



Casa abierta al tiempo



Área de
Química Analítica

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

UNIDAD IZTAPALAPA

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICAS E INGENIERIA

**“CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACIÓN ELECTROQUÍMICA
DEL PIROXICAM SOBRE UN ELECTRODO DE PASTA DE
CARBONO”**

Tesis que presenta

Miguel Ángel Martínez Cruz

Para obtener el grado de

Maestro en Ciencias (Química)

Asesora : Dra. María Teresa Ramírez Silva

Jurado calificador:

Presidente: Dr. Mario Alberto Romero Romo

Secretario: Dra. Elsa Miriam Arce Estrada

Vocal: Dra. Gabriela Roa Morales

Ciudad de México, julio 2018

AGRADECIMIENTOS

A **CONACyT**, por el apoyo financiero otorgado a través de la beca para estudios de Maestría, con numero de becario 616057.

A la Dra. Arce, Dra. Gabriela y al Dr. Mario Romero por el tiempo que se tomaron en la revisión y observaciones para mejora esta tesis.

A la Dra. Tere Ramírez por su apoyo, comentarios y sugerencias para realizar este proyecto.

Al Dr. Manuel Palomar por sus observaciones y sugerencias para mejorar este trabajo.

A la Dra. Dafne Guzmán por enseñarme algunas técnicas electroquímicas y su tiempo.

Al Dr. Alberto Rojas Hernández por sus enseñanzas en las materias de la licenciatura y en el posgrado.

A mi amada esposa Yeni por todo su amor, comprensión y compañía.

A mi mamá María por todo su apoyo y comprensión. Gracias por tu esfuerzo por sacarnos adelante, por demostrarnos que no hay imposibles en la vida.

A mi hermano David por su apoyo incondicional y ser más que un hermano.

A mi familia y a mis amigos Carlos, Alan y Deysi por su apoyo y compañía en este camino.

A Lumina por su compañía y recibirme con alegría siempre en casa.

ÍNDICE

RESUMEN	5
INTRODUCCIÓN	6
HIPÓTESIS	7
OBJETIVOS	7
EXPERIMENTACIÓN	8
CAPÍTULO 1. ESTABILIDAD DEL PIROXICAM	9
1.1 Estabilidad del Piroxicam a diferentes valores de pH	10
CAPÍTULO 2. CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DEL PIROXICAM	12
2.1 Comportamiento electroquímico de PX a diferentes valores de pH	13
2.2 Estudio electroquímico para la especie H_2PX^+	13
2.2.1 Estimación del número de electrones transferidos durante la oxidación de H_2PX^+	16
2.2.2 Voltamperometría lineal de disco rotatorio	21
2.2.3 Cálculo experimental del coeficiente de difusión de H_2PX^+	23
2.2.4 Determinar la constante de velocidad heterogénea k_0	24
2.3 Estudio electroquímico para la especie HPX	26
2.3.1 Estimación del número de electrones transferidos durante la oxidación de HPX	27
2.3.2 Cálculo experimental del coeficiente de difusión	29
2.3.3 Determinación de la constante de velocidad heterogénea	30
2.4 Estudio electroquímico para la especie PX^-	31
2.4.1 Estimación del número de electrones transferidos durante la oxidación de HPX	32
2.4.2 Cálculo experimental del coeficiente de difusión	33
2.4.3 Determinación de la constante de velocidad heterogénea	35
2.5 Comparación de los parámetros fisicoquímicos de las diferentes especies de PX	35
CAPÍTULO 3. DETERMINACIÓN ANALÍTICA DEL PIROXICAM	37
3.1 Cuantificación de PX utilizando un EPC a pH 3.543	38

3.1.1 Determinación analítica utilizando el método de Voltamperometría Cíclica	38
3.1.2 Determinación analítica utilizando el método de Cronoamperometría	39
3.1.3 Determinación analítica utilizando el método de Disco Rotario	40
3.2 Cuantificación de PX sobre un EPC a pH 1.054	41
3.3 Cuantificación de PX sobre un EPC a pH 9.015	41
3.4 Comparación de parámetros analíticos para proponer un método de cuantificación	45
3.5 Recobro	47
3.6 Cuantificación de la concentración de PX en una solución inyectable	47
CONCLUSIONES	48
PERSPECTIVAS	48
BIBLIOGRAFÍA	49

RESUMEN

En la presente tesis, se llevó a cabo la caracterización electroquímica y el desarrollo de un método analítico para la cuantificación de un antiinflamatorio no esterooidal, de la familia de los oxicams, denominado Piroxicam (PX), que es utilizado para el tratamiento de enfermedades reumáticas e inflamación. Se evaluó la estabilidad de las diferentes especies de PX en medio acuoso, el estudio se efectuó por UV-Visible, corroborando que las moléculas del fármaco son estables en el intervalo de trabajo. Se estudio el comportamiento electroquímico de las tres especies de H_2PX^+ , HPX y PX^- a pH 0.494, 3.543 y 7.150, respectivamente, por diferentes técnicas electroquímicas sobre un electrodo de pasta de carbono (EPC) y se determinó por Voltamperometría Cíclica (VC), que el proceso de oxidación es irreversible, la transferencia de carga está limitada por difusión y que sigue un mecanismo electroquímico-químico. Por Cronoamperometría (CA) se determinó 2 números de electrones que participan en la reacción electroquímica. Por Disco Rotario (DR) se calculó la constante de velocidad heterogénea (k_0). Por las tres técnicas ya mencionadas se determinó el coeficiente de difusión de las tres especies. Se propuso la técnica de DR para la cuantificación de PX en medio acuoso a pH 3.543 ya que presenta mejor límite de detección y cuantificación. Por la técnica propuesta se calculó el porcentaje de recuperación del fármaco y el error porcentual demostrando la precisión y confiabilidad del método.

