



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA *Iztapalapa*



Interdisciplina en evolución

ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA – IZTAPALAPA
DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERÍA

“Estudio fisicoquímico de antiinflamatorios no esteroidales y sus complejos supramoleculares”

Tesis que presenta
Q. Mireya E. Marlenne Cid Cerón
Para obtener el grado de
Doctora en Ciencias (Química)

Asesoras: Dra. Ma. Teresa Ramírez Silva

Dra. Annia Galano Jiménez

Jurado Calificador:

Presidente: Dr. Manuel Eduardo Palomar Pardave

Secretaria: Dra. Silvia Corona Avendaño

Vocal: Dra. Gabriela Roa Morales

Vocal: Dr. Fernando Cortés Guzmán

Vocal: Dra. María Villa y Villa

Ciudad de México, Octubre 2016



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA *Iztapalapa*



Interdisciplina en evolución

ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

“Estudio fisicoquímico de antiinflamatorios no esteroideos y sus complejos supramoleculares”



Índice

Agradecimientos	5
Resumen	7
Abstract	8
Abreviaturas	9
1. Introducción	10
2. Antecedentes	11
2.1 <i>Diclofenaco</i>	12
2.2 <i>Acetaminofén</i>	14
2.3 <i>Agregados supramoleculares</i>	15
3. Hipótesis	16
4. Objetivos	16
5. Metodología	17
6.1 Estabilidad de DCF	20
6.1.1 Estabilidad pH 1	20
6.1.2 Estabilidad pH 7	27
6.1.3 CTAB	33
6.1.3.1 <i>pH 1</i>	33
6.1.3.2 <i>pH 7</i>	35
6.1.4 Constante de acidez	41
6.1.4.1 <i>Cloruros</i>	41
6.1.4.2 <i>Percloratos</i>	45
6.1.4.3 <i>Fosfatos</i>	48
6.1.5 Mecanismo de degradación	51
6.2 Mecanismo de Oxidación de DCF	57
6.2.1 Caracterización electroquímica de DCF	57
6.2.2 Estimación del número de electrones	58
6.2.3 Oxidación electroquímica de DCF bajo condiciones forzadas.	67
6.2.4 Evaluación experimental del coeficiente de difusión	69
6.2.5 Estimación del coeficiente de difusión teórico	69
6.3 Determinación Analítica de DCF y ACT	72
	3

6.3.1 Estudio de interacción de las moléculas de DCF y ACT con CTAB.	73
6.3.2 Cuantificación Individual de diclofenaco y acetaminofén.	83
6.3.3 Cuantificación simultanea de diclofenaco y acetaminofén	91
6.4 Formación de Complejos Supramoleculares	101
6.4.1 Estudio de la formación de complejos	101
6.4.2 Determinación espectrofotométrica de la constante de inclusión de DCF con β -CD a pH 7.	103
7.- Conclusiones	106
8.-Perspectivas	107
9.- Referencias	108

Agradecimientos

Al **CONACyT**, por la beca económica otorgada para la realización de los estudios de Posgrado. **NÚMERO DE BECARIO (265505)**, así como el proyecto de Ciencia Básica **237327** y a la **cátedra 2159**.

A la **UAM-Iztapalapa**, por darme la oportunidad de realizar mis estudios de Posgrado.

Al Departamento de Química, **Área de Química Analítica** por brindarme un lugar para el desarrollo de este trabajo.

Al comité del jurado: Dr. **Manuel Palomar Pardavé**, Dra. **Sivia Corona Avendaño**, Dra. **Gabriela Roa Morales**, Dr. **Fernando Cortés Guzmán** y Dra. **María Villa y Villa**. Por el tiempo que dedicaron en la revisión y por sus sugerencias para mejorar este trabajo de tesis.

A la **Dra. Tere Ramírez** por su infinita paciencia como asesora, por sus sabias aportaciones para la realización del trabajo así como por el tiempo dedicado. Gracias por el apoyo brindado, con una asesoría integral, donde no solo crecí como estudiante sino como persona, porque las lecciones humanas enseñan tanto como las académicas.

A la Dra. **Annia Galano** por su paciencia y comprensión como asesora, por el tiempo dedicado al desarrollo del trabajo, por sus contribuciones y por su gran apoyo incondicional.

A la **Dra. Dafne** por su apoyo, colaboración y consejos otorgados durante la realización de mis estudios de posgrado.

Quiero agradecer a Dios y a la vida por permitirme concluir otra meta; por regalarme la alegría de compartir este logro con mis seres queridos.

A mis papás, **Juan Cid** y **Blanca Cerón** por todo el apoyo, comprensión y cariño incondicional brindados. Por enseñarme que no existen límites ni obstáculos que detengan cuando se tiene firme un objetivo. Éste logro también es de ustedes. Los amo.

A mis hermanos: **Jenny y Yair**, por su cariño y apoyo en todo momento, por creer siempre en mí, los adoro. A **Leo** por tu cariño, por regalarme tantas sonrisas y cambiar muchos de mis días, te adoro.

A **Luis** por tu apoyo incondicional, por compartir tantos momentos conmigo, por tu amor y comprensión, te amo.

Al motor de mi vida, a esa personita que llegó a inyectar de energía cada uno de mis días y que me ayuda a seguir adelante. Te Amo **Alexa** eres la luz de mi vida.

A **Lynette** gracias por todo tu apoyo, por ser mi confidente, por estar siempre tomando mi mano, te adoro.

A cada uno de mis compañeros que contribuyeron de alguna manera dentro de mis estudios de posgrado.

Resumen

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos sobre el estudio de medicamentos antiinflamatorios: Diclofenaco (DCF) y Acetaminofén (ACT), incluidos dentro del grupo denominado AINE's (antiinflamatorios no esteroideos). Estos fármacos son usados en primera instancia por la población para el tratamiento del dolor agudo e inflamación principalmente, por sus propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias. Son comúnmente utilizados por prescripción o automedicación. En el presente trabajo se evaluó la estabilidad de DCF en diferentes medios, evidenciando su inestabilidad a pH ácido. Se propuso una posible ruta de degradación para la especie neutra de DCF, así como los productos obtenidos y se determinó la constante de acidez considerando la inestabilidad del mismo en cada medio. Se estudió la oxidación electroquímica de la especie aniónica de DCF a pH 7, a través de diversas técnicas electroquímicas; se encontró que la oxidación de DCF implica un mecanismo Electroquímico-Químico en donde la reacción electroquímica se lleva a cabo a través de un electrón de intercambio, mientras que la reacción química implica romper la molécula de DCF a través del átomo de Nitrógeno, generando de este modo dos fragmentos: 2,6 dicloroanilina y 2-(2hidroxiprop - 2 - enil) fenol. Se determinó el coeficiente de difusión para la especie aniónica a través de diversas técnicas experimentales así como teóricamente. En la actualidad dentro de la industria farmacéutica se hace uso de diversos compuestos tales como los surfactantes para mejorar la biodisponibilidad de los fármacos y de esta manera brindar estabilidad evitando su descomposición. Se determinó la concentración micelar crítica de Cetiltrimetilamonio (CTAB) en las condiciones de trabajo, se caracterizaron electroquímicamente Diclofenaco y Acetaminofén en ausencia y presencia de CTAB con el fin de mejorar los parámetros físicos de las moléculas, se probó un nuevo método de determinación analítica para el Diclofenaco y la determinación simultánea de DCF y ACT. Encontrando que la interacción que se presenta entre DCF y CTAB proporciona estabilidad al fármaco y al mismo tiempo ayuda a mejorar la determinación del mismo aún en presencia de Acetaminofén.

Abstract

This paper presents the results obtained on the study of two anti-inflammatory drugs: Diclofenac (DCF) and Acetaminophen (ACT). They belong to the group called AINE's (nonsteroidal anti-inflammatory), and are mainly used by humans in the treatment of acute pain and inflammation because of their analgesic, antipyretic and anti-inflammatory properties. They are used within both regimes: doctors prescription or automedication. DCF stability in different media was evaluated, showing instability at acidic pH. A degradation reaction and the yielded products are proposed for DCF neutral species, and the pKa was determined by considering the instability. The electrochemical oxidation of anionic species of DFC at pH 7 was studied through various electrochemical techniques. It was found that oxidation of DCF involves an EC mechanism where the electrochemical reaction takes place through electron exchange. The associated chemical reaction involves breaking the molecule DCF through the nitrogen atom, thereby generating two fragments: 2,6 dichloroaniline and 2- (2hidroxiprop - 2 - enyl) phenol. The diffusion coefficient for anionic species was determined by various experimental techniques, and also theoretically. Additionally, various compounds (such as surfactants) are currently used by the pharmaceutical industry to improve the bioavailability of drugs and thus provide stability and avoid decomposition. Thus this strategy was also tested in this work. The critical micelle concentration of Cetyltrimethyl ammonium bromide (CTAB) in working conditions was determined, DCF and ACT were electrochemically characterized in the absence and presence of CTAB in order to improve the physical parameters of molecules. A new analytical method was tested for determination of DCF, and the simultaneous determination of DCF and ACT. It was found that the interaction between DCF and CTAB offers stability to the drug and, at the same time, helps improving its analytical determination in the presence of Acetaminophen.

Abreviaturas

β- CD	β - ciclodextrina
v	Velocidad en $V s^{-1}$
Ag/AgCl	Electrodo de Plata/Cloruro de Plata saturado con KCl
ACT	Acetaminofén
AINE	Antiinflamatorio No Esteroidal
CA	cronoamperometría
CMC	concentración micelar crítica
EPC	Electrodo de pasta de carbono
CTAB	Bromuro de Cetiltrimetilamonio (Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide)
DCF	Diclofenaco
DZP	Diagrama de Zonas de Predominio
E	Potencial en Volts
i	Corriente
i_{pa}	Corriente de pico anódico
i_{pc}	Corriente de pico catódico
i_L	Corriente limitante
LOD	Límite de detección (Limit of Detection)
LOQ	Límite de Cuantificación (Limit of Quantification)
VC	Voltamperometría Cíclica
VL	Voltamperometría Lineal

1. Introducción

Los medicamentos son esenciales para la salud y sobrevivencia de las personas, el consumo de los mismos es vital para el tratamiento de diversas enfermedades. Los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos (AINE) tienen efectos analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios. La razón de su popularidad radica en que no produce sedación o adicción y en su fácil adquisición. Después del aislamiento del ácido acetil salicílico en 1829 los AINE han sido utilizados en la medicina humana y han sido aceptados como relativamente seguros al grado de venderse sin prescripción médica [1] y como consecuencia de ello el consumo ha sido mayor.

La alta demanda de los mismos ha generado contaminación, consecuencia tanto del desecho humano biológico como de la inadecuada forma de deshacerse de los medicamentos una vez caducados ha contribuido a considerarlos como contaminantes emergentes. Lo anterior exhibe la necesidad de desarrollar y mejorar métodos de cuantificación y determinación de los mismos; así como de sus posibles productos de degradación.

Al ser medicamentos de consumo cotidiano es indispensable conocer las propiedades de los mismos, sin embargo, la información es limitante; ya que no se encuentra reportada la estabilidad química de los mismos, existe discrepancia en la información presentada por distintos autores, aunado a ello si bien las empresas farmacéuticas han desarrollado diversos medios que mejoran la calidad de los fármacos; asegurando la estabilidad o mejorando la eficacia de los mismos por poner un ejemplo, se cuenta con escasa información con respecto a la interacción química que existe entre los medicamentos y los diversos compuestos que ocupan para mejorar el producto.

Es por ello que el presente trabajo tiene como objetivo colaborar con el estudio de las propiedades fármacos de uso muy común cómo lo son Diclofenaco y Acetaminofén, así como de la interacción que presenta con surfactantes o ciclodextrinas; y poder proponer un método de cuantificación del mismo.

2. Antecedentes

En la actualidad los antiinflamatorios no esteroideos denominados (AINE) son la piedra angular en el de numerosas enfermedades convirtiéndose en el grupo terapéutico más utilizado alrededor del mundo. Solamente en Estados Unidos se generan cerca de 70 millones de prescripciones anualmente, hecho atribuible a su importante papel como agentes analgésicos, antipiréticos y antiinflamatorios [2].

Los antiinflamatorios no esteroideos pueden clasificarse de acuerdo a su estructura química en tres grupos: ácidos, no ácido y otros. Dentro del grupo de ácidos pueden dividirse en enólicos y carboxílicos. Como ejemplo de cada grupo se tiene: oxicams dentro de los enólicos, diclofenaco y naproxeno en ácidos carboxílicos, nimesulida en no ácidos y acetaminofén en otros [3].

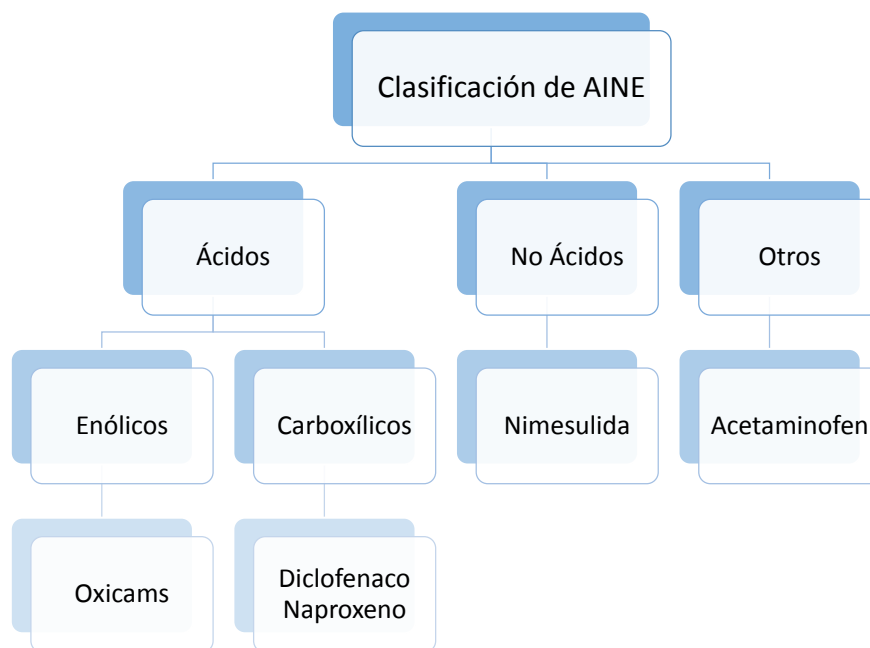


Figura 2.1. Clasificación de antiinflamatorios de acuerdo a su estructura química.

En general la acción de los antiinflamatorios no esteroideos se basa en la inhibición de la enzima ciclo-oxigenasa (COX) mediada por la producción de las prostaglandinas, la cual presenta dos isoformas: COX-1 y COX-2. La COX-1 es constitutiva mientras que la

COX-2 es inducida. Los AINES tradicionales inhiben de manera no selectiva la actividad enzimática de las dos isoformas. Los antiinflamatorios pueden inducir la apoptosis de una serie de líneas celulares de cáncer como el de colon, de mama, de próstata, de estómago, etc. y tienen un papel sinérgico en la actividad de ciertos fármacos antitumorales; estas propiedades antitumorales de los antiinflamatorios que se pueden atribuir a mecanismos de la COX-independientes de modular la proliferación celular y la muerte celular en las células cancerosas que carecen de la COX, a la apoptosis a través de la activación de las caspasas o a través de un mecanismo molecular desconocido, donde los radicales libres también pueden estar involucrados [4-6].

Por lo tanto para el estudio de los antiinflamatorios es importante considerar la determinación de la capacidad antioxidante.

2.1 Diclofenaco

El diclofenaco (DCF), figura 2.2 , (2 - [(2,6-diclorofenil) amino] fenilacetato) es considerado un AINE por sus propiedades analgésicas, antipiréticas y antiinflamatorias [7]. Es un analgésico que tiene una rápida acción y larga duración de acción es frecuentemente prescrito en la medicina clínica para el tratamiento de la artritis reumatoide, osteoartritis, reumatismo no articular y lesiones deportivas. Debido a esto se han implementado diferentes métodos para su cuantificación entre ellos algunos basados en cromatografía-espectrometría de masas, cromatografía líquida y de electronebulización [8] y electroquímicos [9-13]. Sin embargo, no se ha encontrado reportado estudios sobre la estabilidad del compuesto; existe desacuerdo en la información reportada por distintos autores y pocos estudios han informado justificadamente, sobre características relevantes del DCF como son el número de electrones que se pierden durante su proceso de oxidación electroquímica y en particular el valor de su coeficiente de difusión en medio acuoso, información importante que caracteriza a la molécula. La eliminación inadecuada de DCF ha contribuido a considerarlo como un contaminante emergente, por lo tanto toda información que conduzca a la identificación de DCF o a sus productos de oxidación es relevante [14,15]. Además dicha información podría ser importante para el diseño de un nuevo método para la cuantificación electroquímica de DCF [16].

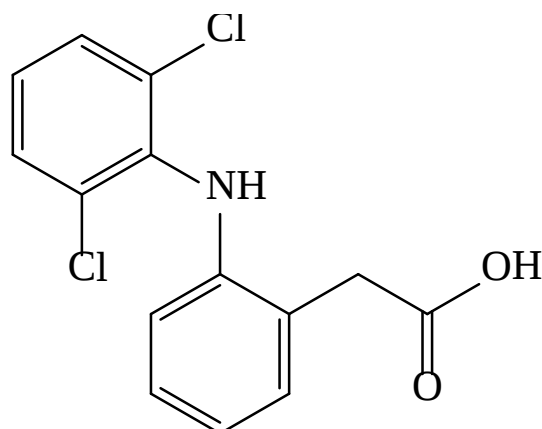


Figura 2.2. Estructura molecular de diclofenaco.

El DCF tiene un pKa reportado de 4.15 por potenciometría asociado al grupo carboxilo [8,17]. Sin embargo, en la literatura Arancibia determina 2 valores de pKa para DCF por espectrofotometría UV; el primero de 1.7 asociado a la desprotonación del grupo amino ($R_2NH_2^+$) y el segundo en 4.9 asociado al grupo carboxilo ($COOH$) [18]. Encuentra dichos valores de pKa al analizar el comportamiento de DCF a diferentes valores de pH; en presencia y ausencia de β -CD, ver figura 2.3. Atribuye la caída y subida de absorbancia (círculos vacíos) con respecto a pH a los valores de pKa. Para Arancibia existe otra especie de DCF a valores de pH ácido la cual se encuentra protonada, ver figura 2.4.

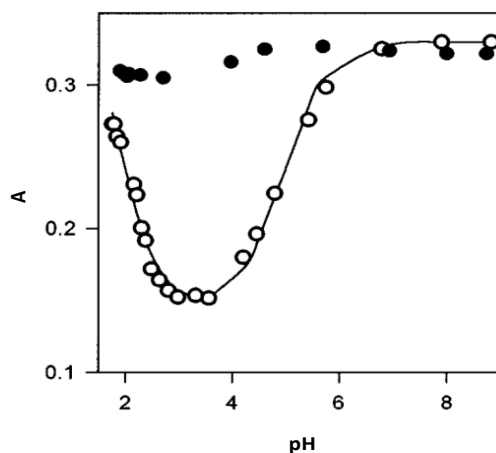


Figura 2.3 Influencia de pH a $\lambda = 273$ nm de (círculo vacío) DCF a $C_{DCF} = 3.59 \times 10^{-5}$ M y (círculo relleno) DCF- β CD a $C_{DCF} = 3.05 \times 10^{-5}$ M, $C_{CD} = 0.01$ M [18].

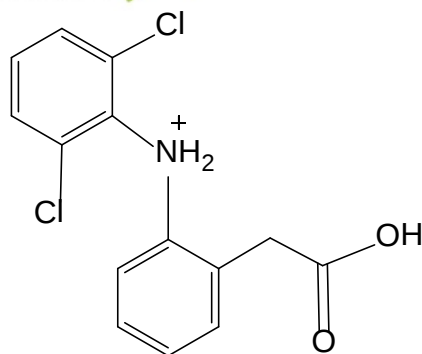


Figura 2.4 .Estructura molecular de diclofenaco protonado.

La discrepancia en los valores de pKa aunado a la falta de información con respecto a la estabilidad de la molécula, nos conduce a la necesidad de realizar el estudio.

2.2 Acetaminofén

El Acetaminofén (ACT) conocido comúnmente como paracetamol (N-acetil-p-aminofenol) es un analgésico y antipirético de uso común. Es el medicamento más utilizado después del ácido acetilsalicílico en muchos países como una alternativa a la aspirina y fenacetina. Es un ácido débil con pKa de 9.5 que se absorbe rápidamente y se distribuye después de la administración oral [19]. No tiene propiedades antiinflamatorias clínicamente significativas, a pesar de ello se incluye dentro de los AINE.

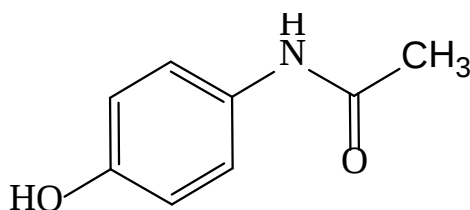


Figura 2.5. Estructura molecular de acetaminofén.

2.3 Agregados supramoleculares

Los agregados supramoleculares son entidades polimoleculares; dentro de los cuáles se encuentran micelas, microemulsiones, vesículas que resultan de la asociación espontánea de un número indefinido de componentes y también algunos compuestos macrocíclicos como : éter corona o ciclodextrinas [20]. La industria farmacéutica ha aprovechado estas propiedades para mejorar sus productos; proporcionando estabilidad, liberación prolongada así como solubilizantes para inyectables [21-23]. Otros autores han desarrollado el uso de los surfactantes como agentes de enmascaramiento para la determinación simultánea de neurotransmisores [24]; de igual manera, siguiendo el desarrollo de la investigación en la industria farmacéutica, se ha estudiado la influencia de cuatro agentes tensoactivos no iónicos sobre la absorción percutánea del diclofenaco de sodio a partir de geles de Carbopol con contenido de 40% de glicol de propileno [25].

Los tensoactivos forman espontáneamente agregados supramoleculares llamados micelas, i.e. agregados cuasi-esféricos con las cabezas hidrofílicas en la superficie, en contacto con el solvente, mientras que las cadenas hidrocarbonadas evitan exponerse al agua aglomerándose en el interior. El tamaño y la forma de las micelas quedan determinados por el balance entre el grado de hidrofobicidad de las colas y la repulsión de las cabezas polares. La concentración de surfactante por arriba de la cual comienzan a autoensamblarse los agregados, se conoce como concentración micelar crítica. Esta concentración depende de número de iones en solución, temperatura y tamaño del surfactante [21-23]. Para el presente reporte se ha trabajado con Bromuro de Cetiltrimetilamonio; surfactante catiónico de cadena de 16 carbonos.

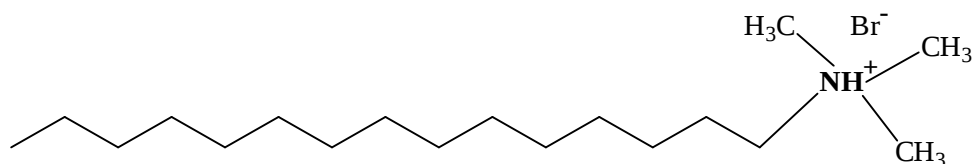


Figura 2.6. Estructura molecular de CTAB.

Las ciclodextrinas son oligosacáridos cíclicos que contiene varias unidades de sacarosa de 6,7 y 8, dependiendo del número de unidades son nombradas: α , β y γ Ciclodextrina

respectivamente. En una solución acuosa, la cavidad de la ciclodextrina ligeramente apolar está ocupado por las moléculas de agua las cuáles son energéticamente desfavorecidas (interacción polar-apolar), y por lo tanto puede ser fácilmente sustituido por "moléculas" huésped apropiada, que son menos polares que el agua. Lo que le permite formar complejos supramoleculares; nombre que se da a la asociación de la ciclodextrina conocido como "anfitrión" y la molécula que se incluye "huésped" [26].

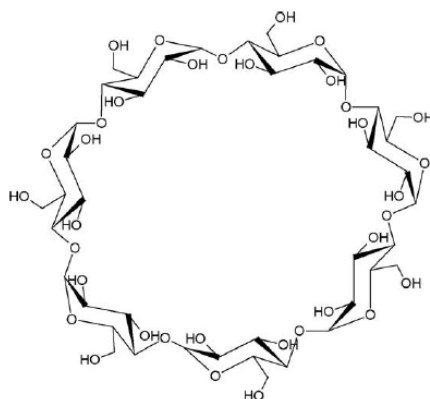


Figura 2.7. Estructura molecular de β -CD.

Ya que existe interacción entre diversos agregados moleculares y los fármacos; el objetivo del presente trabajo es contribuir con la caracterización de esa relación, destacando beneficios adicionales a los que exhibe la industria.

3. Hipótesis

Las propiedades fisicoquímicas de los antiinflamatorios cambian al formar complejos supramoleculares, por lo que se propone mejorar la estabilidad de los antiinflamatorios utilizando surfactante y la ciclodextrina, y así proponer métodos de cuantificación.

4. Objetivos

4.1 Objetivo General

Estudiar parámetros fisicoquímicos de antiinflamatorios no esteroideos en solución acuosa relacionados con la capacidad antioxidante, la formación de complejos supramoleculares y el diseño de métodos de cuantificación.

4.2 Objetivos Particulares

1. Evaluar la estabilidad de Diclofenaco a diferentes valores de pH.
2. Determinar la estabilidad de DCF con ayuda de química computacional.
3. Caracterizar el comportamiento electroquímico de DCF.
4. Caracterización del comportamiento espectroscópico de CTAB.
5. Determinar la constante de inclusión del complejo supramolecular entre Diclofenaco y β -CD experimentalmente.
6. Diseñar método de cuantificación para la determinación de Diclofenaco y Acetaminofén.

5. Metodología

Todos los reactivos son de grado analítico, Diclofenaco (Sigma), NaOH (J.T. Baker), ácido clorhídrico (J.T. Baker) y sales de fosfatos (J.T. Baker); las soluciones fueron preparadas con agua desionizada con un equipo Milli-Q (Millipore) con resistividad 18.2 M Ω cm.

El potenciómetro utilizado pH/Ion Analyzer (METTLER TOLEDO). Durante el experimento las soluciones de DCF en la celda fueron sometidas a atmósfera de Nitrógeno y protección de luz a temperatura constante de 25°.

Estudio Electroquímico

Se utiliza un potenciostato Epsilon Basi para el estudio electroquímico con una celda convencional de tres electrodos. El electrodo de pasta de carbono (EPC mostrando un área geométrica de 0.071 cm² como electrodo de trabajo) fue preparado a partir de polvo de grafito (Johnson Matthey 1 μ m, 99.9%) y aceite mineral (nujol) de Sigma-Aldrich con una relación de peso 1:1. La mezcla es depositada en un tubo de polietileno (10 cm de longitud y 3 mm de diámetro) que contiene un pistón; la punta del tubo se coloca sobre una superficie plana y la presión se ejerce manualmente con el pistón con el fin de eliminar totalmente el aire atrapado. El contacto eléctrico se realiza mediante un alambre de Pt soldado a un alambre de Cu externa, más detalles se pueden encontrar en Ramírez et. al. [27-28]. Como contra-electrodo se utilizó un alambre de platino (BAS MW-1032) y como electrodo de referencia Ag/AgCl saturado (BAS MF-2052). Los experimentos de macro - electrólisis se llevaron a cabo en una celda de electrólisis masiva (Princeton

Applied Research Kit 377/16 Stirring Synchronous Motor) utilizando como electrodo de trabajo una gasa de platino del BAS (un cilindro de 50 mm de alto y 39 mm de diámetro con un cable de conexión de 50 mm). Un tubo de vidrio conectado a un alambre de platino ((Princeton Applied Research Kit K0030) como electrodo de referencia y un electrodo de pasta de carbono como contra electrodo.

Estudio Espectrofotométrico

El estudio espectrofotométrico se lleva a cabo en un espectrofotómetro PerkinElmer Lambda 20, en una celda de cuarzo de 1 cm de longitud de paso óptico, en el intervalo de longitud de onda de 400nm a 200nm.

Estudio Teórico

Todos los cálculos electrónicos fueron realizados con el paquete de programas computacional Gaussian 09 [29]. Se usó el funcional M05-2X [30] para las optimizaciones de geometría y los cálculos de frecuencia, junto con el conjunto de funciones de base 6-311+G(d,p) y el modelo de solvatación continuo basado en la densidad (SMD) [31], utilizando agua como solvente. Para la obtención de espectros se utilizó el funcional CAM-B3LYP. Los mínimos locales fueron identificados por la ausencia de frecuencias imaginarias. Se incluyeron correcciones termodinámicas a 298.15K en el cálculo de las energías relativas. Todos los datos de termoquímica son reportados usando el estado estándar 1M.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA *Iztapalapa*



Interdisciplina en evolución

ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

Estabilidad de Diclofenaco

6.1 Estabilidad de DCF

Cómo se ha mencionado anteriormente debido a la falta de información reportada con respecto a la estabilidad de DCF y a la importancia de la misma; se lleva a cabo el estudio de estabilidad en diferentes condiciones.

En la figura 6.1 se presenta el Diagrama de Zonas de Predominio (DZP) para DCF, como se mencionó con anterioridad el DCF presenta un pK_a en 4.15 [8], Se decide tomar este valor en primera instancia debido a que es el valor más reportado dentro de la literatura. De esta manera a valores de pH menores a pH 4 predomina la especie protonada (DCFH) y a valores mayores la especie desprotonada (DCF).



Figura 6.1. DZP en escala de pH para la molécula de DCF construido bajo la metodología propuesta por Rojas-Hernández et al. [32-35].

Para encontrar las condiciones óptimas de trabajo se evalúa la estabilidad de ambas especies de DCF a pH 1 y pH 7 para asegurar que predomine la especie DCFH y DCF⁻ respectivamente.

6.1.1 Estabilidad pH 1

Se evalúa la estabilidad de la especie DCFH en diferentes condiciones, como se muestra a continuación.

En la figura 6.2 se muestra el espectro de absorción de la especie DCFH para una solución 0.5 mM en cloruros 0.1 M, el cual presenta un máximo de absorbancia en 273 nm y alrededor de 220 nm puede apreciarse un hombro muy pequeño no muy definido.

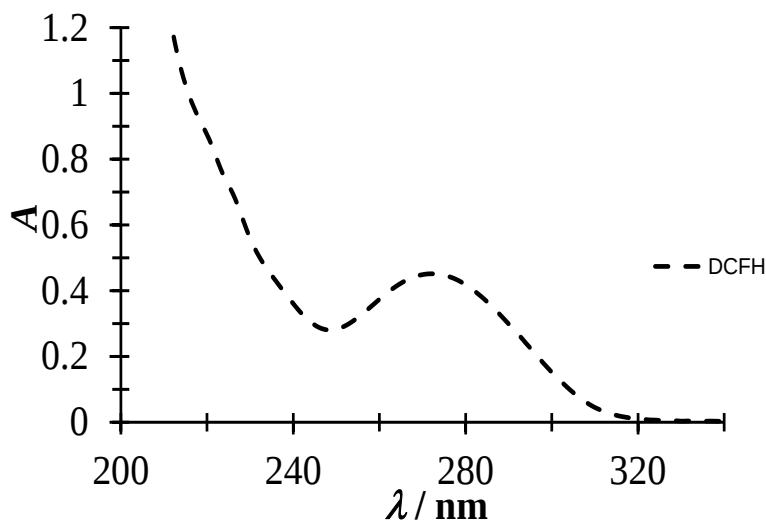


Figura 6.2. Espectro de absorción de DCF 0.5 mM a pH 1.5 en HCl 0.1 M

Con el fin de evaluar la estabilidad del fármaco se obtienen los espectros de absorción de la solución a diferentes tiempos como se muestra en la siguiente figura, la absorbancia máxima disminuye conforme pasa el tiempo por ello los espectros aparecen cada vez más abajo del obtenido al “tiempo cero” nombrando así al primer espectro registrado una vez preparada la solución que se analiza.

Para observar mejor el comportamiento del sistema en estas condiciones, en el inserto de la figura 6.3 se observa una gráfica del porcentaje de absorbancia que se mantiene con respecto a la absorbancia del “tiempo cero” en función del tiempo, cabe mencionar que el primer espectro obtenido se considera como si fuera el 100% de la muestra y por lo tanto para este sistema en 30 minutos se conserva sólo el 50%.

Esta pérdida de absorbancia sugiere que la especie no permanece estable bajo las condiciones de trabajo, lo anterior es muy importante ya que antes de trabajar con el compuesto es indispensable saber si la especie se mantiene en el tiempo o si se ve afectada por agentes externos.

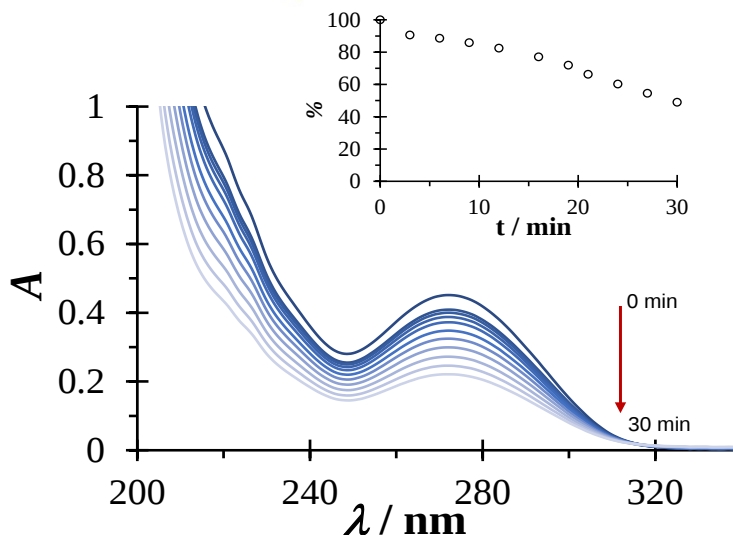


Figura 6.3. Espectros de absorción de DCF 0.5 mM a diferentes tiempos a pH 1.5 en HCl 0.1M.

Para intentar encontrar la causa de la inestabilidad de la especie se propuso realizar el experimento cuidando el sistema de agentes externos tales como: luz, oxígeno, temperatura. En la figura 6.4 se muestra el gráfico de porcentaje de absorbancia que se mantiene con respecto a la absorbancia del “tiempo cero” en función del tiempo comparando el experimento en dónde se protege al sistema y en donde no se consideran esos cuidados. No existe un cambio drástico sin embargo cuando se protege al sistema de agentes externos los valores de absorbancia se mantienen un poco más arriba que cuando se tienen los cuidados.

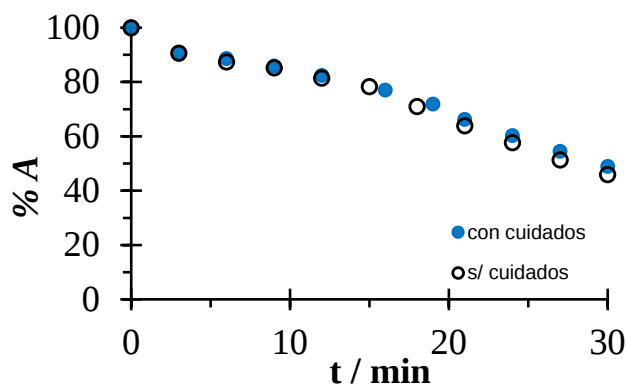


Figura 6.4. % de Absorbancia en función del tiempo para la especie DCFH en HCl 0.1 M

Pensando que el medio en el que se trabaja pudiera afectar la estabilidad de la especie se evalúa la estabilidad de la especie DCFH en percloratos 0.1 M pH 1.5 siguiendo el mismo procedimiento que en el caso anterior.

En la figura 6.5 se muestra el espectro de absorción de la especie DCFH en HClO_4 0.1 M, presenta máximo de absorción den 273 nm y un pequeño hombro no muy definido alrededor de 220 nm. Es importante mencionar que no se observa un cambio apreciable en el espectro por efecto del medio.

