



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTILÁN**

**DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE ÁCIDA POR EL MÉTODO DE MÍNIMOS
CUADRADOS PARCIALES**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA:

EMMA CRUZ LÓPEZ

ASESOR: QFB. JOSÉ ANTONIO GARDUÑO ROSAS

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX.

2010



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 esta 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.

DEDICATORIAS:

A Dios y a la vida, por haberme permitido llegar a ésta etapa, por ponerme a todas las personas indicadas para lograr mis metas y por alejar a las no indicadas de mi vida.

A Emma Cruz López por la fuerza y el coraje que has tenido para enfrentar los momentos de adversidad, por la dedicación para ir formando día a día la persona que hoy eres. Nunca pierdas tu esencia, ni el interés por aprender cosas nuevas, recuerda que éste sólo es el comienzo y el mundo siempre está cambiando, por lo cual tienes que estar en constante actualización y nunca temas al cambio. Con este trabajo vez culminada la ilusión que empezó cuando eras niña y que lo has hecho realidad con una formulita:

Dedicación + responsabilidad + tolerancia al fracaso + amor y pasión a cada una de tus actividades + tenacidad + perseverancia y finalmente una pizca de sacrificio = Lograr tus metas.

Felicidades Emita es tu primer sueño hecho realidad, sigue esmerándote y poco a poco llegarán los demás.

A mis padres Emma López Rodríguez y Jorge Cruz Rosario por darme la vida, por darme una bonita familia, por su protección, por ser mis guías, por darme su apoyo infinito en mi vida estudiantil y personal, por los consejos precisos en mis momentos de debilidad, pero sobre todo por el amor que solo ustedes saben brindarme. Han sido unos excelentes padres, todo lo que soy se los debo a ustedes, y mi logro también es suyo.

A mi Hermano Jorge Cruz López, que es el mejor regalo que me han dado mis padres, gracias por tu amor, tu amistad, tu apoyo incondicional y por ser mi compañía desde el primer día que llegaste a mi vida.

A la UNAM por ser mi casa de estudios, por el apoyo y las oportunidades que me ha brindado desde que ingrese a ella, por darme mi alma máter, por su historia, pero sobre todo por tatuar su escudo y sus colores en mi mente y corazón.

A la FESC por ser mi hogar por varios años, por las experiencias, por los momentos de adversidad y de dicha vividos en tus instalaciones, por darme la formación académica en la licenciatura que amo y que ejerceré con responsabilidad y ética toda mi vida.

A mi abuelo Macario Cruz, que está en el cielo, por su cariño, por sus palabras de apoyo, porque siempre confió en que terminaría mi licenciatura. Donde quiera que estés sabes que día a día me esfuerzo por llevar tu apellido en alto, como tú lo añorabas.

A mi abuela Petra Rosario, por su cariño, por los recuerdos de la infancia, por su apoyo, y por darme una gran lección de vida.

A mis tíos: Martha López, Fidel, Sergio, Saúl, Luz, Silvina, Isabel, Anselmo, Esperanza por ese cariño que siempre me han otorgado, por el interés a mi persona y por sus consejos de la vida.

A mis primos: Juanita, Irma, José, Sonia, Rocío, Gisela, Saúl, Memo, Mario, Trini, Erasmo y Carina, por su cariño, por sus palabras de apoyo, pero sobre todo por todos los buenos momentos que hemos pasado juntos y que con su compañía siempre me hacen muy feliz.

Al profesor Eduardo (primaria), por haber sembrado en mí la semilla del triunfo, por sus consejos y enseñanzas, por el amor que me inculco al estudio. Por enseñarme que cuando crees perder un anhelo y que hay una injusticia, en realidad no lo perdiste, solo que la vida no te lo da en ese momento, porque hay algo más grande y más valioso para ti, ya que al final la vida siempre es justa.

Al profesor Simón (Secundaria): Por ser mi guía en mi formación media superior y superior, por transmitirme sus vivencias en la UNAM y enseñarme amarla antes de ser parte de ella.

Al Profe. Garduño por ser mi guía en la obtención del título, por enseñarme que de los errores es de lo que más se aprende, por sus valiosos consejos, pero sobre todo por haber contribuido a la confianza y seguridad que hoy tengo en mi vida profesional.

A mi amiga Gabriela Ramírez, por darme a conocer la carrera de QFB, por tu amistad de tantos años, por tu apoyo en las buenas, en las malas y en las peores.

A mí amiga Miriam: Por tantos años de amistad, por todos los recuerdos y vivencias juntas.

A mis amigos: Graciela, Denisse, Jesús y Sarai, por su amistad y apoyo a pesar de la distancia, por todos los buenos momentos.

A mis amigos y Hermanos Qufos: Lizbeth, Miguel, Pamela, Tamara, Fabiola, Carlos, Gaby, Omar, Nelly, Melisa, Baca, Jazmín, Néstor, Emerson, por su amistad, por todos los momentos que vivimos juntos, por el apoyo en momentos de adversidad y de dicha, gracias por haber estado conmigo en el viaje a ser un profesionista, sin ustedes nada hubiera sido igual.

A la Dra. Raquel López y al Profesor Juan José: Por el apoyo de recursos en este trabajo experimental, además por estar siempre al pendiente de sus alumnos, e inculcándonos el hambre de triunfo.

A todos mis profesores, pero en especial a los de la FESC, pues cada uno ha sido importante en mi formación académica, gracias por los conocimientos y experiencias brindadas.

A mis todos mis compañeros de licenciatura por las vivencias, por el apoyo y por todo lo que aprendí de ellos.

A todas aquellas personas que siempre tuvieron una palabra de apoyo, un consejo e interés en mi persona, gracias por todas sus muestras de cariño, porque cada una de ellas ha sido parte de mi fortaleza.

A Importadora y Manufacturera Bruluart: Por el apoyo de la materia prima para la parte experimental de este trabajo.

ÍNDICE:

ÍNDICE:

	PÁG.
Introducción.....	1
Objetivos.....	2
Capítulo I. Generalidades.....	3
Definiciones de ácido y base.....	4
Las propiedades ácido básicas de las sustancias.....	5
Concepto de pH.....	6
Definición de la constante de acidez.....	6
Ecuación de Henderson – Hasselbac.....	7
Las especies químicas de una sustancia y su espectro de absorción espectrofotométrica.....	8
Espectrofotometría.....	9
Métodos para la Determinación de la constante de disociación ácida.....	14
Quimiometría.....	18
Métodos de análisis multivariante.....	19
Algoritmo de Mínimos cuadrados parciales.....	24
Capítulo II. Desarrollo Experimental.....	29
Materiales y Equipo.....	31
Procedimiento General.....	33
Capítulo III. Resultados y Análisis del Método Analítico.....	38
Capítulo IV. Conclusiones.....	53
Anexos.....	55
.	
Propiedades fisicoquímica y farmacológicas de la clorfenamina.....	56
Propiedades fisicoquímica y farmacológicas de la loratadina.....	58
Propiedades fisicoquímica y farmacológicas del Dextrometorfano.....	61
Propiedades fisicoquímica y farmacológicas del Paracetamol.....	63
Propiedades fisicoquímica y farmacológicas del Metilparabeno.....	65
Procedimientos particulares.....	67
Procedimientos del ensayo analítico particulares.....	76
Procedimiento de los resultados para la obtención del pKa.....	82
Referencia Bibliográfica.....	103

INTRODUCCIÓN

La constante de acidez de una sustancia es un parámetro fisicoquímico importante, debido a que el conocimiento de su valor tiene diferentes usos en la investigación y la industria farmacéutica. Tiene aplicación desde la elección del medio de disolución, hasta en el desarrollo de una formulación. Esta importancia es extensiva para otras áreas por lo que existen diversos métodos para la determinación del pKa. Entre los métodos más comunes están: métodos espectrofotométricos, potenciométricos, electroforéticos y cromatográficos.

En este trabajo se muestra el desarrollo de un procedimiento analítico para determinar el valor del pKa utilizando el método de mínimos cuadrados parciales en la cuantificación de la concentración de una de las especies químicas, por espectrofotometría por el programa de MCP, de una manera rápida, confiable y a bajo costo.

Se estimaron los valores del pKa a cuatro fármacos y un excipiente, tendiendo como referencia los valores reportados por la literatura. Las sustancias fueron: Clorfenamina, Dextrometorfano, Acetaminofen, Metformina y Metilparabeno. Posteriormente, se determinó el valor del pKa de la Loratadina en un experimento ciego simple, para evaluar la capacidad del procedimiento desarrollado para conocer la constante de acidez de sustancias ácido-base.

Se diseñó un procedimiento analítico para cuantificar confiablemente la concentración de una de las especies químicas de un par conjugado, mediante una calibración multivariante por Mínimos Cuadrados Parciales (MCP). En un medio donde una especie predomine al 100%, posteriormente se realizó el ensayo analítico a un pH donde se encuentren las dos especies químicas. Los valores de las absorbancias de la calibración y del ensayo analítico fueron tratados con el programa ISHEJA INC (un programa de Mínimos Cuadrados Parciales, basado el algoritmo de Haaland).

OBJETIVO GENERAL:

Desarrollar un método analítico espectrofotométrico, utilizando el algoritmo de mínimos cuadrados parciales, para determinar la constante de acidez de sustancias monoproticas.

OBJETIVOS PARTICULARES:

- Diseñar una metodología que sea capaz de determinar el valor de pK_a , a partir de conocer información simple de una sustancia, como: estructura y peso molecular.
- Determinar experimentalmente la concentración de cada una de las especies químicas del par conjugado, para determinar el valor de pK_a , por medio de la ecuación de Henderson Hasselbach.
- Determinar a cinco sustancias conocidas el valor de pK_a , siendo siguiendo el mismo fundamento de la metodología para poder demostrar la reproducibilidad y confiabilidad del método.
- Determinarle el valor de pK_a a una sustancia desconocida, en un experimento simple ciego, para indagar si el fundamento del procedimiento puede ser utilizado en la búsqueda de pK_a 's desconocidos.

CAPÍTULO I

GENERALIDADES

1.0 TEORÍAS DE ÁCIDOS Y BASES

De una manera u otra todas las sustancias tienden a reaccionar con las que se encuentren en contacto, pero algunas lo hacen rápidamente y otras muy lentamente. Además la manera en que reaccionan no siempre es la misma por eso se dice que tienen diferente naturaleza química. Se le llama naturaleza química a la propiedad intrínseca de una molécula que determina su comportamiento frente a otras moléculas, las diferentes naturalezas químicas son: ácido, base, reductor, oxidante, quelante o quelato.¹

TEORÍA DE ARRHENIUS

Fue publicada en 1887 como teoría de “disociación iónica”, en la cual se indica la existencia de sustancias (electrolitos) que, en disolución, se disocian en cationes y aniones. Arrhenius considera a los ácidos y las bases como:

ÁCIDO: Sustancia que en disolución acuosa disocia cationes H^+ .

BASE: Sustancia que en disolución acuosa disocia aniones OH^- .

TEORÍA DE BRÖNSTED-LOWRY.

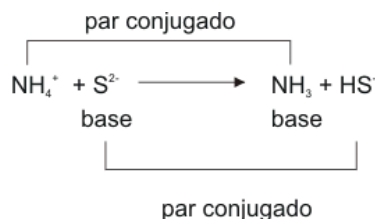
En 1923, de manera independiente, Brönsted y Lowry definieron a un ácido y a una base de la siguiente manera:

ÁCIDO: Es una sustancia que dona o cede un protón

BASE: sustancia que recibe o acepta un protón.

ÁCIDOS Y BASES CONJUGADOS: Son los productos de una reacción entre un ácido y una base son clasificados como ácidos y bases conjugados.

Otro ejemplo al que es posible aplicar esta definición es la siguiente reacción que, en principio, podría no parecer una neutralización, pero que como reacción ácido-base, realmente lo es:



Dos especies químicas que difirieren únicamente en un determinado número de protones forman lo que se denomina *par conjugado*. Las reacciones como las de arriba transcurren siempre de manera que se forman las especies más débiles. Así, el ácido más fuerte y la base más fuerte de cada par conjugado reaccionan para dar ácidos y bases conjugadas más débiles. La limitación principal de esta definición se encuentra en la necesidad de la presencia de H^+ en los reactivos.^{1,2}

TEORÍA DE LEWIS

ÁCIDO: Es una sustancia que acepta un par de electrones

BASE: Es una sustancia que dona un par de electrones.

El ácido y la base comparten el par donador de un enlace covalente. Cuando un ácido de Lewis acepta un par de electrones significa que debe tener un orbital vacío de baja energía o bien un enlace polar con el Hidrogeno, para donar H^+ .

PROPIEDADES DE LOS ÁCIDOS:

Características	
<u>ÁCIDOS:</u>	<u>BASES:</u>
<ul style="list-style-type: none"> ● Tienen sabor agrio. ● Son corrosivos para la piel. ● Enrojecen ciertos colorantes vegetales. ● Disuelven sustancias ● Atacan a los metales desprendiendo H_2. ● Pierden sus propiedades al reaccionar con bases. 	<ul style="list-style-type: none"> ● Tiene sabor amargo. ● Suaves al tacto pero corrosivos con la piel. ● Dan color azul a ciertos colorantes vegetales. ● Precipitan sustancias disueltas por ácidos. ● Disuelven grasas. ● Pierden sus propiedades al reaccionar con ácidos.

CONCEPTO DEL pH

El valor de dicho producto iónico del agua es:

$$K_w (25^\circ C) = 10^{-14} M^2$$

En el caso del agua pura:

$$[H_3O^+] = [OH^-] = \sqrt{10^{-14} M^2} = 10^{-7} M$$

Se denomina pH a:

$$pH = -\log [H_3O^+]$$

Y para el caso de agua pura, como $[H_3O^+] = 10^{-7} M$:

$$pH = -\log 10^{-7} = 7$$

El pH se utiliza como medida de la acidez y de la alcalinidad del medio acuoso.

CONSTANTE DE ACIDEZ ^{1,2,3}

Los ácidos se caracterizan por su capacidad de donar protones. Los más fuertes como el HCl reaccionan casi por completo con el agua, mientras más débiles como el ácido acético, reaccionan con poca fuerza con la misma. La fuerza de un ácido HA en solución acuosa, se describe con la constante de equilibrio (keq) y su concentración.

En una solución acuosa diluida que suele usarse para medir la acidez, la concentración del agua permanecerá casi constante, aproximadamente igual a 55.6 M. Por consiguiente se puede reformular la ecuación de equilibrio con una nueva cantidad, llamada constante de acidez K_a . Esta constante, para cualquier ácido HA, es igual a la constante de equilibrio de disociación del ácido multiplicada por la concentración molar del agua pura 55.6 M.

El intervalo de valores de la constante de acidez para los distintos ácidos va desde 0 hasta 10^{15} para los más fuertes mientras que para los más débiles hasta 10^{-60} .

Las fuerzas de los ácidos suelen expresarse con valores de pK_a más que con valores de K_a ; el pK_a es el logaritmo decimal negativo de K_a .

$$pK_a = -\log K_a$$

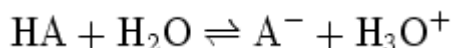
Los ácidos con valor de K_a altos tendrán valores de pK_a pequeños; mientras que los de valores de K_a pequeños tendrán valores de pK_a grandes. En Química, existe una ecuación que describe Henderson-Hasselbalch la obtención del pH como medida de la acidez (pK_a). La ecuación es también útil para estimar el pH de una solución que contiene un par conjugado. Existen dos formas equivalentes de la ecuación Henderson-Hasselbalch.

$$pH = pK_a + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Donde $[A^-]$ es la Concentración de la base y $[HA]$ es la concentración del ácido. En este sentido, pK_a es $-\log(K_a)$, donde K_a es la constante de disociación del ácido, que es la siguiente:

$$pK_a = -\log(K_a) = -\log \left(\frac{[H_3O^+][A^-]}{[HA]} \right)$$

Para la reacción no específica de las reacciones de ácido – base de Brönsted - Lowry.



En estas ecuaciones, A^- denota la forma iónica del ácido correspondiente. Cantidades entre corchetes, como $[base]$ y $[ácido]$ denotan la concentración molar (M).

En este trabajo la ecuación de Henderson - Hasselbalch es una herramienta básica para la determinación de la constante, donde se despeja el pK_a de la ecuación original.

$$pK_a = pH - \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

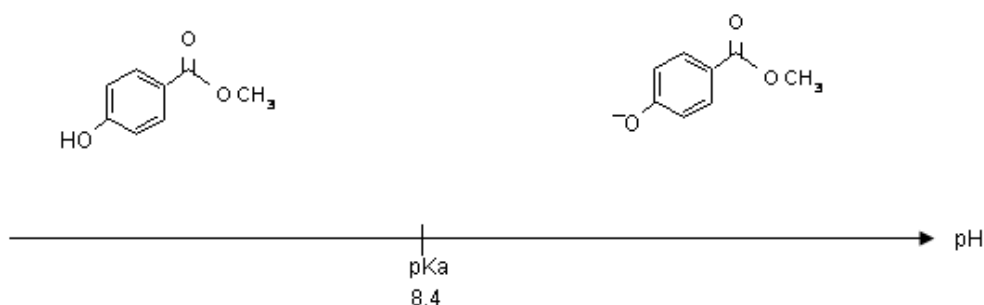
De esta manera al conocer el pH, la concentración de la especie ácida y la concentración especie básica, con la ecuación anterior, se podrá determinar el valor del pK_a .

ESPECIES QUÍMICAS DE UNA SUSTANCIA Y SU ESPECTRO DE ABSORCIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA. ^{1,2}

Como ya se mencionó anteriormente, en las reacciones ácido – base se forma un par conjugado. Cada especie química del par conjugado presenta un comportamiento químico diferente, por ello el medio de disolución es diferente para cada especie.

A continuación se muestra las dos especies químicas del metilparabeno en donde se encuentra la especie ácida (no ionizada y la especie básica (ionizada).

Zonas de Predominio de las Especies Químicas del Metilparabeno



A continuación se muestran los barridos en diferente medio de dilución.

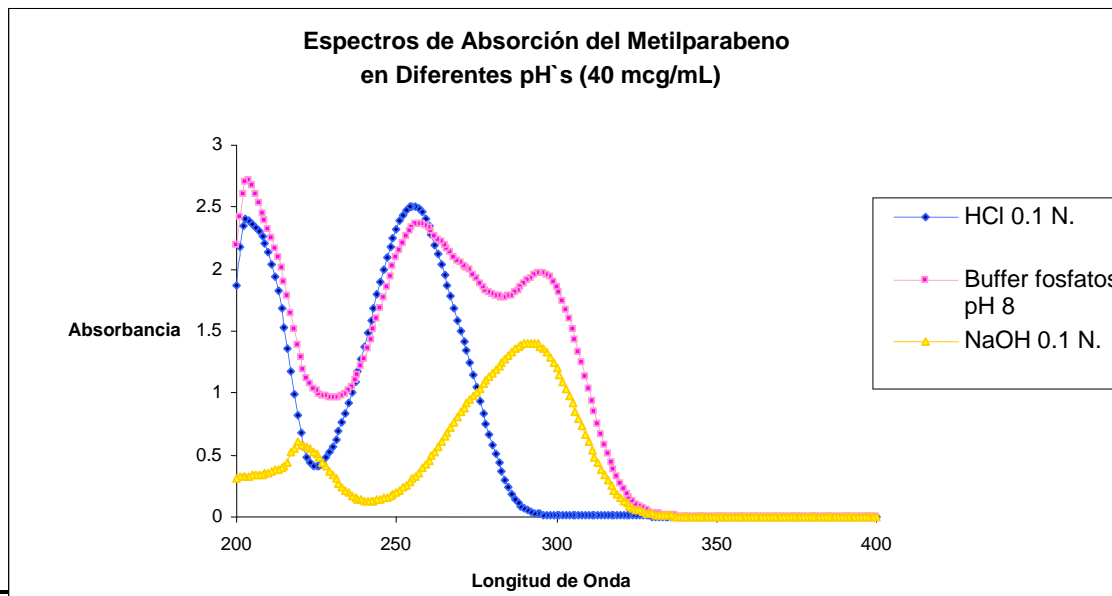


Gráfico1: Espectros de absorción del metilparabeno a una misma Concentración, en diferentes medios de disolución.

ESPECTROFOTOMETRÍA ^{1,2}

Los métodos espectrofotométricos también se clasifican de acuerdo con la región del espectro electromagnético que se utiliza. Estas regiones incluyen los rayos X, ultravioleta, visible, infrarrojo, microondas y radiofrecuencias.

La radiación electromagnética es una forma de energía que se transmite por el espacio a velocidades muy altas. La radiación electromagnética se describe adecuadamente considerando la radiación como ondas sinusoidales que tienen propiedades de longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud. Esta se considera como un flujo de partículas o paquetes ondulatorios de energía llamados fotones o cuantos. La energía de un fotón es proporcional a la frecuencia de la radiación.

La radiación electromagnética se puede presentar adecuadamente como un campo eléctrico experimental oscilaciones sinusoidales en el espacio. El campo eléctrico se representa como un vector cuya longitud es proporcional a la fuerza del campo. La

amplitud de la onda se define como la longitud del vector eléctrico en el máximo de la onda. El tiempo necesario para el paso de sucesivos máximos o mínimos por un punto fijo en el espacio se denomina el periodo de la radiación.

La frecuencia está determinada por la fuente de radiación y permanece constante independientemente del medio que atraviesa. La longitud de onda λ es la distancia lineal entre dos puntos sucesivos máximos ó mínimos de una onda. El producto de la longitud de onda y la frecuencia de ciclos por segundo es la velocidad de propagación.

Transmitancia:

A causa de la interacción entre los fotones y las partículas absorbentes, la potencia del haz de luz disminuye desde una potencia inicial (P_0) hasta una potencia final (P). La transmitancia (T) de la solución se define como la fracción de radiación indecente transmitida por la solución

$$T = \frac{P}{P_0}$$

Es común que la transmitancia se exprese como un porcentaje

Absorbancia:

La absorbancia (A) de una solución se define por la ecuación:

$$A = -\log T = \log \frac{P_0}{P} = -\log \frac{P}{P_0}$$

La interacción entre la radiación y las paredes del recipiente es inevitable como resultado de la reflexión y posiblemente de la absorción de la potencia del haz en cada una se atenúa.

Las perdidas por reflexión son consideradas por la dispersión de las moléculas grandes en el disolvente, también pueden causar atenuación del haz cuando este atraviesa la solución. Para compensar estos efectos, la energía del haz transmitido por la solución del analito se compara con la energía de un haz que atraviesa una celda

que contiene sólo el disolvente del analito. De esta manera se obtiene una absorbancia experimental que aproxima mucho la verdadera absorbancia de la solución con la ecuación:

$$A = \log \frac{P_0}{P} = \log \frac{P_{\text{solvente}}}{P_{\text{solución}}}$$

Donde P y P₀ se refiere a la energía de la radiación después de pasar a través de las celdas que contienen el disolvente y el analito, respectivamente.

