

12
203



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**



**DETERMINACION DE DICLOFENAC SODICO
MEDIANTE EXTRACCION ESPECTROFOTOMETRICA
CON AZUL DE METILENO COMO REACTIVO
ANALITICO**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE :
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
JULIO CESAR BOTELLO POZOS

ASESOR DE TESIS :
M. EN C. GUADALUPE PEREZ CABALLERO
CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEXICO

1993

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE.

	PAGINA
INTRODUCCION	I
PARTE 1. ASPECTOS TEORICOS.	
1. SINTESIS	2
2. PROPIEDADES DE DICLOFENAC SODICO	5
3. ASPECTOS TEORICOS I. SEPARACION	
3.1. ¿ QUE ES LA SEPARACION ?	9
3.2. TIPOS DE SEPARACION.	10
3.3. ASPECTOS TERMODINAMICOS IMPORTANTES DE LA SEPARACION.	12
3.4. INTERACCIONES INTERMOLECULARES.	15
3.5. TRANSPORTE DE MASA EN EL PROCESO DE SEPARACION.	19
3.5.1. TRANSPORTE POR FLUJO.	
3.5.2. TRANSPORTE RELATIVO.	
4. ASPECTOS TEORICOS II. EXTRACCION LIQUIDO - LIQUIDO.	
4.1. INTRODUCCION.	22
4.2. CLASIFICACION DE LOS SISTEMAS DE EXTRACCION.	24
4.2.1. SISTEMAS PRIMARIOS.	
4.2.2. SISTEMAS MIXTOS.	

4.3. PARAMETROS TERMODINAMICOS FUNDAMENTALES EN LA EXTRACCION LIQUIDO - LIQUIDO.	26
4.3.1. CONSTANTE DE EXTRACCION Y COEFICIENTE DE DISTRIBUCION.	
4.3.2. RELACION DE VOLUMENES Y EXTRACCIONES SUCESIVAS	
4.3.3. FACTOR DE SEPARACION.	
4.4. FASE ORGANICA Y ACUOSA EN LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO.	35
4.4.1. FASE ORGANICA.	
4.4.2. FASE ACUOSA.	

PARTE 2. SECCION EXPERIMENTAL

5. PARTE EXPERIMENTAL.

5.1. INTRODUCCION.	40
5.2. APARATOS Y EQUIPO.	41
5.3. REACTIVOS.	41
5.4. SOLUCIONES.	44
5.5. METODOLOGIA.	45.
5.6. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE LAS CONDICIONES OPTIMAS.	46
5.6.1. LONGITUD DE ONDA OPTIMA.	
5.6.2. pH Y CONCENTRACION DE BUFFER.	
5.6.3. CONCENTRACION DE AZUL DE METILENO.	
5.6.4. NUMERO DE EXTRACCIONES, TIEMPO DE AGITACION Y DE REPOSO.	

	PAGINA
5.7. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE LA CURVA DE CALIBRACION	48
5.8. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE DICLOFENAC SODICO EN FORMAS FARMACEUTICAS.	48
6. RESULTADOS Y DISCUSION.	
6.1. CARACTERISTICAS ESPECTRALES.	52
6.2. EFECTO DEL pH.	53
6.3. EFECTO DE LA CONCENTRACION DE AZUL DE METILENO.	55
6.4. FUERZA IONICA.	56
6.5. NUMERO DE EXTRACCIONES, TIEMPO DE AGITACION Y DE REPOSO.	56
6.6. CURVA DE CALIBRACION.	58
6.6.1. REPETIBILIDAD.	
6.6.2. LINEALIDAD.	
6.7. DETERMINACION DE DICLOFENAC SODICO EN FORMAS FARMACEUTICAS.	64
7. PROYECTOS DE INVESTIGACION QUE SURGEN A PARTIR DE ESTE TRABAJO	67
8. CONCLUSIONES.	69
9. APENDICES.	
APENDICE 1. PROPIEDADES DEL AZUL DE METILENO.	72
APENDICE 2. ASPECTOS ESTADISTICOS.	73
10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.	80

INTRODUCCION

El Diclofenac sódico [2-(2,6-dicloroanilino)fenil]acetato de sodio] es un antiinflamatorio no esterooidal de empleo reciente, cuyas propiedades fisicoquímicas y estructurales permiten que tenga una adecuada actividad farmacológica, sobre todo contra padecimientos de inflamación aguda y subcrónica. Además presenta una elevada tolerancia en comparación con otros agentes del mismo tipo (1). Dicho fármaco se ha empleado principalmente en el tratamiento de formas inflamatorias y degenerativas de reumatismo, como son la artritis reumatoide y la espondilitis anquilosante entre otras. Además ha mostrado tener una adecuada actividad analgésica y antipirética (2).

La determinación de Diclofenac sódico se ha realizado por técnicas analíticas como son la fotometría (3,4), espectrofotometría en ultravioleta (5), cromatografía de gases (6-8) y de líquidos (9), así como por técnicas no tan comunes como son la resonancia magnética nuclear (10). Sin embargo, por tratarse de un fármaco de reciente aparición existen realmente pocas técnicas sensibles y adecuadas para su determinación tanto en materia prima como en productos farmacéuticos. Por ello este trabajo tiene la finalidad de proponer una técnica analítica sensible, mediante extracción espectrofotométrica, con el propósito de que exista una mayor versatilidad en las técnicas para la determinación de Diclofenac sódico.

PARTE 1
ASPECTOS TEORICOS

1. SINTESIS

1. SINTESIS.

El desarrollar métodos analíticos sencillos y sensibles que permitan la adecuada determinación de fármacos es de gran importancia, tanto para el control de calidad de la materia prima como en el de medicamento. En el caso del Diclofenac sódico esto adquiere especial interes, ya que el número de métodos reportados para su determinación es escaso, esto debido, posiblemente, a que su empleo en el campo médico es reciente. Aquí se propone un método sensible para su determinación.

El presente trabajo consta básicamente de tres partes :

- i) una síntesis del trabajo (capítulo 1)
- ii) una sección teórica (capítulos 2-4).
- iii) una parte experimental (capítulo 5 y 6).

En la primera parte se mencionan las propiedades fisicoquímicas más importantes del Diclofenac sódico (capítulo 2). Posteriormente, en el capítulo 3, se tratan algunos temas de interés general en lo concerniente a la ciencia de la separación, presentando su definición y clasificación, así como aspectos termodinámicos y de transporte de masa relacionados con el proceso de separación.

De igual manera, en el capítulo 4 se abordan aspectos importantes de la extracción líquido - líquido. Se menciona una clasificación de los sistemas de extracción, la definición de este proceso y las características de las fases involucradas en él. Así mismo, se enfatizan algunos de los parámetros termodinámicos de mayor interés relacionados con dicho proceso.

En la segunda parte se describe de manera breve el procedimiento experimental seguido para la obtención de la técnica analítica (capítulo 5). Así como la presentación de los resultados obtenidos y un análisis de ellos, mediante el cual se establecen las condiciones óptimas para desarrollar la técnica (capítulo 6). Destacando además que dicha técnica analítica resultó adecuada para la determinación del fármaco en las formas farmacéuticas analizadas.

2. PROPIEDADES DE

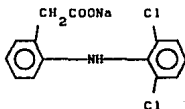
DICLOFENAC SODICO

2. PROPIEDADES DE DICLOFENAC SÓDICO (1,11,12)

Diclofenac sódico, [2-(2,6-Dicloroanilino) fenil] acetato de sodio; 2-(2,6-Diclorofenilamino) bencenoacético sal monosódica.

FORMULA CONDENSADA : $C_{14}H_{10}Cl_2NO_2Na$

FORMULA DESARROLLADA :



PESO MOLECULAR : 318.135

C 52.85%, H 3.17%, Cl 22.29%, N 4.40%,

Na 7.23%, O 10.06%.

ASPECTO : Cristales de color blanco.

PUNTO DE FUSION : 283 -285 °C.

SOLUBILIDAD : Poco soluble en agua, muy soluble en metanol y etanol.

CONSTANTE DE ACIDEZ (K_a) : 1 E-4.

CONSTANTE DE PARTICION : 13.4 (n-octanol/buffer acuoso pH 7.4).

ESPECTRO ULTRAVIOLETA : La solución acuosa ácida presenta un máximo de absorción a 273 nm, mientras que la solución alcalina lo presenta a 275 nm.

ESPECTRO INFRARROJO : Picos principales a una longitud de onda de 1572, 756, 1504, 775, 1286, 1308 cm^{-1} .

ESPECTRO DE MASAS : Picos principales a m/z 214, 216, 242, 295, 215, 297, 179, 178.

3. ASPECTOS TEORICOS I

SEPARACION

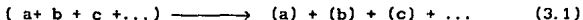
3. ASPECTOS TEORICOS I.

SEPARACION

3.1. ¿QUE ES LA SEPARACION ?(13,14)

Karger y cols. (13) definen la separación como una operación o conjunto de operaciones mediante las cuales una mezcla es dividida en cuando menos dos fracciones, las cuales presentan una composición diferente a la de la mezcla inicial. En si el propósito fundamental de esta operación es el de incrementar en una región la fracción molar de uno (o más) componentes de una mezcla original en relación a los demás componentes de ésta.

Considerando lo anterior podemos emplear el esquema dado por Giddings(14) para representar la separación completa de una mezcla de constituyentes químicos mediante la siguiente ecuación:



en donde los paréntesis representan las diferentes regiones del espacio y las letras a , b , c ,... son los diferentes constituyentes que ocupan dichas regiones. De acuerdo a esto, un grupo de componentes, originalmente intermezclados, son llevados a diferentes regiones o lugares espaciales mediante el proceso de separación. Si quisiéramos representar una separación parcial

tendríamos :

$$(a + b + c + \dots) \longrightarrow (a) + (b + c + \dots) \quad (3.2)$$

$$(a + b) \longrightarrow (a + b) + (a + b) \quad (3.3)$$

en donde la ecuación 3.2 representa la separación de un soluto "a" de todos los demás componentes; mientras que la ecuación 3.3 involucra el incremento del componente "a" en una región con respecto a "b" (a + b), y el incremento de "b" con respecto al componente "a" (a + b) en otra. Esto muestra, así un panorama general y esencial de lo que sucede en todas las separaciones.

3.2. TIPOS DE SEPARACION. (14,15)

Existen una gran variedad de clasificaciones para los métodos de separación; sin embargo, todas estas clasificaciones consideran al menos a uno de los siguientes factores :

1. Los propósitos de la separación.
2. El tipo de mezcla a ser separada.
3. La variedad de fenómenos físicos y químicos que involucra la separación.

