de un soluto en la solución infinitamente diluida, coincide con la concentración molar del soluto. A concentraciones finitas, la actividad difiere de la concentración.
  2. La actividad del disolvente, es igual a su fracción molar  $N$ , donde  $N$  es la relación entre el número de moles del disolvente y el número total de moles. La fracción molar del disolvente puro es 1.
  3. La actividad de un gas, equivale a su presión parcial en atmósferas.
  4. La actividad de un sólido es 1. Por este motivo, la concentración de la fase sólida no figura en la expresión del producto de solubilidad.
- 
-

## Espectrofotometría U.V. - Visible.

Durante muchos años los químicos han utilizado el color de las sustancias químicas para su identificación. La espectrofotometría se puede considerar como una extensión de ésta identificación visual; donde, un estudio más detallado de la absorción de energía radiante por las especies químicas permite una mayor precisión en su caracterización y en su cuantificación.(7,19)

Los espectros de absorción se pueden obtener utilizando muestras que están en diversas formas: gases, películas delgadas de algún líquido, soluciones en varios solventes e incluso sólidos. (7)

Todas las moléculas pueden absorber radiación en la región UV - Visible debido a que tienen electrones compartidos y sin compartir, que se puede excitar a niveles de energía más elevados. Las longitudes de onda a las que ocurre la absorción dependen de la fuerza con la que están unidos los electrones a la molécula. Los electrones de un enlace covalente sencillo están unidos fuertemente y para su excitación se necesita radiación de alta energía, o de longitud de onda corta. (19)

Los electrones de los enlaces dobles o triples se excitan con mayor facilidad hasta los orbitales  $\pi$  más elevados. En las moléculas conjugadas (aquellas que contienen una serie de dobles enlaces alternados), la absorción se traslada hacia longitudes de onda más largas. Estas moléculas se pueden representar escribiendo las estructuras de resonancia, que nos dicen que los electrones se encuentran más deslocalizados que si pertenecieran a un enlace simple. El traslado hacia longitudes de onda más largas, refleja el hecho de que un electrón que se encuentra en un sistema conjugado, está unido con menor fuerza que aquel que está en un sistema no conjugado.(5, 7, 19)

La espectrofotometría de absorción ha sido vanguardista en el análisis de fármacos durante 25 años. Esta técnica es aceptada ampliamente sobre otras técnicas analíticas, debido a factores como; rapidez, selectividad, sensibilidad y especificidad. (7)

---

---

---

La metodología de la espectrofotometría clásica, se basa en la absorción de energía radiante a partir de la región ultravioleta (UV) o visible (Vis), del espectro electromagnético por moléculas orgánicas ( fármacos y metabolitos ) e inorgánicas.(19)

La interacción de la materia con la energía radiante a partir de alguna región del espectro electromagnético, es la base de un ensayo espectrofotométrico.

La energía de radiación es de naturaleza dual, ésta puede ser percibida a través del espacio con un movimiento ondulatorio o como onda corriente de partículas (fotones) viajando a la velocidad de la luz. (19)

La propiedad de una partícula de energía en forma de fotones (paquetes de energía discreta ), ayuda a entender esta interacción con la materia.

La interacción de la energía con los átomos, es el resultado de procesos de emisión y absorción. Ésta puede ser percibida como cada uno de los viajes a través del espacio con un movimiento ondulatorio o como una corriente de partículas (fotones), viajando a la velocidad de la luz. La propiedad de la onda ayuda a entender como la energía puede ser refractada, reflejada o difractada. (19)

La radiación en forma de onda es medida en término de longitud de onda ( $\lambda$ ) y frecuencia ( $\nu$ ). En el caso de la energía UV y Visible antes mencionados, el término de longitud de onda es más frecuentemente usado y reportado en nanómetros (nm).(5,19)

Las regiones del espectro electromagnético UV- Vis. Son longitudes de onda en los rangos de 10 a 380 nm y de 380 a 750 respectivamente. Sin embargo, cerca de los 200nm es una absorción significativa para muchos solventes y sustancias gaseosas tales como el oxígeno.(19)

---

---

**Figura 3. Espectro electromagnético.(19)**

El intervalo completo de radiaciones se denomina espectro electromagnético.

La interacción de la energía con los átomos, es el resultado de procesos de emisión y absorción. Los grupos funcionales y clase de moléculas, tienen características de absorción que se han establecido por trabajos experimentales. Los datos más útiles que se pueden obtener a partir del espectro de absorción, son las posiciones de los máximos de banda, la intensidad de absorción expresada usualmente como la absorptividad molar en el máximo de banda puede ser útil también. Esa información espectral sirve para ayudar a identificar a un compuesto estableciendo la presencia o ausencia de grupos funcionales y sus posiciones relativas en las moléculas.(19)

### **Espectrofotómetro como un instrumento de medición.**

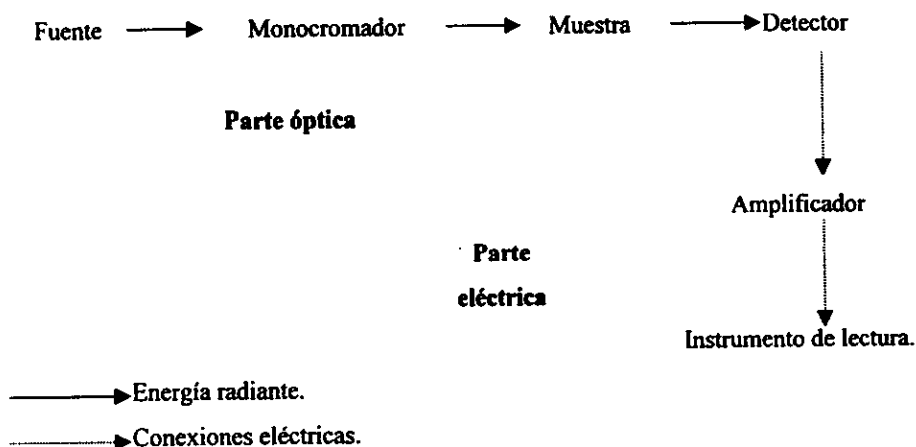
Los espectrofotómetros pueden ser clasificados como manuales o de registro, de haz simple o doble. Generalmente los instrumentos de un solo haz se operan en forma manual y los instrumentos de doble haz poseen un registrador automático, aunque también algunos de haz simple lo poseen.

