



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES  
CUAUTILÁN

DETERMINACIÓN DE PKA'S DE DIÁCIDOS Y DIBASES POR MEDIO DE LA  
CUANTIFICACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE ESPECIES QUÍMICAS  
CON EL MÉTODO DE MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES (MCP).

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

**P R E S E N T A :**

**JAIME LÓPEZ HERNÁNDEZ**

ASESOR: QFB. JOSE ANTONIO GARDUÑO ROSAS

CUAUTILÁN IZCALLI, EDO. DE MÉX.

2015



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

*Al finalizar mi carrera profesional he logrado uno de mis objetivos en mi vida y quiero darles las gracias de manera especial a las personas que me apoyaron superando todos los obstáculos para lograrlo, con todo respeto y amor dedico este triunfo:*

*A Dios:*

*Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.*

*A mis padres:*

*Con todo mi cariño y mi amor para las personas que hicieron todo en la vida para que yo pudiera lograr mis sueños, por motivarme y darme la mano cuando sentía que el camino se terminaba, a ustedes por siempre mi corazón y mi agradecimiento.*

*Papá y mamá*

*Moisés López y Epifania Hernández*

*A mi esposa:*

*Con todo mi amor gracias por el apoyo incondicional que me brindas día con día sin pedir nada a cambio, si volviera a nacer te volvería buscar eres la mujer de mi vida te amo.*

*Marina Montes de Oca Macias*

*A mi hija:*

*Por que el conseguir las metas cuesta, pero se siente bien el cumplirlas, sigue siempre adelante. Gracias*

*María Guadalupe López Montes de Oca.*

*A la UNAM:*

*Por dejarme formar parte de ella cuando hay muchos que se quedan con las ganas y formarme como profesionalista.*

*A mis profesores:*

*Por todo lo que me transmitieron y ayudarme a cumplir la meta de ser un 27B en especial a toda la sección de tecnología farmacéutica. Gracias*

*A mis compañeros 27B-24*

*Por todos los momentos que compartimos en especial a los hermanos Héctor, Miguel Ávila Lezcas, Alejandro Islas Hernández y en general a todos los que formamos esta generación de triunfadores, saben lo orgulloso que me siento de formar parte de esta generación. Gracias.*

Introducción.....	3
Objetivos .....	4
Objetivo general.....	4
Objetivos particulares.....	4
Hipótesis.....	5
<b>CAPITULO I Generalidades.....</b>	<b>6</b>
Marco teórico.....	7
Métodos alternativos para la determinación de constates de disociación.....	7
Electroforesis capilar.....	7
Potenciometría.....	7
Cromatografía de líquidos.....	7
Espectrofotometría UV – vis.....	8
Sistemas diproticos.....	9
Ecuación de Henderson – Hasselbalch.....	9
Ley de Lamber y Beer.....	11
Método de Mínimos Cuadrados Parciales (MCP).....	11
Modelo estadístico.....	11
Matriz de datos de calibración.....	12
Algoritmo de MCP.....	13
Calibración.....	13
Predicción.....	14
<b>CAPITULO II Desarrollo del método analítico.....</b>	<b>16</b>
Justificación Experimental.....	17
Reactivos.....	17
Sustancias activas.....	17
Equipo.....	18
Material.....	18
Software.....	18
Método.....	18
Procedimiento general.....	19
Procedimiento para realizar el espectro de absorción.....	20
Procedimiento para la preparación de las curvas.....	21
Procedimiento para la preparación de las muestras.....	22
Condiciones de trabajo.....	24
Calculo de la concentración en muestra.....	24
<b>CAPITULO III Resultados y análisis de resultados.....</b>	<b>25</b>
Determinación de las constates de acidez del clonixinato de lisina.....	27
Procedimiento para el análisis de la curva de calibración.....	27
Procedimiento para el análisis de las muestras y la determinación de pka.....	30
Diclofenaco sódico.....	32
Montelukast.....	34
Sulfametoxazol.....	37
Resultados estadísticos de las regresiones.....	40
Resultados de pka obtenidos.....	41
Análisis de resultados.....	42
<b>CAPITULO IV Conclusiones.....</b>	<b>43</b>

<b>ANEXOS.....</b>	<b>45</b>
<b>A.- Propiedades fisicoquímicas y farmacológicas.....</b>	<b>46</b>
Clonixinato de lisina.....	47
Diclofenaco sódico.....	48
Montelukast.....	50
Sulfametoxazol.....	52
<b>B.- Procedimientos particulares de preparación de curva de calibración.....</b>	<b>54</b>
Clonixinato de lisina.....	55
Diclofenaco sódico.....	56
Montelukast.....	57
Sulfametoxazol.....	58
<b>C.- Procedimientos particulares de ensayo.....</b>	<b>59</b>
Clonixinato de lisina.....	60
Diclofenaco sódico.....	61
Montelukast.....	62
Sulfametoxazol.....	63
<b>D.- Despeje de la ecuación.....</b>	<b>64</b>
<b>E.- Tablas de resultados de concentración – absorbancia de las curvas y de ensayos.....</b>	<b>72</b>
<b>F.- Referencias.....</b>	<b>80</b>

# **DETERMINACIÓN DE PKA'S DE SUSTANCIAS DIPROTICAS, CUANTIFICANDO UNA ESPECIE QUÍMICA, APLICANDO EL MÉTODO DE MÍNIMOS CUADRADOS PARCIALES.**

## **INTRODUCCIÓN**

Existe una extensa cantidad de sustancias ácidas y básicas con acción terapéutica que sólo tienen reportado un valor de pKa, siendo que, si analizamos su estructura química, tendrían la posibilidad de poseer dos constantes de disociación, es decir, son diácidas, dibásicas o anfóteras; esto nos abre un campo de investigación en donde el objetivo es encontrar el valor de pKa desconocido y que dicho valor sea confiable.

Para llevar a cabo este proyecto se eligieron cuatro fármacos: Clonixinato de Lisina, Diclofenaco Sódico, Montelukast y Sulfametoxazol, esta elección se basó en el análisis de la estructura química.

Para cada sustancia se eligieron las condiciones espectrofotométricas óptimas para su detección, esta información sirvió para posteriormente elaborar las curvas de calibración y los ensayos correspondientes.

Este trabajo se basa en elegir el pH adecuado del medio, para hacer que predomine ya sea el ácido o la base conjugada de cada sustancia, al conocer la concentración de esta especie y la total, podemos aplicar las ecuaciones derivadas para las fracciones de cada especie química, que relaciona estos factores y así obtendremos el valor de pKa desconocido.

El análisis se realizó mediante el método de Mínimos Cuadrados Parciales que está diseñado para construir un modelo estadístico que relaciona múltiples variables independientes X con múltiples variables dependientes Y. El procedimiento es mucho más útil cuando hay muchos factores y el objetivo principal es predecir las variables respuesta.

El proceso de relacionar múltiples respuestas del instrumento frente un analito o una mezcla de ellos, se conoce como calibración multivariante. Estos métodos son muy eficaces ya que se pueden utilizar para determinar al mismo tiempo varios componentes en mezclas y permiten obtener redundancia en las medidas para mejorar la precisión, así como también se utilizan para detectar la presencia de interferencias.

En este método las concentraciones se manejan como función de las respuestas, esto tiene ciertas ventajas en cuanto a que las concentraciones se predicen con exactitud incluso en presencia de fuentes de interferencia químicas y físicas.

Por medio de herramientas analíticas y matemáticas podemos obtener los valores de las constantes de disociación de los fármacos elegidos; la importancia de conocerlos radica en la estrecha relación que tienen el pKa y el efecto que pudiera tener una sustancia, es por eso que, mientras más información respecto a sus propiedades químicas se tenga de un fármaco, será mucho mejor para posteriores investigaciones.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

- Cuantificar la concentración de especies químicas de diferentes fármacos, mediante el método de MCP (Mínimos Cuadrados Parciales), para determinar las constantes de disociación utilizando las ecuaciones derivadas para las fracciones de cada especie química.

### **OBJETIVOS PARTICULARES**

- Analizar el comportamiento químico de cada uno de los fármacos, elaborando espectros de absorción en diferentes medios, para seleccionar las condiciones espectrofotométricas óptimas que permitan poder cuantificar una sola especie de cada fármaco.
- Establecer ensayos analíticos confiables, seleccionando el pH adecuado para que predomine solo una especie química ya sea el ácido o la base conjugada del fármaco.
- Elaborar curvas de calibración confiables, PNO'S (Procedimientos Normalizados de Operación), para que éstas puedan ser utilizadas en el programa de MCP y poder predecir confiablemente la concentración de la especie química presente en el ensayo.
- Determinar el pka de los fármacos utilizando las concentraciones estimadas y las ecuaciones derivadas para las fracciones de cada especie química.



## **HIPÓTESIS**

Si se seleccionan adecuadamente las condiciones del ensayo analítico en la calibración se cuantifica confiablemente las concentraciones de una de las especies químicas, a un pH en la cual predomine casi al 100%, mediante el método de MCP, entonces al cambiar el pH y aparecer otras especies químicas, mediante el método establecido solo se cuantificara una especie química, por lo que usando la ecuación derivada de los equilibrios químicos para la fracción de la especie cuantificada se pueden estimar los pKas de la sustancia bajo estudio

# **CAPÍTULO**

# **I**

# **GENERALIDADES**

## MARCO TEÓRICO

### MÉTODOS ALTERNATIVOS PARA LA DETERMINACIÓN DE CONSTANTES DE DISOCIACIÓN.

#### **Electroforesis capilar.**

La electroforesis es un proceso para separar moléculas cargadas, basado en su movimiento a través de un fluido bajo la influencia de un campo eléctrico aplicado. Como medio conductor se utiliza una solución amortiguadora que mantiene el pH requerido y provee la suficiente conductividad para permitir el paso de la corriente, los parámetros importantes que se deben de controlar son: la movilidad electroforética y tiempo de migración.

Esta es una técnica que se empezó a desarrollar a partir de los años 80's, hasta la fecha su uso primordial ha sido el de separación de mezclas de compuestos como cationes, aniones, proteínas, macromoléculas y sustancias no cargadas en forma simultánea; y son pocos los reportes en los que se aplique la electroforesis capilar como una técnica alternativa para el cálculo de constantes de acidez, comparativamente con los aplicados en separaciones, sin embargo ha demostrado ser una técnica útil para determinar estos valores, siempre que se proponga el modelo adecuado, es decir, el que permita el mejor ajuste entre el comportamiento experimental observado y las predicciones teóricas que se hagan del analito. Además permite corroborar los valores obtenidos con otras técnicas. (1)

#### **Potenciometría**

Esta técnica se basa en la determinación de la actividad de iones hidrógeno, empleando un instrumento potenciométrico, con sensibilidad para reproducir pH de 0.05 a 0.005 unidades. Dicha determinación requiere la utilización de un electrodo de vidrio acoplado a un pH metro. El electrodo con membrana de vidrio sumergido en una disolución de pH desconocido establece una diferencia de potencial entre la parte interna de la membrana (en contacto con la disolución interna del mismo y de pH constante) y la parte externa de la membrana en contacto con la disolución problema.

Esta diferencia de potencial, respecto a un electrodo de referencia, es proporcional a la diferencia en concentración de protones en ambas disoluciones. El pH metro mide esta diferencia de potencial y la transforma en una escala de pH. Así, el método potenciométrico nos permite seguir cuantitativamente la concentración de protones en el transcurso de una reacción ácido-base. (2).

Por medio de esta técnica se han podido determinar constantes de disociación de algunos fármacos. (3) y (4)

#### **Cromatografía de líquidos**

La Cromatografía líquida de alta resolución, es una técnica usada para separar componentes utilizando una variedad de interacciones químicas entre el analito y la columna Cromatográfica. Básicamente es un sistema compuesto de un reservorio de fase

móvil, bomba, inyector, columna de separación y detector. El analito se pasa a través de una columna de la fase estacionaria bombeando la fase móvil líquida con alta presión.

La muestra se introduce en pequeños volúmenes a la corriente de la fase móvil y allí se retarda por medio de interacciones químicas con la fase estacionaria mientras atraviesa la columna. El retardo se conoce como tiempo de retención, único para cada analito. Depende de la naturaleza del analito, de la fase estacionaria y de la composición de la fase móvil.

Los disolventes más comunes usados en la fase móvil son combinaciones de agua purificada con líquidos orgánicos, los más utilizados son Metanol y Acetonitrilo, a un que dependen del tipo de cromatografía por lo que también suelen usarse sales y buffers para contribuir a la separación de componentes y se usa el Ácido Trifluoroacético para actuar como formador de pares iónicos. Estas combinaciones introducen el concepto de gradiente de elución. (Consiste en la variación de la composición de la fase móvil, para adaptarse a los diferentes analitos y conseguir mejores resultados) El gradiente separa la matriz del analito en función de la afinidad del este por la composición de la fase móvil. Cada analito tiene un gradiente de elución óptimo para obtener la máxima separación de picos en el detector (5).

La determinación del valor de pKa por este método, se basa en la relación entre los factores de capacidad y los valores de pH de la fase móvil (6).

Todas las técnicas anteriores son utilizadas en el ámbito profesional y de investigación, pero para el presente trabajo solo se utilizó la espectrofotometría por lo cual se hará énfasis en esta técnica.

### **Espectrofotometría UV-Visible**

La espectrofotometría ultravioleta-visible (UV/VIS) utiliza radiación electromagnética (luz) de la región visible, ultravioleta cercana (UV) del espectro electromagnético. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas. Esta técnica se caracteriza por su precisión, sensibilidad y su aplicabilidad a moléculas de distinta naturaleza y estado de agregación.

La espectroscopia UV-visible se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de moléculas, y además, para determinar el contenido y fuerza de una sustancia. Se utiliza de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados. Así como también se ha utilizado para determinar el pka de algunos fármacos como el Maleato de Clorfeniramina (7).

La determinación espectrofotométrica de constantes de disociación de ácidos y bases se basa en que los espectros de absorción de moléculas orgánicas con grupos funcionales ácidos o básicos dependen del pH del medio.

Para determinar el valor del pka es necesario conocer el pH y las concentraciones de las formas ácida (HA) y básica (A<sup>-</sup>). La relación  $[HA]/[A^-]$  puede obtenerse espectrofotométricamente si se conocen las correspondientes absorptividades molares  $E_{HA}$  y  $E_{A^-}$ , las cuales, a su vez, pueden obtenerse desplazando el equilibrio de forma

virtualmente completa hacia la derecha y hacia la izquierda mediante adición de un exceso de base y de ácido respectivamente. (8)

### Sistemas dipróticos

Dipróticos significa que tienen dos protones lábiles. Los ácidos polipróticos son ácidos que tienen más de un hidrógeno ionizable. Estos ácidos disocian en más de una etapa y cada etapa presenta su propia constante de equilibrio. Como se muestra en la figura 1.

Los ácidos polipróticos ceden los protones de forma escalonada, y cada vez con mayor dificultad ya que queda más fuertemente atraído por el anión formado. Las correspondientes constantes de disociación, disminuyen para cada una de las sucesivas ionizaciones. (9)

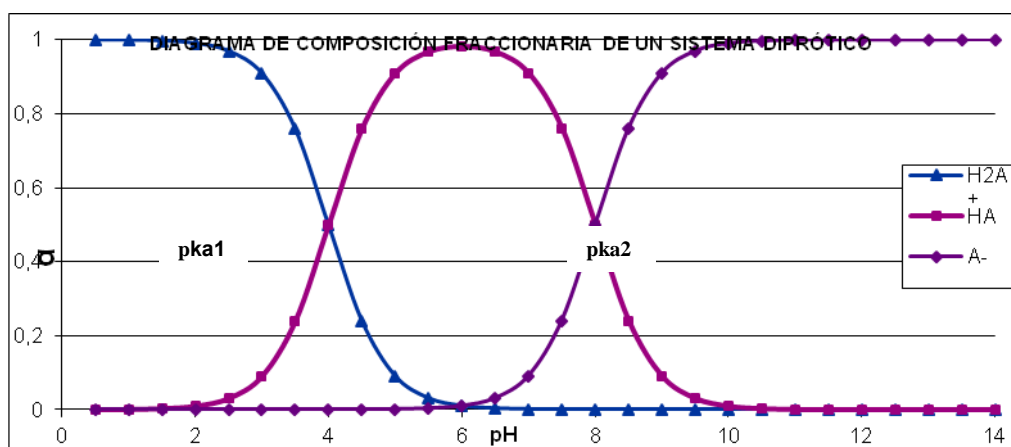
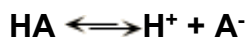


FIGURA 1. Se ejemplifica un diagrama de composición fraccionaria de un sistema diprótico que tiene un pKa<sub>1</sub>= 4 y un pKa<sub>2</sub>= 8.

### Ecuación de Henderson- Hasselbalch

La ecuación de Henderson- Hasselbalch considera la ionización de un ácido débil HA que tiene un valor de pKa. Es conveniente poder relacionar el pH de una disolución de un ácido débil con su pKa y con el grado de ionización. La reacción sería:



La constante de disociación del ácido (K<sub>a</sub>) para esta reacción, vendría dada por la ecuación:

$$K_a = \frac{[H^+][A^-]}{[HA]}$$

Esta ecuación se puede reorganizar para despejar la concentración de iones hidrógeno para relacionar el pH de la disolución con el pKa y con el grado de ionización del ácido débil. La forma en la que queda la ecuación es:

$$\frac{1}{[H^+]} = \frac{1}{[K_a]} \frac{[A^-]}{[HA]}$$

Por definición,  $\log (1/ [H^+]) = pH$  y  $\log (1/Ka) = pKa$ , así que, aplicando logaritmos a la ecuación anterior, obtenemos:

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

Se utiliza a menudo para realizar los cálculos que requiere la preparación de disoluciones tampón (10).