Probablemente las dos clasificaciones más empleadas para los métodos de separación son : i) en base a los propósitos de ésta, y ii) de acuerdo a las fases que se ven involucradas en el proceso de separación. La primera considera dos tipos básicamente :

- a) La *separación preparativa*, cuya finalidad es la de purificar total o parcialmente algún compuesto de interés.
- b) La *separación analítica*, que busca obtener información generada en o por el proceso de separación mediante subsecuentes mediciones posibles.

Los métodos de separación desde el punto de vista de las fases que se encuentran involucradas se clasifican en cuatro tipos diferentes* :

- a) Gas - líquido
- b) Gas - sólido
- c) Líquido - líquido
- d) Líquido - sólido

* En esta clasificación se está considerando que los componentes de la mezcla se separan únicamente entre dos fases, ya que es lo que ocurre con mayor frecuencia; aunque hay que mencionar que se pueden presentar casos en que más de dos fases se vean involucradas.

TABLA 3.1. METODOS DE SEPARACION BASADOS EN LAS FASES INVOLUCRADAS.

GAS-LIQUIDO	GAS-SOLIDO	LIQUIDO-LIQUIDO	LIQUIDO-SOLIDO
Destilación	Adsorción	Extracción	Precipitación
Cromatografía	Sublimación	Cromatografía	Cristalización
gas-liquido	Tamización molecular	liquido-liquido	fraccional
		Exclusión	Intercambio iónico
			Clatración
			Adsorción
			Exclusión
			Tamización molecular

3.3. ASPECTOS TERMODINAMICOS IMPORTANTES DE LA SEPARACION. (13,14)

Considerando un sistema abierto en el cual solamente hay intercambio del componente i y en el que la temperatura (T) y la presión (P) son constantes, no existiendo intercambio de los componentes j , entonces el cambio de la energía libre de Gibbs está dado por :

$$dG = \left(\frac{\partial G}{\partial n_i} \right)_{T,P,n_j} dn_i \quad (3.4)$$

por definición :

$$\mu_1 = \left(\frac{\partial G}{\partial n_1} \right)_{T, p, n_j} \quad (3.5)$$

en donde μ_1 es el potencial químico, que estrictamente es la energía libre molar del componente 1, se obtiene :

$$dG = \mu_1 dn_1 \quad (3.6)$$

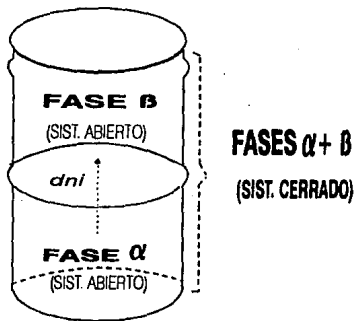


Figura 3.1. Transferencia de dn_1 moles del componente 1 de la fase α a la fase β .

Considerando la figura 3.1 en la que se tienen dos sistemas abiertos (los cuales pueden ser dos fases inmiscibles) entre los cuales se produce un intercambio de materia entre ellos. Si se tiene, además que dichos sistemas juntos constituyen un sistema cerrado, para el cual en el equilibrio el cambio neto de la energía libre para la transferencia del soluto i entre las dos fases o regiones α y β es igual a cero, entonces tendremos que :

$$\mu_1^\alpha = \mu_1^\beta \quad (3.7)$$

de donde el valor de μ en cada fase puede ser expresado como :

$$\mu_1 = \mu_1^\circ + RT \ln a_1 \quad (3.8)$$

en esta expresión μ° es el potencial químico en un estado estándar, y a representa la actividad del soluto i . Por lo tanto,

$$\mu_1^{\circ\alpha} + RT \ln a_1^\alpha = \mu_1^{\circ\beta} + RT \ln a_1^\beta \quad (3.9)$$

si reorganizamos esta ecuación se obtiene :

$$RT \ln \left(\frac{a_1^\alpha}{a_1^\beta} \right) = \mu_1^{\circ\beta} - \mu_1^{\circ\alpha} = \Delta \mu_1^\circ \quad (3.10)$$

debido a que $\mu_1^{\circ\alpha}$ y $\mu_1^{\circ\beta}$ son constantes, y por tanto $\Delta \mu^\circ$ es una constante también, se tiene que la relación entre las actividades (a_1^α / a_1^β) debe ser una constante a la cual podemos denominar K ,

llamada constante termodinámica de partición o de distribución :

$$K = \exp \left(- \frac{\Delta\mu_1^0}{RT} \right) \quad (3.11)$$

Si combinamos las ecuaciones 3.10 y 3.11 se tiene la siguiente relación :

$$K = \left(\frac{a_1^\alpha}{a_1^\beta} \right) \quad (3.12)$$

si se toma en cuenta que en las separaciones analíticas las soluciones, que generalmente se someten al proceso de separación, son infinitamente diluidas y por tanto que el coeficiente de actividad tiende a uno ($\gamma \rightarrow 1.0$), entonces se puede considerar que la actividad es aproximadamente igual a la concentración, de manera que la relación anterior la podemos expresar como :

$$K = \left(\frac{C_1^\alpha}{C_1^\beta} \right) \quad (3.13)$$

3.4. INTERACCIONES INTERMOLECULARES. (13,14,15)

Hasta éste momento solamente hemos analizado la separación del componente i sin considerar las interacciones con otros compuestos. Sin embargo, en una mezcla que es sometida a un

proceso de separación, existen diversos constituyentes entre los cuales se pueden dar un gran número de interacciones, las que pueden afectar de forma significativa la separación.

Así podemos considerar, por ejemplo, que la introducción de una reacción química reversible en un sistema de separación (llamado equilibrio químico secundario) puede generar una posibilidad adicional para el control del valor de la constante de distribución (K) para un componente de una mezcla. Debemos de tener presente también, el hecho de que una separación adecuada depende de las diferencias en los valores de K de los diferentes constituyentes de la mezcla. Como ejemplo de éste tipo de reacciones que se pueden aplicar tenemos los equilibrios ácido-base y el de complejación; siendo probablemente éstos los más importantes (estos se estudiarán con más detalle en el capítulo 4).

Por otro lado, tenemos, también, que la distribución en un proceso de separación está determinada de manera importante, por las interacciones físicas y químicas entre las moléculas en cada fase. Estas interacciones están relacionadas en gran medida a las estructuras químicas de las moléculas (tanto de soluto, como de solvente).

Dentro de las interacciones moleculares que se producen se tienen las fuerzas de dispersión o de London, las cuales se presentan entre cualquier par de átomos o moléculas. El origen de este tipo de fuerzas, es debido a que en un instante dado los

electrones de un átomo o molécula pueden asumir cualquier posición debido a movimientos oscilantes. Cada configuración instantánea es caracterizada por un grado de disimetría eléctrica, originando así un momento dipolar (o multipolar) en el átomo o molécula. El dipolo instantáneo polariza la nube electrónica en los átomos o moléculas adyacentes, induciendo un dipolo de polaridad opuesta. De esta manera los dos dipolos son atraídos por fuerzas electrostáticas.

Por otro lado, si una molécula presenta un momento dipolar permanente, puede interactuar entonces con las moléculas adyacentes, ya sea con las que presentan un momento dipolar permanente o induciendo un dipolo en aquellas que no lo presentan. En este caso se pueden producir tanto interacciones repulsivas como interacciones de tipo atractivo, esto dependiendo de la orientación dipolar que se tenga.

Un tipo de interacción de gran interés es aquella que se presenta al tener grupos o átomos altamente electronegativos, principalmente cuando se tienen compuestos que presentan enlaces de tipo O-H o N-H, ya que éstos pueden interactuar de manera importante con un grupo aceptor de protones o con un átomo o grupo con electrones desapareados formando lo que se conoce como enlace o puente de hidrógeno. La fuerza de éste tipo de interacciones es generalmente grande, sobre todo si los átomos que "atacaron al protón" son oxígeno o nitrógeno. En general la fuerza del enlace de hidrógeno se incrementa con el aumento en el carácter ácido del grupo donador de proton(es) y el aumento en

la basicidad del grupo aceptor de proton(es). Aquí debemos destacar el papel del agua como uno de los compuestos más importantes que forma éste tipo de interacciones.

Aunque éstas no son todas las interacciones que se pueden llevar a cabo, son probablemente las más importantes o sobresalientes; y para cada una de las interacciones antes descritas esta asociada una energía, de manera que la energía total de interacción de una molécula i con una fase circundante j será igual a la suma de todas las energías de las posibles interacciones : de dispersión (E_d), de orientación (E_o), de inducción (E_i) y la debida a las interacciones ácido-base (E_{ab}).

Así la energía total de interacción (E_{ij}) se puede expresar como:

$$E_{ij} = E_d + E_o + E_i + E_{ab} \quad (3.14)$$

dentro de ésta expresión se ven involucrados los factores que determinan cada energía de interacción como son : el tamaño molecular, la polarizabilidad (interacciones de dispersión), la polaridad molecular (interacciones electrostáticas que involucran dipolos permanentes), y las propiedades donador-receptor de electrones de las diferentes moléculas. Cuando dos compuestos difieren de forma significativa en cualesquiera de estas tres últimas propiedades, su separación es generalmente sencilla.

3.5. TRANSPORTE DE MASA EN EL PROCESO DE SEPARACION. (13,14)

En vista de que todas las separaciones químicas requieren del movimiento de los componentes desde una región a regiones individuales el proceso de separación se ha considerado como un fenómeno de transporte.

A pesar de que el transporte de masa de los componentes debe ser selectivo para que se tenga una adecuada separación, básicamente podemos considerar dos tipos de transporte : i) transporte por flujo de masa o volumen, y ii) transporte de masa relativo.

3.5.1. TRANSPORTE POR FLUJO.

La palabra flujo implica el movimiento de un fluido a través de una estructura o conducto rígido, siendo éste una parte integral de muchas técnicas de separación como son la cromatografía, así como de la ultrafiltración entre otras. Este tipo de transporte puede llevarse a cabo de dos formas distintas :

1) *Transferencia mecánica directa*, en la cual el componente, solo o en el solvente, es físicamente removido por una retención o resituación en el contenedor.

ii) *Desplazamiento en flujo*, en este caso el componente es simplemente arrastrado en un fluido corriente, este tipo es el

es el más empleado, principalmente en aquellos procesos que emplean una columna diferencial (como la cromatografía).

3.5.2. TRANSPORTE RELATIVO.

Este tipo de transporte implica el movimiento de un componente a través de su medio circundante. Esto puede llevarse a cabo únicamente debido al movimiento térmico (Browniano), y en este caso estará descrito por las ecuaciones de difusión. Sin embargo, el transporte relativo en la separación está generalmente vinculado a alguna fuerza de gradiente. Aunque existen otras fuerzas a las cuales se debe este tipo de transporte, básicamente podemos considerar dos tipos : i) las *fuerzas externas*, que resultan de gradientes o campos (como el eléctrico) externos; y ii) las *fuerzas moleculares internas*, originadas a partir de las interacciones moleculares con el medio y de los cambios abruptos en las interfases. La magnitud del transporte de masa en este caso depende de la reacción de los diferentes componentes a las fuerzas antes mencionadas.