LEY DE BEER

De acuerdo con la ley de Beer, la absorbancia está relacionada linealmente con la concentración de la especie absorbente y con la longitud de la trayectoria de la radiación en el medio absorbente.

$$A = \log \frac{P_0}{P} = \epsilon l C$$

En donde A es la absorbancia molar; ϵ es el coeficiente de absorbancia y tiene las unidades de L cm⁻¹ mol⁻¹; l es la medida del ancho de la celda y C la concentración de la solución.

Aplicaciones de la ley de Beer

- Se puede aplicar en soluciones que contienen más de una especie absorbente.

LIMITACIONES:

- Ocurren algunas desviaciones como consecuencia de la manera en que se mide la absorbancia (desviaciones instrumentales), este tipo de desviaciones son fundamentales y representan limitaciones en la ley de Beer
- La ley de Beer solo plantea un comportamiento de la absorción en soluciones diluidas.

- En concentraciones elevadas en general mayores a 0.01 M., la distancia promedio entre los iones o las moléculas de las especies que absorben disminuye hasta el punto en que cada partícula afecta a la distribución de carga de sus vecinas. Esta interacción puede alterar la capacidad de las especies para absorber a una determinada longitud de onda, cuando se presenta este fenómeno se observa una desviación entre la relación lineal de las absorbancias y las concentraciones.
- Desviaciones químicas: Estas se producen cuando un analito se disocia o
- Reacciona con un disolvente, formando productos con características absorbentes distintas de las del analito.

ESPECTROS DE ABSORCIÓN ¹

Un espectro de absorción es una gráfica de porcentaje de transmitancia, absorbancia, logaritmo de absorbancia o absorptividad molar de un analito en función de la longitud de onda, o del número de onda y ocasionalmente de la frecuencia.

TEORÍA DE ABSORCIÓN MOLECULAR ¹

De acuerdo a la teoría cuántica todas las moléculas, todas las especies moleculares poseen un número limitado de niveles discretos de energía; el nivel de energía más bajo es el estado fundamental. A temperatura ambiente la mayoría de las moléculas se encuentran en estado fundamental, cuando un fotón de radiación pasa cerca de una molécula es probable que se produzca la absorción si y solo si la energía del fotón coincide exactamente con la diferencia de energía. En estos casos la energía del fotón es transferida los electrones a un estado de energía más elevado o estado excitado.

En la excitación por radiación ultravioleta e invisible se promueve la transferencia de un electrón que se encuentre en un nivel bajo de energía molecular de orbital atómico a un orbital de energía superior. Para que se produzca la transición de un

electrón entre dos orbitales se denomina transición electrónica y al proceso de absorción asociado se le conoce como absorción electrónica.

La absorción molecular en las regiones ultravioleta y visible consisten en bandas de absorción formadas por líneas que están muy cerca unas de otras ya que una molécula tiene sin más niveles vibracionales.

La espectroscopía molecular basada en radiación ultravioleta se utiliza para la identificación y determinación de una variedad de especies inorgánicas, orgánicas y bioquímicas. La espectroscopía de absorción molecular ultravioleta - visible se emplea principalmente para el análisis cuantitativo y es uno de los métodos más comunes usados en el laboratorio químico y clínico.¹

MÉTODOS PARA LA DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ.

La constante de disociación es un parámetro fisicoquímico importante para una sustancia, dicho parámetro aporta una información fundamental en su manejo. Existen diferentes métodos para determinar la constante de acidez:

Los métodos tradicionales son por potenciometría y UV, los espectros de absorción han sido las técnicas usadas en la determinación de la constante de equilibrio debido a que los resultados son reproducibles y exactos. En la década pasada algunas técnicas se basaron en la separación de compuestos por Cromatografía de Líquidos y electroforesis capilar.^{2,3,4}

A continuación se describe brevemente diversos métodos para la determinación del pK_a , sin olvidar que el método de mayor interés en este trabajo es el espectrofotométrico.

➤ Titulación Potenciométrica: ^{5,6,7}

En el pasado la técnica de la titulación potenciométrica fue el estándar para la determinación del valor de pK_a . Lo que se realiza en esta técnica es que una muestra es titulada por una base o un ácido utilizando un potenciómetro para ir monitoreando el curso de la titulación. El valor de pK_a es calculado en el cambio de vire de la curva de titulación.

La titulación potenciométrica en soluciones acuosas es el método más exacto para la determinación de constantes de equilibrio. El punto de equivalencia en las titulaciones potenciométricas está determinado generalmente graficando E_o y el pH en función del volumen del reactivo agregado. El punto de equivalencia es medido en el punto de la inflexión de la curva, en titulaciones de ácidos débiles, la cuesta de la curva a este punto puede ser tan pequeña que es difícil determinar el punto de equivalencia exacto. En estos casos, es posible obtener mejores resultados usando varios métodos gráficos o numéricos.

Las titulaciones se realizan generalmente adicionando el titulante con una bureta automática, el sistema debe ser controlado por una PC que se encuentre conectada a un espectro de absorción en el cual determina los valores de absorbancia, utilizando celdas de 1 cm.

La técnica potenciométrica requiere la selección de un medio iónico que asegure que los coeficientes de absorptividad sean constantes para todas las especies dentro de los experimentos. La principal dificultad para obtener valores confiables, es por la baja solubilidad que presentan en las soluciones acuosas. Se requieren altas concentraciones para que se observe claramente el cambio del pH en el punto de equivalencia.

El tratamiento numérico puede ser realizado con las versiones de los programas NYTIT y de ZETA del LETAGROP. Las estimaciones de los valores del pK_a son obtenidos por el método de Gran y los valores de pK_a calculados por métodos gráficos ó numéricos se realiza una corrección de la fuerza iónica. Existen otros tipos de métodos estadísticos para la determinación de la constante de acidez como es el método de la segunda derivada y regresión no lineal.

➤ **Métodos Espectrofotométricos** ^{7,8,9}

Una alternativa para la titulación potenciométrica es por espectrofotometría (UV-VIS) porque pueden manejarse compuestos de baja solubilidad y de baja concentración para la muestra. La ventaja principal es la alta sensibilidad (10^{-6} M) a los compuestos con coeficientes de absorción molares favorables.

Generalmente en esta técnica se realiza una valoración en la cual los datos espectrales son registrados continuamente durante el curso de titulación por un espectrofotómetro. Las absorbancias de la muestra van cambiando durante el curso de la titulación hasta reflejar la concentración neutra o ionizada de la especie. El cambio más grande de la absorbancia ocurre cuando el valor del pH es igual al valor del pK_a , la determinación de los valores del pK_a por UV - visible.

Tradicionalmente los datos de los valores de absorbancia son a una sola longitud de onda, donde las muestras están en series de soluciones con búfer cuyos pH's son conocidos, posteriormente el pK_a es determinado. Para el uso de este método los espectros de absorción de las especies individuales deben ser caracterizados por su coeficiente de absorptividad. Cuando una molécula presenta más de dos pasos de la ionización, o si los componentes no son estables dentro de dos unidades del pH del valor del pK_a , se realiza un espectro de absorción a varias longitudes de onda, en donde se utiliza un factor blanco para deducir los valores de pK_a de las absorbancias a diferentes longitudes de onda, y los datos se van registrando a los diversos pH's.

➤ MÉTODO CLÁSICO ESPECTOFOTOMETRICO.

Se utiliza un tampón para el "clásico" espectrofotométrico. En donde los espectros de estas soluciones contendrán solamente la especie protonada ó desprotonada de los compuestos que van a ser registrados. Después se registra el espectro del UV- VIS de un almacenador intermediario de una solución a un pH que contenga la especie protonada y desprotonada. El valor de pK_a se calcula con el valor del pH utilizando la ecuación de Henderson – Hasselbac.

➤ MÉTODO POR CROMATOGRAFÍA DE LÍQUIDOS ⁷

La cromatografía de Líquidos es una buena opción para la determinación de la constante de acidez, está solo requiere una pequeña cuantificación de los compuestos y no se necesita que las muestras sean puras ni de baja solubilidad.

El método no incluye las mediciones de los solutos o las concentraciones de la titulación, solo se toman en cuenta los tiempos de retención. El cálculo es directo e independiente de la pureza del soluto. Sin embargo las desviaciones de los estándares del pK_a son más altas que los obtenidos por los métodos espectrofotométricos y potenciométricos.

La determinación para el valor de pK_a por Cromatografía de líquidos está basada entre la relación de los factores de retención y el pH de la fase móvil. Se debe determinar el tiempo de retención a cada uno de los compuestos. Para ácidos monoproticos la

capacidad de factores es observada a diferentes valores de pH, estos son en relación a la capacidad de los factores de las especies neutras y de las especies aniónicas.

Una de las desventajas más importantes del método de Cromatografía de Líquidos es la sensibilidad que pueden presentar las columnas cromatográficas a los diversos pH's del medio de disolución y de la fase móvil.

Por otra parte se han observado tiempos de retención muy largos que dificultan la determinación de los valores de pK_a en agua y mezclas de medios orgánicos acuosos con bajo contenido de solventes orgánicos. Sin embargo como el objetivo principal de la determinación del pK_a por Cromatografía de Líquidos es la optimización de la separación cromatográfica, este método es adecuado para ello.

➤ ELECTROFORESIS CAPILAR ⁷

La determinación de los valores de pK_a por Electroforesis Capilar se basa en la capacidad de movimiento de un compuesto ionizado en una serie de soluciones a diferentes pH's.

La fracción molar de la especie anionica está dada por la siguiente ecuación:

$$\mu_{\text{eff}} = \frac{\mu_{\text{eff}} * 10^{-pK_a}}{10^{-pK_a} + 10^{-pH}}$$

Los valores de pK_a son obtenidos por el movimiento en función del pH. La movilidad experimental es calculada por el tiempo de migración de cada una de las especies a diferentes pH's.

➤ Métodos de cómputo ⁷

El valor de pK_a puede estimarse por métodos computacionales como: SPARC y ACD. Este método puede determinar la constante de acidez de cualquier compuesto, solo se necesita su estructura química. El ACD es un programa del software que calcula exacta la constante de acidez del ácido-base, debajo de 25 °C y fuerza iónica cero en soluciones acuosas para casi cualquier estructura orgánica.

QUIMIOMETRÍA¹¹

“La Quimiometría es la disciplina Química que utiliza métodos matemáticos y estadísticos para diseñar o seleccionar procedimientos de experimentos óptimos para proporcionar la máxima información química mediante el análisis de datos químicos, usando la lógica formal, matiza dos hechos: que la información buscada debe ser relevante y que la información sobre el sistema químico debe transformarse en conocimiento global sobre el problema de estudio”.

La Quimiometría mejora el rendimiento del proceso analítico en todas sus etapas y asegura la calidad de los resultados. Una vez obtenidos los datos, el tratamiento de los mismos permite aumentar la calidad de los resultados, facilita su interpretación y fundamenta las conclusiones.

La predicción de una variable a partir de otra se realiza con la elaboración de un modelo matemático denominado recta de regresión. Existen dos tipos de regresión simple: tipo I y tipo II.

En la regresión del tipo I el experimentador controla una de las variables; debido a que sus valores son conocidos o bien pueden seleccionarse previamente con precisión; sin embargo no se tiene control sobre la otra variable. La mayoría de los problemas de calibración en Química Analítica son de tipo I. En la regresión de tipo II no se tiene control de ninguna de las variables por parte del experimentador, las dos variables se encuentran en la incertidumbre.

Existen diversas pruebas estadísticas para comprobar la seguridad de los resultados una de ellas es la correlación, se dice que existe está cuando los valores de las variables están ligados entre si, debido a que una variable proporciona información sobre la otra.

El coeficiente de determinación r^2 expresa al porcentaje de variación total de los datos que es explicado por el modelo. Así $r^2= 1$, el ajuste es perfecto y la varianza explicada es el 100% de la total.

El método de regresión de Mínimos Cuadrados se utiliza para problemas de regresión de tipo I el modelo se obtiene haciendo la mínima suma de los cuadrados de los residuos, que se han definido en la dirección de las variables sujetas a error aleatorio.

El modelo de Mínimos Cuadrados presenta las siguientes condiciones para su validez

- A) El problema de regresión es de tipo I, los errores aleatorios son despreciables en x y predominantes en y .
- B) La relación entre x e y es lineal en el intervalo considerado.
- C) Los residuos son homocedásticos, es decir, la variancia es independiente de x .
- D) La distribución de los residuos es normal y su media es cero.

La predicción Múltiple y multivariante se utiliza preferentemente modelos donde que la variable dependiente x , es siempre la predictiva (una señal instrumental o una combinación lineal de varias señales instrumentales), tanto en la etapa de calibración como en la de predicción y la variable dependiente y es siempre la respuesta. Por razones históricas el modelo de retroceso se conoce también como modelo “clásico” y el modelo de avance como modelo “inverso”.

En la regresión de Mínimos Cuadrados Parciales se utilizan los componentes principales de un bloque X como variables predictorias. Sin embargo los componentes principales interpretan y modelan la varianza únicamente en el bloque X , y por lo tanto no tienen que estar correlacionados con las respuestas.

Métodos de análisis multivariante:

- Regresión Lineal Múltiple (RLM)
- Mínimos Cuadrados Clásicos (MCC)
- Mínimos Cuadrados Inversos (MCI)
- Análisis del Componente Principal (ACP)
- Regresión del Componente Principal (RCP)
- Mínimos Cuadrados Parciales

FUNDAMENTO DE LOS MÉTODOS DE ANALISIS DE MULTICOMPONENTE ¹²

En la calibración lineal simple se utiliza el siguiente método para la predicción

$$A = CK \quad \text{ec.....1}$$

Donde A es la absorbancia a cierta longitud de onda y C es la concentración y K es el coeficiente de absorptividad. Esta ecuación permitirá conocer la concentración de cualquier especie siempre y cuando está no presente alguna interferencia.

Si la mezcla presenta dos componentes, se pueden establecer dos ecuaciones:

$$A_1 = C_1 K_1 + E_1 \quad \text{ec.....2}$$

$$A_2 = C_2 K_2 + E_2 \quad \text{ec.....3}$$

Donde A_1 y A_2 son las absorbancias a dos longitudes de onda, K_1 y K_2 son los coeficientes de absorptividad. E_1 y E_2 son los errores residuales que se obtienen a partir de la línea ajustada por mínimos cuadrados parciales, si no hay presencia de alguna interferencia es posible dar solución de una forma simultánea.

Si existiera una interferencia entre los dos componentes dentro del mismo espectro (bandas sopladas). Entonces se tendrían estas dos ecuaciones:

$$A_1 = C_1 K_{11} + C_{21} + E_1 \quad \text{ec.... 4}$$

$$A_2 = C_2 K_{12} + C_{22} + E_2 \quad \text{ec... 5}$$

La solución de estas ecuaciones se puede realizar de forma simultánea ó bien se pueden solucionar con el uso de un sistema matricial a base de computadora quedando expresadas de la siguiente manera:

$$A(n,p) = C(n,m) K(m,p) + E(n,p) \quad \text{ec.....6}$$

Siendo n el número de disoluciones patrón, p el número de valores de longitudes de onda y m el número de componentes.

Teniendo dos componentes a dos longitudes de onda se tendría las siguientes ecuaciones:

Espectro No. 1

$$A_{11} = C_{11} K_{11} + C_{12} K_{21} + E_{11} \quad \text{ec.... 7}$$

$$A_{12} = C_{12} K_{12} + C_{12} K_{22} + E_{12} \quad \text{ec... 8}$$

Espectro No. 2

$$A_{11} = C_{11} K_{11} + C_{12} K_{21} + E_{11} \quad \text{ec.... 9}$$

$$A_{12} = C_{12} K_{12} + C_{12} K_{22} + E_{12} \quad \text{ec... 10}$$

En notación matricial se tendrá

$$A = C K + E$$

Con el uso de un paquete estadístico que maneje el álgebra matricial es fácil encontrar solución a las expresiones, la matriz es utilizada en la predicción de muestras problema.

❖ MATRIZ DE DATOS DE LA CALIBRACIÓN

En la calibración multivariante; la matriz se divide en dos bloques: el bloque X, con m variables que se usan como predictorías, y el bloque Y (calibración), que debe incluir tantas variables respuestas como fuentes de variación significativa e independiente influyan sobre las variables del bloque X (ensayo).

Cualquier serie de medidas instrumentales se puede utilizar como variables del bloque X, si bien, con frecuencia, se trata de señales generadas por los instrumentos a distintas longitudes de onda (espectroscopia), a distintos tiempos crecientes (cromatografía), o en general, a distintos valores de la variable de

Barrido instrumental. Para cada valor de la variable de barrido se tiene una variable predictoría (x_j).

Por otra parte, cualquier fuente de variancia o factor subyacente se puede utilizar como respuesta, ya se trate de concentraciones de analitos o interferencias, o de otros factores que influyen sobre las señales instrumentales.

La matriz está también partida en dos bloques de objetos: El conjunto de calibración contiene n estándares, siendo n igual o mayor que el número de respuestas. Y el de muestras problema, sin limitación en el número de objetos. En esta etapa de calibración se establece las variables que deben incluirse en el bloque X (de variables predictorías)

Y bloque Y (respuestas). Se diseña la composición de los estándares y su preparación de acuerdo con el diseño previsto, se realiza la medida de las variables y se establece el modelo de predicción.

❖ **CONJUNTO DE ESTANDARES DE CALIBRACIÓN**

Para construir un modelo de predicción múltiple y multivariante se deben cumplir las siguientes condiciones:

- El bloque Y contiene tantas variables como fuentes de variancia revelantes influyen sobre el bloque X, así por ejemplo, si el bloque X contiene tres fuentes de variancia, el bloque Y se debe diseñar incluyendo al menos tres variables.
- Las variables del bloque de X ó un subconjunto seleccionado de entre las mismas, contienen variancia correlacionada con todas y cada una de la variables del bloque Y.
- Las variables del bloque X ó al menos las del subconjunto seleccionado, están poco correlaciones entre si.
- El conjunto de estándares de calibración se ha diseñado de modo que las variables del bloque Y no están correlacionadas entre si, y además, cubre de modo satisfactorio sus respectivos intervalos de calibración.

ALGORITMO DEL MODELO DE MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES ¹³

El algoritmo de MCP utilizado en el desarrollo de este trabajo fue el que estableció Haaland. Que consta de dos etapas.

- Etapa de calibración
- Etapa de predicción

CALIBRACIÓN:

En esta etapa se relacionan las absorbancias obtenidas a diferentes longitudes de onda y la concentración del componente de interés se estima a partir de un conjunto de estándares de soluciones de referencia que presentan las combinaciones posibles de los componentes de la mezcla. Y de acuerdo al algoritmo de MCP establecido por Haaland. Se obtienen las expresiones matriciales compuestas por valores de absorbancias a diferentes longitudes de onda, dispuesta en columnas para cada longitud de onda y en filas para cada solución conteniendo la mezcla de los componentes a analizar.

Un aspecto importante en la etapa de calibración es el diseño del conjunto de soluciones patrón a partir de las cuales se obtiene el número de soluciones para la matriz, las soluciones deben ser representativas de las diferentes composiciones de las muestras.

CALIBRACIÓN

PASO 1:

Retratamiento de datos, centrar A y C. Las matrices centradas sustituyen en las operaciones a las de los datos originales.

PASO 2

Formación del vector de peso (W_h') o de ponderación.

$$A = c W_h' + E_a$$
$$W_h' = (A' c) / c' c$$

Este paso de MCP se ejecuta asumiendo que se conoce la concentración de uno de los componentes de la muestra analítica. Ya obtenidos los valores de (W_h) se normalizan dividiendo los valores W_h entre el primer valor del vector.

PASO 3:

Vector cargado o latente (t_h)

$$A = t_h W_h' + E_a$$
$$t_h = A W_h$$

El vector t_h representa la intensidad o cantidad del primer vector de peso en las muestras de calibración.

PASO 4

Se presenta una relación entre el vector marcador y las concentraciones.

$$C = V_t t_h + e_c$$
$$V_t = (t_h' c) / t_h' t_h$$

El vector marcador puede ser relacionado con las concentraciones usando la regresión de mínimos cuadrados lineal.

PASO 5

Formación del vector de carga

$$A = t_h b_h' + E_a$$

$$B_h = A' t_h' / t_h' t_h$$

El vector h_b explica la máxima variancia en el espectro de calibración.

PASO 6

Calculo de los residuales en A y C

$$E_a = A - t_h b_h'$$

Concentración residual $ec = c - V_h t_h$

PASO 7

Al aumentar h (el número de cálculos del algoritmo) y sustituyendo E_a para A y ec para c en el paso 2, se deben realizar las repeticiones necesarias hasta obtener un modelo adecuado.

PREDICCIÓN:

Es esta etapa se utiliza para encontrar concentraciones de muestra desconocidas mediante el uso de los datos obtenidos en la calibración. Para cada muestra se obtienen un vector con absorbancias obtenidas a cada longitud de onda.

PASO 1

Se centra "a" usando los datos de la calibración, o se obtiene el valor medio de la calibración de cada valor espectral.

PASO 2

Se calcula la variable latente t_h

$$T_h = a W_h'$$

PASO 3

Se calcula la concentración

$$Ch = cn^{-1} + v_t t_h$$

PASO 4

Se calcula los residuales de absorbancia.

$$Ch = eh^{-1} - b_n t_n$$

PASO 5

Incrementa h, sustituir eh por "a" y repetir el paso 2 hasta que se complete el número de h utilizadas en la calibración.

❖ SELECCIÓN DEL NÚMERO ÓPTIMO DE FACTORES

El método que permite establecer el número óptimo de factores es la aplicación de SCERP (suma de cuadrados de los errores residuales de predicción). En este método se utiliza la validación cruzada y se aplica la fórmula:

$$SCERP = \sum_{i=1}^n (C_i \text{ estimada} - C_i \text{ Real})^2$$

Donde n es el número de las muestras de calibración, C_i real es la concentración real y c_i estimada, es la concentración estimada al utilizar la validación cruzada.

Los valores de SCERP son el indicativo de qué también se está estimando las soluciones patrón con cada número de repeticiones de los cálculos del algoritmo de MCP, en una gráfica típica de SCERP en función del número de repeticiones se observa que conforme aumenta el número de repeticiones de los cálculos en el algoritmo disminuye el error de la predicción.

❖ DETECCIÓN DE LAS MUESTRAS DESECHABLES

Las muestras desechables son soluciones que presentan una diferencia considerable entre el valor de la concentración esperada (residuos de la concentración) en comparación con las soluciones pertenecientes a la calibración. Una o varias de las soluciones de la calibración pueden presentar valores

incorrectos, esto debido a mala preparación o errores en la manipulación experimental.

Una forma para detectar muestras desechables es la utilización de la validación cruzada. Así, tras elegir el número óptimo de repeticiones, cada una de las muestras se separa del resto de las soluciones de la calibración para posteriormente predecir la concentración de la muestra que quedó fuera. Tras repetir este procedimiento a todas las soluciones de la calibración, se puede determinar el porcentaje de desviación de la concentración estimada con respecto a su concentración real.

$$\frac{((C_{\text{estimada}} - C_{\text{real}}))}{C_{\text{real}}} * 100$$

Donde C es la concentración. De esta manera se puede determinar si una o más de las soluciones de la calibración son muestras desechables.