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

Con esta nueva ecuación se analiza que: si el pH aumenta o disminuye una unidad en relación con el pKa, la relación entre las formas del ácido disociada y sin disociar cambia en un factor de 10, también si el pH está por debajo del pKa, la relación es  $< 1$ , mientras que si el pH está por encima del pKa, la relación será  $> 1$ ; esto queda más claro observando la figura 2.

Estos razonamientos nos sirven para determinar las condiciones de pH óptimas para realizar las calibraciones y los ensayos correspondientes de cada fármaco.

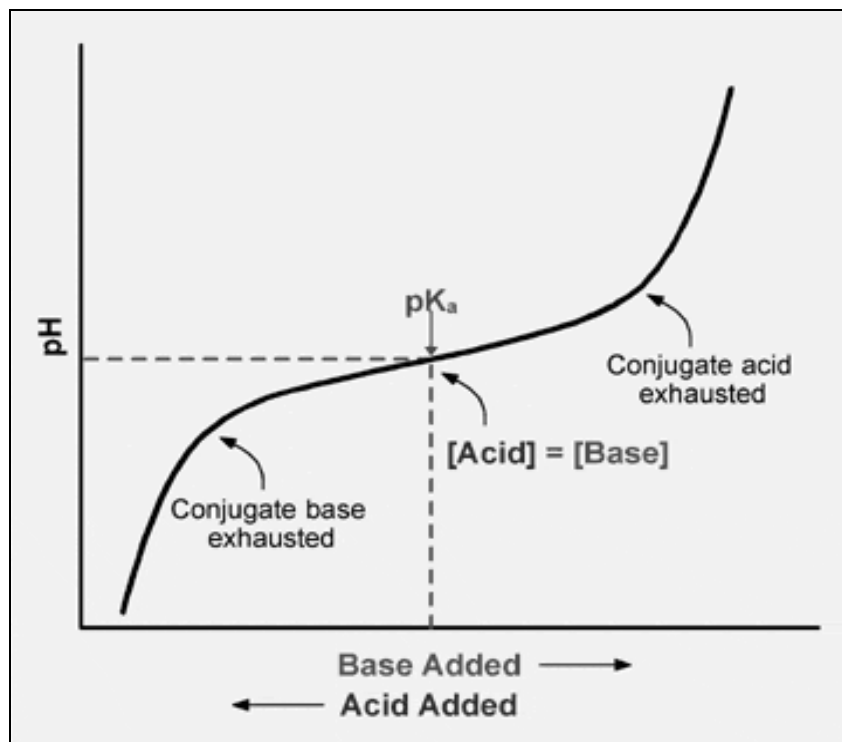


FIGURA 2. Se muestra la gráfica que relaciona el pH con el pka y la cantidad de ácido o base adicionada.

## Ley de Lamber & Beer

Lambert y Beer establecieron relaciones de la variación de la intensidad de luz transmitida por una muestra con el espesor o con la concentración de ella, para materiales translúcidos. Estas relaciones se conocen como la *ley de Bouguer-Lambert-Beer*. Esta ley se puede expresar en términos de potencia de luz o de intensidad de luz.

La ley de Bouguer-Lambert-Beer se puede expresar como:

$$A = \epsilon b C$$

**A** es la absorbancia y esta es adimensional,  **$\epsilon$**  es una constante y recibe el nombre de absorptividad molar, cuando la concentración se expresa en moles por litro, **b** corresponde a la longitud del paso de luz y generalmente tiene un valor de 1 cm. **C** es la concentración, las unidades deben ser iguales que las de  **$\epsilon$** .

La absorptividad es una propiedad característica de la sustancia absorbente y depende de la longitud de onda. Por ello, al aplicar la ley de Beer debe seleccionarse una longitud de onda, y para este propósito se utiliza el espectro de absorción, siendo éste una gráfica que indica la variación de la absorbancia, o de la absorptividad, con la longitud de onda (11).

## Método de Mínimos Cuadrados Parciales.

El método de mínimos cuadrados parciales se introdujo por el estadístico sueco Herman Wold, quien lo desarrolló con su hijo, Svante Wold. Aunque las aplicaciones originales estaban en las ciencias sociales También se utiliza en la bioinformática, la neurociencia y la antropología.

La **regresión de mínimos cuadrados parciales** (MCP) es un método estadístico en el cual se desea conocer la relación lineal que pueda haber entre las absorbancias obtenidas a diferentes longitudes de onda y la concentración del componente de interés, de acuerdo al modelo lineal utilizado en la calibración inversa. La regresión de mínimos cuadrados parciales se utiliza para encontrar las relaciones fundamentales entre las dos matrices (X e Y), es decir, un enfoque de variable latente para modelar la estructura de covarianza en estos dos espacios. MCP trata de encontrar el sentido multidimensional en el espacio de X que explica la dirección de la máxima varianza multidimensional en el espacio Y, adecuada cuando la matriz de predictores tiene más variables que observaciones, y cuando hay multicolinealidad entre los valores de X.

## Modelo Estadístico

Al igual que en regresión múltiple, el objetivo de los mínimos cuadrados parciales (MCP) es construir un modelo lineal de la forma:

$$X = TP^T + E$$

$$Y = UQ^T + F,$$

Donde  $X$  es una matriz  $n \times m$  predictores,  $Y$  es una matriz de  $n \times p$  respuestas;  $T$  y  $U$  son matrices  $n \times l$  que son, respectivamente, proyecciones de  $X$  y proyecciones de  $Y$ .  $P$  y  $Q$  son, respectivamente,  $m \times l$  y  $p \times l$  matrices de carga ortogonales; y matrices  $E$  y  $F$  son los términos de error, supone que los independientes e idénticamente distribuidas las variables aleatorias normales. Las descomposiciones de  $X$  e  $Y$  se hacen con el fin de maximizar la covarianza de  $T$  y  $U$ . En términos de matrices la ecuación anterior se escribe de la siguiente manera:

$$X_{(n \cdot m)} = T_{(n \cdot l)} P_{(m \cdot l)} E$$

$$Y_{(n \cdot p)} = U_{(n \cdot l)} Q_{(p \cdot l)} F$$

### 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 predictorias, 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 una señal generada 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 predictorica.

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 influyan 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 predictorias) 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.



## Algoritmo del modelo de mínimos cuadrados parciales

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

### Etapa de 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. Es con estos datos que se obtienen expresiones matriciales que contienen los valores de absorbancia a diferentes longitudes de onda (Matriz **A**) y el número de soluciones vector **c**.

La elaboración del modelo establecido para MCP se logra resolviendo los datos de las matrices conforme al siguiente algoritmo:

### **CALIBRACIÓN:**

En el inicio **h** toma el valor de 1.

Paso I.- Pre tratamiento de datos, centrar **A** y **C**. La media del espectro de calibración se sustrae a cada valor de la matriz (**A**) y la media de la calibración de las concentraciones se resta de cada concentración.

Paso II.- Formación del vector de peso (**W<sub>h</sub>**) o de ponderación.

$$\mathbf{A} = \mathbf{c} \mathbf{w}_h + \mathbf{E}_A$$
$$\mathbf{w}_h = (\mathbf{A} \mathbf{c}') / \mathbf{c}' - \mathbf{c}$$

MCP se ejecuta asumiendo que se conoce la concentración de uno de los componentes de la muestra analítica. Ya obtenidos los valores de (**w<sub>h</sub>**) se normalizan dividiendo los valores **w<sub>h</sub>** entre el primer valor del vector. Esto es 2/1, 3/2, 4/3 y así sucesivamente.

Paso III.- Vector cargado o latente (**t<sub>h</sub>**)

$$\mathbf{A} = \mathbf{t}_h \mathbf{w}_h + \mathbf{E}_A$$
$$\mathbf{t}_h = \mathbf{A} \mathbf{w}_h$$

Este paso de MCP en el cual se supone que solo está presente el componente de interés en las muestras de calibración. El vector **t<sub>h</sub>** representa la intensidad o cantidad del primer vector de carga en las muestras de calibración para el sistema coordinado de MCP.

Cada vector **t<sub>h</sub>** esta relacionado con **A** como por **c** y los datos de **w<sub>h</sub>** y **t<sub>h</sub>** son normalizados del espectro puro.

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

$$\mathbf{C} = \mathbf{v}_h \mathbf{t}_h + \mathbf{E}_c$$
$$\mathbf{V}_h = \mathbf{t}_h' \mathbf{c} / \mathbf{t}_h' - \mathbf{t}_h$$

El vector indicador,  $\mathbf{t}_h$ , representa las intensidades en el nuevo sistema de coordenadas que están relacionados a la concentración usando una regresión de mínimos cuadrados lineal.

El vector marcador puede ser relacionado con las concentraciones

Paso V.- Formación del vector carga.

$$\mathbf{A} = \mathbf{t}_h \mathbf{b}_h + \mathbf{E}_A$$
$$\mathbf{b}_h = \mathbf{A} \mathbf{t}_h' / \mathbf{t}_h' - \mathbf{t}_h$$

Para corregir los problemas de coliealidad los vectores  $\mathbf{t}_h$  pueden ser obtenidos y formar un nuevo modelo de  $\mathbf{A}$  basado en esta variable

El vector  $\mathbf{b}_h$  no explica la máxima variancia en el espectro de calibración.

VI.- Calculo de los residuales  $\mathbf{A}$  y  $\mathbf{C}$ .

$$\mathbf{E}_A = \mathbf{A} - \mathbf{t}_h \mathbf{b}_h$$

Concentración residual.

$$\mathbf{e}_c = \mathbf{c} - \mathbf{V}_h \mathbf{t}_h$$

El producto del vector indicador ( $\mathbf{t}_h$ ) y el vector de carga ( $\mathbf{b}_h$ ) una aproximación MCP para el espectro de calibración. El producto de  $\mathbf{v}_h$  por  $\mathbf{t}_h$  es una estimación de la concentración del componente de interés por el método de MCP basado el espectro.

VII.- Aumentar  $h$  al valor de 2 (el número iteración de cálculos del algoritmo) sustituyendo  $\mathbf{E}_a$  para  $\mathbf{A}$  y  $\mathbf{e}_c$  para  $\mathbf{c}$  en II. Se deben realizar las repeticiones necesarias, incrementando el valor de  $h$ , a 3, 4, 5 etc.) hasta obtener un modelo adecuado.

## PREDICCIÓN

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

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

II.- Se calcula la variable latente  $\mathbf{t}_h$

$$t_h = a W_h$$

III.- Se calcula la concentración

$$C_h = c_{n-1} + v_t t_h$$

IV.- Se calculan los residuales de absorbancia

$$C_h = e_{h-1} - b_h t_h$$

V.- Incrementa  $h$ , sustituir  $e_h$  por " $a$ " y repetir el paso II hasta que se complete el número de  $h$  utilizadas en la calibración.

El programa de mínimos cuadrados parciales (MCP) sirve para realizar análisis con este fin y este consta de cuatro fases:

- **PRESS**
- **LINEALIDAD**
- **OUTLIERS**
- **PREDICCIÓN**

**PRESS:** En esta etapa sirve para introducir los datos de la calibración y así poder determinar el valor óptimo de "H", que es el que nos indica en que momento la calibración empieza a ser lineal.

**LINEALIDAD:** Sirve para saber en qué valor de "H" se encuentra la mejor linealidad.

**OUTLIERS:** Nos indica las muestras de la calibración, que se pueden desechar

**PREDICCIÓN:** se utiliza para estimar la concentración de la muestra a partir de los datos de 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 con lo cual se reduce tiempos y costos. Cabe mencionar que con este trabajo se trata de demostrar la eficacia del método en sustancias diproticas; sin embargo existe la posibilidad de utilizarlo para sustancias tripróticas.

Para encontrar el procedimiento adecuado para la determinación, se utilizaron únicamente sustancias cuyas constantes de disociación ácida (pKa) están reportadas en la literatura y que después de realizar un análisis de la molécula se puede predecir que tiene dos pKa's, dicha restricción se tomó para tener una referencia

Un parámetro fundamental 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 propia de las fracciones químicas

## DESARROLLO EXPERIMENTAL

### REACTIVOS

Tabla 1: Muestra los reactivos y marca del mismo

Nombre del reactivo	Proveedor
Hidróxido de sodio	J.T. BAKER
Ácido clorhídrico	FERMONT
Fosfato monobásico de potasio	J.T. BAKER
Ácido acético	J.T. BAKER
Acetato de sodio	J.T. BAKER
Tween 80	J.T. BAKER

Tabla 2: Informa el nombre de las sustancias activas, el proveedor y la pureza

Nombre del reactivo	Proveedor o donador	Pureza
Diclofenaco sódico	I.M. Bruluart	100.12%
Clonixinato de lisina	I.M. Bruluart	100.82%
Montelukast	Brulagsa	100%
Sulfametoxazol	I.M. Bruluart	100%

Tabla 3: Muestra las características del equipo.

<b>NOMBRE DEL EQUIPO</b>	<b>PROVEEDOR</b>	<b>MODELO</b>
Balanza analítica	Ohaus	Analytical plus AP250D
Espectrofotómetro	Varian	Cary 100 Conc
PC	Dell	HRP9W61
Potenciómetro	Mettler Toledo	Seven multi
Vortex	Vortex	-
Genie	K 550 6	Purificador de agua
Milli Q	Ríos	5

### **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 que uso el algoritmo establecido por Haaland).

El programa de Excel (solver) de la paquetería de office.

### **MÉTODO**

El método 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.

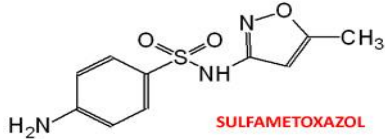
A continuación se mostrará un procedimiento general, acompañado de diagramas de flujo con la finalidad de explicar los pasos a seguir, los procedimientos específicos de cada analito se encuentran en la sección de anexos B y C.

## PROCEDIMIENTO GENERAL

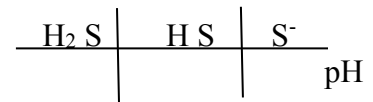
- I. revisar en la literatura la naturaleza química y todas las propiedades fisicoquímicas.
- II. Elaborar una escala de especies químicas de la sustancia en función del pH y ubicar la especie que predominará en medio ácido y en medio básico.
- III. Elegir el medio en donde se encuentre presente una sola especie.
- IV. Procedimiento de curva de calibración específico para cada sustancia (Ver anexo B)**
- V. Obtener los espectros de absorción para cada sustancia.
- VI. Elegir un búfer como medio en donde se encuentren diferentes especies químicas, es importante que el pH este muy cercano a un pKa de la sustancia. (Reportado en literatura)
- VII. Elegir 10 ó más longitudes de onda, en donde se incluyeran los puntos de absorbancia más significativos como son: puntos de inflexión, mínimos, máximos.
- VIII. Procedimiento de ensayo específico para cada sustancia (ver anexo C)**
- IX. Realizar el tratamiento de los resultados de la absorbancias por el programa de mínimos cuadrados parciales, con la finalidad de obtener la estimación de la concentración de la especie cuantificada en la curva de calibración
- X. Realizar el tratamiento de la concentración proporcionada por el programa de MCP y calcular la fracción experimental de la especie.
- XI. calcular la fracción teórica de la especie química con ayuda de la ecuación propia de las fracciones.
- XII. Estimar el pKa de cada una de las sustancias con ayuda del solver de excell

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

**Diagrama 1: Procedimiento para la preparación del espectro de absorción de cada una de las muestras.**



Identificar la naturaleza química



Realiza diagramas de zonas de predominio de especie



Disolver en el medio de disolución



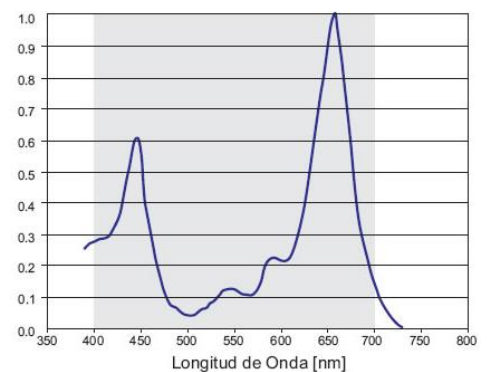
Pesar la sustancia



Elegir medio de disolución

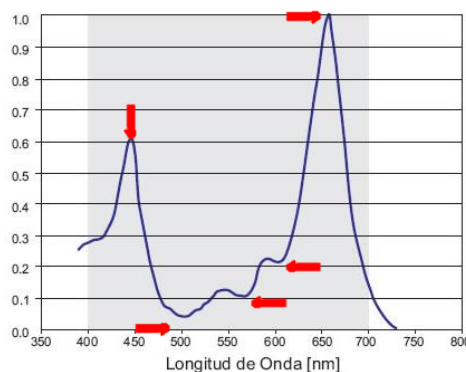


Elaboración de los aspectos de Absorción



Leer en el UV de 200 – 400

Elegir longitudes de onda





**Diagrama 2: Procedimiento para la preparación de las curva.**



Pesar la sustancia



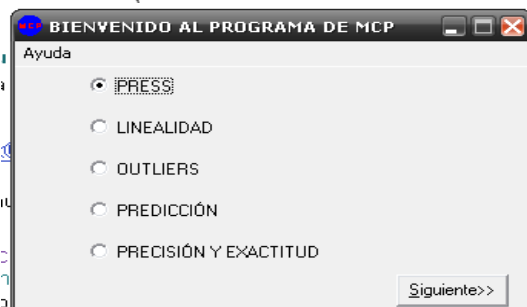
Disolver en NaOH 0.1N



Realizar diluciones



Leer en el UV la calibración a las Longitudes de onda seleccionadas



Tratamiento de los resultados de las Absorbancias y concentraciones por el programa de MCP