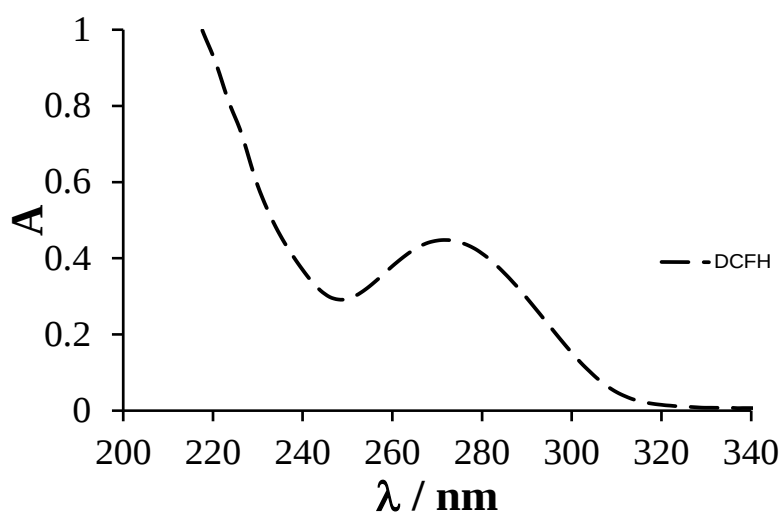


Figura 6.5. .Espectro de absorción de DCF 0.5 mM a pH 1.5 en HClO_4 0.1M

Para evaluar si la estabilidad de la especie se ve afectada por el medio se obtienen los espectros de la solución a diferentes tiempos los cuales se muestran en la figura 6.6 la absorbancia a 273 nm disminuye considerablemente conforme transcurre el tiempo; en el inserto de la figura se presenta el porcentaje de absorción que se pierde con respecto a la muestra inicial y para los 30 minutos que se monitorea la solución se conserva el 65% de la muestra, comparado con el experimento en cloruros se conserva 15% más.

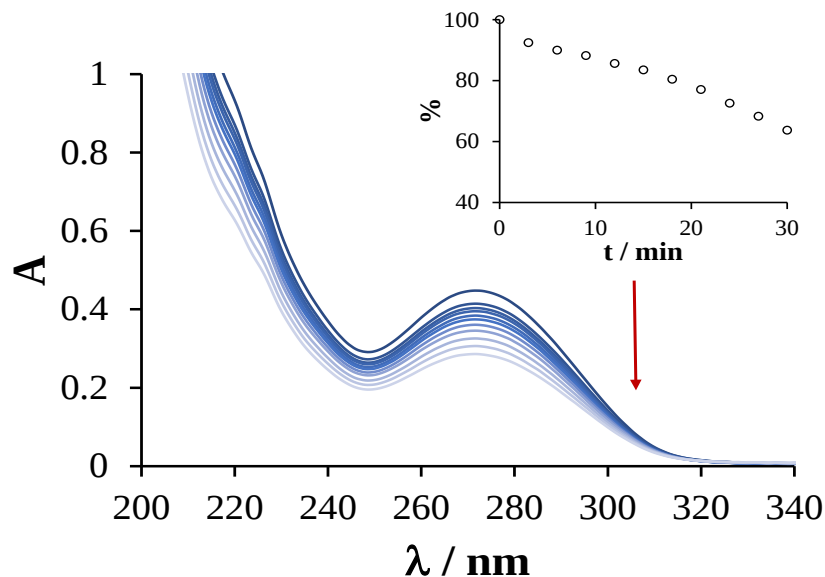


Figura 6.6. Espectros de absorción de DCF 0.5 mM a diferentes tiempos a pH 1.5 en HClO_4 0.1M.

A partir del experimento anterior se considera que trabajar en percloratos es una buena opción para mantener por mayor tiempo la especie DCFH estable, aunado a eso se sabe que los percloratos difícilmente forman complejos con otras especies lo que lo hace aún más atractivo.

También se evalúa la estabilidad de la especie DCFH en Fosfatos pH 1.5 en la figura 6.7 se muestra el espectro de absorción para la solución el cual presenta un máximo de absorción en 273 nm y de la misma manera un pequeño hombro en 220nm, nuevamente no se aprecia cambio notable en el espectro de absorción.

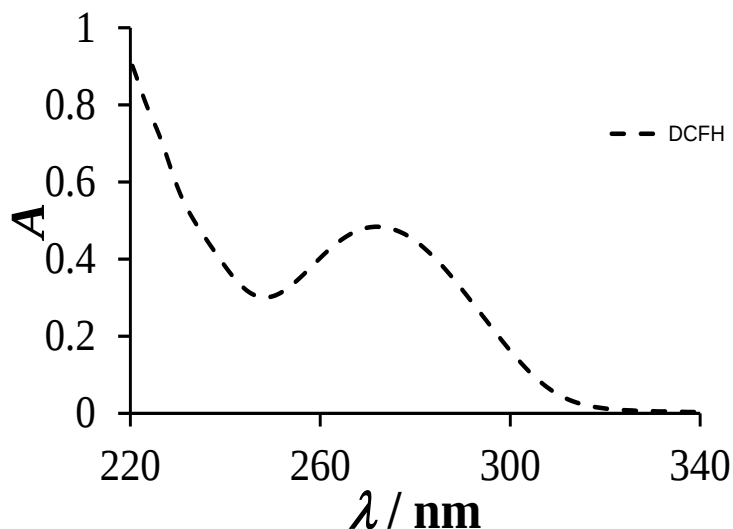


Figura 6.7 .Espectro de absorción de DCF 50 μ M pH 1.5 en Fosfatos 0.1 M

En la figura 6.8 se superponen los espectros de absorción para la especie DCFH en diferentes medios, sólo se evidencia que no existe cambio con respecto al espectro de absorción a excepción que para cuando la especie se estudia en Fosfatos el espectro que se obtiene es poco mayor que con los otros iones.

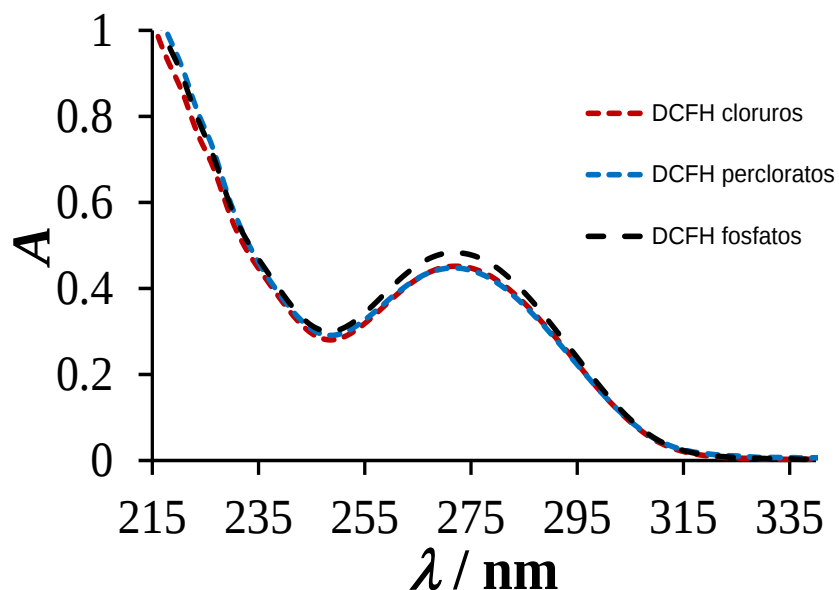


Figura 6.8 .Espectros de absorción de la especie DCFH a pH 1.5 en diferentes iones.

Sin embargo el cambio es evidente en el estudio de estabilidad ya que como se muestra en la figura 6.9 la absorbancia máxima sigue disminuyendo considerablemente y como se observa en el inserto de la figura para este medio, sólo se conserva el 30% de la muestra inicial durante los 30 minutos, que de los iones estudiados hasta el momento ha sido el que muestra menor estabilidad para la especie DCFH.

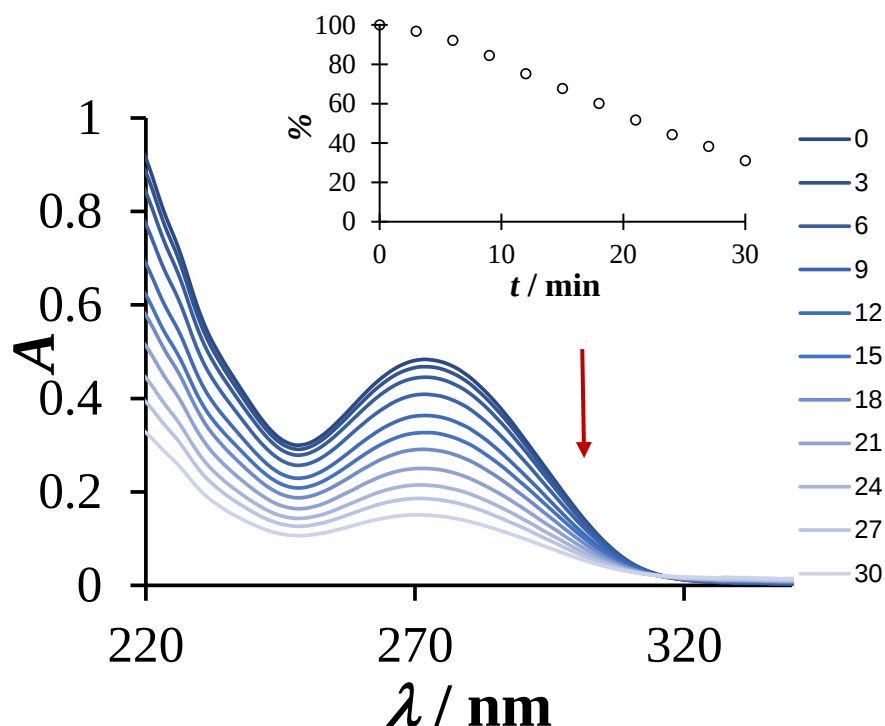


Figura 6.9. Espectros de absorción de DCF 0.5 mM a diferentes tiempos a pH 1.5 en H_3PO_4 0.1M.

Con el fin de observar otra propiedad química de la molécula, siguiendo el mismo procedimiento se evalúa la estabilidad haciendo uso de la técnica electroquímica Voltamperometría Cíclica (VC).

En la siguiente figura (6.10) se muestra el VC (línea punteada) característico para la especie DCFH, se inicia el barrido en potencial de corriente nula hacia potenciales positivos en donde se presenta un pico anódico irreversible en 0.82 V al invertir el sentido del barrido se observan dos picos catódicos como producto de la oxidación en 0.64 y 0.30 V. El VC (línea continua) es el blanco del medio HCl 0.1 M el cual no presenta ningún proceso en la venta de potencial de trabajo.

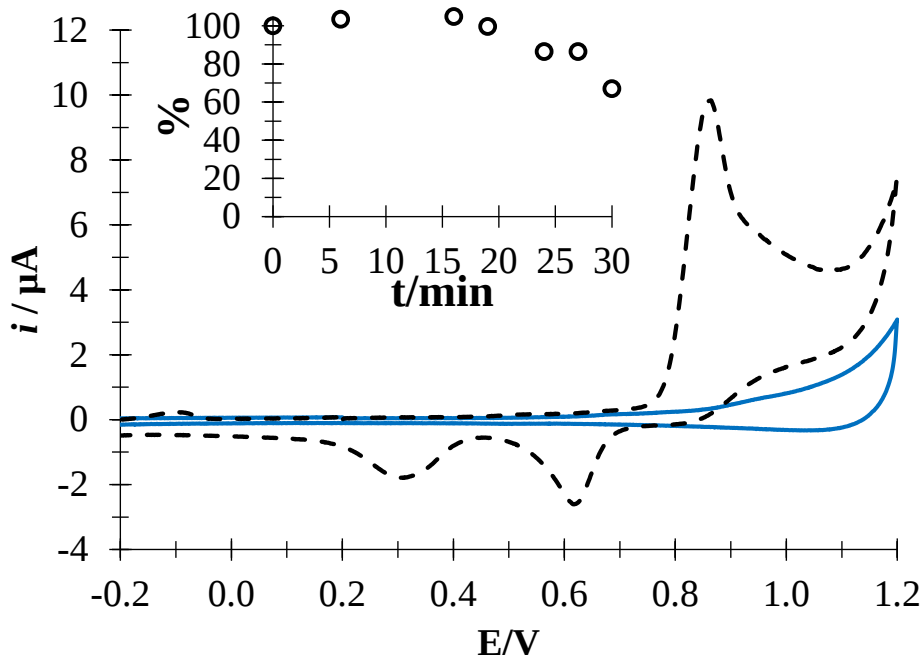


Figura 6.10. VC de la especie DCFH en HCl 0.1 M pH 1.5, EPC vs Ag/AgCl a 0.1 V s^{-1}

Se obtienen varios VC's durante 30 minutos, siguiendo la intensidad del pico anódico en función del tiempo; en el inserto de la figura se muestra el gráfico de porcentaje de corriente de pico anódico que se mantiene con respecto a la intensidad del pico anódico del VC del "tiempo cero", para los 30 minutos del experimento se conserva el 60% de la muestra. Este resultado coincide con la respuesta obtenida por el método espectrofotométrico.

6.1.2 Estabilidad pH 7

De la misma manera que se lleva a cabo el estudio de la estabilidad para la especie protonada, se realiza para la especie aniónica (DCF^-). Se monitorea la estabilidad de la especie DCF^- en cloruros 0.1 M durante 30 minutos, obteniendo el espectro de absorción a diferentes tiempos, en la figura 6.11 se muestra el espectro de absorción del "tiempo cero" para la solución el cual presenta un máximo de absorción en 275 nm.

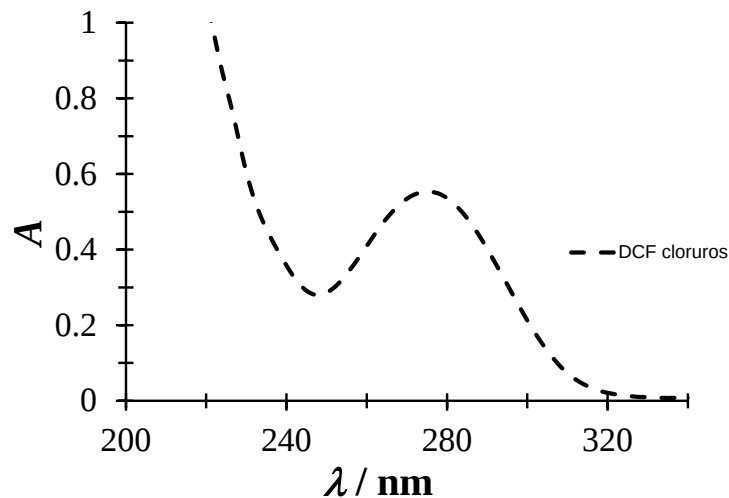


Figura 6.11 .Espectro de absorción de DCF 0.5 mM en NaCl 0.1 M pH 7.

En la figura 6.12 se muestran los espectros obtenidos a diferentes tiempos y como se observa el resultado es contrario para esta especie, los espectros se encuentran prácticamente superpuestos lo que puede apreciarse mejor en el inserto de la figura en dónde el porcentaje de absorbancia que se mantiene en función del tiempo se mantiene en 100% durante los 30 minutos del experimento.

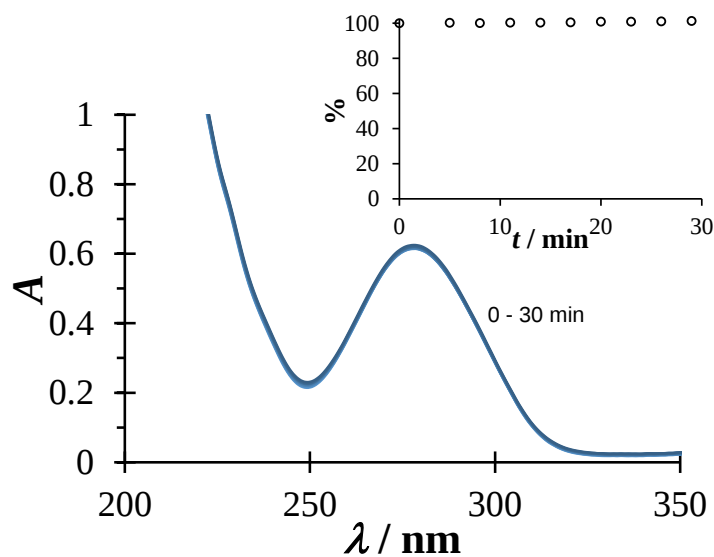


Figura 6.12. Espectros de absorción de DCF 0.5 mM a diferentes tiempos a pH 7 en NaCl 0.1M.

Para esta especie también se evalúa el comportamiento del sistema cuando se protege de agentes externos en diferencia de cuando no se hace, en la figura 6.13 se muestra el gráfico del porcentaje de absorbancia que se mantiene en función del tiempo para ambos casos.

Se observa que la absorbancia para el experimento en donde se protege al sistema de agentes externos permanece por arriba y se mantiene constante, por lo anterior se sugiere mantener el sistema protegido de luz, oxígeno y temperatura constante.

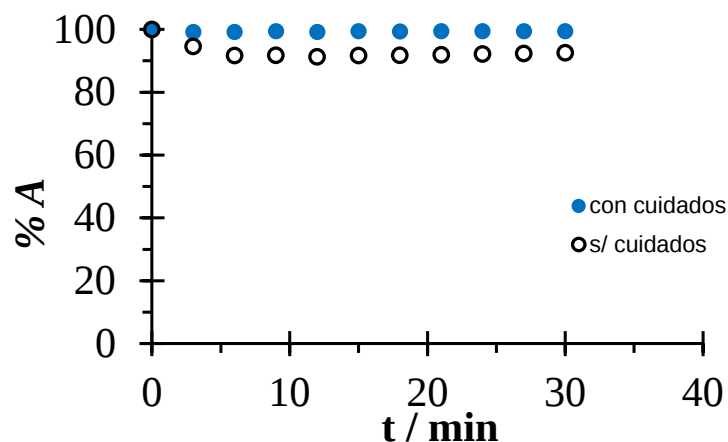


Figura 6.13. % de Absorbancia en función del tiempo para la especie DCF^- en NaCl 0.1 M pH 7.

A pesar de que la especie aniónica se muestra estable en el tiempo para ser congruentes y poder realizar una mejor comparación con la especie neutra se evalúa la estabilidad de la especie DCF^- en percloratos. En la figura 6.14 se muestra el espectro de absorción para dicha especie en NaClO_4 0.1 M; presenta su máxima absorbancia en 275 nm al igual que en cloruros.

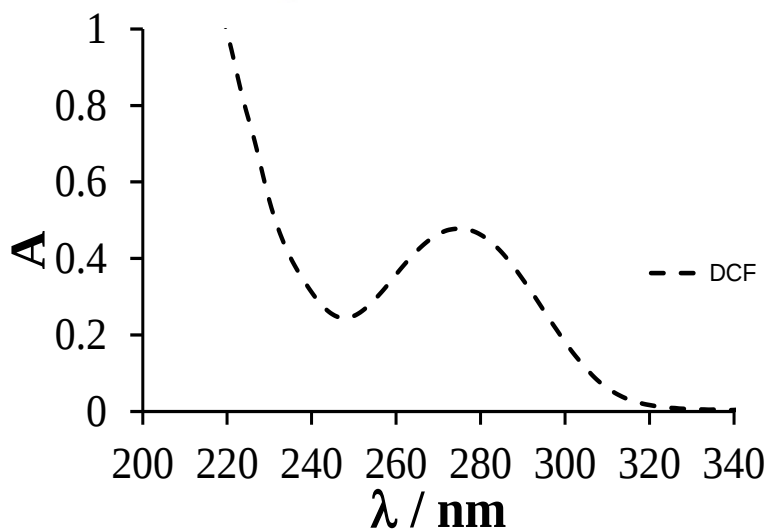


Figura 6.14. Espectro de absorción de DCF 0.5 mM pH 7 en NaClO_4 0.1 M

En la figura 6.15 se muestra el grupo de espectros obtenidos a diferentes tiempos para la especie DCF^- en percloratos, puede observarse sólo un espectro debido a que se encuentran superpuestos lo que se corrobora en el inserto de la figura en el cual la absorbancia que se mantiene, muestra una tendencia en 100%.

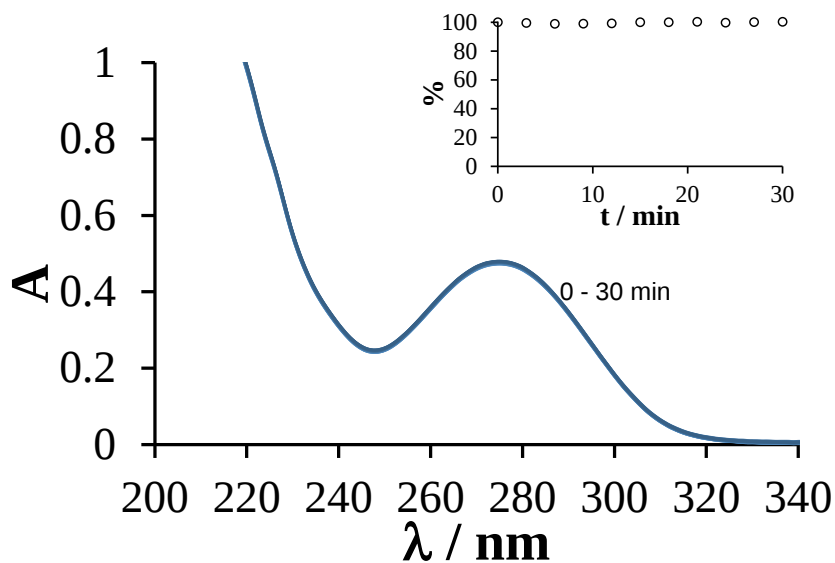


Figura 6.15. Espectros de absorción de DCF 0.5 mM a diferentes tiempos a pH 7 en NaClO_4 0.1 M.

Por último para terminar con la comparación se evalúa la estabilidad de la especie DCF^- en fosfatos 0.1 M, ver figura 6.16. El espectro de absorción presenta al igual que en

medios anteriormente estudiados su absorbancia máxima en 275 nm. Hasta aquí no se ha observado cambio alguno con respecto a los espectros.

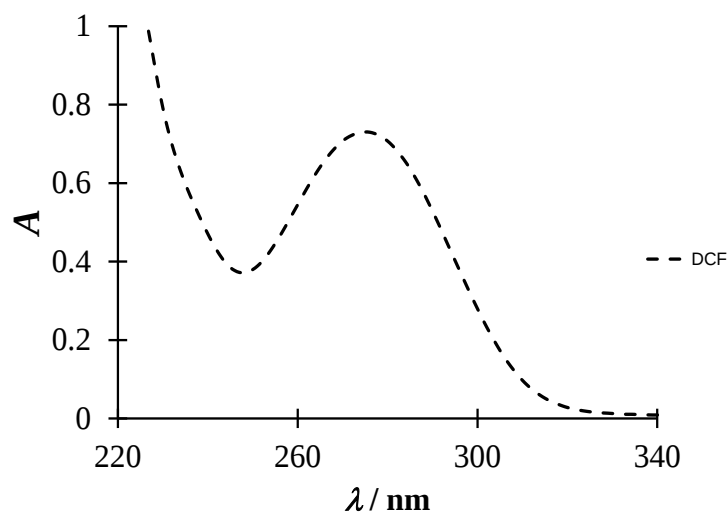


Figura 6.16. Espectro de absorción de DCF 0.5 mM a pH 7 en fosfatos 0.1 M.

Para el estudio de estabilidad en fosfatos para la especie DCF^- se muestran los espectros obtenidos a diferentes tiempos durante 30 minutos en la figura 6.17 y nuevamente se observa que los espectros se encuentran superpuestos, así como en el inserto de la figura se muestra que el porcentaje de absorbancia se mantiene en 100%. Se puede concluir que la especie DCF^- es estable a pH 7 y en los medios estudiados.

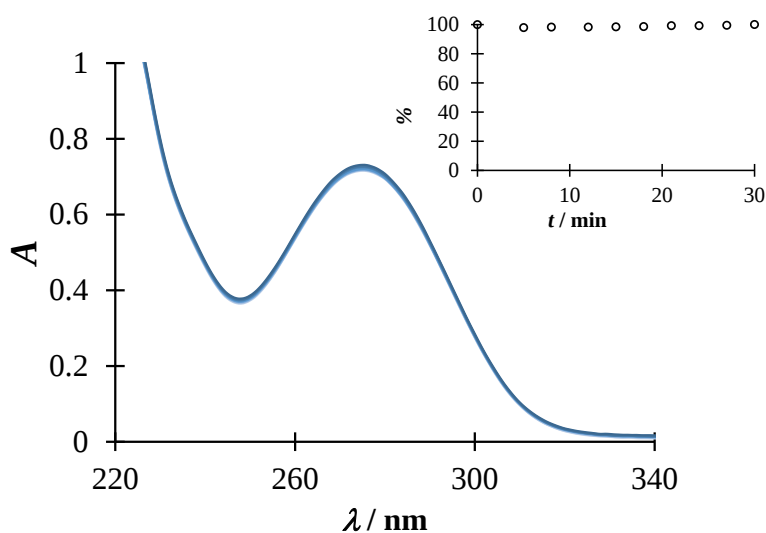


Figura 6.17. Espectros de absorción de DCF 0.5 mM a diferentes tiempos a pH 7 en fosfatos 0.1M.

Para evaluar desde otro enfoque el comportamiento de la especie DCF^- se obtienen VC de la especie en NaCl 0.1 M a diferentes tiempos durante media hora. En la figura 6.18 se muestra el VC (línea punteada) de la especie en estudio el cual presenta un pico de oxidación irreversible en 0.70 V y dos picos de reducción como producto de su oxidación en 0.24 y 0.02 V respectivamente. Se muestra el VC del blanco del medio (línea continua) el cual no muestra ningún proceso en la ventana de potencial de trabajo.

En el inserto de la figura 6.18 se muestra el porcentaje de intensidad de corriente al “tiempo cero” la tendencia del gráfico se mantienen en 100% . Comprobando por otra técnica la estabilidad de la especie DCF^- .

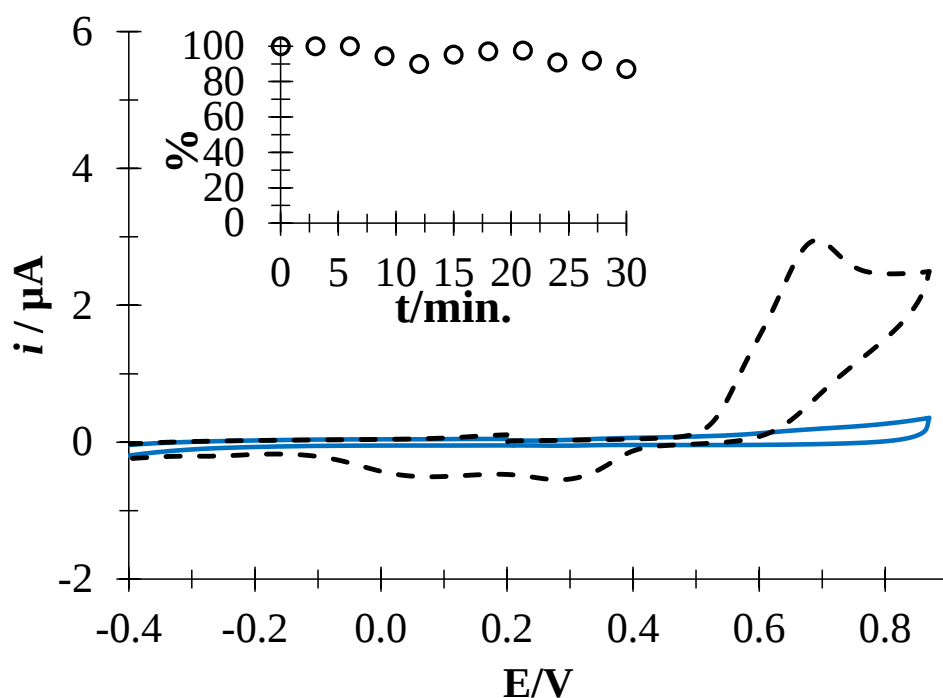


Figura 6.18. VC de la especie DCF^- en NaCl 0.1 M pH 7, EPC vs Ag/AgCl a 0.1 V s^{-1} .

6.1.3 CTAB

Con el fin de mejorar la biodisponibilidad de los fármacos, las industrias farmacéuticas han ocupado diversos sistemas denominados agregados moleculares que proporcionan al fármaco estabilidad evitando así su descomposición, también brindan liberación prolongada lo que ayuda a mejorar su eficacia, de igual manera se ocupan en suspensiones o emulsiones para brindar solubilidad al fármaco así como en solubilizantes para el uso de inyectables [1, 20,21].

Por lo anterior se propone utilizar Bromuro de Cetiltrimetil amonio (CTAB) por sus siglas en inglés; un surfactante catiónico con cadena hidrocarbonada de 16 carbonos y un grupo amino cargado positivamente. Partiendo de la hipótesis que pudiera interactuar con el DCF electrostáticamente o que pueda incluirlo en la micela.

6.1.3.1 pH 1

Tratando de mejorar la estabilidad de la especie DCFH se utiliza CTAB 0.6 mM [26] concentración a la que esta reportado se encuentran ya las micelas en solución.

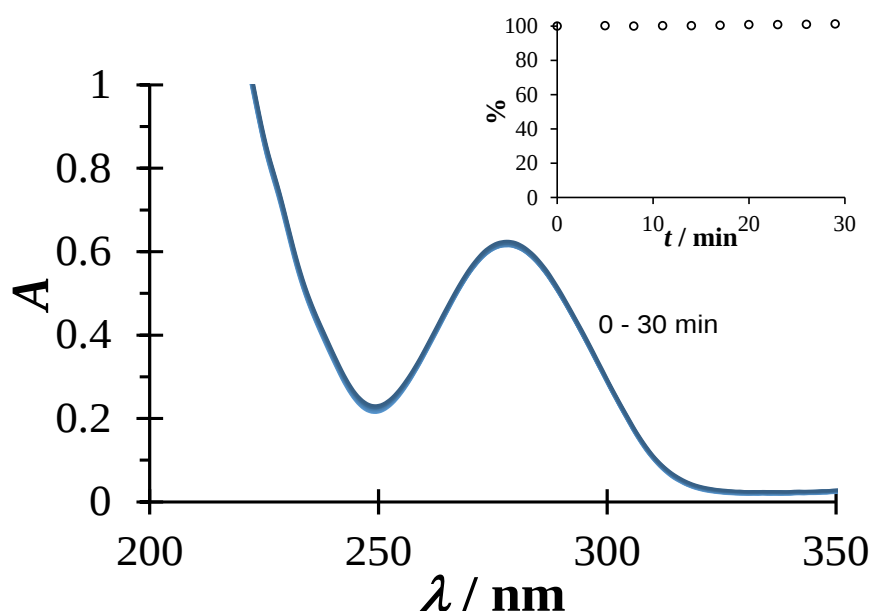


Figura 6.19 Espectros de absorción de DCF 0.5 mM a diferentes tiempos a pH 1.5 en HCl 0.1M en presencia de CTAB 0.6mM.

En la figura 6.19 se muestran los espectros de absorción obtenidos a diferentes tiempos durante 30 minutos para la especie protonada y puede observarse un solo espectro a diferencia de cuando no se encuentra presente el surfactante; ver figura 6.3. La especie se mantiene estable ya que la absorbancia no cambia, en el inserto de la figura se observa que se mantiene el 100% de la muestra, por lo tanto se concluye que la especie se mantiene estable en presencia de CTAB, el surfactante forma micelas las cuales pueden incluir el fármaco y de esta manera lo protege y se mantiene estable.

Es importante mencionar que el espectro de absorción de la especie en presencia de CTAB sufre un efecto batocrómico e hipercrómico con respecto al espectro de la especie sola. En la figura 6.20 se aprecia claramente el cambio del espectro por la presencia de CTAB. Cabe mencionar que el CTAB no presenta señal dentro del intervalo de longitudes de onda estudiados.

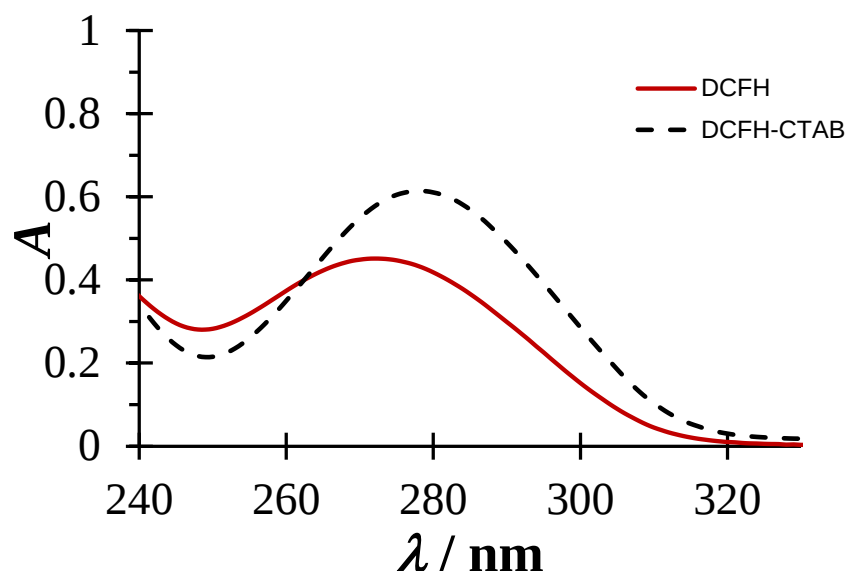


Figura 6.20. Espectros de absorción de la especie DCFH en presencia y ausencia de CTAB 0.6 mM en HCl 0.1M pH 1.5.

El máximo de absorbancia de la especie en presencia de CTAB (línea punteada) se encuentra en 278 nm mientras que para la especie DCFH sola es de 273 nm presenta un corrimiento batocrómico de 5 nm y un corrimiento hipercrómico de 0.23 de absorbancia.

Este tipo de efectos sugiere una interacción del fármaco con la micela del surfactante, ya que cambia el espectro de la especie DCFH indicando que la molécula ha sufrido cambios.

6.1.3.2 pH 7

El procedimiento también se lleva a cabo para la especie DCF^- , en la figura 6.21 se presentan los espectros de absorción para los diferentes tiempos, se encuentra superpuestos debido a que la absorbancia no cambia en el tiempo, en el inserto de la figura se muestra el que el porcentaje de absorbancia se mantiene en 100%.

La especie DCF^- es estable en ausencia y presencia de CTAB, sin embargo en presencia de CTAB el espectro de absorción cambia.

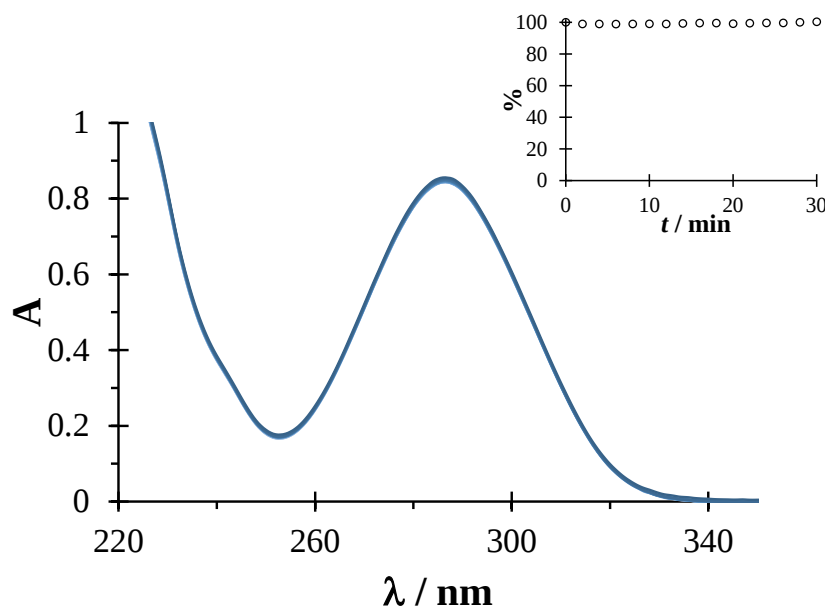


Figura 6.21. Espectros de absorción de DCF 0.5 mM a diferentes tiempos a pH 7 en HCl 0.1M en presencia de CTAB 0.6mM.

En la figura 6.22 se observan los espectros para la especie DCF^- en ausencia (línea continua) y presencia de CTAB (línea punteada), donde puede apreciarse el efecto batocrómico e hipercrómico del espectro por la presencia de CTAB en solución.