El programa de mínimos Cuadros Parciales (SCERP) sirve para realizar análisis con este fin y este se encuentra compuesto por cuatro fases: Press, linealidad, Outliers y Predicción.

- **PRESS:** Es la opción que sirve para introducir los datos de la calibración y así se determinan los valores de "H" que son los que indican en que momento la calibración empieza a ser lineal.
- **LINEALIDAD:** Sirve para determinar en que valor de H se encuentra la mejor linealidad.
- **OUTLIERS:** Esta opción nos indica cuales son las muestras que se pueden desechar de nuestra calibración que no son útiles.
- **PREDICCIÓN:** Esta opción se utiliza para determinar las concentraciones estimadas de las muestras a partir de la calibración.

CAPÍTULO II

DESARROLLO DEL MÉTODO ANALÍTICO

JUSTIFICACIÓN EXPERIMENTAL

Actualmente la industria farmacéutica se encuentra innovando fármacos y con ello nuevas formulaciones farmacéuticas, en donde conocer el valor de pKa es fundamental para la manipulación química de las sustancias. Con este procedimiento se crea la posibilidad de determinar constantes de acidez por químicos que no sean expertos determinando constantes, con lo cual se reduce tiempos y costos. Cabe mencionar que en este momento solo se ha demostrado la eficacia del método en sustancia monoproticas; sin embargo existe la posibilidad de utilizarlo para sustancias dipróticas e incluso tripróticas.

Para encontrar el procedimiento adecuado para la determinación, se utilizaron únicamente sustancias cuyas constantes de disociación ácida (pKa) están reportados en la literatura, dicha restricción se tomó para tener una referencia.

Un parámetro fundamental planteado y lo que hace la diferencia en estos experimentos, es la capacidad que tiene MCP para cuantificar una sola especie química y con la ecuación de Henderson – Hasselbac determinar el pKa.

REACTIVOS, EQUIPOS Y SOFTWARE

Tabla 1: Muestra los reactivos y marca del mismo.

Nombre del Reactivo	Proveedor
Hidróxido de Sodio Perlas 98.2 %	J. T. Baker
Ácido Clorhídrico 37 %	Fermont
Fosfato de Potasio Monobásico	J.T. Baker
Borato de Potasio	J.T. Baker
Ácido Bórico	J,T. Baker

Tabla 2: Informa el nombre de la sustancia, el proveedor y la pureza.

Nombre del Reactivo	Donador y/o Proveedor	Pureza del Reactivo
Acetaminofén	I.M. Bruluart	100.18 %
Clorfenamina	I.M. Bruluart	100.82 %
Dextrometorfano	I.M. Bruluart	94.65 %
Metformina	I.M. Bruluart	99.13 %
Loratadina	I.M. Bruluart	100 %
Metilparabeno	USP	100 %

Tabla 3: Muestra las características del equipo utilizado.

Nombre del Equipo	Proveedor	Modelo
Balanza analítica	Ohaus	Analytical plus AP250D
Espectrofotómetro	Varían	Cary 100 Conc
PC	Dell	HRP9W61
Potenciómetro	Mettler Toledo	Seven multi
Vortex	Vortex- genie	K 550 6
Purificador de agua	Milli Q	Ríos 5
Sistema de purificación Mili Q- Plus	Milli Q	Milli Q Plus

MATERIAL:

- Matraces volumétricos de 25 ml.
- Matraces volumétricos de 200 ml.
- Matraces volumétricos de 1L.
- Matraces volumétricos de 2 L.
- Vasos de precipitados de 25 ml.
- Vasos de precipitados de 50 ml.
- Pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9 y 10 ml.
- Perillas

SOFTWARE:

Para las estimaciones de MCP se utilizó el software ISHEJA ICC ^[6] versión 1 Windows 98 (de acuerdo al programa establecido por Haaland), el programa de Excel (solver) de la paquetería de office.

MÉTODO

El método analítico que se propone en este trabajo consta de tres etapas: elaboración de barridos de cada una de las sustancias, preparación de la calibración y las muestras y la estimación del pKa.

A continuación se mostrará un procedimiento general, acompañado de diagramas de flujo con la finalidad de explicar los pasos a seguir, los procedimientos específicos de cada analito están en la sección de anexos.

PROCEDIMIENTO GENERAL

- I. Lo primero que se debe hacer cuando se quiere obtener un espectro de absorción de un analito, es revisar en la literatura la naturaleza química, propiedades de solubilidad, estabilidad.
- II. Elaborar una escala de especies químicas de la sustancia en función del pH y ubicar la especie que predominará en medio ácido y en medio básico.
- III. Elegir el medio de disolución en donde se encuentre presente una sola especie química (calibración).
- IV. Elegir un buffer como medio de disolución en donde se encuentren ambas especies químicas, es importante que el pH este muy cercano al pKa de la sustancia.
- V. Obtener los espectros de absorción para cada sustancia.
- VI. Elegir 10 ó más longitudes de onda, en donde se incluyeran los puntos de absorbancia más significativos como son: puntos de inflexión, mínimos, máximos y hombros. Es importante que las longitudes de onda de la calibración y del ensayo sean iguales, de lo contrario no podrá realizarse el tratamiento de los datos para la determinación del pKa.
- VII. Diseñar y elaborar una calibración con un mínimo de cinco puntos y por triplicado.
- VIII. Diseñar y elaborar las muestras con un mínimo de 4 puntos y que las concentraciones se encuentren dentro de las de la calibración.
- IX. Leer el pH de cada una de las soluciones de la muestras con un potenciómetro.
- X. Realizar el tratamiento de los resultados de la absorbancias por el programa de mínimos cuadrados parciales, con la finalidad de obtener la estimación de las concentraciones.
- XI. Determinar el valor del pKa utilizando la ecuación de Henderson – Hasselbac.

En los siguientes diagramas se muestra de manera sencilla el procedimiento general ya mencionado:

Fig. 1: Muestra el procedimiento general para la obtención de los espectros de absorción de las sustancias.

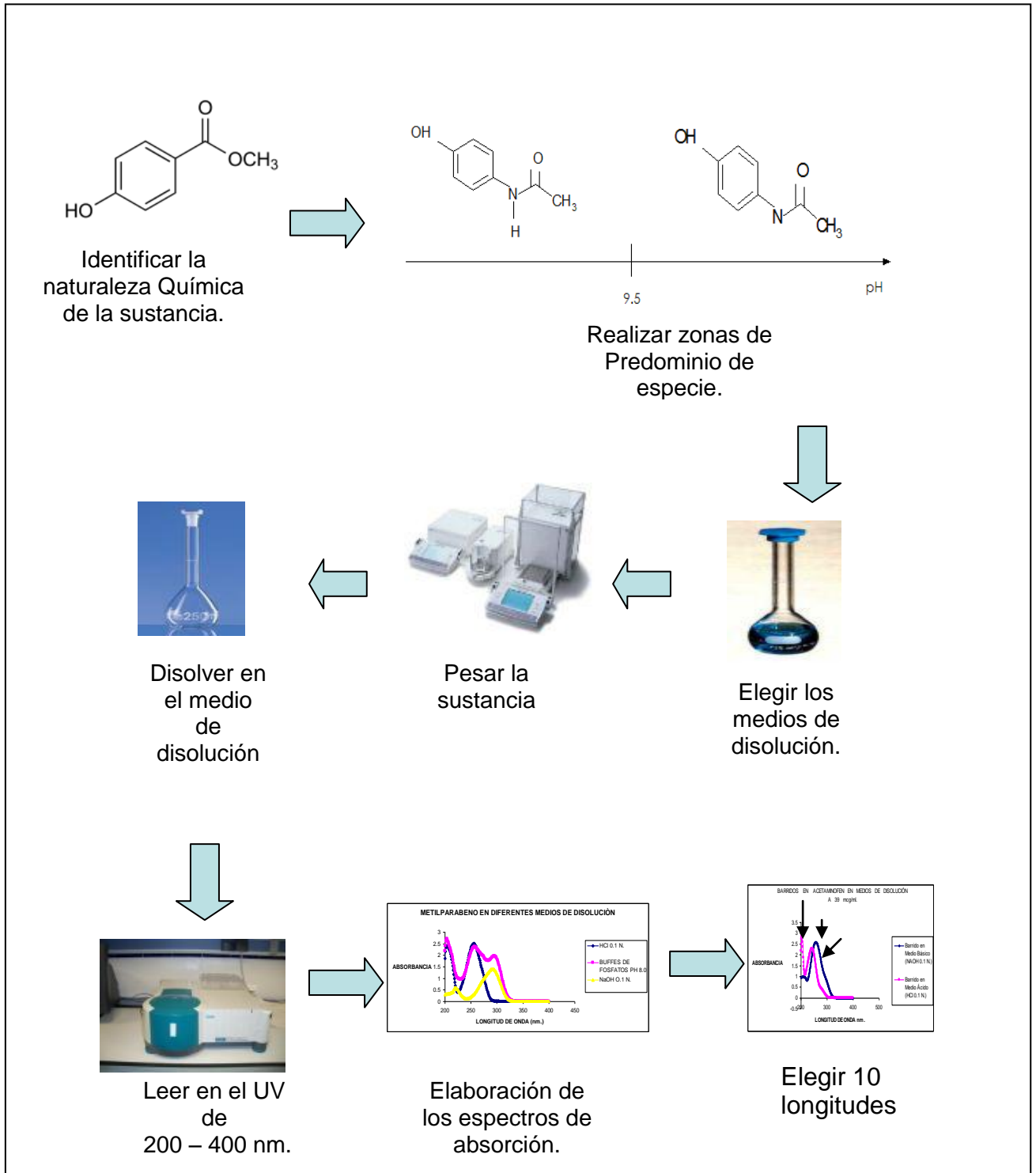


Fig. 2. Muestra el procedimiento general de la calibración.

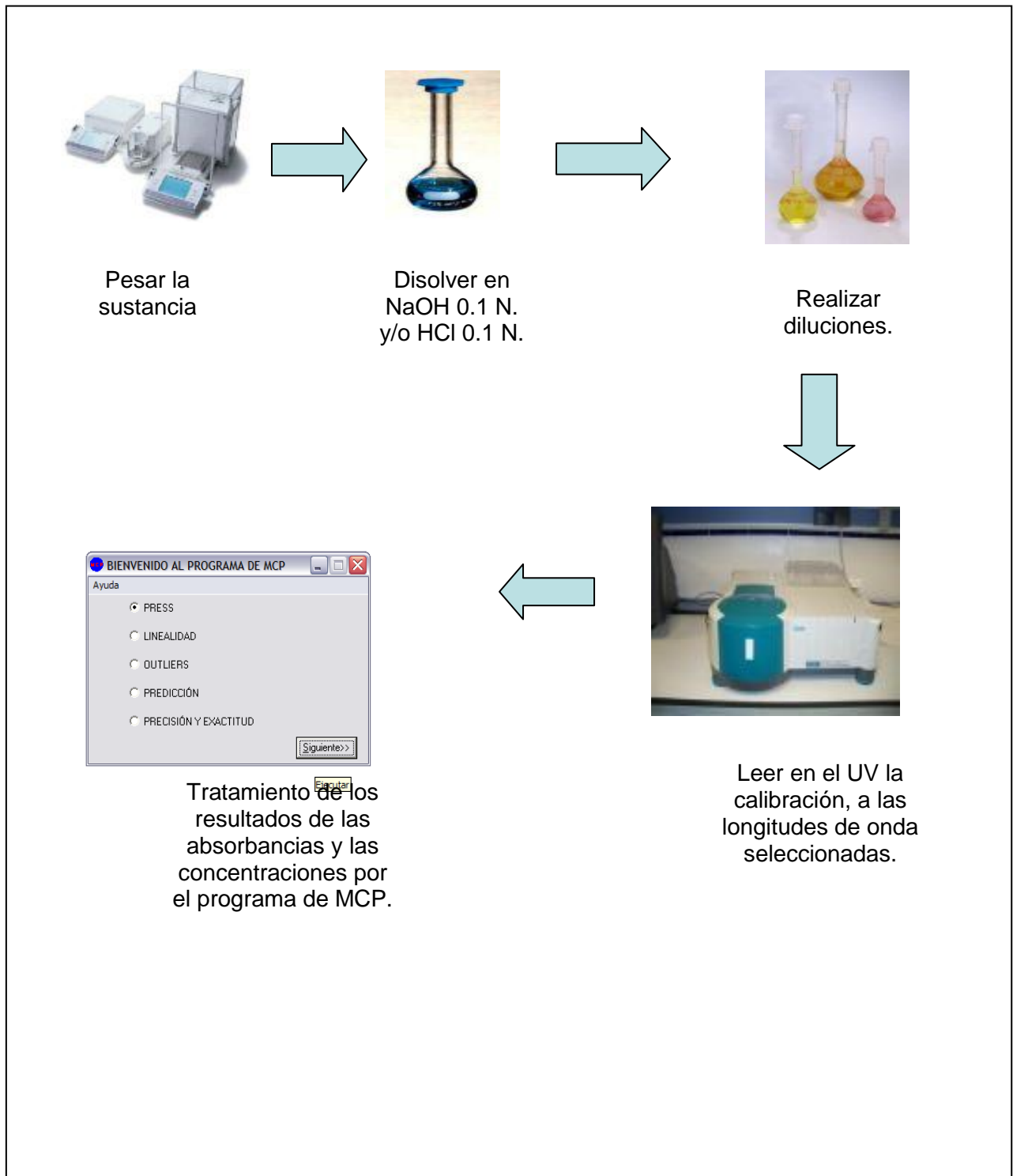
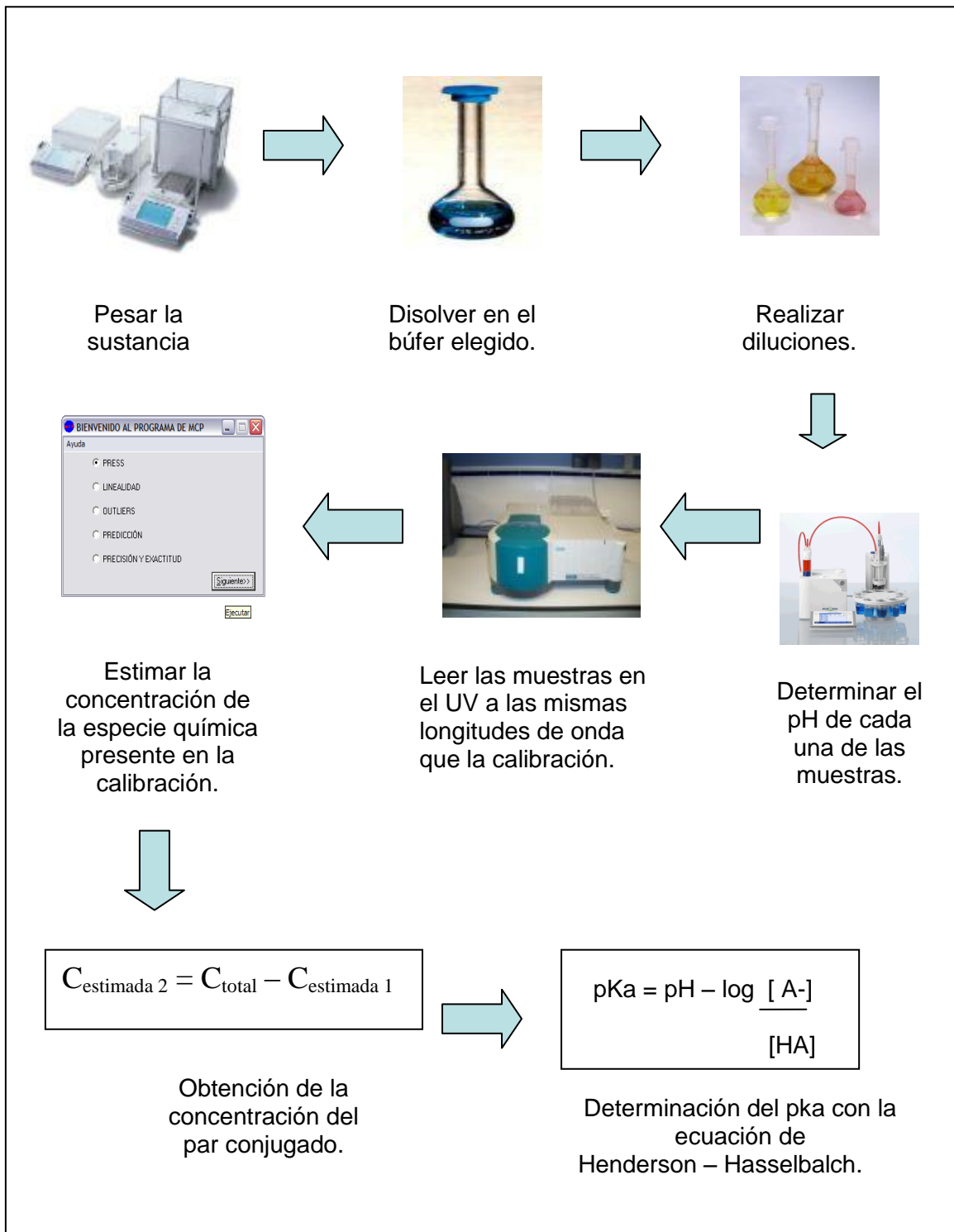


Figura 3: Diagrama del procedimiento general para la elaboración de las muestras y la determinación el pKa.



El búfer se debe elegir en base a las siguientes características:

- Ser inerte con el fármaco o sustancia.
- Confiabilidad de amortiguamiento
- Debe de encontrarse en un pH donde se puede cuantificar las dos especies químicas del par conjugado.

ANÁLISIS DE LA CALIBRACIÓN POR EL MÉTODO DE MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES

El programa de mínimos Cuadrados Parciales sirve para realizar análisis con este fin y este se encuentra compuesto por cuatro fases: Press, linealidad, Outliers y Predicción. Este programa se utiliza de la siguiente manera:

CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN QUÍMICA EN LA MUESTRA.

Los resultados obtenidos se analizarán de la siguiente manera:

- Primera Concentración:

Se obtiene de la Concentración que estima por el programa de MCP

- Segunda Concentración

(Concentración real – Concentración de la primera especie del par conjugado) =
Concentración de la especie de la otra especie química del par conjugado.

Posteriormente con la Ecuación de Henderson – Hasselbalch

$$pK_a = pH + \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Despejando pKa

$$pK_a = pH - \log \frac{[A^-]}{[HA]}$$

En donde el pH se conocerá debido a que se obtuvo previamente en la lectura de cada una de las muestras del ensayo.

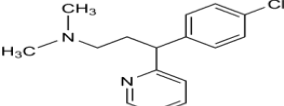

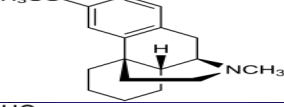

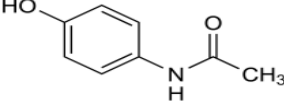
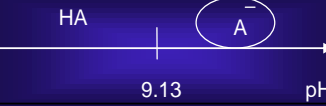
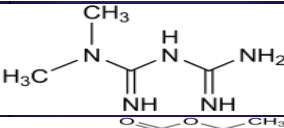
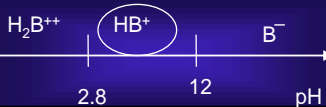
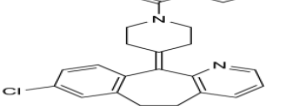
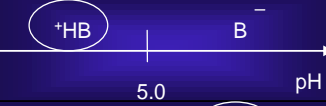
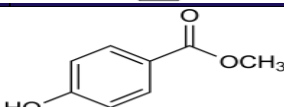

CAPÍTULO III

RESULTADOS Y ANÁLISIS DEL MÉTODO ANALÍTICO.

En este trabajo se determinó el valor de pKa de un excipiente (metilparabeno) y cinco fármacos: clorfenamina, dextrometorfano, acetaminofén, metformina y la loratadina; siendo este último un experimento que se realizó a ciegas.

Cada una de las sustancias que se mencionaron son moléculas de naturaleza ácida o básica por lo cual poseen una especie conjugada de acuerdo a la teoría de BRÖNSTED-LOWRY. En la siguiente tabla se muestra la naturaleza de cada una de las sustancias así como las zonas de predominio.

Tabla 4: Estructura molecular y zonas de predominio de cada sustancia.

<h2>Zonas de Predominio</h2>				
NOMBRE	NATURALEZA QUÍMICA	CALIBRACIÓN (MEDIO DE DILUCIÓN)	ESTRUCTURA MOLÉCULA	ZONAS DE PREDOMINIO DE LAS ESPECIES QUÍMICAS
Clorfenamina	BASE	HCl 0.1 N.		
Dextrometorfano	BASE	HCl 0.1 N.		
Acetaminofén	ÁCIDO	HCl 0.1 N. Na OH 0.1 N.		
Metformina	DIBASE	Búfer de Fosfatos pH 7.11		
Loratadina	BASE	HCl 0.1 N.		
Metilparabeno	ÁCIDO	HCl 0.1 N. Na OH 0.1 N.		

En la tabla 4 se encuentran cada una de las sustancias a las que se les determinó el valor de pKa. La estructura molecular de la clorfenamina indica que su naturaleza química es una base y su calibración se realizó en HCl 0.1 N. Al observar la zona de predominios

la especie que predomina es la protonada (HB^+). Para el Dextrometorfano de naturaleza química básica, también se elaboró la calibración en HCl 0.1 N. en donde predomina la especie química protonada (HB^+). El acetaminofén cuya naturaleza química es ácida, se realizaron dos calibraciones una en HCl 0.1 N, donde predomina la especie química protonada (HB). Y la segunda calibración se realizó en NaOH 0. 1N donde predomina la especie química no protonada (A^-). En el caso de la metformina cuya naturaleza química es una dibáse se realizó la calibración en un Búfer de fosfatos pH 7.11 en donde la especie predominante es protonada (HB^+). Para la loratadina (Base) se realizó la calibración en HCl 0.1 N., donde la especie predominante es la especie protonada (HB^+). Finalmente el metilparabeno (Ácido) se realizaron dos calibraciones una en HCl 0.1 N. donde la especie predominante es la protonada (HA^+). Y la segunda calibración se realizó en NaOH 0.1 N donde predomina la especie ionizada (A^-).

En cada una de las calibraciones se cumple el objetivo principal de que predominara una especie química casi al 100%, cabe mencionar que hay sustancias en las que se realizan calibraciones en medio ácido y en medio básico como son las de naturaleza química ácida; mientras que a las de naturaleza química básica solamente se realizó en un medio; esto se debe a las propiedades de solubilidad de la molécula y a las cualidades de la calibración; sin embargo se aprecia una mayor confiabilidad en los resultados con la calibración en HCl 0. N.

En la siguiente tabla se mostrará un compendio de los medios de disolución, las concentraciones de la calibración, las concentraciones de las muestras, así como las longitudes de onda. Si se requiere información más detallada del procedimiento se encuentra en la sección de anexos.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

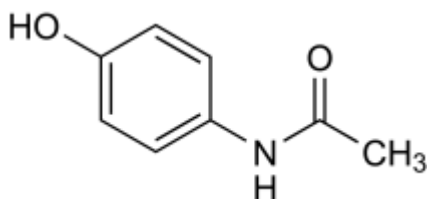
Tabla 5: Condiciones de trabajo para la determinación del pKa de cada una de las sustancias.