**Diagrama 3: Muestra la preparación de los ensayos analíticos.**



Pesar la sustancia



Disolver en el matraz  
En el medio elegido



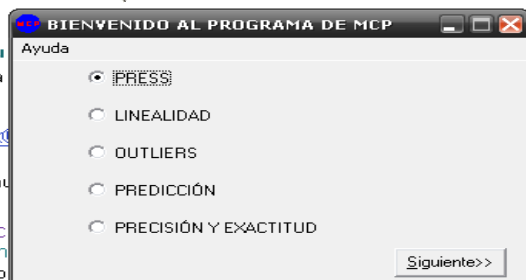
Realizar diluciones



Leer las muestras en UV



Determinar el pH de cada  
una de las muestras



capturar los datos en el  
programa de MCP

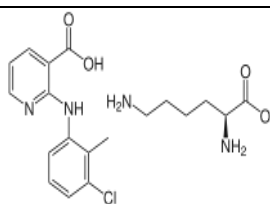
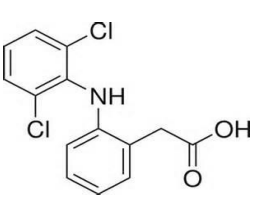
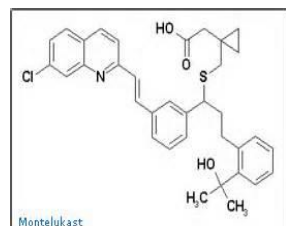
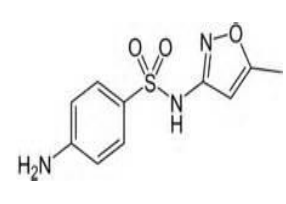
Fracción = 
$$\frac{1}{1+10^{-2\text{pH}+\text{pKa}2+\text{pKa}1}+10^{-\text{pH}-\text{pKa}2}}$$

Teórica

Calcular la fracción teórica de la especie química

En la tabla 4 se muestra cada uno de los fármacos a los que se les determino el pKa. Tomando como base el análisis de la molécula y la determinación de la naturaleza química se realizaron las curvas de calibración en NaOH 0.1 N. En las que se cumple con el requisito de que predominara una especie química casi al 100%. La especie predominante en cada uno de los fármacos es (A<sup>-</sup>)

Tabla 4: Muestra los fármacos, estructura y zonas de predominio.

NOMBRE	CALIBRACIÓN (MEDIO DE DILUCIÓN)	ESTRUCTURA QUIMICA	ZONAS DE PREDOMINIO DE LAS ESPECIES QUÍMICAS
CLONIXINATO DE LISINA	NaOH 0.1 N.		$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C} \quad \text{HC}^- \quad \text{C}^{2-} \\ \hline 1.6 \quad 4.2 \end{array} \rightarrow \text{pH}$
DICLOFENACO SÓDICO	NaOH 0.1 N.		$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{D} \quad \text{HD}^- \quad \text{D}^{2-} \\ \hline 1.26 \quad 4.12 \end{array} \rightarrow \text{pH}$
MONTELUKAST	NaOH 0.1 N.		$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{M} \quad \text{HM}^- \quad \text{M}^{2-} \\ \hline 1.9 \quad 7.5 \end{array} \rightarrow \text{pH}$
SULFAMETOXAZOL	NaOH 0.1 N.		$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{SX} \quad \text{HSX}^- \quad \text{SX}^{2-} \\ \hline 1.6 \quad 5.7 \end{array} \rightarrow \text{pH}$

En la siguiente tabla se muestra un listado de los medios, las concentraciones así como las longitudes de onda.

Tabla 5: Condiciones de trabajo de las curvas y ensayos.

Nombre del fármaco	Medio de Dilución (calibración)	Medio de dilución (muestras)	Intervalo de concentraciones (mcg/ml)	Longitudes de onda (nm)
Clonixinato de lisina	NaOH 0.1 N	Búfer de fosfatos pH = 5.5	30.252 - 70.588	300,295,290 285,275,270,265 260,248,230
Diclofenaco sódico	NaOH 0.1 N	Búfer de acetatos pH =4.5	8.272 - 41.36	285,280,275,270 250,245,240,230 225,218,215
Montelukast	NaOH 0.1 N	Búfer de acetatos pH = 4.5	8.2464 - 41.232	265,262,259,256 253,250,247,244 241,238,235,232 229,223,220
Sulfametoxazol	NaOH 0.1 N	Búfer de fosfatos pH = 6.8	8.012 - 40.06	292,289,286,283 280,277,274,271 268,265,262,256 253,250

Las soluciones amortiguadoras a utilizar deberán cumplir con las siguientes características:

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

### **CÁLCULO DE LA CONCENTRACIÓN EN MUESTRA.**

En este trabajo se utiliza la fracción de una especie, por lo cual se parte de una solución con una cantidad perfectamente conocida de sustancia problema con la cual se realiza la curva de calibración en NaOH 0.1 N.

Con los datos de las lecturas del espectrofotómetro se alimenta el programa de MCP el cual proporciona una estimación de la concentración de la especie de interés en estos casos  $A^-$

Con este dato se puede calcular la fracción experimental y teórica de la especie  $A^-$

- **Fracción experimental:**  
Se calcula dividiendo la concentración estimada del programa de MCP. Con la real.
- **Fracción teórica:**  
Se obtiene al aplicar la ecuación.

$$\text{FRACCIÓN TEÓRICA} = \frac{1}{1+10^{-2\text{pH}+\text{pKa}_2+\text{pKa}_1}+10^{-\text{pH}-\text{pKa}_2}}$$

Posteriormente se trabaja con la fracción de la especie química a cuantificar.

# **CAPÍTULO**

## **III**

### **RESULTADOS Y ANÁLISIS DEL MÉTODO ANALÍTICO.**

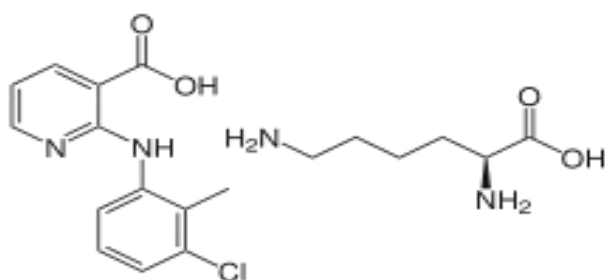
En este trabajo se determinó el valor de pKa de cuatro fármacos. Clonixinato de lisina, Diclofenaco sódico, Montelukast, y Sulfametoxazol.

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.

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 Clonixinato de lisina, los demás resultados se sintetizarán en tablas para agilizar la información debido a que el procedimiento es repetitivo.

## DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE ACIDEZ DEL CLONIXINATO DE LISINA.

1.- el primer paso es analizar la estructura e identificar la naturaleza del fármaco.



Naturaleza química: acida

### PROCEDIMIENTO PARA EL ANALISIS DE LA CURVA DE CALIBRACIÓN.

Buscar un medio en el cual se pueda tener soluble a la sustancia problema.

Al obtener el espectro de absorción en NaOH 0.1 N en una concentración de 70 mcg/ml a una longitud de onda de 200 – 400 nm. elegir 8 o más longitudes de onda considerando puntos máximos, mínimos, puntos de inflexión y mesetas.

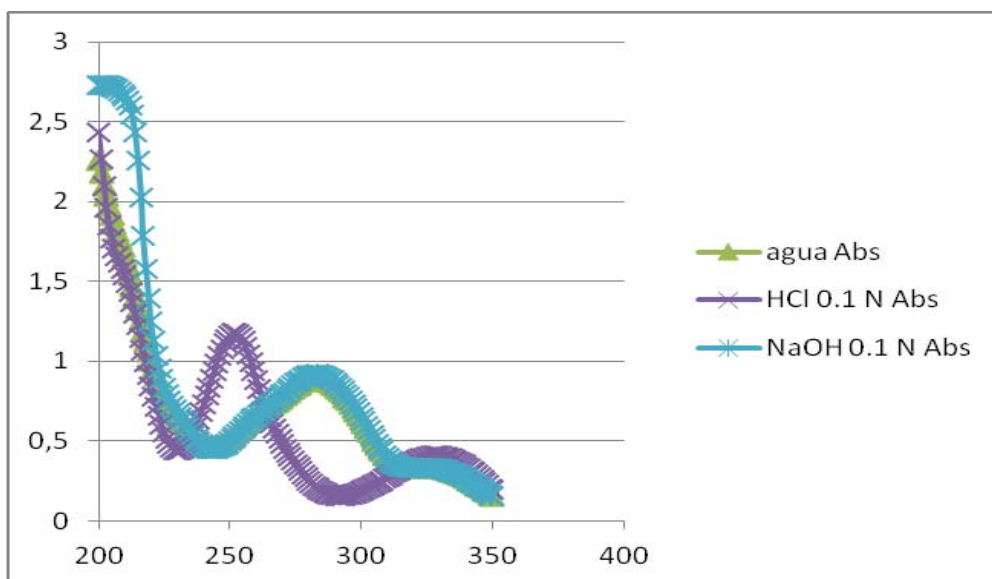


Figura 3: Espectro de absorción del Clonixinato de lisina en diferentes medios

Las concentraciones y absorbancias de la calibración de Clonixinato de lisina están en el anexo c

A partir de aquí se empieza el análisis de MCP. Al ingresar los datos de concentraciones y absorbancias en el programa de MCP. (ISHEJA)

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

<b>PRESS</b>	<b>CLONIXINATO DE LISINA EN NAOH 0.1 N.</b>
1	6.20E+00
2	5.91E+00
3	3.48E+00
4	3.34E+00
5	3.28E+00
6	3.25E+00
7	3.14E+00
8	3.11E+00
9	3.10E+00
10	3.06E+00
11	3.04E+00
12	3.04E+00
13	2.61E+00
14	2.50E+00
15	2.44E+00
16	2.42E+00
17	2.31E+00
18	2.28E+00
19	2.27E+00
20	2.27E+00



Para la calibración de Clonixinato de lisina .En NaOH 0.1 N

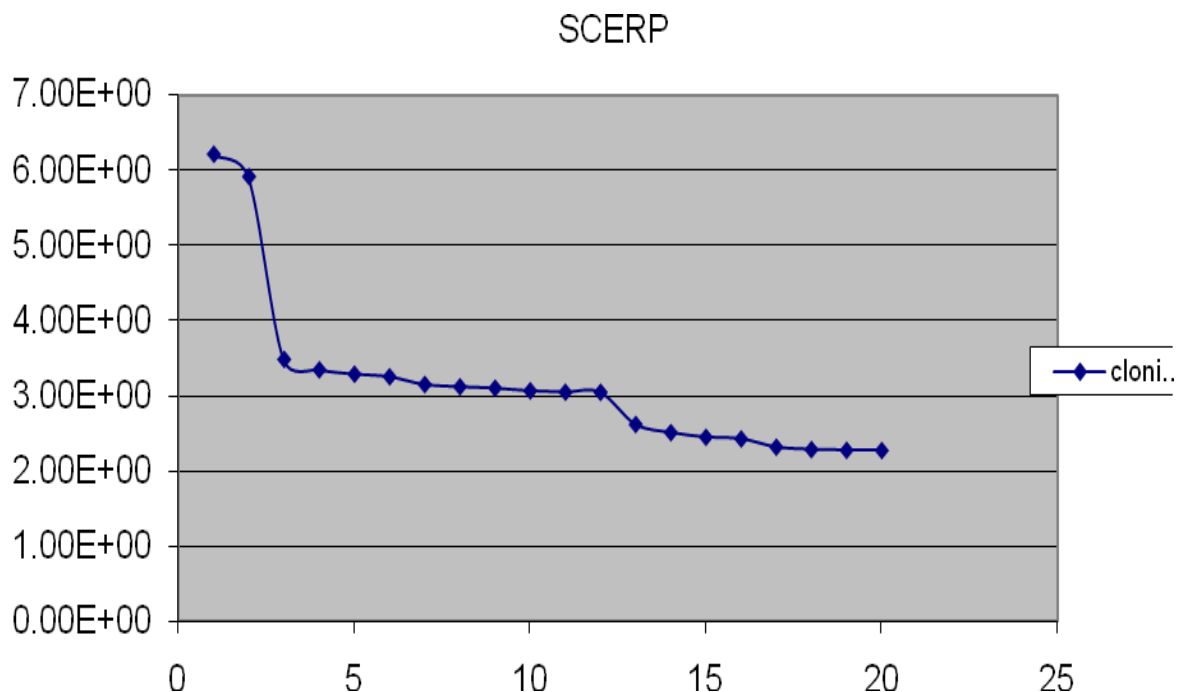


Figura 4: Grafico de la suma de cuadrados de los errores de predicción vs.

Tabla 8: Resultados estadísticos de la calibración de Clonixinato de lisina en NaOH 0.1 N.

<b>REGRESIÓN</b>	<b>CLONIXINATO DE LISINA</b>
<b>PROMEDIO</b>	<b>1</b>
<b>DESVEST</b>	<b>0.00957</b>
<b>C.V.</b>	<b>0.95732</b>
<b>INTERCEPTO</b>	<b>0.02077</b>
<b>PENDIENTE</b>	<b>0.99949</b>
<b>COEF.CORR.</b>	<b>0.999</b>

La tabla 8 es proporcionada por el programa de MCP. Donde se muestra el análisis estadístico general de la curva de calibración del Clonixinato de lisina.

Tabla 9: porcentaje de error en la curva de Clonixinato de lisina en NaOH 0.1

<b>CONCENTRACIÓN TOTAL (mcg/ml)</b>	<b>CONCENTRACIÓN ESTIMADA DE ( C-) mcg/ml</b>	<b>% DE ERROR</b>
30.252	30.3267	0.53%
30.252	30.0415	-0.42%
30.252	30.0945	-0.24%
40.336	40.159	-0.16%
40.336	40.3135	0.22%
40.336	40.19	-0.08%
50.42	50.2106	-0.14%
50.42	50.337	0.11%
50.42	50.4524	0.34%
60.504	60.2257	-0.18%
60.504	60.2771	-0.10%
60.504	60.2846	-0.09%
70.588	70.4765	0.12%
70.588	70.4268	0.05%
70.588	70.3345	-0.08%

#### **PROCEDIMIENTO PARA EL ANÁLISIS DE LAS MUESTRAS Y LA DETERMINACIÓN DEL pka.**

Como ya se hizo mención en la parte experimental, para la estimación de los pKas de las muestras se utilizaron soluciones amortiguadoras, en el caso del Clonixinato de lisina fue una solución de fosfatos pH = 5.5. Las absorbancias y concentraciones de las muestras son ingresadas en el programa de MCP (ISHEJA) en el apartado de predicción, en el cual se realiza la estimación de la concentración de la especie predominante la cual es la misma que en nuestra curva de calibración C<sup>-</sup>.

Las concentraciones, longitudes de onda y absorbancias del ensayo de Clonixinato de lisina en búfer de fosfatos pH=5.5 se pueden ver en el anexo C.