Alternativamente, pueden clasificarse basándose en la región espectral, hablando de espectrofotómetro infrarrojo o UV-Visible. El instrumento que se utilizó para la determinación del coeficiente de reparto fué un espectrofotómetro Beckman DU 64 de haz simple.(7)

### Componentes de un espectrofotómetro de haz simple: (7)

1. Una fuente de energía radiante continua que cubre la región del espectro en la cual opera el instrumento.
2. Un monocromador, que es una parte del instrumento que aísla una banda angosta de longitud de onda de todo el espectro, emitido por la fuente.
3. Un recipiente para colocar la muestra.
4. Un detector, que es un transductor que convierte la energía radiante en una señal eléctrica.
5. Un amplificador y un circuito asociado que traduce la señal eléctrica a la lectura apropiada.
6. Un sistema de lectura de la medición que pone de manifiesto la magnitud de la señal eléctrica.

Figura 4. Componente del espectrofotómetro de haz simple. (7)





# Capítulo 2

# Metodología

---

---

Para la determinación experimental tanto del pKa como del  $K_D$  se realizó el siguiente procedimiento que se describe a continuación.

## A. Determinación del pKa.

Para hacer la determinación experimental de la constante de acidez y la determinación del coeficiente de reparto, fue necesario hacer una preparación de muestras. A continuación se describe detalladamente el procedimiento de preparación de las muestras.

### Preparación de la muestra del pKa.

1.- Se prepararon por triplicado muestras de Clonixinato de Lisina a una concentración  $1 \times 10^{-4}$  que se prepararon de la siguiente manera:

- a. Clonixinato de lisina  $1 \times 10^{-3}$  M, se preparó con un estándar donado por laboratorio Grossman, se pesaron 0.1021g de clonixinato de lisina y se llevó a un aforo de 25 mL; se tomó una alícuota de 20 mL y se llevó a un aforo de 200 mL, con agua destilada, hervida y fría, para obtener una concentración final de  $1 \times 10^{-3}$  M.
- b. Solución amortiguadora de fosfatos 0.2 M, los reactivos utilizados fueron de marca Baker Analyzed reactivo.

Peso molecular de  $K_2HPO_4 = 228.23$  g / mol

Peso molecular de  $KH_2PO_4 = 136.1$  g / mol

Peso molecular de  $K_3PO_4 = 248.3$  g / mol

Peso molecular de  $H_3PO_4 = 97.99$  g / mol

Densidad de  $H_3PO_4 = 1.83$  g / mL

Pureza de  $H_3PO_4 = 86.1\%$

Tabla 9. Preparación de las soluciones amortiguadoras.

pH final	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> Concentrado	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	K <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>
3.5	0.02 mL	1.0955 g		
4.0	0.34 mL	0.0023 g		
4.5	0.34 mL	0.0057 g		
5.0	0.34 mL	0.0057 g		
5.5	0.33 mL	0.0228 g		
6.0	0.32 mL	0.0684 g		
6.5	0.30 mL	0.1882 g		
7.0	0.21 mL	0.4393 g		
7.5	0.11 mL	0.7588 g		
8.0			0.0918 g	1.0738 g
8.5			0.0306 g	1.1857 g
9.0			0.0102 g	1.2228 g

Todos fueron preparados el mismo día. Se ajustó el pH y se llevaron a un aforo final de 50mL con agua destilada hervida y fría.

c. Las soluciones se prepararon por triplicado para cada uno de los pH's escogidos.

## 2.- Estabilizar la fuerza iónica con solución de KCl<sup>d</sup> 3.5 M

d. Solución de KCl 3.5 M, el reactivo utilizado marca Mallinckrodt Analytica Reagent, se preparó de la siguiente manera: se pesaron 517.1g de KCl y se llevaron a un aforo de 2 L con agua destilada, hervida y fría. Para cada solución se controló la fuerza iónica según la tabla No. 1

Peso molecular del KCl = 74. 55g/ mol

Pureza del KCl = 100.18%

## 3.- Preparar sus respectivos blancos con clorhidrato de lisina $1 \times 10^{-4}$ , bajo las mismas condiciones de cada muestra.<sup>e</sup>

e. Para cada pH se preparó su respectivo blanco con clorhidrato de lisina  $1 \times 10^{-3}$  M en las mismas condiciones que para las muestras.

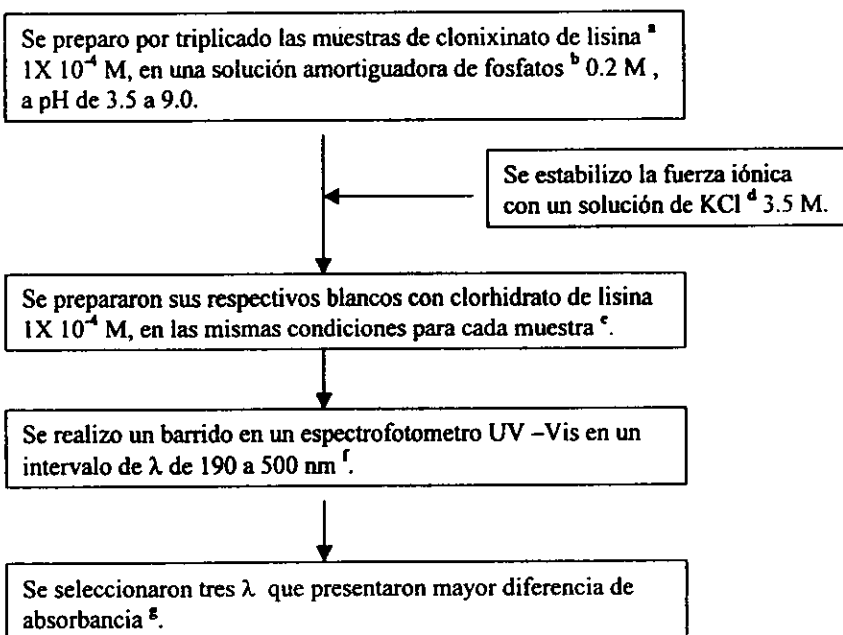
4.- En un espectrofotómetro UV-Vis realizar barrido en un intervalo de longitud de onda de 190 a 500 nm,  $T = 25^{\circ}\text{C}$ .<sup>f</sup>

f. Se utilizó un espectrofotómetro HP 845 UV -Vis. A una temperatura de  $25 \pm 0.1^{\circ}\text{C}$ .

5.- Seleccionar las tres longitudes de onda en donde se haya presentado mayor diferencia de absorbancia.<sup>g</sup>

g. Se preparó el blanco con agua destilada hervida y fría, a partir de una sustancia estándar de clorhidrato de lisina. Se pesaron 0.0182g y se llevó a un aforo de 50 mL, se tomó una alícuota de 5 mL y se llevó a un aforo de 50 mL para tener una concentración final de  $1 \times 10^{-4}\text{ M}$ . Peso molecular del clorhidrato de lisina 182.5g / mol.