Nombre de la sustancia	Medio de disolución (calibración)	Medio de disolución (muestras)	Intervalo de Concentraciones (calibración) mcg / ml.	Intervalos de Concentraciones (muestras) mcg / ml.	Longitudes de onda
Acetaminofén	Na OH 0.1 N.	Búfer de boratos pH 9.33	7.81 - 39.05	11.77 - 35.33	255, 250, 245, 240, 235, 230, 225, 220. 225.
	HCl 0.1 N.		12.97 - 30.28		250, 245, 240, 235, 225, 220.
Dextrometorfano	HCl 0.1 N.	Búfer de fosfatos pH 8.7	31.95 - 71.89	38.58 - 67.51	229, 228, 227, 225, 222, 220, 218, 215, 213, 212, 211, 210, 209, 208, 201, 200.
Clorfenamina	HCl 0.1 N.	Búfer de fosfatos pH 8.7	19.47 - 51.94	25.96 - 46.63	222, 220, 219, 218, 217, 216, 215, 214, 213, 212, 211, 210, 208, 203, 202.
Metformina pKa1	Búfer de Fosfatos pH 7.11	Búfer de fosfatos pH 2.7	13.97 - 37.27	15.93 - 37.19	229, 228, 227, 226, 225, 223, 220.
Metformina pKa 2		Búfer de fosfatos pH 11.97		15.99 - 31.99	240, 235, 230, 225, 220, 215, 210, 205, 202.
Metilparabeno	Na OH 0.1 N.	Búfer de fosfatos pH 8.0	10.48 - 26.2	10.48 - 26.20	295, 290, 280, 275, 270, 265, 260, 258.
	HCl 0.1 N.		13.36 - 24.04		270, 265, 260, 258, 255, 250, 245, 215, 210, 205, 200.
Loratadina	HCl 0.1 N.	Búfer de fosfatos pH 4.7	11.1 - 22.2	14.28 - 21.42	220, 218, 214, 210, 208, 206, 204, 201, 200.

A continuación se mostrará un ejemplo de la determinación del pKa a partir de los resultados obtenidos en el espectro de absorción. Sin embargo sólo se mostrará la determinación del pKa del acetaminofén, los demás resultados se sintetizarán en tablas para agilizar la información debido a que el procedimiento es repetitivo; no obstante en el apartado de anexos se encontrará toda la información.

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ DEL ACETAMINOFÉN (MOLECULA MONOPRÓTICA)

1. El primer paso es observar la estructura molecular e identificar su naturaleza química.



Naturaleza Química: Ácido

Especie Química Cuantificada: Básica

Metodología del Análisis de Datos de la Calibración.

Al obtener los espectros de absorción en HCl 0.1 N. y en NaOH 0.1 N. a una concentración de 39 mcg/mL a una longitud de onda de 200 a 400 nm. Elegir de 8 a 10 longitudes de onda considerando puntos máximos, mínimos, puntos de inflexión, mesetas, como se muestra en el siguiente gráfico.

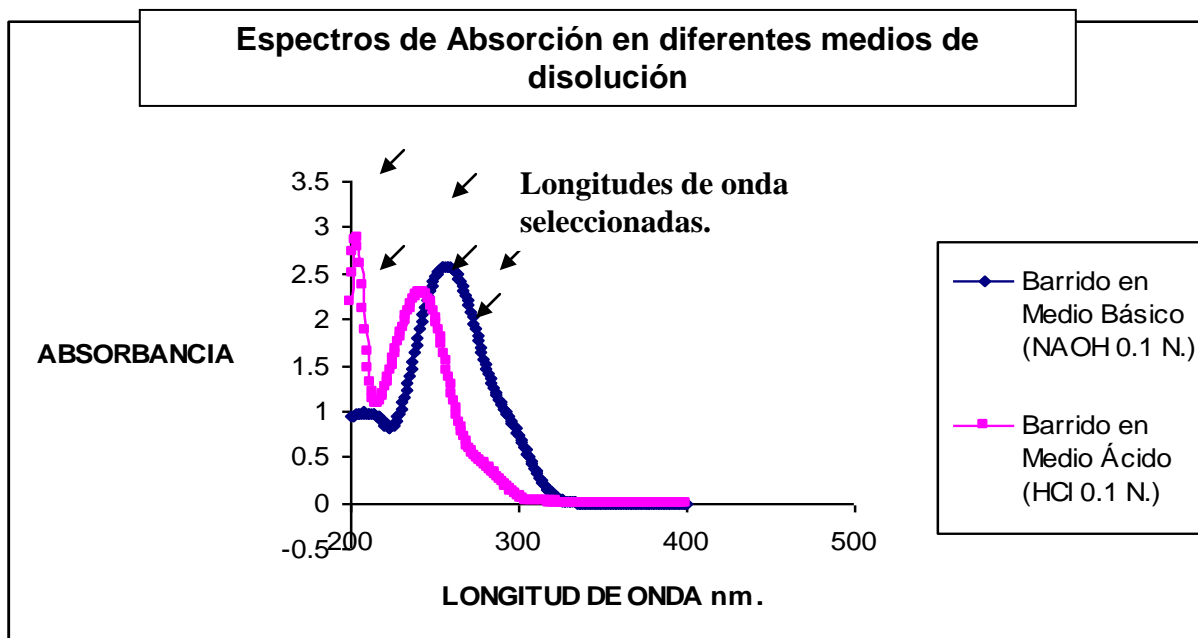


Gráfico 1: Selección de las longitudes de onda del acetaminofén, en espectros de absorción con diferente medio de disolución.



En la siguiente tabla se muestran los resultados de las absorbancias a diferentes longitudes de onda, con sus respectivas concentraciones.

TABLA 6: Muestra las absorbancias y concentraciones de la calibración del acetaminofén en NaOH 01 N.

CALIBRACIÓN DE ACETAMINOFÉN EN NaOH 0.1 N.								
	ABS(260)	ABS(258)	ABS(257)	ABS(256)	ABS(255)	ABS(253)	ABS(251)	ABS(250)
Concentración								
7.81	0.5209	0.528	0.5283	0.5273	0.5252	0.5194	0.5116	0.5063
7.81	0.53	0.5369	0.5375	0.5369	0.5353	0.5295	0.5192	0.5132
7.81	0.5496	0.5578	0.5593	0.5594	0.5582	0.5523	0.5423	0.5362
15.62	1.046	1.0574	1.0588	1.0579	1.0549	1.0427	1.0227	1.0099
15.62	1.0539	1.0653	1.0668	1.0654	1.062	1.0497	1.0295	1.0165
15.62	1.054	1.0661	1.068	1.0672	1.0638	1.0517	1.0309	1.0176
23.43	1.5675	1.5843	1.5863	1.5847	1.5796	1.5616	1.531	1.5118
23.43	1.578	1.5932	1.5958	1.5948	1.5898	1.5713	1.5405	1.5206
23.43	1.5958	1.6121	1.6145	1.6129	1.6086	1.5904	1.5596	1.5401
31.24	2.078	2.0996	2.102	2.1	2.094	2.0704	2.0299	2.0037
31.24	2.0823	2.1038	2.1069	2.1055	2.0996	2.0766	2.0364	2.0104
31.24	2.0897	2.1116	2.1155	2.115	2.1088	2.0848	2.0444	2.0189
39.05	2.5497	2.5751	2.5782	2.5766	2.569	2.5409	2.4927	2.4616
39.05	2.5572	2.5821	2.5847	2.5823	2.5743	2.5444	2.4951	2.4624
39.05	2.5791	2.6062	2.6098	2.608	2.5982	2.5687	2.5191	2.4872

ANÁLISIS DE RESULTADOS

El análisis con MCP comienza a partir de aquí. Al ingresar los valores de la tabla anterior el programa de MCP (ISHEJA) realiza un análisis estadístico a la calibración. SCERP (Suma de los cuadrados de los errores de predicción), en el cual se elige en número de factor óptimo. Dicho factor se elige cuando se aprecia en la gráfica de SCERP un cambio considerable en la tendencia. En la tabla se observan los valores de SCERP y enseguida su gráfico.

Tabla 7: Valores de la suma de cuadrado de los errores de predicción (SCERP)

Para la calibración de Acetaminofén en NaOH 0.1 N.

PRESS	ACETAMINOFÉN (NaOH 0.1 N.)
H 1	1.03E+00
H 2	6.49E-01
H 3	5.14E-01
H 4	4.24E-01
H 5	1.90E-01
H 6	1.29E-01
H 7	9.87E-02
H 8	9.80E-02
H 9	9.75E-02
H 10	8.83E-02
H 11	8.39E-02
H 12	8.26E-02
H13	8.08E-02
H 14	7.70E-02
H15	7.66E-02
H 16	7.62E-02
H 17	7.32E-02
H 18	7.04E-02
H 19	5.99E-02
H 20	4.68E-02

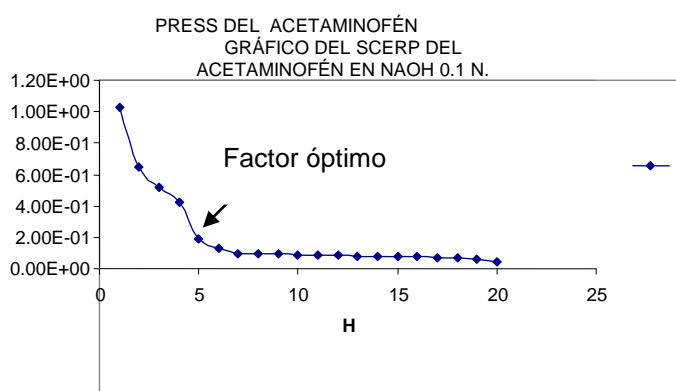


Gráfico2: Resultados de SCERP de la calibración del Acetaminofén en Medio Básico.

Tabla 8: Resultados de Muestras desechables para la calibración de acetaminofén en NaOH 0.1 N.

Muestras desechables	Acetaminofen NaOH
Factor H 5	
CONC. 1	3.09%
CONC. 2	1.19%
CONC. 3	1.71%
CONC. 4	-0.06%
CONC. 5	-1.59%
CONC. 6	-1.16%
CONC. 7	-0.20%
CONC. 8	1.89%
CONC. 9	0.79%
CONC. 10	0.52%
CONC. 11	0.49%
CONC. 12	-0.99%
CONC. 13	-1.13%
CONC. 14	-0.53%
CONC. 15	1.27%

La tabla anterior es emitida por el programa de MCP y nos indica las absorbancias de esas muestras que no son adecuadas para modelo lineal; por lo cual MCP las deshecha. Las muestras desechables fueron identificadas como las que presentan desviaciones mayores al 2.0% como está indicado en la tabla.

Tabla 9: Resultados estadísticos de la calibración de acetaminofén en NA OH 0.1 N.

REGRESIÓN	Acetaminofén
Factor H 3	
PROMEDIO	1.0003
DESVEST	0.00476
C.V.	0.47599
INTERCEPTO	0.00126
PENDIENTE	0.99995
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN	0.9999

El programa de MCP también proporciona el análisis estadístico general de la calibración, como se muestra en la tabla anterior.

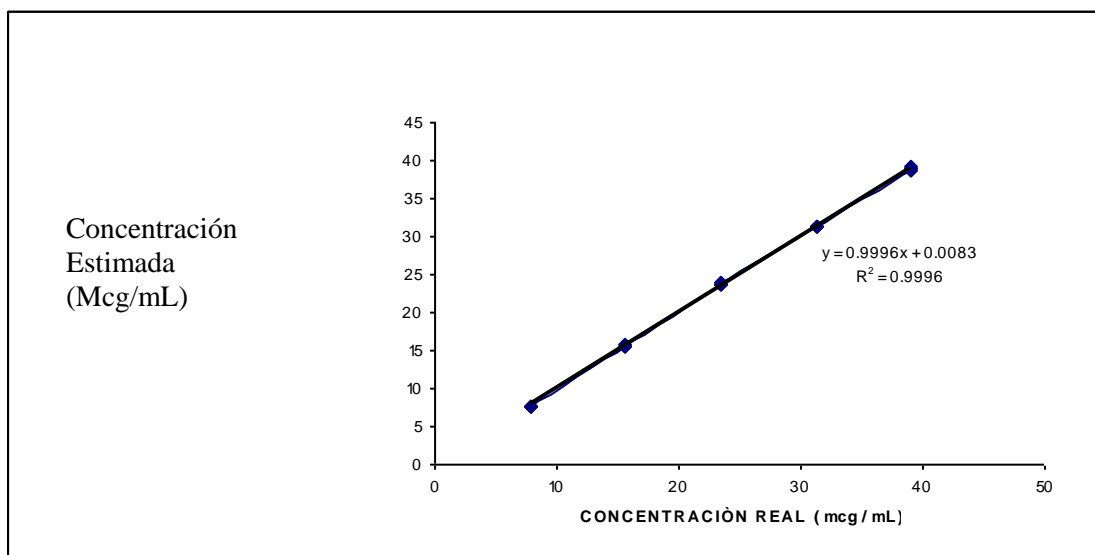


Gráfico 3: Gráfico de la validación cruzada entre la concentración real y la concentración estimada.

A cada una de las calibraciones de las diversas sustancias se le realizó una validación cruzada como se muestra en la gráfica anterior.

PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE DATOS DE LAS MUESTRAS y DETERMINACIÓN DEL pKa

- Como ya se mencionó en la parte experimental, para determinar el pKa, las muestras se utilizó una solución amortiguadora. En el caso del acetaminofén fue un búfer de boratos a un pH de 9.44. Las absorbancias que se muestran en la siguiente tabla son ingresadas en el programa de MCP (ISHEJA) en el apartado de predicción, en el cual realiza la estimación de la concentración de la especie química predominante en las soluciones de la calibración. En la tabla 10 se muestran las estimaciones para las soluciones de acetaminofén.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 10: Valores de absorbancias, concentraciones y pH de las muestras de acetaminofén en búfer de boratos pH 9.44.

MUESTRAS DE ACETAMINOFÉN EN BÚFER DE BORATOS Ph 9.44									
		ABS (260)	ABS (258)	ABS (257)	ABS (256)	ABS (255)	ABS (253)	ABS (251)	ABS (250)
pH	Concentración								
9.41	11.77	0.639	0.6862	0.7082	0.7294	0.7497	0.786	0.8149	0.826
9.39	17.66	0.9375	1.0069	1.0389	1.0704	1.0998	1.153	1.1954	1.2114
9.38	17.66	0.9223	0.9907	1.0224	1.0532	1.083	1.1356	1.1774	1.1932
9.38	23.55	1.2272	1.3185	1.3606	1.4014	1.4406	1.5111	1.5665	1.588
9.38	23.55	1.2227	1.3137	1.3557	1.3963	1.4353	1.5052	1.5606	1.5814
9.38	29.44	1.5023	1.6143	1.6655	1.7157	1.7635	1.849	1.9172	1.9431
9.38	35.33	1.8742	2.0098	2.0718	2.1326	2.1901	2.2942	2.3765	2.4079
9.38	35.33	1.8573	2.0076	2.0788	2.1389	2.1964	2.2995	2.3709	2.4714
9.38	35.33	1.8584	2.0056	2.0754	2.1321	2.1913	2.2925	2.3719	2.4741

Tabla 11: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido en un medio de disolución de Búfer de boratos pH 9.44, por el método de MCP.

		Concentraciones Predictivas.		Determinación del pKa	
pH	Concentración	[A]	[HA]	LOG [A]/ [HA]	pKa= pH - LOG [A]/ [HA]
9.41	11.77	7.5999	4.1701	0.2606	9.15
9.39	17.66	11.6692	5.9908	0.2895	9.10
9.38	17.66	11.0982	6.5618	0.2282	9.16
9.38	23.55	14.7448	8.8052	0.2239	9.16
9.38	23.55	14.7028	8.8472	0.2206	9.16
9.38	29.44	18.4647	10.975	0.2259	9.16
9.38	35.33	23.4586	11.871	0.2958	9.09
9.38	35.33	23.4186	11.911	0.2935	9.09
9.38	35.33	23.3586	11.971	0.2903	9.09
				PROMEDIO	9.13
				DESVEST	0.03
				C.V.	0.37

En la tabla anterior se encuentra el valor de pH de cada una de las muestras, así como la concentración total de la sustancia, posteriormente en donde dice concentraciones predictivas, el programa de MCP estimó la concentración de la especie de la calibración y la otra se calculó por diferencia con la concentración real. Y finalmente en la última columna se expresa el valor de pKa experimental obtenido mediante la ecuación de Henderson – Hasselbach.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

En la siguiente tabla se expresan los resultados obtenidos mediante la herramienta solver de Excel para determinar el valor de pKa. Se utilizó esta otra forma de estimar el pKa para corroborar de dos maneras el valor estimado de la constante de disociación ácida.

Tabla 12: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido en un medio de disolución de Búfer de boratos pH 9.44 con solver (Excel).

ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: BÁSICA							
pKa(1)		9.642950457					
ACETAMINOFÉN							
CT	pH	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
11.77	9.41	7.5999	0.6457	0.6310	-0.015	0.0002	-2.28%
17.66	9.39	11.6692	0.6608	0.6416	-0.019	0.0003	-2.90%
17.66	9.38	11.0982	0.6284	0.6469	0.0185	0.0003	2.94%
23.55	9.38	14.7448	0.6261	0.6469	0.0208	0.0004	3.32%
23.55	9.38	14.7028	0.6243	0.6469	0.0226	0.0005	3.62%
29.44	9.38	18.4647	0.6272	0.6469	0.0197	0.0003	3.14%
35.33	9.38	23.4586	0.6640	0.6469	-0.0170	0.0002	-2.57%
35.33	9.38	23.4186	0.6629	0.6469	-0.0160	0.0002	-2.41%
35.33	9.38	23.3586	0.6611	0.6469	-0.0142	0.0002	-2.16%

Debido a que el procedimiento es repetitivo para la determinación del pKa para cada sustancia, se decidió resumir la información en la siguiente tabla. Sin embargo los procedimientos del análisis de datos de cada sustancia se encuentran en los anexos.

ANÁLISIS DE RESULTADOS

Tabla 13: Muestra los resultados de la determinación de las sustancias seleccionadas para la determinación del pKa.

RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ			
NOMBRE DEL ANALITO (Medio de Calibración)	pKa Teórico	PKA EXPERIMENTAL	
		MCP (Medio de Disolución)	SOLVER
ACETAMINOFÉN NaOH 0.1 N.	9.5	9.12 ± 0.050 (Búfer de Fosfatos pH 8.7)	9.64
ACETAMINOFÉN (HCl 0.1 N.	9.5	9.815 ± 0.034 (Búfer de Fosfatos pH 8.7)	9.64
CLORFENAMINA HCl 0.1 N.	9.13	9.55 ± 0.033 (Búfer de fosfatos pH 9.10)	9.54
DEXTROMETORFANO HCl 0.1 N.	8.3	8.65 ± 0.11 (Búfer de Fosfatos pH 8.0)	8.64
LORATADINA HCl 0.1 N.	5.0	5.08 ± 0.124 (Buffer de Fosfatos pH 4.7)	5.068
METFORMINA PKA1 Búfer de Fosfatos pH 7.11	2.8	3.14 ± 0.054 (Búfer de Fosfatos pH 2.7)	3.34
METFORMINA PKA 2 Búfer de Fosfatos pH 7.11	12.0	12.66 ± 0.175 (Búfer de Fosfatos 11.97)	12.69
METILPARABENO HCl 0.1 N.	8.4	8.52 ± 0.11 (Búfer de Fosfatos pH 8.0)	8.87
METILPARABENO Na OH 0.1 N.	8.4	8.8 ± 0.083 (Búfer de Fosfatos Ph 8.0)	8.51

En la tabla anterior se presentan los resultados de los pKa's obtenidos. Cabe mencionar que los pKa's de las sustancias ya se encuentran reportados y fueron los valores que se tomaron como referencia para tener un indicador del éxito o el fracaso del procedimiento analítico y evaluar su aplicabilidad para determinar el pKa a sustancias, cuyo valor se desconozca. Es por ello que se utilizaron sustancias de diferente naturaleza Química. Es importante mencionar que en este trabajo la mayor parte de las sustancias fueron monoproticas; sin embargo existe una diprotica, Metformina. Con ella, debido a que

ANÁLISIS DE RESULTADOS

sus valores de pKa son muy diferentes, se trabajó como si fueran dos moléculas monoproticas.

El acetaminofén fue la primera sustancia a la que se le determinó su valor de pKa experimental. El valor estimado fue de 9.8 con una desviación estándar ± 0.05 de por el programa de MCP y de 9.84 con el programa de Solver, ambos en una calibración ácida. En una calibración básica el valor de pKa obtenido por el programa de MCP es de 9.12 con una desviación estándar de ± 0.034 y por el programa de solver es de 9.64, el valor reportado por la literatura es de 9.5. El valor de pKa experimental de la clorfenamina es de 9.55 con una desviación estándar de ± 0.033 , el obtenido por solver es de 9.54, el valor reportado por la literatura es de 9.13. El valor reportado por la literatura para el Dextrometorfano es de 8.3, el experimental por el programa MCP es de 8.65 con una desviación estándar de ± 0.11 , y el valor obtenido por solver es de 8.64. La metformina tiene dos valores reportados por la literatura, el primero es de 3.8 y el segundo de 12. Los obtenidos experimentales son los siguientes: pKa₁ por el programa de MCP 3.34 ± 0.054 , y por solver 3.34, Los valores de pKa₂: Por el programa de MCP es de 12.66 ± 0.176 y por solver de 12.69. En el caso del metilparabeno debido sus propiedades de solubilidad se realizó una calibración en medio ácido y otra en medio básico, el valor de pKa experimental (medio ácido) por MCP es de 8.52 ± 0.11 y por solver de 8.87. El valor experimental de pKa (medio básico) por MCP es de 8.8 ± 0.83 y por solver es de 8.51; siendo de 8.4 el valor reportado por la literatura.

Los resultados obtenidos entre el programa de Mínimos Cuadrados Parciales y los obtenidos por solver, no presentan una diferencia significativa entre sí.; por lo cual se corrobora el resultado obtenido por el programa de MCP. Cabe mencionar que los valores de pKa experimentales son aproximados a los reportados por la literatura; situación que nos indica que nuestro procedimiento es el adecuado para realizar la determinación de la constante ácida de sustancias monoproticas. En el transcurso del trabajo se observó que la pureza de la sustancia y del medio de disolución, influyen en los resultados finales como fue en el caso de los resultados del acetaminofén, clorfenamina y el dextrometorfano que se encuentran variaciones, además de que no se controló la fuerza iónica y está también añade variación. También pueden existir variaciones si se utiliza un búfer que no se encuentre en su mayor fuerza amortiguadora, por el pH utilizado como medio de disolución, como ocurrió en el caso del pKa₁ de la metformina, ya que el búfer de fosfatos a un pH de 2.7 no se encontraba en su mayor fuerza; sin embargo muy a pesar de que se realizaron este tipo de pruebas al procedimiento los valores

ANÁLISIS DE RESULTADOS

son muy cercanos a los reportados por la literatura y estos varían de 0.1 – 0.5 en valor de pKa. Por lo cual se puede decir que la metodología propuesta en este trabajo es útil para realizar la determinación de la constante de acidez de una manera rápida y confiable.