Tabla 11: Predicción de concentraciones, pH, fracción experimental y fracción teórica

<b>CONCENTRACIÓN ESTIMADA DE ( C<sup>-</sup>) mcg/ml</b>	<b>CONC. TOTAL mcg/ml</b>	<b>PH</b>	<b>FRACCIÓN EXP</b>	<b>FRACCIÓN TEORICA</b>	<b>DIFERENCIA</b>
21.3791	30.252	5.5	0.9532	0.7992	0.9987
22.0464	30.252	5.59	0.9527	0.7992	0.9991
21.7992	30.252	5.6	0.9864	0.7992	0.9988
29.1029	40.336	5.58	0.9731	0.7992	0.9984
29.2869	40.336	5.59	0.9681	0.7992	0.9982
29.4066	40.336	5.59	0.9236	0.7992	0.9958
36.0839	50.42	5.59	0.9713	0.7992	1.0009
36.9855	50.42	5.59	0.9888	0.7992	0.9994
38.0136	50.42	5.62	0.9849	0.7992	0.9991
42.7622	60.504	5.58	0.9477	0.7992	0.9983
44.7225	60.504	5.6	0.9575	0.7992	0.9979

En la tabla anterior se encuentra el pH de cada una de las muestras, lo mismo la concentración total de las sustancias, la columna donde dice concentración estimada es la que proporciona el programa MCP (ISHEJA) el programa estimo la especie de la calibración la fracción experimental se calculó dividiendo la concentración estimada del programa con la concentración real y la fracción teórica se calculó haciendo uso de la ecuación:

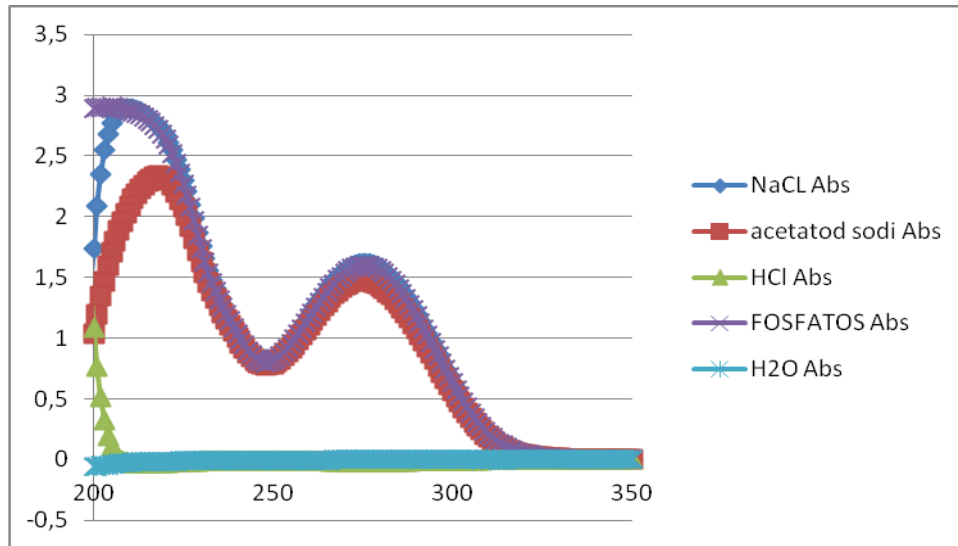
$$\text{Fracción Teórica} = \frac{1}{1 + 10^{-\text{pH} + \text{pKa}2} + 10^{-2\text{pH} + \text{pKa}1 + \text{pKa}2}}$$

Los datos de esta tabla se capturan en el programa solver de Excel y con ayuda de este se estima los pKas de la muestra de Clonixinato de lisina en búfer de fosfatos pH=5.5

Por lo repetitivo del procedimiento para la estimación del pka de las muestras de cada una de las sustancias, solo se presentan los resultados de cada uno de ellos en tablas para cada una de las etapas del programa de MCP (ISHEJA) press, linealidad, outliners y predicción.

Resultados obtenidos del programa de MCP ISHEJA de cada una de las sustancias.

## DICLOFENACO



Las concentraciones y absorbancia de la calibración de Diclofenaco en NaOH 0.1N están contenidas en el anexo B.

Tabla 13: Valores de la suma de cuadrados de los errores de predicción (SCERP) Para la calibración de Diclofenaco. En NaOH 0.1 N

PRESS	DICLOFENACO
1	4.08E+01
2	6.25E-01
3	4.64E-01
4	2.73E-01
5	1.49E-01
6	8.73E-02
7	7.83E-02
8	6.91E-02
9	6.22E-02
10	5.56E-02
11	3.82E-02
12	2.61E-02
13	2.60E-02
14	2.52E-02
15	2.25E-02
16	2.01E-02
17	1.97E-02
18	1.94E-02
19	1.92E-02
20	1.92E-02

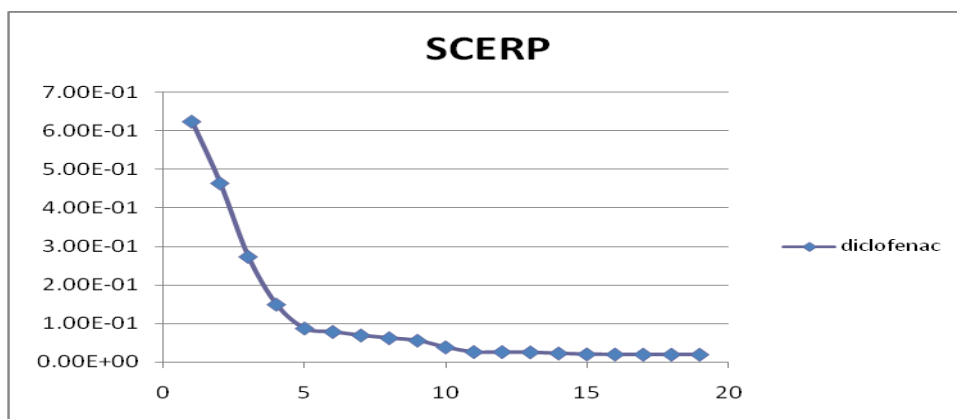


Figura 5: Grafico de resultados del SCERP de Diclofenaco en NaOH 0.1 N

Tabla14: Resultados estadísticos de la calibración de Diclofenaco en NaOH 0.1 N.

REGRESIÓN	DICLOFENACO
PROMEDIO	0.9992
DESVEST	0.00306
C.V.	0.30673
INTERCEPTO	-0.04894
PENDIENTE	1.00151
COEF.CORR.	0.99999

Tabla 15: Porcentaje de error en la calibración de Diclofenaco en NaOH 0.1 N.

CONCENTRACIÓN TOTAL(mcg/ml)	CONCENTRACIÓN ESTIMADA DE (D) mcg/ml	% DE ERROR
10.076	9.9636	-1.12%
10.076	10.0797	0.04%
10.076	10.0501	-0.26%
20.152	20.1381	-0.07%
20.152	20.1361	-0.08%
20.152	20.1828	0.15%
30.228	30.2085	-0.06%
30.228	30.2133	-0.05%
30.228	30.217	-0.04%
40.304	40.3036	0.00%
40.304	40.3829	0.20%
40.304	40.2981	-0.01%
50.38	50.3671	-0.03%
50.38	50.3876	0.02%
50.38	50.4438	0.13%

Las concentraciones, los resultados de absorbancia de las muestras de Diclofenaco en buffer de acetatos pH=4.5 están contenidas en el anexo C.

Tabla17: Resultados de fracción experimental, fracción teórica, pH, de las muestras de Diclofenaco en buffer de acetatos pH=4.5

CONCENTRACION ESTIMADA DE (D-) mcg/ml.	CONCENTRACION TOTAL (mcg/ml)	PH	FRACCIÓN EXP	FRACCIÓN TEÓRICA	DIFERENCIA
8.2535	10.072	4.6	0.8194	0.7212	0.0983
8.7465	10.072	4.6	0.8683	0.7212	0.1472
8.9347	10.072	4.6	0.8870	0.7212	0.1659
17.0415	20.144	4.6	0.8459	0.7212	0.1248
17.0415	20.144	4.6	0.8459	0.7212	0.1248
23.0253	30.216	4.6	0.7620	0.7212	0.0409
23.0405	30.216	4.7	0.7625	0.7212	0.0414
23.1743	30.216	4.7	0.7669	0.7212	0.0458
23.4718	40.288	4.8	0.5826	0.7212	-0.1385
25.09	40.288	4.7	0.6227	0.7212	-0.0984
25.315	40.288	4.6	0.6283	0.7212	-0.0928
27.2116	50.36	4.8	0.5403	0.7212	-0.1808
28.4315	50.36	4.8	0.5645	0.7212	-0.1566
30.1691	50.36	4.6	0.5990	0.7212	-0.1221

## MONTELUKAST

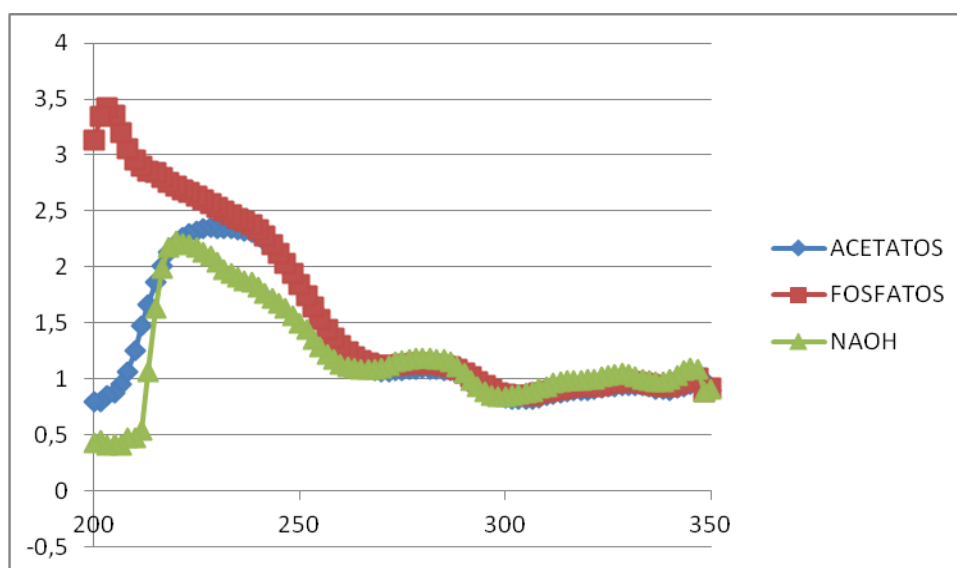


Figura 5: Muestra el espectro de absorción de Montelukast en diferentes medios a diferente pH.

Los resultados de concentración y absorbancia de la curva de Montelukast en NaOH 0.1 N están contenidas en el anexo B.

Tabla 19: Valores de la suma de cuadrados de los errores de predicción (SCERP) Para la calibración de Montelukast. En NaOH 0.1 N

PRESS	MONTELUKAST
1	2.82E+00
2	1.87E+00
3	1.57E+00
4	1.15E+00
5	1.05E+00
6	7.97E-01
7	7.44E-01
8	5.05E-01
9	3.81E-01
10	1.70E-01
11	1.75E-02
12	3.59E-03
13	1.69E-04
14	8.28E-24
15	4.81E-24
16	1.58E-27
17	4.92E-28
18	4.86E-28
19	4.86E-28
20	4.86E-28

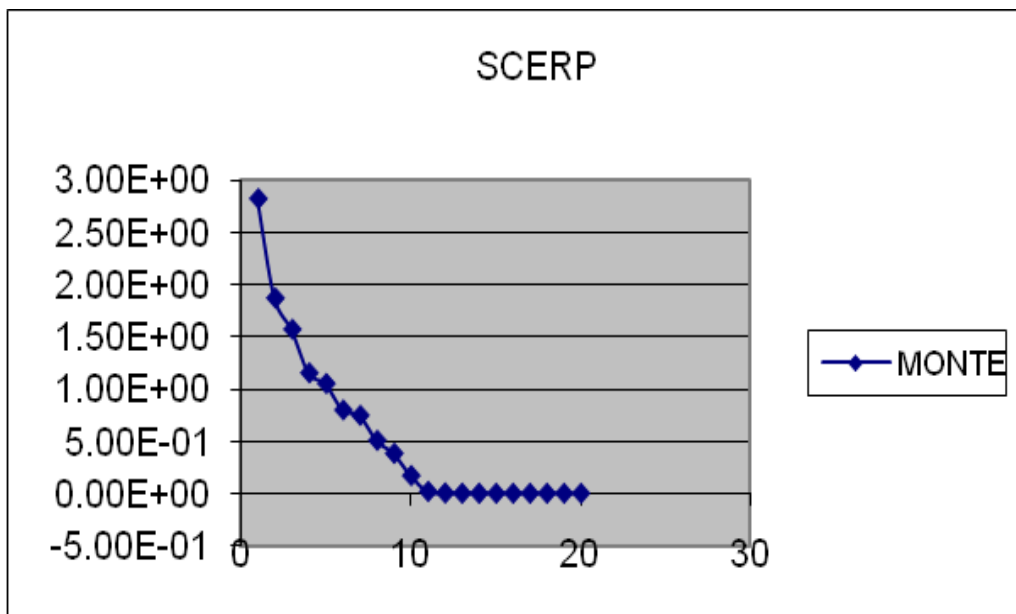


Figura 6: Grafico resultados del SCERP de Montelukast en NaOH 0.1 N

Tabla 20: Resultados estadísticos de la calibración de Montelukast en NaOH 0.1 N.

<b>REGRESIÓN</b>	<b>MONTELUKAST</b>
<b>PROMEDIO</b>	<b>0.9993</b>
<b>DESVEST</b>	<b>0.02061</b>
<b>C.V.</b>	<b>2.06206</b>
<b>INTERCEPTO</b>	<b>0.00902</b>
<b>PENDIENTE</b>	<b>0.99964</b>

Tabla 21: Porcentaje de error en la calibración de Montelukast en NaOH 0.1 N.

<b>CONCENTRACIÓN TOTAL(mcg/ml)</b>	<b>CONCENTRACIÓN ESTIMADA DE (M<sup>2</sup>-) mcg/ml</b>	<b>% DE ERROR</b>
8.2464	8.0816	-2.00%
8.2464	7.8045	-5.36%
8.2464	8.5697	3.92%
16.4928	16.5333	0.25%
16.4928	16.9555	2.81%
16.4928	16.6615	1.02%
24.7392	24.4353	-1.23%
24.7392	24.5661	-0.70%
24.7392	24.7128	-0.11%
32.9856	32.9215	-0.19%
32.9856	33.0835	0.30%
32.9856	33.167	0.55%
41.232	41.1977	-0.08%
41.232	41.1914	-0.10%
41.232	41.2068	-0.06%

Los resultados de absorbancia de las muestras de Montelukast en búfer de acetatos pH: 4.0 a diferentes longitudes de onda están contenidos en el anexo C.



Las tabla 23: Resultados de fracción experimental, fracción teórica, pH, de las muestras del Montelukast en búfer de acetatos pH=4.5

CONC. ESTIMADA DE (M) mcg/ml	CONC. TOTAL mcg/ml.	FRACC. EXP.	FRACC. TEÒRICA	pH	DIFERENCIA
12.5868	19.7913	0.4234	0.3944	4.78	0.7808
11.9728	19.7913	0.4551	0.4837	4.76	0.7428
12.9771	19.7913	0.4604	0.4437	4.79	0.8051
20.4941	26.3884	0.6590	0.7106	5.06	0.8476
19.5513	26.3884	0.6940	0.7468	5.05	0.8086
20.2851	26.3884	0.7530	0.7029	5.06	0.8390
28.4396	32.9856	0.9834	0.9238	5.41	0.8822
28.1655	32.9856	0.9421	0.8911	5.45	0.8737
27.6479	32.9856	0.8886	0.9426	5.42	0.8576

### SULFAMETOXAZOL

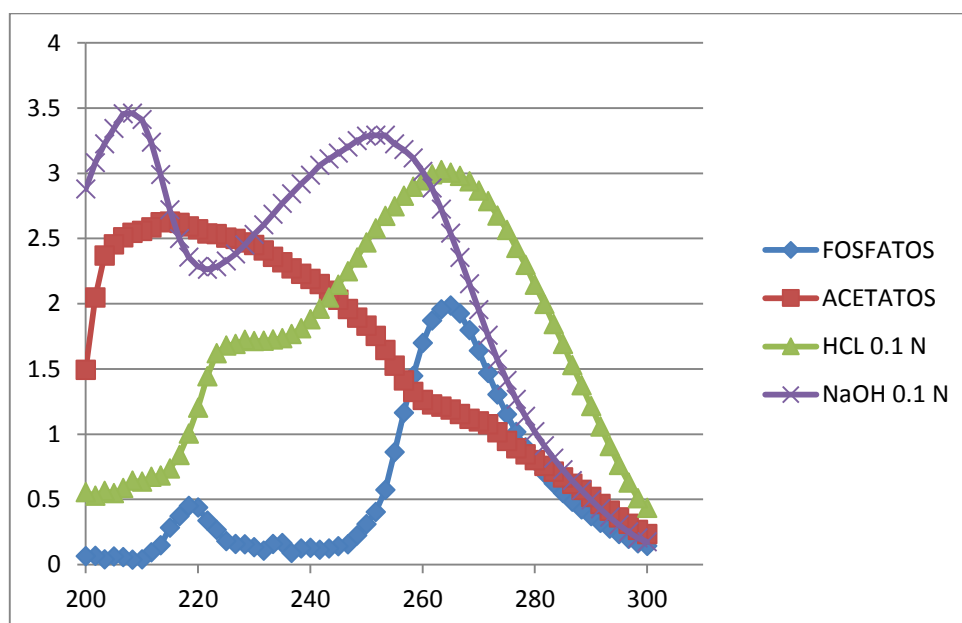


Figura 7: Espectro de absorción del Sulfametoxazol en diferentes medios.