### DIAGRAMA 1. Preparación de la muestra del pKa



Las  $\lambda$  que presentaron mayor diferencia entre ellas se seleccionaron a 252, 282 y 325 nm, de ellas se tomaron los valores de absorbancias a cada pH y se graficaron en función de las absorbancias.

**Tabla 1.-Preparación de muestras para los estudios de pKa del Clonixinato de Lisina.**

No. Solución.	Clonixinato de lisina $1 \times 10^{-4}$ M (mL)	Solución amortiguadora de fosfatos. 0.2 M (5 mL)	Solución KCl 3.5 M (mL)	Fuerza iónica.	pH final.	Coefficiente de actividad $f_{\pm}$
1	5	pH 3.5	37	3.224	3.5	1.0
2	5	pH 4.0	37	3.794	4.0	1.1
3	5	pH 4.5	37	3.797	4.5	1.1
4	5	pH 5.0	29	3.197	5.0	0.9
5	5	pH 5.5	29	3.188	5.5	0.9
6	5	pH 6.0	29	3.164	6.0	0.9
7	5	pH 6.5	30	3.201	6.5	1.0
8	5	pH 7.0	32	3.169	7.0	0.9
9	5	pH 7.5	34	3.201	7.5	0.9
10	5	pH 8.0	30	3.165	8.0	0.9
11	5	pH 8.5	30	3.255	8.5	1.0
12	5	pH 9.0	30	3.285	9.0	1.0

Las muestras se llevaron a un aforo final de 50 mL con agua destilada hervida y fría, para obtener una concentración final de  $1 \times 10^{-4}$  M de clonixinato de lisina estas fueron preparadas por triplicado, al mismo tiempo se prepararon sus respectivos blancos con clorhidrato de lisina  $1 \times 10^{-3}$  M, preparados en las mismas condiciones que sus respectivas muestras.

## **B. Determinación del coeficiente de reparto.**

Para la determinación del coeficiente de reparto fue necesario el preparar una curva patrón para poder interpolar los valores obtenidos en la determinación de  $K_d$

### **Preparación de la muestra de coeficiente de reparto.**

1.- Colocar volúmenes iguales de clonixinato de lisina  $1 \times 10^{-4} \text{ M}^1$  en agua y de n-octanol<sup>m</sup>, se prepararon por triplicado (Tabla 2).

h. Clonixinato de lisina  $1 \times 10^{-4} \text{ M}$ . Se pesaron 0.0204 g y se llevaron a un aforo de 50 mL con agua destilada. Se tomó una alícuota de 5 mL y se llevaron a un aforo de 50 mL.

i. Octanol

2.- Agitar las muestras por 30 minutos a una temperatura de  $25 \pm 0.1^\circ\text{C}^n$  en un baño con agitación y temperatura controlada.<sup>o</sup>

j. Referencia bibliográfica No. 8. Pagina 48.

k. La temperatura se controló con un termómetro calibrado y una velocidad de agitación de 60rpm

3.- Separar la fase acuosa de cada muestra y leer a una longitud de onda de 282 nm.<sup>p</sup> Utilizar como blanco una solución de clorhidrato de lisina  $1 \times 10^{-4} \text{ M}^q$

l. Es donde se determinó un valor alto de absortividad de la muestra

m. Preparado en las mismas condiciones que la muestra.

**DIAGRAMA 2. Preparación de la muestra de coeficiente de reparto.**

Colocar volúmenes iguales de clonixinato de lisina  $1 \times 10^{-4} \text{ M}^h$  en agua y de n-octanol<sup>i</sup>, se prepararon por triplicado (tabla 2).



Agitar las muestras por 30 min a una temperatura de  $25 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}^j$ , en un baño con agitación y temperatura controlada<sup>k</sup>.



Separar la fase acuosa de cada muestra y leer a una longitud de onda de  $282 \text{ nm}^l$ . Utilizar como blanco una solución de clorhidrato de lisina  $1 \times 10^{-4} \text{ M}^m$ .

Tabla 2. Preparación de muestras  $K_D$ .

No. muestra.	Clonixinato de Lisina $10^{-4}$ M	Alcohol n-octílico.
1	15 mL	15 mL
2	15 mL	15 mL
3	15 mL	15 mL

Al mismo tiempo se preparó un blanco con Clorhidrato de Lisina  $1 \times 10^{-4}$  M, a las mismas condiciones que las muestras.

Esto se realizó en un pH de 6.5 ( en agua destilada, hervida y fría) y un pH 7.4 (solución amortiguadora de fosfatos).

### **Preparación de la curva patrón del coeficiente de reparto.**

1.- Preparar una solución de clonixinato de lisina  $1 \times 10^{-4}$  M y realizar un barrido de 200 a 350 nm, en un espectrofotómetro de UV-Vis. <sup>b</sup>

n. El espectro utilizado fue un Beckman Du 64 UV - Vis.

2.- Preparar blanco de solución de clorhidrato de lisina  $1 \times 10^{-4}$  M. <sup>i</sup>

o. La solución de clorhidrato de lisina se preparó a partir de una sustancia estándar y se preparó con agua destilada hervida y fría.

3.- Preparar una curva patrón de clonixinato de lisina a las siguientes concentraciones:

$1 \times 10^{-4}$  M,  $5 \times 10^{-5}$  M,  $1 \times 10^{-5}$  M y  $5 \times 10^{-6}$  M. <sup>j</sup>

p. La curva patrón se preparó con agua destilada y se leyó 3 veces. Se preparó pesando, 0.0182 g de clorhidrato de lisina, llevando a un aforo de 50 mL (conc.  $1 \times 10^{-3}$  M) con agua destilada, de esta se tomó una alícuota de 5mL y se llevaron a un aforo de 50



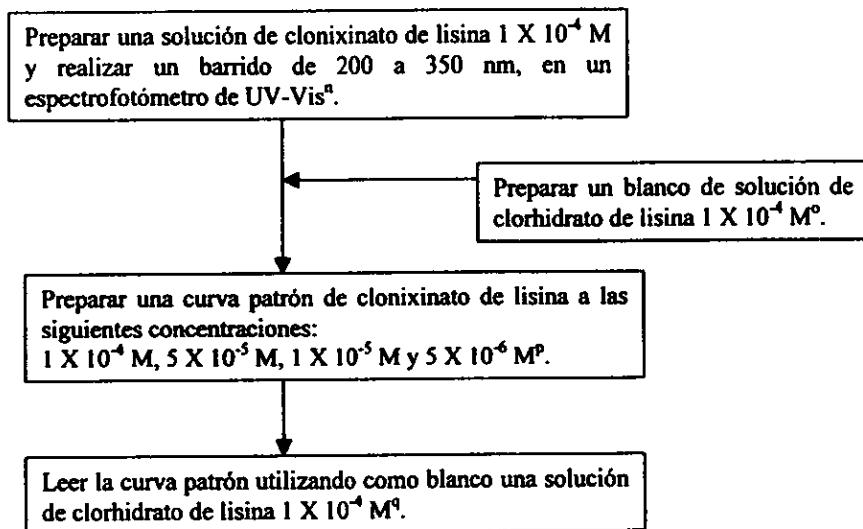
mL (conc.  $1 \times 10^{-4}$  M) con agua destilada, de ésta se tomó una alícuota de 5 mL y se llevaron a un aforo de 50 mL