Para comprobar la efectividad del procedimiento se planteó un experimento simple a ciegas. En dicho experimento el analista únicamente sabía la estructura y el peso molecular de sustancia y a partir de esos dos datos se determinó el valor de pKa siguiendo el procedimiento ya planteado para las otras sustancias. En estos casos lo primero que se realizó fue identificar la naturaleza química (Base), posteriormente elegir el medio de disolución de la calibración (HCl 0.1 N.) y el medio de disolución de las muestras. Lo interesante fue en este punto y la pregunta era ¿cuál es el Búfer que se debe utilizar y a que valor de pH? Con las sustancias anteriores se conocía el valor de pKa teórico y con ello se elegía un valor de pH cercano al valor de pKa. En este experimento no se tenía ese dato; por lo cual se decidió partir de un pH neutro y de ahí mover el valor de pH ± 1 , al observar valores ilógicos a un pH de 7 y 8, se decidió trabajar con un búfer de pH 6 y otro de 4.7, con el último se observó que era el pH adecuado, con lo cual se realizaron repeticiones para corroborar el resultado, finalmente el valor experimental que se reportó fue de 5.08 ± 0.12 , Una vez encontrado el valor de pKa se reveló la identidad de la sustancia, fue la loratadina, como se muestra en la tabla 2. Cabe mencionar que en este experimento se trabajó con una sustancia USP (estándar primario), cuyo valor reportado en la literatura es de 5.0.

Tabla 14: Muestra los resultados estadísticos de cada una de las calibraciones.

RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LAS CALIBRACIONES				
Regresión	Acetaminofén Na OH 0.1 N.	Acetaminofén HCl 0.1 N.	Clorfenamina HCl 0.1 N.	Metformina Búfer de Fosfatos pH 7.11
No. De Factor (H)	H3	H3	H2	H2
Promedio	1.003	1.0004	1.0001	1.0001
Desviación	0.00476	0.01405	0.00531	0.00772
Estándar				
Coficiente de variación	0.47599	1.40462	0.5308	0.77152
Intercepto	0.00126	0.04475	0.00959	0.01097
Pendiente	0.99995	0.99793	0.99973	0.99957
Coficiente de correlación	0.9999	0.99793	0.99973	0.99957

Tabla 15: Muestra los resultados estadísticos de cada una de las calibraciones.

RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LAS CALIBRACIONES				
Regresión	Metilparabeno HCl 0.1 N.	Metilparabeno NaOH 0.1 N.	Dextrometorfano HCl 0.1 N.	Loratadina HCl 0.1 N.
No. De Factor (H) MCP (PRESS)	H4	H2	H3	H3
Promedio	1	0.9995	0.9998	1
Desviación Estándar	0.00225	0.01739	0.00905	0.00885
Coefficiente de variación	0.22482	1.73965	0.90528	0.88492
Intercepto	0.00183	0.04676	0.06299	0.02523
Pendiente	0.99991	0.99725	0.99879	0.99848
Coefficiente de correlación	0.99991	0.99725	0.99879	0.99848

De acuerdo a las tablas 14 y 15 se demuestra que todas las calibraciones cumplen con un modelo lineal con un intercepto cercano a 0 y un coeficiente de correlación mayor o igual a 0.99; por lo cual se puede decir que los resultados ya mencionados en las determinaciones del pKa son confiables.

Con este trabajo se enfatiza la capacidad del método de Mínimos cuadrados parciales para cuantificar especies químicas, es decir sustancias que difieren en su estructura por tan solo la presencia de un protón pero cuya diferencia en sus espectros de absorción, permiten obtener respuestas analíticas utilizables en su cuantificación. Así se tiene un procedimiento para estimar constantes de acidez, como opción diferente a los métodos ya existentes, y cuyo método lo pueden utilizar Químicos que no sean expertos determinando constantes de acidez.

CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES:

- Se desarrolló un método analítico espectrofotométrico, utilizando el algoritmo de mínimos cuadrados parciales, para estimar la concentración de una especie química del par conjugado de cinco sustancias monoproticas: clorfenamina, dextrometorfano, acetaminofén, metformina y la loratadina para estimar su constante de acidez de una manera rápida, económica y confiable.
- Se diseñó un procedimiento experimental que parte de conocer la estructura, naturaleza química y espectros de absorción de una sustancia para elegir el medio de disolución para elaborar una calibración y estimar la concentración de una de las especies químicas de muestras, para determinar el valor de pKa.
- Se determinó el pKa de cinco sustancias, el $pK_{a_{exp}}$ del acetaminofén en una calibración en HCl fue de 9.8 con un CV. 0.5 %, y en una calibración con NaOH fue de 9.12 con un CV. de 0.34%. El $pK_{a_{exp}}$ de la clorfenamina fue de 9.55 con un CV de 0.33%. El dextrometorfano presentó un $pK_{a_{exp}}$ de 8.65 con un CV de 1.27 %. El $pK_{a_{1exp}}$ de la Metformina fue de 3.14 con un CV de 1.72%. El segundo $pK_{a_{exp}}$ de la metformina fue de 12.66 con un CV de 1.38 %. El metilparabeno en un medio ácido presentó un $pK_{a_{exp}}$ de 8.88 con un CV de 0.93 %, en un medio básico fue de 8.8 con un CV de 1.29 %. Con los resultados anteriores se demuestra que el método es reproducible y respeta en mismo fundamento en todos los casos; además que todos los resultados de los $pK_{a_{exp}}$ presenta un CV menor al 2% con lo cual se demuestra la confiabilidad del procedimiento.
- Se determinó el $pK_{a_{exp}}$ de la loratadina con una pureza de 100% (sustancia monoproticas) USP, en un experimento simple ciego, obteniendo un $pK_{a_{exp}}$ de 5.08 con un CV de 1.86, cuando el valor de referencia indicado por la literatura es de 5.0. Con ello se cree que este procedimiento podría ser utilizado para la determinación de pK_{a} 's desconocidos.

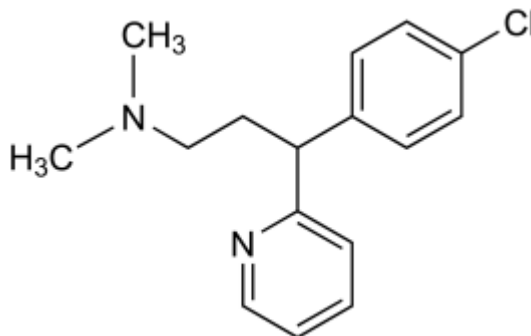
ANEXOS

CARÁCTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS DEL MALEATO DE CLORFENAMINA

Nombre Químico: γ -(4-Chlorofenil)-*N,N*-dimetil-2-pyridinepropanamine.

Sinónimos: Clorfeniramina.

Estructura Química:



Fórmula Condensada: $C_{16}H_{19}Cl N_2, C_4H_4O_4$

Masa Molecular: 390.9 g./mol.

Apariencia: Cristales Blancos.

Naturaleza Química: Base.

Constante de Disociación: pKa 9.13 (25°).

Solubilidad:

SOLVENTE	CANTIDAD
Agua	1 en 1.1
Etanol	1 en 2
Cloroformo	1 en 1.7
Éter	1 en 2500

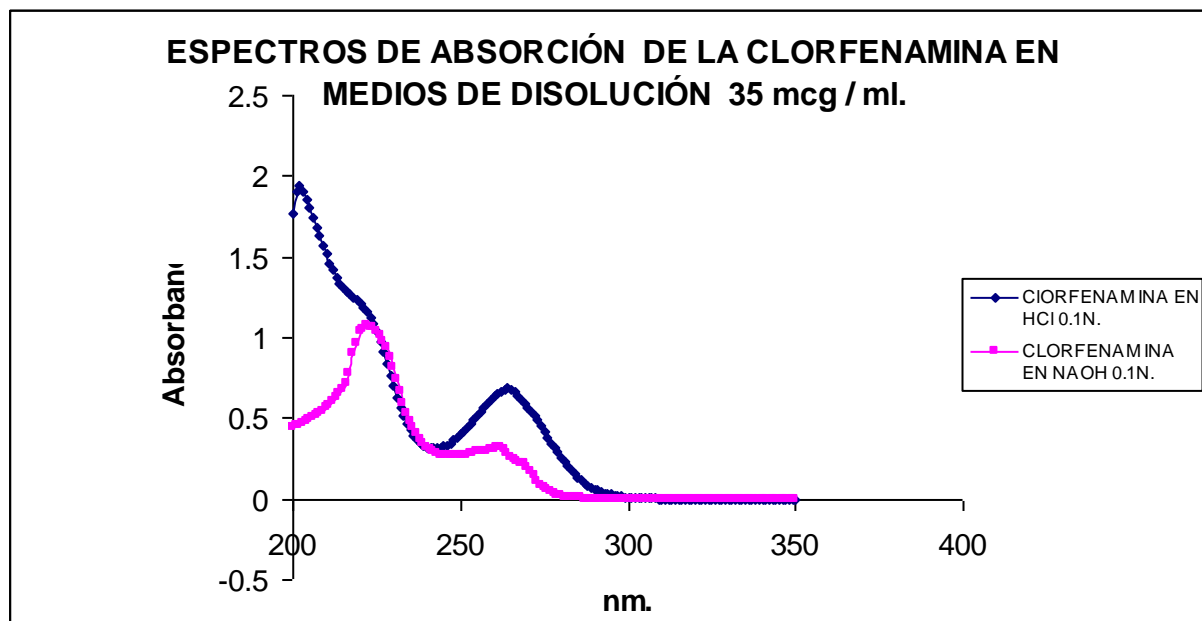


Gráfico 4: Muestra los espectros de absorción de la clorfenamina a diferentes medios de disolución.

PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS

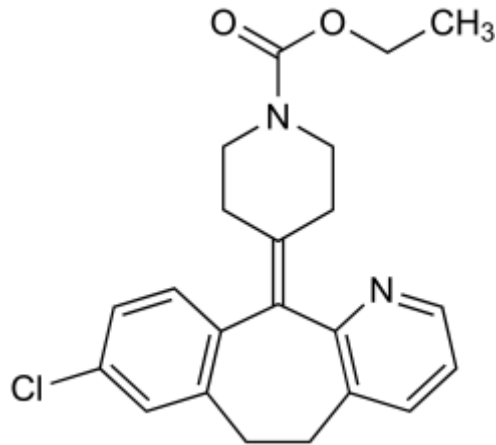
La Clorfenamina es un fármaco antihistamínico. Los antagonistas de H1 inhiben gran parte de los efectos de la histamina en los músculos, estos antagonistas generalmente bloquean con gran fuerza el incremento de la permeabilidad capilar y la formación de edema y pápula desencadenados por la histamina. Controla las reacciones de hipersensibilidad inmediata: anafilaxia y alergia. Estimula y deprime al sistema nervioso central. Inhiben respuestas a la acetilcolina que son mediadas por receptores muscarínicos.

La Clorfenamina compete con la histamina por los sitios receptores H1 en células efectoras. Evita pero no anula, las respuestas mediadas por histaminas. La Clorfenamina se absorbe adecuadamente en vías gastrointestinales. Después de la administración de la formulación oral en jarabe, la concentración sérica en pico en un rango de 2.5 a 6 horas. La biodisponibilidad para la Clorfenamina es más o menos 0.34. En varios estudios el volumen de distribución ha variado de 4.3 a 7.0 l/kg en niños y de 5.9 a 11.7 l/kg en adultos. El fármaco se metaboliza en gran parte en las células de la mucosa gastrointestinal y en el hígado. En humanos Clorfenamina es N-desalquilada a desmetilclorfeniramina y didesmetilclorfeniramina. Ambos metabolitos alquilados han sido detectados y medidos en plasma y/u orina. Después de la dosis única oral estos metabolitos no fueron siempre detectados en plasma. Cuando fueron administrados 6 mg de Clorfenamina cada 12 horas en 9 dosis a dos sujetos, la concentración en estado estable en plasma de desmetilclorfenamina fue 7.6 µg/l

CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DE LA LORATADINA

Nombre Químico: 4-(8-Cloro-5,6-dihidro-11*H*-benzo [5,6] ciclohepta [1,2-*b*] piridina-11-ylidene)-1-piperidinacarboxílico ácido etil Ester.

Estructura Química:



Formula Condensada : $C_{22}H_{23}Cl N_2O_2$

Masa Molecular: 382.9 g./mol.

Apariencia: Cristales Blancos

Punto de Fusión: 134 – 136 °C

Naturaleza Química: Base

Constante de Disociación: pKa 5.0.

Solubilidad:

SOLVENTE	CANTIDAD
Agua	Insoluble
Etanol	1 en 10

ESPECTRO ULTRAVIOLETA

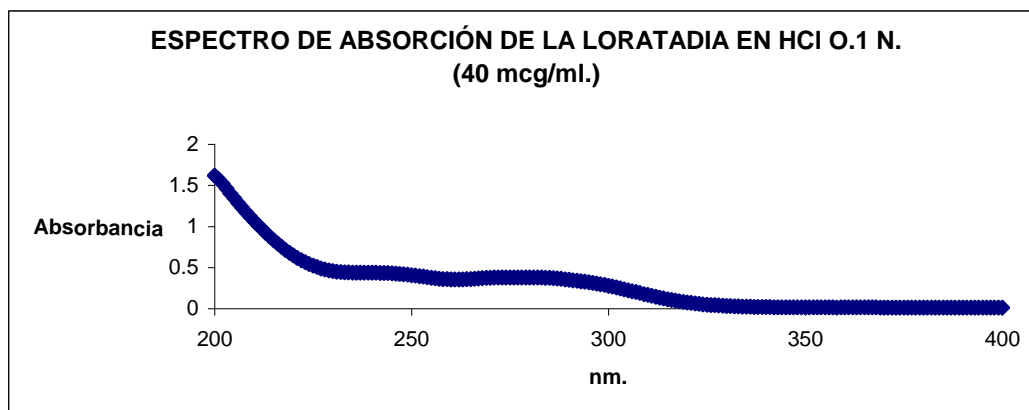


Gráfico 5: Muestra el espectro de absorción de la Loratadina.

PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS:

La Loratadina es un fármaco antihistamínico. Los antagonistas de H1 inhiben gran parte de los efectos de la histamina en los músculos, estos antagonistas generalmente bloquean con gran fuerza el incremento de la permeabilidad capilar y la formación de edema y pápula desencadenados por la histamina. Controla las reacciones de hipersensibilidad inmediata: anafilaxia y alergia. Estimula y deprime al sistema nervioso central. Inhiben respuestas a la acetilcolina que son mediadas por receptores muscarínicos.

El alimento no afecta al fármaco principal y al metabolismo de las concentraciones pico de plasma ($C_{máx}$) para ninguna de las tabletas estándar de loratadina. Unión total de proteínas 97%. La descarboetoxiloratadina tiene de 73 a 77% de unión de proteína. Otros sitios de distribución ni la loratadina ni su metabolismo descarboetoxi de buena gana atraviesan la barrera de sangre/cerebro.

La loratadina se une preferencialmente hacia el sistema nervioso periférico que a los receptores de histamina-1 del sistema nervioso central. Periodo de distribución de 1 a 2 horas, la loratadina y su metabolismo activo demuestran un modelo difásico de eliminación volumen de distribución, los estudios han mostrado una variabilidad considerable en los datos farmacocinéticas.

Siguiendo la administración oral, la loratadina está sujeta al extenso primer paso del metabolismo en el hígado hacia un metabolismo activo, descarboetoxiloratadina (SCH 34117), el cual es cerca de 4 veces más potente que el componente principal. El metabolismo activo está conjugado para activar los componentes. La excreción en la leche materna se desconoce.

La loratadina y descarboetoxiloratadina pasan libremente a la leche materna alcanzando concentraciones que son equivalentes a los niveles de plasma. Los estudios de lactación han determinado que la dosis recibida por un infante amamantado (4 kilos) sería de 0.46% de la dosis dada a la madre, lo cual es considerado improbable que posea un riesgo para el infante.

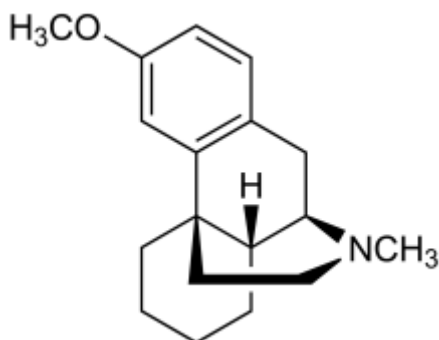
Sin embargo, muchos estudios están investigando dosis múltiples de loratadina durante el periodo de lactancia.

CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DEL DEXTROMETORFANO

Nombre Químico: D-(+)-3-metoxi-17-metil- (9 α ,13 α ,14 α)-morfinano

Sinónimos: Metorfán

Estructura Química:



Formula Condensada : C₁₈H₂₅NO

Masa Molecular: 271.4 g./mol.

Apariencia: Cristales blancos o ligeramente amarillos

Punto de Fusión: 169 - 170.5 °C

Naturaleza Química: Base

Constante de Disociación: pKa 8.3.

Solubilidad: Soluble en cloroformo, insoluble en agua.

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Agua	Insoluble
Cloroformo	Poco Soluble

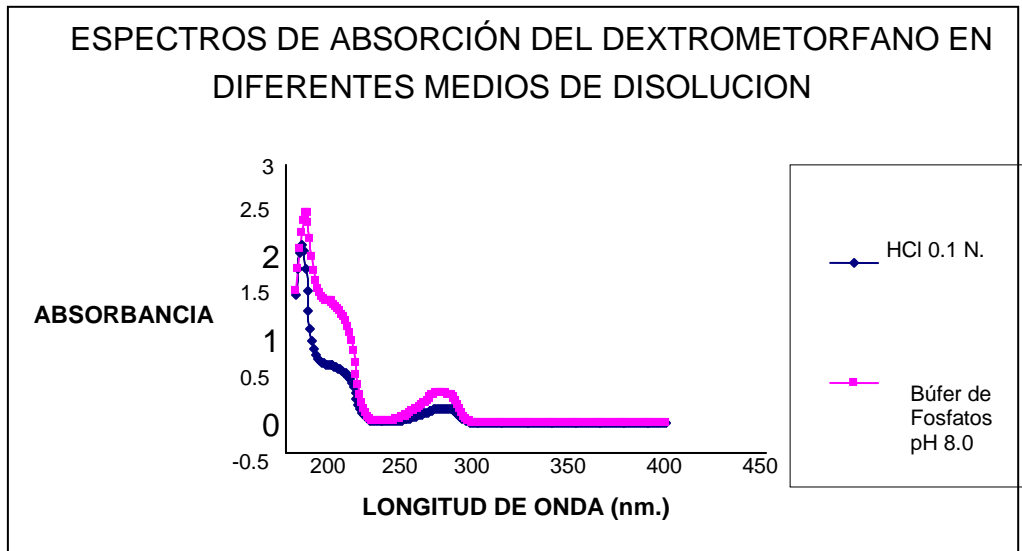


Gráfico 6: Muestra los espectros de absorción del Dextrometorfano en diferentes medios de disolución.

PROPIEDADES FARMACOLOGICAS:

El dextrometorfano es un antitusígeno de acción central, aumentando el umbral del reflejo de la tos (interacción con receptores opiáceos no μ), tiene una potencia similar a la codeína en contra de la tos, sin los efectos colaterales de somnolencia, trastornos digestivos y adicción.

A dosis altas puede causar depresión respiratoria, su vida media es de 4 a 6 horas, el sitio de acción es el SNC, llegando a pasar pequeñas cantidades por la barrera hematoencefálica, sufre una N-desmetilación en el hígado, se excreta principalmente en la orina y sólo 10% en forma metabolizada.

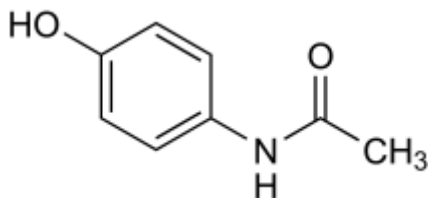
Su acción principal es la de reducir la viscosidad del moco, humectándolo para que sea más fácil su eliminación.

CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DEL PARACETAMOL

Nomenclatura IUPAC: N – (4 – HIDROXIFENIL) ETANAMIDA

Sinónimos: Acetaminofen

Estructura Química:



Formula Condensada: C₈H₉NO₂

Masa Molecular: 151.2 g. /mol.

Apariencia: Cristales blancos

Punto de Fusión: 169 - 170.5 °C

Naturaleza Química: Ácido

Constante de Disociación: pKa 9.5 (25°).

Solubilidad:

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Agua	Muy soluble
Etanol	Soluble
Metanol	Soluble
Acetona	Soluble
Cloroformo	Poco Soluble
Éter	Poco Soluble
Éter de Petróleo	Poco Soluble
Benceno	Poco Soluble

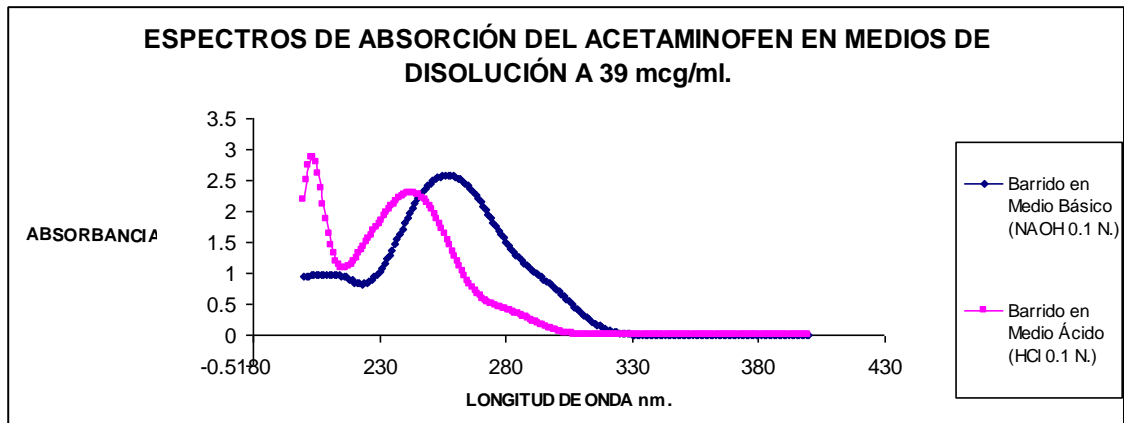


Gráfico 7: Muestra los espectros de absorción del paracetamol en diferentes medios de disolución.