Los resultados de concentración y absorbancia de la curva de Sulfametoxazol en NaOH 0.1 N están contenidos en el anexo B

Tabla 25: Valores de la suma de cuadrados de los errores de predicción (SCERP) para la calibración de Sulfametoxazol. En NaOH 0.1 N

<b>PRESS</b>	<b>SULFAMETOXAZOL</b>
1	1.38E+03
2	3.29E+01
3	2.37E+00
4	1.39E+00
5	1.36E+00
6	1.17E+00
7	1.07E+00
8	7.98E-01
9	6.46E-01
10	3.77E-01
11	2.32E-01
12	8.00E-02
13	2.60E-02
14	2.26E-24
15	2.20E-24
16	2.17E-24
17	1.49E-24
18	1.45E-24
19	1.32E-24
20	1.25E-24

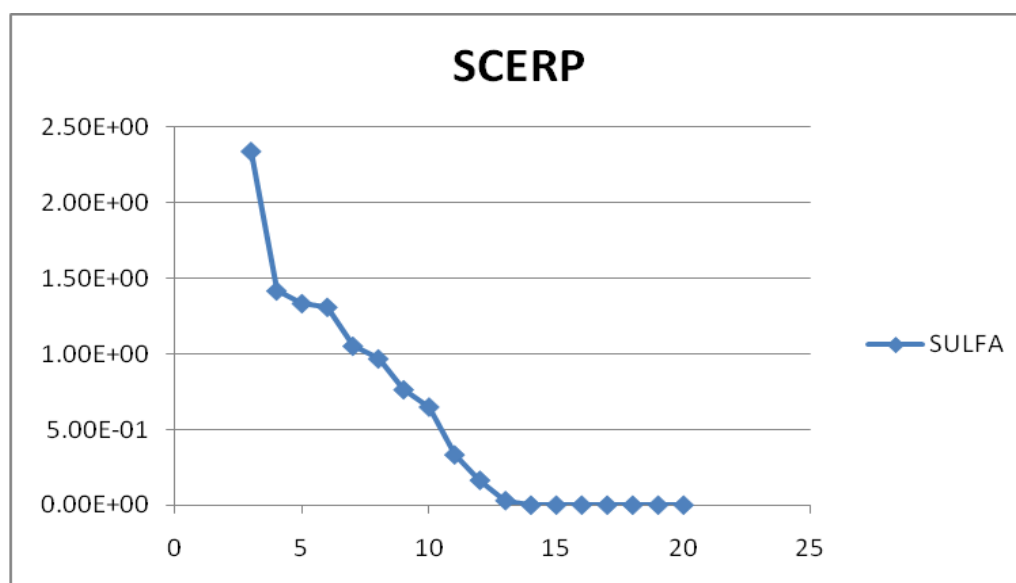


Figura 8: Grafico resultados del SCERP De Sulfametoxazol en NaOH 0.1 N

N

Tabla 26: Resultados estadísticos de la calibración de Sulfametoxazol en NaOH 0.1

<b>REGRESIÓN</b>	<b>SULFAMETOXAZOL</b>
<b>PROMEDIO</b>	<b>1.0029</b>
<b>DESVEST</b>	<b>0.02071</b>
<b>C.V.</b>	<b>2.06454</b>
<b>INTERCEPTO</b>	<b>0.01694</b>
<b>PENDIENTE</b>	<b>0.9993</b>
<b>COEF.CORR.</b>	<b>0.9993</b>

Tabla 27: Porcentaje de error en la calibración de Sulfametoxazol en NaOH 0.1 N

<b>CONCENTRACIÓN TOTAL (mcg/ml)</b>	<b>PREDICCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE (S) mcg/ml</b>	<b>% DE ERROR</b>
8.012	8.4013	4.86%
8.012	7.8828	-1.61%
8.012	8.3984	4.82%
16.024	15.8927	-0.82%
16.024	15.924	-0.62%
16.024	16.1684	0.90%
24.036	23.6339	-1.67%
24.036	23.739	-1.24%
24.036	23.8035	-0.97%
32.048	31.7441	-0.95%
32.048	32.1778	0.41%
32.048	31.9292	-0.37%
40.06	40.1042	0.11%
40.06	39.9404	-0.30%
40.06	40.8003	1.85%

Los resultados de absorbancia de las muestras de Sulfametoxazol en búfer de Acetatos pH: 4.5 a diferentes longitudes de onda están contenidos en el anexo C.

Tabla 29: Resultados de fracción experimental, fracción teórica, pH, de las muestras del Sulfametoxazol en búfer de fosfatos pH= 6.8

<b>CONC. DE (S<sup>-</sup>) mcg/ml</b>	<b>CONC. TOTAL Mcg/ml</b>	<b>FRACCIÓN EXP.</b>	<b>FRACCIÓN TEORICA</b>	<b>PH</b>	<b>DIFERENCIA</b>
15.1545	16.024	0.9457	0.9472	6.93	0.0014
15.4962	16.024	0.9670	0.9460	6.92	-0.0210
15.8778	16.024	0.9908	0.9483	6.94	-0.0425
23.2443	24.036	0.9670	0.9660	7.13	-0.0010
22.7317	24.036	0.9457	0.9722	7.22	0.0264
23.8167	24.036	0.9908	0.9702	7.19	-0.0205
31.8857	32.048	0.9949	0.9868	7.55	-0.0081
30.1359	32.048	0.9403	0.9852	7.5	0.0448
30.8409	32.048	0.9623	0.9855	7.51	0.0232

Tabla 30: Parámetros estadísticos de las curvas de cada una de las sustancias.

<b>RESULTADOS ESTADÍSTICOS DE LAS REGRESIONES</b>				
<b>REGRESIÓN</b>	<b>CLONIXINATO DE LISINA (NaOH 0. 1 N)</b>	<b>DICLOFENACO (NaOH 0. 1 N)</b>	<b>MONTELUKAST (NaOH 0. 1 N)</b>	<b>SULFAMETOXAZOL (NaOH 0. 1 N)</b>
<b>NÚMERO DE FACTOR (H)</b>	12	13	7	5
<b>PROMEDIO</b>	1	0.9992	0.9993	1.0029
<b>DESVIACIÓN STD</b>	0.00113	0.00306	0.02061	0.02071
<b>COEFICIENTE DE VARIACIÓN</b>	0.11327	0.67303	2.06206	2.66454
<b>INTERCEPTO</b>	-0.03116	-0.04894	0.00902	0.01694
<b>PENDIENTE</b>	1.00062	1.00151	0.99964	0.9993
<b>COEFICIENTE DE CORRELACIÓN</b>	0.9999	0.9999	0.99964	0.9993

Tabla 31: Muestra los resultados de la determinación de los pKas de cada una de las sustancias.

<b>RESULTADOS DE LA DETERMINACIÓN DE LAS CONSTANTES DE ACIDEZ</b>			
<b>NOMBRE DEL ANALITO(medio de calibración)</b>	<b>pKa TEÓRICO</b>	<b>pKa experimental</b>	
		<b>MCP MEDIO DE DISOLUCIÓN</b>	<b>SOLVER</b>
<b>CLONIXINATO DE LISINA (Hidróxido de sodio 0.1 N.)</b>	pKa <sub>1</sub> =1.6	<b>Búfer de fosfatos pH= 5.5</b>	pKa <sub>1</sub> = 1.55
	pKa <sub>2</sub> =4.8		pKa <sub>2</sub> = 4.9
<b>DICLOFENACO (Hidróxido de sodio 0.1 N.)</b>	pKa <sub>1</sub> =	<b>Búfer de acetatos pH= 4.5</b>	pKa <sub>1</sub> =1.26
	pKa <sub>2</sub> =4.2		pKa <sub>2</sub> = 4.18
<b>SULFAMETOXAZOL (Hidróxido de sodio 0.1 N.)</b>	pKa <sub>1</sub> =1.6	<b>Búfer de fosfatos pH= 6.8</b>	pKa <sub>1</sub> = 1.49
	pKa <sub>2</sub> =5.7		pKa <sub>2</sub> = 5.67
<b>MONTELUKAST (Hidróxido de sodio 0.1 N.)</b>	pKa <sub>1</sub> =1.9	<b>Búfer de acetatos pH= 4.4</b>	pKa <sub>1</sub> = 2.22
	5		
	pKa <sub>2</sub> =7.5		pKa <sub>2</sub> = 4.43

En la tabla anterior se muestran los resultados de la estimación de los pKas de cada una de las sustancias, como ya se tiene reportado los pKas de cada una de ellas se tomaron a manera de referencia y saber el éxito o fracaso del procedimiento analítico para determinar el pKa de sustancia en las cuales se desconozca dicho valor y así evaluar su aplicabilidad. Es importante resaltar que todas las sustancias fueron disueltas en NaOH 0.1 N sin presentar ninguna dificultad a excepción del Montelukast que se tuvo que hacer uso de Tween 80 para facilitar la disolución de la sustancia.

Tabla 32: Muestra los resultados del C.V. Presente entre los pKa s teórico y experimental.

<b>NOMBRE DE LA SUSTANCIA</b>	<b>pKa TEÓRICO</b>	<b>pKa EXP.</b>	<b>% DE ERROR</b>
<b>CLONIXINATO DE LISINA</b>	1.6	1.55	-3.13%
	4.8	4.9	2.08%
<b>DICLOFENACO</b>		1.26	
	4.2	4.18	-0.48%
<b>SULFAMETOXAZOL</b>	1.6	1.44	10.00%
	5.7	5.67	-0.53%
<b>MONTELUKAST</b>	1.95	2.22	12.16
	7.5	4.43	-69.30

En el caso del Clonixinato de lisina, Diclofenaco y sulfametoxazol no se presenta una diferencia ya que los pKa son muy cercanos los dos en una calibración básica, para la muestras de Diclofenaco que solo se reporta un pKa<sub>2</sub> no existe diferencia significativa que

indique error en el procedimiento y reportamos un  $pK_{a1}$  que en la literatura no se reporta, en el caso Montelukast se encontraron dificultades por las cuales no se encontraron las condiciones de trabajo optimas en base a los resultados obtenidos, existe una diferencia entre los  $pK_a$ 's teórico y experimental la variación en estos puede deberse a:

- Pureza de la sustancia
- Medio de disolución.
- Fuerza iónica.
- Utilización de búfer en un intervalo donde su mayor fuerza de amortiguamiento no sea la mejor.
- pH del medio de disolución.

Cabe mencionar que los valores de  $pK_a$  obtenidos son experimentalmente son aproximados a los reportados en la literatura, solo para tres de las sustancia de estudio (Clonixinato de lisina, Diclofenaco sódico y Sulfametoxazol) mientras que en el caso de Montelukast no, lo cual es un indicativo de que el procedimiento puede ser utilizado para determinar las constantes de acidez de sustancias diproticas

El método de mínimos cuadrados parciales tiene la capacidad para cuantificar especies químicas, es decir diferencia entre una estructura y otra que difieren entre sí por la sola presencia de un protón, pero que manifiestan una gran diferencia en su espectro de absorción, lo cual permite obtener respuestas analíticas que se puedan utilizar en su cuantificación, lo cual da como resultado un método para estimar la constante de acidez, como una opción diferente a los métodos ya convencionales.

# **CAPÍTULO**

# **CONCLUSIONES**

## CONCLUSIONES:

- Se diseñó un procedimiento experimental en el cual partiendo de la estructura, naturaleza química y espectro de absorción de una sustancia para elegir un medio en el cual predomine casi al 100% una sola especie.
- Se elaboraron curvas de calibración y se calculó la concentración de una de las especies en la muestra de cada una de las sustancias utilizadas, para determinar sus pKa's.
- Se establecieron las condiciones espectrofotométricas óptimas para la calibración del Clonixinato de lisina, Diclofenaco sódico, Montelukast y Sulfametoxazol.
- Se determinó el pKa experimental de cuatro sustancias la del Clonixinato de lisina, Diclofenaco sódico, Montelukast y Sulfametoxazol todas con su respectiva calibración en NaOH 0.1 N
- Se estableció un ensayo analítico, fácil de llevar a cabo, en el cual se elimina la necesidad de la separación previa del analito, la reducción de tiempo de análisis y la variabilidad entre los resultados analíticos.
- De acuerdo con los resultados obtenidos que muestran que esta técnica es muy precisa pero no exacta, es necesario la optimización de la misma con la finalidad de afinar los detalles y poder hacer un procedimiento totalmente validado.



# ANEXOS

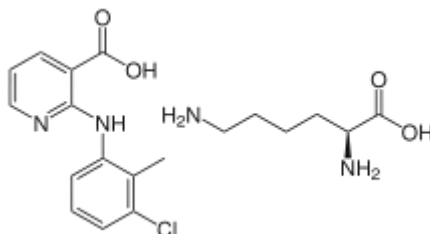
**anexo**

**A**

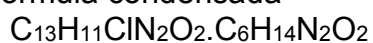
## CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL CLONIXINATO DE LISINA

### Clonixinato de Lisina

- Estructura química



Fórmula condensada



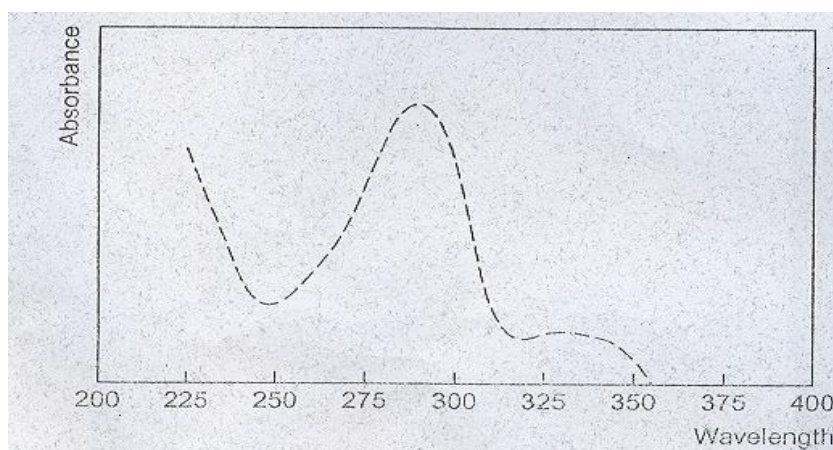
- Peso molecular  
408.88
- Constante de disociación

pka:

- Descripción

Polvo blanco sin olor característico, muy irritante. Punto de Fusión 170-175 °C. Soluble en agua, metanol y cloroformo (17).

- Espectro Ultravioleta (Clonixinato)  
Metanol 289 nm ( $A_{1\%}^{1\text{cm}}=950b$ ), 335 nm.



- Propiedades farmacológicas

El Clonixinato de lisina es un analgésico no narcótico que inhibe la enzima prostaglandina sintetasa, responsable de la síntesis de prostaglandinas, a su vez responsable directa de la estimulación de los neuroreceptores del dolor. Por ello se llama

comúnmente antiinflamatorio no esteroideo. Es derivado del ácido nicotínico o ácido o-amino benzoico.

- Disposición en el cuerpo

Se absorbe rápidamente después de la administración oral, metabolizándose casi en su totalidad sin acumularse aún con administración crónica. Muestra una cinética bicompartimental por vía endovenosa (intravenosa). La farmacocinética de este ingrediente activo no se modifica por la edad ni por la ingesta de alimentos. Se han detectado niveles ínfimos en leche materna (17).

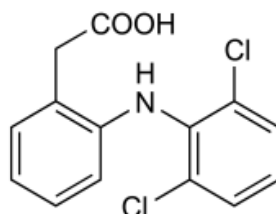
- Dosis

La posología más común es de 125 mg cada 8 horas.

## CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL DICLOFENACO SÓDICO

### Diclofenaco Sódico

- Estructura química

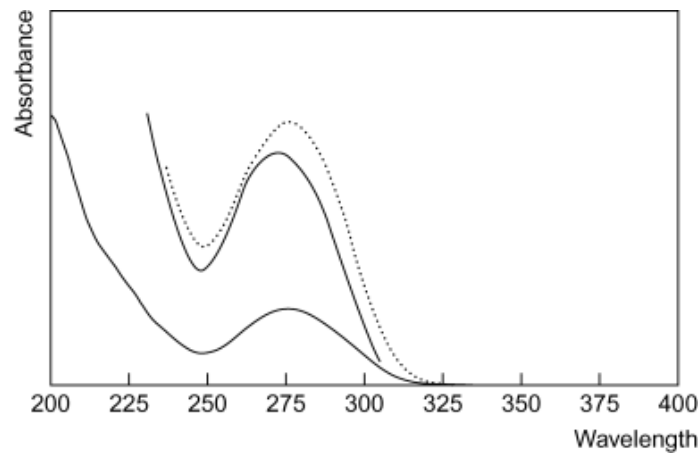


- Fórmula condensada  
 $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$
- Número CAS—15307-79-6
- Peso molecular  
318.1
- Constante de disociación  
pka: 4.2
- Descripción

Cristales que funden de 283° a 285°C. Solubilidad a 25 ° (mg / mL): agua des ionizada (pH 5.2) > 9; metanol > 24; acetona 6; Acetonitrilo <1; ciclo hexano <1.

- Espectro Ultravioleta

Ácido acuoso 273 nm ( $A^{1}_{1}=309b$ ); alcalino acuoso 275 nm ( $A^{1}_{1}=351b$ ).



- Disposición en el cuerpo

Absorbe bien tras la administración oral, pero sufre significativa biotransformación del primer paso.

Hasta alrededor del 70% de una dosis, se excreta en la orina en 3 días, incluyendo 20 a 40% como conjugados sulfato y glucurónido del principal metabolito 4'-hidroxiclofenaco (activo) y hasta aproximadamente el 15% como conjugados del mismo Diclofenaco. Otros metabolitos identificados en la orina incluyen 5-hidroxiclofenaco (alrededor del 12% de la dosis), 3'-hidroxiclofenaco, y 4',5'-dihidroxiclofenaco. De 10 a 20% de una dosis se excreta en la bilis como 4'-hidroxiclofenaco y menos del 5% como fármaco inalterado.

Entra en el líquido sinovial y las concentraciones máximas se miden de 2 a 4 horas después de que los niveles plasmáticos han alcanzado el pico. Se excreta en la leche materna pero en cantidades tan pequeñas que no hubo efectos adversos en los niños lactantes.