(conc.  $1 \times 10^{-5}$  M) de agua destilada, de ésta se tomó una alícuota de 25 mL y se llevaron a un aforo de 50 mL (conc.  $1 \times 10^{-6}$  M) con agua destilada. Para preparar la conc. de 5E - 5, se tomaron 25 mL de la solución de concentración  $1 \times 10^{-4}$  M, y se llevaron a un aforo de 50 mL.

4.- Leer la curva patrón utilizando un blanco de solución de clorhidrato de lisina  $1 \times 10^{-4}$  M.

q. El blanco, se preparó pesando 0.0182 g de clorhidrato de lisina y se llevaron a un aforo de 50 mL (conc.  $1 \times 10^{-4}$  M) con agua destilada en las mismas condiciones que la curva patrón.

### DIAGRAMA 3. Preparación de la curva patrón del coeficiente de reparto.



**Capítulo 3**  
**Resultados**

---

---

Determinación de la constante de acidez.

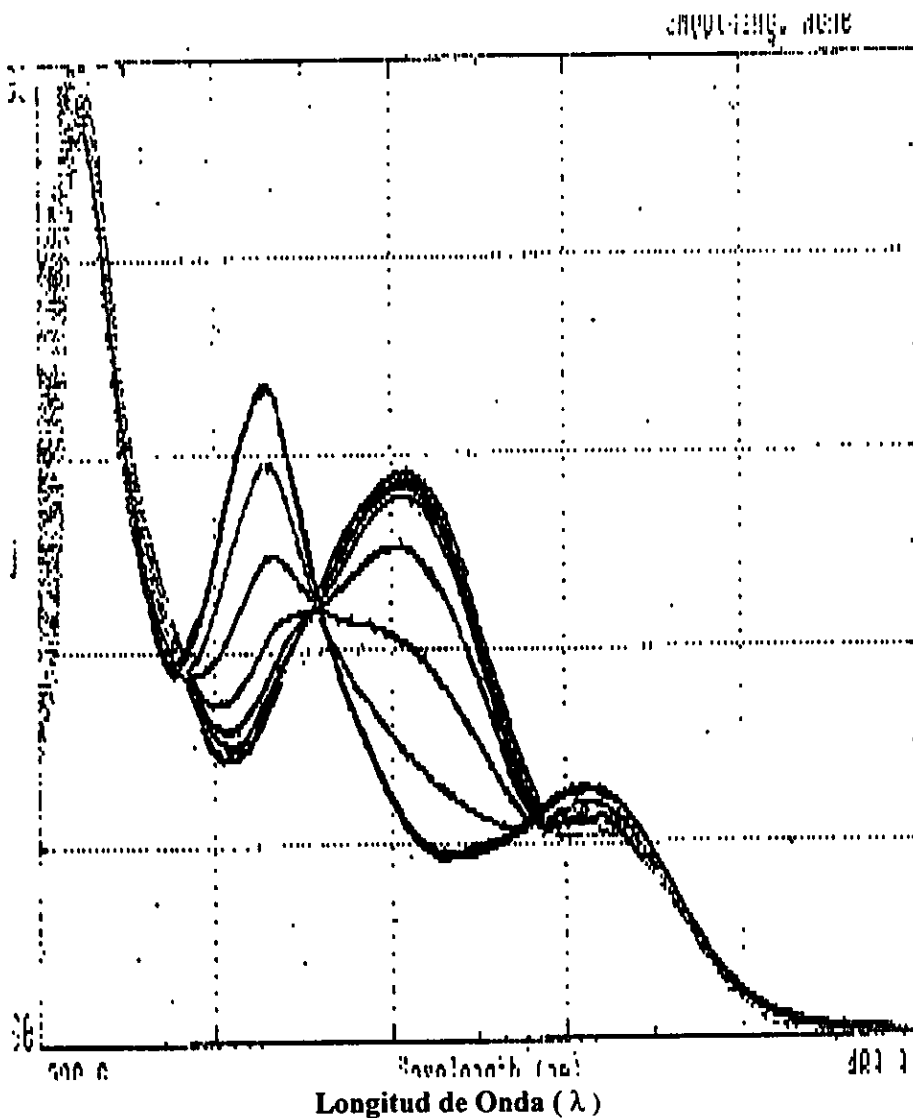
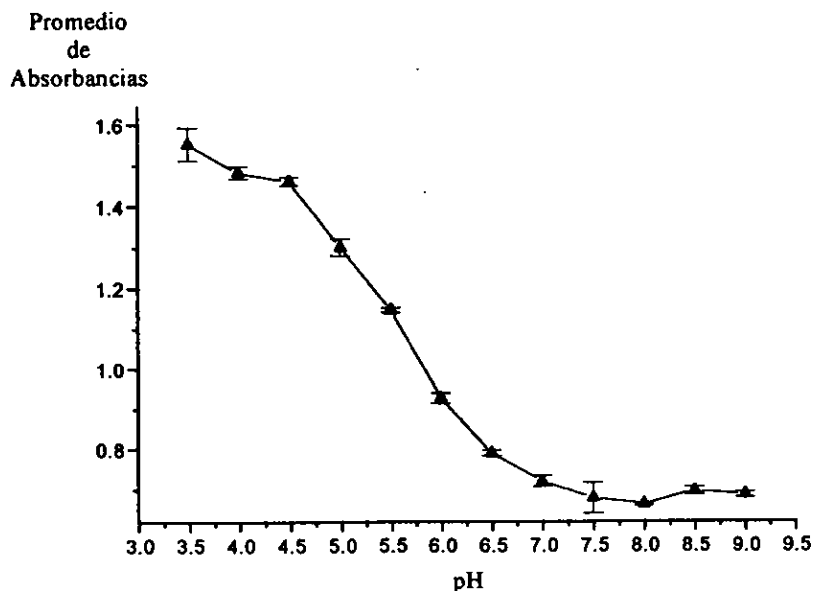


Figura 1. Espectro de muestras de Clonixinato de Lisina a diferentes pH's.