PROPIEDADES FARMACOLÓGICAS:

El acetaminofen genera efectos analgésicos y antipiréticos tiene efectos antiinflamatorios débiles y se piensa que en general tiene poca capacidad para inhibir la acción de la COX si existen altas concentraciones de peróxidos como se detectan en los sitios de inflamación

El paracetamol ejerce su acción analgésica elevando el umbral del dolor en el SNC periférico, normaliza la hipertermia al actuar sobre el centro hipotalámico responsable de regular la temperatura corporal. El paracetamol es tan eficaz como el ácido acetilsalicílico en su acción analgésica y antipirética, pero sin las reacciones adversas características de los salicilatos.

El paracetamol se absorbe rápidamente en el tracto gastrointestinal, empezando su acción analgésica entre los 15 y 30 minutos después de su ingestión, se metaboliza en el hígado por acción de las enzimas microsomales hepáticas. El nivel plasmático máximo se alcanza en aproximadamente 60 minutos. Se distribuye uniformemente en los líquidos corporales de todos los tejidos, con excepción del adiposo. Se elimina por vía renal como metabolitos conjugados; el 3% de la dosis puede excretarse sin alteración.

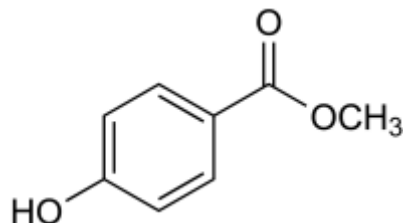
La vida media plasmática del paracetamol es de 2 horas aproximadamente, su unión a proteínas del plasma oscila entre 25 al 50%.

CARACTERISTICAS FISICOQUIMICAS DEL METILPARABENO

Nombre Químico:

Sinónimos: Metil – 4- Hidroxibenzoato

Estructura Química:



Formula Condensada: $C_8H_7NaO_3$

Masa Molecular: 174.1g./mol.

Apariencia: Cristales blancos

Punto de Fusión: 131°C

Naturaleza Química: Ácido

Constante de Disociación: pKa 8.4 (22°).

Solubilidad:

SOLVENTE	SOLUBILIDAD
Agua	1 en 400
Étanol	1 en 3.5
Cloroformo	1 en 40
Éter	1 en 10

ESPECTRO ULTRAVIOLETA

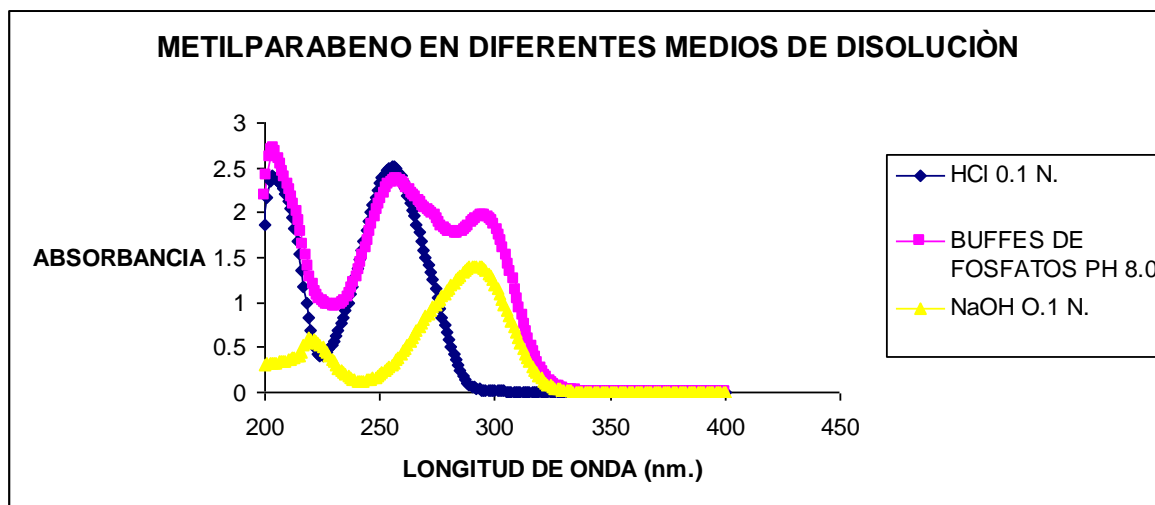


Gráfico 8: Muestra los espectros de absorción del metilparabeno a diferentes medios de disolución.

PROPIEDADES:

El Metilparabeno es un conservador. Se definen como conservadores a las sustancias químicas que al ser añadidas intencionalmente a un medicamento, alimento o cosmético tienden a prevenir o retardar el deterioro causado por microorganismos.

Es un nombre genérico dado a los alquilésteres de ácido parahidroxibenzoico, relacionados estructuralmente al ácido benzoico. La acción antimicrobiana de los parabenos fue descubierta en 1924. Estos son versátiles en su uso. Además, las moléculas se mantienen activas en un amplio rango de pH. La acción antimicrobiana es directamente proporcional a la longitud de la cadena, pero la solubilidad decrece al aumentar ésta.

Por otro lado, se ha demostrado que pueden ser inhibidores del *Cl. Botulinum* así como inhibir la formación de su toxina. Generalmente los parabenos son más activos contra levaduras y hongos y menos efectivos contra bacterias Gram negativas. La concentración normal de uso es de 0,1%. Sin embargo, esta concentración también puede ejercer un efecto de anestesia local. Adicionalmente se puede considerar como vasodilatadores y espasmolíticos.

PROCEDIMIENTOS PARTICULARES

PROCEDIMIENTOS PARA LA ELABORACIÓN DE LAS CALIBRACIONES.

2.1 Calibración del Acetaminofén en HCl 0.1 N.

- 2.1.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.
- 2.1.2 Asegurarse de que todo el material de vidrio este perfectamente seco.
- 2.1.3 Pesar en forma aproximadamente exacto 43.2 mg de Acetaminofen en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.
- 2.1.4 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.
- 2.1.5 Agregar 5 ml. de HCl 0.1 N y agitar hasta disolución completamente.
- 2.1.6 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de HCl 0.1 N.
- 2.1.7 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (108.16 mcg/ml.)

- 2.1.8 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.
- 2.1.9 Enjuagar con la sol stock una pipeta volumétrica de 3, 4, 5, 6, y 7ml.
Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.
- 2.1.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 3 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (12.97mcg/ml). Sol A.
- 2.1.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (17.30 mcg/ml) sol. B
- 2.1.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (21.63 mcg/ml) sol. C
- 2.1.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (25.95 mcg/ml) sol. D
- 2.1.14 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (30.28 mcg/ml) sol. E

- 2.1.15 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 255, 250, 245, 240, 235, 230, 225, 220.

2.2 Elaboración de la calibración del Bromhidrato de Dextrometorfano.

- 2.2.2 Lavar y secar perfectamente todo el material de cristalería que se va a utilizar.
- 2.2.3 Realizar una simulación con los cálculos pertinentes para la calibración. A partir del siguiente paso servirá como ejemplo el procedimiento de la calibración del Bromhidrato de Dextrometorfano.
- 2.2.4 Pesar en forma aproximadamente exacta 42.2 mg del Bromhidrato de dextrometorfano (94.65 %) en una balanza analítica apropiada.
- 2.2.5 Vertir en un matraz volumétrico de 200 ml.
- 2.2.6 Agregar 5 ml. de HCl 0.1 N y agitar hasta disolución completamente.
- 2.2.7 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con HCl 0.1 N.
- 2.2.8 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.
- 2.2.9 Enjuagar con la sol stock una pipeta volumétrica de 4, 5, 6, 7,8 y 9ml.

Los siguientes pasos se realizaran por triplicado

- 2.2.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (31.95 mcg/ml). Sol A.
- 2.2.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (39.94 mcg/ml) sol. B
- 2.2.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (47.93 mcg/ml) sol. C
- 2.2.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (55.91 mcg/ml) sol. D
- 2.2.14 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (63.90 mcg/ml) sol. E
- 2.2.15 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 9 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (71.89 mcg/ml) sol. F

2.2.16 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes absorbancias 229,228,227,225,222,220,218,215,213,212,211,210,209,208,201, 200.

2.3 Calibración del Maleato de Clorfenamina.

2.3.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.

2.3.2 Pesar en forma aproximadamente exacto 32.20 mg del Maleato de Clorfenamina de pureza 100.82 % en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.

2.3.3 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.

2.3.4 Agregar 5 ml. de HCl 0.1 N y agitar hasta disolución completamente.

2.3.5 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de HCl 0.1 N.

2.3.6 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (162.32 mcg/ml.) solución stock

2.3.7 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.

Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.

2.3.8 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 3 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (19.47 mcg/ml). Sol A.

2.3.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (25.97 mcg/ml) sol. B

2.3.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (32.46 mcg/ml) sol. C

2.3.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (38.95 mcg/ml) sol. D

2.3.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (45.44 mcg/ml) sol. E

2.3.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (51.94 mcg/ml) sol. E

2.3.14 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 222,220,219,218,217,216,215,214,213,212,211,210,208,203,202.

2.4 Calibración de la Metformina.

2.4.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua des ionizada.

2.4.2 Pesar en forma aproximadamente exacto 23.39 mg de Metformina (99.13 %) en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.

2.4.3 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.

2.4.4 Agregar 5 ml. de HCl 0.1 N y agitar hasta disolución completamente.

2.4.5 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de HCl 0.1 N.

2.4.6 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (116.47 mcg/ml.) solución stock

2.4.7 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.

Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.

2.4.8 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 3 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (13.97 mcg/ml). Sol A.

2.4.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (18.62 mcg/ml) sol. B

2.4.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (23.29 mcg/ml) sol. C

2.4.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (27.95 mcg/ml) sol. D

2.4.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (32.61 mcg/ml) sol. E

2.4.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (37.27 mcg/ml) sol. E

2.4.14 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 240,235,230,228,227,226,225,223,220,215,210,205,202.

2.5 CALIBRACIÓN DEL METILPARABENO EN NAOH 0.1 N.

2.5.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.

2.5.2 Pesar en forma aproximadamente exacto 13.1 mg de Metilparabeno USP (100 %) en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.

2.5.3 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.

2.5.4 Agregar 5 ml. de NaOH y 2 ml. de agua agitar hasta disolución completamente.

2.5.5 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de NaOH 0.1 N.

2.5.6 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (65.50 mcg/ml.) solución stock

2.5.7 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.

Los siguientes pasos se realizarán por triplicado.

2.5.8 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 3 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con NaOH 0.1 N. (10.48 mcg/ml). Sol A.

2.5.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo NaOH 0.1 N. (13.10 mcg/ml) sol. B

2.5.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo NaOH 0.1 N. (15.72 mcg/ml) sol. C

2.5.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo NaOH 0.1 N. (18.34 mcg/ml) sol. D

2.5.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo NaOH 0.1 N. (20.96 mcg/ml) sol. E

- 2.5.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo NaOH 0.1 N. (23.58 mcg/ml) sol. F
- 2.5.14 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 9 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo NaOH 0.1 N. (26.2 mcg/ml) sol. G
- 2.5.15 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 295, 290, 280, 275, 270, 265, 260, 258.

CALIBRACIÓN DEL METILPARABENO EN HCl 0.1 N.

- 2.5.16 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.
- 2.5.17 Pesar en forma aproximadamente exacto 16.70 mg de Metilparabeno (100 %) en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.
- 2.5.18 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 250 ml.
- 2.5.19 Agregar 5 ml. de HCl 0.1 N y agitar hasta disolución completamente.
- 2.5.20 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de HCl 0.1 N.
- 2.5.21 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (66.8 mcg/ml.) solución stock
- 2.5.22 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.
- Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.
- 2.5.23 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (13.36 mcg/ml). Sol A.
- 2.5.24 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (16.03 mcg/ml) sol. B
- 2.5.25 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (18.70 mcg/ml) sol. C
- 2.5.26 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (21.37 mcg/ml) sol. D

- 2.5.27 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 9 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (24.04 mcg/ml) sol. E
- 2.5.28 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 270, 265, 260, 258, 255, 250, 245, 215,210, 205,200.

2.6 CALIBRACIÓN DE LA LORATADINA.

- 2.6.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.
- 2.6.2 Pesar en forma aproximadamente exacto 11.1 mg de Loratadina USP (100 %) en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.
- 2.6.3 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.
- 2.6.4 Agregar 5 ml. de HCl 0.1 N y agitar hasta disolución completamente.
- 2.6.5 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de HCl 0.1 N.
- 2.6.6 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (55.5 mcg/ml.) solución stock
- 2.6.7 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.
- Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.
- 2.6.8 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con HCl 0.1 N. (11.1 mcg/ml). Sol A.
- 2.6.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (13.32 mcg/ml) sol. B
- 2.6.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (15.54 mcg/ml) sol. C
- 2.6.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (17.76 mcg/ml) sol. D
- 2.6.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 9 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (19.98 mcg/ml) sol. E

- 2.6.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 10 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo HCl 0.1 N. (22.2 mcg/ml) sol. F
- 2.6.14 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 222,220,218,216,214,212,210,208,206,204,202,201,200.

3.0 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS ANALITICAS.

3.1 PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE ACETAMINOFEN EN BUFFER DE BORATOS PH 9.33

- 3.1.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.
- 3.1.2 Pesar en forma aproximadamente exacto 28.4 mg Acetaminofen de pureza de 100.18 en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.
- 3.1.3 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 100 ml.
- 3.1.4 Agregar 5 ml. de boratos pH 9.33 y agitar hasta disolución completamente.
- 3.1.5 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de buffer de boratos pH 9.33
- 3.1.6 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con boratos pH 9.33.
- 3.1.7 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.

Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.

- 3.1.8 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 2 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con el búfer boratos pH 9.33 (12.97mcg/ml). Sol A.
- 3.1.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con el búfer boratos pH 9.33 (22.75 mcg/ml) sol. B
- 3.1.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con el búfer boratos pH 9.33 (21.63 (mcg/ml) sol. C
- 3.1.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con el búfer boratos pH 9.33. (25.95 mcg/ml) sol. D
- 3.1.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con el búfer boratos pH 9.33 (30.28 mcg/ml) sol. E

3.1.13 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 255, 250, 245, 240, 235, 230, 225,220.

3.2 PROCEDIMIENTO PARA LAS MUETRAS DEL BROMHIDRATO DE DEXTROMETORFANO EN BUFFER DE FOSFATOS PH 8.0

- 3.2.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.
- 3.2.2 Pesar en forma aproximadamente exacta 25.5 mg de Bromhidrato de dextrometorfano en una balanza analítica apropiada.
- 3.2.3 Vertir en un matraz volumétrico de 100 mL. (Sol. A.)
- 3.2.4 Agregar 5 ml. de HCl 0.1 N y agitar hasta disolución completamente.
- 3.2.5 Llevar a la marca de aforo con Buffer de fosfatos Ph 8.0.
- 3.2.6 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.
- 3.2.7 Los siguientes pasos se realizarán por triplicado.
- 3.2.8 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con Buffer de fosfatos Ph 8.0. (38.58 mcg/ml). Sol A.
- 3.2.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo Buffer de fosfatos Ph 8.0. (48.22 mcg/ml) sol. B.
- 3.2.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo Buffer de fosfatos Ph 8.0. (57.87 mcg/ml) sol. C.
- 3.2.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo Buffer de fosfatos Ph 8.0. (67.51 mcg/ml) sol. D.
- 3.2.12 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes absorbancias 229,228,227,225,222,220,218,215,213,212,211,210,209,208,201,200.

3.3 Elaboración del ensayo analítico analíticas del Maleato de Clorfenamina.

- 3.3.2 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua des ionizada.
- 3.3.3 Pesar en forma aproximadamente exacto 25.7 mg de Maleato de Clorfenamina (100. 82 %) en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.
- 3.3.4 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.
- 3.3.5 Agregar 5 ml. de búfer de boratos pH 8.7 y agitar hasta disolución completamente.
- 3.3.6 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de búfer de boratos pH 8.7
- 3.3.7 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con boratos el búfer
- 3.3.8 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.
Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.
- 3.3.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de boratos pH 8.7 (25.94 mcg/ml). Sol A.
- 3.3.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de boratos pH 8.7 (25.94 mcg/ml) sol. B
- 3.3.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de boratos pH 8.7 (31.09 mcg/ml) sol. C
- 3.3.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de boratos pH 8.7 (36.27 mcg/ml) sol. D
- 3.3.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de boratos pH 8.7 (41.45 mcg/ml) sol. E
- 3.3.14 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 9 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo búfer de boratos pH 8.7 (46.63 mcg/ml) sol. F
- 3.3.15 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 222,220,219,218,217,216,215,214,213,212,211,210,208,203,202.

3.4 Elaboración de las muestras analíticas de la Metformina del pKa₁ (2.7).

3.4.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.

3.4.2 Pesar en forma aproximadamente exacto 26.8 mg de Metformina (99.13 %) en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.

3.4.3 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.

3.4.4 Agregar 5 ml. de búfer de fosfatos pH 2.7 y agitar hasta disolución completamente.

3.4.5 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de búfer de fosfatos pH 2.7

3.4.6 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con boratos el búfer

3.4.7 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.

Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.

3.4.8 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 3 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 2.7 (15.93 mcg/ml). Sol A.

3.4.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 2.7 (21.25 mcg/ml) sol. B

3.4.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 2.7 (31.09 mcg/ml) sol. C

3.4.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 2.7 (26.56 mcg/ml) sol. D

3.4.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 2.7 (31.87 mcg/ml) sol. E

3.4.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica de 8 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml.; llevarlo a la marca de aforo con un búfer de fosfatos Ph 2.7 (37.19 mcg/ml.) sol F

3.4.14 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 229, 228, 227, 226, 225, 223, 220.

3.5 Elaboración de muestras analíticas de la Metformina pKa₂ (11.4)

- 3.5.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.
- 3.5.2 Pesar en forma aproximadamente exacto 26.9 mg de Metformina (99.13 %) en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.
- 3.5.3 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.
- 3.5.4 Agregar 5 ml. de búfer de fosfatos pH 11.97 y agitar hasta disolución
- 3.5.5 completamente.
- 3.5.6 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de búfer de fosfatos pH 11.97
- 3.5.7 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con el búfer (133.32 mcg/ml)
- 3.5.8 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.

Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.

- 3.5.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 3 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 11.97 (15.99 mcg/ml). Sol A.
- 3.5.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de boratos pH 11.97 (21.25 mcg/ml) sol. B
- 3.5.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 11.97 (31.09 mcg/ml) sol. C
- 3.5.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 11.97 (26.56 mcg/ml) sol. D
- 3.5.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 11.97 (31.87 mcg/ml) sol. E
- 3.5.14 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 11.97 (37.19 mcg/ml) sol. F
- 3.5.14 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 240, 235,230, 225, 220, 215, 210, 205, 202

3.6 Determinación de las muestra analíticas del metilparabeno

- 3.6.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.
- 3.6.2 Pesar en forma aproximadamente exacto 13.1 mg de Metilparabeno USP (100 %) en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.
- 3.6.3 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.
- 3.6.4 Agregar 2 ml. de Na OH y 2 mL de agua agitar hasta disolución completamente.
- 3.6.5 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de búfer de fosfatos pH 8.0
- 3.6.6 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con el búfer (65.56 mcg/ml)
- 3.6.7 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.

Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.

- 3.6.8 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con un búfer de fosfatos pH 8.0 (10.48 mcg/ml). Sol A.
- 3.6.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con un búfer de fosfatos pH 8.0 (13.10 mcg/ml) sol. B
- 3.6.10 Omar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 8.0 (15.72 mcg/ml) sol. C
- 3.6.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 8.0 (18.34 mcg/ml) sol. D
- 3.6.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 8.0 (20.96 mcg/ml) sol. E
- 3.6.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 9 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 8.0 (23.58 mcg/ml) sol. F
- 3.6.14 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 10 ml. y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 8.0 (26.20 mcg/ml) sol. G

3.6.15 Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 270, 265, 260, 255, 250, 245, 215, 210, 205, 200.

3.7 Determinación de las muestra analíticas de la loratadina.

3.7.1 Lavar y secar perfectamente el material de vidrio, así como enjuagarlo con agua desionizada.

3.7.2 Pesar en forma aproximadamente exacto 13.1 mg de Metilparabeno USP (100 %) en un pesador de vidrio en una balanza analítica apropiada.

3.7.3 Colocar el tubo de salida del pesador de vidrio a la boca de un matraz volumétrico de 200 ml.

3.7.4 Agregar 2 ml. de Na OH y 2 mL de agua agitar hasta disolución completamente...

3.7.5 Enjuagar tres veces el pesador de vidrio con 5 ml. de búfer de fosfatos pH 4.7

3.7.6 Ya que se encuentre perfectamente disuelto el fármaco, llevar a la marca de aforo con el búfer (65.56 mcg/ml)

3.7.7 Etiquetar aleatoriamente 18 matraces volumétricos de 25 ml.

Los siguientes pasos se realizaran por triplicado.

3.7.8 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con un búfer de fosfatos pH 4.7 (10.48 mcg/ml). Sol A.

3.7.9 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con un búfer de fosfatos pH 4.7 (13.10 mcg/ml) sol. B

3.7.10 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 6 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 4.7 (15.72 mcg/ml) sol. C

3.7.11 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 7 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 4.7 (18.34 mcg/ml) sol. D

3.7.12 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 8 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 4.7 (20.96 mcg/ml) sol. E

3.7.13 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 9 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 4.7 (23.58 mcg/ml) sol. F

3.7.14 Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 10 ml. y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con búfer de fosfatos pH 4.7 (26.20 mcg/ml) sol. G

Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 220, 218,214, 210, 208, 206, 204, 202, 201, 200.

PROCEDIMIENTOS DE LOS RESULTADOS PARA LA OBTENCIÓN DE LOS PKA' S

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ DEL ACETAMINOFÉN EN ÁCIDO (HCl 0.1 N.)

Naturaleza Química: Acido

Medio de Dilución de la Calibración: HCl 0.1N.

Medio de Dilución de las Muestras: Búfer de boratos pH 9.33.

Especie Química Cuantificada en la Calibración: Especie protonada, ESPECIE ÁCIDA.

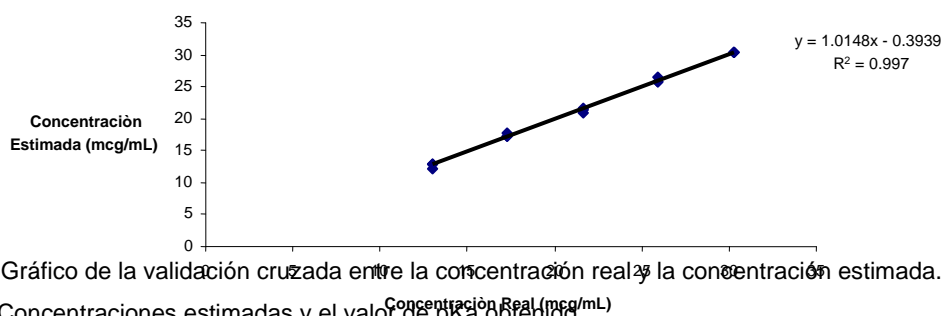


Gráfico 4: Gráfico de la validación cruzada entre la concentración real y la concentración estimada.

Tabla 16: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido.