- Toxicidad.

Un hombre de 19 años de edad fue ingresado al hospital después de la ingesta de 1,5 g de Diclofenaco Sódico y 4 g de Clorizanona. Concentraciones plasmáticas de Diclofenaco de 60,1 mg / L y 0,19 mg / L se informó a las 7 y 15 h, respectivamente; la Clorizanona no se pudo determinar.

- Biodisponibilidad.

Alrededor del 50 al 60%.

- Vida media.

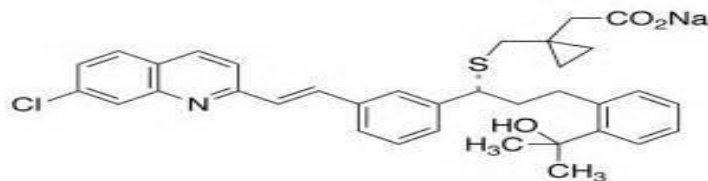
Semivida plasmática, aproximadamente de 1 a 2 h, en el líquido sinovial tiene una vida media de 3 a 6 h.

- Volumen de distribución.  
0,17 L / kg.
- Depuración.  
Aclaramiento plasmático, alrededor de 4 ml / min / kg.
- Unión a proteínas  
En el plasma, más del 99%.
- Dosis  
De 75 a 150 mg de Diclofenaco Sódico diariamente en dosis divididas (18).

## CARACTERÍSTICAS FISÍCOQUÍMICAS DEL MONTELUKAST

### Montelukast

- Estructura química



- Fórmula condensada  
**C<sub>35</sub>H<sub>36</sub>NCIO<sub>3</sub>S**
- Número CAS: 158966-92-8
- Peso molecular  
586.184 g/mol
- Constante de disociación  
pKa<sub>1</sub>: 1,95 y pka<sub>2</sub>: 7.5 (13).
- Descripción  
Solubilidad en agua 8.20e-06 g/ l

## Propiedades farmacológicas

Montelukast es un inhibidor leucotrieno. Los leucotrienos son químicos que entran en su cuerpo cuando respira alérgenos (como el polen). Estos químicos causan hinchazón en sus pulmones y constricción de los músculos alrededor de su aparato respiratorio, lo que puede resultar en síntomas del asma.

## Farmacocinética y Farmacodinamia

El Montelukast es un potente antagonista del leucotrieno D4 en el receptor leucotriénico cisteinílico CysLT1 presente en las vías respiratorias. Los leucotrienos LTC<sub>4</sub>, LTD<sub>4</sub> y LTE<sub>4</sub> son derivados del ácido araquidónico que son producidos por diversas células incluyendo los mastocitos y eosinófilos. La unión de los cisteinil-leucotrienos a sus receptores ha sido asociada a la patología del asma: aumenta la permeabilidad de la membrana endotraqueal produciendo edema, se produce una contracción de los músculos lisos de las vías respiratorias y un aumento de la secreción de mucus viscoso. La inhibición de estos receptores que se consigue con el Montelukast mejora los síntomas del asma. Así, las broncoconstricciones precoces y tardías inducidas por un antígeno son inhibidas en un 75% y 57% respectivamente por el Montelukast. El Montelukast actúa solamente sobre los receptores CysLT1 no antagonizando las contracciones del músculo liso producidas por la acetilcolina, la histamina, la serotonina o las prostaglandinas.

El montelukast se administra por vía oral. Después de una dosis, el fármaco se absorbe rápidamente produciendo unas concentraciones plasmáticas máximas entre las 2.5- 4 horas. La biodisponibilidad global oscila, según la formulación galénica, entre el 65 y el 75% y puede disminuir con la comida, si bien la eficacia clínica no se ve afectada. El montelukast se une extensamente a las proteínas del plasma (>99%) mostrando un volumen de distribución pequeño. El fármaco no atraviesa la barrera hematoencefálica, al menos en los animales de laboratorio.

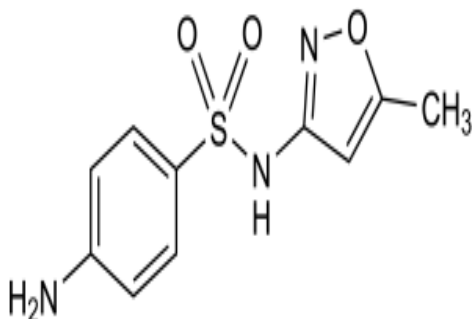
Aunque el montelukast experimenta una extensa biotransformación hepática, no afecta el sistema enzimático del citocromo P450, por lo que no son de temer interacciones con otros fármacos que sí son metabolizados por este sistema o intervienen sobre él. La semi-vida de eliminación del montelukast es de 2.7 a 5.5 horas, siendo eliminado, conjuntamente con sus metabolitos casi exclusivamente por vía biliar.

La farmacocinética del montelukast es similar en pacientes jóvenes o ancianos y no es afectada por la insuficiencia renal. En los pacientes con insuficiencia hepática entre ligera y moderada, la semi-vida de eliminación aumenta hasta las 7.4 horas.

## CARACTERÍSTICAS FÍSICOQUÍMICAS DEL SULFAMETOXAZOL

### Sulfametoxazol

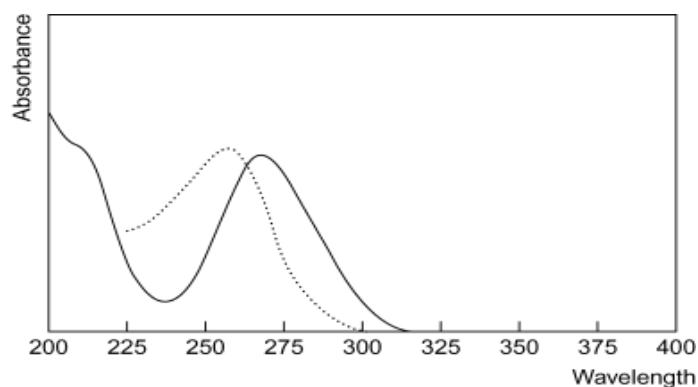
- Estructura química



- Fórmula condensada  
 $C_{10}H_{11}N_3O_3S$
- Número CAS-723-46-6
- Peso molecular  
253.28
- Constante de disociación  
pka: 5.6 (25 °C).
- Descripción

Polvo blanco-amarillento o cristalino blanco. Punto de fusión 167 °C. Muy ligeramente soluble en agua, soluble 1 en 50 de etanol y 1 en 3 de acetona, prácticamente insoluble en éter y cloroformo, soluble en soluciones de hidróxido alcalinas.

- Espectro Ultravioleta  
Ácido acuoso 265 nm ( $A^{1}_{1}=175a$ ); alcalino acuoso 256 nm ( $A^{1}_{1}=673a$ ).





- Disposición en el cuerpo

Absorbe rápidamente tras la administración oral y es ampliamente distribuido, ya que se encuentra en líquidos como en la saliva, sudor, bilis, LCR, peritoneal, sinovial y ocular. Atraviesa la placenta y se excreta en la leche materna. Se biotransforma principalmente por acetilación con la formación de la N1 y N4-acetil-acetil derivados; aproximadamente el 15% del Sulfametoxazol en la sangre está presente como metabolitos acetilados. Se excreta en la orina en su mayoría como derivados del Sulfametoxazol N4-acetil y sin cambios, junto con algunos conjugados glucurónidos. La excreción urinaria es variable y depende del pH de la orina, la proporción de fármaco inalterado que se excreta por la orina aumenta cuando es alcalina. Hasta alrededor del 25% de la dosis se excreta sin cambios en la orina cuando el pH es ácido, aumento hasta un 40% o más en la orina alcalina. El Sulfametoxazol se oxida para formar una hidroxilamina, que puede estar implicada en las reacciones adversas a las sulfonamidas. Sulfametoxazol con frecuencia se administra junto con Trimetoprim.

- Toxicidad.

Las concentraciones plasmáticas más de 400 mg / L puede estar asociado con efectos tóxicos.

- Vida media.

Semivida plasmática, de 9 a 12 h.

- Volumen de distribución.

Acerca de 0,25 L / kg.

- Depuración.

Aclaramiento plasmático, alrededor de 0,3 ml / min / kg.

- Distribución en la sangre y saliva

Plasma: proporción de sangre total, alrededor de 1.35.

Plasma: proporción de saliva, acerca de 14.

- Unión a proteínas

En el plasma, de 50 a 70%.

- Dosis

Usualmente 2 g inicialmente, seguido de 1 g dos veces al día, máx. De 3 g diarios.

**anexo**

**B**

## PROCEDIMIENTOS PARTICULARES

### PROCEDIMIENTOS PARA LA ELABORACIÓN DE LAS CALIBRACIONES

#### CALIBRACIÓN DEL CLONIXINATO DE LISINA EN NaOH 0.1 N.

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

Pesar en forma aproximadamente exacto 25.23 mg. De clonixinato de lisina (hacer corrección de peso por pureza) en una balanza apropiada.

Transvasar la cantidad de clonixinato de lisina a un matraz Herlen Meyer de 100ml. Y agregar 70ml. De NaOH 0.1 N agitar hasta completa disolución.

Verter la solución a un matraz volumétrico de 100 ml.

Enjuagar tres veces el matraz Herlen Meyer con 5 ml. De Na OH 0.1 N.

Ya que se encuentra perfectamente disuelto el fármaco llevar a la marca de aforo con NaOH 0.1 N (125 mcg/ml.) solución stock.(252.3 *mg/ml.*)

Etiquetar aleatoriamente 15 matraces volumétricos de 25ml

Los siguientes pasos se realizan por triplicado:

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 1 ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml.,llevarlo a la marca de aforo con NaOH 0.1 N.(30.276 *mg/ml.*)

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 2 ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml.,llevarlo a la marca de aforo con NaOH 0.1 N.(40.368 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(50.46 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(60.552 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(70.644 *mg/ml.*)

Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 300,295,290,285,280,275,270,260,255,250,248 y 23

## **CALIBRACIÓN DEL DICLOFENACO EN NaOH 0.1 N.**

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

Pesar en forma aproximadamente exacto 25.2 mg. De diclofenaco (hacer corrección de peso por pureza) en una balanza apropiada.

Transvasar la cantidad de diclofenaco a un matraz Herlen Meyer de 100ml. Y agregar 70ml. De NaOH 0.1 N agitar hasta completa disolución.

Verter la solución a un matraz volumétrico de 100 ml.

Enjuagar tres veces el matraz Herlen Meyer con 5 ml. De Na OH 0.1 N.

Ya que se encuentra perfectamente disuelto el fármaco llevar a la marca de aforo con NaOH 0.1 N (125 mcg/ml.) solución stock..(252 *mg/ml.*)

Etiquetar aleatoriamente 15 matraces volumétricos de 25ml

Los siguientes pasos se realizan por triplicado:

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 1 ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con NaOH 0.1 N.(10 *mg/ml.*)

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 2 ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con NaOH 0.1 N.(20 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(30 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(40 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(50 *mg/ml.*)

Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 285,280,275,270,250,255,245,240,230,225,218 y 215

## **CALIBRACIÓN DEL MONTELUKAST EN NaOH 0.1 N.**

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

Pesar en forma aproximadamente exacto 51.5 mg. De montelukast (hacer corrección de peso por pureza) en una balanza apropiada.

Transvasar la cantidad de montelukast a un matraz Herlen Meyer de 100ml. Y agregar 70ml. De NaOH 0.1 N agitar hasta completa disolución.

Verter la solución a un matraz volumétrico de 100 ml.

Enjuagar tres veces el matraz Herlen Meyer con 5 ml. De Na OH 0.1 N.

Ya que se encuentra perfectamente disuelto el fármaco llevar a la marca de aforo con NaOH 0.1 N (125 mcg/ml.) solución stock..(206.16 *mg/ml.*)

Etiquetar aleatoriamente 15 matraces volumétricos de 25ml

Los siguientes pasos se realizan por triplicado:

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 1 ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml.,llevarlo a la marca de aforo con NaOH 0.1 N.(8.246 *mg/ml.*)

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 2 ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml.,llevarlo a la marca de aforo con NaOH 0.1 N.(16.492 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(24.739 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(32.985 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(41.232 *mg/ml.*)

Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 265,262,259,256,253,250,247,244,241,238,235,232,229,226,223, y 220

## **CALIBRACIÓN DEL SULFAMETOXAZOL EN NaOH 0.1 N.**

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

Pesar en forma aproximadamente exacto 40.6 mg. De sulfametoxazol (hacer corrección de peso por pureza) en una balanza apropiada.

Transvasar la cantidad de sulfametoxazol a un matraz Herlen Meyer de 100ml. Y agregar 70ml. De NaOH 0.1 N agitar hasta completa disolución.

Verter la solución a un matraz volumétrico de 100 ml.

Enjuagar tres veces el matraz Herlen Meyer con 5 ml. De Na OH 0.1 N.

Ya que se encuentra perfectamente disuelto el fármaco llevar a la marca de aforo con NaOH 0.1 N (125 mcg/ml.) solución stock..(200 *mg/ml.*)

Etiquetar aleatoriamente 15 matraces volumétricos de 25ml

Los siguientes pasos se realizan por triplicado:

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 1 ml. Y vertirlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con NaOH 0.1 N.(8.012 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(16.024 *mg/ml.*)

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.(24.036 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(32.048 *mg/ml.*)

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 NaOH 0.1 N.(40.06 *mg/ml.*)

Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 292,289,286,283,280,277,274,271,268,265,262,259,256,253, y 250

**anexo**

**C**

## PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS ANALITICAS

### PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE CLONIXINATO DE LISINA EN BÚFER DE FOSFATOS pH= 5.5

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

Pesar en forma aproximadamente exacto 25 .2mg. De clonixinato de lisina(hacer correccion de peso por pureza) en una balanza apropiada.

Transvasar la cantidad de clonixinato de lisina a un vaso de precipitado de 100ml. Y agregar 70ml. De solución buffer de fosfatos pH= 5.5 agitar hasta completa disolución.

Verter la solución a un matraz volumetrico de 100 ml.

Enjuagar tres veces el vaso de precipitado con 5 ml. De solución buffer de fosfatos pH=5.5

Ya que se encuentra perfectamente disuelto el farmaco llevar a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH= 5.5 stock..(252.1 *mg/ml.*)

Los siguiente pàsos se realizanpor triplicado:

Tomar de la solución stock con una pipeta volumetrica 3ml. Y vertirlo en un matraz volumetrico de 25 ml.,llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH= 5.5 (30.252 *mg/ml.*)

Tomar de la solución stock con una pipeta volumetrica 4ml. Y vertirlo en un matraz volumetrico de 25 ml.,llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH= 5.5. (40.336 *mg/ml.*)

Tomar de la solución stock con una pipeta volumetrica 5ml. Y vertirlo en un matraz volumetrico de 25 ml.,llevarlo a la marca de aforo con solución buffer defosfatos pH=5.5. (50.42 *mg/ml.*)

Tomar de la solución stock con una pipeta volumetrica 6ml. Y vertirlo en un matraz volumetrico de 25 ml.,llevarlo a la marca de aforo con solución buffer defosfatos pH=5.5. (60.504 *mg/ml.*)

Tomar de la solución stock con una pipeta volumetrica 7ml. Y vertirlo en un matraz volumetrico de 25 ml.,llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de acetatos pH= 5.5 (70.588 *mg/ml.*)

Leer en el espectrofotometro a las siguientes longitudes de onda: 300,295,290,285,280,275,270,260,255,250,248 y 230



## **PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE DICLOFENACO EN BÚFER DE ACETATOS pH= 4.5**

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

Pesar en forma aproximadamente exacto 25.18mg. De diclofenaco (hacer corrección de peso por pureza) en una balanza apropiada.

Transvasar la cantidad de diclofenaco a un vaso de precipitado de 100ml. Y agregar 70ml. De solución buffer de fosfatos pH= agitar hasta completa disolución.

Verter la solución a un matraz volumétrico de 100 ml.

Enjuagar tres veces el vaso de precipitado con 5 ml. De solución buffer de fosfatos pH=

Ya que se encuentra perfectamente disuelto el fármaco llevar a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH= 4.5 solución stock

Etiquetar aleatoriamente 15 matraces volumétricos de 25ml

Los siguientes pasos se realizan por triplicado:

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 1ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de acetatos pH=4.5

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 2ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de acetatos pH=4.5

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 3ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de acetatos pH=4.5

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de acetatos pH=4.5

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de acetatos pH=4.5

Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 285,280,275,270,250,255,245,240,230,225,218 y 215

## PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE MONTELUKAST EN BÚFER DE ACETATOS pH= 4.5

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

Pesar en forma aproximadamente exacto 51.5 mg. De montelukast (hacer corrección de peso por pureza) en una balanza apropiada.

Transvasar la cantidad de montelukast a un matraz Herlen Meyer de 100ml. Y agregar 70ml. De solución buffer de acetatos pH=4.5 agitar hasta completa disolución.

Verter la solución a un matraz volumétrico de 100 ml.

Enjuagar tres veces el matraz Herlen Meyer con 5 ml. De Na OH 0.1 N.