Los resultados de los valores de absorbancia se tomaron a 252 nm, por la diferencia de absorbancia a esa longitud de onda cada muestra se hizo por triplicado, se pueden ver los resultados en la tabla 3 y en la figura 2 se observa su respectiva gráfica Abs. vs. pH.

**Tabla 3.** Promedio de la muestra de Clonixinato de Lisina a 252nm.

pH	Promedio de absorbancias a 252nm.	Desviación estándar.	% C.V.
3.5	1.55382	0.04011	4.01
4	1.48369	0.01431	1.43
4.5	1.46231	0.01004	1.00
5	1.30289	0.0212	2.12
5.5	1.14786	0.00509	0.50
6	0.92794	0.01283	1.28
6.5	0.79115	0.0068	0.68
7	0.72204	0.01413	1.41
7.5	0.6794	0.03902	3.90
8	0.66399	0.00395	0.39
8.5	0.69709	0.0096	0.96
9	0.68808	0.0066	0.66



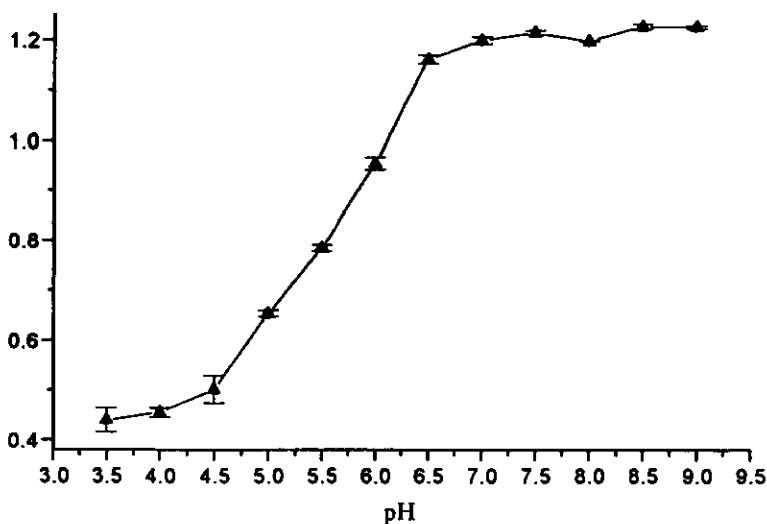
**Figura 2.** Gráfica de Absorbancia vs. pH a 252 nm.  
( Valores promedios )

Los resultados de los valores de absorbancia se tomaron a 282 nm, por la diferencia de absorbancia a esa longitud de onda cada muestra se hizo por triplicado, se pueden ver los resultados en la tabla 4 y en la figura 3 se observa su respectiva gráfica Abs. vs. pH.

**Tabla 4.** Promedio de la muestra de Clonixinato de Lisina a 282nm.

pH	Promedio de absorbancias a 282 nm.	Desviación estándar.	% C.V
3.5	0.44047	0.02404	5.45
4	0.45636	0.00905	1.98
4.5	0.50244	0.02701	5.37
5	0.65474	0.00615	0.93
5.5	0.78544	0.00615	0.78
6	0.9571	0.01322	1.38
6.5	1.16419	0.0082	0.70
7	1.20084	0.00615	0.51
7.5	1.2164	0.00396	0.32
8	1.20035	2.12132E-4	0.01
8.5	1.22934	0.00516	0.41
9	1.2283	0.00368	0.29

Promedio  
de  
Absorbancias.

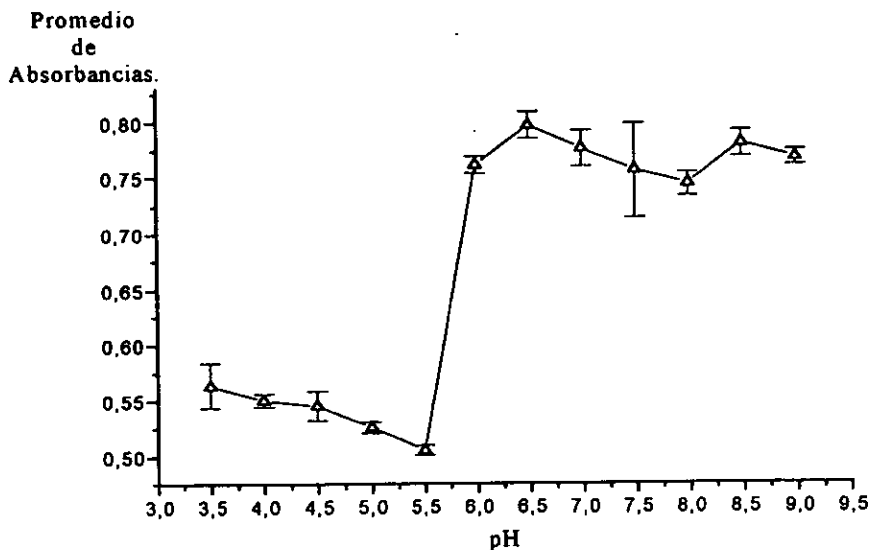


**Figura 3.** Gráfica de Absorbancia vs. pH a 282 nm.  
(Valores promedio).

Los resultados de los valores de absorbancia se tomaron a 325 nm, por la diferencia de absorbancia a esa longitud de onda cada muestra se hizo por triplicado, se pueden ver los resultados en la tabla 5 y en la figura 4 se observa su respectiva gráfica Abs. vs. pH.

**Tabla 5.** Promedio de la muestra de Clonixinato de Lisina a 325nm.

pH	Promedio de Absorbancias a 325 nm.	Desviación estándar.	% C.V.
3,5	0,5642	0,01999	3.54
4	0,55105	0,00595	1.08
4,5	0,54609	0,01316	2.41
5	0,52655	0,00515	0.97
5,5	0,50602	0,00449	0.88
6	0,76187	0,00771	1.01
6,5	0,79724	0,01166	1.46
7	0,77648	0,01636	2.10
7,5	0,75701	0,04192	5.53
8	0,74462	0,01021	1.37
8,5	0,781	0,01204	1.54
9	0,76805	0,00675	0.87