4. ASPECTOS TEORICOS II

EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO

4. ASPECTOS TEORICOS II.

EXTRACCION LIQUIDO - LIQUIDO.

4.1. INTRODUCCION. (15,16,17)

La extracción líquido-líquido es un proceso de separación-transferencia; definido por la IUPAC (15) como el proceso de transferencia de uno o más solutos entre dos fases líquidas, total o parcialmente inmiscibles, que se encuentran en íntimo contacto. Algunos autores no hacen la diferencia entre extracción líquido-líquido y extracción por solvente, e incluso en ocasiones se maneja a ambos términos por igual, ocasionando con ello confusión; la IUPAC ha establecido que ambos términos no son equivalentes. Ya que en la extracción líquido-líquido las fases líquidas son tan sólo una parte del proceso, y pueden o no participar en la formación de las especies extractables; mientras que la extracción por solvente hace referencia a la separación de un componente (generalmente en una fase sólida) por el tratamiento con un solvente líquido (generalmente de tipo orgánico).

Es importante que antes de desarrollar un proceso de extracción líquido-líquido se consideren algunos factores importantes para efectuar la adecuada selección del sistema de extracción (tabla 4.1). Así debe de tenerse en cuenta: el propósito de la técnica a desarrollar, el tipo de solventes que se van a emplear, si el componente de interés presenta tendencia a transferirse de un líquido a otro, etc.

TABLA 4.1. ASPECTOS GENERALES PARA LA SELECCION DE UN SISTEMA DE EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO^a.

Fases en la selección de un sistema	<p>Especificar la separación deseada</p> <p>Identificar la transferencia requerida</p> <p>Seleccionar un posible modo de transferencia</p> <p>Elección de la posible segunda fase</p> <p>Probar la "disponibilidad" química</p>
Consideraciones acerca del propósito del sistema	<p>Químicas</p> <p>Tecnológicas</p> <p>Económicas</p>
Tipo de sistema	<p>Ambas fases orgánicas</p> <p>Ambas fases acuosas</p> <p>Acuosa / Orgánica</p>
Modo de Distribución	<p>Selectiva</p> <p>Específica</p>
Consideraciones para la selección de fases	<p>Características del soluto</p> <p>Solubilidades</p> <p>Separación para:</p> <p> i) Identificación</p> <p> ii) Aislamiento</p> <p> iii) Análisis</p>
Evaluar la aplicación propuesta	<p>Considerar si el proceso :</p> <p> i) Tiene atributos</p> <p> ii) Tiene desventajas</p>

^a Blumberg, Ruth. Liquid-Liquid Extraccion. Academic Press, London, 1988.

La aplicación de las técnicas de extracción desde el punto de vista analítico, como en el caso de éste trabajo, han adquirido una gran importancia. Esto se debe a que el extracto (es decir, la solución de una sustancia separada en un solvente) generalmente presenta algunas propiedades que permiten la determinación del compuesto de interés; entre éstas propiedades se tienen la absorción de luz, la fluorescencia y la radioactividad, entre otras.

4.2. CLASIFICACION DE LOS SISTEMAS DE EXTRACCION. (13)

Los sistemas de extracción son clasificados de acuerdo a diferentes criterios, como : (a) al tipo de reacción mediante la cual las especies extractables son formadas; (b) a la clase de especies extractables; (c) al tipo de agente extractante que se emplee; (d) al tipo de cinética del sistema de extracción; etc. Aunque todos estos criterios son válidos, nosotros nos avocaremos a la descripción de los sistemas de extracción en base al tipo de especie extractable (considerando la clasificación dada por H. Freiser (13)).

La formación de especies extractables involucra básicamente dos tipos de interacciones : i) enlaces químicos o de coordinación; y ii) esencialmente fuerzas electrostáticas o de ion-asociación. Dentro de ésta clasificación podemos considerar básicamente dos grupos : los sistemas primarios y los sistemas mixtos de extracción.

4.2.1. SISTEMAS PRIMARIOS.

A. Complejos de Coordinación Simples.

Este tipo de complejos son formados por la combinación de cationes con ligandos aniónicos monodentados, dando origen a complejos neutros que generalmente son extraídos en solventes de hidrocarburos o hidrocarburos clorados.

B. Complejos de Coordinación Polidentados.

Este tipo de complejos se forma por el enlace de un catión con ligandos que pueden ocupar al menos dos sitios de coordinación, dando origen a un compuesto cíclico.

C. Complejos de Ión - Asociación.

Los complejos de Ión-asociación o denominados, también, de par iónico se forman a partir de la interacción electrostática de un anión y un catión. Este tipo de complejos tienden a tener una solubilidad muy pobre en agua, siendo ampliamente solubles, en la mayoría de los casos, en solventes orgánicos. Cabe destacar que en ocasiones este tipo de compuestos tienden a presentar reacciones de polimerización.

4.2.2. SISTEMAS MIXTOS.

En este grupo quedan comprendidos aquellos sistemas en los cuales la formación del complejo extractable involucra una combinación de las asociaciones antes descritas.

A. Sistemas Mixtos de Complejación y Par Iónico.

Este tipo de sistemas se presenta cuando un agente complejante reacciona con un catión resultando una especie cargada positivamente la cual puede formar un par iónico con un anión adecuado, originando una especie, neutra, que puede ser extraída con solventes orgánicos. De manera análoga es posible que se forme un complejo cargado negativamente el cual puede formar un par iónico con un catión.

B. Sistemas Empleando Diversos Ligandos.

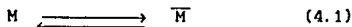
En ocasiones la combinación de dos ligandos incrementa en gran medida la extracción de una especie en particular. Esto ocurre, sobre todo, cuando se tiene un complejo en el cual los sitios de coordinación no ocupados los "llena" el agua, ocasionando con ello una pobre extracción. Si se añade un segundo ligando que desplace a las moléculas de agua la extracción se incrementa. A este tipo de sistema, también, se le conoce como sinergismo.

4.3. PARAMETROS TERMODINAMICOS FUNDAMENTALES EN LA EXTRACCION LIQUIDO - LIQUIDO. (13, 14, 18, 19, 20, 21)

4.3.1. CONSTANTE DE EXTRACCION Y COEFICIENTE DE DISTRIBUCION.

Como ya se indicó la extracción líquido-líquido se basa en un proceso de distribución de un soluto entre dos fases

inmiscibles, además en el capítulo 1 se mencionó que este proceso tiene asociada una constante termodinámica de distribución. De tal manera, que si consideramos la distribución del soluto M entre las fases inmiscibles α y β tendremos :



en donde M es el componente en la fase acuosa (α) y \bar{M} es el componente en la fase orgánica (β). La constante de distribución para este equilibrio puede expresarse como :

$$K = \frac{|\bar{M}|}{|M|} \quad (4.2)$$

Hay que destacar que en la constante de distribución M y \bar{M} se refieren a la misma forma química del soluto lo cual restringe la aplicabilidad práctica de esta constante; sobre todo por el hecho de que es frecuente que en un sistema de extracción líquido-líquido tengan lugar diversas interacciones (secciones 3.4 y 4.2) que afectan la distribución del soluto entre las fases. Por ello, y con fines prácticos, se introduce un nuevo término denominado coeficiente de distribución (D) que representa la relación entre la concentración analítica del soluto en la fase orgánica, $|\bar{M}'|$, y la concentración analítica de éste en la fase acuosa, $|M'|$, una vez alcanzado el equilibrio, así :

$$D_M = \frac{|\bar{M}'|}{|M'|} \quad (4.3)$$

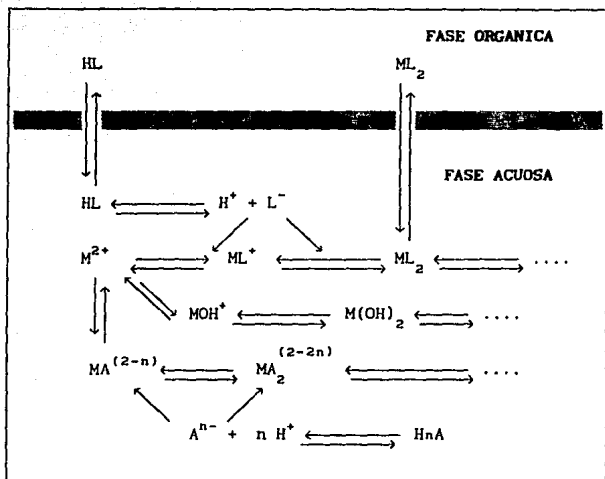
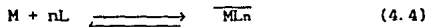


Fig 4.1. Esquema general de los equilibrios que se pueden producir en la extracción de un soluto mediante la formación de un complejo neutro (M=soluto; L=ligando; A=interferente) (18).

Debemos de tomar en cuenta, también, que generalmente la extracción de un soluto involucra la interacción de éste con otra especie para dar lugar a un compuesto extractable. Así, si consideramos la extracción de M el cual interacciona con L para dar origen a la especie extractable ML_n (*), podemos plantear

* Se considera a ML como un complejo neutro.

entonces el proceso de formación y extracción como :



teniendo esta ecuación una constante de equilibrio, conocida como constante de extracción (K_{ext}), la cual estará dada por :

$$K_{ext} = \frac{|\overline{ML_n}|}{|M| |L|^n} \quad (4.5)$$

Por otro lado para este proceso, el coeficiente de distribución esta dado por :

$$D_M = \frac{|\overline{ML_n}|}{|M| + |ML_n|} \quad (4.6)$$

considerando que la $|ML_n|$ es muy pequeña debido a la poca solubilidad del complejo en la fase acuosa, la expresión se reduce a :

$$D_M = \frac{|\overline{ML_n}|}{|M|} \quad (4.7)$$

sustituyendo en ella a la ecuación 4.5 se tiene :

$$D_M = K_{ext} |L|^n \quad (4.8)$$

Sin embargo, generalmente, los equilibrios como el antes descrito se ven afectados por diversas reacciones laterales como hidrólisis, reacciones proteolíticas del soluto, formación de complejos conteniendo a M y L en proporciones variables, reacciones con sustancias amortiguadoras, una cierta distribución del reactivo L entre las dos fases, etc. Una forma adecuada de considerar estas interferencias es el determinar las constantes de extracción condicionales, aplicando para ello los coeficientes α (coeficientes de complejación) descritos por Ringbom (21). Así, si consideramos que la constante condicional de extracción (K_{ext}') esta dada por :

$$K_{ext}' = \frac{|\overline{ML_n}|}{|M'| |L'|} \quad (4.9)$$

en donde $|\overline{ML_n}|$ es la concentración total del complejo, cualquiera que sea la forma en que se encuentre, en la fase orgánica; $|M'|$ es la concentración total de soluto M cualquiera que sea la forma en que se encuentre en la fase acuosa, y $|L'|$ es la concentración total de reactivo libre, en ambas fases, pero considerándolo como si se encontrara totalmente en fase acuosa.