Ya que se encuentra perfectamente disuelto el fármaco llevar a la marca de aforo con NaOH 0.1 N (125 mcg/ml.) solución stock..(206.16 *mg/ml.*)

Etiquetar aleatoriamente 15 matraces volumétricos de 25ml

Los siguientes pasos se realizan por triplicado:

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 1 ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de acetatos pH=4.4 (6.597 *mg/ml.*)

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 2 ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de acetatos pH=4.4 (12.194 *mg/ml.*)

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 solución buffer de acetatos pH=4.4 (19.791 *mg/ml.*)

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 solución buffer de acetatos pH=4.4 (26.388 *mg/ml.*)

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 solución buffer de acetatos pH=4.4 (32.985 *mg/ml.*)

Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 265,262,259,256,253,250,247,244,241,238,235,232,229,226,223, y 220

## **PREPARACIÓN DE MUESTRAS DE SULFAMETOXAZOL EN BÚFER DE ACETATOS pH= 6.8**

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

Pesar en forma aproximadamente exacto 2.5 mg. De sulfametoxazol (hacer corrección de peso por pureza) en una balanza apropiada.

Transvasar la cantidad de sulfametoxazol a un vaso de precipitado de 100ml. Y agregar 70ml. De solución buffer de fosfatos pH= agitar hasta completa disolución.

Verter la solución a un matraz volumétrico de 100 ml.

Enjuagar tres veces el vaso de precipitado con 5 ml. De solución buffer de fosfatos pH=6.8

Ya que se encuentra perfectamente disuelto el fármaco llevar a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH= 6.8 (125 mcg/ml.) solución stock.

Los siguientes pasos se realizan por triplicado:

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 1ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH=6.8

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 2ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH=6.8

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 3ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH=6.8

Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 4ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH=6.8

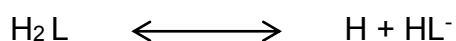
Tomar de la solución stock con una pipeta volumétrica 5ml. Y verterlo en un matraz volumétrico de 25 ml., llevarlo a la marca de aforo con solución buffer de fosfatos pH=6.8

Leer en el espectrofotómetro a las siguientes longitudes de onda: 292,289,286,283,280,277,274,271,268,265,262,259,256,253, y 250

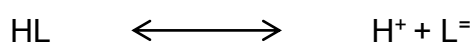
**anexo**

**D**

## DESPEJE DE LA ECUACION PROPIA DE LA FRACCIONES DE LAS ESPECIES QUIMICAS



$$K_{a1} = \frac{[\text{H}^+][\text{HL}^-]}{[\text{H}_2\text{L}]} \quad \text{Ec.1}$$



$$K_{a2} = \frac{[\text{H}^+][\text{L}^-]}{[\text{HL}]} \quad \text{Ec.2}$$

Para la fracción de  $\text{H}_2\text{L}$  tenemos:

$$f_{\text{H}_2\text{L}} = \frac{[\text{H}_2\text{L}]}{[\text{H}_2\text{L}] + [\text{HL}^-] + [\text{L}^-]} \quad \text{Ec.3}$$

Para poner todo en términos de  $[\text{H}_2\text{L}]$

De la **Ec.1** despejamos HL

$$K_{a1} = \frac{[\text{H}^+][\text{HL}^-]}{[\text{H}_2\text{L}]}$$

Por lo tanto:

$$f_{\text{HL}} = \frac{K_{a1}[\text{H}_2\text{L}]}{[\text{H}^+]}$$

Y se sustituye en la **Ec.3** así

$$f_{H_2L} = \frac{[H_2L]}{[H_2L] + \frac{K_{a1}[H_2L]}{[H^+]} + [L^-]}$$

y de la misma manera de la **Ec.2** despejamos la concentración de  $L^-$  lo cual da:

$$[L^-] = \frac{K_{a2}[HL^-]}{[H^+]}$$

y de la **Ec.1** se despeja  $[HL^-]$

$$[HL^-] = \frac{K_{a1}[H_2L]}{[H^+]}$$

Y se sustituye en la **Ec.2** despejada, por lo cual queda de la siguiente manera:

$$[L^-] = \frac{K_{a2} + K_{a1}}{[H^+]^2} [H_2L]$$

Y esta se ocupa en la **Ec.3**, quedando de la siguiente manera:

$$f_{H_2L} = \frac{[H_2L]}{[H_2L] + \frac{K_{a1}[H_2L]}{[H^+]} + \frac{K_{a2} + K_{a1}}{[H^+]^2} [H_2L]}$$

Así factorizando:

$$f_{H_2L} = \frac{1}{1 + \frac{K_{a1}}{[H^+]} + \frac{K_{a2}}{[H^+]^2} + \frac{K_{a1}}{[H^+]}}$$

$$f_{H_2L} = \frac{1}{1 + \frac{10^{-pK_{a1}}}{10^{-pH}} + \frac{10^{-pK_{a2} - pK_{a1}}}{10^{-pH_2}}}$$

$$f_{H_2L} = \frac{1}{1 + 10^{-pK_{a1} + pH} + 10^{-pK_{a2} - pK_{a1} + pH_2}}$$

Para:

$$f_{HL} = \frac{[HL]}{[H_2L] + [HL^-] + [L^-]} \quad \text{Ec.4}$$

Para poner todo en término de  $HL^-$  Se usa el mismo criterio y utilizando las mismas ecuaciones y planteados de la **Ec.1** se despeja  $H_2CO_3$  y queda de la siguiente manera:

$$[H_2L] = \frac{[H^+][HL^-]}{K_{a1}}$$

Y de la **Ec.2** se despeja  $[L^-]$  la cual queda de la siguiente manera:

$$[L^-] = \frac{K_{a2} [HL^-]}{[H^+]}$$

Y estas dos ecuaciones se sustituyen en la **Ec.4**

$$f_{HL} = \frac{[HL^-]}{\frac{[H^+][HL^-]}{K_{a1}} + [HL^-] + \frac{K_{a2}[HL^-]}{[H^+]}}$$

Así:

$$f_{HL} = \frac{1}{1 + \frac{[H^+]}{K_{a1}} + \frac{K_{a2}}{[H^+]}}$$

$$f_{HL} = \frac{1}{1 + \frac{10^{-pH}}{10^{-pK_{a1}}} + \frac{10^{pK_{a2}}}{10^{-pH}}}$$

$$f_{HL} = \frac{1}{1 + 10^{-pH+pK_{a1}} + 10^{-pK_{a2}+pH}}$$

$$f_L = \frac{[L^-]}{[H_2L] + [HL^-] + [L^-]} \quad \text{Ec.5}$$

Por lo tanto de la **Ec.1** despejamos  $H_2L$  y nos queda:



$$[H_2L] = \frac{[H^+] [HL^-]}{K_{a1}}$$

Y de la **Ec.2** despejamos  $HL^-$  por lo tanto:

$$[HL^-] = \frac{[H^+] [L^-]}{K_{a2}}$$

El cual sustituimos en el anterior despeje de la **Ec.1**, lo cual nos da:

$$[H_2L] = \frac{[H] \frac{[HL^-]}{K_{a2}}}{K_{a1}}$$

$$[H_2CO_3] = \frac{[H] [H] [L^-]}{K_{a2} K_{a1}}$$

$$[H_2L] = \frac{[H] [H] [L^-]}{K_{a2} + K_{a1}}$$

$$f[L] = \frac{L}{\frac{[H] [H] [L]}{K_{a2}K_{a1}} + \frac{[H] ([L] + [L])}{K_{a2}}}$$

$$f(L) = \frac{1}{1 + \frac{[H^+][H^+]}{K_{a2}K_{a1}} + \frac{[H^+]}{K_{a2}}}$$

$$f(L) = \frac{1}{\frac{1 + 10^{-pH^2}}{10^{pK_{a2} - pK_{a1}}} + \frac{10^{-pH}}{10^{-pK_{a2}}}}$$

$$f(L) = \frac{1}{1 + 10^{2pH - pK_{a2} - pK_{a1}} + 10^{-pH - pK_{a2}}}$$

# **anexo**

# **E**

**TABLAS DE RESULTADOS DE CONCENTRACIÓN – ADSORBANCIA DE CURVAS Y ENSAYOS**

Tabla 6: Resultados de las absorbancias de la curva del Clonixinato de lisina en NaOH 0.1

<b>Concentración µg/ml</b>	<b>300</b>	<b>295</b>	<b>290</b>	<b>285</b>	<b>280</b>	<b>275</b>	<b>270</b>	<b>265</b>	<b>260</b>	<b>248</b>	<b>230</b>
30.276	0.5787	0.6862	0.7653	0.8109	0.8126	0.7694	0.6912	0.605	0.5224	0.3229	0.565
<b>30.276</b>	<b>0.5788</b>	<b>0.6859</b>	<b>0.7652</b>	<b>0.8099</b>	<b>0.8117</b>	<b>0.7686</b>	<b>0.6905</b>	<b>0.6047</b>	<b>0.5227</b>	<b>0.325</b>	<b>0.5692</b>
30.276	0.5794	0.6875	0.767	0.8124	0.8144	0.7708	0.6919	0.6055	0.523	0.3227	0.5659
<b>40.368</b>	<b>0.89</b>	<b>1.0569</b>	<b>1.1801</b>	<b>1.2445</b>	<b>1.2378</b>	<b>1.1716</b>	<b>1.0745</b>	<b>0.9761</b>	<b>0.888</b>	<b>0.6407</b>	<b>0.9138</b>
40.368	0.8943	1.0624	1.1855	1.2499	1.2438	1.1769	1.0793	0.9803	0.8922	0.6431	0.9181
<b>40.368</b>	<b>0.8995</b>	<b>1.0677</b>	<b>1.1913</b>	<b>1.2568</b>	<b>1.2498</b>	<b>1.1834</b>	<b>1.0848</b>	<b>0.9852</b>	<b>0.8971</b>	<b>0.6475</b>	<b>0.9229</b>
50.46	1.1117	1.3188	1.4704	1.5518	1.5441	1.4631	1.341	1.2189	1.1096	0.8006	1.1389
<b>50.46</b>	<b>1.1151</b>	<b>1.3223</b>	<b>1.4758</b>	<b>1.5571</b>	<b>1.5494</b>	<b>1.4662</b>	<b>1.3441</b>	<b>1.221</b>	<b>1.1114</b>	<b>0.8018</b>	<b>1.1428</b>
50.46	1.1161	1.3244	1.4772	1.5578	1.5515	1.4686	1.347	1.2227	1.114	0.8033	1.1462
<b>60.552</b>	<b>1.3179</b>	<b>1.5648</b>	<b>1.7447</b>	<b>1.839</b>	<b>1.8297</b>	<b>1.7321</b>	<b>1.5885</b>	<b>1.4436</b>	<b>1.3131</b>	<b>0.9426</b>	<b>1.3435</b>
60.552	1.337	1.5856	1.7687	1.8656	1.8549	1.7578	1.612	1.4633	1.3325	0.9599	1.3686
<b>60.552</b>	<b>1.345</b>	<b>1.5966</b>	<b>1.7795</b>	<b>1.8778</b>	<b>1.8664</b>	<b>1.7695</b>	<b>1.6227</b>	<b>1.4739</b>	<b>1.3416</b>	<b>0.9673</b>	<b>1.3776</b>
70.644	1.547	1.8357	2.0477	2.1604	2.1488	2.0384	1.8697	1.6997	1.5464	1.1158	1.5881
<b>70.644</b>	<b>1.5546</b>	<b>1.842</b>	<b>2.0534</b>	<b>2.1658</b>	<b>2.1551</b>	<b>2.0418</b>	<b>1.8741</b>	<b>1.7022</b>	<b>1.5502</b>	<b>1.1152</b>	<b>1.5914</b>
70.644	1.5588	1.8479	2.0623	2.1741	2.1633	2.0508	1.882	1.7093	1.5564	1.1213	1.6005

Tabla 12: Resultados de las absorbancias de la curva del Diclofenaco en NaOH 0.1 N.

Concentración µg/ml	(285)	(280)	(275)	(270)	(250)	(245)	(240)	(230)	(225)	(218)	(215)
10.076	0.2866	0.3168	0.3245	0.311	0.1618	0.1644	0.1998	0.3518	0.4869	0.6561	0.7052
10.076	0.288	0.3197	0.3279	0.3132	0.1576	0.1594	0.1952	0.3445	0.4703	0.6247	0.6709
10.076	0.2881	0.3171	0.3249	0.3112	0.1599	0.161	0.1967	0.3539	0.4862	0.6644	0.7117
20.152	0.5698	0.6295	0.6449	0.6189	0.3205	0.3256	0.3999	0.6925	0.9546	1.2861	1.3354
20.152	0.5734	0.6336	0.6497	0.624	0.322	0.3237	0.3984	0.6913	0.948	1.2746	1.3231
20.152	0.5751	0.6353	0.6516	0.6228	0.3176	0.321	0.3957	0.6972	0.9643	1.3263	1.3712
30.228	0.845	0.9345	0.9589	0.9187	0.4704	0.4781	0.5899	1.0133	1.3869	1.8224	1.7558
30.228	0.8549	0.9455	0.9714	0.9312	0.4823	0.4861	0.5961	1.0248	1.3903	1.8169	1.7388
30.228	0.8556	0.9451	0.97	0.9306	0.4824	0.4917	0.5999	1.0277	1.3916	1.8174	1.7264
40.304	1.1248	1.2375	1.2701	1.2198	0.6227	0.6294	0.7705	1.2949	1.7261	2.1097	1.8809
40.304	1.1295	1.2461	1.2795	1.2283	0.6319	0.6412	0.7807	1.3181	1.7555	2.1427	1.901
40.304	1.1349	1.2555	1.2915	1.2358	0.6346	0.6411	0.783	1.3124	1.7485	2.1214	1.8839
50.38	1.4033	1.5496	1.5903	1.5255	0.7754	0.7827	0.9433	1.5483	1.9748	2.2323	1.9135
50.38	1.4048	1.5505	1.592	1.5275	0.7826	0.7915	0.9574	1.5565	1.9909	2.2512	1.9311
50.38	1.4136	1.5623	1.6043	1.5393	0.792	0.7996	0.9648	1.5564	1.9856	2.2288	1.8958

Tabla 18: Resultados de las absorbancias de la curva del Montelukast en NaOH 0.1 N.

Concentración µg/ml	265	262	259	256	253	250	247	244	241	238	235	232	229	226	223	220
8.246	0.182 3	0.178 1	0.177 8	0.182 5	0.191 6	0.204 5	0.220 7	0.238 2	0.257 2	0.274 5	0.288 5	0.310 7	0.34	0.368	0.389 6	0.414
8.246	0.193 8	0.189 4	0.188 9	0.194 2	0.204	0.217 4	0.234 3	0.252 5	0.272 7	0.290 1	0.305	0.328 4	0.36	0.390 6	0.415 9	0.447 1
8.246	0.199 3	0.194 9	0.194 7	0.200 6	0.211 1	0.225 1	0.243 3	0.263 3	0.284 9	0.304	0.32	0.344 6	0.377 1	0.407 7	0.431 3	0.458 9
16.49	0.396 3	0.389 7	0.392 8	0.407 5	0.430 7	0.461 7	0.498 8	0.539 3	0.583 2	0.620 3	0.652 1	0.702 2	0.765 6	0.826 8	0.872	0.918 2
16.49	0.405 4	0.398 1	0.399 9	0.413 7	0.435 9	0.465 4	0.501	0.539	0.580 6	0.615 1	0.645 1	0.694 1	0.757 4	0.818 4	0.864 3	0.915 1
16.49	0.406 6	0.398 2	0.399 5	0.413 3	0.435 8	0.466 9	0.504 5	0.543 1	0.584 6	0.618 2	0.648 6	0.697 5	0.761 5	0.822 8	0.87	0.922 2
24.73	0.587 8	0.577	0.580 3	0.601 3	0.634	0.678 1	0.73	0.785 4	0.845 2	0.893 3	0.936	1.006 7	1.097 5	1.184 8	1.249 6	1.319 8
24.73	0.588 1	0.578 7	0.584	0.606 6	0.641 9	0.688 9	0.743 5	0.802 4	0.866 6	0.919 3	0.966 2	1.039 5	1.132 6	1.222	1.288 2	1.357 9
24.73	0.603 5	0.592 6	0.594 9	0.615 7	0.649 1	0.694 5	0.747 8	0.804 9	0.866	0.915 2	0.959 6	1.032 2	1.126 5	1.218 4	1.289 1	1.368 4
32.9856	0.788 8	0.775	0.779 9	0.809 1	0.854	0.913 5	0.982 9	1.056 1	1.135 8	1.198 9	1.255 6	1.350 5	1.471 5	1.587 2	1.672 6	1.758 7
32.9856	0.806 2	0.791 5	0.797 1	0.826 1	0.872 6	0.933 5	1.003 6	1.078 7	1.159 3	1.224 1	1.282 4	1.378 9	1.502 7	1.623 6	1.712 8	1.802 5
32.9856	0.806 2	0.794 8	0.802 6	0.834 6	0.883 3	0.947 1	1.021 3	1.100 6	1.186 6	1.256 7	1.319	1.418 1	1.545 9	1.666 3	1.757 7	1.850 2
41.232	0.977 6	0.963	0.973	1.011 7	1.071 5	1.149 7	1.240 1	1.335 7	1.438 8	1.522 5	1.597 9	1.717 1	1.869 6	2.014 1	2.119 2	2.214 1
41.232	0.995 1	0.981 9	0.993 1	1.034	1.096 4	1.177 2	1.270 7	1.370 7	1.480 9	1.569 9	1.648 9	1.773 1	1.929 3	2.079 9	2.189 4	2.288 6

Tabla 24: Resultados de las absorbancias de la curva del sulfametoxazol en NaOH 0.1 N.