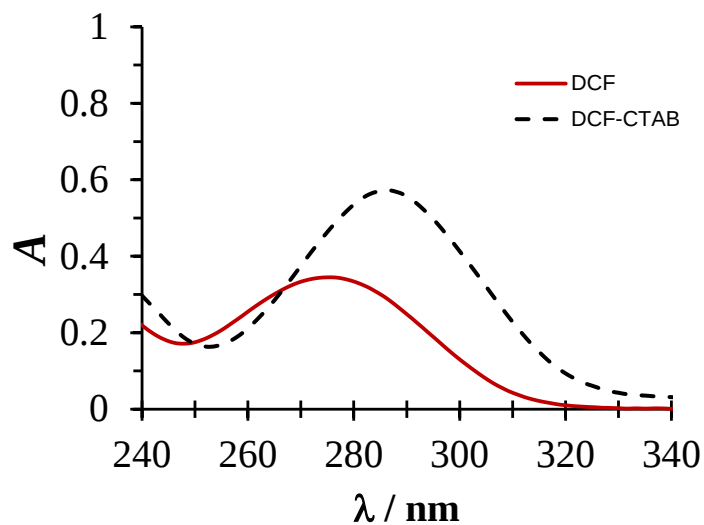


Figura 6.22. Espectros de absorción de la especie DCF^- en presencia y ausencia de CTAB 0.6 mM en NaCl 0.1M pH 7.

El máximo de absorción de la especie DCF^- en presencia de CTAB es 285 nm, se recorre 10 nm y aumenta 0.15 en absorbancia. Nuevamente se evidencia la interacción entre el fármaco y las micelas del CTAB.

Se evalúa la estabilidad para ambas especies del fármaco con ayuda de la técnica Voltamperometría Cíclica.

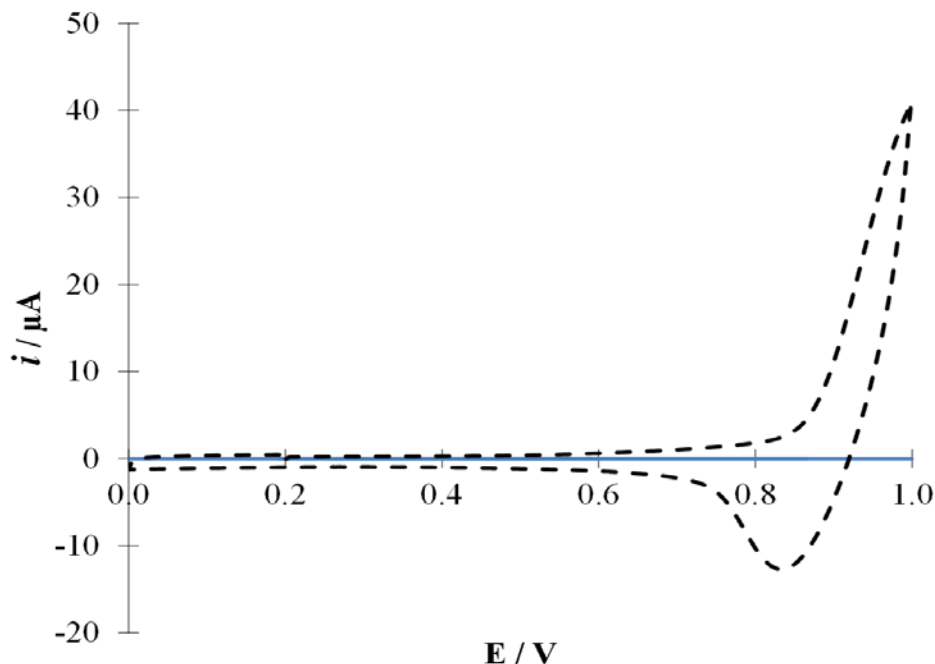


Figura 6.23. VC (línea continua) del blanco del medio y VC (línea punteada) del perfil de CTAB 0.6 mM en cloruros 0.1 M pH 7 a 0.1 V s^{-1} .

En la figura 6.23 se muestra el perfil del CTAB el cual no presenta ningún proceso en la ventana de potencial estudiada. La reducción que se observa es debido a la interacción del CTAB con el grafito del electrodo.

En la figura 6.24 se muestra el primer y último VC de la especie DCFH en presencia de CTAB, se aprecian superpuestos, en el inserto de la figura se observa que el porcentaje de corriente de pico anódico que se mantiene se encuentra en 100%, confirmando así la estabilidad de la especie midiendo otra propiedad del sistema por la presencia de CTAB.

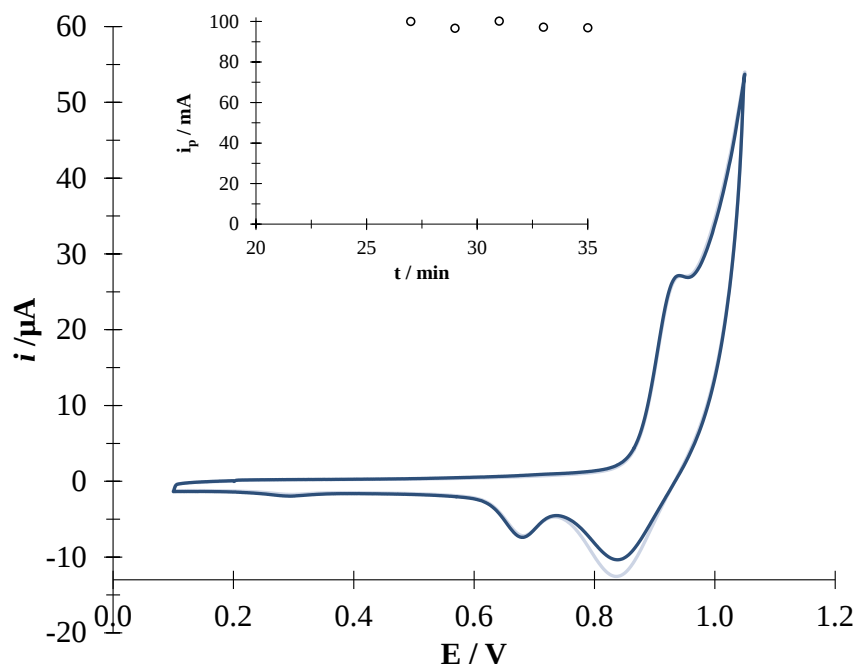


Figura 6.24 .VC de la especie DCFH en presencia de CTAB 0.6 mM en HCl 0.1 M, EPC vs Ag/AgCl a 0.1 V s^{-1}

El pico anódico para la especie DCFH en presencia de CTAB se movió a 0.94 V y ahora sólo se aprecia un pico de reducción 0.68 V. La intensidad de corriente del pico anódico aumenta considerablemente, casi el triple de la corriente para cuando el CTAB está ausente. Éste comportamiento puede atribuirse a que la especie DCFH puede incluirse dentro de la hemimicela formada en el electrodo.

Se evalúa la estabilidad de la especie DCF^- en presencia de CTAB, comprobando en la figura 6.25, que la especie sigue permaneciendo estable, el pico de oxidación se recorre hacia potenciales positivos quedando el potencial de oxidación en 0.83 V y se define más la intensidad de corriente la cual se triplica.

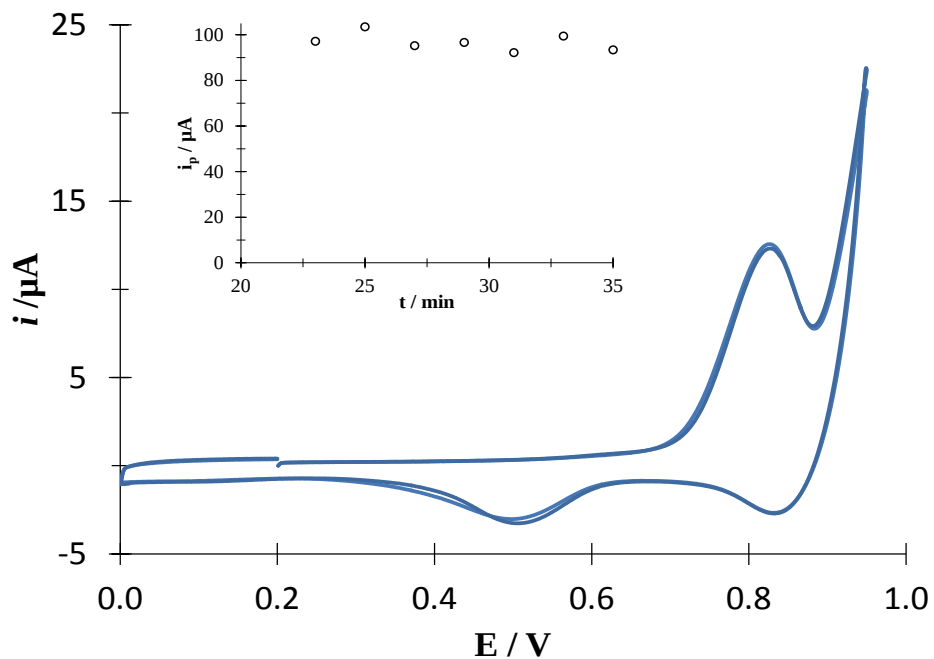
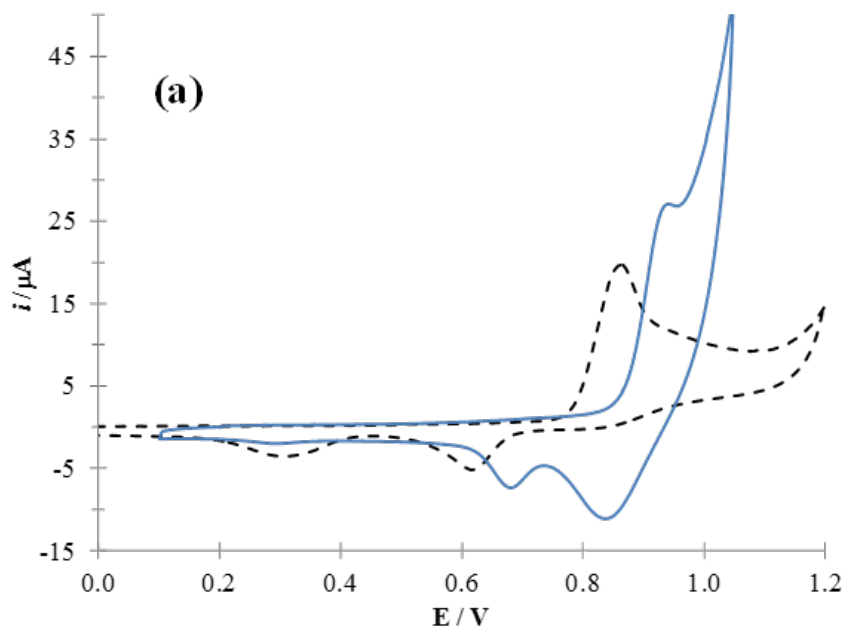


Figura 6.25 .VC de la especie DCF^- en presencia de CTAB 0.6 mM en NaCl 0.1 M, EPC vs Ag/AgCl a 0.1 V s^{-1}

En la figura 6.26 se presentan los VC's comparando la especie neutra y aniónica de la molécula de DCF en presencia y ausencia de CTAB.



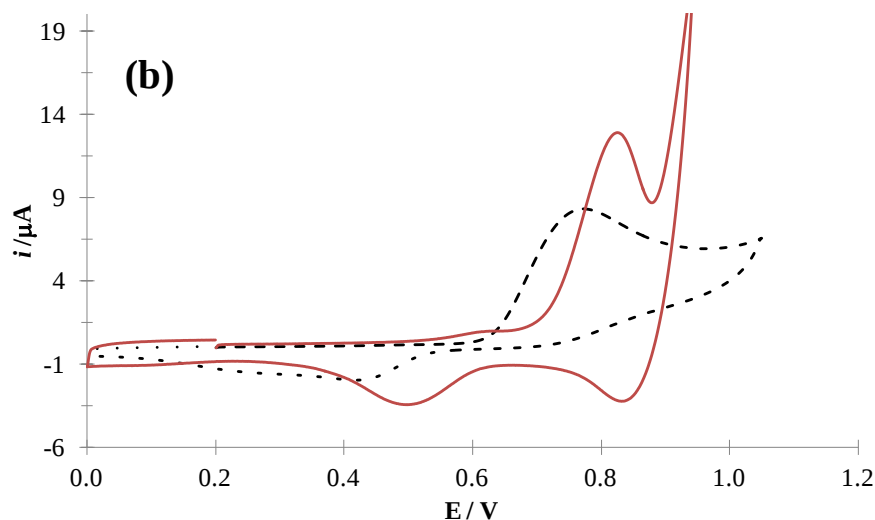


Figura 6.26. Comparación de VC's a 0.1Vs^{-1} sobre un EPC vs AgCl/Cl de: **(a)** DCF 1 mM, pH 1 y CTAB 0.6 mM (línea continua), ausencia CTAB (línea punteada) en HCl 0.1 M. **(b)** DCF 1 mM, pH 7 y CTAB 0.6 mM (línea continua), ausencia CTAB (línea punteada) en NaCl 0.1 M.

En la figura 6.26 (a) se muestra que el pico anódico de la especie neutra a pH 1 en presencia de CTAB se presenta en 0.937V y un pico catódico en 0.677 V asociado al pico anódico de la molécula del DCF, ya que el pico catódico presente en 0.873V está asociado al blanco del CTAB. Al no tener presente los dos picos catódicos de la molécula neutra de DCF en presencia de CTAB es posible asumir una interacción micelar del CTAB con la molécula de DCF, la cual puede estar protegiendo de degradación.

Es posible apreciar en la figura 6.26 (b) una mejoría del perfil debido a la interacción del CTAB con la especie DCF^- a pH 7, debido a que el pico anódico en presencia de CTAB se presenta 0.816V con 5 μA más en la intensidad de corriente. Al igual que a pH 1, se presenta el pico catódico asociado al blanco de CTAB y un pico catódico en 0.511V asociado al pico anódico de la molécula a pH 7.

Se ha demostrado la inestabilidad de DCF a pH ácidos y contrariamente la estabilidad del mismo para pH básicos. Sin embargo, como se ha mencionado anteriormente dentro de la literatura existe escasa información con respecto a las propiedades de DCF principalmente con respecto a la inestabilidad detectada en el presente trabajo.

Por tal motivo es relevante realizar la determinación de la constante de acidez de DCF haciendo evidente su inestabilidad.

6.1.4 Constante de acidez

Una de las caracterizaciones fisicoquímicas de mayor importancia es el cálculo de las constantes de acidez ya que éstas pueden ser un parámetro para el entendimiento del fenómeno de cuantificación química, la velocidad de reacción, la formación de las sales, la formación de complejos y el transporte iónico, así las propiedades ácido base influyen en la toxicidad, y las propiedades farmacéuticas de los compuestos orgánicos, la actividad biológica o el transporte iónico, este parámetro ayuda a entender la adsorción, distribución y transporte de un medicamento[36].

La estimación de las constantes de acidez se realizó de manera puntual [83]; primero ajustando el pH del blanco para poder preparar la solución de DCF 0.1mM. Para cada punto se tomó la lectura de pH registrando el espectro de absorción. Procurando siempre obtener el espectro de absorción en menos de un minuto después de que se preparara la solución de DCF. La información obtenida se alimentó al programa computacional SQUAD [37], para el cálculo de las constantes espectrofotométricas.

6.1.4.1 Cloruros

La historia de absorbancias registradas para la solución de DCF 0.1 mM en HCl 0.1 M que es llevada a pH básico adicionando NaOH y después se regresa al pH de inicio agregando HCl registrando el espectro de absorción en cada adición que se muestra en la figura 6.27. Se observa que los caminos de ácido a básico (ida) y de básico a ácido (regreso) no coinciden; sin embargo para valores de pH mayores a 6 la absorbancia permanece constante y muy parecida en ambos casos, caso contrario a valores de pH ácido donde la absorbancia registrada al inicio del experimento es de 0.8 mientras que al retornar es de 0.3.

Se exhibe la degradación de la especie neutra de DCF en pH ácido; la absorbancia no es la misma por el tiempo transcurrido durante el experimento.

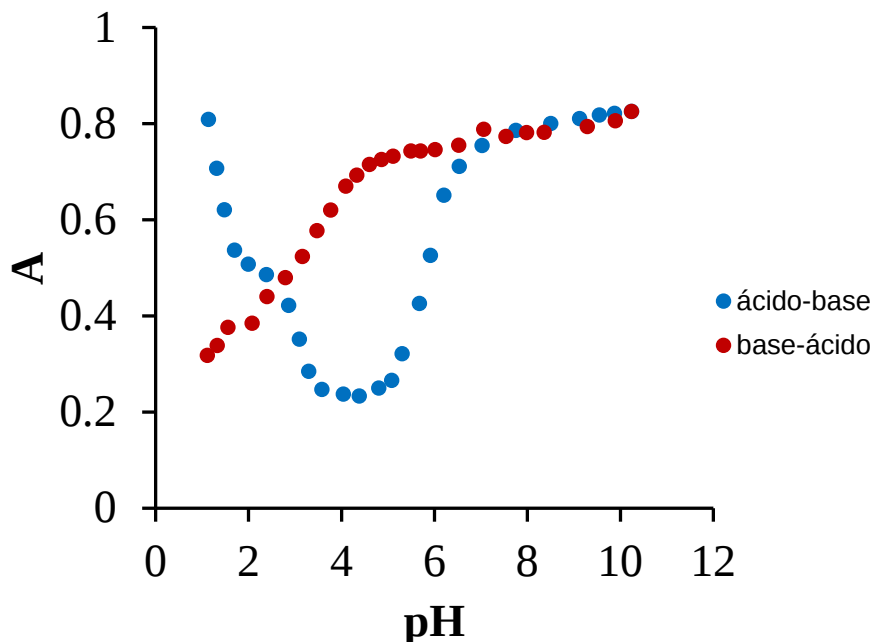


Figura 6.27. Historial de Absorbancias de DCF 0.1mM a 273 nm en cloruros 0.1M comenzando con especie protonada de DCF a diferentes valores de pH.

Cuando se comienza el experimento con la especie neutra a valores de pH básicos (ver figura 6.28) la absorbancia permanece constante sin embargo al regreso no se obtiene el mismo valor; se justifica el comportamiento debido a que durante el camino recorrido la solución es llevada a valores de pH ácido donde se ha evidenciado la especie es inestable y por la duración del experimento la molécula sufre cambios irreversibles.

Debido al comportamiento evidenciado de DCF es indispensable el desarrollo de un método para la determinación de la constante que sea confiable.

Se realiza la determinación de la constante de manera puntual, es decir para cada registro de un espectro de absorción se prepara una nueva solución, leyendo la muestra inmediatamente después de que se prepara la solución. Los resultados se presentan en la figura 6.29 donde se muestra la tendencia de las absorbancias a 273 nm de una solución de DCF 0.1 mM en cloruros 0.1M a diferentes valores de pH. El comportamiento de DCF analizado en la figura se considera confiable; debido a la manera en que se lleva a cabo el experimento; la absorbancia registrada no tiene historia y al ser obtenida en el menor tiempo posible muestra la absorbancia de la especie antes de ser descompuesta. De la figura 6.29 es evidente un cambio alrededor de pH 4, muy similar al de la literatura.

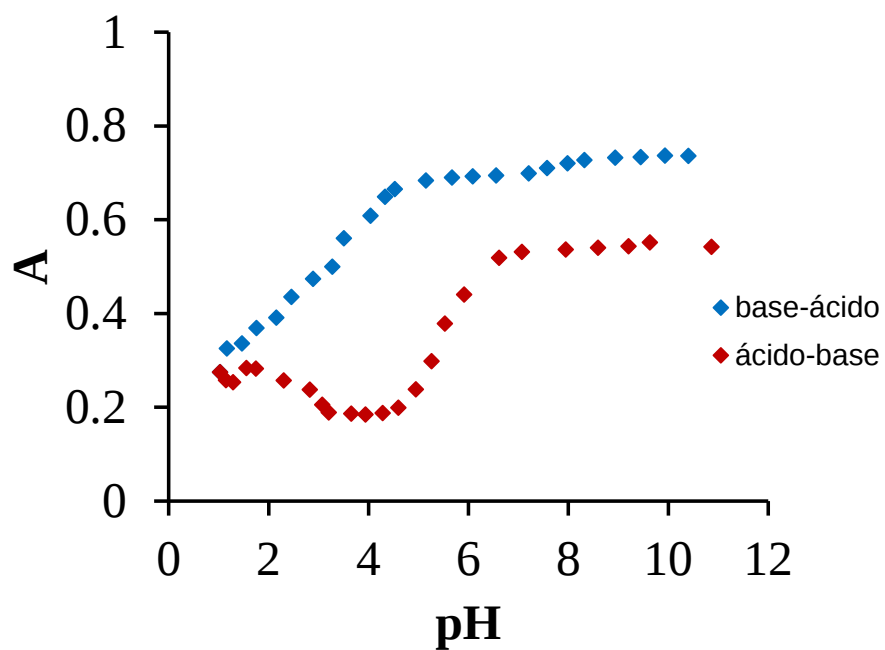


Figura 6.28. Historial de Absorbancias de DCF 0.1mM a 273 nm en cloruros 0.1M comenzando con especie aniónica de DCF a diferentes valores de pH.

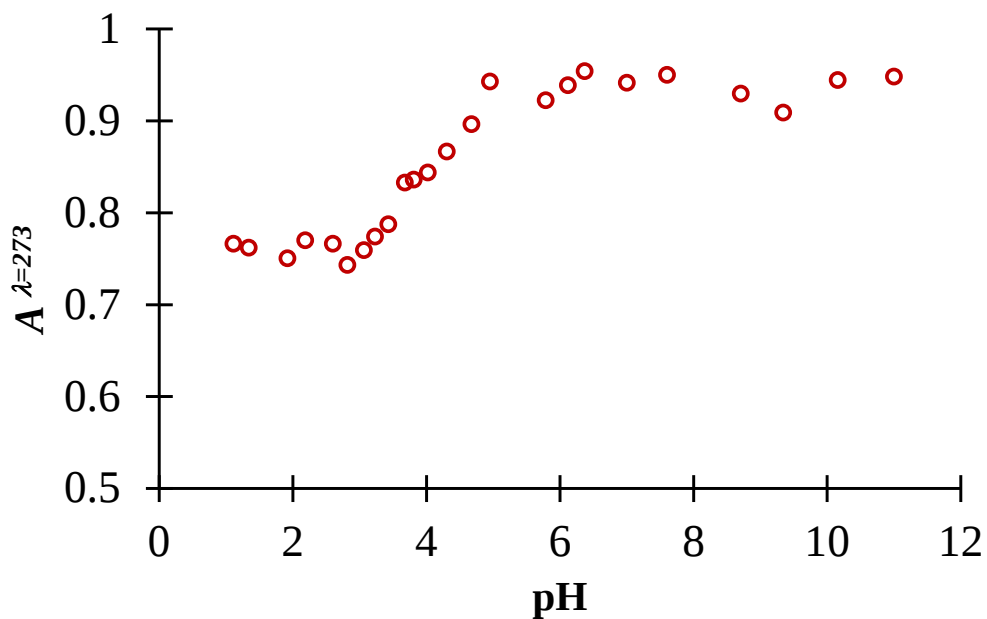


Figura 6.29. Absorbancias a 273 nm para DCF 0.1 mM en cloruros 0.1M a diferentes valores de pH.

Alimentando el programa computacional SQUAD se obtiene la constante de acidez para DCF en cloruros el cual se muestra en la Tabla 6.1.

Tabla 6.1 Constante de acidez obtenida a partir del programa SQUAD para 19 espectros de absorción y un intervalo de longitud de onda 220nm a 350nm.

Equilibrio	pKa $\pm \sigma$
DCFH $\leftrightarrow$ DCF ⁻ + H ⁺	4.055 $\pm$ 0.008

* 2,470 datos obtenidos U= 1.64x10⁻¹

Una vez refinada las constante de acidez de DCF y con los coeficientes de absorptividad obtenidos, se construyen los espectros teóricos los cuales ajustan con los obtenidos experimentalmente como se muestra en la figura 6.30.

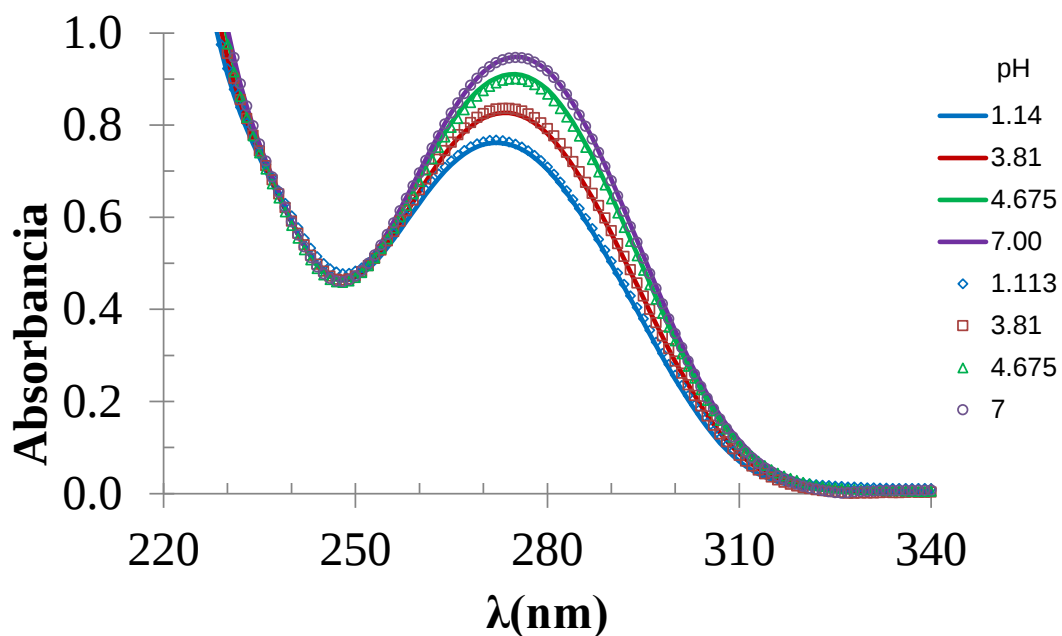


Figura 6.30. Espectros UV-Vis de DCF 0.1 mM en cloruros ajustados a partir de los datos calculados (línea) y comparados con los experimentales (marcador).

6.1.4.2 Percloratos

En la figura 6.31 se muestra el historial de diferentes registros de absorción para una solución de DCF 0.1 mM en HClO_4 0.1 M que fue llevada a través de diferentes adiciones de NaOH a pH básico (10.5) y la misma solución se lleva de regreso a pH ácido agregando HClO_4 0.1 M, obteniendo el espectro de absorción en cada adición. Es evidente que no es el mismo camino recorrido; para valores de pH básico la absorbancia a pesar del camino recorrido es la misma lo que no se puede decir para valores de pH ácido en donde al comenzar el experimento se registran absorbancias de 0.7 pero después de ir y regresar la absorbancia disminuye hasta 0.1.

El fenómeno pasado se ha demostrado anteriormente en el estudio de estabilidad para especie neutra de DCF. Sin embargo, partiendo de que la especie aniónica es estable se realiza un experimento análogo pero esta vez comenzado el recorrido a pH básico.

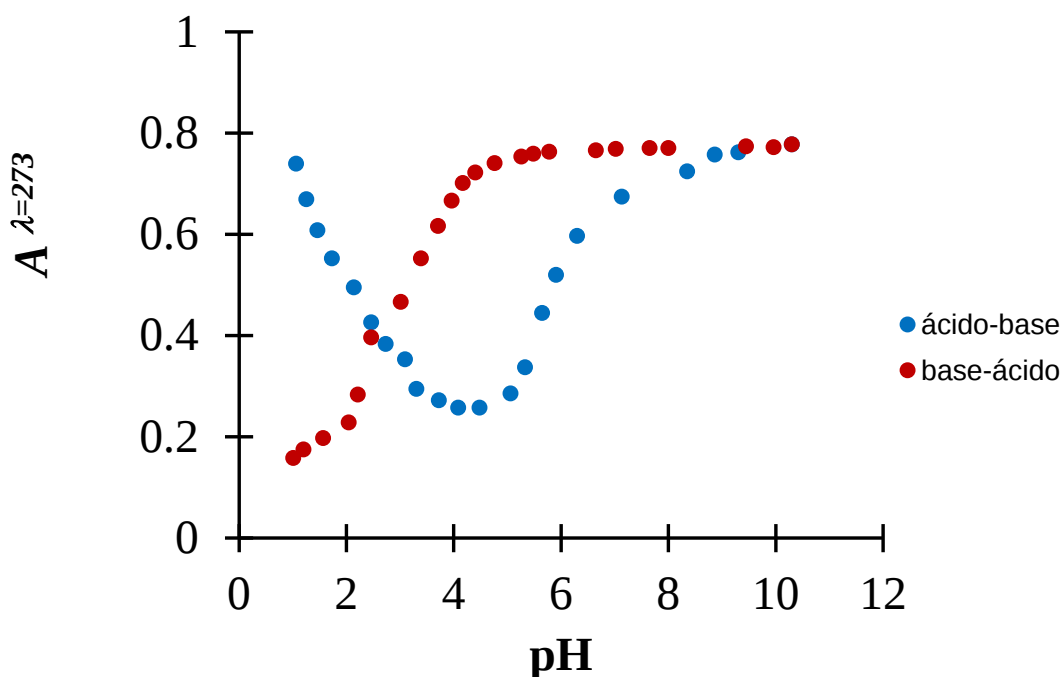


Figura 6.31. Historial de Absorbancias de DCF 0.1mM a 273 nm en percloratos 0.1 M comenzando con especie protonada de DCF a diferentes valores de pH.

El resultado se presenta en la figura 6.32 donde se muestra el historial de absorbancias registradas a 273 nm de una solución de DCF 0.1 mM en percloratos 0.1 M que es llevada a pH ácido y después regresando al pH básico de inicio. Se aprecia nuevamente la diferencia en los caminos recorridos, una vez que la solución ha pasado por valores de pH ácido no recupera el valor de la absorbancia inicial a pH básico de donde se sabe es estable, y aunque para los dos caminos las absorbancias después de pH 7 son estables no son las mismas nunca. De lo anterior se exhibe que la molécula de DCF sufre un cambio a pH ácido irreversible.

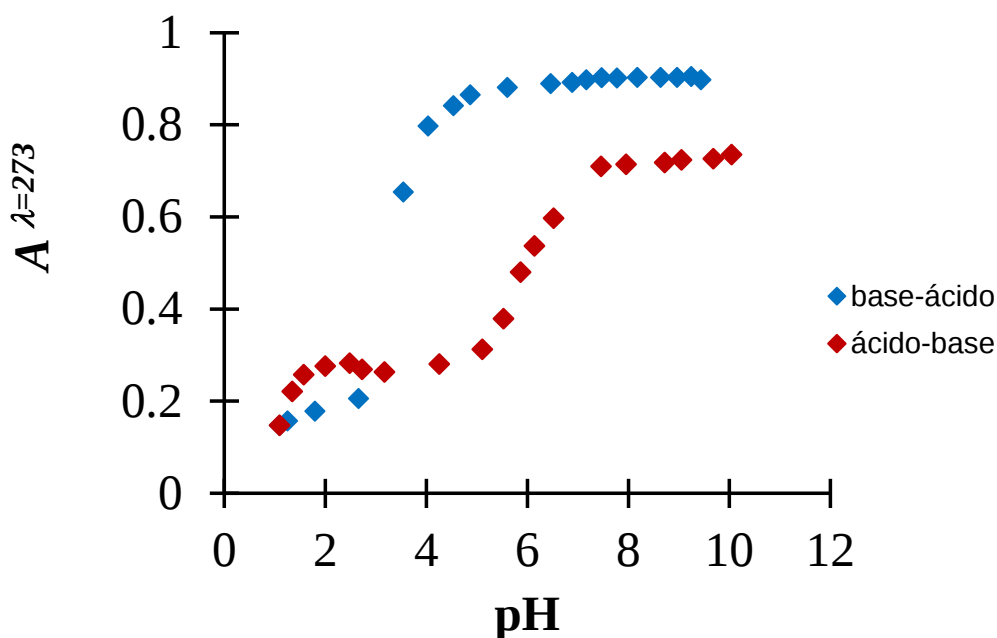


Figura 6.32. Historial de Absorbancias de DCF 0.1mM a 273 nm en percloratos 0.1M comenzando con especie aniónica de DCF a diferentes valores de pH.

De la misma manera que el procedimiento descrito anteriormente se lleva a cabo la determinación de la constante de acidez de DCF en percloratos 0.1M de manera puntual; las absorbancias a 273nm se muestran en la figura 6.33. Se aprecia un cambio evidente alrededor de pH 4.

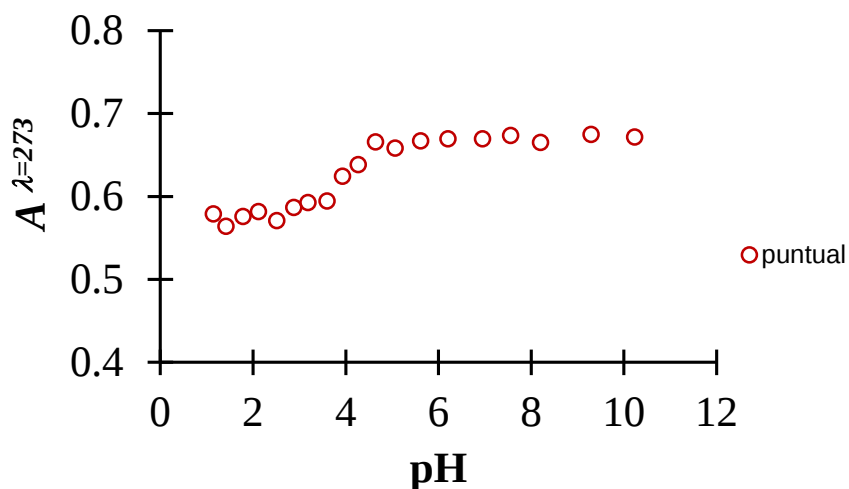


Figura 6.33. Absorbancias a 273 nm para DCF 0.1 mM en percloratos 0.1M a diferentes valores de pH. Cada marcador representa una nueva solución preparada.

El cálculo de la constante de acidez para DCF se obtuvo mediante el programa computacional SQUAD. Este programa se alimentó con 15 espectros de absorción experimentales en un intervalo de longitud de onda 220nm a 340nm, los valores de pH obtenidos para cada espectro de absorción y la concentración de DCF, además de una propuesta del modelo químico. A partir de SQUAD se obtienen los valores de la constante de acidez para el equilibrio asociado presentado en la Tabla 6.2.

Tabla 6.2 Constante de acidez obtenida a partir del programa SQUAD para 15 espectros de absorción y un intervalo de longitud de onda 220nm a 350nm.

Equilibrio	pKa ± σ
DCFH ↔ DCF ⁻ + H ⁺	3.947 ± 0.008

* 1935 datos usados U= 9.55x10⁻²

Una vez refinada la constante de acidez de DCF y con los coeficientes de absorptividad obtenidos, se construyen los espectros teóricos los cuales ajustan con los obtenidos experimentalmente como se muestra en la figura 6.30.

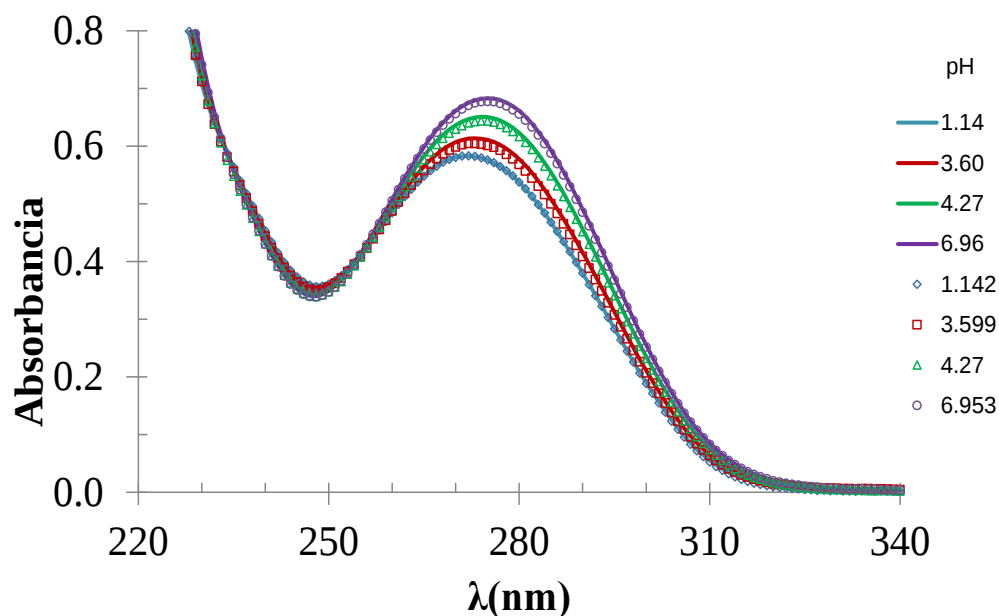


Figura 6.34. Espectros UV-Vis de DCF 0.1 mM en percloratos ajustados a partir de los datos calculados (línea) y comparados con los experimentales (marcador).