		Concentraciones				
		Predictivas.			Determinación del pKa	
pH	Conc. Real	[HA]	[A]	LOG [A]/ [HA]	$pKa = pH - LOG [A]/ [HA]$	
9.1	2.86	2.4102	0.4498	-0.7290	9.8290	
9.12	2.86	2.4088	0.4512	-0.7274	9.8470	
9.11	5.72	4.7685	0.9515	-0.7000	9.8100	
9.05	5.72	4.7839	0.9361	-0.7085	9.7580	
9.03	11.45	9.6311	1.8189	-0.7239	9.7540	
9.01	11.45	9.7492	1.7008	-0.7583	9.7680	
9.12	17.18	14.7180	2.4622	-0.7765	9.8970	
9.11	17.18	14.7520	2.4279	-0.7836	9.8940	
9.05	22.91	19.6320	3.2782	-0.7773	9.8270	
9.02	22.91	19.5970	3.3129	-0.7720	9.7920	
9.13	28.64	24.3670	4.2735	-0.7560	9.8860	
9	34.37	29.4430	4.9267	-0.7764	9.7760	
9	34.37	29.3680	5.0020	-0.7687	9.7690	
9.11	40.09	34.2350	5.8554	-0.7669	9.8770	
9.02	40.09	34.3450	5.7448	-0.7766	9.7970	
9	45.82	39.1770	6.6433	-0.7706	9.7710	
				Pka _{exp.}	9.8160	
				Desvest	0.0510	
				c.v.	0.5170	

Tabla 17: Concentraciones estimadas y el valor de pka obtenido por el método estadístico solver (Excel).

ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: ÁCIDA							
pKa(1)		9.8204714					
ACETAMINOFÉN							
CT	pH	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
2.86	9.1	2.410	0.843	0.840	-0.003	0.000	-0.31%
2.86	9.12	2.409	0.842	0.834	-0.008	0.000	-1.00%
5.72	9.11	4.769	0.834	0.837	0.003	0.000	0.40%
5.72	9.05	4.784	0.836	0.855	0.019	0.000	2.23%
11.45	9.03	9.631	0.841	0.861	0.019	0.000	2.31%
11.45	9.01	9.749	0.851	0.866	0.015	0.000	1.71%
17.18	9.12	14.718	0.857	0.834	-0.023	0.001	-2.67%
17.18	9.11	14.752	0.859	0.837	-0.022	0.000	-2.53%
22.91	9.05	19.632	0.857	0.855	-0.002	0.000	-0.23%
22.91	9.02	19.597	0.855	0.863	0.008	0.000	0.93%
28.64	9.13	24.367	0.851	0.831	-0.020	0.000	-2.37%
34.37	9	29.443	0.857	0.869	0.012	0.000	1.40%
34.37	9	29.368	0.854	0.869	0.014	0.000	1.66%
40.09	9.11	34.235	0.854	0.837	-0.017	0.000	-1.99%
40.09	9.02	34.345	0.857	0.863	0.007	0.000	0.77%
45.82	9	39.177	0.855	0.869	0.014	0.000	1.60%

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ DE LA CLORFENAMINA (MOLECULA MONOPROTICA)

Naturaleza Química: Base

Medio de Dilución en la Calibración: HCl 0.1 N

Medio de Dilución de las muestras: Búfer de fosfatos pH 8.7.

Especie Química Cuantificada en la Calibración: Especie Protonada

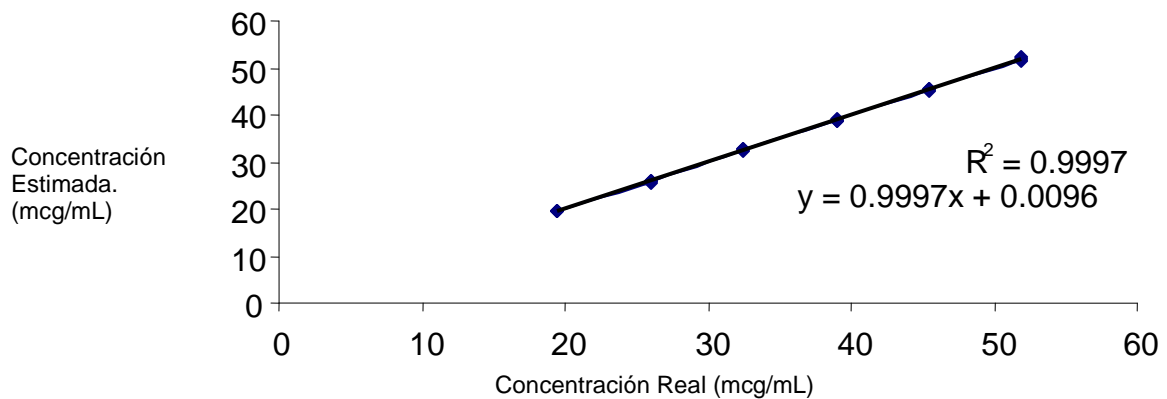


GRÁFICO 5: Gráfico de la validación cruzada entre la concentración real y la concentración.

ANEXOS

Tabla 18: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método de MCP.

pH	Concentración Real (mcg/mL)	Concentraciones Determinadas		LOG [A ⁻] / [HA]	determinación del pKa
		[HA]	[A ⁻]		pKa= pH - LOG [A ⁻] / [HA]
8.73	25.94	22.4180	3.5222	-0.8038	9.5338
8.72	20.72	18.0640	2.6556	-0.8327	9.5527
8.72	31.09	26.9560	4.1340	-0.8143	9.5343
8.72	36.27	32.0750	4.1953	-0.8834	9.6034
8.72	36.27	31.7070	4.5630	-0.8419	9.5619
8.72	32.09	27.3710	4.7189	-0.7635	9.4835
8.71	46.63	40.0860	6.5442	-0.7871	9.4971
8.71	46.63	40.8990	5.7307	-0.8535	9.5635
8.71	41.45	36.6250	4.8246	-0.8803	9.5903
8.71	36.27	31.7520	4.5179	-0.8468	9.5568
8.71	25.94	22.4230	3.5171	-0.8045	9.5145
8.72	20.72	18.1180	2.6023	-0.8427	9.5628
8.73	41.45	36.4020	5.0479	-0.8580	9.5880
8.71	46.63	40.9030	5.7272	-0.8538	9.5638
8.71	41.45	36.2480	5.2016	-0.8432	9.5532
				pKa _{exp}	9.5506
				DESVEST	0.0334
				C.V.	0.3501

Tabla 19: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método estadístico solver (Excel).

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE DISOCIACIÓN DE UNA SUSTANCIA MONOPRÓTICA							
ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: ÁCIDA							
pKa(1)		9.549817505					
CLORFENAMINA							
CT	pH	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
25.94	8.73	22.4178	0.8642	0.8685	0.0043	0.0000	0.49%
20.72	8.72	18.0644	0.8718	0.8711	-0.0007	0.0000	-0.08%
31.09	8.72	26.956	0.8670	0.8711	0.0041	0.0000	0.47%
36.27	8.72	32.0747	0.8843	0.8711	-0.0132	0.0002	-1.50%
36.27	8.72	31.707	0.8742	0.8711	-0.0031	0.0000	-0.35%
32.09	8.72	27.3711	0.8529	0.8711	0.0182	0.0003	2.13%
46.63	8.71	40.0858	0.8597	0.8737	0.0140	0.0002	1.63%
46.63	8.71	40.8993	0.8771	0.8737	-0.0034	0.0000	-0.39%
41.45	8.71	36.6254	0.8836	0.8737	-0.0099	0.0001	-1.12%
36.27	8.71	31.7521	0.8754	0.8737	-0.0018	0.0000	-0.20%
25.94	8.71	22.4229	0.8644	0.8737	0.0093	0.0001	1.07%
20.72	8.72	18.1177	0.8744	0.8711	-0.0033	0.0000	-0.38%
41.45	8.73	36.4021	0.8782	0.8685	-0.0097	0.0001	-1.11%
46.63	8.71	40.9028	0.8772	0.8737	-0.0035	0.0000	-0.40%
41.45	8.71	36.2484	0.8745	0.8737	-0.0008	0.0000	-0.10%

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ DEL DEXTROMETORFANO (MOLECULA MONOPROTICA)

Naturaleza Química: Base

Medio de Dilución de la Calibración: HCl 0.1 N.

Medio de Dilución de las Muestras: Búfer de fosfatos pH 8.0

Especie Química Cuantificada en la Calibración: Especie protonada

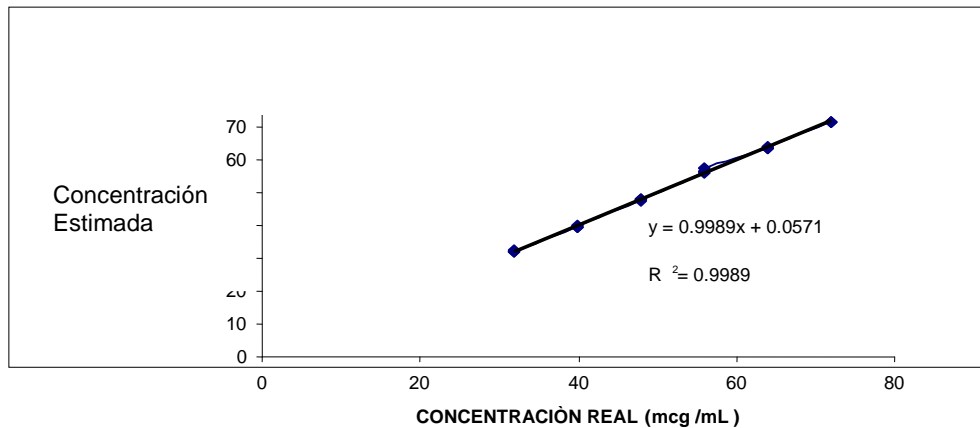


GRÁFICO 6: Gráfico de la validación cruzada entre la concentración real y la concentración.

Tabla 20: Muestra las concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método de MCP.

pH	Coc. Real	Concentraciones		LOG [A]/[HA]	Determinación del pKa
		[HA]	[A]		
8.04	38.6	28.2755	10.3045	-0.4384	pKa = pH - LOG [A]/[HA] 8.4784
8.03	48.2	39.1512	9.0688	-0.6352	8.6652
8.03	57.9	45.6435	12.2265	-0.5721	8.6021
8.04	38.6	30.5513	8.0287	-0.5804	8.6204
8.03	67.5	56.9797	10.5303	-0.7333	8.7633
8.04	48.2	39.2116	9.0084	-0.6388	8.6788
8.03	38.6	28.3755	10.2045	-0.4442	8.4742
8.04	48.2	39.7897	8.4303	-0.6739	8.7139
8.03	67.5	58.6352	8.8748	-0.8200	8.8500
8.03	67.5	57.5576	9.9524	-0.7622	8.7922
8.04	57.9	46.8637	11.0063	-0.6292	8.6692
8.04	57.9	45.0817	12.7883	-0.5472	8.5872
				pKa _{exp}	8.6579
				desvest	0.1100
				c.v.	1.2710

ANEXOS

Tabla : 21 Muestra las concentraciones estimadas y el valor de pka obtenido por el método estadístico solver (Excel).

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE DISOCIACIÓN DE UNA SUSTANCIA MONOPRÓTICA							
ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: ÁCIDA							
pKa(1)		8.649022729					
DEXTROMETORFANO							
CT	pH	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
38.58	8.04	28.2755	0.7329	0.8026	0.0696	0.0049	9.50%
48.22	8.03	39.1512	0.8119	0.8062	-0.0058	0.0000	-0.71%
57.87	8.03	45.6435	0.7887	0.8062	0.0175	0.0003	2.21%
38.58	8.04	30.5513	0.7919	0.8026	0.0107	0.0001	1.35%
67.51	8.03	56.9797	0.8440	0.8062	-0.0378	0.0014	-4.48%
48.22	8.04	39.2116	0.8132	0.8026	-0.0106	0.0001	-1.31%
38.58	8.03	28.3755	0.7355	0.8062	0.0707	0.0050	9.61%
48.22	8.04	39.7897	0.8252	0.8026	-0.0226	0.0005	-2.74%
67.51	8.03	58.6352	0.8685	0.8062	-0.0624	0.0039	-7.18%
67.51	8.03	57.5576	0.8526	0.8062	-0.0464	0.0022	-5.44%
57.87	8.04	46.8637	0.8098	0.8026	-0.0073	0.0001	-0.90%
57.87	8.04	45.0817	0.7790	0.8026	0.0235	0.0006	3.02%

**DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE DISOCIACIÓN ACIDA DE LA METFORMINA
(SUSTANCIA DIPROTICA)
PRIMER PKA**

Naturaleza Química: Dibáse

Medio de Dilución de la Calibración: Búfer de Fosfatos pH 7.11

Medio de Dilución de las Muestras: Búfer de Fosfatos pH 2.7.

Especie Química Cuantificada en la Calibración: Especie protonada

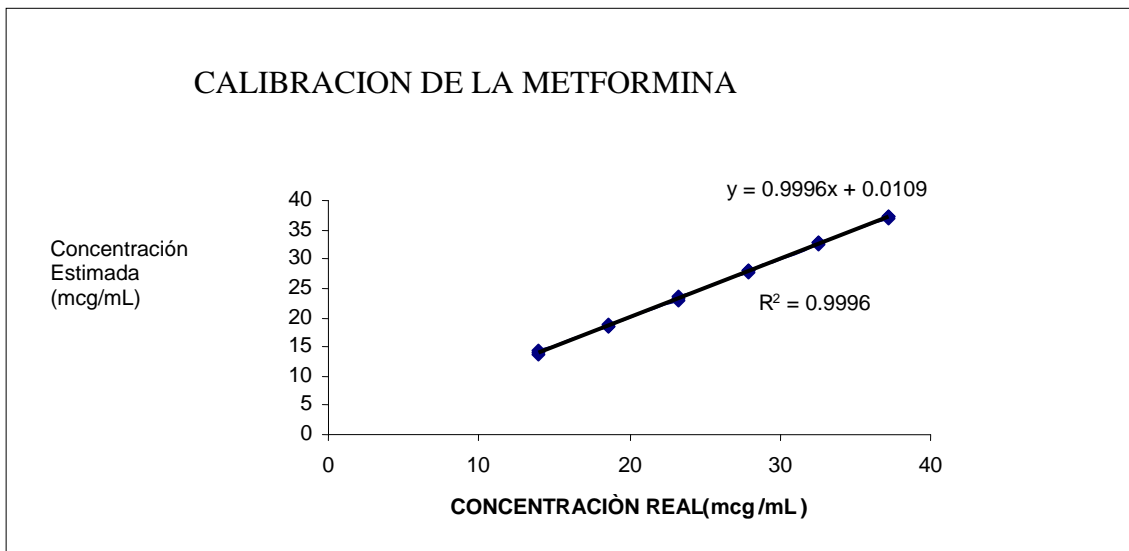


Gráfico 7: Gráfico de la validación cruzada entre la concentración real y la concentración estimada.

Tabla 22: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método de MCP.

DETERMINACION DEL pKa					
pH	Conc. Real	Concentraciones Estimadas		LOG [HB]/[H ₂ B]	Determinación del pKa ₁
		[HB]	[H ₂ B]		pKa = pH - LOG [HB]/[H ₂ B]
2.35	21.25	2.7044	18.5460	0.8362	3.18616
2.3	15.93	2.0308	13.8990	0.8353	3.13532
2.32	26.56	3.4962	23.0640	0.8193	3.13933
2.33	26.56	3.5162	23.0440	0.8165	3.14648
2.35	21.56	2.8522	18.7080	0.8168	3.16684
2.35	21.56	2.7054	18.8550	0.8432	3.19319
2.4	26.56	3.8402	22.7200	0.7721	3.17205
2.32	31.87	4.2877	27.5820	0.8084	3.12841
2.33	31.87	4.2297	27.6400	0.8152	3.14523
2.35	15.93	2.0362	13.8940	0.8340	3.18400
2.35	37.19	5.1392	32.051	0.79494	3.14494
2.35	31.87	4.3964	27.474	0.79582	3.14582
2.32	37.19	5.2157	31.974	0.78749	3.10749
2.1	37.19	2.0053	35.185	1.24417	3.34417
2.76	15.93	4.6249	11.305	0.38817	3.14817
				pKa _{exp}	3.16584
				DESVEST	0.05459
				C.V.	1.72438

Tabla 23: Concentraciones estimadas y el valor de pka obtenido por el método estadístico solver (Excel).

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE DISOCIACIÓN DE UNA SUSTANCIA DIPRÓTICA							
ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: ÁCIDA							
pKa(1)		3.347255094					
METFORMINA							
CT	pH	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
21.25	2.35	18.9	0.8894	0.9086	0.0192	0.0004	2.15%
15.93	2.3	13.63	0.8556	0.9177	0.0621	0.0039	7.25%
26.56	2.32	24.24	0.9127	0.9141	0.0015	0.0000	0.16%
26.56	2.33	24.23	0.9123	0.9123	0.0000	0.0000	0.01%
21.56	2.35	19.21	0.8910	0.9086	0.0176	0.0003	1.97%
21.56	2.35	19.21	0.8910	0.9086	0.0176	0.0003	1.97%
26.56	2.4	24.16	0.9096	0.8985	-0.0111	0.0001	-1.22%
31.87	2.32	29.55	0.9272	0.9141	-0.0131	0.0002	-1.41%
31.87	2.33	29.54	0.9269	0.9123	-0.0146	0.0002	-1.57%
15.93	2.35	13.58	0.8525	0.9086	0.0561	0.0031	6.58%
37.19	2.35	34.84	0.9368	0.9086	-0.0282	0.0008	-3.01%
31.87	2.35	29.52	0.9263	0.9086	-0.0177	0.0003	-1.91%
37.19	2.32	34.87	0.9376	0.9141	-0.0235	0.0006	-2.50%
37.19	2.1	35.09	0.9435	0.9464	0.0029	0.0000	0.31%
15.93	2.76	13.17	0.8267	0.7945	-0.0323	0.0010	-3.90%

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE DISOCIACIÓN DE LA METFORMINA SEGUNDO pKa

Naturaleza Química: Díbase

Medio de Dilución de la Calibración: Búfer de fosfatos pH 7. 11

Medio de Dilución de las Muestras: Búfer de Fosfatos pH 11.97.

Especie Química Cuantificada en la Calibración: Especie Protonada

Especie Química Cuantificada en las Muestras: Especie no protonada

Tabla 24: Concentraciones estimadas y el valor de pka obtenido por el método de MCP.

DETERMINACIÓN DEL pKa					
		Concentraciones Estimada.			Determinación del pKa ₂
pH	Conc. real	[HB]	[B ⁻]	LOG [B ⁻] / [HB]	pKa= pH - LOG [B ⁻] / [HB]
11	31.99	30.6	1.4	-1.3402	12.34
10.8	21.33	21	0.29	-1.8581	12.66
11.3	26.66	25.7	0.99	-1.4157	12.72
10.8	15.99	15.8	0.18	-1.9395	12.74
11.5	21.33	20.5	0.82	-1.3956	12.9
11.4	26.66	25.3	1.34	-1.2753	12.68
11.3	26.66	25.5	1.19	-1.3301	12.63
11.3	21.33	20.3	1.01	-1.3043	12.6
11.5	31.99	30.2	1.83	-1.2158	12.72
11	31.99	30.4	1.57	-1.2875	12.3
11.3	15.99	15.4	0.56	-1.4399	12.74
				pKa Experimental.	12.64
				DESVEST	0.175
				C.V.	1.386
				pka Teórico	12

Tabla 25: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método estadístico solver (Excel).

ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: BÁSICA							
pKa(2)		12.69158199					
METFORMINA							
CT	pH	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
31.99	11	30.5924	0.9563	0.9801	0.0238	0.0006	2.48%
21.33	10.8	21.0383	0.9863	0.9873	0.0010	0.0000	0.10%
26.66	11.3	25.6742	0.9630	0.9610	-0.0020	0.0000	-0.21%
15.99	10.8	15.8083	0.9886	0.9873	-0.0013	0.0000	-0.13%
21.33	11.5	20.5053	0.9613	0.9396	-0.0218	0.0005	-2.27%
26.66	11.4	25.3168	0.9496	0.9514	0.0018	0.0000	0.19%
26.66	11.3	25.4689	0.9553	0.9610	0.0057	0.0000	0.59%
21.33	11.3	20.3216	0.9527	0.9610	0.0083	0.0001	0.87%
31.99	11.5	30.1553	0.9426	0.9396	-0.0031	0.0000	-0.33%
31.99	11.01	30.4209	0.9510	0.9796	0.0287	0.0008	3.01%
15.99	11.3	15.4297	0.9650	0.9610	-0.0040	0.0000	-0.41%

Tabla 26: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método estadístico solver (Excel).

ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: BÁSICA							
pKa(1)		8.51598127					
ACETAMINOFÉN							
CT	pH	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
10.48	7.8	8.9671	0.8556	0.8387	-0.0169	0.0003	-1.98%
13.1	8.03	10.186	0.7776	0.7538	-0.0238	0.0006	-3.05%
10.48	7.8	8.8043	0.8401	0.8387	-0.0014	0.0000	-0.17%
15.72	8.13	11.426	0.7268	0.7086	-0.0182	0.0003	-2.51%
18.34	8.2	12.6629	0.6905	0.6743	-0.0162	0.0003	-2.34%
23.58	8.25	15.1391	0.6420	0.6485	0.0065	0.0000	1.01%
20.96	8.22	13.9481	0.6655	0.6641	-0.0014	0.0000	-0.21%
23.58	8.28	15.0823	0.6396	0.6326	-0.0070	0.0000	-1.10%
20.96	8.17	13.8744	0.6619	0.6893	0.0273	0.0007	4.13%
26.2	8.25	16.2046	0.6185	0.6485	0.0300	0.0009	4.85%
10.48	8.1	9.0732	0.8658	0.7227	-0.1431	0.0205	-16.53%
15.72	8.14	11.4684	0.7295	0.7039	-0.0257	0.0007	-3.52%
18.34	8.16	12.6794	0.6914	0.6942	0.0028	0.0000	0.41%
26.2	8.14	16.1967	0.6182	0.7039	0.0857	0.0073	13.86%
23.58	8.19	15.0943	0.6401	0.6793	0.0392	0.0015	6.12%
20.96	8.17	13.8799	0.6622	0.6893	0.0270	0.0007	4.08%
13.1	8.09	9.9133	0.7567	0.7273	-0.0295	0.0009	-3.89%
13.1	8	10.2686	0.7839	0.7664	-0.0175	0.0003	-2.23%
18.34	8.15	12.7471	0.6950	0.6990	0.0040	0.0000	0.57%
15.72	8.14	11.5431	0.7343	0.7039	-0.0304	0.0009	-4.15%
26.2	8.14	16.2158	0.6189	0.7039	0.0849	0.0072	13.72%
					S.C.	0.0433	

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE DISOCIACIÓN ACIDA DEL METILPARABENO (MOLECULA MONOPROTICA)

Naturaleza Química: Ácido

Medio de Dilución de la Calibración: HCl 0.1 N.