Si tenemos que los coeficientes α están definidos por:

$$\begin{aligned} \alpha_M &= |M'| / |M| \\ \alpha_L &= |L'| / |L| \\ \alpha_{ML_n} &= |\overline{ML_n}'| / |ML_n| \end{aligned}$$

si sustituimos estos coeficientes en la expresión 4.9 tendremos :

$$K_{ext} = \frac{\alpha_{MLn} |ML_n|}{\alpha_M \alpha_L |M| |L|^n} \quad (4.10)$$

por tanto la ecuación anterior se puede expresar como :

$$K_{ext}' = \frac{\alpha_{MLn}}{\alpha_L} \frac{1}{\alpha_M} K_{ext} \quad (4.11)$$

En el caso en que M reaccionará con L formando sólo el complejo ML_n el término que involucra a los coeficientes α será igual a uno, por lo que la constante de extracción será igual a la constante de extracción termodinámica.

Para aquellos casos en que existen ligandos o partículas interferentes como A, por ejemplo, que forme uno o varios complejos con el soluto M la relación matemática que describe al coeficiente α es :

$$\alpha_{M(A)} = \frac{|M'|}{|M|} = \frac{|M| + |MA| + \dots + |MA_n|}{|M|} \quad (4.12)$$

o bien,

$$\alpha_{M(A)} = 1 + \beta_1 |A| + \beta_2 |A|^2 + \dots + \beta_n |A|^n \quad (4.13)$$

así $\alpha_{M(A)}$ da cuenta de la influencia de la reacción lateral entre M y A sobre la reacción principal ML_n . El término β describe el producto de estabilidad del complejo correspondiente.

De igual manera, si B es un interferente que forma complejos con L se tendrá :

$$\alpha_{L(B)} = 1 + \beta_1|B| + \beta_2|B|^2 + \dots + \beta_m|B|^m \quad (4.14)$$

En ocasiones se presentan sistemas que contienen no sólo uno, sino varios componentes interferentes (como iones hidroxilo, agentes enmascarantes, amortiguadores, etc.) que pueden interactuar con el soluto, con el ligando e incluso con el complejo o especie extractable formada. En estos casos es posible calcular un coeficiente α global (α_H) a partir de los valores individuales de los diferentes sistemas de reacción :

$$\alpha_H = \alpha_{H(A1)} + \alpha_{H(A2)} + \alpha_{H(A3)} + \dots + (1-p) \quad (4.15)$$

en esta expresión los diversos componentes interferentes se designan con los números, siendo p el número de estos componentes.

De igual manera, se puede calcular un coeficiente α global tanto para L como para ML_n . Sin embargo, por lo general para ML_n las reacciones laterales se consideran poco importantes, además de que sus constantes de equilibrio rara vez son conocidas; por lo que si no hay una reacción digna de considerarse, el coeficiente α_{ML} es igual a la unidad.

Por otro lado, tendremos que el coeficiente de distribución tomando en cuenta las consideraciones anteriores será :

$$D_H' = |L'|^n K_{ext}' \quad (4.16)$$

4.3.2. RELACION DE VOLUMENES Y EXTRACCIONES SUCESIVAS.

El que la extracción sea más o menos completa depende no sólo del D' sino también de los volúmenes de las fases. Si consideráramos una concentración inicial $|M|_0$ en un volumen de fase acuosa V y se extrae con un volumen de fase orgánica \bar{V} cuando se halla alcanzado el equilibrio las concentraciones de soluto en las fases acuosa y orgánica estarán dadas por $|M'|$ y $|\bar{M}'|$ respectivamente. Si se hace el balance de materia tenemos :

$$|M|_0 V = |\bar{M}'| \bar{V} + |M'| V \quad (4.17)$$

Si sustituimos $|\bar{M}'|$ en función del coeficiente de distribución condicional ($D' = |\bar{M}'| / |M'|$) obtenemos :

$$|M|_0 V = |M'| (V + D' \bar{V}) \quad (4.18)$$

de donde,

$$|M'| = \frac{|M|_0 V}{V + D' \bar{V}} \quad (4.19)$$

si determinamos un factor al que llamaremos γ (relación de volúmenes) el cual está dado por :

$$\gamma = \frac{\bar{V}}{V} \quad (4.20)$$

se obtiene,

$$| M' | = \frac{| M |_0}{1 + D' \gamma} \quad (4.21)$$

Es conveniente hacer notar que a pesar de que γ puede tener cualquier valor, sin embargo se deben de considerar para establecer este factor, los propósitos de la extracción, así como aspectos económicos y prácticos de ésta, por ello se recomienda un intervalo de trabajo dado por : $0.5 \leq \gamma \leq 2.0$.

Por otro lado, en ocasiones la D' no es lo suficiente grande para lograr la extracción del soluto en una sola operación, por lo cual es preciso realizar un cierto número de extracciones con porciones "frescas" de la fase inmisible. Para conocer la cantidad de soluto que permanece en la fase acuosa después de n extracciones, y por tanto la cantidad de soluto extraída, se tiene la expresión matemática :

$$F.R. = (1 + D' \gamma)^{-n} \quad (4.22)$$

en donde F.R. es la fracción retenida en la fase acuosa, por lo que la fracción extraída, denominada generalmente como rendimiento de la extracción (R) estará dada por :

$$R = 1 - F.R. = 1 - (1 + D' \gamma)^{-n} \quad (4.23)$$

4.3.3. FACTOR DE SEPARACION.

Un aspecto que debemos de tener presente al realizar un proceso de extracción es la existencia de más de un soluto. De manera que, para que la separación de un soluto en particular pueda llevarse a cabo de forma adecuada deben de diferir de forma significativa los valores de D' para dichos solutos. Por ello, se define el parámetro denominado factor de separación, α' , el cual nos permite determinar si la separación de dos solutos puede llevarse a cabo de forma satisfactoria :

$$\alpha' = \frac{| \overline{M'} | \quad | N' |}{| M' | \quad | \overline{N'} |} = \frac{D'_{M'}}{D'_{N'}} \quad (4.24)$$

Es evidente, que para que la separación del componente M en la fase orgánica pueda llevarse a cabo de forma adecuada, el valor del factor de separación debe ser mayor que la unidad. Por lo contrario, si se desea que se separe el componente N en la fase orgánica, el valor de este factor será menor a uno.

4.4. FASE ORGANICA Y ACUOSA EN LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO. (19,20)

4.4.1. FASE ORGANICA.

Es la fase que se encuentra en contacto con la fase acuosa, ésta permite la separación de los solutos de interés en el proceso de extracción. En los casos más simples, la fase orgánica

consiste de un sólo componente, pero esto limita en ocasiones el proceso de extracción en aspectos como la selectividad, solubilidad, transferencia de masa, separaciones de fases y costos entre otros. Así una fase orgánica más adecuada, está integrada por alguno de los siguientes componentes :

a) Agente extractante. Es de forma general, una sustancia capaz de actuar como un promotor de la transferencia de masa entre la fase acuosa y la fase orgánica. Este participa en la extracción selectiva, por la formación de un compuesto extractable como un par iónico o un complejo de coordinación.

b) Diluyente. Este es un líquido inmiscible con el agua, idealmente con un carácter inerte y no disociante. Este influye en las características físicas del sistema, especialmente la viscosidad, aunque en ocasiones ayuda a la solubilidad del complejo soluto-extractante.

c) Modificador. Es una sustancia que puede mejorar las propiedades físicas del sistema, como la viscosidad y la tensión interfacial; además puede ayudar a la solubilidad del extractante o del complejo formado.

4.4.2. FASE ACUOSA.

Comúnmente la solución acuosa contiene al soluto que va a ser extraído. Los componentes de la fase acuosa, aparte del soluto, provienen generalmente del tratamiento previo a que es

sometida la muestra, o bien a la adición intencionada de algunas sustancias para favorecer la extracción del soluto de interés.

a) Acidos y Bases. La adición de éstos, suele en ocasiones revestir gran importancia para la extracción, ya que permiten la determinación del pH, lo cual puede lograr la extracción selectiva de algún soluto.

b) Agentes Salinos. Este tipo de sustancias se emplean para favorecer el paso del soluto a la fase orgánica.

PARTE 2

SECCION EXPERIMENTAL

5. PARTE EXPERIMENTAL

5. PARTE EXPERIMENTAL.

5.1. INTRODUCCION.

Este apartado se refiere al desarrollo experimental efectuado para la obtención del método analítico de extracción espectrofotométrica que permite la determinación de Diclofenac sódico.

Se describe en primera instancia el equipo, reactivos y materiales empleados, así como la preparación de las soluciones necesarias para la experimentación. Posteriormente, se detalla la metodología seguida, mostrando especial énfasis en el desarrollo para la obtención de las condiciones óptimas de formación y extracción del complejo Diclofenac - Azul de Metileno, así como para la elaboración de la curva estándar de calibración para el fármaco.

Por último se describe el análisis para la cuantificación de Diclofenac sódico en formas farmacéuticas (grageas de acción prolongada y cápsulas) de diversas marcas comerciales.

5.2. APARATOS Y EQUIPO.

Espectrofotómetro Beckman DU-65 UV-Visible, con celdas de cuarzo de 10mm.

pH-metro CORNING Modelo 12 Research (escala expandida) calibrado con una solución buffer estándar ($\text{pH} = 10 \pm 0.05$, Merck). Empleando un electrodo combinado CORNING para lectura de pH.

Se empleó el material de cristalería necesario para el desarrollo experimental, principalmente embudos de separación de 125 ml, matraces volumétricos de 25 ml, pipetas volumétricas de 1, 2, 3, 4, 5, 10 ml.

5.3. REACTIVOS.

Diclofenac sódico (estándar secundario en base seca, 99.46%), cuya pureza se corroboró determinando el punto de fusión (286°C) y mediante la obtención de los espectros de absorción en la región de ultravioleta (figura 5.1) y en la de infrarrojo (figura 5.2).