Siendo congruentes con el estudio se realiza el mismo procedimiento anteriormente descrito en otros medios: cloruros y fosfatos.

6.1.4.3 Fosfatos

Por último y para continuar con el estudio se monitoreó la absorbancia de una solución de DCF 0.1 mM en Fosfatos 0.1M comenzando a valores de pH ácido llevando la solución a pH básico y regresando al valor de pH inicial. Nuevamente el comportamiento en la historia de las absorbancias a 273 nm se repite (figura 6.35) demostrando que a pesar del medio la especie DCFH sufre una degradación irreversible.

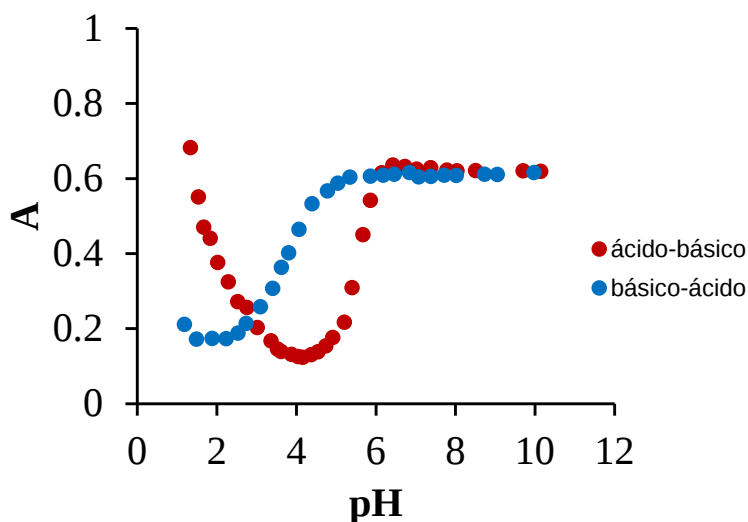


Figura 6.35. Historial de Absorbancias de DCF 0.1mM a 273 nm en fosfatos 0.1M comenzando con especie protonada de DCF a diferentes valores de pH.

Así mismo para el experimento donde se evalúa la absorbancia comenzando a pH básico; ver figura 6.36; se exhibe el mismo comportamiento mostrado anteriormente para los otros medios; la absorbancia del valor de pH básico inicial nunca se recupera después de llevar la solución por pH ácido; confirmando de nuevo la degradación de la especie DCFH.

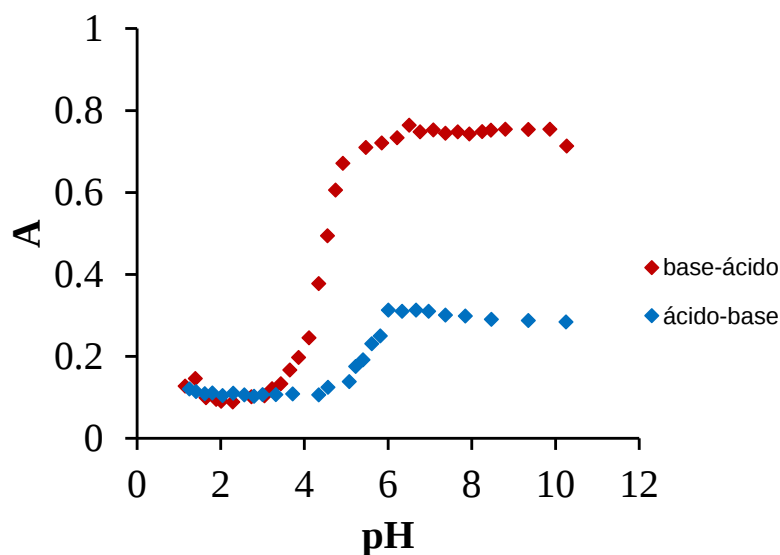


Figura 6.36. Historial de Absorbancias de DCF 0.1mM a 273 nm en fosfatos 0.1M comenzando con especie aniónica de DCF a diferentes valores de pH.

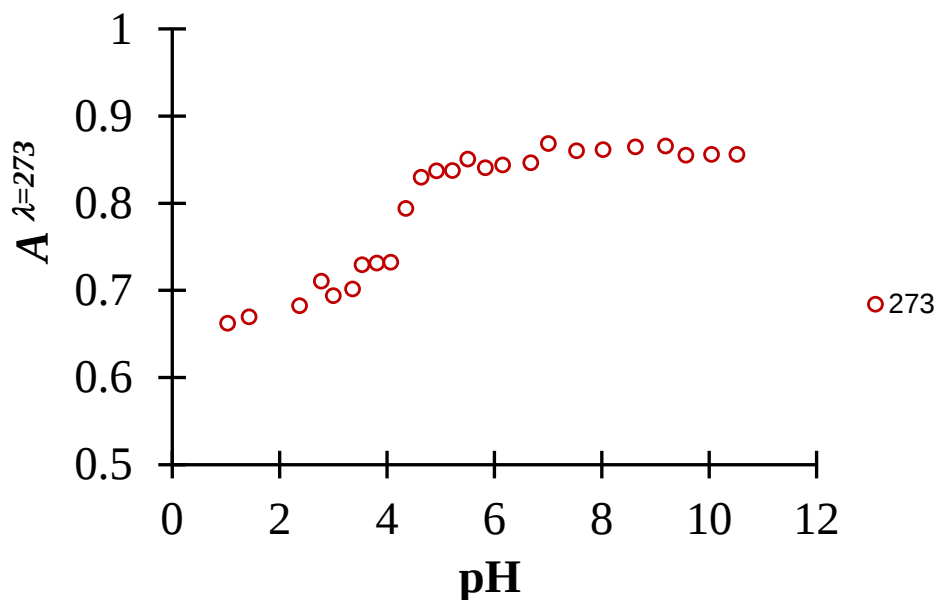


Figura 6.37. Absorbancias a 273 nm para DCF 0.1 mM en fosfatos 0.1M a diferentes valores de pH.

Se lleva a cabo la determinación de la constante de acidez en fosfatos de manera puntual; las absorbancias obtenidas a 273 nm para cada registro se muestran en la figura 6.37. Se aprecia el cambio en la tendencia de los puntos alrededor de pH 4.

El cálculo de la constante de acidez para DCF se obtuvo mediante el programa computacional SQUAD. Este programa se alimentó con 17 espectros de absorción experimentales en un intervalo de longitud de onda 220nm a 340nm, los valores de pH obtenidos para cada espectro de absorción y la concentración de DCF, además de una propuesta del modelo químico. A partir de SQUAD se obtienen los valores de la constante de acidez para el equilibrio asociado presentado en la Tabla 6.3.

Tabla 6.3 Constante de acidez obtenida a partir del programa SQUAD para 17 espectros de absorción y un intervalo de longitud de onda 220nm a 350nm.

Equilibrio	pKa $\pm \sigma$
DCFH $\leftrightarrow$ DCF ⁻ + H ⁺	3.933 $\pm$ 0.007

* 2,210 datos obtenidos U= 8.79x10⁻²

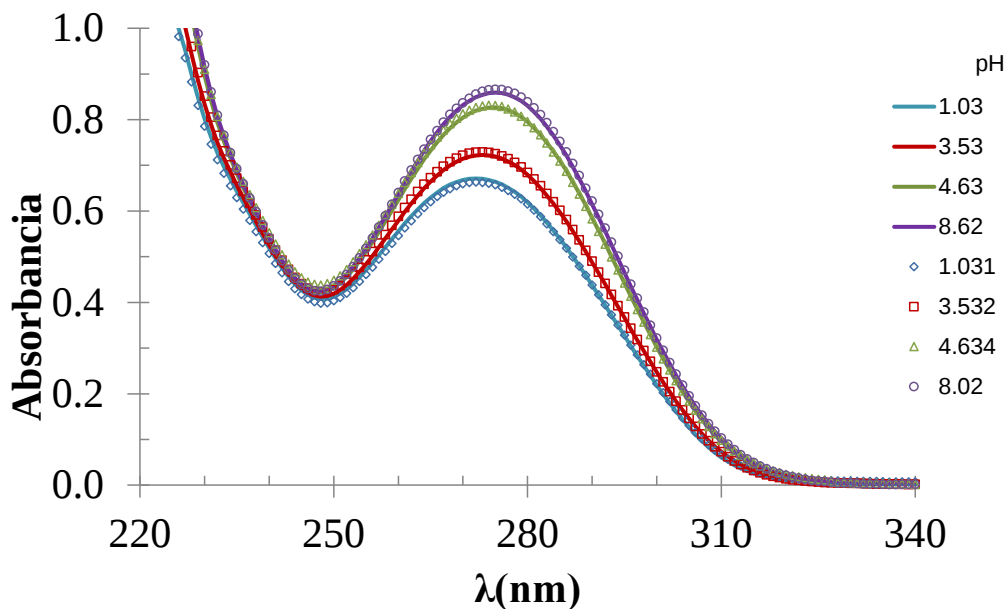


Figura 6.38. Espectros UV-Vis de DCF 0.1 mM en fosfatos 0.1 M ajustados a partir de los datos calculados (línea) y comparados con los experimentales (marcador).

6.1.5 Mecanismo de degradación

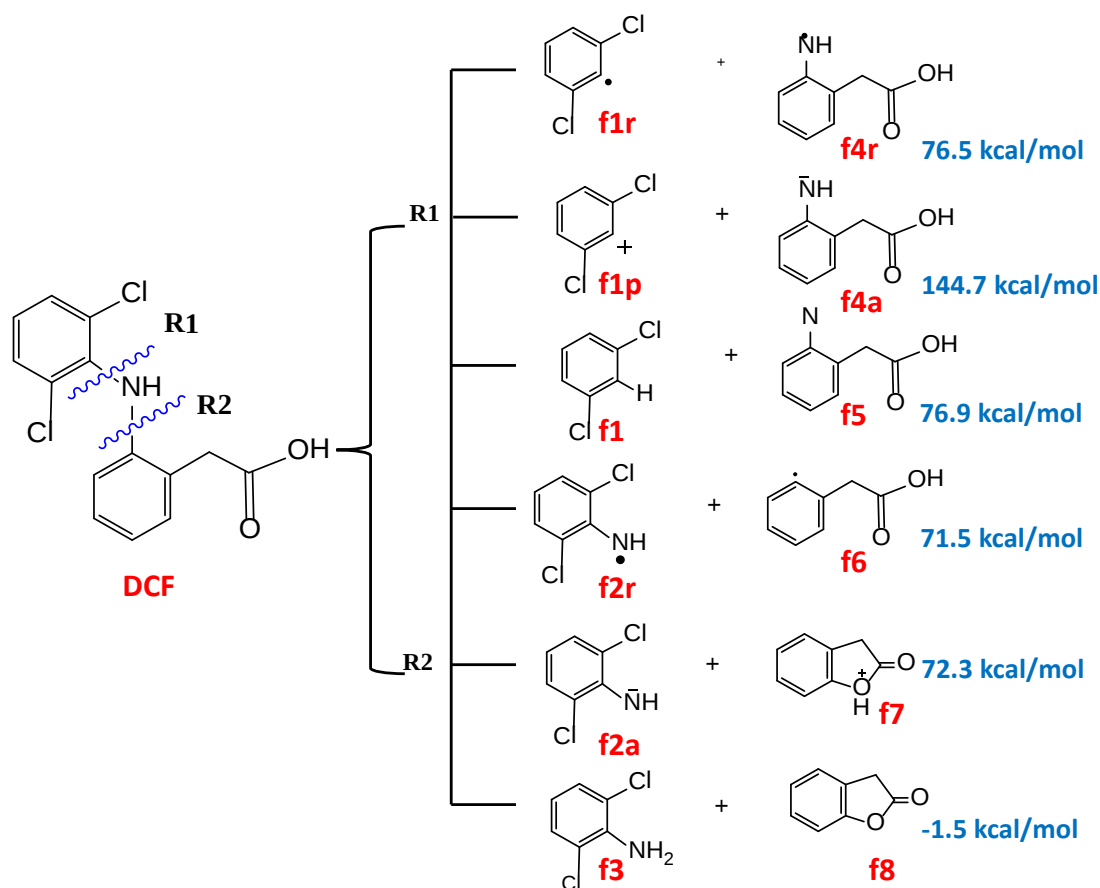
Debido a la evidencia de la inestabilidad de la especie DCFH y la degradación irreversible de la misma mostrados anteriormente se propone una serie de rutas que podrían estar implicadas en la descomposición de la molécula. Esto se investigó para la molécula de DCF neutra y también protonada, esta última considerando su existencia como hace mención Arancibia[18].

De los experimentos mostrados con anterioridad, ver figura 6.31, se observa que la molécula independientemente de su degradación conserva la parte del ácido carboxílico, esto se sabe porque durante el historial de absorbancias en función del pH es visible la curva sigmoideal alrededor de pH 4 y 6 aun cuando ya se ha descompuesto, estos valores de pKa son correspondientes a los grupos carboxílicos. La gráfica de absorbancia en función de pH proporciona información sobre el valor de pKa del analito de acuerdo a la ecuación de Henderson-Hasselbalch (). Cuando la concentración del ácido y base son iguales; el pH = pKa.

$$pH = pKa + \log_{10} \frac{[A^-]}{[HA]}$$

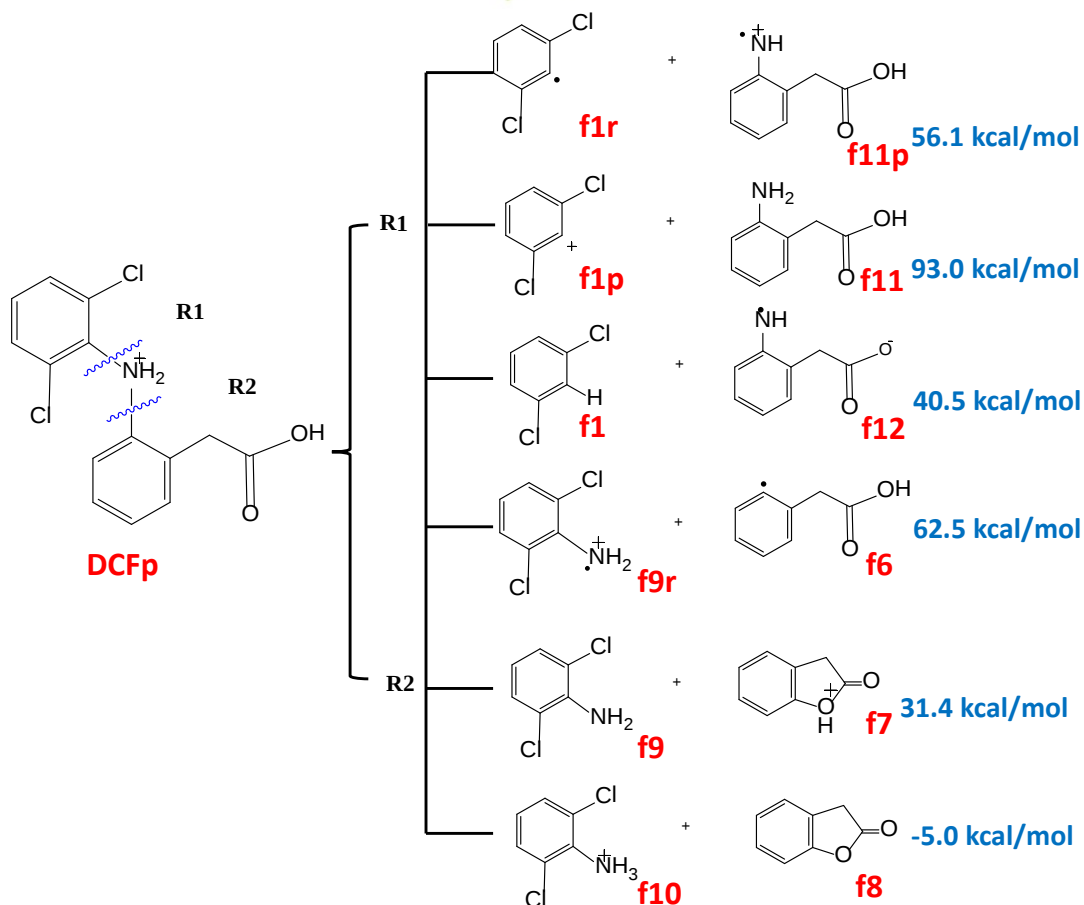
Si la molécula conserva la parte del ácido carboxílico entonces se sugiere la ruptura homolítica o heterolítica a través del enlace Carbono-Nitrógeno para proponer la reacción de descomposición, ya que tiene un costo energético menor en comparación con el enlace Carbono-Carbono.

En el esquema I se presentan las reacciones propuestas partiendo de la especie neutra, en donde se muestra que el rompimiento puede ser por la ruta 1 (R1) o ruta 2 (R2). En ambos esquemas se presentan las energías libres de Gibbs de la reacción a 298 K, asociados con cada ruta propuesta en los esquemas. Los valores para el esquema I muestra que el último camino de R2 es exergónico por lo que se espera se produzca espontáneamente y sea la ruta más probable para DCF neutro.



Esquema I. Rutas de descomposición de DCF propuestas partiendo de molécula neutra.

Para el esquema II se presentan diversas vías de fragmentación partiendo de la molécula protonada. La última vía, es la única que presenta un valor negativo de ΔG . Por lo tanto se asume que sea la vía de descomposición más probable para el DCF protonado.



Esquema II. Rutas de descomposición de DCF propuestas partiendo de molécula protonada.

Para ambos esquemas las vías favorecidas se corresponden a la ruta 2 y entre ellas la más favorecida es cuando se parte de la especie protonada. De lo anterior se puede concluir que la especie protonada se encuentra presente a pH ácido sin embargo no es estable y como se muestra en el esquema II se rompe.

Para poder comprobar si los fragmentos de la ruptura de la molécula son los adecuados, se obtienen los espectros de absorción teóricos para la molécula neutra de DCF y para los fragmentos de la reacción viable (ver figura 1.39). La altura del espectro de la especie DCFH es mayor que la del espectro del fragmento f3, este comportamiento se presenta al evaluar la estabilidad de la especie experimentalmente; en donde el máximo de absorbancia no cambia sin embargo al pasar el tiempo disminuye y nunca se recupera. De esa manera se muestra que el fenómeno observado experimentalmente está soportado por la ruta propuesta.

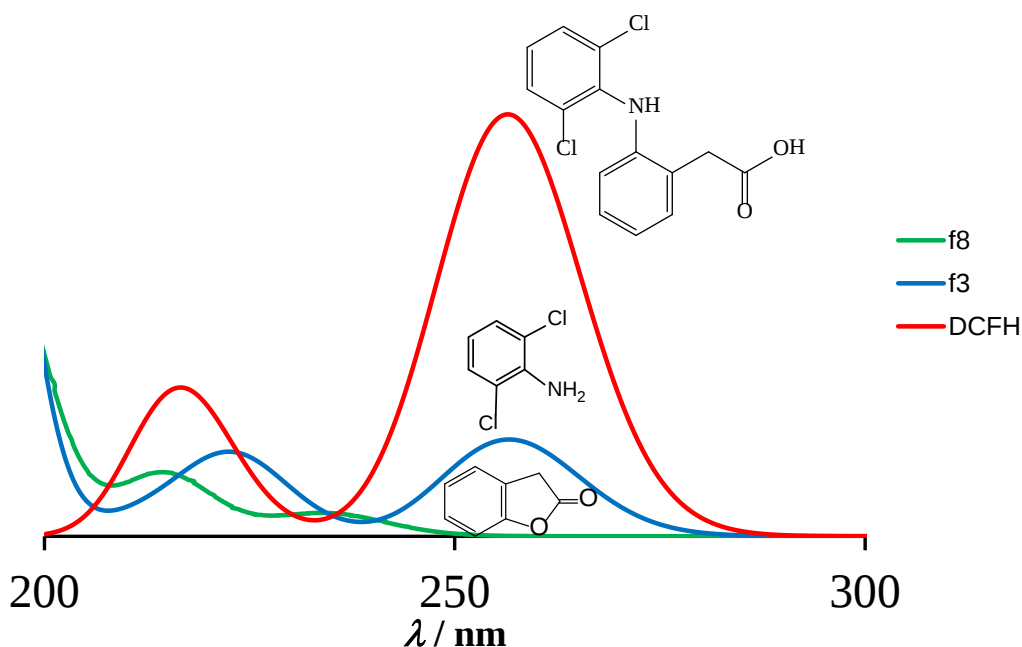


Figura 6.39. Espectros de absorción para la especie neutra (DCFH) y de sus productos de degradación (f8 y f3).

Análogamente se obtienen los espectros de la especie protonada de DCF y la de sus fragmentos de descomposición (ver figura 1.40). Experimentalmente no es posible ver el espectro de la especie protonada de DCF; sin embargo al comparar el espectro teórico con sus respectivos fragmentos de descomposición se aprecia el parecido entre ellos, demostrándose que la especie protonada genera la descomposición de la molécula.

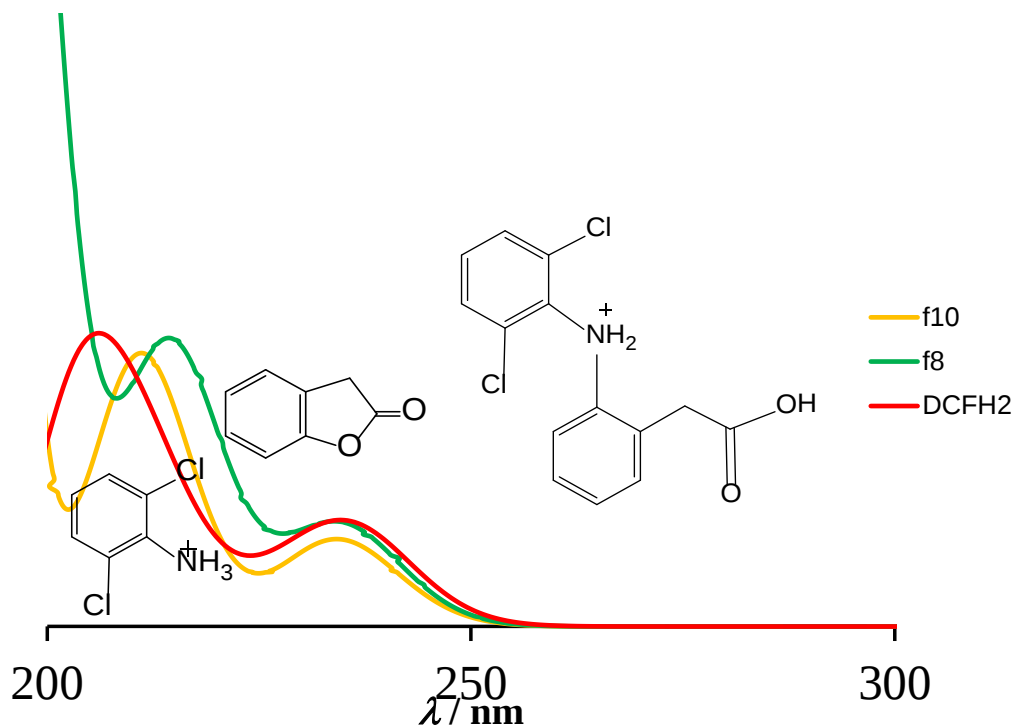


Figura 6.40. Espectros de absorción para la especie neutra (DCFH) y de sus productos de degradación (f8 y f3).

La especie protonada genera la descomposición de DCF a pH ácido; sin embargo al ser inestable es imposible determinar experimentalmente el valor de pKa como sugiere Arancibia [18]; sin embargo con ayuda de la teoría es posible estimar el valor de pKa de la especie el cual da un valor de pKa= -1.88 (referencia privada). Para ello se utilizó la metodología de parámetros ajustables. En esta metodología un conjunto de moléculas (para las que se conocen sus pKa experimentales) se usa para obtener por correlación lineal los parámetros m y C_0 . Luego estos dos parámetros se usan para calcular el pKa deseado, según:

$$\text{pKa}^{\text{calc}} = m \Delta G_{\text{BA}} + C_0$$

donde ΔG_{BA} representa la diferencia en energía libre de Gibbs entre el ácido A y su base conjugada B.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA *Iztapalapa*



Interdisciplina en evolución

ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

Caracterización electroquímica de Diclofenaco

6.2 Mecanismo de Oxidación de DCF

La literatura reporta que el Diclofenaco presenta un pKa de 4.15 [17], por lo que en función del pH dos especies pueden predominar; la especie neutra y aniónica. Sin embargo en el presente trabajo se ha determinado ya el pKa del analito en las condiciones de trabajo 3.933 ± 0.007 en fosfatos.

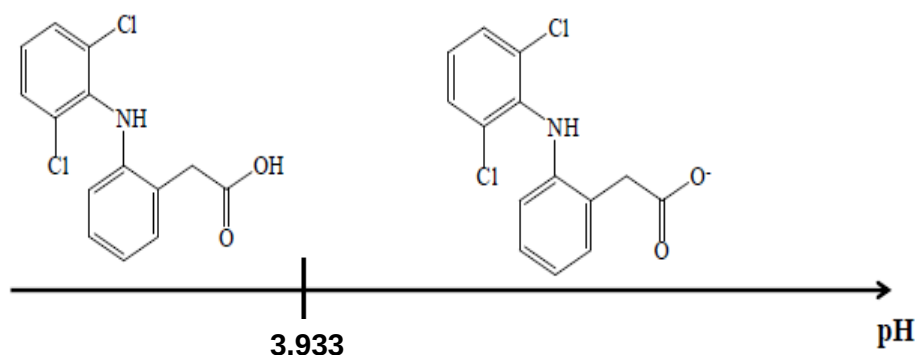


Figura 6.41. Diagrama de Zona de predominio Lineal de DCF.

La cuantificación electroquímica de DCF ha sido reportada a pH 7 [9-13], por lo tanto en este trabajo la caracterización se realiza a pH 7 donde predomina la especie aniónica de DCF (figura 6.41).

6.2.1 Caracterización electroquímica de DCF

La oxidación electroquímica de DCF fue estudiada a través de Voltamperometría Lineal (VL) [38,39], en buffer de fosfatos a pH 7 (figura 6.42). Se puede observar que el DCF presenta un pico anódico alrededor de 0.63 V la corriente incrementa linealmente ($i_{pa} = (26.25 \pm 0.46) \mu A V^{-0.5} s^{0.5} V^{0.5} - (0.99 \pm 0.13) \mu A$) como una función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido de potencial (figura 6.42); por lo tanto de acuerdo con la ecuación de Randles-Sevcik (6.1) [40] la carga transferida en este caso es controlada por difusión.

$$i_{pa} = (2.688 \times 10^5) n^{3/2} S D_R^{1/2} C_R V^{0.5} \quad (6.1)$$

Donde i_{pa} es la corriente del pico anódico (en A), n es el número de electrones, S es el área del electrodo (en cm^2), D_R es el coeficiente de difusión (en cm^2s^{-1}), C_R es la concentración del analito (en mol cm^{-3}) y ν velocidad de barrido de potencial (en $\text{V}^{1/2}\text{s}^{-1/2}$).

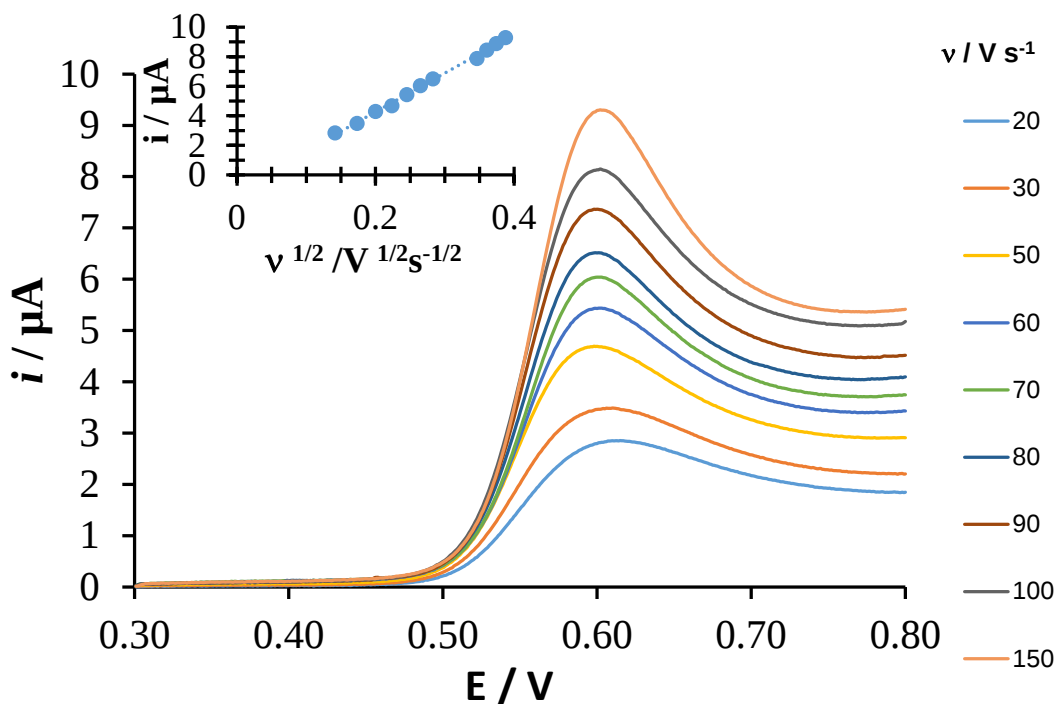


Figura 6.42. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC/ DCF 142 μM , (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) al variar el potencial del electrodo en dirección anódica, iniciando a 0.3 V) a diferentes velocidades de barrido del potencial indicadas en la figura. El inserto muestra la variación de la corriente de pico anódica (i_{pa}) en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido del potencial (ν). La línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos).

6.2.2 Estimación del número de electrones

Con el fin de determinar el número de electrones que participan en la reacción electroquímica en medio acuoso se ha utilizado la técnica de cronoamperometría (CA) [41]. En la Figura 6.43 se presenta una familia de transitorios potencioestáticos de corriente y en su inserto se muestra como ejemplo que el gráfico de $i = f(t^{0.5})$ para el transitorio obtenido a 0.67 V cumple con lo predicho por la ecuación de Cottrell (6.2) [40] corroborando que el proceso de oxidación electroquímica del DCF está limitada por la difusión.

$$i = nFSD_R^{1/2}C_R\pi^{-0.5}t^{-0.5}$$

(6.2)

Donde F es la constante de Faraday.

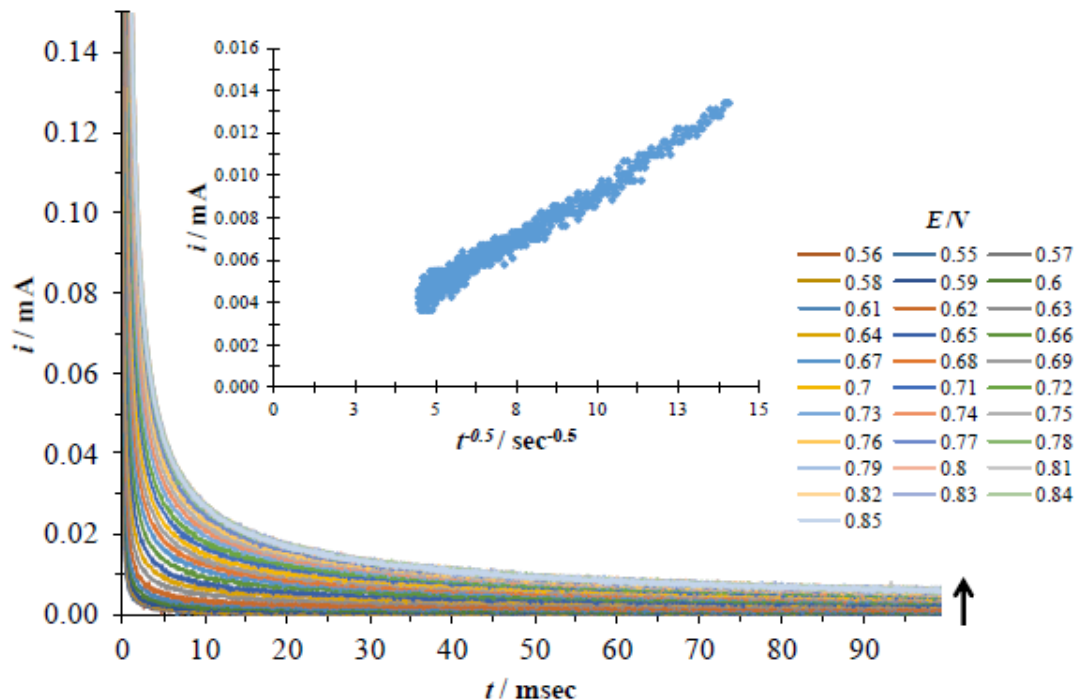


Figura 6.43. Familia de transitorios potenciostáticos de corriente obtenidos en el sistema EPC/DCF 64 μ M, (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) al aplicar diferentes saltos de potencial desde 0.3V hasta los diferentes potenciales mostrados en la figura. En el inserto de la figura se presenta el gráfico de la $i = f(t^{-0.5})$ para el transitorio obtenido a 0.67 V.

A partir de la familia de los transitorios potenciostáticos de corriente de la Figura 6.43 es posible construir curvas de $i = f(E)$, para diferentes tiempos muestreados (Ver Figura 6.44(a)). A partir de estos gráficos y utilizando la ecuación de Heyrovsky-Illkovic. (ecuación 6.3) [42,43] se obtuvieron las curvas $E = f(\log(i_r/i))$ para diferentes tiempos de muestreo, ver Figura 6.44 b y Tabla 6.4. Es importante tener en cuenta que todas las gráficas de la Figura 6.44 (a) representan los rasgos característicos de una onda reversible de un electrón en voltamperometría, donde la onda se eleva desde la línea de base hasta el límite de difusión controlada en una región de potencial bastante estrecho (aproximadamente 200 mV), ver por ejemplo la figura 5.4.1 en [40]. En la Figura 6.44b se

muestra como ejemplo que la ecuación 6.3 puede describir adecuadamente los datos experimentales obtenidos para un tiempo de muestreo de 0.095 s (siendo la curva de ajuste: $E = (0.658 \pm 0.003)V - (0.056 \pm 0.006) V \log(i_r - i/i)$). A partir del valor de la pendiente de esta línea es posible determinar el número de electrones que participan en la reacción electroquímica. En la Tabla 6.4 se muestra los valores de n para cada valor de tiempo de muestreo considerado y el valor del potencial de media onda (0.66 V). El número de electrones transferidos durante la oxidación de DCF es prácticamente 1 en todos los casos. Este valor contrasta con el valor de $n = 2$ reportado por Goyal et al [9] a partir de la variación de potencial en función del pH (en el intervalo de 2 a 11) utilizando un electrodo “borde plano de grafito pirolítico”. Más aun basados en esto Goyal et al [9] proponen un mecanismo (que también reportan Goodarzian et al [13]) donde el proceso de oxidación de del DCF comienza con la molécula completamente protonada. Sin embargo a pH 7 la especie predominante del DCF sería la especie desprotonada (ver Figura 6.41) por lo que el mecanismo descrito es incorrecto así como la forma de determinar el número de electrones utilizando la variación del potencial en función del pH dado que en el intervalo seleccionado por Goyal et al [9] se estaría cambiando de especie predominante ($pK_a = 4.15$). De acuerdo a la especie predominante del DCF a pH 7 en disolución acuosa y al número de electrones que hemos encontrado en base a técnica electroquímicas el mecanismo correspondiente sería el descrito en la Figura 6.45.

$$E = E_{1/2} - \frac{RT}{nF} \log\left(\frac{i_l - i}{i}\right) \quad (6.3)$$

Donde E es el potencial del electrodo (en V), $E_{1/2}$ es el potencial de onda media (en V), i_l es la corriente límite, i la corriente medida a cada potencial, R la constantes de los gases y T la temperatura.