Medio de Dilución de las Muestras: Buffer de Fosfatos pH 8.0.

Especie Cuantificada en la Calibración: Especie protonada

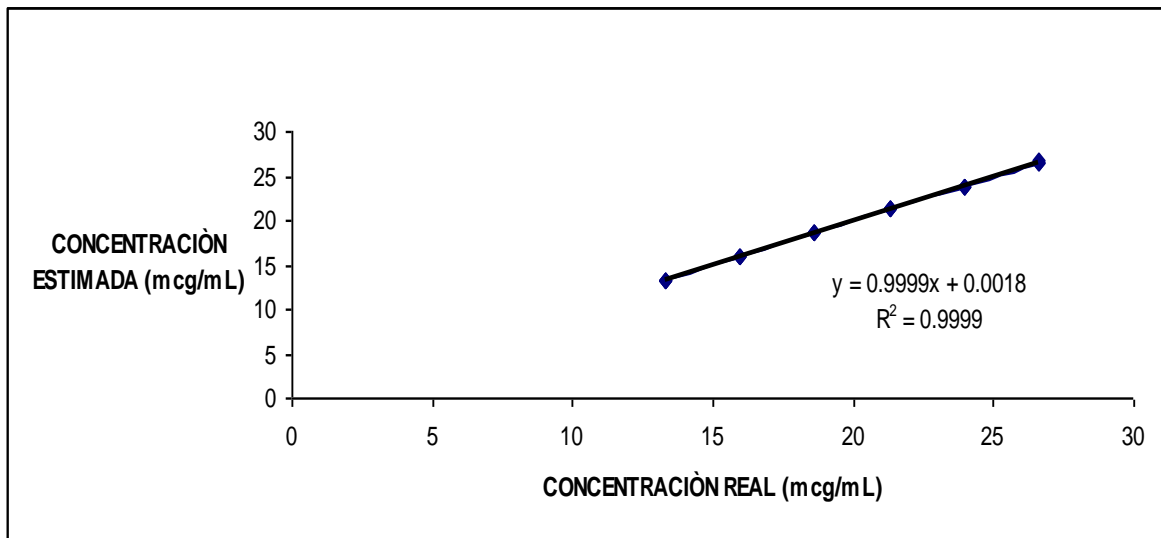


Gráfico 8: Gráfico de la validación cruzada entre la concentración real y la concentración estimada.

Tabla 27: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método de MCP.

DETERMINACIÓN DEL PKA					
	Concentración Real (mcg/ mL)	Concentraciones Estimadas			Valor de pKa
pH		[A ⁻]	[HA]	LOG [A ⁻]/ [HA]	pKa= pH - LOG [A ⁻]/ [HA]
8.125	10.48	9.1762	1.3038	-0.8475	8.9725
8.13	13.1	11.2782	1.8218	-0.7917	8.9217
8.11	10.48	9.4767	1.0033	-0.9752	9.0852
8.13	15.72	13.3624	2.3576	-0.7534	8.8834
8.14	18.34	15.3855	2.9545	-0.7166	8.8566
8.2	23.58	19.2449	4.3351	-0.6473	.8473
8.18	20.96	17.2499	3.7101	-0.6674	8.8474
8.2	23.58	19.2049	4.3751	-0.6424	8.8424
8.17	20.96	17.3304	3.6296	-0.6789	8.8489
8.13	26.2	21.2552	4.9448	-0.6333	8.7633
8.1	10.48	9.1772	1.3028	-0.8478	8.9478
8.14	15.72	13.3277	2.3923	-0.7459	8.8859
8.16	18.34	15.4223	2.9177	-0.7231	8.8831
8.14	26.2	21.4137	4.7863	-0.6507	8.7907
8.19	23.58	19.384	4.196	-0.6646	8.8546
8.17	20.96	17.4896	3.4704	-0.7024	8.8724
8.12	13.1	11.8139	1.2861	-0.9631	9.0831
8.12	13.1	11.254	1.846	-0.7851	8.9051
8.15	18.34	15.295	3.045	-0.7010	8.8510
8.14	15.72	13.2919	2.4281	-0.7383	8.8783
8.14	26.2	21.199	5.001	-0.6273	8.7673
				pKa _{exp}	8.8852
				Desvest	0.0835
				c.v.	0.9393

ANEXOS

Tabla 28: Concentraciones estimadas y el valor del pKa obtenido por el método estadístico solver (Excel).

ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: ÁCIDA							
pKa(1)		8.876919293					
METILPARABENO							
CT	Ph	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
10.48	8.125	9.1762	0.8756	0.8496	-0.0260	0.0007	-2.97%
13.1	8.13	11.2782	0.8609	0.8481	-0.0128	0.0002	-1.49%
10.48	8.11	9.4767	0.9043	0.8539	-0.0503	0.0025	-5.56%
15.72	8.13	13.3624	0.8500	0.8481	-0.0019	0.0000	-0.23%
18.34	8.14	15.3855	0.8389	0.8451	0.0062	0.0000	0.74%
23.58	8.2	19.2449	0.8162	0.8262	0.0100	0.0001	1.23%
20.96	8.18	17.2499	0.8230	0.8327	0.0097	0.0001	1.18%
23.58	8.2	19.2049	0.8145	0.8262	0.0117	0.0001	1.44%
20.96	8.17	17.3304	0.8268	0.8359	0.0090	0.0001	1.09%
26.2	8.13	21.2552	0.8113	0.8481	0.0368	0.0014	4.54%
10.48	8.1	9.1772	0.8757	0.8568	-0.0189	0.0004	-2.16%
15.72	8.14	13.3277	0.8478	0.8451	-0.0027	0.0000	-0.32%
18.34	8.16	15.4223	0.8409	0.8390	-0.0019	0.0000	-0.23%
26.2	8.14	21.4137	0.8173	0.8451	0.0278	0.0008	3.40%
23.58	8.19	19.3840	0.8221	0.8294	0.0074	0.0001	0.90%
20.96	8.17	17.4896	0.8344	0.8359	0.0014	0.0000	0.17%
13.1	8.12	11.8139	0.9018	0.8511	-0.0508	0.0026	-5.63%
13.1	8.12	11.2540	0.8591	0.8511	-0.0080	0.0001	-0.94%
18.34	8.15	15.2950	0.8340	0.8421	0.0081	0.0001	0.97%
15.72	8.14	13.2919	0.8455	0.8451	-0.0004	0.0000	-0.05%
26.2	8.14	21.1990	0.8091	0.8451	0.0360	0.0013	4.45%
					S.C.	0.0104	

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ DEL METILPARABENO (SUSTANCIA MONOPRÓTICA)

Naturaleza Química: Ácido

Medio de Dilución de la Calibración: NaOH 0.1 N.

Medio de Dilución de las Muestras: Buffer de Fosfatos pH 8.0.

Especie Cuantificada en la Calibración: Especie no protonada

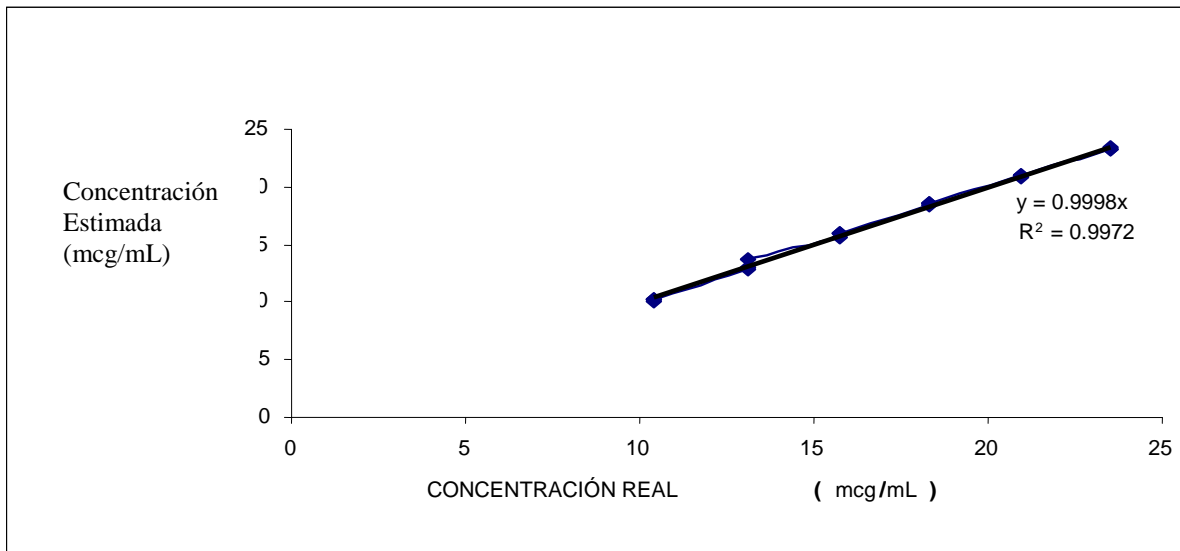


Gráfico 9: Gráfico de la validación cruzada entre la concentración real y la concentración estimada.

Tabla 29: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método de MCP.

DETERMINACIÓN DEL PKA					
		Concentraciones Estimadas			
	Concentración Real (mcg/ mL)				Valor del pKa
pH		[A ⁻]	[HA]	LOG [A ⁻]/ [HA]	pKa= pH - LOG [A ⁻]/ [HA]
7.8	10.48	1.5129	8.9671	-0.7728	8.5728
8.03	13.1	2.914	10.186	-0.5435	8.5735
7.8	10.48	1.6757	8.8043	-0.7205	8.5205
8.13	15.72	4.294	11.426	-0.4250	8.5550
8.2	18.34	5.6771	12.6629	-0.3484	8.5484
8.25	23.58	8.4409	15.1391	-0.2537	8.5037
8.22	20.96	7.0119	13.9481	-0.2987	8.5187
8.28	23.58	8.4977	15.0823	-0.2492	8.5292
8.17	20.96	7.0856	13.8744	-0.2918	8.4618
8.25	26.2	9.9954	16.2046	-0.2098	8.4598
8.1	10.48	1.4068	9.0732	-0.8095	8.9095
8.14	15.72	4.2516	11.4684	-0.4310	8.5710
8.16	18.34	5.6606	12.6794	-0.3502	8.5102
8.14	26.2	10.003	16.1967	-0.2093	8.3493
8.19	23.58	8.4857	15.0943	-0.2501	8.4401
8.17	20.96	7.0801	13.8799	-0.2923	8.4623
8.09	13.1	3.1867	9.9133	-0.4929	8.5829
8	13.1	2.8314	10.2686	-0.5595	8.5595
8.15	18.34	5.5929	12.7471	-0.3578	8.5078
8.14	15.72	4.1769	11.5431	-0.4415	8.5815
8.14	26.2	9.9842	16.2158	-0.2106	8.3506
				pKa Experimental	8.5271
				DESVEST	0.1108
				C.V.	1.2990

Tabla 30: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método estadístico solver (Excel).

ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: BÁSICA							
pKa(1)		8.51598127					
METILPARABENO							
CT	pH	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
10.48	7.8	8.9671	0.8556	0.8387	-0.0169	0.0003	-1.98%
13.1	8.03	10.186	0.7776	0.7538	-0.0238	0.0006	-3.05%
10.48	7.8	8.8043	0.8401	0.8387	-0.0014	0.0000	-0.17%
15.72	8.13	11.426	0.7268	0.7086	-0.0182	0.0003	-2.51%
18.34	8.2	12.6629	0.6905	0.6743	-0.0162	0.0003	-2.34%
23.58	8.25	15.1391	0.6420	0.6485	0.0065	0.0000	1.01%
20.96	8.22	13.9481	0.6655	0.6641	-0.0014	0.0000	-0.21%
23.58	8.28	15.0823	0.6396	0.6326	-0.0070	0.0000	-1.10%
20.96	8.17	13.8744	0.6619	0.6893	0.0273	0.0007	4.13%
26.2	8.25	16.2046	0.6185	0.6485	0.0300	0.0009	4.85%
10.48	8.1	9.0732	0.8658	0.7227	-0.1431	0.0205	-16.53%
15.72	8.14	11.4684	0.7295	0.7039	-0.0257	0.0007	-3.52%
18.34	8.16	12.6794	0.6914	0.6942	0.0028	0.0000	0.41%
26.2	8.14	16.1967	0.6182	0.7039	0.0857	0.0073	13.86%
23.58	8.19	15.0943	0.6401	0.6793	0.0392	0.0015	6.12%
20.96	8.17	13.8799	0.6622	0.6893	0.0270	0.0007	4.08%
13.1	8.09	9.9133	0.7567	0.7273	-0.0295	0.0009	-3.89%
13.1	8	10.2686	0.7839	0.7664	-0.0175	0.0003	-2.23%
18.34	8.15	12.7471	0.6950	0.6990	0.0040	0.0000	0.57%
15.72	8.14	11.5431	0.7343	0.7039	-0.0304	0.0009	-4.15%
26.2	8.14	16.2158	0.6189	0.7039	0.0849	0.0072	13.72%
					S.C.	0.0433	

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ DE LORATADINA

Naturaleza Química: Base

Medio de Dilución de la Calibración: HCl 0.1 N.

Medio de Dilución de las Muestra: Búfer de Fosfatos pH 4.70

Especie Química Cuantificada en la Calibración: Especie Protonada

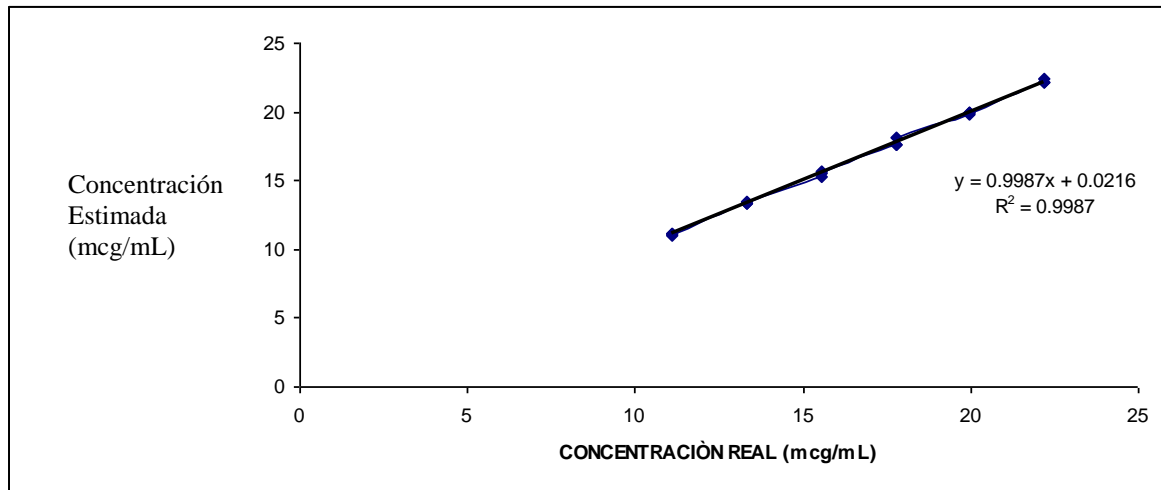


Gráfico 10: Gráfico de la validación cruzada entre la concentración real y la concentración estimada

Tabla 31: Concentraciones estimadas y el valor de pKa obtenido por el método de MCP.

DETERMINACIÓN DEL pKa					
					Valor del pka
pH	Conc. (mcg/ml)	[A]	[HA]	LOG [A]/ [HA]	pKa= pH - LOG [A]/ [HA]
3.55	11.4	11.0157	0.3843	-1.4573	5.01
3.5	13.68	13.4518	0.2282	-1.7705	5.27
3.7	20.52	19.6514	0.8686	-1.3546	5.05
3.6	15.96	15.4049	0.5551	-1.4433	5.04
3.58	11.4	11.1303	0.2697	-1.6156	5.20
3.51	13.65	13.2604	0.3896	-1.5319	5.04
3.7	20.52	19.5229	0.9971	-1.2918	4.99
3.79	18.24	17.5633	0.6767	-1.4142	5.20
3.55	15.96	15.5932	0.3668	-1.6285	5.18
3.75	15.96	15.3199	0.6401	-1.3790	5.13
3.67	18.24	17.3017	0.9383	-1.2657	4.94
3.72	11.4	10.8566	0.5434	-1.3006	5.02
3.76	13.65	13.0094	0.6406	-1.3077	5.07
3.7	20.52	19.5323	0.9877	-1.2961	5.00
3.55	18.24	17.7145	0.5255	-1.5278	5.08
				pKa _{exp}	5.08
				Desvest	0.09
				c.v.	1.86

Tabla 32: Concentraciones estimadas de la loratadina y el valor de pKa obtenido por el método estadístico solver.

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE DISOCIACIÓN DE UNA SUSTANCIA MONOPRÓTICA							
ESPECIE QUÍMICA CUANTIFICADA: ÁCIDA							
pKa(1)		5.06885028					
LORATADINA							
CT	pH	CONCENTRACIÓN EXPERIMENTAL	FRACCIÓN	FRACCIÓN ESTIMADA	DESV	DESV. CUAD	%ERROR
11.4	3.55	11.0157	0.9663	0.9706	0.0043	1.867E-05	0.45%
13.68	3.5	13.4518	0.9834	0.9737	-0.009	9.2088E-05	-0.98%
20.52	3.7	19.6514	0.9577	0.9589	0.0013	1.7233E-06	0.14%
15.96	3.6	15.4049	0.9652	0.9671	0.0019	3.6971E-06	0.20%
11.4	3.58	11.1303	0.9763	0.9685	-0.007	6.0336E-05	-0.80%
13.65	3.51	13.2604	0.9714	0.9731	0.0016	2.7854E-06	0.17%
20.52	3.7	19.5229	0.9514	0.9589	0.0075	5.7379E-05	0.80%
18.24	3.79	17.5633	0.9629	0.9500	- 0.0128	0.00016614	-1.34%
15.96	3.55	15.5932	0.9770	0.9706	- 0.0064	4.1052E-05	-0.66%
15.96	3.75	15.3199	0.9599	0.9542	- 0.0056	3.2328E-05	-0.59%
18.24	3.67	17.3017	0.9486	0.9616	0.0130	0.00017051	1.38%
11.4	3.72	10.8566	0.9523	0.9571	0.0047	2.3038E-05	0.50%
13.65	3.76	13.0094	0.9530	0.9531	0.0001	1.4731E-08	0.01%
20.52	3.7	19.5323	0.9519	0.9589	0.0071	5.0649E-05	0.75%
18.24	3.55	17.7145	0.9711	0.9706	- 0.0001	3.3566E-07	-0.06%

BIBLIOGRAFÍA

- 1) Daniel C. Harris. "Análisis Químico Cuantitativo", 2da edición Editorial Iberoamericana. USA, 2001, PP 241.
- 2) Daniel C. Harris. Análisis Químico Cuantitativo. 3ra ed., ed. Iberoamericana, 1991, pp. 459-551)
- 3) John McCurry" Química Orgánica" quinta edición, editorial internacional Thompson Editores, México 2000. 248-255.
- 4) Wingrove" Organic Chemistry" Editorial Harper and Roy Publisher, New Cork, 1981. 340-355.
- 5) Potentiometric determination of the total acidity of humic acids by constant-current coulometry, Determination of the pK_a values of b-blockers by automated potentiometric titrations, Giuseppe Palladino a, Diego Ferri b, Carla Manfredi b, Ermanno Vasca a, Received 13 March 2006; received in revised form 28 July 2006; accepted 29 August 2000.
- 6) Determination of the pK_a values of b-blockers by automated potentiometric titrations, Martinez, M.I. Maguregui, R.M. Jimenez *, R.M. Alonso, Received 19 October 1999; received in revised form 2 February 2000; accepted 19 February 2000.
- 7) Determination of pK_a values of active pharmaceutical ingredients, Sandra Babić, Alka J.M. Horvat, Dragana Mutavdžić Pavlović, Marija Kas̄telan-Macan, 2007 Elsevier.
- 8) Spectrophotometric determination of the dissociation constants of crown ethers with grafted acridone unit in methanol based on Benesi-Hildebrand evaluation, Mihály Kádár a, Andras Biró a, Klára Tóth a, Borbála Vermes b, Peter Huszthy b, Received 9 February 2005; received in revised form 6 April 2005; accepted 7 April 2005.
- 9) Determination of acidity constants of acid–base indicators by second-derivative Spectrophotometric. Derya Kara a,*, Mahir Alkan b, Received 21 March 2000; accepted 23 May 2000.
- 10) Determination of the pK_a of hydroxy-benzophenones in ethanol–water mixtures. Solvent effects G.T. Castro, O.S. Giordano, S.E. Blanco* Departamento de Química, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, Chacabuco, 917 5700 San Luis, Argentina. Received 17 December 2002; accepted 24 January 2003.

- 11) Guillermo Ranais, Ma. Cecilia García, “Quimiometría”, ed. Síntesis España, 2001, pp. 200 -2002, 218 -228.
- 12) Islas Hernández J. Alejandro. Desarrollo de un Método espectrofotométrico UV. Para la obtención del perfil de disolución de una forma farmacéutica que contenga Trimetoprima y Sulfametoxazol, TESIS FESC UNAM, QFB 2003.
- 13) José Salvador Gómez Pérez, “Desarrollo de un método analítico por espectrofotometría UV para la cuantificación de dextrometorfano en jarabe por medio de mínimos cuadrados parciales”, TESIS FESC UNAM, QFB 2008.
- 14) Pert T^ouma, Eva Samcova, Pavla Balinova, *Charles University*, Determination of 3-methylhistidine and 1-methylhistidine in untreated urine samples by capillary electrophoresis *3rd Faculty of Medicine, Centre of Biomedical Sciences, Ruska 87, 100 00 Prague 10, Czech Republic*, Received 11 October 2004; accepted 9 April 2005.
- 15) F.Z. Erdemgil a, S. S, anli b, N. S, anli b, G. O^o zkanb, et J. Barbosa c, J. Guiteras c, J.L. Beltran c,” Determination of pK_a values of some hydroxylated benzoic acids in methanol–water binary mixtures by LC methodology and potentiometry” *Anadolu University, BIBAM, 26470 Eski, sehir, Turke, Barcelona University, Diagonal 647, 08028 Barcelona, Spain*, Received 2 June 2006; received in revised form 3 November 2006; accepted 8 November 2006.
- 16) G.T. Castro, O.S. Giordano, S.E. Blanco, “Determination of the pK_a of hydroxy-benzophenones ethanol–water mixtures. Solvent effects” Departamento de Química, Facultad de Química, Bioquímica y Farmacia, Universidad Nacional de San Luis, Chacabuco, 917 5700 San Luis, Argentina Received 17 December 2002; accepted 24 January 2003.
- 17) Sandra Babic´ , Alka J.M. Horvat, Dragana Mutavdz´ic´ Pavlovic´ ,Marija Kas´telan-Macan” Determination of pK_a values of active pharmaceutical ingredients” Laboratory for Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Engineering and Technology University of Zagreb, Marulicevtrg 19, Zagreb, Croatia.
- 18) USP 28.
- 19) Clarke’s “ Analysis of drugs”, Pharmaceutical Press 2004