En los espectros de absorción en el ultravioleta se determinó que la solución ácida (pH aproximadamente uno) presenta un máximo de absorción de radiación electromagnética en 274-275nm mientras que la solución alcalina (pH aproximado de doce) presenta el máximo de absorción en 275-277nm. Por otro lado el

espectro en la región de infrarrojo muestra que los picos principales se localizan a una longitud de onda de 1566.1, 747, 1500.5, 765, 1283.9 , 1305.5 y 1453.1 cm^{-1} , los cuales son aproximados (± 10 unidades) a los reportados en la literatura(11). Las diferencias observadas en la localización tanto de los máximos en los espectros en el ultravioleta, como en los picos principales del espectro de infrarrojo se deben al tipo de equipo y a la precisión del mismo, además de que dichas diferencias son mínimas. Por tanto puede considerarse que el fármaco empleado en la experimentación era de una pureza elevada.

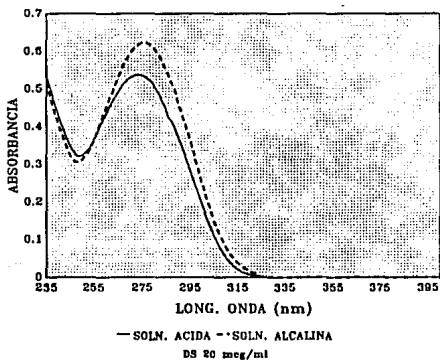
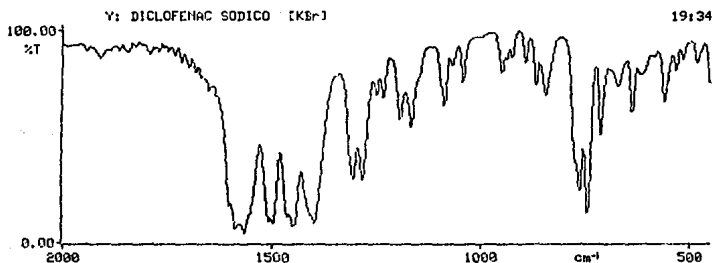
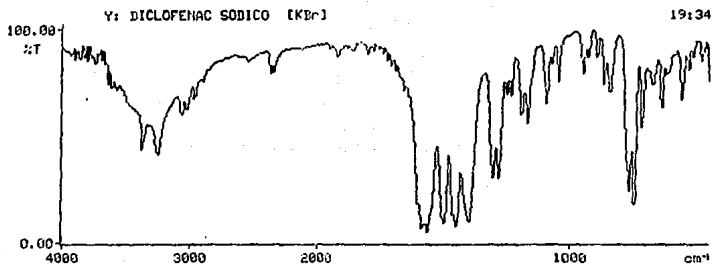


Fig. 5.1. Espectros de absorción de Diclofenac sódico (empleado experimentalmente) en solución acuosa ácida y alcalina.



PEAK Y 4000 450.0
threshold 5.00%; band

cm ⁻¹	%	cm ⁻¹	%	cm ⁻¹	%	cm ⁻¹	%
3904.8	83.50	3855.3	81.35	3841.0	83.75	3822.4	84.78
3894.9	85.48	3752.1	81.61	3736.4	82.88	3712.6	83.96
3691.8	82.19	3677.5	79.98	3650.5	74.20	3630.6	72.75
3586.6	69.47	3386.8	42.83	3261.0	41.24	3075.4	59.18
3035.9	61.58	2971.3	63.50	2362.3	79.04	2343.8	80.41
1912.6	86.98	1566.1	4.91	1500.5	9.30	1433.1	8.26
1400.2	9.47	1305.5	30.01	1283.9	30.08	1258.6	69.30
1234.4	68.33	1193.9	57.74	1168.1	54.65	1071.5	64.28
1044.9	75.90	952.1	79.09	894.5	85.28	868.5	73.94
844.8	69.59	765.8	24.25	747.0	13.82	715.3	59.81
670.8	73.76	637.2	60.64	559.4	66.82	532.7	81.41
483.5	85.90						

45 peaks found

Fig. 5.2. Espectro de Infrarojo de Diclofenac sódico

Azul de Metileno grado microscopía (Merck, Darmstadt).

Cloruro de Amonio (J.B. Baker) R.A. 100%.

Amoniaco (Merck, Darmstadt) R.A. 25% ($\rho = 0.91$).

Cloroformo (Merck, Darmstadt) R.A. 99.4% ($\rho = 1.47$).

Voltarén Retard (CIBA-GEIGY) grageas de acción prolongada (100 mg de Diclofenac sódico).

Voltarén (CIBA-GEIGY) grageas de acción prolongada (50 mg de Diclofenac sódico).

Flenaken (Sector Salud, Kendrick), grageas de acción prolongada (100 mg de Diclofenac sodico).

Artrenac (Merck Darmstadt), capsulas de liberación prolongada (100 mg de Diclofenac sódico).

5.4. SOLUCIONES.

Diclofenac sódico : Solución acuosa (fresca) de fármaco 40 $\mu\text{g/ml}$ (1.2573 E-4 M). Esta se empleó como solución estándar para fines analíticos.

Azul de Metileno : Solución acuosa 0.032% p/v (1.04 E-3 M).

Amortiguador : Soluciones amortiguadoras de amonio/amoniaco 0.50 M abarcando un intervalo de pH de 8.0 a 11.0. Estas se prepararon mezclando volúmenes iguales de soluciones 1.0 M de cloruro de amonio y de amoniaco, ajustando al pH deseado con hidróxido de sodio y/o ácido clorhídrico.

Todas las soluciones y experimentos se realizaron empleando agua desionizada.

La limpieza del material de cristalería se realizó con una solución de potasa alcohólica (40% p/v).

5.5. METODOLOGIA.

La metodología para el desarrollo adecuado de la técnica analítica comprendió básicamente los siguientes cinco puntos :

- 1) Investigación bibliográfica de las características fisicoquímicas de Diclofenac sódico y de métodos analíticos para la determinación de este fármaco, tomándose como referencia principal para el desarrollo de este trabajo de tesis los métodos reportados por Agatanovic-Kustrin y cols. (3) y por Sastry y cols. (4).

- ii) Determinación de las condiciones óptimas de formación y extracción del complejo.
- iii) Elaboración de la curva estándar de calibración.
- iv) Determinación de Diclofenac sódico en grageas y capsulas de acción prolongada.
- v) Análisis estadístico de los resultados.

5.6. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE LAS CONDICIONES OPTIMAS.

5.6.1. LONGITUD DE ONDA OPTIMA.

Se determinó la longitud de onda óptima mediante el espectro de absorción del sistema de trabajo (al pH óptimo) contra blanco reactivo, preparado de igual manera que los sistemas problema (figura 5.3), pero sin contener al fármaco.

5.6.2. pH y CONCENTRACION DE AMORTIGUADOR.

Para la determinación del pH óptimo se realizó el procedimiento general de extracción (Ver procedimiento de Curva de Calibración) variando el pH de trabajo de 8.0 a 11.0,

manteniendo constante la concentración de Diclofenac sódico y de Azul de metileno. Se midió la absorbancia de los sistemas leyendo contra blanco reactivo. Construyendo con los datos la curva de absorbancia en función de pH.

Una vez determinado el pH de trabajo (apartado 6.2) se realizó la determinación de la concentración de amortiguador óptima, mediante la preparación de sistemas con concentraciones de amortiguador en el intervalo de 0.05 a 0.6 M, midiendo, después de realizar la extracción, el pH de la fase acuosa, así como la absorbancia del extracto contra blanco reactivo.

5.6.3. CONCENTRACION DE AZUL DE METILENO.

Se determinó la concentración de Azul de Metileno óptima mediante la preparación de sistemas con concentraciones de este reactivo en el intervalo de $1.0 \text{ E-}4$ a $6.0 \text{ E-}4$ (concentración calculada en la solución final), manteniendo la concentración de Diclofenac sódico constante ($4 \mu\text{g/ml}$) en todos los casos.

5.6.4. NUMERO DE EXTRACCIONES, TIEMPO DE AGITACION Y TIEMPO DE REPOSO.

El número de extracciones se fijó realizando una serie de extracciones sucesivas de sistemas (renovando la fase orgánica), hasta observar que la absorbancia de la fase clorofórmica correspondiente no variara en la segunda cifra decimal.

El tiempo de agitación se varió desde 1 a 7 minutos leyendo la absorbancia de los sistemas, y con ello evaluar el tiempo a partir del cual la absorbancia fue constante y máxima. Para la obtención del tiempo de reposo se realizó una cinética de absorbancia en función del tiempo (durante una hora).

5.7. PROCEDIMIENTO PARA LA OBTENCION DE LA CURVA DE CALIBRACION.

Se desarrolló la curva de calibración en las condiciones óptimas de formación y extracción del complejo; para ello, alícuotas de la solución estándar de fármaco se vertieron en embudos de separación de 125 ml, se adicionaron 5 ml de la solución de Azul de Metileno, 1 ml de buffer, ajustando el volumen de la fase acuosa a 10 ml con agua. Se agregaron 10 ml de cloroformo y el contenido se agitó durante 5 minutos. La fase clorofórmica se recolectó en matraces volumétricos de 25 ml se realizó una segunda extracción con 10 ml de cloroformo y la fase orgánica de ésta se combinó con la primera, diluyendo hasta la marca con cloroformo. Después del tiempo de reposo (5 minutos) se midió la absorbancia contra blanco reactivo (fig 5.3).

5.8. PROCEDIMIENTO PARA LA DETERMINACION DE DICLOFENAC SODICO EN FORMAS FARMACEUTICAS.

El contenido de al menos 10 cápsulas, o no menos de 10 grageas se pesaron para determinar el peso promedio (tabla 5.1),

PROCEDIMIENTO GENERAL

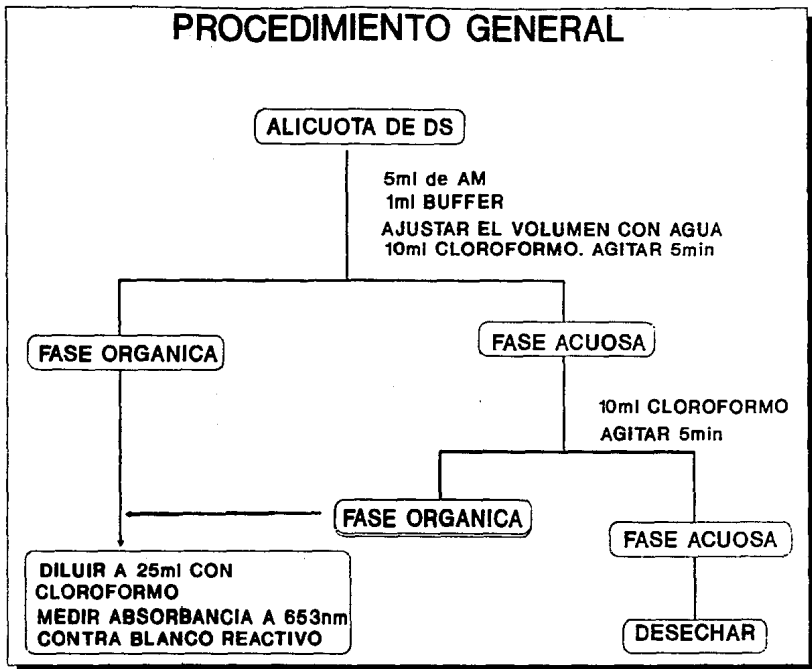


Fig. 5.3. Procedimiento general

se molieron y se pesó la cantidad de polvo equivalente a aproximadamente 80 mg de Diclofenac sódico, dicho polvo se disolvió en agua y la solución se filtró. El filtrado se aforó a 50 ml, a partir de ésta se preparó una solución de concentración 65.0 $\mu\text{g/ml}$ de la cual se tomó una alícuota de 1 ml y se realizó el procedimiento de extracción.