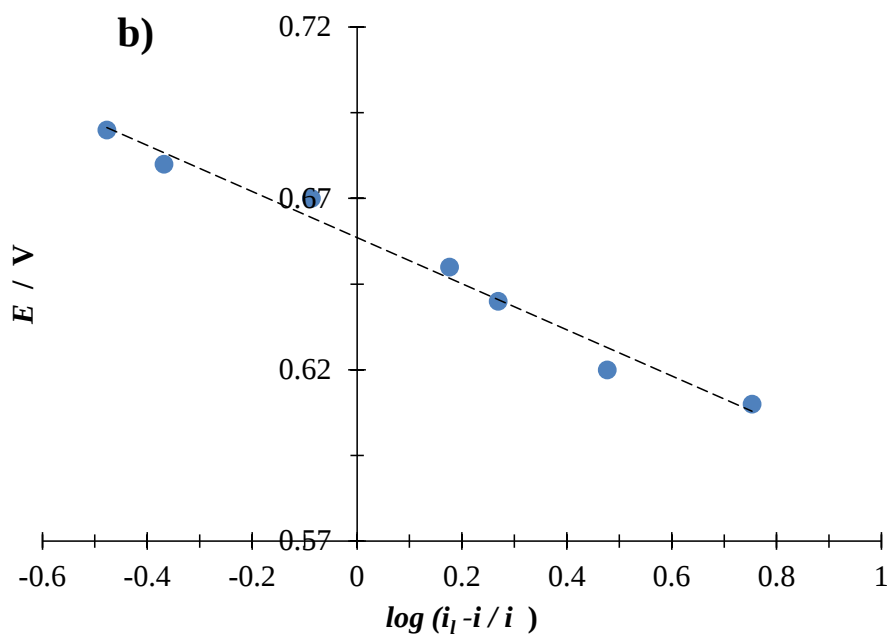
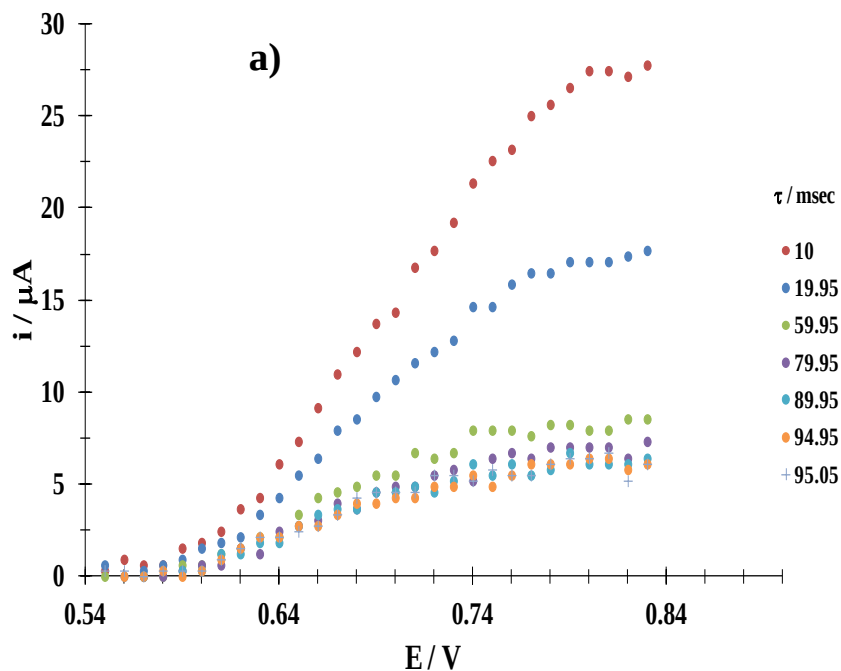


Figura 6.44 (a) Curvas $i = f(E)$ obtenidas a partir de la Figura 6.3 utilizando diferentes tiempos de muestreo indicados en la figura. (b) Curva $E = f(\log(i_l - i / i))$ para un tiempo de muestreo de 95 ms.

Tabla 6.4. Estimación del número de electrones, n , y del potencial de media onda, $E_{1/2}$, involucrados durante el proceso de oxidación electroquímica del DCF en medio acuoso (pH 7) mediante la técnica de voltamperometría de corriente muestreada (ver Figura 6.44b).

t / ms	60	80	90	94	95
$Pendiente / V$	-0.074	-0.068	-0.060	-0.060	-0.056
$E_{1/2} / V$	0.664	0.667	0.656	0.660	0.658
n	0.800	0.873	0.991	0.993	1.056

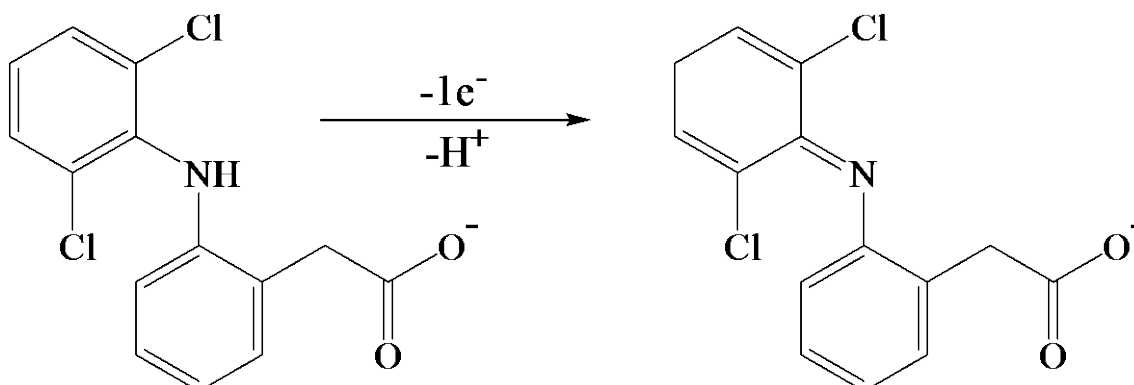


Figura 6.45. Etapa inicial del mecanismo de la oxidación electroquímica del diclofenaco en disolución acuosa a pH 7 utilizando un electrodo de pasta de carbono.

La Figura 6.46a muestra una familia de voltamperogramas cíclicos obtenidos durante el proceso de oxidación-reducción del DCF. Se muestra la presencia de un pico de oxidación durante el barrido directo y uno de reducción durante el inverso. En el caso del pico de reducción (ver Figura 6.46b), el de oxidación ya fue analizado en el estudio mediante VL, se puede observar que su corriente varía también linealmente ($i_{pc} = -(15.4 \pm 0.6) \mu A V^{-0.5} s^{0.5} v^{0.5} - (1.14 \pm 0.21) \mu A$) con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido sin embargo el valor absoluto del cociente entre la corriente de ambos pico, en función de la velocidad de barrido del potencial, ver inserto en Figura 6.46a, es muy inferior a la unidad lo que podría ser explicado si el proceso de oxidación de DCF ocurre vía un mecanismo Electroquímico (E)-Químico (C).

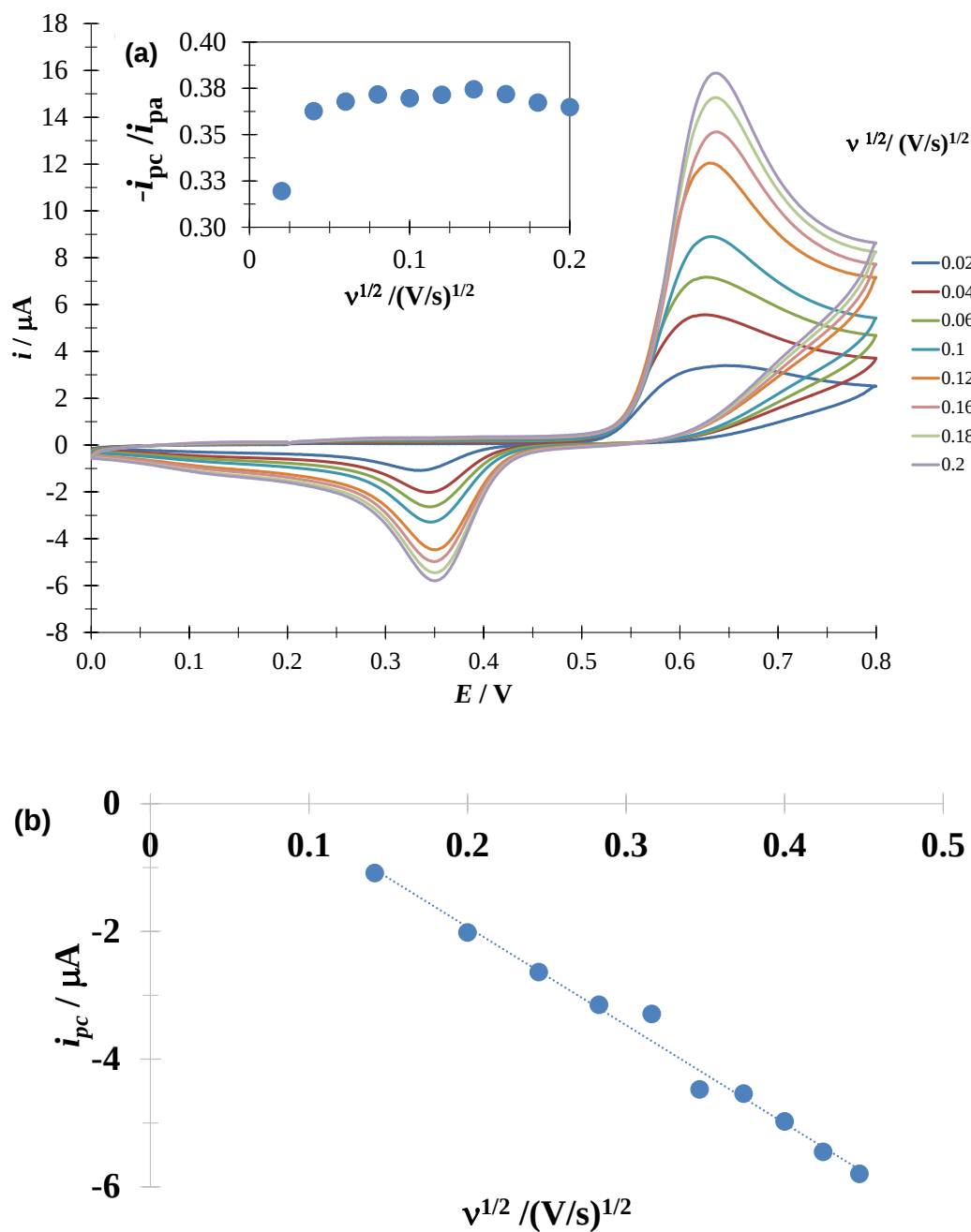


Figura 6.46. a) VCs experimentales típicos obtenidos en el sistema EPC/ DCF 142 μM , (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) al variar el potencial del electrodo en dirección anódica, iniciando a 0.2 V a diferentes velocidades de barrido del potencial indicadas en la figura. El inserto muestra la variación del cociente entre las corrientes de pico catódica (i_{pc}) y anódica (i_{pa}) en función de la velocidad de barrido del potencial (ν). **b)** variación de la corriente de pico catódica (i_{pc}) en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido del potencial (ν). La línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos).

Considerando la información obtenida por voltamperometría cíclica, en la Figura 6.47 se propone el mecanismo EC involucrado en el proceso de oxidación electroquímica de DCF vía la transferencia de un electrón. La reacción E sería la descrita en la Figura 6.47 y la C se debería a que después de que la molécula DCF pierde un electrón y un protón, el nitrógeno queda en resonancia entre la formación de un doble enlace y la formación de un radical el cual puede reaccionar con el medio produciendo el rompimiento irreversible del DCF en dos productos: (a) 2,6 dicloroanilina y (b) 2- (2 hidroxiprop-2-enil) fenol, ver Figura 6.47.

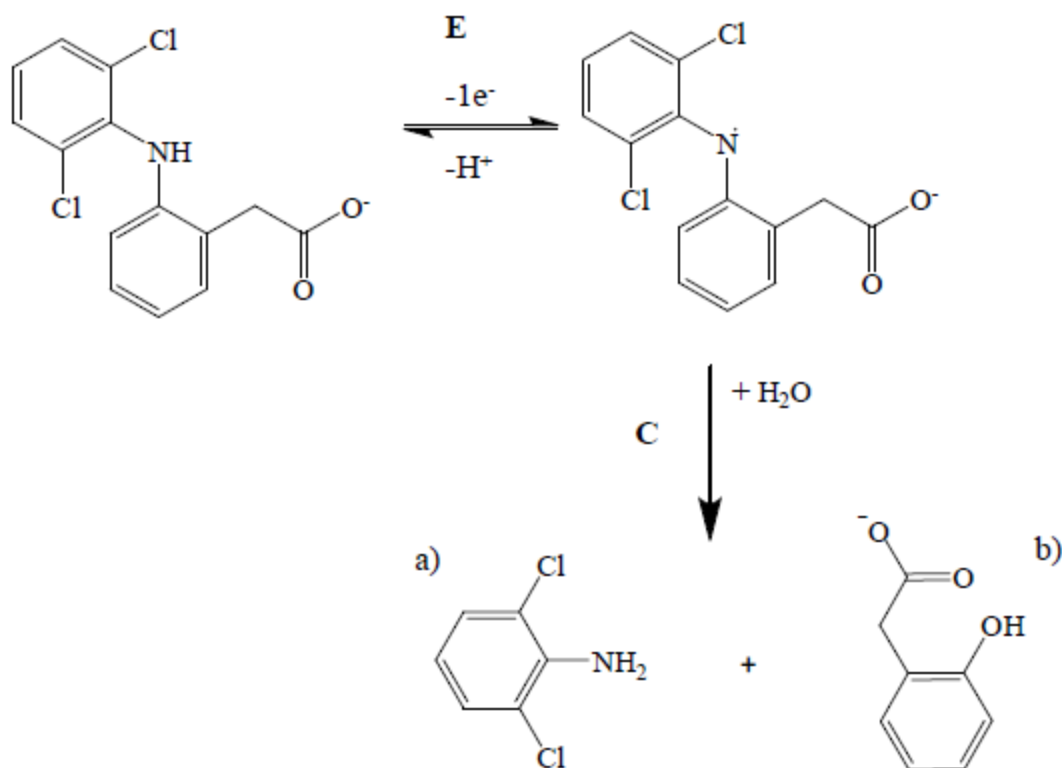


Figura 6.47. Propuesta de mecanismo EC involucrado durante la oxidación electroquímica del diclofenaco en disolución acuosa a pH 7 utilizando un electrodo de pasta de carbono simple.

Con el fin de corroborar la oxidación electroquímica descrita en la figura 6.47, es necesario llevar a cabo un estudio espectro-electroquímico [44,45], registrando

simultáneamente los espectros de absorción de la solución de DCF después de diferentes periodos de macroelectrólisis (a 640 mV). Proceso durante el cual se obtuvieron después de cierto periodo respectivamente LVs, (ver Figura 6.48a) y los espectros de absorción UV-vis (ver Figura 6.48b). Se puede observar que la corriente del pico de oxidación de DCF (ver inserto figura 6.48a) y la absorción de la longitud de onda a 270 nm (ver inserto en figura 6.48b) disminuyen conforme incrementa en tiempo de electrólisis. Además se puede observar claramente la formación de un pico de absorción a 450 nm el cual estaba ausente a inicio del experimento y que incrementa conforme aumenta el tiempo de la electrólisis. También es relevante mencionar que antes de la electrólisis de DCF la solución era transparente y gradualmente se convirtió en amarillo aumentando la intensidad conforme el tiempo de electrólisis. Este segundo pico de absorción generado después de la oxidación electroquímica DCF es congruente con la correspondiente a las anilinas sustituidas como la o- nitro anilina [46] o como la 2,6 dicloroanilina. Esta evidencia experimental soporta el mecanismo propuesto en la Figura 6.47. Es importante mencionar que Vogna et al. [47] ha llevado a cabo la oxidación de DCF por medio de ozono y tratamientos UV/H₂O₂, identificando a través del análisis de GC-MS (Cromatografía de gas –espectrometría de masas, por sus siglas en inglés) la formación de 2,6 dicloroanilina y 2(2-hidroxi prop-2-enil) fenol, ver ruta C en esquema 1 de la referencia [47].

De la pendiente de la variación de i_{pc} vs. $v^{0.5}$, ver figura 6.48b, y el valor del coeficiente de difusión de DCF estimado en este trabajo (ver abajo) el valor de n fue calculado como 1.02 electrones, lo cual va de acuerdo con el mecanismo propuesto en la Figura 6.47.

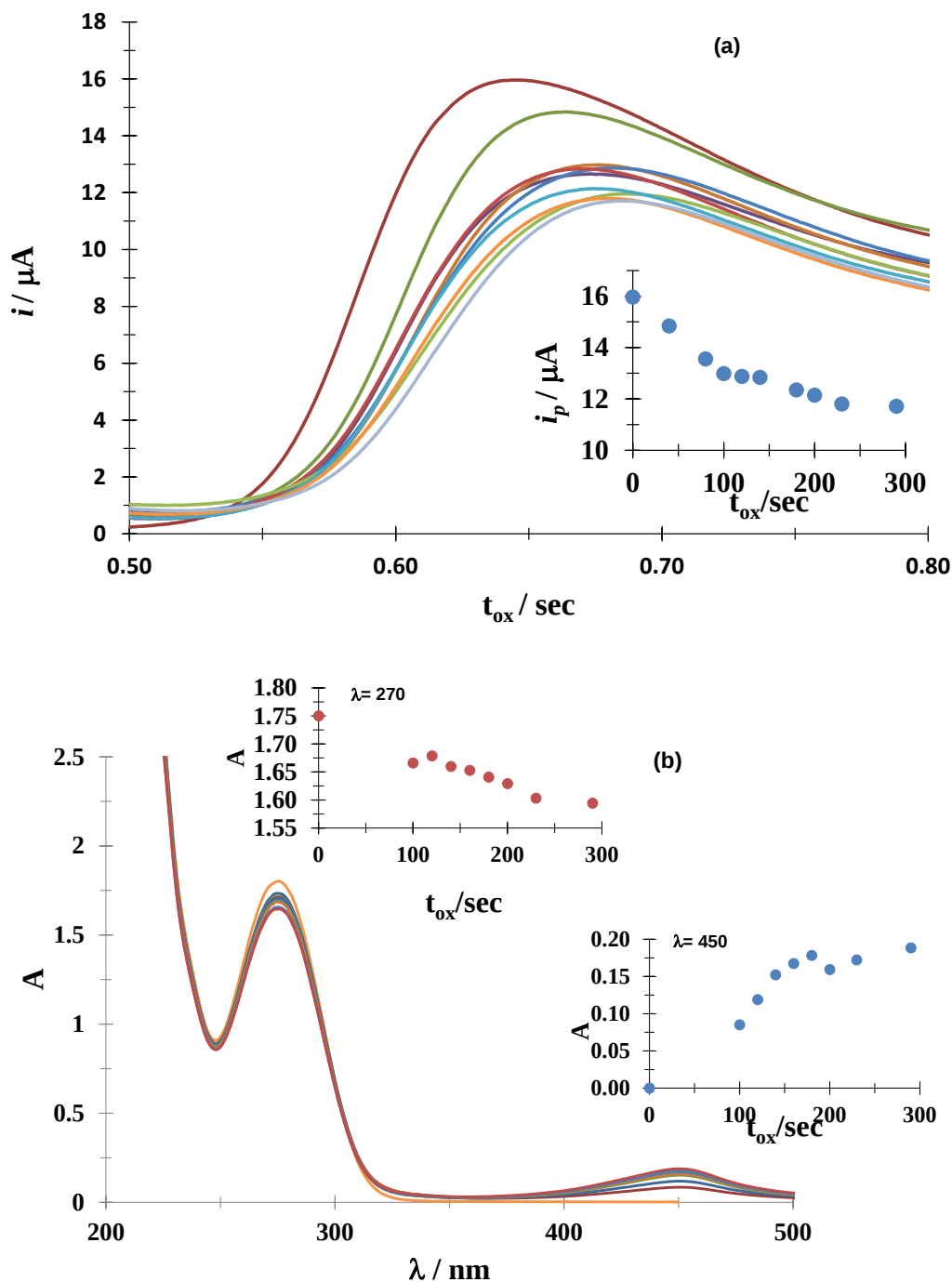


Figura 6.48. Familia de a) VLs, a una velocidad de potencial de 100 mV s^{-1} en el sistema malla de Pt/ DCF $209 \mu\text{M}$, (PBS 0.1 M , pH 7) después de diferentes tiempos de oxidación a 640 mV . La dependencia de los picos de corriente de los voltamperogramas y la absorbancia a 270 y 450 nm de los espectros UV-vis con el tiempo de oxidación son también representados en los insertos de las figuras a y b respectivamente.

6.2.3 Oxidación electroquímica de DCF bajo condiciones forzadas.

La figura 6.49 muestra el efecto de la velocidad de rotación del electrodo en una familia de VLS obtenidos durante la oxidación electroquímica de DCF. Se puede ver que las corrientes limitantes (i_L), formadas en cada valor de la velocidad angular varían linealmente ($i_L = (0.099 \pm 0.003) \mu\text{A rpm}^{-0.5} \omega^{0.5} + (1.17 \pm 0.06) \mu\text{A}$) con la raíz cuadrada de la velocidad de rotación, véase inserto en la Fig. 6.49, de acuerdo con la ecuación de Levich (6.4) [40]. Dado que los VLS no representan la forma típica en S se ha repetido el experimento, pero utilizando una velocidad de barrido de potencial menor, esto es 10 mV/s y menor concentración de DCF, ver figura 6.50. El VL en la Figura 6.50a representa la forma S y la correspondiente gráfica i_L vs. $\omega^{0.5}$, véase figura 6.50b, es lineal con la siguiente ecuación: $i_L (\mu\text{A}) = (3.57 \pm 0.23) \text{E-}08 (\mu\text{A}/(\text{rpm})^{0.5}) \omega^{0.5} + (3.05 \pm 0.30) \text{E-}07 (\mu\text{A})$ y $R^2 = 0.9737$.

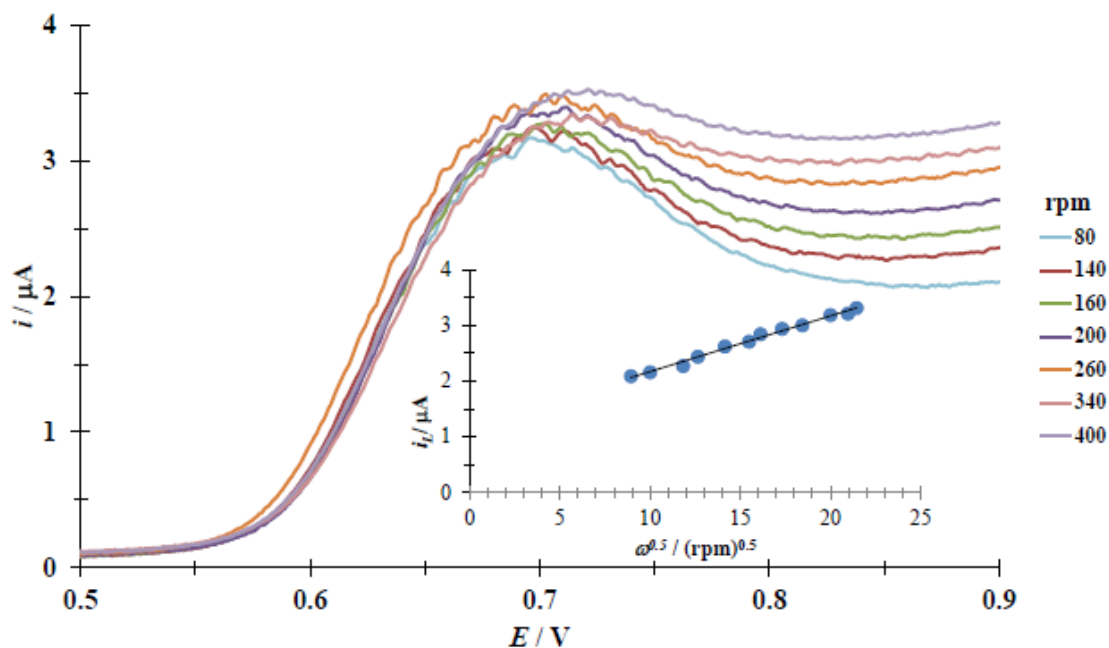


Figura 6.49. VLS experimentales típicos obtenidos en el sistema EPC /DCF 142 μM , (PBS 0.1M, pH 7) se inicia el barrido de potencial a 0.3 V a una velocidad de 20 mV s^{-1} aplicando diferentes velocidades de rotación del electrodo, indicados en la figura. En el inserto se muestra la variación de la corriente límite anódica (i_L) como una función de la raíz cuadrada de la velocidad de rotación del electrodo (ω). La línea corresponde a la regresión lineal y los marcadores a los datos experimentales.

$$i_L = 0.2nFSD_R^{2/3}C_Rv^{-1/6}\omega^{1/2} \quad (6.4)$$

Donde v es la viscosidad kinemática (en este caso $0.01 \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$) y ω la velocidad de rotación angular (en rpm).

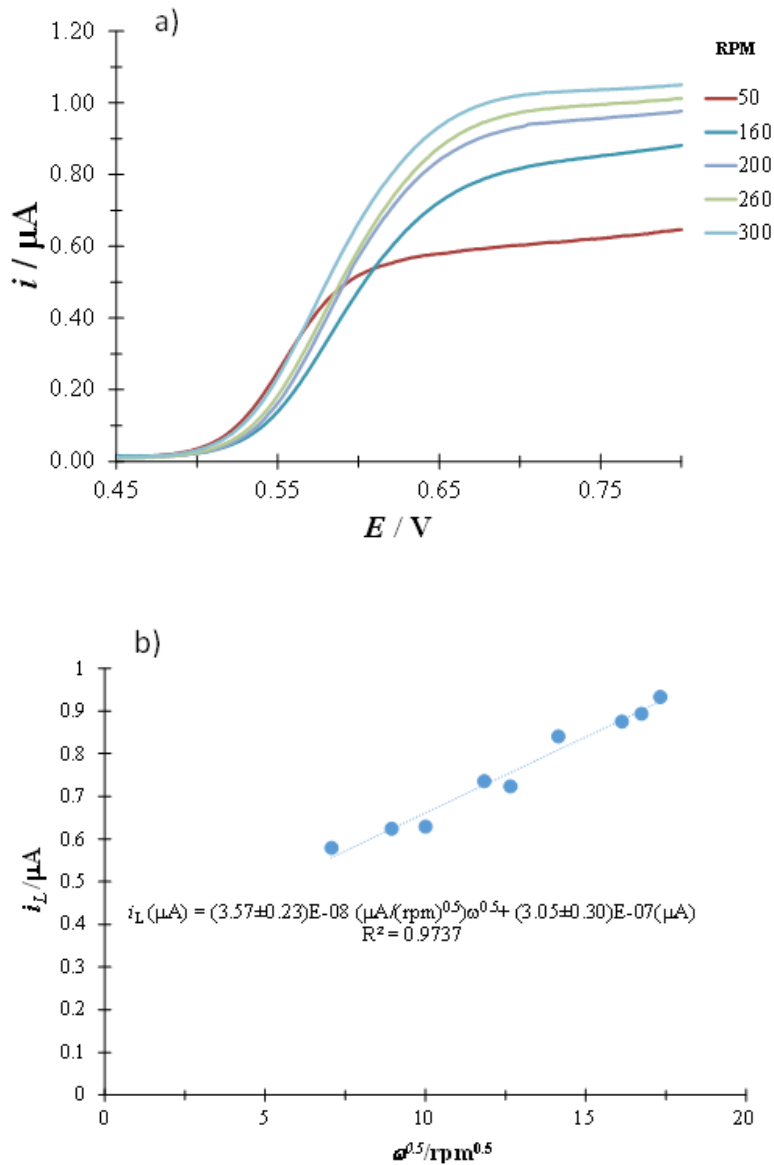


Figura 6.50. a) LVs experimentales típicos obtenidos en el sistema EPC/ DCF $31.1 \mu\text{M}$, (PBS 0.1 M , pH 7) la velocidad de barrido de potencia comienza en 0.3 V a 10 mV s^{-1} y aplicando diferentes velocidades de rotación del electrodo, indicado en la figura. b) Variación de la corriente límite anódica como una función de la raíz cuadrada de la velocidad de rotación del electrodo. La línea corresponde a la regresión lineal y los marcadores a los datos experimentales. De la pendiente de la ecuación, y de la ecuación de Levich (2.4) el valor del coeficiente de difusión de DCF fue determinado $(7.82 \pm 0.63) \times 10^{-6} \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$.

6.2.4 Evaluación experimental del coeficiente de difusión

Una vez determinado el número de electrones involucrados durante la oxidación electroquímica de DCF y que esta reacción sigue las ecuaciones (6.1) de Randles-Sevcik, (6.2) de Cottrell (6.4) y de Levich, el coeficiente de difusión puede estimarse por estas diferentes metodologías, véase Tabla 6.5. Como se puede apreciar los valores del coeficiente de difusión de DCF estimado a través de este trabajo, siguiendo diferentes técnicas, son bastante cercanos entre ellos. Es importante mencionar que Goodarzain et al. [13], reportó un valor de $5.9 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ para el coeficiente de difusión utilizando un electrodo modificado con líquidos iónicos y nanotubos de carbono, también, los valores estimados en este trabajo son claramente contrarios a los reportados de $0.94 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$ por Hajjizadeh et al. [12], el cual es prácticamente un orden de magnitud más pequeño.

Tabla 6.5. Comparación del coeficiente de difusión obtenido para DCF especie aniónica pH7 obtenida por diferentes técnicas electroquímicas y el reportado.

Técnica	Coeficiente de Difusión $10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$
Cronoamperometría Acuoso pH 7 EPC	7.88±0.04
Electrodo de disco rotatorio Acuoso pH 7 EPC	8.13±0.33
VL	8.19±0.28

6.2.5 Estimación del coeficiente de difusión teórico

El coeficiente de difusión fue estimado usando la aproximación de Stokes-Einstein [48,49]:

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a} \quad (2.5)$$

donde k_B es la constante de Boltzman, T es la temperatura (298.15K), η indica la viscosidad del solvente, en este caso agua ($\eta = 8.91 \times 10^{-4} \text{ Pa s}$) y a es el radio del soluto. El valor de a ($5.05 \text{ \AA}$) fue estimado utilizando el paquete Gaussian 03 [29]. La geometría

usada por el cálculo fue previamente optimizada con M05-2X/6-322+G(d,p) [30]. Es importante destacar que el valor de D , teóricamente estimado, $4.85 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$, es bastante similar a aquellos valores estimados experimentalmente en condiciones hidrodinámicas de convección forzada y en estancamiento.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA *Iztapalapa*



Interdisciplina en evolución

ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

Determinación analítica de DCF y ACT

6.3 Determinación Analítica de DCF y ACT

En la literatura se encuentra reportado que el ACT presenta un pKa en 9.5 [19] y se ha determinado el pKa de DCF en 3.933, por lo que dependiendo el pH impuesto pueden predominar la especie neutra o la especie aniónica. En la figura 6.51a se muestra el diagrama lineal de zonas de predominio para el DCF, donde se puede observar que para pH's menores de 3.933 predomina la especie neutra y a pH's mayores predomina la especie aniónica, mientras que para el ACT, figura 6.51b, a pH menores de 9.50 predomina la especie protonada y posteriormente la especie aniónica. Este trabajo se desarrolla a pH 7 por lo que siguiendo los diagramas lineales de zonas de predominio en función de pH de la figura 6.51, en el sistema de trabajo predominará la especie aniónica del DCF y la especie protonada de ACT.

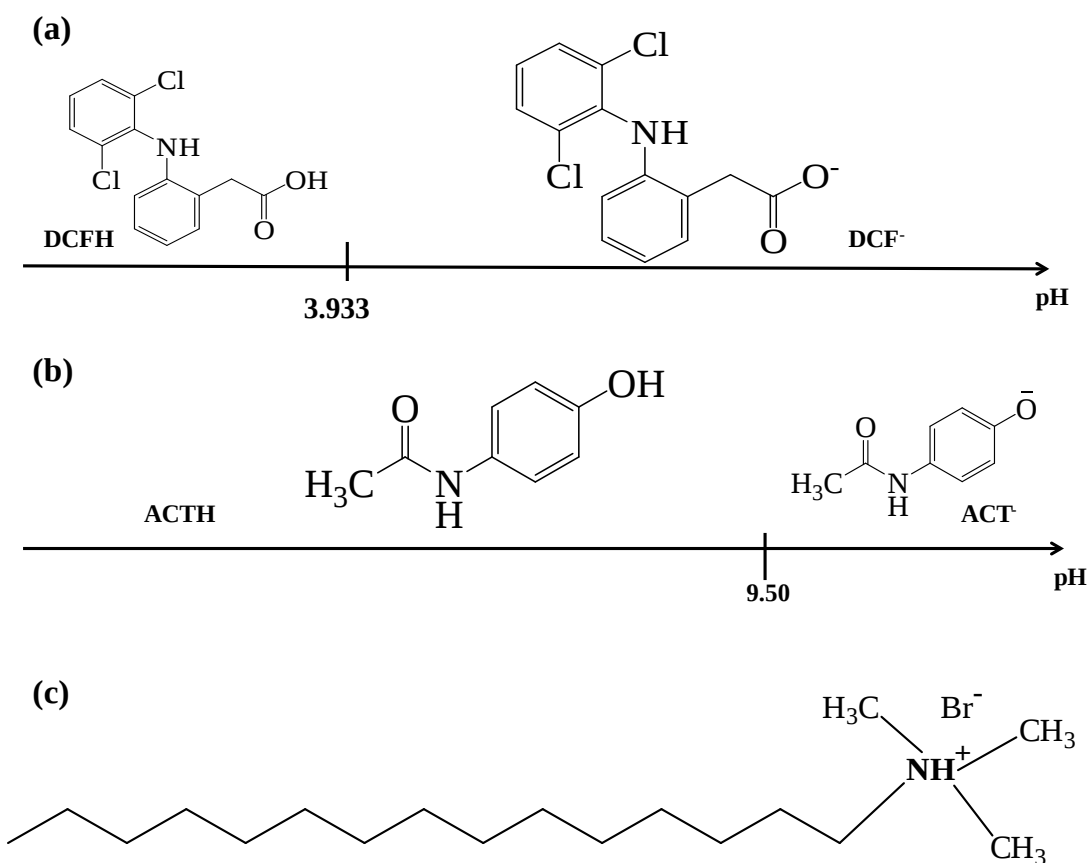


Figura 6.51. Diagrama de Zonas de Predominio Lineal: (a) DCF y (b) ACT construido bajo la metodología propuesta por Rojas-Hernández et al. [32-35]. (c) molécula de Cetiltrimetilamonio.

En la figura 6.51c se presenta la molécula de CTAB, como se puede observar es un surfactante catiónico, por lo que es necesario estudiar la interacción de DCF y ACT con CTAB.

6.3.1 Estudio de interacción de las moléculas de DCF y ACT con CTAB.

En la figura 6.52 se muestran los espectros de adsorción de ultra violeta-visible (UV-Vis), en línea continua se presentan los espectros de (a) DCF y (b) ACT en presencia de CTAB mientras que en línea punteada se presentan en ausencia de CTAB.