Concentraci <sup>ó</sup> n µg/ml	(292)	(289)	(286)	(283)	(280)	(277)	(274)	(271)	(268)	(265)	(262)	(259)	(256)	(253)
8.0	0.072	0.419	0.527	0.655	0.816	1.019	1.278	1.585	1.913	2.210	2.423	2.502	2.450	2.298
8.0	0.073	0.416	0.522	0.652	0.812	1.016	1.274	1.581	1.907 1	2.205	2.415	2.495 6	2.441	2.283 7
8.0	0.077	0.333	0.419	0.521	0.649	0.811	1.017	1.262 8	1.530 2	1.785 3	1.984 2	2.095 6	2.102 5	2.009 8
16.0	0.133	0.251	0.316	0.393	0.489	0.611	0.767	0.953 7	1.157 3	1.354 8	1.518 2	1.620 1	1.650 3	1.606 2
16.0	0.136	0.093	0.117	0.144	0.179	0.221	0.275	0.341 9	0.414 1	0.487 4	0.551 4	0.598 6	0.625 2	0.632 4
16.0	0.137	0.172	0.216	0.268	0.333	0.416	0.520	0.646 8	0.783 5	0.916 5	1.026 9	1.096 6	1.119 8	1.097 3
24.0	0.190	0.169	0.211	0.262	0.326	0.405	0.506	0.628 7	0.762 6	0.893 7	1.003 1	1.078 1	1.107 1	1.097 9
24.0	0.195 3	0.329 2	0.414 2	0.516 3	0.643 3	0.803 9	1.008 9	1.253 9	1.519 4	1.772 3	1.970 4	2.077 8	2.085 8	2.004 2
24.0	0.197 1	0.417 3	0.523 8	0.651 7	0.811	1.012 8	1.269 1	1.573 2	1.897 8	2.191 9	2.402 3	2.481 5	2.435 8	2.275 8
32.0	0.256 5	0.244 4	0.307 8	0.383 2	0.476 4	0.595 2	0.745 9	0.926 9	1.123 7	1.316	1.472 9	1.573 5	1.600 8	1.563 1
32.0	0.260 7	0.253	0.318 3	0.396 3	0.493 7	0.616 6	0.773 2	0.960 8	1.166 8	1.364 5	1.527 7	1.630 6	1.661 6	1.618 5
32.0	0.261 8	0.335 5	0.421 4	0.524	0.651 9	0.813 2	1.02	1.266 1	1.533 1	1.787 9	1.988	2.097 7	2.101 4	2.013 9
40.0	0.324 5	0.097 4	0.121 9	0.149 4	0.182 4	0.224 4	0.277 8	0.341 6	0.411 9	0.482 9	0.543 7	0.589 4	0.613 3	0.618 2

Conc. µg/ml	300	295	290	285	280	275	270	265	260	248	230
30.252	0.4197	0.4603	0.4993	0.5382	0.5727	0.6064	0.6381	0.6846	0.7592	0.8224	0.6203
30.252	0.4231	0.4638	0.5027	0.5412	0.577	0.6111	0.6424	0.689	0.7635	0.8266	0.6255
30.252	0.43	0.472	0.5122	0.5513	0.5869	0.6207	0.6523	0.6996	0.7748	0.8387	0.6378
40.336	0.5612	0.6128	0.6645	0.7159	0.7624	0.8066	0.8485	0.9101	1.0089	1.0905	0.8239
40.336	0.5649	0.6192	0.6721	0.7239	0.7718	0.8169	0.8594	0.9215	1.0216	1.1055	0.8342
40.336	0.5657	0.6198	0.6722	0.7244	0.7728	0.8188	0.8617	0.9249	1.0268	1.1138	0.8369
50.42	0.6991	0.7662	0.8322	0.8959	0.9545	1.01	1.0619	1.139	1.2632	1.366	1.0291
50.42	0.7044	0.7722	0.8379	0.9028	0.9618	1.0189	1.0715	1.1487	1.2727	1.3775	1.0377
50.42	0.7103	0.7789	0.8452	0.9095	0.9693	1.0258	1.0777	1.1556	1.2791	1.3829	1.0424
60.504	0.819	0.8988	0.9754	1.0501	1.118	1.182	1.2426	1.3317	1.4744	1.5924	1.202
60.504	0.8395	0.92	0.9977	1.0737	1.143	1.2098	1.271	1.3623	1.5073	1.6289	1.2305
60.504	0.8477	0.9294	1.0084	1.0854	1.1569	1.2234	1.2848	1.3759	1.5231	1.6446	1.2421
70.588	0.9964	1.0924	1.1849	1.2744	1.3572	1.436	1.508	1.6139	1.7874	1.9293	1.4578
70.588	0.9997	1.0977	1.1906	1.2809	1.3634	1.4406	1.512	1.618	1.7884	1.9286	1.4604
70.588	1.0005	1.0971	1.1896	1.281	1.364	1.4432	1.5164	1.6249	1.7963	1.9392	1.4632

Tabla 10: Resultados de las absorbancias del ensayo del Clonixinato de lisina en buffer de fosfatos pH=5.5



Tabla 16: Resultados de las absorbancias del ensayo del Diclofenaco en buffer de acetatos pH= 4.5

Conc. µg/ml	(285)	(280)	(275)	(270)	(250)	(245)	(240)	(230)	(225)	(218)	(215)
10.072	0.2415	0.2703	0.2823	0.2762	0.1579	0.1654	0.2054	0.3293	0.431	0.5155	0.4604
10.072	0.257	0.2879	0.3004	0.2939	0.1666	0.1746	0.2172	0.3479	0.4572	0.5468	0.4887
10.072	0.2589	0.2888	0.301	0.2942	0.1678	0.1758	0.2185	0.3499	0.459	0.5476	0.4861
20.144	0.4929	0.5527	0.5775	0.5641	0.3207	0.3355	0.4165	0.667	0.872	1.0019	0.8552
20.144	0.496	0.5553	0.58	0.5674	0.3229	0.3378	0.4193	0.6723	0.8779	1.0089	0.8521
20.144	0.4966	0.5551	0.5798	0.5678	0.3236	0.3377	0.4187	0.6706	0.8764	1.0062	0.8554
30.216	0.6496	0.7286	0.7605	0.7438	0.4233	0.4428	0.5495	0.8831	1.1513	1.2793	1.0575
30.216	0.6576	0.7368	0.7695	0.7533	0.4297	0.4492	0.5571	0.8942	1.165	1.286	1.0719
30.216	0.6663	0.7453	0.7783	0.7607	0.4325	0.4512	0.5599	0.9015	1.1782	1.3612	1.2015
40.288	0.6675	0.7482	0.7817	0.7651	0.4392	0.4586	0.5682	0.9087	1.1832	1.3059	1.0817
40.288	0.702	0.7874	0.821	0.8024	0.4579	0.4787	0.5936	0.9527	1.2395	1.3781	1.1747
40.288	0.7171	0.8033	0.8387	0.8198	0.4676	0.489	0.6065	0.9719	1.264	1.4046	1.1897
50.36	0.7647	0.8575	0.8953	0.8751	0.4995	0.5216	0.6465	1.0367	1.3476	1.4615	1.2205
50.36	0.7959	0.8909	0.9292	0.9077	0.5159	0.539	0.6692	1.0764	1.4014	1.5484	1.3163
50.36	0.8398	0.9403	0.9811	0.9592	0.5445	0.5687	0.7066	1.138	1.4803	1.6018	1.3477

Tabla 22: Resultados de las absorbancias del ensayo del Montelukast en buffer de acetatos pH= 4.5

Conc µg/ml	265	262	259	256	253	250	247	244	241	238	235	232	229	226	223	220
19.79 1	0.559 3	0.566 4	0.583 7	0.612 1	0.650 8	0.697	0.745 4	0.795 2	0.842 3	0.872 9	0.900 3	0.940 2	0.983 5	1.023 7	1.045	1.065 2
19.79 1	0.565	0.571 5	0.588 1	0.615 7	0.699 6	0.746 7	0.794 3	0.839 2	0.868	0.894	0.932 3	0.974 7	1.014 2	1.033 7	1.054 6	1.049 8
19.79 1	0.565 3	0.571 7	0.587 8	0.615 4	0.653	0.699 2	0.745 9	0.792 9	0.837 5	0.865 8	0.891 2	0.928 3	0.970 5	1.009 6	1.027 8	1.048 8
26.38 8	0.773 7	0.781 8	0.803 2	0.839 9	0.890 1	0.951 4	1.013 7	1.077 2	1.135 5	1.173 3	1.207 5	1.258 5	1.316 2	1.367 2	1.388 9	1.410 4
26.38 8	0.774 6	0.782 5	0.804	0.840 8	0.891 5	0.952 5	1.014 9	1.078 2	1.130 7	1.174 1	1.208 8	1.26	1.317 1	1.367 8	1.389 8	1.412
26.38 8	0.775 5	0.783 2	0.804 8	0.841 7	0.892 9	0.953 6	1.016 1	1.079 1	1.137 9	1.175	1.210 1	1.261 5	1.318	1.368 3	1.390 7	1.413 5
32.98 5	0.980 9	0.992	1.020 5	1.067 2	1.131 5	1.206 2	1.283 7	1.360 8	1.43	1.476 1	1.519	1.583 4	1.654 6	1.707 6	1.720 2	1.725 8
32.98 5	0.988 1	1.000 7	1.030 2	1.077 3	1.141 2	1.216 2	1.293 5	1.371 2	1.441 5	1.488 6	1.532 5	1.596 7	1.666	1.717	1.727 5	1.734
32.98 5	0.995 3	1.009 5	1.039 8	1.087 3	1.150 9	1.226 2	1.303 2	1.381 6	1.452 9	1.501	1.545 9	1.609 9	1.677 4	1.726 3	1.734 8	1.742 2

Tabla 28: Resultados de las absorbancias del ensayo del sulfametoxazol en buffer de fosfatos pH= 6.8

Conc. µg/ml	(292)	(289)	(286)	(283)	(280)	(277)	(274)	(271)	(268)	(265)	(262)	(259)	(256)	(253)	(250)
19.71 6	0.134 3	0.169 6	0.213	0.265 3	0.331 4	0.417	0.527 1	0.654 7	0.787 9	0.903 5	0.976 7	0.981 8	0.893 8	0.702 5	0.491 7
19.71 6	0.140 7	0.177 1	0.220 8	0.274	0.340 4	0.428 2	0.539	0.667 7	0.802 4	0.918 8	0.993 4	0.998 3	0.905 9	0.712 2	0.503 2
19.71 6	0.144 4	0.179	0.218 1	0.267 4	0.329 8	0.411 1	0.514 7	0.635 4	0.759 5	0.868 3	0.935 3	0.940 7	0.858 3	0.674 1	0.476 1
26.28 8	0.176 4	0.221 8	0.276	0.342 9	0.428 5	0.540 5	0.684 3	0.851 3	1.024 5	1.179	1.27	1.264	1.127	0.855 2	0.594 3
26.28 8	0.176 5	0.222 1	0.277 8	0.345 8	0.432 3	0.546 7	0.692 8	0.862 9	1.042 2	1.197	1.289 4	1.283 5	1.143 1	0.866 2	0.595 6
26.28 8	0.177 6	0.223 5	0.279 3	0.347 1	0.434	0.549 1	0.696	0.866 4	1.041 9	1.195 1	1.289 4	1.282 7	1.142 4	0.869	0.596 7
32.86	0.226 6	0.280 2	0.347	0.428 8	0.533	0.672 9	0.852 8	1.062 6	1.280 5	1.465 6	1.569 9	1.538 4	1.338 7	0.99	0.674 3
32.86	0.228 7	0.283 5	0.349 8	0.432 6	0.538 8	0.680 1	0.862 2	1.074 4	1.297	1.486 6	1.587 1	1.549	1.341 4	0.984 3	0.678 8
32.86	0.233 8	0.290 5	0.359 8	0.446 2	0.553 6	0.695 5	0.877 2	1.088 4	1.309 2	1.496 2	1.593 2	1.555 2	1.358 3	0.990 5	0.680 7

## REFERENCIAS

- (1) Rodríguez Barrientos D, Ramírez Silva MT., Moya Hernández MR, Rojas Hernández A., 2007, "Determinación de las constantes de acidez de la familia de los Oxicams mediante Electroforesis Capilar de Zona". Consultado el lunes 9 de Noviembre del 2009, disponible en: [cbi.izt.uam.mx/foro academico/2007/res/oral03.pdf](http://cbi.izt.uam.mx/foro_academico/2007/res/oral03.pdf)
- (2) "Valoración potenciométrica: Determinación de la constante de acidez del ácido acético". Consultado el 19 de noviembre del 2009,, disponible en:[www.uv.es/fqlabo/quimicos/pdf/p6.pdf](http://www.uv.es/fqlabo/quimicos/pdf/p6.pdf)
- (3) Paulo Roberto B. Fallavena, Elfrides E. S. Schapoval, 1997, "p<sub>Ka</sub> Determination of Nimesulide in methanol —water mixtures by potentiometric titrations ", Science Direct, 158:1, págs. 109-112.
- (4) Angulo J, Cornejo, A. Sotelo Milla, (2000), "Determinación de la constante de estabilidad del complejo bis (1,1-Dietil-3-benzoiltioureato) Plomo (II)", Revista Peruana de Química e Ingeniería Química, 3:1. Consultado el 10 de Noviembre del 2009, disponible en: [sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/.../Ing./determinacion.htm](http://sisbib.unmsm.edu.pe/bibvirtual/.../Ing./determinacion.htm)
- (5) Gómez Rafael, Rincón Ullate, Serrano Álvarez Alonso, "Cromatografía principios y aplicaciones". Consultado el 25 de Noviembre del 2009, disponible en: [www.profeonline.com/.../cromatografia\\_fundamentos\\_y\\_aplicaciones.pdf](http://www.profeonline.com/.../cromatografia_fundamentos_y_aplicaciones.pdf)
- (6) Haaland M. D., Thomas E. (1988) "Partial Least Squares Methods for Spectral Analysis 1. Relation to other quantitative calibration methods and the extraction for quantitative information" Analytical Chemistry, Vol 60 (II) pp. 1202-1208
- (7) Braz. J, (2009), "Determination of pka Values of Some Auxins in Methanol-Water Mixtures by Reversed Phase Liquid Chromatography and Potentiometric Methods Mustafa Kelen, a and Nurullah Sanlib", Sociedad Brasileira de Química, Vol. 20, No. 1, págs. 133-140.
- (8) Curvale Rolando A ; Nora B. Pappano; Nora B. Debattista, (2006), "Determinación simultánea de pka1 y pka2 y parámetros termodinámicos del maleato de clorfeniramina por espectrofotometría", Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas, Vol. 37, No. 001 enero-marzo, págs. 13-17.
- (9) Hernández, Lucas Hernández, (2002), "Introducción al Análisis Instrumental", Ariel Ciencia, España, pág. 84.

- (10) Herrera Guzmán Carlos Josué, “Ácidos Polipróticos”, Consultado el 11 de Noviembre del 2014, disponible en: [www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r44779.pdf](http://www.itescam.edu.mx/principal/sylabus/fpdb/recursos/r44779.pdf)
- (11) “Ecuación de Henderson- Hasselbalch”, Consultado el 11 de Enero del 2015, disponible en: [ehu.es/biomoleculas/buffers/hh.htm](http://ehu.es/biomoleculas/buffers/hh.htm)
- (12) Hernández, Lucas Hernández, (2002), “Introducción al Análisis Instrumental”, Ariel Ciencia, España, pág. 47.
- (13) Skoog, Douglas A. (2005), “Fundamentos de Química Analítica”, 8ª ed. Thomson, México, págs. 212, 213.
- (14) Chong-Hui Gu, Deepa Rao, Rajesh B. Gandhi, Jon Hilden, Krishnaswamy Raghavan, (2004), “Using a novel multicompartiment dissolution system to predict the effect of gastric pH on the oral absorption of weak bases with poor intrinsic solubility”, Journal of Pharmaceutical Sciences, Vol. 94 No. 1, págs. 199 – 208.
- (15) Maffat Anthony C., Osselton, M.David, (2004), “Clarke’s Analysis of Drugs and Poisons”, 3ª ed., Pharmaceuticals Press, London, Chicago, págs. 807-808.
- (16) Azaña Sulca Yulissa Paola, Cornelio Bello Jeanette Roxana, “Desarrollo y Validación de una Técnica Analítica por Cromatografía Líquida de Alta Performance (HPLC) para cuantificar Clonixinato de Lisina 125 mg y Pargeverina Clorhidrato 10 mg en Tabletas Recubiertas”. Tesis Licenciatura Químico Farmacéutica). Lima, Perú, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Farmacia y Bioquímica, 2007, págs.18-19.
- (17) Barrera Galicia Mauricio. Tesis de licenciatura. “Aplicación de métodos de calibración multivariante en la cuantificación simultánea por espectrofotometría U.V. de Acetaminofen (APAP) y Naproxeno (NAP) presentes en un medio de disolución.” UNAM. Cuautitlan Izcalli, de México, 2004. pp. 2 -35.