TABLA 5.1. PESOS PROMEDIO DE LOS MEDICAMENTOS ANALIZADOS EXPERIMENTALMENTE

MEDICAMENTO	PESO PROMEDIO (mg)
VOLTAREN	214.27
VOLTREN RETARD	304.69
FLENAKEN	173.74
ARTRENAC	398.8

6. RESULTADOS

Y DISCUSION

6. RESULTADOS Y DISCUSION.

6.1. CARACTERISTICAS ESPECTRALES.

El Diclofenac sódico forma con el Azul de Metileno un complejo de par iónico de color azul en cloroformo, el cual presenta una absorción máxima y óptima en una longitud de onda de 653 nm. La figura 6.1 muestra el espectro de absorción característico del complejo Diclofenac - Azul de Metileno, así como el espectro del blanco reactivo el cual tiene una longitud de onda de máxima absorción en 642 nm.

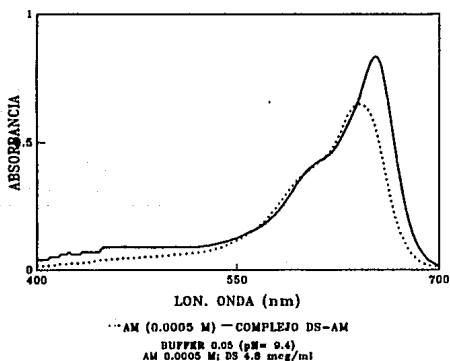


Fig. 6.1. Espectro de absorción de la asociación diclofenac-azul de metileno en cloroformo, así como del blanco reactivo

6.2. EFECTO DEL pH.

Una de las variables más importantes para el desarrollo de la técnica analítica es el pH, ya que la formación y extracción del complejo Diclofenac - Azul de Metileno depende de forma importante de este parámetro.

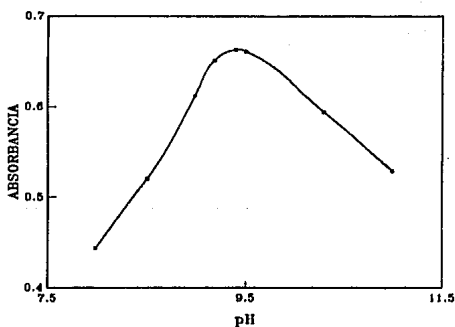
La figura 6.2 nos muestra la curva de absorbancia como función del pH para los datos obtenidos experimentalmente, presentados en la tabla 6.1, en esta curva se puede observar que los valores de absorbancia son constantes y máximos en un rango de pH de 9.2 a 9.5 empleando amortiguador de amonio/amoniaco. Se puede apreciar, también, que fuera de este intervalo de pH se presenta un decremento en la medida de la absorbancia. Debido a lo anterior el pH óptimo para el desarrollo del método se consideró como 9.4.

Por otro lado, se determinó que en concentraciones de amortiguador menores a 0.03 M, el sistema no presenta un amortiguamiento adecuado, ya que en este intervalo el valor de pH de la fase acuosa, después de realizada la extracción, disminuye en 0.8 unidades de pH. Mientras que en concentraciones de 0.03 a 0.06 M, el valor de pH permanece constante; debido a lo cual se consideró como 0.05 M la concentración óptima de amortiguador para el desarrollo del método analítico. Es importante mencionar que también se probó una solución de fosfatos como amortiguador, sin embargo no se consiguió un adecuado amortiguamiento en el pH.

TABLA 6.1. VALORES DE ABSORBANCIA A DIFERENTES VALORES DE pH EN EL SISTEMA.

pH	ABSORBANCIA
8.0	0.444
8.5	0.520
9.0	0.612
9.2	0.651
9.4	0.663
9.5	0.661
10.3	0.594
11.0	0.529

LECTURAS DE ABSORBANCIA CONTRA BLANCO REACTIVO.



Buffer 0.05 M
AM 0.0005 M; DS 4 mcg/ml

Fig 6.2. Curva de absorción en función de pH.

6.3. EFECTO DE LA CONCENTRACION DE AZUL DE METILENO.

El Azul de Metileno actúa en éste caso como reactivo extractante y como agente cromogénico, de aquí que el rendimiento de la extracción se vea afectada por la concentración de este reactivo. En la figura 6.3 se presenta la curva de absorbancia en función de la concentración de Azul de Metileno; en ella se aprecia que la cantidad de esta sustancia en el sistema es importante en la cuantitatividad de la extracción, de aquí que sea necesaria la determinación de la concentración de Azul de Metileno óptima la cual fue considerada como 5.0×10^{-4} debido a que el valor de la absorbancia alcanza un máximo en este punto, además de ser prácticamente independiente de la concentración. Cabe destacar que concentraciones mayores de Azul de Metileno

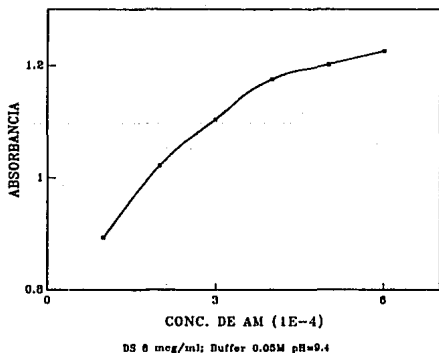


Fig. 6.3. Curva de absorbancia en función de la concentración de reactivo extractante (azul de metileno)

tienen por consecuencia un incremento en la absorbancia del blanco reactivo, lo cual no es compensado por el equipo que se emplea. Dicho incremento en la medida de absorbancia del blanco reactivo se debe a una posible asociación de par iónico entre el azul de metileno y los cloruros presentes en el sistema.

6.4. FUERZA IONICA.

Se impuso en el sistema una fuerza iónica de 0.05 M con cloruro de amonio, presente en la solución amortiguadora de pH. Debemos mencionar que el empleo de una sal de sulfato de amonio, con el mismo propósito, no resultó adecuada, ya que se observó un "bloqueo" por parte de los sulfatos en la formación del complejo de par iónico entre el Diclofenac sódico y el azul de metileno.

6.5. NUMERO DE EXTRACCIONES, TIEMPO DE AGITACION Y DE REPOSO

El número de extracciones se sabe que es un parámetro importante en el rendimiento de la extracción, por ello se determinó el número de extracciones a realizar en el análisis, siendo este de dos, dado que el segundo extracto mostró tener una absorbancia digna de considerarse, no ocurriendo esto con la fase clorofórmica de un tercer proceso de extracción (tabla 6.2).

TABLA 6.2. VALORES DE ABSORBANCIA PARA LOS DIVERSOS EXTRACTOS OBTENIDOS.

EXTRACTO	ABSORBANCIA
PRIMER	0.863
SEGUNDO	0.325
TERCER	0.078

Absorbancias leídas contra blanco reactivo en condiciones óptimas de long. de onda, concentración de azul de metileno, concentración de amortiguador y pH.

Por otro lado, se encontró que el tiempo de agitación óptimo es de cinco minutos por extracción, debido a que en este lapso la absorbancia tiene su máximo y muestra ser independiente del tiempo (figura 6.4). La agitación en todos los casos se realizó de forma manual.

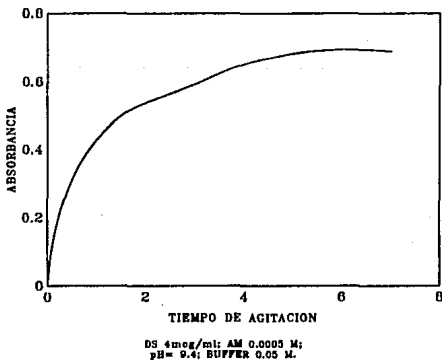


Fig. 6.4. Absorbancia en función del tiempo de agitación del sistema.

Una vez efectuada la extracción se tiene un tiempo de reposo de cinco minutos, esto fue determinado por la realización de una cinética, la cual mostró que la absorbancia permanece constante después de transcurrido el tiempo antes señalado. En base a esta misma cinética se determinó que el complejo es estable cuando menos durante una hora.

6.6. CURVA DE CALIBRACION.

La curva de calibración para el fármaco se elaboró bajo las condiciones óptimas (resumidas en la tabla 6.3.) empleando ocho concentraciones de fármaco en un intervalo de 0.8 a 6.4 $\mu\text{g}\text{-ml}$ ($2.5 \text{ E-}6$ a $2.5 \text{ E-}5 \text{ M}$), realizándose cada punto de la curva por sextuplicado (seis días diferentes, cada punto una vez por día)(22,23) .La tabla 6.4 muestra los valores de absorbancia obtenidos para cada concentración.

TABLA 6.3. CONDICIONES OPTIMAS PARA LA FORMACION Y EXTRACCION DE LA ASOCIACION AM-DS.

Rango de pH	9.2 - 9.5
Concentración de Amortiguador	0.05 M
Concentración de AM	0.0005 M
Fuerza Ionica	0.05 M
Número de Extracciones	2
Tiempo de Agitación	5 min.
Tiempo de Equilibrio	1 min.
Tiempo de Reposo	5 min.
Longitud de Onda	653 nm

TABLA 6.4. VALORES DE ABSORBANCIA OBTENIDOS PARA CADA CONCENTRACION DE LA CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION.

CONCENTRACION ($\mu\text{g/ml}$)	ABSORBANCIA					
	1	2	3	4	5	6
0.80	0.153	0.143	0.163	0.157	0.158	0.159
1.60	0.277	0.265	0.270	0.275	0.264	0.278
2.40	0.393	0.393	0.391	0.389	0.382	0.387
3.20	0.535	0.540	0.539	0.533	0.543	0.538
4.00	0.681	0.684	0.682	0.678	0.676	0.682
4.80	0.823	0.827	0.834	0.823	0.823	0.825
5.60	0.977	0.998	0.984	1.019	0.971	0.987
6.40	1.151	1.157	1.152	1.154	1.147	1.152

Lecturas contra blanco reactivo; $\lambda = 653\text{nm}$. cada columna de absorbancia representa el conjunto de valores determinados por día.