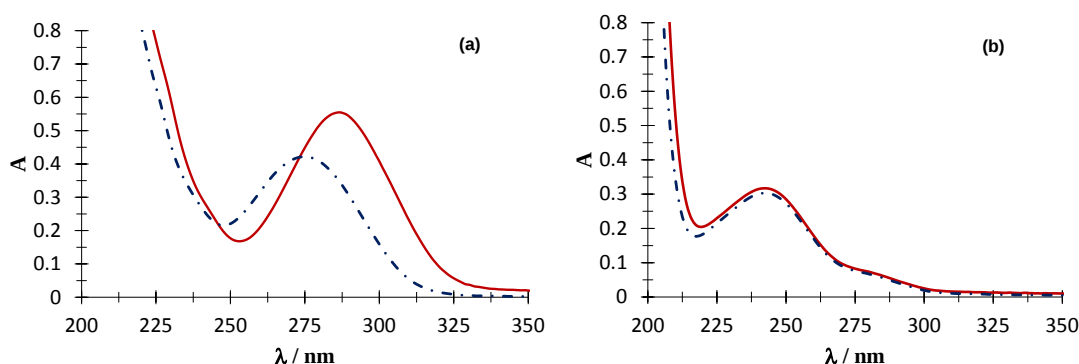


Figura 6.52. Espectros de absorción de UV-Vis para el sistema de buffer fosfatos pH 7 0.1M. En línea continua se presentan los espectros en presencia de CTAB 0.1 mM y en línea punteada en ausencia de CTAB. (a) DCF 64 μM y (b) ACT 64 μM.

En la figura 6.52(a) se puede apreciar un aumento significativo de la absorbancia de DCF una misma concentración cuando se encuentra en presencia de CTAB 0.1 mM, mientras que en la figura 6.52(b) para esta misma concentración de CTAB el ACT no muestra en la absorbancia cambio significativo alguno, por lo que la mayor interacción del CTAB se da con la especie aniónica de la molécula de DCF y la molécula de CTAB. Así entonces se procede a determinar la concentración micelar crítica del CTAB con DCF.

Se obtuvieron los espectros de absorción de UV-Vis de DCF en presencia de buffer de fosfatos 0.1 M para diferentes concentraciones de CTAB de 0 a 0.2 mM. En la figura 6.53 se puede observar que conforme se incrementa la concentración de CTAB los espectros de UV-Vis en el máximo de absorción presentan un efecto batocrómico e hiperocrómico, viéndose desplazado el máximo de absorción 12 nm.

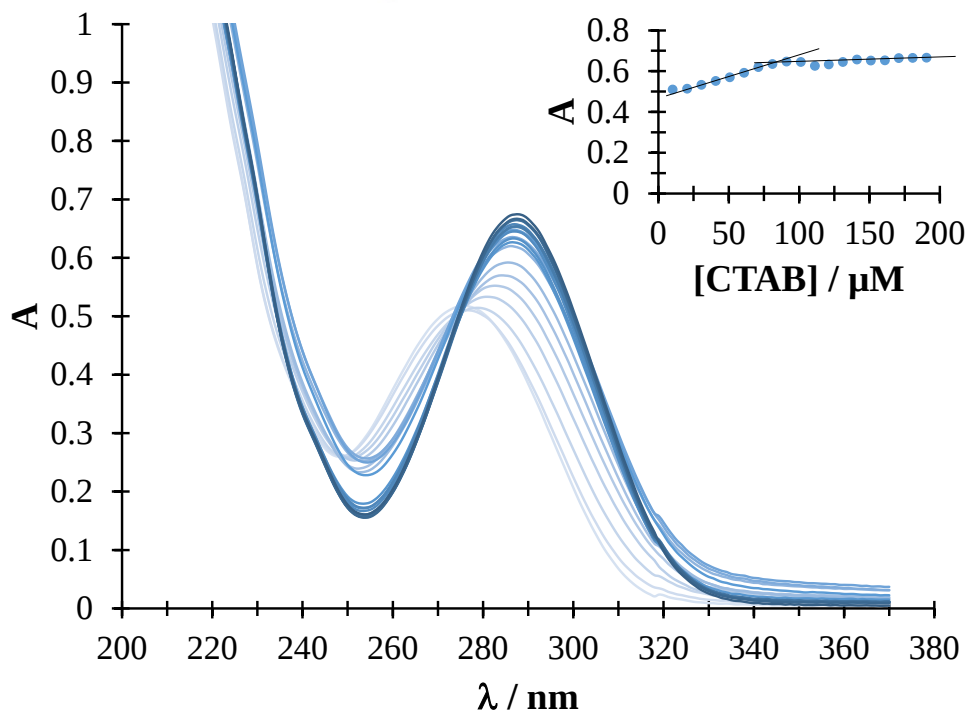


Figura 6.53. Familia de espectros UV-Vis obtenidos en el sistema DCF 0.5 mM, en buffer fosfatos pH 7 0.1 M a para diferentes concentraciones de CTAB mostradas en la figura. En el inserto se presenta la variación de la absorbancia (288 nm) en función de la concentración de CTAB.

Siguiendo el cambio de la absorbancia a 288 nm, en función de la concentración de CTAB, en el inserto de la figura 6.53 se puede apreciar un cambio de pendiente a una concentración de CTAB de 0.07 mM, correspondiente a la micelar crítica, CMC. La CMC determina la concentración (c) región en la cual las moléculas del surfactante en solución tienden a formar micelas ($c > \text{CMC}$) o en los que están presentes como monómeros ($c < \text{CMC}$).

De igual manera se llevó a cabo un estudio de interacción de la molécula de CTAB con la molécula de DCF mediante la oxidación electroquímica por voltamperometría lineal (VL), en disolución amortiguadora pH 7.

En la figura 6.54 se presentan los VL's de DCF 16.34 μM pH 7, los cuales inician en un potencial de corriente nula de 0.2 V hacia potenciales positivos a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} . En línea punteada el VL se presenta en ausencia de CTAB el cual tiene un pico anódico en 0.630 V, mientras que el VL en línea continua es presencia de CTAB 0.1mM y presenta un pico anódico en 0.713 V. La presencia de CTAB no sólo

recorre el pico anódico hacia potenciales positivos 0.83 V sino que además incrementa la corriente de pico anódico en 4.41 μA . Esto evidencia la interacción micelar del CTAB con la molécula de DCF la especie aniónica (ver figura 6.51a).

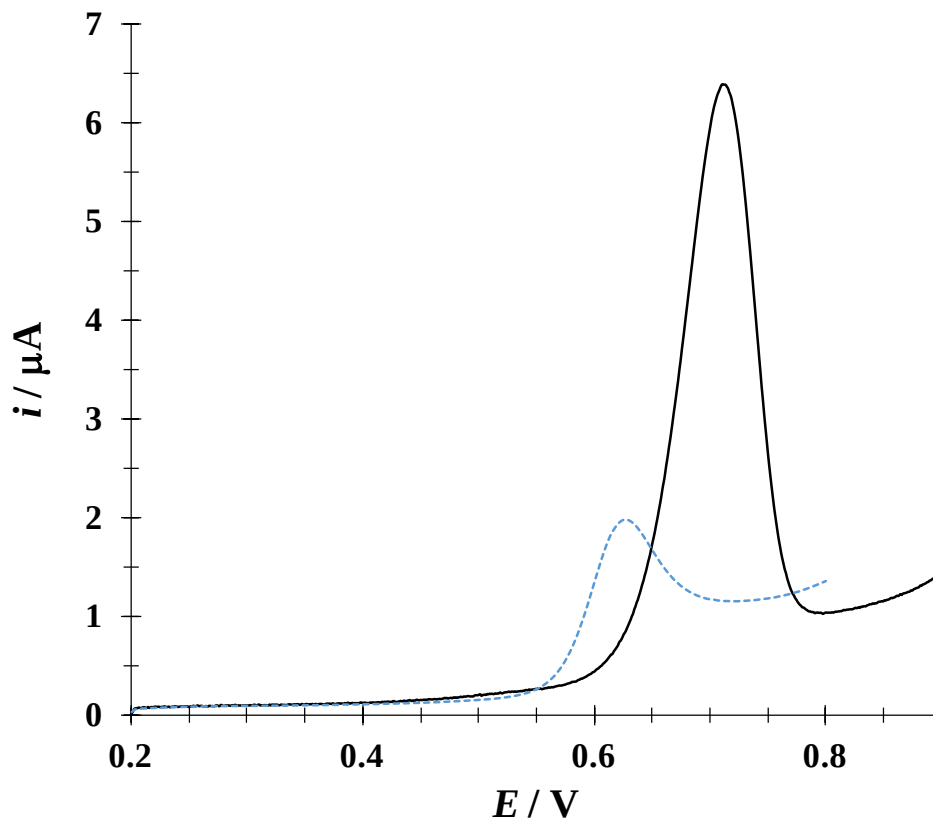


Figura 6.54. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC vs Ag/AgCl / DCF 16.34 μM , (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) iniciando el barrido de potencial en 0.2 V a una velocidad de 100 mVs^{-1} . En línea punteada el VL de DCF en ausencia de CTAB y en línea continua DCF en presencia de CTAB 0.1 mM.

En la figura 6.55 se muestra una familia de VL's obtenidos en EPC 0.1M buffer de fosfatos pH7, 100.0 μM de DCF aplicando diferentes velocidades de barrido de potencial, en el inserto de la figura se observa que la corriente de pico anódico como catódico presentan una tendencia lineal con la velocidad de barrido de potencial, lo que sugiere que la oxidación electroquímica del DCF en presencia de CTAB está controlada por la adsorción. [38]. Comparado con el comportamiento del mismo sobre el electrodo de pasta de carbono en ausencia de CTAB el cual es un proceso controlado por difusión [50].

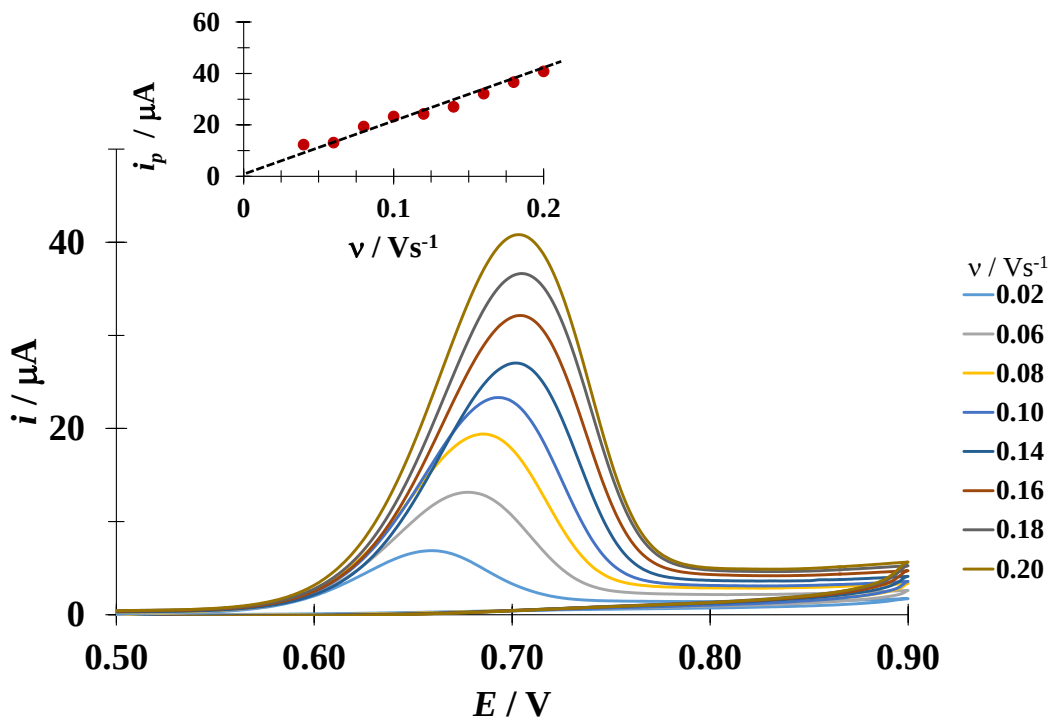


Figura 6.55. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC vs Ag/AgCl / DCF 100.0μM en presencia de CTAB 0.1mM, (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) al variar el potencial del electrodo en dirección anódica, iniciando a 0.4 V) a diferentes velocidades de barrido del potencial indicadas en la figura. El inserto muestra la variación de la corriente de pico anódica (i_{pa}) en función de la velocidad de barrido del potencial (ν). La línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos).

Considerando que la oxidación del DCF en presencia de CTAB está controlada por la adsorción, se lleva a cabo la simulación de VC's utilizando la ecuación 1 propuesta por Laviron [51].

Teniendo en cuenta las anteriores características observadas en los CVs registrados en [CTAB] = 0.1 mM, véase la Figura 6.55, y teniendo en cuenta el caso en el que las especies electroactivas son absorbidas [38,40,51,52] la ecuación (6.5) se ha propuesto para describir las curvas experimentales i - E .

$$i = \frac{n^2 F^2}{RT} \frac{\nu A \Gamma_O^* (b_O / b_R) \exp\left[\left(nF / RT\right)(E - E^{0'})\right]}{\left\{1 + (b_O / b_R) \exp\left[\left(nF / RT\right)(E - E^{0'})\right]\right\}^2} \quad (6.5)$$

Donde los potenciales de reducción se refieren a las especies no absorbidas y Γ_o^* a la cobertura de la superficie. b_o y b_R están relacionados con la energía libre de adsorción ΔG_{ads}^0 a través de las ecuaciones (6.6) y (6.7) respectivamente:

$$b_o = \exp(-\Delta G_{ads,O}^0) \quad (6.6)$$

$$b_R = \exp(-\Delta G_{ads,R}^0) \quad (6.7)$$

El potencial y la corriente de pico son:

$$E_p = E^{0'} - \left(\frac{RT}{nF} \right) \ln \left(\frac{b_o}{b_R} \right) \quad (6.8)$$

$$i_p = \frac{n^2 F^2}{4RT} v A \Gamma_o^* \quad (6.9)$$

Sustituyendo ecuaciones (6.8) y (6.9) en (6.5) se obtiene la ecuación (6.10)

$$i = \frac{4i_p (b_o / b_R) \exp[(nF / RT)(E - E^{0'})]}{\{1 + (b_o / b_R) \exp[(nF / RT)(E - E^{0'})]\}^2} \quad (6.10)$$

La parametrización de la ecuación (3.6) es la ecuación (3.7):

$$i = \frac{P_1 P_2 \exp[P_3(E - P_4)]}{\{1 + P_2 \exp[P_3(E - P_4)]\}^2} \quad (6.11)$$

donde

$$P_1 = 4i_p \quad (6.12)$$

$$P_2 = \frac{b_O}{b_R} \quad (6.13)$$

$$P_3 = \frac{nF}{RT} \quad (6.14)$$

$$P_4 = E^{0'} \quad (6.15)$$

En la figura 6.56 se presenta la comparación de la oxidación del DCF de los VL experimentales en presencia de CTAB para diferentes velocidades de barrido con el VL teórico generado a partir de la simulación no lineal para un proceso de adsorción descrito por la ecuación 6.5, en la cual es posible observar el ajuste del VL experimental con el VL teórico que simula el proceso de adsorción. Durante el proceso de ajuste no lineal se permitió todos los parámetros a variar libremente dando los siguientes valores: $P_1 = (2.70 \pm 0.0807) \times 10^{-5}$ A, $P_2 = (6.79 \pm 7.97) \times 10^{-9}$, $P_3 = (40.3 \pm 1.4) V^{-1}$ y $P_4 = (0.19 \pm 0.043) V$. Cabe mencionar que la descripción teórica es bastante adecuada y las incertidumbres asociadas a los parámetros de mejor ajuste, también son bastante bajos.

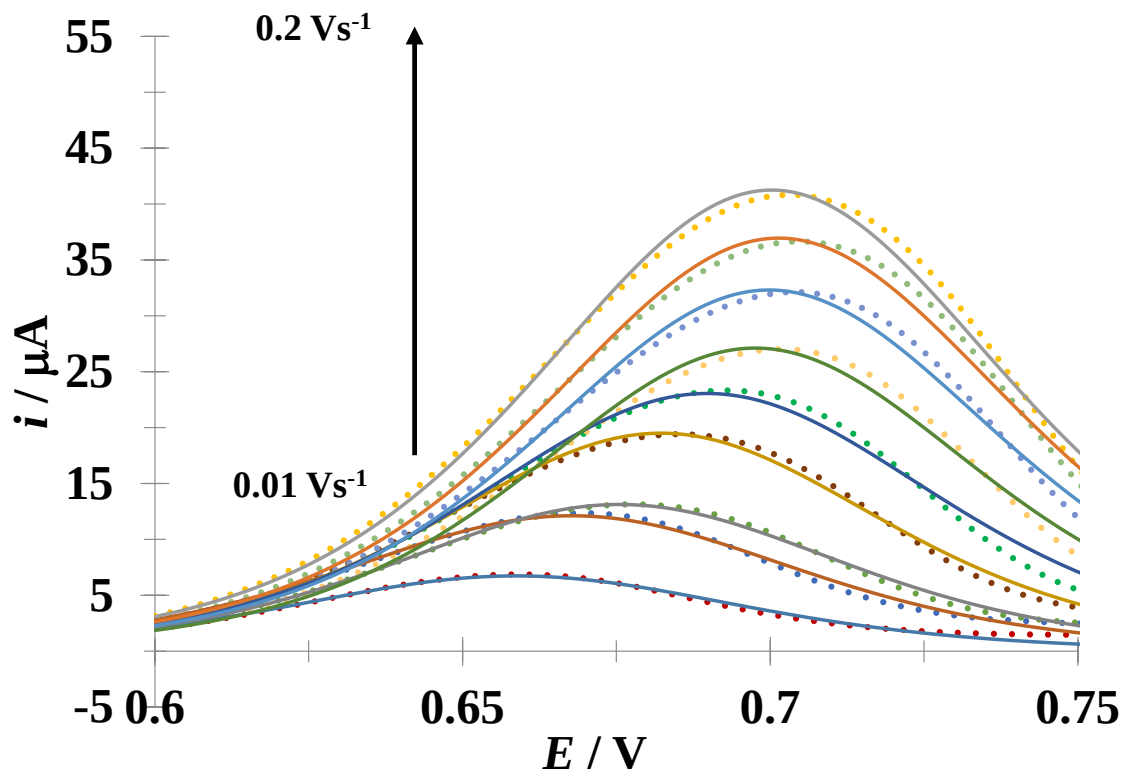


Figura 6.56 Comparación de VL experimental (o) en el sistema EPC vs Ag/AgCl / DCF 100.μM en presencia de CTAB 0.1mM, (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) a diferentes velocidades de barrido con el VL teórico generado a partir de la simulación no lineal descrito por el proceso de adsorción de la ecuación 6.11.

Tabla 6.6. Mejores parámetros obtenidos para el ajuste no lineal de la ec. (6.11) para los VCs en la figura 6.55, registrado a diferentes velocidades de barrido.

v / Vs^{-1}	$P_1 / \mu\text{A}$	$10^9 P_2$	P_3 / V^{-1}	P_4 / V	n^*
0.02	27	6.8	40.3	0.19	1
0.04	48	16.0	40.1	0.22	1
0.06	53	4.7	40.7	0.20	1
0.08	78	12.0	41.2	0.24	1.1
0.14	110	7.6	41.3	0.24	1.1
0.16	130	11.0	40	0.24	1
0.18	150	7.30	39.4	0.23	1
0.2	170	22.0	39.3	0.25	1

* Calculado a partir del parámetro 3

A partir del parámetro P_3 es posible estimar el número de electrones que se intercambian electroquímicamente en la oxidación del DCF en presencia de CTAB teniendo como resultado $n = 1$, el cual es consistente cuando se calcula el número de electrones a partir de $E_{1/2} = 90.6/n$, el cual de igual manera da como resultado $n = 1$.

Una vez teniendo la caracterización de la interacción electroquímica VL del DCF con CTAB se procede con la caracterización electroquímica del ACT. Para ello se llevó a cabo el estudio de la oxidación electroquímica del ACT, mediante VL, en disolución amortiguadora pH 7.

En la figura 6.57 se presentan los VL's de ACT 64.9 μM los cuales inician en un potencial de corriente nula de 0.2 V hacia potenciales positivos a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} . En línea punteada el VL de ACT se presenta en ausencia de CTAB el cual tiene un pico anódico en 0.538 V, así mismo el VL en línea continua es presencia de CTAB 0.1mM presenta un pico en el mismo potencial, sin embargo la corriente de pico anódico incrementa en 1.23 μA . Al igual que con el DCF se evidencia la interacción micelar del CTAB con la molécula de ACT, sin embargo a diferencia del DCF a pH 7 el ACT se encuentra la especie protonada (ver figura 6.51b), considerando que el CTAB es un surfactante catiónico se ve más favorecida la interacción con las especies aniónicas como el DCF a pH 7 y ya que el efecto de la interacción del ACT con el CTAB a 0.1mM no presenta cambios significativos sobre las señales obtenidas del ACT debido a la explicación que se ha dado con anticipación.

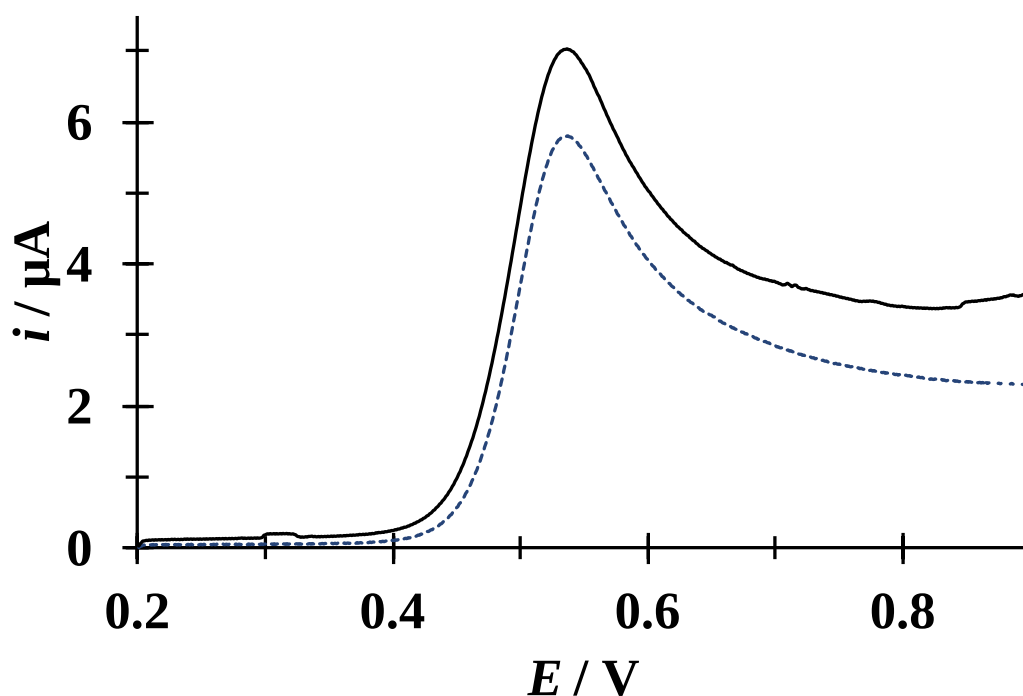


Figura 6.57. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC / ACT 64.9 μM , (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) iniciando el barrido de potencial en 0.2 V a una velocidad de 100 mVs^{-1} . En línea punteada el VL de ACT en ausencia de CTAB y en línea continua ACT en presencia de CTAB 0.1 mM.

En la figura 6.58a se muestra el estudio de velocidades de barrido del ACT y en el inserto de esta figura se puede observar el gráfico de $i_p = f(v-0.5)$ el cual presenta una tendencia lineal, lo que sugiere un comportamiento difusional de la molécula al electrodo [40], al comparar este comportamiento con el de la figura 6.58b donde se presenta el estudio de velocidades de ACT en presencia de CTAB se observa el mismo comportamiento que en ausencia de CTAB, lo que corrobora el poco efecto que presenta el CTAB sobre la molécula sola de ACT.

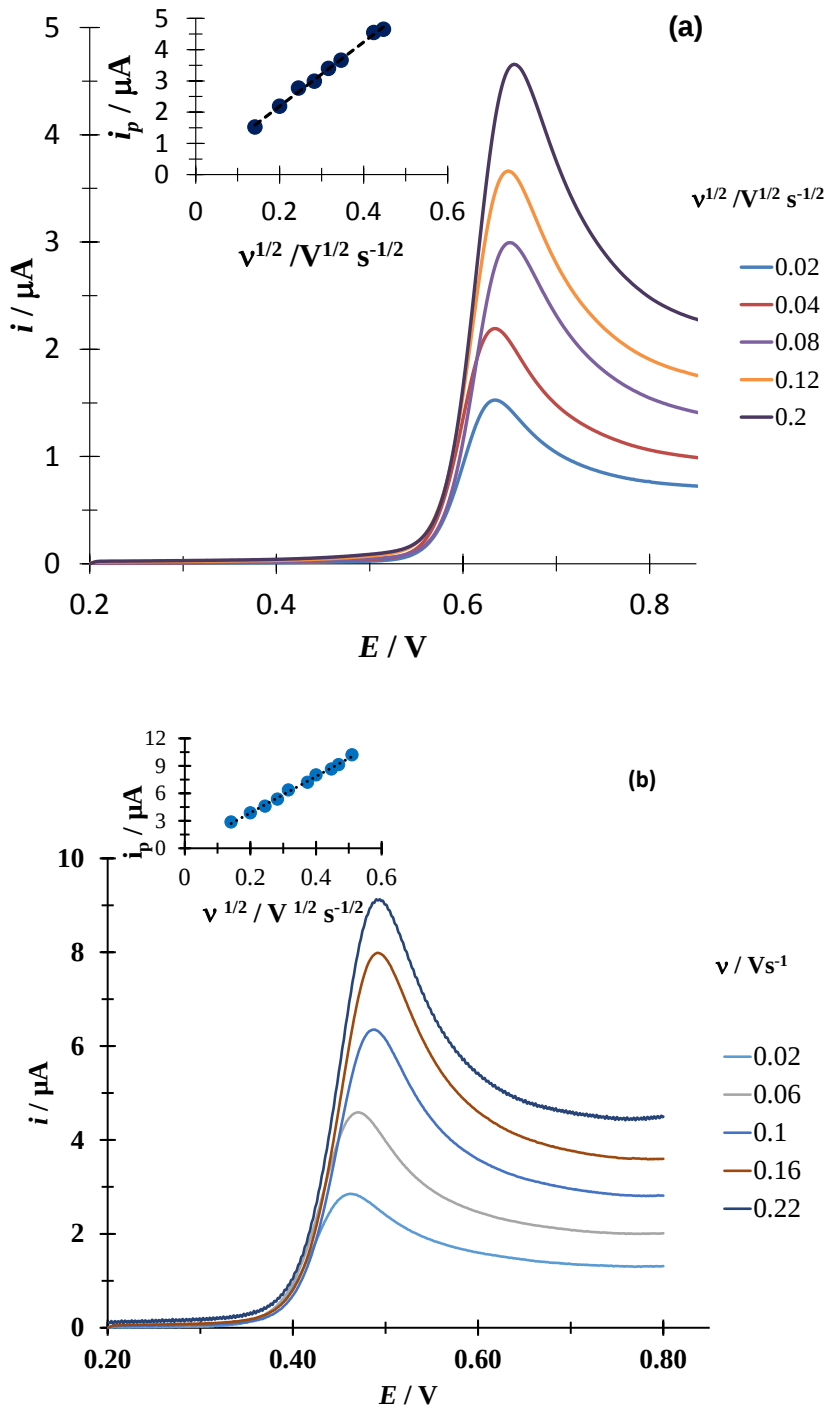
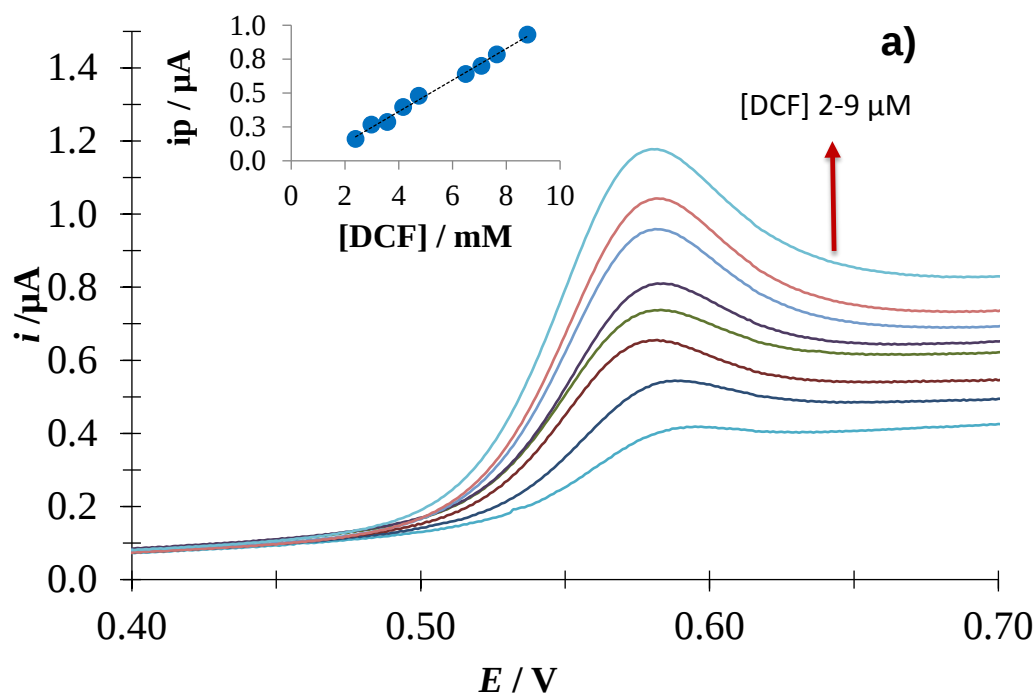


Figura 3.58. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC vs Ag/AgCl / ACT 64.9 μM en presencia de CTAB 0.1mM, (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) al variar el potencial del electrodo en dirección anódica, iniciando a 0.4 V a diferentes velocidades de barrido del potencial indicadas en la figura. **(a)** ACT en ausencia de CTAB. **(b)** ACT en presencia de CTAB 0.1 mM. En los insertos de las figuras se muestra la variación de la corriente de pico anódica (i_{pa}) en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido del potencial (v). La línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos).

Se procede inmediatamente con el estudio de parámetros analíticos de estas dos moléculas

6.3.2 Cuantificación Individual de diclofenaco y acetaminofén.

Se obtuvieron las curvas de calibración mediante VL sobre el electrodo de pasta de carbón se llevaron a cabo a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} iniciando en un potencial de corriente nula de 0.2 V hacia potenciales positivos. Como se muestra en la figura 6.59 las corrientes de pico anódico fueron proporcionales a las concentraciones añadidas de DCF en un intervalo de concentración de $16.32 \mu\text{M}$ a $103.90 \mu\text{M}$. El límite de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) se calcularon siguiendo el método tradicional descrito en la referencia [53].



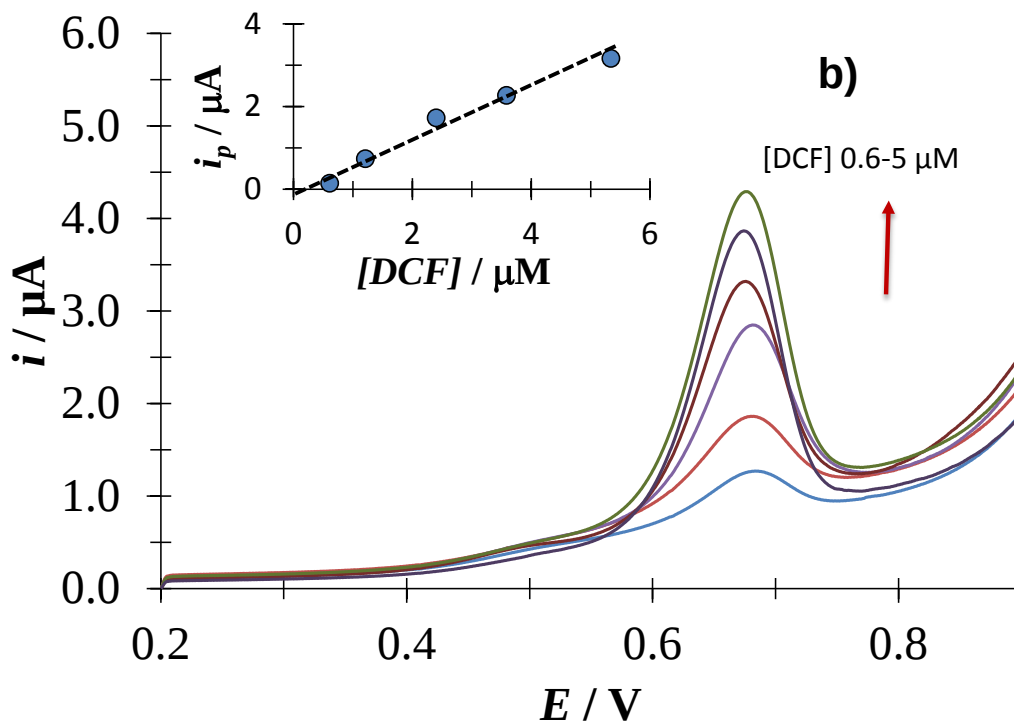


Figura 6.59. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC / DCF (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) iniciando el barrido de potencial en 0.2 V a una velocidad de 100 mVs^{-1} para diferentes concentraciones de DCF, indicadas en la figura. En (a) DCF en ausencia de CTAB 0.1mM y en (b) DCF en presencia de CTAB 0.1mM. El inserto de las figuras se muestra la variación de la corriente de pico anódica (i_p) en función de la concentración de DCF. La línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos).

En la tabla 6.7 se presenta el LOD, LOQ y la sensibilidad del DCF obtenida de las curvas de calibración de la figura 6.59a y 6.59b.

Tabla 6.7. Comparación de LOD, LOQ y sensibilidad para las curvas de calibración de DCF obtenidas a partir de la figura 6.59 para diferentes sistemas de estudio.

Sistema	LOD / μM	LOQ / μM	Sensibilidad / $\mu A \mu M^{-1}$	R^2
Sin CTAB	0.70 ± 0.30	2.4 ± 0.27	0.120 ± 0.004	0.998
Con CTAB	0.73 ± 0.30	2.4 ± 0.28	0.71 ± 0.007	0.999

A partir de las figuras 6.59 a y b es posible estimar la influencia del CTAB en el DCF; obteniéndose los parámetros analíticos mostrados en la Tabla 6.7.

En la tabla 6.8 se presenta una comparación de LOD obtenidos para DCF por medio de otros métodos y técnicas experimentales, se puede apreciar que utilizando simplemente un EPC sin modificar en presencia de CTAB se alcanza el mismo orden de magnitud e incluso en algunos casos se supera, sin embargo donde se utilizan electrodos modificados con nanotubos de carbón o electrodo pirolítico con nanotubos el LOD obtenido en este trabajo para el DCF queda más bajo.

Tabla 6.8. Comparación de LOD y sensibilidad de DCF obtenido en otros trabajos mediante diversas técnicas experimentales con el obtenido en este trabajo.

Técnica	LOD /M	Sensibilidad	Ref.
Electrodo de pasta de carbón en un sistema con CTAB en solución acuosa mediante VL	$(7.3 \pm 3.0) \times 10^{-7}$	$(0.71 \pm 0.007) \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1}$	Este trabajo
Extracción de DCF de muestras de orina pediátrica a través de un nuevo método de barras magnéticas (SBSE) acoplado a HPLC y detección UV.	$(3.78 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-8}$	n.r.	[54]
Determinación de DCF en preparaciones farmacéuticas con reflectancia difusa en la región visible.	$(2 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-3}$	n.r.	[55]
Determinación espectrofluorométrica de DCF en formulaciones farmacéuticas; empleando un complejo de inclusión con β -CD.	$(2.20 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-7}$	$(16 \pm \text{n.r.}) \text{ mL } \mu\text{g}^{-1}$	[18]
Determinación de DCF en plasma con HPLC con detección electroquímica.	$(6.29 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-9}$	n.r.	[56]

Determinación en plasma con aptasensor.	$(2.7 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-7}$	$(15.66 \pm \text{n.r.}) \text{ k}\Omega \text{ M}^{-1}$	[57]
Método para la determinación de DCF en muestras farmacéuticas y de orina, con un electrodo de membrana basado en la asociación de iones de DCF con Rodamina B.	$(5.0 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-6}$	60 ± 1.0	[58]
Determinación de DCF en muestras farmacéuticas con electrodo selectivo a iones con colorante básico (violeta de cristal)	$(2.5 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-5}$	n.r.	[59]
Determinación de DCF en muestras de orina por DPV; extracción del DCF en estado sólido con polímero construido.	$(1.6 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-9}$	n.r.	[60]
Determinación de DCF en orina humana con EPPGE cubierto con nanotubos de carbono.	$(0.82 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-9}$	$(224 \pm \text{n.r.}) \text{ nA } \mu\text{M}^{-1}$	[9]
Determinación de DCF en muestras farmacéuticas y de orina con electrodo de pasta modificado con tirosina (TECP) con DPV	$(3.28 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-6}$	n.r.	[61]
Determinación de DCF con electrodo de vidrio modificado con nanopartículas de $\text{Cu}(\text{OH})_2$, MWCNTs y líquido iónico hidrófobo	$(4 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-8}$	$(0.0147 \pm \text{n.r.}) \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1}$	[62]

n.r. = no reportado

En la figura 6.60 se aprecia los VL de ACT en un intervalo de concentración de 16.32 μM a 103.90 μM donde las corrientes de pico anódico fueron proporcionales a las concentraciones añadidas de ACT y se obtuvieron los parámetros analíticos.