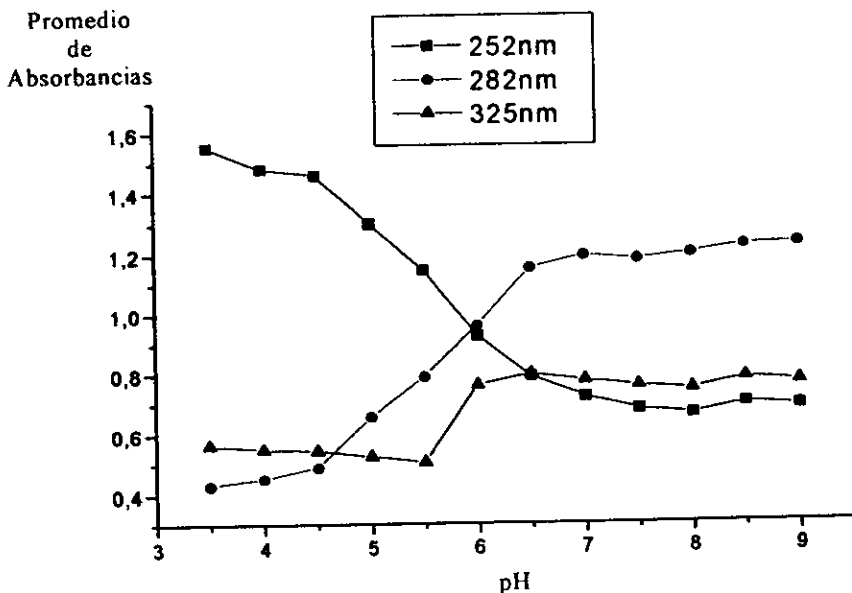


**Figura 4.** Gráfica de Absorbancia vs. pH a 325 nm.  
( Valores promedio ).

De acuerdo a los valores obtenidos de las figuras 2, 3 y 4 se consideró el observar las tres figuras juntas para analizarlas y tratar de obtener una mejor perspectiva de lo que se obtuvo.

**Tabla 6.** Promedio de absorbancia de Clonixinato de Lisina a 252, 282 y 325nm.

pH	Promedio de absorbancias a 252nm.	Promedio de absorbancias a 282nm.	Promedio de absorbancias a 325nm.
3,5	1,55417	0,4315	0,56443
4	1,48373	0,45417	0,55107
4,5	1,46233	0,4912	0,5462
5	1,303	0,6591	0,52657
5,5	1,14787	0,79013	0,50603
6	0,928	0,96273	0,7619
6,5	0,79117	1,15383	0,7973
7	0,72213	1,19427	0,7766
7,5	0,68017	1,18153	0,7578
8	0,664	1,2008	0,74467
8,5	0,69713	1,22563	0,78107
9	0,6881	1,2309	0,76807



**Figura 5.** Gráfica de Absorbancia vs. pH a 252, 282 y 325 nm.  
( Valores promedio )

El valor de la constante de acidez se calculó de 2 formas:

1. Por medio del cálculo de las pendientes:
2. Por el método de la primera derivada:

1. **Cálculo de las pendientes;** en las gráficas de promedios vs. pH a 252, 282 y 325 nm, se realizó en forma manual y se obtuvieron los siguientes valores de pH:

Longitud de onda	Valor de pKa
252nm	5.625
282nm	5.50
325nm	5.75

X = 5062
D.S. = 0.125
C. V. = 2.222%

**Cálculo en la gráfica por pendientes.**

$$\text{pKa} = 5.625 \pm 0.3105$$

2. **Por el método de la primera derivada;** Por medio de la gráfica de la primera derivada, se obtuvieron los valores de pKa, a las longitudes de onda correspondientes obteniendo los siguientes resultados:

Longitud de onda	Valor de pKa
252nm	5.5 + 0.0
282nm	5.5 + 0.0
325nm	valores no definidos.

X = 5.5
D.S. = 0.0
C. V. = 0%

Calculo por el método de la primera derivada

$$\text{pKa} = 5.5 \pm 0.0$$



---

---

**Análisis estadístico.**

Intervalo de confianza de 95% (26, 27):

$$\alpha = 5\% = 0.05.$$

$$\nu = 2$$

$\nu = n - 1$  grados de libertad

$n =$  número de muestras

$$S = 0.1250$$

$$\bar{X} = 5.625$$

$$t = 4.303$$

$$\bar{X} \pm t \frac{\alpha/2}{\sqrt{n}} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$$5.625 \pm 4.303 * 0.0721$$

$$5.625 \pm 0.3105$$

**Por lo tanto:**  $5.3145 < \mu < 5.9355$

Para el cálculo obtenido por el método de las pendientes en la gráfica tenemos que:

$$pK_a = 5.625 \pm 0.3105$$

---

---

## 2.Determinación del coeficiente de reparto.

Para determinar la concentración de cada una de las fases en la determinación del coeficiente de reparto se preparó una curva patrón cuyos resultados de absorbancia y validación se muestran en la tabla 7 y su gráfica correspondiente en la figura 6 donde se observa la linealidad.

Los resultados de absorbancia y concentración de las muestras en cada una de las fases se muestra en la tabla 8.

De acuerdo con lo revisado en los antecedentes, las siguientes absorbancias se obtuvieron de la fase acuosa ( en agua destilada con pH 6.5 ) para cada una de las muestras y se leyeron tres veces con un blanco de clorhidrato de lisina  $1 \times 10^{-4}$  M, preparado en las mismas condiciones que la muestras. La longitud de onda máxima a la que se leyeron las muestras fue de 282nm.

**Tabla 7.** Resultados de curva patrón del coeficiente de reparto de Clonixinato de lisina en agua destilada ( pH 6.5 ).

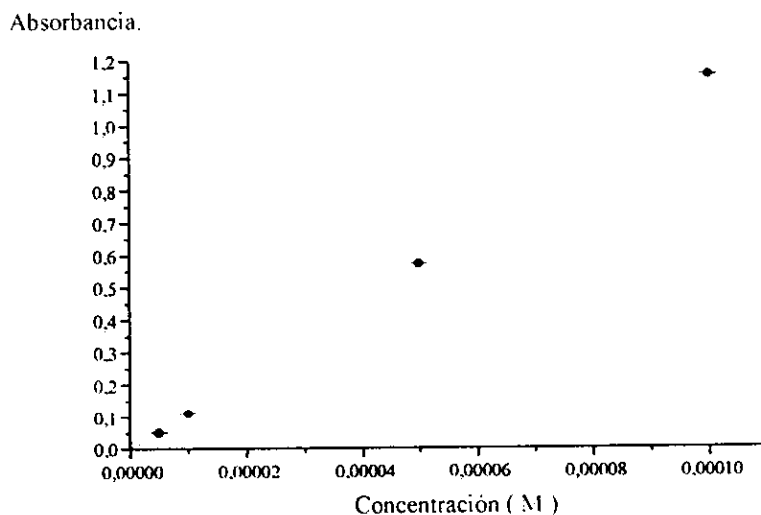
Concentración de la muestra clonixinato de lisina en agua.	Promedio de absorbancias de las tres lecturas.	Desviación estándar	C.V %
0	0	0.0	0
$5 \times 10^{-6}$	0.0530	0.0004	0.754
$1 \times 10^{-5}$	0.1143	0.0002	0.174
$5 \times 10^{-5}$	0.5750	0.0002	0.034
$1 \times 10^{-4}$	1.1553	0.0003	0.025

$b = - 0.002$
---------------

$m = 1.15 \times 10^{-4}$
---------------------------

$r = 0.9999$
--------------

Se realizó una curva patrón para interpolar los valores obtenidos de las muestras trabajadas.