6.6.1. REPETIBILIDAD.

Con los valores obtenidos de absorbancia se realizó el análisis de varianza correspondiente, los resultados de este se muestran en la tabla de ANADEV (tabla 6.5) la cual permite establecer que no existen diferencias significativas entre las determinaciones realizadas, y por tanto que los datos presentan repetibilidad entre días.

Ver Apéndice 2.

TABLA 6.5. ANADEVIA PARA DETERMINAR LA REPETIBILIDAD DEL SISTEMA DE CUANTIFICACION.

FUENTE DE VARIACION	g.l.	S.C.	M.C.	F calculada
DIA	5	3.57E-4	7.20E-5	1.30
CONCENTRACION	7	5.1810	7.40E-1	
ERROR	35	1.94E-3	5.54E-5	
TOTAL	47	5.1833		

$$F_{0.95, 5, 34} = 2.49$$

6.6.2. LINEALIDAD.

Debido a que se demostró la repetibilidad de los datos, se determinó un valor promedio de absorbancia para cada concentración, con el fin de obtener la curva de calibración estándar para el Diclofenac sódico (tabla 6.6), así mismo se determinó el valor del coeficiente de variación correspondiente a cada medida, el cual nos indica que en todos los casos la desviación estándar relativa para cada grupo de mediciones es menor al cinco por ciento, además cabe mencionar que este parámetro (excepto para el primer dato) es menor al límite establecido para métodos espectrofotométricos (C.V. \leq 3.0%) (22).

La figura 6.5 nos muestra la relación de absorbancia en función de la concentración de diclofenac sódico, así como la curva de regresión lineal obtenida, en la tabla 6.7 se presentan los datos estadísticos de dicha curva, entre ellos cabe destacar el coeficiente de determinación cuyo valor indica que el 99.66

TABLA 6.6. VALORES PROMEDIO DE ABSORBANCIA PARA LA ELABORACION DE LA CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION.

CONCENTRACION ($\mu\text{g/ml}$)	ABSORBANCIA PROMEDIO	C. V. (%)
0.80	0.1555	4.45
1.60	0.2715	2.24
2.40	0.3873	1.18
3.20	0.5380	0.67
4.00	0.6805	0.43
4.80	0.8258	0.52
5.60	0.9893	1.74
6.40	1.1522	0.29

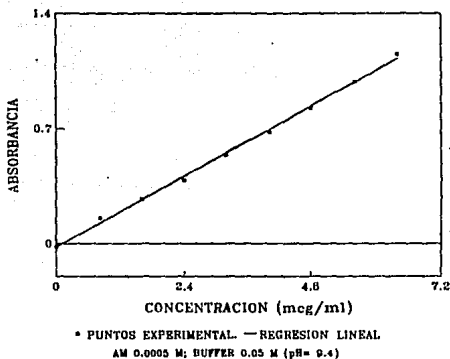


Fig.6.5. Curva estándar de Calibración para Diclofenac sódico.

por ciento de la variación total en las absorbancias es explicada por la regresión, por tanto podemos considerar que existe una relación lineal entre la concentración de Diclofenac sódico y la absorbancia en el intervalo de concentraciones de 0.8 a 6.4 $\mu\text{g/ml}$. Por otro lado, se tiene que el intervalo de confianza para el intercepto comprende el valor de cero, por tanto no se rechaza la hipótesis de que el intercepto sea igual a cero.

TABLA 6.7. DATOS ESTADISTICOS DE LA CURVA DE REGRESION LINEAL PARA LA CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION.

DATOS	VALOR
Pendiente	0.1789
LIIC	0.1684
LSIC	0.1894
Intercepto	-0.0191
LIIC	-0.0614
LSIC	0.0232
Coefficiente de Correlación (r)	0.9983
Coefficiente de Determinación (r^2)	0.9966

LIIC (Limite inferior del intervalo de confianza)

LSIC (Limite superior del intervalo de confianza)

Se realizó el análisis de varianza correspondiente^{*} cuyos resultados se muestran en la tabla 6.8, mediante dicho

^{*} Ver Apéndice 2.

análisis se rechaza la hipótesis de que las variables no están relacionadas linealmente, lo que permite corroborar que la curva de calibración presenta una linealidad adecuada.

TABLA 6.8. ANADEV A PARA LINEALIDAD DEL SISTEMA DE CUANTIFICACION.

FUENTE DE VARIACION	g. l.	S. C.	M. C.	F calculada
REGRESION LINEAL	1	0.8605	0.8605	1721
RESIDUAL	6	0.0030	0.0005	
TOTAL	7	0.8635		

$F_{0.95, 1, 6} = 5.99$

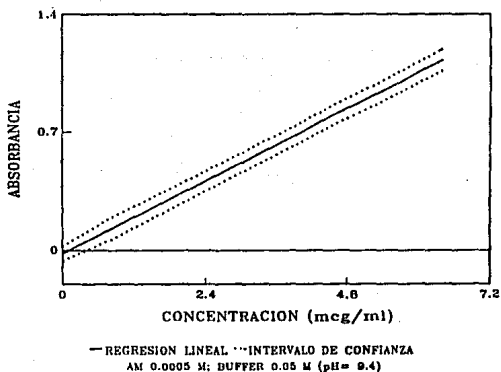


Fig. 6.6. Intervalos de confianza para la curva de regresión lineal.

En base a lo anterior y considerando que además la técnica analítica propuesta en este trabajo presenta una elevada sensibilidad, lo cual se confirma a través de los datos expuestos en la tabla 6.9, consideramos que dicha técnica puede considerarse como adecuada y conveniente para la cuantificación de Diclofenac sódico.

TABLA 6.9. DATOS SOBRE LA SENSIBILIDAD DE LA TECNICA DE CUANTIFICACION DE DICLOFENAC SODICO.

Intervalo que cumple la ley de Lambert-Beer	0.8 - 6.4 $\mu\text{g ml}^{-1}$
Coef. de Absortividad Molar	569461.650 l mol cm^{-1}
Coef. de Sensibilidad de Sandell	0.00056 mg cm^{-2}
Limite de Detección	0.37 $\mu\text{g ml}^{-1}$

6.7. DETERMINACION DE DICLOFENAC SODICO EN FORMAS FARMACEUTICAS.

Se realizó el análisis de cuatro productos farmacéuticos comerciales que contienen diclofenac sódico. La determinación se efectuó dos días diferentes, realizándose tres determinaciones

por día; las absorbancias de los sistemas se interpolaron en la curva estándar de calibración para conocer así la cantidad de fármaco. El porcentaje de diclofenac sódico en el producto se determinó en base a lo referido en el marbete del producto comercial correspondiente. Los resultados de éstos análisis se muestran en la tabla 6.10.

TABLA 6.10. DICLOFENAC SODICO DETERMINADO EN PRODUCTOS FARMACEUTICOS COMERCIALES.

DIA	FLENAKEN	VOLTAREN	VOLTAREN RETARD	ARTRENAC
1	101.87%	100.22%	99.78%	92.23%
2	101.03%	100.47%	100.07%	92.20%

Porcentaje de Diclofenac sódico referido en base al marbete del producto.

Para determinar si los resultados obtenidos muestran repetibilidad entre los días, se realizó un análisis de varianza (tabla 6.11). En dicho análisis estadístico se aprecia que no existen diferencias significativas entre las determinaciones realizadas los diferentes días, lo cual muestra una adecuada repetibilidad en los datos.

Cabe destacar que a excepción de la cuantificación del fármaco en el producto llamado Artrenac, la determinación de

TABLA 6.11. ANADEV A PARA DETERMINAR LA REPETIBILIDAD EN LA CUANTIFICACION DE DICLOFENAC SODICO EN PRODUCTOS FARMACEUTICOS

FUENTE DE VARIACION	g. l.	S. C.	M. C.	F calculada
DIA	1	0.0136	0.0136	0.0989
FORMA FARMACEUT.	3	107.2746	35.7582	
ERROR	3	0.4129	0.1376	
TOTAL	47	107.7011		

$$F_{0.95, 1, 3} = 10.13$$

diclofenac sódico es adecuada y corresponde a lo marcado en los compendios oficiales para la mayoría de los medicamentos (95 - 105 % de fármaco), lo cual nos permite pensar que no existen interferencias notables por parte de los excipientes en la determinación del fármaco en gráneas de acción prolongada. Cabe mencionar que el hecho de haber obtenido un porcentaje muy bajo en la determinación de Diclofenac sódico en Artrenac se debe muy probablemente al hecho de que el fármaco en las cápsulas de acción prolongada se encuentra dentro de un polímero, por lo que posiblemente no se solubilizó todo el principio activo en la preparación de la solución problema.

7. PROYECTOS DE INVESTIGACION

QUE SURGEN A PARTIR DE

ESTE TRABAJO

7. PROYECTOS DE INVESTIGACION QUE SURGEN A PARTIR DE ESTE TRABAJO.

Por ser el objetivo de esta tesis el de implementar una técnica analítica para la determinación del Diclofenac sódico nos avocamos a la determinación de las constantes termodinámicas involucradas en el sistema (capítulo cuatro), para con ello fundamentar adecuadamente dicha técnica analítica.

Por ello, a partir de este trabajo se ha pensado en la apertura de diversos proyectos de investigación, cuyo propósito será el de determinar la(s) constante(s) de acidez (K_a) para el reactivo analítico empleado; llevar a cabo el cálculo de la constante de partición en cloroformo tanto para el Diclofenac sódico como para el azul de metileno, así como el obtener la constante de extracción para el sistema trabajado. Se debe mencionar que el cálculo de las constantes termodinámicas mencionadas no es sencillo ya que se deben de conocer y determinar meticulosamente diversos parámetros, además de que para llevar a cabo dicho cálculo se recurre actualmente a sistemas computacionales.

La determinación de estos valores aportará valiosa información para establecer un modelo químico adecuado del sistema que permita conocer el tipo de equilibrios que tienen lugar en el sistema; además de conocer la cuantitatividad de la extracción.

8. CONCLUSIONES

8. CONCLUSIONES.

El Azul de Metileno como reactivo analítico resulta adecuado en la determinación por extracción espectrofotométrica de Diclofenac sódico.

El análisis de los datos experimentales permite concluir que la técnica analítica propuesta es adecuada y sensible para la determinación de Diclofenac sódico. Además de ser una técnica rápida y sencilla.