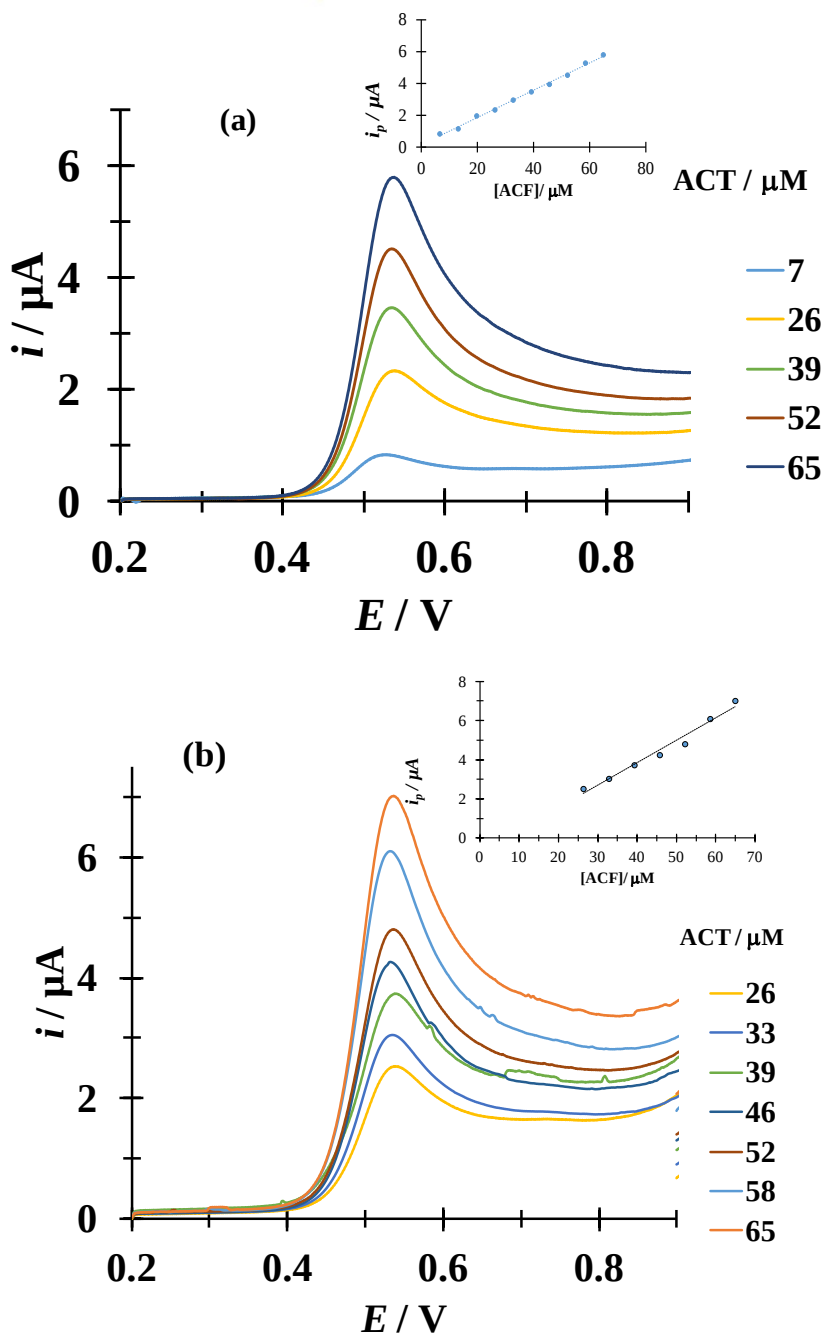


Figura 6.60. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC / ACT (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) iniciando el barrido de potencial en 0.2 V a una velocidad de 100 mVs^{-1} para diferentes concentraciones de ACT, indicadas en la figura. En **(a)** ACT en ausencia de CTAB 0.1mM y en **(b)** ACT en presencia de CTAB 0.1mM. El inserto de las figuras se muestra la variación de la corriente de pico anódica (i_p) en función de la concentración de ACT. La línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos).

En la tabla 6.9 se presenta el LOD, LOQ y la sensibilidad del ACT obtenida de las curvas de calibración de la figura 6.60a y 6.60b. La sensibilidad aumenta en presencia de CTAB. Los parámetros obtenidos comparados con la tabla 6.10 son similares o mejores que algunos métodos reportados en la cuantificación de ACT comparado con otros electrodos y métodos.

Tabla 6.9. Comparación de LOD, LOQ y sensibilidad para los curvas de calibración de ACT obtenidas a partir de la figura 10 para diferentes sistemas de estudio.

Sistema	LOD / μM	LOQ/ μM	Sensibilidad/ $\mu\text{M}^{-1}\mu\text{A}$	R^2
Sin CTAB	3.8 ± 1.5	12.8 ± 1.4	0.085 ± 0.001	0.998
Con CTAB	7.6 ± 3.0	25.4 ± 2.7	0.11 ± 0.01	0.997

La tabla 6.10 evidencia la mejora de los parámetros analíticos del ACT, al igual que en el DCF, cuando se encuentra en presencia de CTAB.

Tabla 6.10. Comparación de LOD de ACT obtenido en otros trabajos mediante diversas técnicas experimentales.

Técnica	LOD / M	Sensibilidad	Ref.
Electrodo de pasta de carbón en un sistema con CTAB en solución acuosa mediante VL	$(0.76 \pm 3.0) \times 10^{-7}$	$(0.11 \pm 0.008) \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$	Este trabajo
Determinación en tabletas siguiendo el producto de la reacción de la formación de compuestos entre acetaminofén y acetoacetato de etilo.	$(3.77 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-7}$	n.r.	[63]

Determinación del analito en tabletas y muestras de orina a través de la foto absorción de la solución comparándose con espectros FTIR.	$(6.62 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-7}$	n.r.	[64]
Determinan acetaminofén a pH 7 en muestras farmacéuticas utilizando un biosensor de grafito con vaselina modificado con tejido de aguacate por medio de la técnica de cronoamperometría.	$(8.8 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-5}$	n.r.	[65]
Determinación de acetaminofén en muestras farmacéuticas y muestras de orina a pH 7 con buffer de fosfatos con electrodo de vidrio modificado con poli (4-vinilpiridina) y nanotubos de carbono por medio de la técnica de DPV.	$(1.69 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-9}$	n.r.	[66]
Determinación de acetaminofén en muestras farmacéuticas con sensor basado en la modificación de un electrodo de pasta de carbono con nanopartículas de oro. La determinación se llevó a cabo por differential pulse adsorptive stripping voltammetry.	$(1 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-8}$	$(1.51 \pm \text{n.r.}) \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1}$	[67]

Determinación de acetaminofén y sus metabolitos con electrodo de carbón vítreo utilizando VC.	$(4.31 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-6}$	n.r.	[68]
Determinan acetaminofén en formulaciones farmacéuticas con electrodos screen-printed modificados con nanotubos de carbono.	$(1 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-7}$	n.r.	[69]
Determinan acetaminofén en presencia de ácido ascórbico a pH 7 en buffer de fosfatos con electrodo de vidrio modificado con una película de 5-amino-1,3,4-tiadiazol-2-tiol.	$(3.4 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-10}$	$(140 \pm \text{n.r.}) \mu\text{A mM}^{-1}$	[70]
Determinan acetaminofén en presencia de ácido úrico en fluidos corporales con electrodo de lápiz de grafito basado en la reducción de N-acetil -p-benzoquinoneimina.	$(2.5 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-9}$	n.r.	[71]
Determinan acetaminofén en tabletas con electrodo de carbón vítreo modificado con grafeno por medio de VC y voltamperometría de onda cuadrada.	$(3.2 \pm \text{n.r.}) \times 10^{-8}$	n.r.	[72]
Determinan acetaminofén y 4-aminofenol en buffer de fosfatos pH 9 que contiene dodecil sulfato de sodio.	-	-	[73]

n.r. = no reportado

6.3.3 Cuantificación simultánea de diclofenaco y acetaminofén

En la figura 6.61 se presentan los VL's de DCF y ACT ambos con una concentración de $51.98 \mu\text{M}$ los cuales inician en un potencial de corriente nula de 0.2 V hacia potenciales positivos a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 Vs^{-1} . En línea punteada el VL se presenta en ausencia de CTAB el cual se presenta un primer pico anódico en 0.525 V el cual corresponde al ACT y un segundo pico anódico en 0.630 V correspondiente al DCF, mientras que el VL en línea continua es presencia de CTAB 0.1mM presenta un primer pico anódico en 0.556 V debido al ACT y un segundo pico anódico en 0.714 V asociado al DCF. Como ya se ha discutido anteriormente, estos cambios se deben a la presencia de CTAB (ver figuras 6.54 y 6.55), pero más aún cabe mencionar que en la presencia de CTAB el pico anódico de DCF sobre sale diez veces más sobre el ACT que si se presenta sin CTAB.

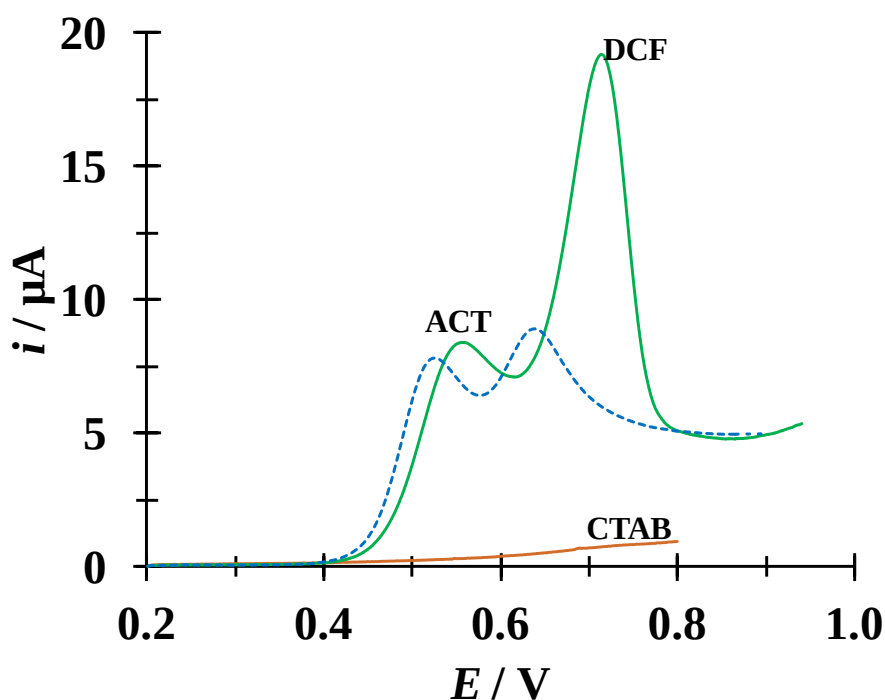
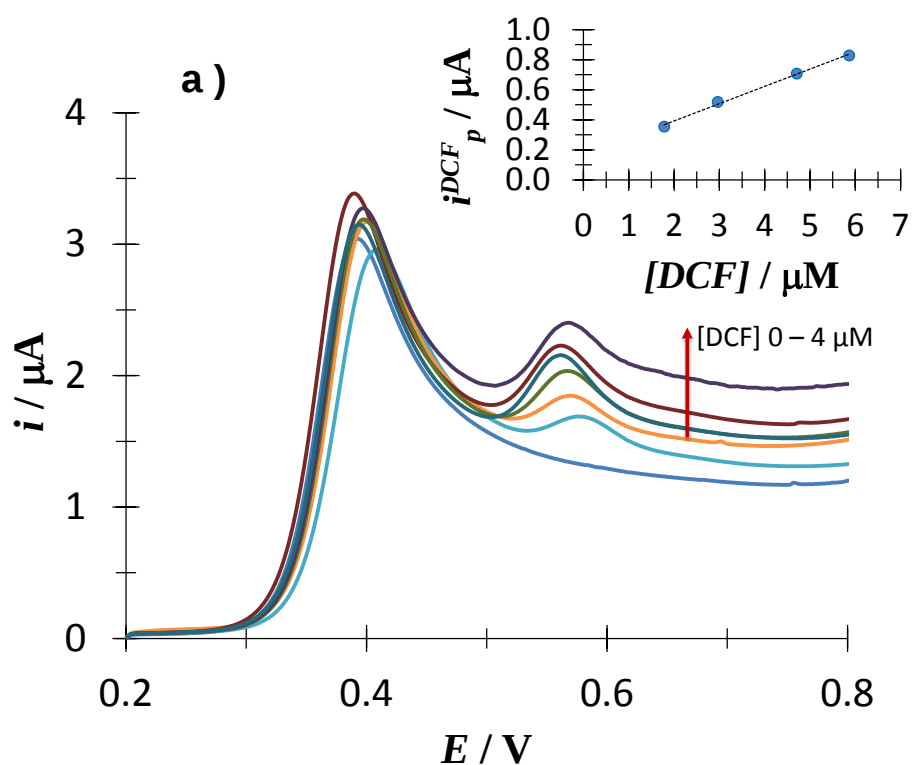


Figura 6.61. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC / ACT/DCF (buffer de fosfatos 0.1M , $\text{pH } 7$) con una concentración de DCF de $51.98 \mu\text{M}$ y de ACT $51.98 \mu\text{M}$. Iniciando el barrido de potencial en 0.2 V a una velocidad de 100 mVs^{-1} . La línea punteada es DCF en presencia de ACT en ausencia de CTAB, la línea continua es DCF en presencia de ACT en presencia de CTAB.

Capitalizando la información obtenida anteriormente se lleva a cabo la determinación de DCF en presencia de ACT. En la figura 6.62 se aprecia los VL de DCF en presencia de ACT en una concentración fija de ACT 48.8 μM en un intervalo de concentración para DCF de 6.59 μM a 64.72 μM donde las corrientes de pico anódico fueron proporcionales a las concentraciones añadidas de DCF.



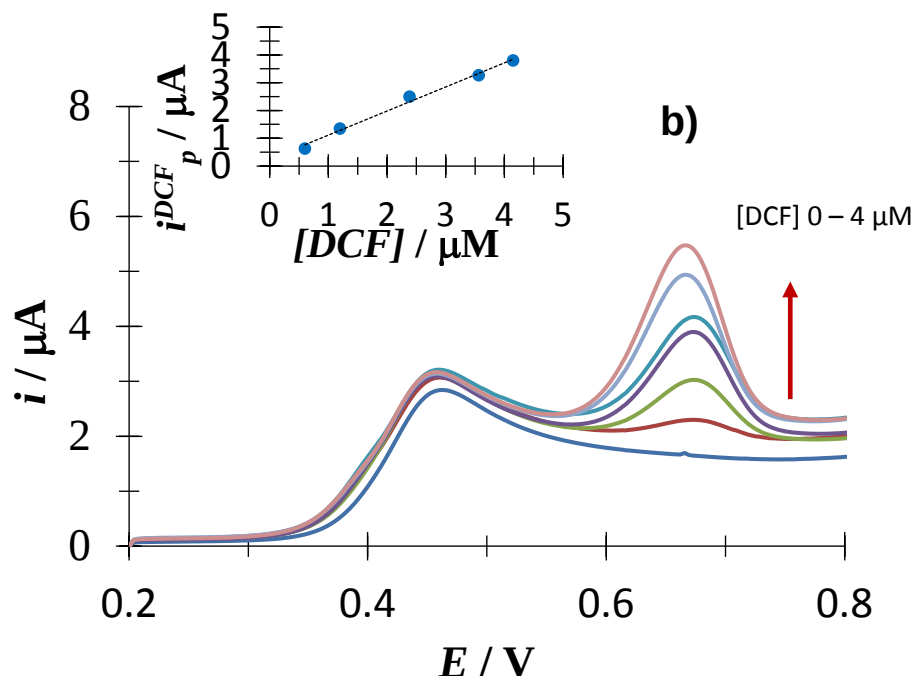


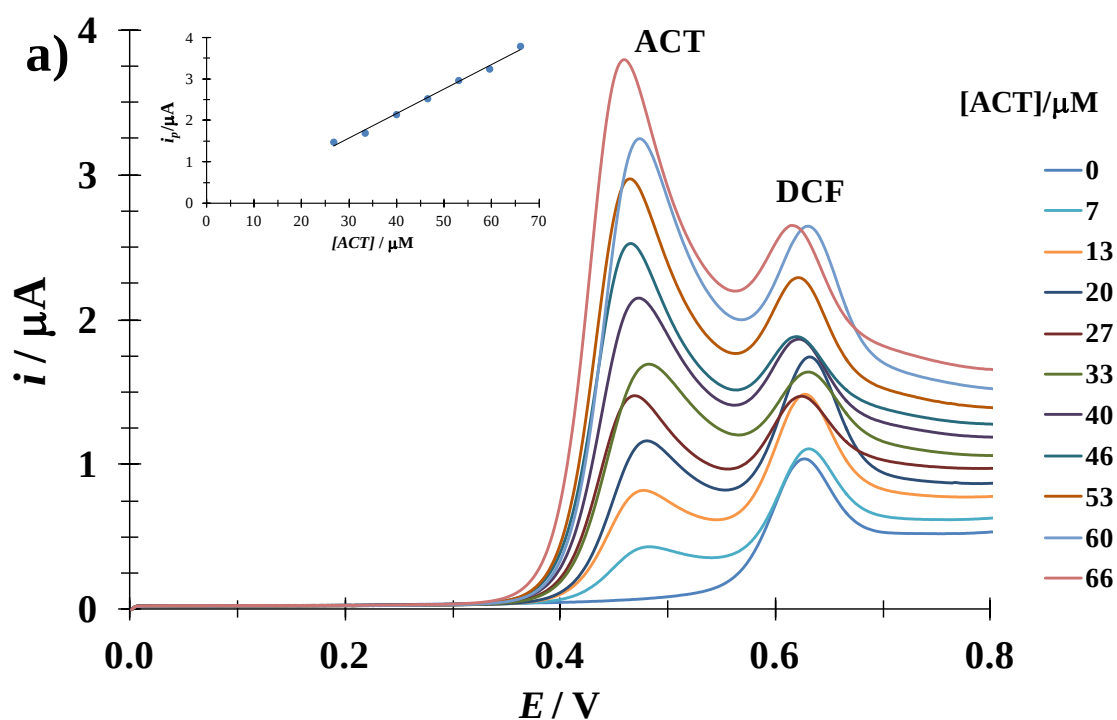
Figura 6.62. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC / ACT/ DCF (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) para una concentración fija de ACT de 48.8 μM . Iniciando el barrido de potencial en 0.2 V a una velocidad de 100 mVs^{-1} para diferentes concentraciones de DCF, indicadas en la figura. En (a) en ausencia de CTAB 0.1mM y en (b) en presencia de CTAB 0.1mM. El inserto de las figuras se muestra la variación de la corriente de pico anódica (i_p) en función de la concentración de DCF. La línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos).

En la tabla 6.11 se presenta el LOD, LOQ y la sensibilidad del DCF en presencia de ACT obtenida de las curvas de calibración de la figura 6.62a y 6.62b. Se observa que LOQ y LOD disminuyen y la sensibilidad mejora. Mejorando los parámetros para la determinación del DCF.

En la tabla 6.12 se presentan los parámetros estadísticos para la determinación de ACT en presencia de DCF.

Tabla 6.11. Comparación de LOD, LOQ y sensibilidad para las curvas de calibración de DCF en presencia de ACT obtenidas a partir de la figura 6.62 para diferentes sistemas de estudio.

Sistema	LOD / μM	LOQ/ μM	Sensibilidad/ $\mu\text{M}^{-1}\mu\text{A}$	R^2
Sin CTAB	1.6 ± 0.62	5.6 ± 0.67	0.10 ± 0.013	0.998
Con CTAB	0.50 ± 0.21	1.7 ± 0.18	0.86 ± 0.04	0.997



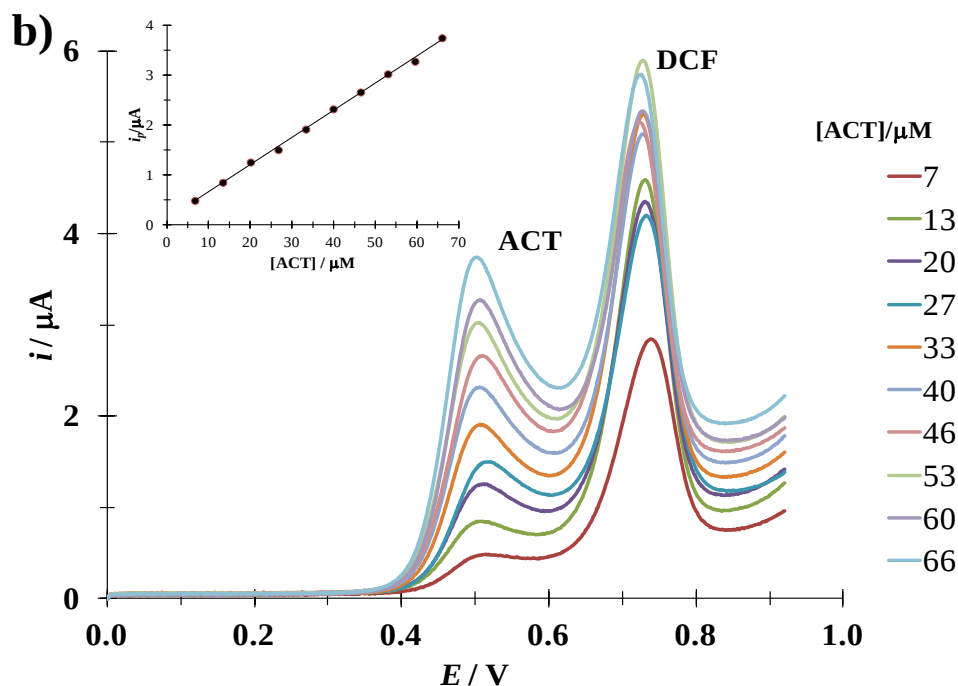


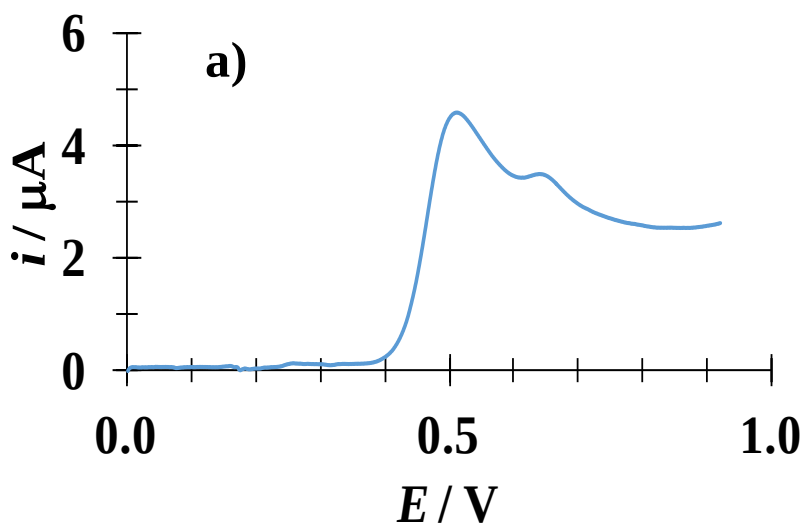
Figura 6.63. VLs experimentales típicas obtenida en el sistema EPC / ACT/ DCF (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7) para una concentración fija de DCF de $6.5 \mu\text{M}$. Iniciando el barrido de potencial en 0.0 V a una velocidad de 100 mVs^{-1} para diferentes concentraciones de ACT, indicadas en la figura. En (a) en ausencia de CTAB y en (b) en presencia de CTAB $40 \mu\text{M}$. El inserto de las figuras se muestra la variación de la corriente de pico anódica (i_p) en función de la concentración de ACT. La línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos).

Tabla 6.12. Comparación de LOD, LOQ y sensibilidad para las curvas de calibración de ACT en presencia de DCF obtenidas a partir de la figura 6.63 para diferentes sistemas de estudio.

Sistema	LOD / μM	LOQ/ μM	Sensibilidad/ $\mu\text{M}^{-1}\mu\text{A}$	R^2
Sin CTAB	2.8 ± 1.8	9.3 ± 1.7	0.062 ± 0.0021	0.998
Con CTAB	2.5 ± 0.9	8.3 ± 0.9	0.054 ± 0.00075	0.997

En la tabla 6.13 se presenta una comparación de LOD obtenidos para la determinación simultánea de DCF y ACT por medio de otros métodos y técnicas experimentales, se puede apreciar que a pesar de existir pocos trabajos de determinación simultánea, cabe resaltar que utilizando simplemente un EPC sin modificar en presencia de CTAB alcanzamos el mismo orden de magnitud e incluso en algunos casos se supera.

Una vez teniendo el estudio de los parámetros analíticos de ACT y DCF por separado y en mezcla se procedió a llevar la determinación de estos fármacos en medicamentos. Siguiendo las relaciones de mezclas que se han hecho de ACT y DCF en formulaciones farmacéuticas y algunos estudios que se han llevado a cabo para su de determinación [74], se determinó la mezcla en una relación de peso/peso 6:1 (ACT/DCF), el ACT se tomó del fármaco Temptra® I.V. solución 500 mg de paracetamol 10 mg/mL y el DCF se tomó de un fármaco genérico intercambiable G.I® Diclofenaco inyectable 75mg/3mL. En la figura 6.64 se presenta los VL del ACT en presencia de DCF, se puede observar en 6.64(a) el VL en ausencia de CTAB y es claro que es difícil de identificar las señales correspondiente de ACT y DCF, en contraste con 6.64(b) donde claramente se presenta en 0.50V la señal de ACT y en 0.758V.



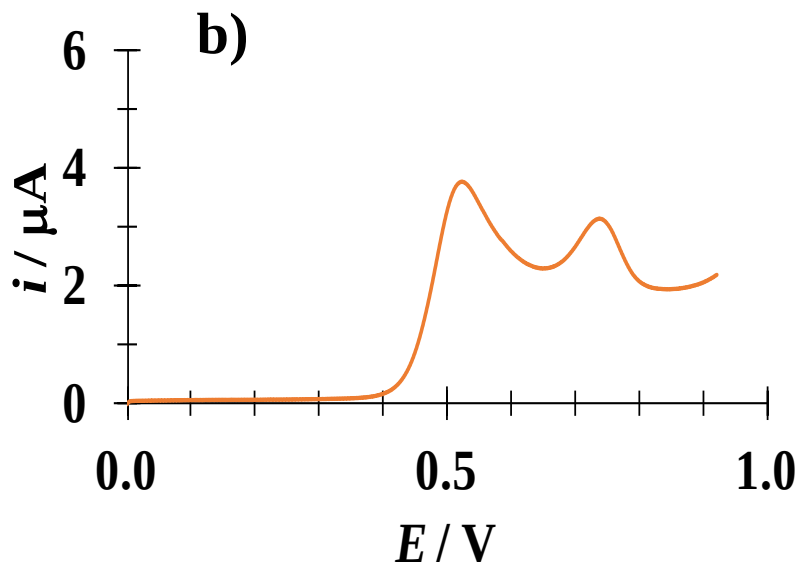


Figura 6.64. VLs experimentales obtenidos en el sistema EPC / Ag/AgCl (buffer de fosfatos 0.1M, pH 7). Iniciando el barrido de potencial en 0.0 V a una velocidad de 100 mVs^{-1} . En **(a)** en ausencia de CTAB y en **(b)** en presencia de CTAB 40 μM .

Tabla 6.13. Comparación de LD de ACT en presencia de DCF obtenido en otros trabajos mediante diversas técnicas experimentales.

Técnica	LOD / M	Sensibilidad	Ref.
Electrodo de pasta de carbón en un sistema con CTAB en solución acuosa mediante VL	$(5.0 \pm 2.1) \times 10^{-7}$	$(0.86 \pm 0.04) \mu A \mu M^{-1}$	Este trabajo
Desarrollan un método quimiométrico para la determinación simultánea de Acetaminofen y Diclofenaco en mezcla sintética y formulaciones farmacéuticas.	n.r.	$5.31 L mg^{-1}$	[75]
Determinan simultáneamente acetaminofén y Diclofenaco por HPLC de fase inversa.	$(1.57 \pm n.r.) \times 10^{-8}$	n.r.	[76]

Determinan Acetaminofen y Diclofenaco simultáneamente por medio de HPLC de fase inversa.	$(8.80 \pm n.r.) \times 10^{-9}$	n.r.	[77]
Determinan simultáneamente acetaminofén y Diclofenaco en formulaciones farmacéuticas por espectrofotometría UV empleando un método de extracción para Acetaminofen.	n.r.	n.r.	[78]
Determinan Acetaminofen y Diclofenaco simultáneamente con HPLC de fase inversa para determinar trazas de los analitos en el equipo de acero que se ocupa para la fabricación de fármacos.	$(3.14 \pm n.r.) \times 10^{-9}$	n.r.	[79]
Se desarrollan dos métodos para la determinación de DCF en muestras farmacéuticas por LSV y GC-MS	5.03×10^{-6} LSV 1.57×10^{-7} GC-MS va en otra tabla	-	[80]
Electrodo de carbón vítreo modificado con 4 phosphatephenyl se utilizó para la determinación simultánea de DCF y ACT utilizando DPV.	-	-	[81]

Electrodo de carbón vítreo se modificó con Grafeno y Poly(diallyldimethylammonium chloride) para la determinación simultánea de DCF y ACT en muestras farmacéuticas y agua de lago.	6.09×10^{-7}	-	[82]
--	-----------------------	---	------

n.r. = no reportado

Cabe resaltar que en varios casos de estudios simultáneos de fármacos los autores no reportan la sensibilidad de su método utilizado así como sus límites de detección determinados, ya que se enfocan únicamente a poder separar las señales de los fármacos. Más aún otros autores como Okoth et. al. [82] pueden reportar límites de detección más bajos que los encontrados en este trabajo sin embargo su método es más complejo y costoso comparado con el método que se presenta en esta propuesta.



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA *Iztapalapa*



Interdisciplina en evolución

ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

Formación de Complejos supramoleculares

6.4 Formación de Complejos Supramoleculares

Anteriormente se ha mostrado la inestabilidad de DFC a pH ácido; Arancibia [18] analizó el comportamiento espectroscópico de DCF a diferentes valores de pH en presencia y ausencia de β -CD encontrando que cuando se encontraba β -CD presente sólo observaba un valor de pKa. A diferencia de cuando se encontraba DCF sólo en donde observaba dos valores de pKa y a lo que dentro del presente trabajo se ha demostrado corresponde a la descomposición de la misma molécula.

Partiendo de lo anterior es visible que la presencia de β -CD mantenía estable la molécula de DCF, debido a la interacción que existe entre ambos. Es por ello que como parte de la caracterización de DCF se evidencia la interacción de DCF con β -CD obteniendo la constante de formación.

6.4.1 Estudio de la formación de complejos

Para la formación del complejo de DCF con β -CD se considera la reacción 6.16 que muestra el equilibrio general para las especies de DCF con β -CD.



La constante de formación global para el equilibrio químico 6.16 está dada por

$$\beta = \frac{|DCFCD'|}{|DCF'| |CD'|}$$

Donde DCF' representa todas las especies de DCF y CD' representa la β -CD.



De la constante de formación global del equilibrio 6.16 se despeja DCFCD' y se sustituye en la ecuación 6.17.

$$DCF'_{Total} = |DCF'| (1 + \beta |CD'|) \quad (6.18)$$

Por otro lado la fracción molar de la especie del DCF' se define como se muestra en la ecuación 6.19.

$$f_{DCF'} = \frac{|DCF'|}{|DCF'_{Total}|} \quad (6.19)$$

Sustituyendo el valor de DCF'_{Total} de la ecuación 6.18 en 6.19 se tiene la fracción molar para la especie de DCF' .

$$f_{DCF'} = \frac{1}{1 + \beta' |CD'|} \quad (6.20)$$

De igual manera se define la fracción molar para la especie de $DCFCD'$ como se muestra en la ecuación 6.21.

$$f_{DCFCD'} = \frac{|DCFCD'|}{|DCF'_{Total}|} \quad (6.21)$$

Sustituyendo nuevamente el valor de DCF'_{Total} de la ecuación 6.19 y el valor despejado de $DCFCD'$ en la ecuación 6.21 se tiene la fracción molar para la especie de $DCFCD'$.

$$f_{DCF'} = \frac{|CD'| \beta'}{(1 + \beta' |CD'|)} \quad (6.22)$$

La suma de las fracciones de las especies debe ser igual a 1 como se muestra en la ecuación 6.23.

$$f_{DCF'} + f_{DCFCD'} = 1 \quad (6.23)$$

Con las fracciones molares para cada especie y a un pH constante es posible obtener un gráfico donde se observa el predominio de cada especie de DCF'_{Total} en función de la concentración de β -CD y pH.

Ahora bien, es posible seguir la absorbancia en función de las especies de DCF' ; esta propiedad física puede ser la absorbancia la cual sigue la ley de Beer-Lambert, siguiendo esta ley es posible determinar la absorbancia para cada especie de DCF' como se muestra en la ecuación 6.24.

$$\begin{aligned} A_{DCF'}^{\lambda_1} &= \epsilon_{DCF'}^{\lambda_1} l |DCF'| \\ A_{DCFCD'}^{\lambda_1} &= \epsilon_{DCFCD'}^{\lambda_1} l |DCFCD'| \end{aligned} \quad (6.24)$$

Donde A^{λ_1} es la absorbancia de la especie a una longitud de onda dada. ϵ^{λ_1} es el coeficiente de absorción de la especie a una longitud de onda dada, l es la longitud de paso óptico de la celda y $[DCF]$ es la concentración de las especies de DCF.