**Figura. 6.** Curva Patrón de Clonixinato de Lisina.

Por medio de la siguiente fórmula se obtuvieron los resultados de la tabla 8.

$$K_D = \text{Fase Orgánica} / \text{Fase Acuosa.}$$

**Tabla 8.** Resultados de las muestras de Clonixinato de Lisina (pH 6.5 en agua)

Muestra No	Absorbancias.	Concentración de la fase acuosa.	Concentración de la fase orgánica.	Coefficiente de reparto $K_D$
1	0.826	$2.75 \times 10^{-5} \text{ M}$	$7.25 \times 10^{-5} \text{ M}$	2.636
2	0.774	$2.55 \times 10^{-5} \text{ M}$	$7.45 \times 10^{-5} \text{ M}$	2.921
3	0.862	$2.84 \times 10^{-5} \text{ M}$	$7.16 \times 10^{-5} \text{ M}$	2.521

$$X = 2.692$$

$$D.S. = 0.2059$$

$$C.V. = 7.6485 \%$$

**Análisis Estadístico.**

Intervalo de confianza del coeficiente de reparto ( $K_D$ ) 95% (26, 27):

$$\alpha = 5\% = 0.05.$$

$$\nu = 2$$

$$\nu = n - 1 \text{ grados de libertad}$$

$$n = \text{número de muestras}$$

$$S = 0.2059$$

$$\bar{X} = 2.692$$

$$t = 4.303$$

$$\bar{X} \pm t \frac{\alpha/2}{\sqrt{n}} \frac{S}{\sqrt{n}}$$

$$2.692 \pm 4.303 * 0.1188$$

**Por lo tanto :  $2.1808 < \mu < 3.2032$**

$$\mathbf{K_D = 2.69 \pm 0.5112}$$

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA

## Capítulo 4

# Análisis de Resultados

---

---

---

---

### 1. Determinación del pKa.

En el barrido que se le realizó a todas las muestras, se observaron tres longitudes de onda máxima a (210, 280 y 325 nm), que fue donde se observó la mayor diferencia de absorbancia de luz UV a la sustancia y donde a cada solución de pH se determinó su respectivo valor de absorción, para así posteriormente poder determinar su valor de pKa.

En las curvas de datos promedio de absorbancia vs. pH para las tres longitudes de onda diferentes (252, 282 y 325 nm), puede observarse una tendencia de curvas sigmoideas, que nos permiten observar el comportamiento de cambio de las especies de acuerdo con las variaciones de pH que se fueron realizando, lo que permitió hacer el cálculo del pKa, tanto por el método de las pendientes (directamente en las gráficas), así como para el método de la primera derivada.

El valor de pKa, se calculó de dos formas:

- a. **Por medio del cálculo de las pendientes;** que se realizó en forma directa en las gráficas correspondientes a las diferentes longitudes de onda, determinadas obteniendo los valores promedio de ( 5 )

$$\text{pKa} = 5.625 \pm 0.3105$$

- b. **Por el método de la primera derivada;** se obtuvo el siguiente resultado:

$$\text{pKa} = 5.5 \pm 0.0$$

Otra forma de poder corroborar el valor del pKa, es por medio del traslape de las tres longitudes de onda para observar un cruce de estas curvas (punto isobéptico), el punto donde se cruzan se interpola al eje de las X's para determinar el valor de pH, donde las especies en ese punto están al equilibrio (50% cada una), dando como consecuencia el valor del pKa, según la fórmula de Henderson - Hasselbach.

La curva promedio (gráfica No. 5) obtenida a 325 nm tiene un comportamiento en los primeros valores de pH semejante a la curva obtenida a 282 nm pero llegando a un valor de pH de 6.5 se comporta como la curva de 252 nm. No sin dejar evidente un cambio de

---

---

pendientes en la región de pH de 5.5 unidades, que nos habla del cambio de especies presentes, que evidencia de alguna manera la presencia del pKa en 5.5

Descartando la curva a 325 nm el punto de cruce de ambas gráficas ( 252 y 282 nm), nos da un valor de 6.0, que no está muy alejado de los valores obtenidos por los otros dos métodos gráficos, lo que corrobora nuestros resultados.

Con los valores obtenidos se hicieron los cálculos estadísticos siguientes :

- Promedio
- Desviación estándar
- Coeficiente de variación.

Por otra parte los valores estadísticos que se obtuvieron ( $r = 0.999$  y  $r^2 = 0.999$  ) para la exactitud en la determinación del pKa están dentro del criterio para métodos espectrofotométricos ( $r \geq 0.99$  y  $r^2 \geq 0.98$  ), lo que nos asegura confiabilidad del valor obtenido experimentalmente.

## 2.Determinación del coeficiente de reparto.

De acuerdo a lo que se revisó en los antecedentes, las siguientes absorbancias se obtuvieron de la fase acuosa a un pH de 6.5 (en agua destilada) de cada muestra y se leyeron con un blanco de clorhidrato de lisina  $1E-4$  M preparada en las mismas condiciones que las muestras. La longitud de onda máxima a la que se leyeron las muestras fue de 282nm. El criterio de selección fue de acuerdo a la absortividad molar de cada longitud de onda y a la menor interferencia de las otras especies en solución:

Longitud de onda $\lambda$ ( nm)	Absortividad molar A (Lcm <sup>2</sup> /mol )
210	20630
252	10600
282	12190
325	5870

**Capítulo 5**  
**Conclusiones**

---

---



## 1. Determinación del pKa.

A una longitud de onda de 282nm se tiene menos probabilidad de interferencia, debido a que a esta longitud de onda, la absorción de los otros compuestos de la solución se manifiestan y no permiten ver los valores en una forma clara. Además se tiene una absorptividad molar  $A = 12190 \text{Lcm}^2 / \text{mol}$ , que permitió realizar las determinaciones con valores de absorbancia aceptables para las muestras.