La sensibilidad de la técnica fue mejorada en relación a otras técnicas similares reportadas (3,4).3,4).

Esta técnica analítica es conveniente para la determinación de Diclofenac sódico en gráneas y cápsulas de acción prolongada.

9. APENDICES

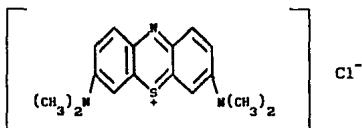
APENDICE 1.

PROPIEDADES DEL AZUL DE METILENO (12)

Azul de Metileno, [cloruro de 3,7-Bis (dimetilamino) fenotiazin-5-10].

FORMULA CONDENSADA : $C_{16}H_{18}ClN_3S$

FORMULA DESARROLLADA :



PESO MOLECULAR : 319.85

C 60.08%, H 5.67%, Cl 11.08%, N 13.14%,
S 10.02.

ASPECTO : Cristales o polvo inodoro de color azul intenso.

SOLUBILIDAD : Un gramo se disuelve en 25 ml de agua y en 65 ml de alcohol.

ESPECTRO VISIBLE : La solución acuosa presenta un máximo de absorción a 609 nm.

APENDICE 2.

ASPECTOS ESTADISTICOS (23, 24, 25)

I. ANALISIS DE VARIANZA PARA DETERMINAR LA REPETIBILIDAD.

FUENTE DE VARIACION	GRADOS DE LIBERTAD	SUMA CUADRATICA	MEDIA CUADRATICA	F CALCULADA
Entre renglones	g.l.i	SC _i	MC _i	Fcal _i
Entre columnas	g.l.j	SC _j	MC _j	Fcal _j
Error	g.l.E	SCE	MCE	
Total	g.l.T	SC _T		

GRADOS DE LIBERTAD.

- Para *i* renglones : g.l.i = *i* - 1
- Para *j* columnas : g.l.j = *j* - 1
- Para el error : g.l.E = (*i* - 1) (*j* - 1)
- Totales : g.l.T = *n* - 1

n = total de datos.

SUMA DE CUADRADOS (SC).

$$- SC_i = \frac{\sum_{r=1}^i X_{i.}^2}{j} \quad \text{--- F.C.}$$

$$- SC_j = \frac{\sum_{p=1}^j X_j^2}{j} \quad \text{--- F.C.}$$

$$- SCT = \sum_{r=1}^i \sum_{p=1}^j X_{ij}^2 \quad \text{--- F.C.}$$

$$- SCE = SCT - SC_i - SC_j$$

FACTOR DE CORRECCION (F.C.).

$$F.C. = \frac{\sum X_{..}^2}{ij}$$

MEDIA CUADRATICA (MC).

$$MC_i = SC_i / (i - 1)$$

$$MC_j = SC_j / (j - 1)$$

$$MCE = SCE / [(i - 1) (j - 1)]$$

VALOR DE F CALCULADA (Fcal).

$$Fcal_i = MC_i / MCE$$

$$Fcal_j = MC_j / MCE$$

CRITERIO.

- Si,

$$F_{cal1} < F_{0.95, (i-1), (i-1)(j-1)}$$

no existen diferencias significativas entre los renglones.

- Si,

$$F_{calj} < F_{0.95, (j-1), (i-1)(j-1)}$$

no existen diferencias significativas entre las columnas.

II. ANALISIS DE VARIANZA PARA LA LINEALIDAD.

FUENTE DE VARIACION	g. l.	S. C.	M. C.	F calculada
REGRESION LINEAL	1	SC _{DE}	MC _{DE}	F _{cal1}
RESIDUAL	n - 2	SC _{DI}	MC _{DI}	
TOTAL	n - 1	SC _T		

GRADOS DE LIBERTAD.

- Para la regresión lineal : Son iguales al número de constantes de la ecuación de regresión menos uno. Dado que en la regresión lineal simple se tienen dos constantes, a y b, los grados de libertad son 2-1.

- Para el residual : g.l. = n - 2

- Totales : g.l. = n - 1

n = total de datos.

SUMA DE CUADRADOS (SC).

$$- SC_{DE} = \sum (y_c - \bar{y})^2$$

$$- SC_{DI} = \sum (y_i - y_c)^2$$

$$- SC_T = SC_{DE} + SC_{DI}$$

y_i : valor del y observado.

y_c : valor estimado de y por la recta de regresión lineal.

\bar{y} : valor de y media.

MEDIA CUADRATICA (MC).

$$MC_{DE} = SC_{DE} / 1$$

$$MC_{DI} = SC_{DI} / (n - 2)$$

VALOR DE F CALCULADA (F_{cal}).

$$F_{cal} = MC_{DE} / MC_{DI}$$

CRITERIO.

- Si,

$$F_{cal} > F_{0.95,1,(n-2)}$$

se rechaza la hipótesis de que no existe relación lineal entre las variables.

III. ANALISIS DE REGRESION LINEAL POR MINIMOS CUADRADOS.

PENDIENTE (b).

$$b = \frac{n \sum xy - (\sum x)(\sum y)}{n \sum x^2 - (\sum x)^2}$$

INTERCEPTO (a).

$$a = \frac{\sum y - b \sum x}{n}$$

COEFICIENTE DE CORRELACION.

$$r = \frac{\sum_1 ((x_1 - \bar{x})(y_1 - \bar{y}))}{\{(\sum_1 (x_1 - \bar{x})^2) [\sum_1 (y_1 - \bar{y})^2]\}^{1/2}}$$

INTERVALOS DE CONFIANZA.

Calculos previos :

$$S_{y/x} = \left(\frac{n-1}{n-2} (S_y^2 - b^2 S_x^2) \right)^{1/2}$$

i) Pendiente :

$$S_b = \frac{S_{y/x}}{\left[\sum_1 (x_i - \bar{x})^2 \right]^{1/2}}$$

$$b \pm t(1-\alpha/2) S_b$$

ii) Intercepto :

$$S_a = S_{x/y} \left(\frac{\sum x_i^2}{n \sum (x_i - \bar{x})^2} \right)^{1/2}$$

$$a \pm t(1-\alpha/2) S_a$$

iii) Para cada valor estimado en la recta de regresión :

$$y \pm t(1-\alpha/2) S_{y/x} \sqrt{1 + n^{-1} + \frac{(x_i - \bar{x})^2}{\sum (x_i - \bar{x})^2}}$$

iv) Límite de detección (LDD) :

$$LDD = a + 3S_{y/x}$$

10. REFERENCIAS

BIBLIOGRAFICAS

10. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.

- (1) SALLMAN A.R.: *THE AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE*, **80**, (1986), 29.
- (2) SCHOLER D.W., BOETTCHER I. and SCWEIZER A., *THE AMERICAN JOURNAL OF MEDICINE*, **80**, (1986), 34.
- (3) AGATANOVIC-KUSTRIN S., ZIVANOVIC L.J., RADULOVIC D. and VASILJEVIC M., *ANALYST*, **166**, (1991), 753.
- (4) SASTRY C.S.P., PRASAD TIRPENENI A.S.R. and SURYANARAYAMA M.V., *ANALYST*, **114**, (1989), 513.
- (5) ARRAWAL Y.K., UPAYAY V.P. and MENON S.K., *INDIAN JOURNAL PHARMACEUTICAL SCIENCE*, **50**, (1988), 58.
- (6) SCHWEIZER A., WILLIS J.V., JACK D.B. and KENDALL M.J., *JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY*, **195**, (1980), 421.
- (7) SCHNEIDER W., DEGEN P.H., *JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY*, **217**, (1981), 263.
- (8) HENNING B., STEUP A. and BENECKE R., *PHARMAZIE*, **42**, (1987), 861.
- (9) GOBBILLON J., GAURON S. and MATAYER J.P., *JOURNAL OF CHROMATOGRAPHY*, **338**, (1985), 151.
- (10) ABDEL FATTAH S.A., EL-KHATEEB J.P., ABDEL RAXEG S.A. and TAWAKKOL M.S., *SPECTROSCOPY LETTERS*, **21**, (1989), 533.
- (11) MOFFAT A.C., et al., *CLARKE'S ISOLATION AND IDENTIFICATION OF DRUGS*, 2ed., The Pharmaceutical Press, London, 1989.

- (12) *THE MERCK INDEX*, 11ed., Merck & Co., Inc., U.S.A., 1989.
- (13) KARGER B.L., SNYDER L.R., HORVATH C. *AN INTRODUCTION TO SEPARATION SCIENCE*, John Wiley & Sons, U.S.A., 1973.
- (14) GIDDINGS C.J., *UNIFIED SEPARATION SCIENCE*, John Wiley & Sons., Inc., U.S.A., 1991.
- (15) BLUMBERG, Ruth. *LIQUID - LIQUID EXTRACTION*, Academic Press, London, 1988.
- (16) RICE N.M., *CHEMISTRY AND INDUSTRY*, 3, (1977), 718
- (17) KOLTHOFF I.M., SANDELL E.B., MEEHAN E.J. and BRUCKENSTEIN S., *QUANTITATIVE CHEMICAL ANALYSIS*, 4ed., The Macmillan Company, U.S.A., 1969.
- (18) VALCARCEL C.M., GOMEZ H.A., *TECNICAS ANALITICAS DE SEPARACION*, Reverté, España, 1988.
- (19) VALCARCEL M.C. y RODRIGUEZ M.S., *TEORIA Y PRACTICA DE LA EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO*, Alhambra, Madrid, 1984.
- (20) ARROYO F.G., *TESIS SEPARACION DE LANTANO COMO OXINATO POR EXTRACCION LIQUIDO-LIQUIDO*, U.N.A.M., México, 1993.
- (21) RINGBOM A., *FORMACION DE COMPLEJOS EN QUIMICA ANALITICA*, Alhambra, España, 1979.
- (22) COMITE DE VALIDACION DE METODOS ANALITICOS DEL COLEGIO DE Q.F.B.s, *VALIDACION DE METODOS ANALITICOS*, Colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C., México, 1991.
- (23) MILLER J.C. and MILLER J.N., *ESTADISTICA PARA QUIMICA ANALITICA*, Addison-Wesley Iberoamericana, U.S.A., 1993.

- (24) DANIEL W.W., *BIOESTADISTICA*, 3ed., Limusa, México, 1989.
- (25) KREYSZING E., *ESTADISTICA MATEMATICA*, Limusa, México, 1981.
- (26) ATKINS P.W., *FISICOQUIMICA*, 3ed., Addison - Wesley Iberoamericana, U.S.A., 1991.
- (27) MAITANI Y., NAKAGAKI M. and NAGAI T., *INTERNATIONAL JOURNAL OF PHARMACEUTICS*, 74, (1991), 105.