La absorbancia total será igual a la suma de las absorbancias para cada especie como se muestra en la ecuación 6.25.

$$A_{Total}^{\lambda_1} = A_{DCF}^{\lambda_1} + A_{DCFCD}^{\lambda_1} \quad (6.25)$$

6.4.2 Determinación espectrofotométrica de la constante de inclusión de DCF con β -CD a pH 7.

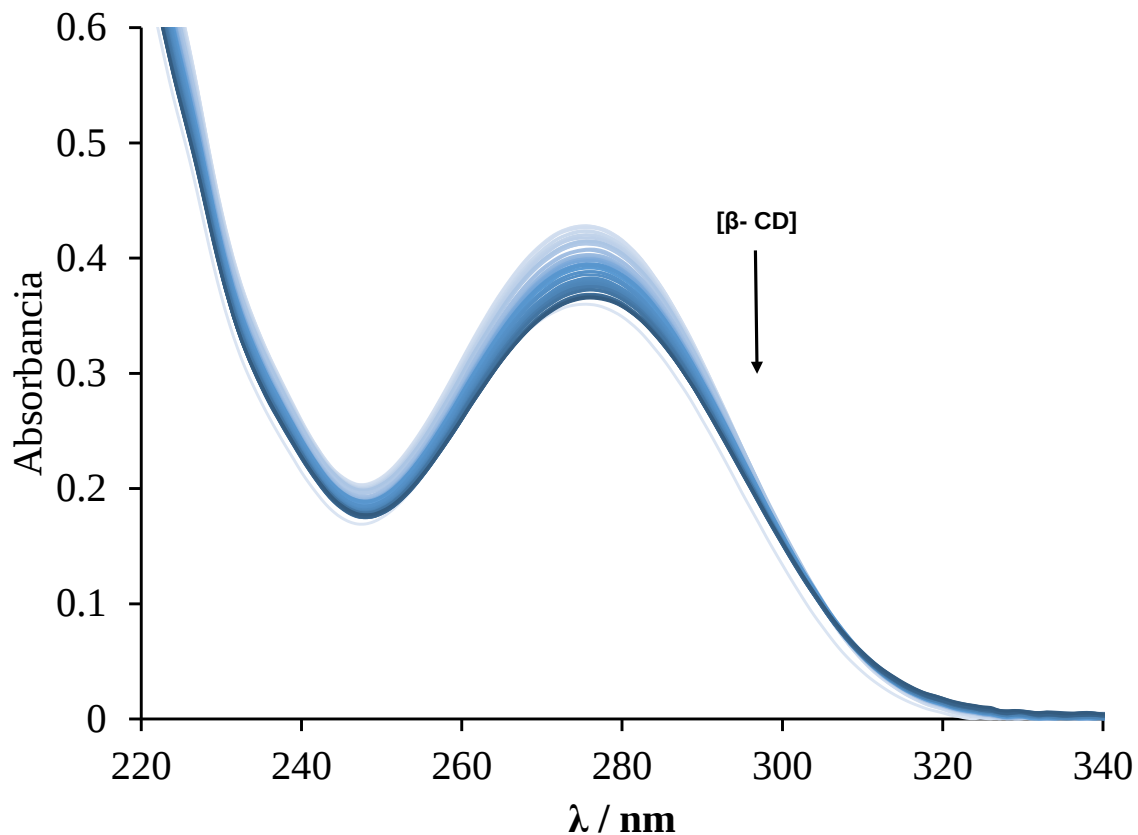
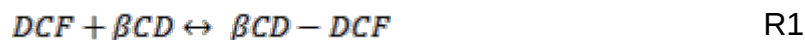


Figura 6.65 .Espectros de absorción obtenidos en una de DCF 32.7 mM a pH 7 y diferentes valores de concentraciones de β -CD, indicadas en la figura en mM.

Para calcular la constante de formación del DCF con β -CD se utilizó el programa computacional SQUAD [37], el cual se alimenta con los espectros de absorción experimentales, la concentración de DCF, la concentración de β -CD, el valor de pH y la propuesta del equilibrio R1.



Del programa SQUAD se obtienen los coeficientes de absortividad molar a cada longitud de onda así como también el valor para la constante de formación, LogK para el equilibrio propuesto R1 junto con su desviación estándar (DS) y la suma de mínimos cuadrados (U), los cuales se muestran en la Tabla 6.14

Tabla 6.14. Constante de formación obtenida a partir de los espectros mostrados en la Figura 6.65 y del programa SQUAD, para 50 espectros de absorción y un intervalo de longitud de onda 220nm a 350 nm.

DCF+ β -CD $\leftrightarrow$ β -CD-DCF	LogK= 4.764 $\pm$ 0.005
--	-------------------------

*6,500 datos utilizados U= 5.800x10⁻²

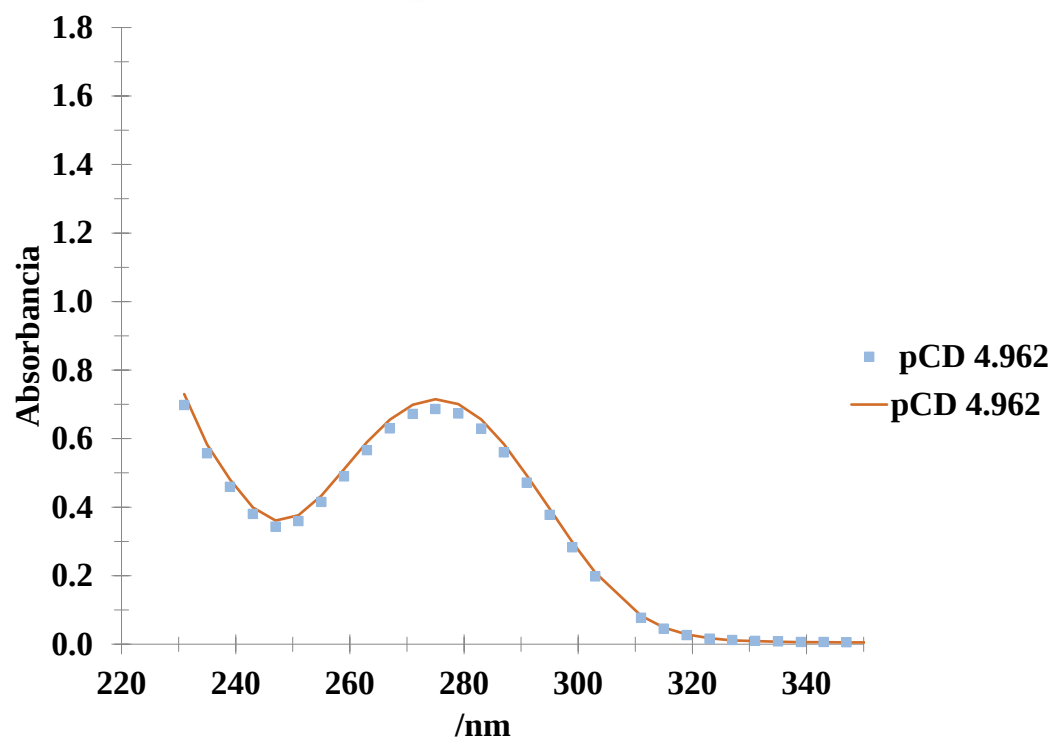


Figura 6.66. Comparación de espectros de absorción obtenidos experimentalmente a pH 7 (puntos) para dos valores de $p\beta$ -CD (9.62 y 4.96) y los espectros de absorción calculados mediante el programa SQUAD (líneas).

7.- Conclusiones

Se concluye que la especie DCFH es inestable contrario a la especie DCF⁻ la cual muestra estabilidad en el tiempo.

La presencia de CTAB en solución mantiene estable la especie neutra (DCFH); por lo que se sugiere existe una interacción entre el fármaco y las micelas del surfactante.

Se determina el valor de pKa para DCF de manera puntual en 3 medios diferentes.

Se propone el mecanismo de la degradación irreversible de la especie neutra de DCF; proponiendo los productos de dicha descomposición y justificando los resultados con la obtención de espectros de absorción comparados con el experimento.

Se muestra a partir de un estudio espectro-electroquímico la oxidación electroquímica de DCF en solución acuosa a pH 7, la cual involucra un mecanismo EC, donde la reacción electroquímica es reversible y ocurre a través de la pérdida de un electrón. Además, la reacción química provoca la ruptura de DCF a través del átomo de Nitrógeno generando así los fragmentos: 2,6 dicloroanilina y 2-(2hidroxiprop-2-enil) fenol.

Se caracteriza sobre un EPC mediante distintas técnicas electroquímicas el DCF y el ACT, se determinó el número de electrones de intercambio del DCF así como su coeficiente de difusión, así mismo se caracterizaron electroquímicamente estos fármacos en presencia de CTAB con el fin de mejorar los parámetros físicos de las moléculas y se proporciona un nuevo método de determinación analítica para el DCF y la determinación simultánea de DCF y ACT.

Se demostró la formación del complejo de inclusión de DCF y β -CD; obteniendo el valor de la constante.

Se evidenció la interacción entre el fármaco DCF y el surfactante CTAB; dicha interacción favorece la estabilidad del fármaco y a su vez permite mejorar la determinación del mismo fármaco.

8.-Perspectivas

En el presente trabajo se demostró la interacción de DCF con CTAB y los beneficios de dicha interacción; sin embargo como parte de su caracterización se podría determinar la constante de unión de entre ambos.

Determinar la constante de inclusión de ACT y β -CD.

Con ayuda de la teoría explorar el complejo de inclusión de DCF- β -CD y de ACT- β -CD. Así como proponer el mecanismo de oxidación de ACT.

Proponer método de determinación de los fármacos con β -CD.

Se ha encontrado que los antiinflamatorios pueden inducir la apoptosis de ciertas células cancerígenas y donde podrían estar involucrados los radicales libres; por lo que se podría explorar la capacidad antioxidante de dichos fármacos.

9.- Referencias

- [1] R. Jones, Nonsteroidal anti-inflammatory drug prescribing: past present, and future, *Am. J. Med.* 110 (2001) 4S–7S.
- [2] V. H. Ramírez, M. R. Palma, N. M. Porras y E. R. Vega, «Antiinflamatorios no esteroidales (AINE'S),» Centro Nacional de Información de Medicamentos, Costa Rica, 2001.
- [3] D. d. P. A.A., «"Reacciones de Hipersensibilidad a los antiinflamatorios no Esteroides",» Murcia, 2010.
- [4] A. N. Papadopoulos, C. Tolia, C. Raptopoulou y et al., «Copper(II) interacting with the non-steroidal antiinflammatory drug flufenamic acid:Structure, antioxidant activity and binding to DNA and albumins,» *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 123, pp. 53-65, 2013.
- [5] I.-S. H. y. G. J. Dong. H. W., «Mefenamic acid-induced apoptosis in human liver cancer cell-lines through caspase-3 pathway,» *Life Sciences*, vol. 75, p. 2439–2449, 2004.
- [6] J.-H. Y. K. K. e. a. Kyung-Su K., «Cyclooxygenase inhibitors induce apoptosis in oral cavity cancer cells by increased expression of nonsteroidal anti-inflammatory drug-activated gene,» *Biochemical and Biophysical Research Communications*, vol. 325, p. 1298–1303, 2004.
- [7] I.J. Higginson, C., Ripamonti, C. Von Gunten, Textbook of palliative medicine, ed Hodder Arnold 2006.
- [8] M. Farré, M. Petrovic, D. Barceló, Recently developed GC/MS and LC/MS methods for determining NSAIDs in water samples, *Anal. Bioanal. Chem.* 387 (2007) 1203–1214.
- [9] R.N. Goyal, S. Chatterjee, B. Agrawal, Electrochemical investigations of diclofenac at edge plane pyrolytic graphite electrode and its determination in human urine, *Sensors and Actuators B* 145 (2010) 743–748.
- [10] Z. Kormosh, I. Hunka, Y. Bazel, Preparation and Characterization of a Diclofenac Sensitive Electrode Based on a PVC Matrix Membrane, *Acta Chim. Slov.* 55 (2008) 261–267.
- [11] Z. Kormosh, I. Hunka, Y. Bazel, An electrode immobilized in a graphite matrix with ion pair complex for the determination of diclofenac in pharmaceuticals, *J. Iran. Chem. Res.* 1 (2008) 25–32.
- [12] M. Hajjizadeh, A. Jabbari, H. Heli, A.A. Moosavi-Movahedi, S. Haghighi, Electrocatalytic oxidation of some anti-inflammatory drugs on a nickel hydroxide-modified nickel electrode, *Electrochim. Acta* 53 (2007) 1766–1774.
- [13] M. Goodarzian, M.A. Khalilzade, F. Karimi, V.K. Gupta, M. Keyvanfar, H. Bagheri, M. Fouladgar, Square wave voltammetric determination of diclofenac in liquid phase using a

novel ionic liquid multiwall carbon nanotubes paste electrode, *J.Molecular Liquids*. 197 (2014) 114–119.

[14] B. Petrie, R. Barden, Barbara Kasprzyk-Hordern, A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring, *Water Research* 72 (2015) 3–27.

[15] K. Ikehata, N.J., Naghashkar, M. Gamal El-Din, Degradation of Aqueous Pharmaceuticals by Ozonation and Advanced Oxidation Processes: A Review; *Ozone: Science and Engineering*, 28 (2006) 353–414.

[16] X. Yang, F. Wang, S. Hu, Enhanced oxidation of diclofenac sodium at a nano-structured electrochemical sensing film constructed by multi-wall carbon nanotubes–surfactant composite, *Materials Science and Engineering C* 28 (2008) 188–194.

[17] S. Babic´, A. J. Horvat, D. M. Pavlovic´ y M. Kastelan-Macan, «Determination of pKa values of active pharmaceutical ingredients,» *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 26, nº 10, pp. 1043-1061, 2007.

[18] J. A. Arancibia y G. M. Escáandar, «Complexation study of diclofenac with b-cyclodextrin and spectrofluorimetric determination,» *The Analyst*, vol. 124, pp. 1833-1838, 1999.

[19] P. Norouzi, F. Dousty, M. Reza Ganjali y P. Daneshgar, «Dysprosium Nanowire Modified Carbon Paste Electrode for the Simultaneous Determination of Naproxen and Paracetamol: Application in Pharmaceutical Formulation and Biological Fluid,» *International Journal of electrochemical science*, vol. 4, pp. 1373 - 1386, 2009.

[20] F. J.H., «Membrane Mimetic Chemistry: characterizations and applications of micelles, microemulsions, monolayers, bilayers, vesicles, host-guest systems and polyions,» de *John Wiley & Sons*, New York, 1982.

[21] T. F. Tadros, *Applied Surfactants Principles and Applications*, Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co, 2005.

[22] Nada Vuc´inic´-Milankovic´, Snez´ana Savic´, Gordana Vuleta, and Slavica Vuc´inic. Natural Surfactant-Based Emulsion Vehicles: A Correlation Between Colloidal Structure and In Vitro Release of Diclofenac Diethylamine. *Journal of Dispersion Science and Technology*, Vol. 31, 1077–1084, 2010.

[23] Weiya Liu, Rong Guo. The interaction between morin and CTAB aggregates. *Journal of Colloid and Interface Science* 290, 564–573, 2005.

[24] G. Alarcón-Angeles, S. Corona-Avendaño, M. Palomar-Pardavé, A. Rojas-Hernández, M. Romero-Romo, M. T. Ramírez-Silva, Selective electrochemical determination of dopamine in the presence of ascorbic acid using sodium dodecyl sulfate micelles as masking agent, *Electrochimica Acta* Vo. 53, No. 6, 3013,2008.

- [25] A. Arellano, S. Santoyo, C. Martn, P. Ygartua, Surfactant effects on the in vitro percutaneous absorption of diclofenac sodium, *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*, 23, 307 1998.
- [26] A. E. Sánchez-Rivera, V. Vital-Vaquier, M. Romero-Romo, M. T. Ramírez-Silva y M. Palomar-Pardavé, «Electrochemical Deposition of Cetyltrimethylammonium Surface Hemimicelles at the Hg/0.1 M NaCl (aq) Interface,» *Journal of the Electrochemical Society*, vol. 151, nº 10, pp. C666-C673, 2004.
- [27] M.T. Ramírez, M.E. Palomar, I. González, A. Rojas-Hernández, Carbon paste electrodes with electrolytic binder: Influence of the preparation method, *Electroanalysis*. 7 (1995) 184–188.
- [28] R. Martínez, M.T. Ramírez, I. González, Voltammetric Characterization of Carbon Paste Electrodes with a Nonconducting Binder. Part I: Evidence of the Influence of Electroactive Species Dissolution into the Paste on the Voltammetric Response. *Electroanalysis*. 10 (1998) 336–342.
- [29] M.J. Frisch, G.W., Trucks, H.B., Schlegel, G.E., Scuseria, M.A., Robb, J.R. Cheeseman, et al., Gaussian 09. Wallingford, CT, USA: Gaussian, Inc.; 2009.
- [30] Y. Zhao, N.E. Schultz, D.G. Truhlar, Design of density functionals by combining the method of constraint satisfaction with parametrization for thermochemistrythermochemical kinetics, and noncovalent interactions, *J. Chem. Theory. Comput.* 2 (2006) 364–382.
- [31] A.V. Marenich, C.J. Cramer, D.G. Truhlar, Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions, *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 6378–6396.
- [32] A. Rojas, I. González, *Anal. Chim. Acta*, Relationship of multidimensional predominance-zone diagrams with multiconditional constants for complexation equilibria, Vol. 246, 435-442, 1991.
- [33] A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez, J. G. Ibáñez, I. González, Construction of Multicomponent Pourbaix Diagrams Using Generalized Species, *J. Electrochem. Soc.*, Vol. 138, 365-371, 1991.
- [34] A. Rojas-Hernández, M.T. Ramírez, I. González, J.G. Ibáñez, Multi-dimensional predominance-zone diagrams for polynuclear chemical species, *Anal. Chim. Acta*, Vol. 259, 95-104, 1992.
- [35] A. Rojas-Hernández, M. T. Ramírez, I. González, Equilibria among condensed phases and a multi-component solution using the concept of generalized species: Part II. Systems with polynuclear species, *Anal. Chim. Acta*, Vol. 278, 335-347, 1993.
- [36] Po-Chang Chiang, Kimberly A. Foster, Marie C. Whittle, Ching-Chiang Su, and Denise K. Pretzer., *Journal of Liquid Chromatography & Related Technologies*, 29, 2291–2301, (2006).

- [37] D. J. Leggett, Computational Methods for Determination of Formation Constant, p.160, Ed. Plenum Press New York and London (1985).
- [38] D.K. Gosser Jr., Cyclic Voltammetry Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms, VCH Weinheim, 1993.
- [39] Joseph Wang, Analytical Electrochemistry, Wiley-VCH Hoboken, New Jersey, 2006.
- [40] A.J. Bard, L.R. Faulkner, Electrochemical Methods and Applications, Wiley Interscience, New York, 2000.
- [41] D.S. Guzmán-Hernández, M.T. Ramírez-Silva, M. Palomar-Pardavé, S. Corona-Avendaño, Annia Galano, A. Rojas-Hernández, M. Romero-Romo, Electrochemical characterization of tenoxicam using a bare carbon paste electrode under stagnant and forced convection conditions. *Electrochim. Acta* 59 (2012) 150–155.
- [42] A.J. Bard, G. Inzelt, F. Scholz, *Electrochemical Dictionary*, 2nd edition, ed. Springer, p 540 2012.
- [43] P.H. Rieger, *Electrochemistry*, second edition, ed. Chapman & Hall, pp. 212, 1994.
- [44] M.T. Ramírez-Silva, D.S. Guzmán-Hernández, A. Galano, A. Rojas-Hernández, S. Corona-Avendaño, M. Romero-Romo, M. Palomar-Pardavé, Spectro-electrochemical and DFT study of tenoxicam metabolites formed by electrochemical oxidation, *Electrochim. Acta* 111 (2013) 314–323.
- [45] W. Kaim, J. Fiedler, Spectroelectrochemistry: the best of two worlds, *Chem. Soc. Rev.* 38 (2009) 3373–3382.
- [46] P. Nalawade, T. Mukherjee, S. Kapoor, Green Synthesis of Gold Nanoparticles Using Glycerol as a Reducing Agent, *Advances in Nanoparticles* 2 (2013) 78–86.
- [47] D. Vogna, R. Marotta, A. Napolitano, R. Andreozzi, M. d'Ischia, Advanced oxidation of the pharmaceutical drug diclofenac with UV/H₂O₂ and ozone, *Water Research* 38 (2004) 414–422.
- [48] A. Einstein, *Ann . Phys. (Leipzig)* 17 (1905) 549.
- [49] G.G. Stokes, *Mathematic*] A.V. Marenich, C.J. Cramer, D.G. Truhlar, Universal solvation model based on solute electron density and on a continuum model of the solvent defined by the bulk dielectric constant and atomic surface tensions, *J. Phys. Chem. B* 113 (2009) 6378–6396. *al and Physical Papers (Cambridge University Press Cambridge, 1903), Vol. 3 (esp. Sect. IV).*
- [50] M.M. Cid-Cerón, D.S. Guzmán-Hernández, M.T. Ramírez-Silva, A. Galano, M. Romero-Romo, M. Palomar-Pardavé. New insights on the kinetics and mechanism of the electrochemical oxidation of diclofenac in neutral aqueous medium. *Electrochimica Acta* Vol. 199, 92–98, 2016.

- [51] Laviron, Adsorption, autoinhibition and autocatalysis in polarography and in linear potential sweep voltammetry, J. Electroanal. Chem. Vol. 52, 355-393, 1974.
- [52] S. Corona-Avendaño, Georgina Alarcón-Angeles, M.T. Ramírez-Silva, G. Rosquete-Pina, M. Romero-Romo, M. Palomar-Pardavé. On the electrochemistry of dopamine in aqueous solution. Part I: the role of [SDS] on the voltammetric behavior of dopamine on a carbon paste electrode. Journal of Electroanalytical Chemistry 609 (2007) 17-26.]
- [53] M. E. Swatz, I. S. Krull, Analytical Method Development and Validation, Marcel Dekker, New York, 1997.
- [54] P. L. Kole, J. Millership, J. C. McElroy, Determination of diclofenac from paediatric urine samples by stir bar sorptive extraction (SBSE)–HPLC–UV technique, Talanta, Vol. 85, 1948-1958, 2011.
- [55] M. Tubino, R. Leandro de Souza, Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations by diffuse reflectance photometry, Talanta, Vol. 68, 776-780, 2006.
- [56] A. Chmielewska, L. Konieczna, A. Plenis, M. Bieniecki, H. Lamparczyk, Determination of diclofenac in plasma by high-performance liquid chromatography with electrochemical detection, Biomed. Chromatogr. Vol. 20, 119-124 2006.
- [57] L. Kashefi-Kheyrabadi, M. A. Mehrgardi, Design and construction of a label free aptasensor for electrochemical detection of sodium diclofenac, Biosensors and Bioelectronics Vol. 33, 184-189, 2012.
- [58] Z. Kormosh, I. Hunka, Y. Bazel, A. Laganovsky, I. Mazurenko, N. Kormosh. Determination of diclofenac in pharmaceuticals and urine samples using a membrane sensor based on the ion associate of diclofenac with Rhodamine B. Central European Journal of Chemistry, Vol. 5, No. 3, 813-823, 2007.
- [59] Z. Kormosh, I. Hunka, Y. Bazel, N. Kormosh, A. Laganovsky, I. Mazurenko A New Diclofenac Membrane Sensor Based on Its Ion Associate with Crystal Violet. Application to Diclofenac Determination in Urine and Pharmaceuticals, J. Iran. Chem. Soc., vol. 4, No. 4, 408-413, 2007.
- [60] L. Fernández-Llano, M. Carmen Blanco-López, M. Jesús Lobo- Castañón, A. J. Miranda-Ordieres, P. Tuñón-Blanco, Determination of Diclofenac in Urine Samples by Molecularly-Imprinted Solid-Phase Extraction and Adsorptive Differential Pulse Voltammetry, Electroanalysis vol. 19, No.15, 1555-1561, 2007.
- [61] B. K. Chethana, S. Basavanna, Y. Arthoba Naik, Voltammetric Determination of Diclofenac Sodium Using Tyrosine-Modified Carbon Paste Electrode, Ind. Eng. Chem. Res., Vol. 51, 10287-10295, 2012.
- [62] Majid Arvand, Tahereh M. Gholizadeh, Mohammad Ali Zanjanchi, MWCNTs/Cu(OH)₂ nanoparticles/IL nanocomposite modified glassy carbon electrode as a voltammetric

sensor for determination of the non-steroidal anti-inflammatory drug diclofenac, Materials Science and Engineering C Vol. 32 , 1682-1689 ,2012.

[63] María de los A. Oliva, Roberto A. Olsina, Adriana N. Masi. Selective spectrofluorimetric method for paracetamol determination through coumarinic compound formation, Talanta 66, 229–235, 2005.

[64] Sirajuddin, Abdul R. Khaskheli, Afzal Shah, Muhammad I. Bhanger, Abdul Niaz, Sarfaraz Mahesar. Sampler spectrophotometric assay of paracetamol in tablets and urine samples. Spectrochimica Acta Part A, Vol. 68, 747–751, 2007.

[65] O. Fatibello-Filho, K. Omuro Lupetti, I. Cruz Vieira. Chronoamperometric determination of paracetamol using an avocado tissue (Persea americana) biosensor. Talanta Vol. 55, 685–692, 2001.

[66] Abdussalam Salhin Mohamed Ali, Norita Mohamed, Sulaiman Ab Ghani. Sensitive voltammetric determination of paracetamol by poly (4-vinylpyridine)/multiwalled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode Hanieh Ghadimi, Ramin M.A.Tehrani, Analytica Chimica Acta Vol. 765, 70-76, 2013.

[67] Ying Zhang, Liqiang Luo, Yaping Ding, Xiao Liu, Zheyuan Qian. A highly sensitive method for determination of paracetamol by adsorptive stripping voltammetry using a carbon paste electrode modified with nanogold and glutamic acid. Microchim Acta Vol.171 133–138, 2010.

[68] Irena Baranowska, Marta Koper. The Preliminary Studies of Electrochemical Behavior of Paracetamol and Its Metabolites on Glassy Carbon Electrode by Voltammetric Methods Electroanalysis Vol. 21, No. 10, 1194 – 1199, 2009.

[69] P. Fanjul-Bolado, P. J. Lamas-Ardisana, D. Hernández-Santos, A. Costa-García. Electrochemical study and flow injection analysis of paracetamol in pharmaceutical formulations based on screen-printed electrodes and carbon nanotubes. Analytica Chimica Acta Vol. 638, 133–138, 2009.

[70] Palraj Kalimuthu, S. Abraham John. Selective electrochemical determination of paracetamol using nanostructured film of functionalized thiadiazole modified electrode. Electroanalysis Vol. 22, No. 3, 303 – 309, 2010.

[71] Ali Özcan, Yücel Sahin. A novel approach for the determination of paracetamol based on the reduction of N-acetyl-p-benzoquinoneimine formed on the electrochemically treated pencil graphite electrode. Analytica Chimica Acta Vol. 685, 9–14, 2011.

[72] X. Kang, J. Wang, H. Wu, J. Liu, I. A. Aksay, Y. Lin. A graphene-based electrochemical sensor for sensitive detection of paracetamol .Talanta Vol. 81, 754–759, 2010.

[73] T. Németh, P. Jankovics, J. Németh-Palotás, H. Koszegi-Szalai. Determination of paracetamol and its main impurity 4-aminophenol in analgesic preparations by micellar

electrokinetic chromatography. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis Vol. 47, 746–749, 2008.

[74] Patricia M. Castellano, Silvana E. Vignaduzzo, Ruben M., Maggio Teodoro, S. Kaufman, Application of a chemometric method for simultaneous determination of acetaminophen and diclofenac in content-uniformity and drug-dissolution studies, Anal Bioanal Chem Vol. 382, 1711–1714, 2005.

[75] P. M. Castellano, Silvana E. Vignaduzzo, R. M. Maggio, Teodoro S. Kaufman .Application of a chemometric method for simultaneous determination of acetaminophen and diclofenac in content-uniformity and drug-dissolution studies. Anal Bioanal Chem Vol. 382, 1711–1714, 2005.

[76] B.Gowramma, S. Rajan, S. Muralidharan, S. N. Meyyanathan and B. Suresh .A validated RP-HPLC method for Simultaneous estimation of paracetamol and Diclofenac potassium in pharmaceutical formulation. Int.J. ChemTech Res. Vol. 2, No.1, 676-680, 2010.

[77] K. Jana, L. Adhikari, S.K Moitra And A. Behera. Analysis of multicomponent drug formulations (diclofenac and paracetamol. Asian J Pharm Clin Res., Vol 4, No 2, 41-43, 2011.

[78] S. Beeravolu, R. K. Vejendla, S. K. Nagula. Estimation and validation of uv visible spectrophotometric method for combined Tablet dosage form of paracetamol and diclofenac sodium using extraction technique. International Journal of Pharmacy&Technology Vol.4, No. 3, 4733-4740, 2012.

[79] Sindhur Nag N, Gouthami B, Madhuri L, Krishnaveni N, Meyyanathan S N and Suresh B. Development and validation of a RP-HPLC method for the simultaneous determination of paracetamol and diclofenac potassium on stainless steel surface of pharmaceutical manufacturing equipments. J. Chem. Pharm. Res., Vol. 4, No.3, 1670-1675,2012.

[80] Bilal Yilmaz, Ulvihan Ciltas. Determination of diclofenac in pharmaceutical preparations by voltammetry and gas chromatography methods. Journal of Pharmaceutical Analysis Volumen 5 No. 3, 153–160,2015.

[81] Tingting Zhou, Lili Li, Jiabo Wang, Xuesong Chen, Guocheng Yang and Yuping Shan. 4 Phosphatephenyl-modified glassy carbón electrode for real-time and simultaneous electrochemical monitoring of paracetamol and diclofenac release from electrospun nanofibers. Anal. Methods Vol. 7, 9289–9294, 2015.

[82] Otieno Kevin Okoth, Kai Yan, Lan Liu, and Jingdong Zhang. Simultaneous Electrochemical Determination of Paracetamol and Diclofenac Based on Poly (diallyldime hylammonium chloride) Functionalized Graphene. Electroanalysis Vol. 28, 76 – 82,201

[83] A.E Sánchez-Rivera, S. Corona-Avenidañoa, G Alarcón-Angeles, A. Rojas-Hernández, M.T Ramírez-Silva, M.A Romero-Romo. Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. Vol. 59, No. 13, 3193–3203,2003.



NEW INSIGHTS ON THE KINETICS AND MECHANISM OF THE ELECTROCHEMICAL OXIDATION OF DICLOFENAC IN NEUTRAL AQUEOUS MEDIUM

M.M. Cid-Cerón^a, D.S. Guzmán-Hernández^c, M.T. Ramírez-Silva^{a,*}, A. Galano^a,
M. Romero-Romo^b, M. Palomar-Pardavé^{b,*}

^a Universidad Autónoma Metropolitana Iztapalapa, Departamento de Química, Av. San Rafael Atláhuo # 195, Col. Vicentina, D.F., C.P. 09340, México

^b Universidad Autónoma Metropolitana Azcapotzalco, Departamento de Materiales, Av. San Pablo #180, Col. Reynosa-Tamauilpas, D.F., C.P. 02200, México

^c Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Carretera Pachuca-Tulancingo km 4.5, 42184 Mineral de la Reforma, Hidalgo, México



ARTICLE INFO

Article history:

Received 28 December 2015

Received in revised form 15 March 2016

Accepted 16 March 2016

Available online 17 March 2016

Keywords:

Diclofenac

CPE

electrochemistry

oxidation

mechanism

kinetics

ABSTRACT

The diclofenac (DCF) electrochemical oxidation mechanism was studied through: linear voltammetry (LV), chronoamperometry (CA) sampled-current voltammetry (SCV), potentiostatic coulometry (PC) cyclic voltammetry (CV) under stagnant conditions and linear voltammetry under forced convection conditions (FCLV) over a carbon paste electrode (CPE) from an aqueous medium containing 0.1 M phosphate buffer at pH 7. It was found that the DCF electrochemical oxidation involves an EC mechanism, where the electrochemical reaction is carried out through a one electron-exchange while the chemical reaction involves breaking up the DCF through the nitrogen atom, thereby generating the fragments 2,6-dichloroaniline and 2-(2-hydroxyprop-2-enyl)phenol. Reversing the potential scan in the cathodic direction at different scan rates and regardless of its rate, after the oxidation peak, it was found that it was possible to reduce only 38% of the DCF oxidized. The spectrophotometric study carried out during different macro-electrolysis periods allowed observing that the current decrease of the oxidation peak coupled to the DCF absorption (at 270 nm), together with the development of a new spectrophotometric absorption maximum (450 nm), all confirm the EC mechanism proposed. With the use of several experimental techniques (CA, LV and FCLV) and theoretical ones using the Stokes-Einstein approach, the DCF diffusion coefficient was determined, this being in average $8.1 \times 10^{-6} \text{ cm}^2 \text{ s}^{-1}$.

© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. INTRODUCTION

The use of pharmaceuticals in society has become vital for treating diverse illnesses. The non steroidal anti inflammatory drugs (NSAIDs) have analgesic, antipyretic and anti inflammatory effects. The reason for their popularity is because they do not produce sedation or addiction and of their unrestricted purchase. Subsequent to isolation of the acetylsalicylic acid in 1829 the NSAIDs have been used in human medicine because they have been fully accepted as relatively safe, to the point that no medical prescription is required [1] so that any person can access the drug, consequently it is one of the most popular drugs consumed.

The (2 - [(2,6-dichlorophenyl) amino] phenyl acetate) or diclofenac (DCF), see Fig. 1, is considered a NSAIDS because of its analgesic, antipyretic and anti inflammatory properties [2]. It is a quick acting, long lasting analgesic that if frequently prescribed in clinical medicine for treating rheumatoid arthritis, osteoarthritis, non-articular rheumatism and sport lesions. On consideration of this, different methods have been implemented for its quantification, although some of them are based on chromatography-mass spectrometry, liquid chromatography and electrospray ionization [3] and electrochemical [4–8]. However, only few studies have duly informed, on relevant features of DCF, like the kinetics and mechanisms involved during its electrochemical oxidation, the number of electrons lost during its electrochemical oxidation process and in particular the value of its diffusion coefficient in aqueous medium. Human indiscriminate disposal of DCF into the sewages and water bodies has led to its considering as an emerging pollutant, therefore, all information leading to DCF identification and or its oxidation products is relevant [9,10]. Furthermore, this

* Corresponding authors.

E-mail addresses: mtr218@xanum.uam.mx (M.T. Ramírez-Silva), mepp@correo.azc.uam.mx (M. Palomar-Pardavé).

<http://dx.doi.org/10.1016/j.electacta.2016.03.094>
0013-4686/© 2016 Elsevier Ltd. All rights reserved.



Casa abierta al tiempo

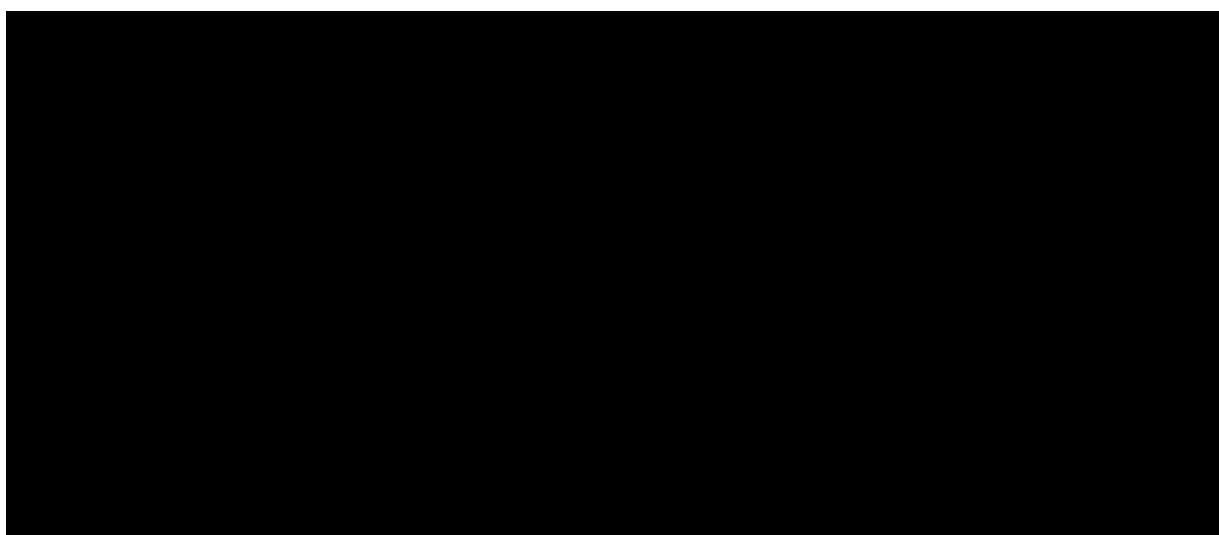
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

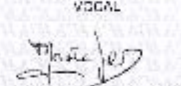
Iztapalapa



Interdisciplina en evolución

ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA



 MIN. RA. EUGENIA MARLENNÉ CID CERON ALUMNA	Bajo la Presid. de la reunión a la presentación de la Secretaría la UTM, se reunieron a la presentación de la Tesis de Investigación, cuya denominación aparece al margen, para la notación del grado de: DOCTORA EN CIENCIAS QUÍMICAS DR. MIRIAM EUGENIA MARLENNÉ CID CERON y de acuerdo con el artículo VII fracción IV del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron: Aprobar Acto continuo, el presidente del jurado comunicó a la interesada el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue reada la protesta.
REVISÓ  LIC JULIO CESAR DE LARINASSI DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES	PRESIDENTE  DR. MANUEL EDUARDO PALOMAR FARCANE VOCAL  DRA. MARIA VILLY VILLA
VOCAL  DRA. GABRIELA ROSA MORALES	VOCAL CANCELADO DR. FERNANDO CORTES GUZMAN SECRETARIA  DRA. SILVIA CORONA AVILA