Por lo tanto a 282nm fue la longitud de onda máxima a la que se leyeron los resultados, esperando poder eliminar así la mayoría de las posibles fuentes de error en nuestra determinación de la constante de acidez ( pKa )

Por otra parte, los valores estadísticos que se obtuvieron en forma experimental (C.V.= 2.2% ) para determinar la exactitud en la determinación del pKa, está dentro del criterio de aceptado teóricamente (C.V < 3 % ) para métodos espectrofotométricos, lo que nos permite asegurar la concordancia entre el resultado analítico y el valor verdadero es decir, la determinación cumple con los requisitos para la validación de métodos analíticos referidos a la exactitud.

## 2. Determinación del coeficiente de reparto.

Podemos observar que de acuerdo con las guías de validación ( 27 ), los criterios de linealidad para una curva patrón para los métodos espectrofotométricos son:

Criterio de Linearidad del Sistema:

$$r \geq 0.99$$

$$r^2 \geq 0.98$$

La curva patrón que se preparó a un valor de pH de 6.5 (en agua), proporcionó los siguientes resultados experimentales.

$$r = 0.9999$$

$$r^2 = 0.9999$$

Por lo tanto, la curva patrón que se preparó a pH 6.5 (en agua ) tienen correspondencia entre los valores de Y y los de X.

Se puede asegurar que los resultados analíticos obtenidos directamente, o bien mediante una transformación matemática bien definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un intervalo ( 27 ) .

Basándonos en la linealidad de la curva patrón, pudimos interpolar los valores obtenidos para cada una de las tres muestras preparadas, para realizar la determinación del coeficiente de partición, ya que se tiene la seguridad de que para cada valor obtenido en el eje de las X's, le correspondió un valor en el eje de las Y's.

En general podemos concluir que uno de los parámetros más importantes de cualquier investigación biofarmacéutica están íntimamente involucrados con las propiedades físicas y químicas del fármaco que se está investigando, esto a su vez está muy ligado al hecho de que para la realización de un desarrollo analítico de una forma farmacéutica, así como la decisión de que un fármaco tenga una determinada forma farmacéutica, se ve sumamente influenciada por los parámetros fisicoquímicos que tenga dicho fármaco. Esto nos lleva a la importancia que tiene la determinación del pKa y del coeficiente de reparto (  $K_D$  ) del Clonixinato de Lisina y que hizo posible el planteamiento y la realización de esta tesis.



1. PLM. Laboratorio Grossman. Clonixinato de Lisina Dorixina .
  2. Ganong F. W. "Fisiología Médica " 12a ed., edit. El Manual Moderno. México, D.F., 1990 pag 95-101, 111-121, 267-271.
  3. Albert, Adien and Serjeant E:P. "The determination of ionization constants"
  4. Williams and Wilkins Co. "Metabolism and Pharmacokinetics of a new nonsteroid, anti-inflammatory agent 2-(3-cloro-o-toluidino)- nicotic-acid (clonixin) in rats , dogs and monkeyes". The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics 1973 New Yersey 11-Oct-72, 453-464 Vol.184 No. 2
  5. Connors K: A: "Curso de análisis farmacéutico" 2ª de. Edit. Reverté S.A. España 1980.
  6. . J.T Edsall, R.B. Hollingsworth. "Ionization of individual groups in dibasic acid with application to the amino and hidroxyl groups of tyrosine". Biological Laboratories. Harvard University. Cambridge Massachusetts. Proc. N.A.S April 28, 1958 Vol.44, pag 505-518.
  7. R.A. Day "Química Analítica Cuantitativa" 5ª de Edit Prentice Hall 1989.
  8. Journal of chromatography, 427 (1988) 55-66. Biomedical Applications. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam. Printer in the Netherlands
  9. Dra. Espejo O. "Analgésicos". Curso cuadro Básico de medicamentos. Agosto 1995.
  10. Goodman and Gilman "Las bases farmacológicas de la terapéutica". 1991 8ª edd .Edit Médica panamericana pag.296,324,588-599,625-627,646,886 y 913.
  11. Dr. Román F. "Innovación y desarrollo farmacéutico". Asociación Farmacéutica Mexicana A.C. 1990 1era.de México, D.,F. pag. 34-69
  12. Sigfried Rhein S.A. de C.V. "1era conferencia internacional sobre el dolor".Relatos. Buenos Aires 1994.
- 
-

- 
- 
13. Dr. Soifer L. "Experiencia con un reciente fármaco analgésico". Orientación Médica. Pag.182 No. 1125 . 6-Junio-1975.
  14. Certificate of analysis. Delmar Chemicals. Inc. "Lysine Clonixinate"
  15. Horwitz A.R. and S.T Liu "Determination of aqueous solubility and pKa values of estrogens". Journal of Pharmaceutical Sciences. Vol. 66, No. 5 May 1977. Pag 624-627.
  16. Index Nominum 1982. Compiled by the laboratory of the Swiss Pharmaceutical Societ Zurich 1982.
  17. Laboratorios Grossman S.A. "Clonixinato de Lisina" Dorixina
  18. Smith V.R. and Sewart T.J. "Textbook of Biopharmaceutic Analysis". Edit Lea and Febiger. Philadelphia 1989.
  19. Cárdenas R. Hilda L. Y Cortés A Alma R. "Aspectos biofarmacéuticos de la evaluación de medicamentos" Libros de texto. 1era. Edición Edit. U.A.M- Xochimilco México 1996.
  20. Jung C.H., Fuentes N.I. y Rodríguez A.M. "Manual de prácticas". Laboratorio de Biofarmacia. Facultad de Química, U.N.A.M.
  21. Montgomery Douglas C "Diseño y análisis de experimentos". 3era edición. Edit. Iberoamericana. U.S.A. 1991.
  22. Walpole R.E. y Myers R.H. "Probabilidad y estadística para ingenieros". 3era. Edición. Edit. Interamericana. México. 1991.
  23. Nuñez M. M. A. "Estudio comparativo de los perfiles de disolución del clonixinato de lisina". Facultad de Química. Químico Farmacéutico Biólogo U.A.V. México 1997
- 
-

24. Soberón M E, González M. N, Valadez E.P. "Validación de métodos analíticos, químicos, biológicos y microbiológicos.". Seminario de Validación en la industria Farmacéutica. Mayo 1994. Asociación Farmacéutica Mexicana. A.C. Sección estudiantil. Facultad de Química U.N.A.M.
25. Guía de validación. Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, México A.C.
26. Caballero Ch. M. V. "Cuantificación de metales pesados (Pb y Cd) en alimentos infantiles envasados". Facultad de Química, U.N.A.M. México D.,F.
- 
-