INTRODUCCIÓN

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINE) se encuentran entre los medicamentos más prescritos en todo el mundo. Estos forman un grupo químicamente heterogéneos con efectos antipiréticos, analgésicos y antiinflamatorios. Como analgésico, para procesos que generan dolores leves y en tratamiento a mayor plazo como analgésico y antiinflamatorio para dolores sintomático sobre todo en enfermedades reumáticas [1-2]. Sin embargo, su uso se ve limitado por la posible aparición de efectos adversos, potencialmente letales, como puede ser la enfermedad ulcerosa péptica o la insuficiencia renal, debido a que los AINE inhiben la enzima ciclo-oxigenasa (COX) y, en consecuencia, a la inhibición de prostaglandinas (PG). Se conocen al menos dos isoformas distintas de la ciclooxigenasa: COX-1 y COX-2, ambas catalizan la síntesis de PG y la diferencia más importante entre ellas es, La COX-1 o constitutiva, se expresa habitualmente en la mayoría de los tejidos; mientras que la COX-2 o inducible, se expresa en los focos inflamatorios, neoplasias y bajo determinadas circunstancias fisiológicas. A partir de este ejemplo, se ha postulado que el desarrollo de AINEs con inhibición selectiva sobre la COX-2 podría conservar las propiedades antiinflamatorias de los AINE, minimizando sus efectos adversos, en especial los gastrointestinales y renales [3-5].

Por el amplio consumo de estos y la forma en que se desechan, se han considerados como contaminantes emergentes. Según las propiedades fisicoquímicas de los fármacos y sus metabolitos y productos de degradación, y las características de los suelos, estas sustancias pueden llegar a alcanzar las aguas subterráneas y contaminar los acuíferos, o bien quedar retenidas en el suelo y acumularse, pudiendo afectar al ecosistema y a los humanos a través de la cadena trófica [6-8]. De aquí el interés por desarrollar métodos analíticos que permitan determinar y cuantificar a estos fármacos.

Por esta razón, el objetivo de este trabajo es conocer las propiedades del Piroxicam y obtener un método analítico para su cuantificación.

Antecedentes

El Piroxicam (PX), figura 1, es un AINE del grupo de los oxicams, el cual se comercializó en 1980. Después de que los inhibidores COX-2 Recofecoxib y Valdecoxib se retiraron del mercado debido a su asociación con problemas cardiovasculares en el 2004 [9], el PX ocupó

el tercer puesto de los antiinflamatorios no esteroideos más prescritos, por lo que se han propuesto diferentes métodos de cuantificación entre ellos algunos basados en cromatografía líquida [10], espectrofluorimetría [11] y electroquímicas [12-13].

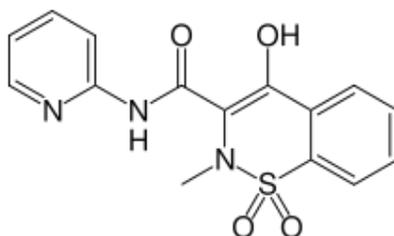


Figura 1. Molécula de PX.

Rodríguez-Barrientos determinó 2 valores de pKa para el PX por espectroscopía UV-Vis; el primero, 2.12, se asigna al grupo enólico y el segundo, 5.31, al grupo piridínico [14,15]. Es importante considerar los pKa porque el pH afecta el comportamiento de la molécula.

De lo anterior, en este trabajo se pretende hacer una caracterización química para conocer los parámetros fisicoquímicos que afectan en la técnica para poder interpretar adecuadamente los resultados y a partir de esto, desarrollar un método de cuantificación.

HIPÓTESIS

Conociendo las propiedades fisicoquímicas de las moléculas del Piroxicam permitirá proponer un método de determinación en medio acuoso.

OBJETIVOS

- a) Objetivo general

Obtener un método electroquímico para la cuantificación del Piroxicam.

- b) Objetivos particulares

- ϕ Analizar el comportamiento electroquímico para diferentes valores de pH.
- ϕ Determinar el número de electrones que participa en la reacción electroquímica de PX.
- ϕ Determinar el coeficiente de difusión de la especie predominante en la escala de pH.

- ϕ Determinar la constante de velocidad heterogénea de en la reacción electroquímica.
- ϕ Determinar los parámetros de desempeño para las diferentes técnicas electroquímicas.
- ϕ Proponer una técnica electroquímica para la cuantificación del piroxicam.

EXPERIMENTACIÓN

La solución acuosa de PX 10^{-3} M en NaOH 10^{-2} M fue preparada a partir del reactivo grado analítico (Sigma Aldrich). Para ajustar el pH se utilizó NaOH 1N (J.T. Baker) y HCl 1N (J.T. Baker). Todas las soluciones fueron preparadas usando agua desionizada. El desionizador utilizado fue Milli-Q (Millipore) con resistividad de 18.7 MΩ cm. El pH de las soluciones fue medido con un potenciómetro y el electrodo de vidrio pH 0-14 (HACH). Durante la experimentación, las soluciones de PX en la celda se mantuvieron en atmósfera de nitrógeno y protegidas de la luz a temperatura constante de 25°C, con un recirculador LAUDA E200.

Estudio espectroscópico

El estudio espectrofotométrico se llevó a cabo en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 20, en una celda de cuarzo de 1 cm de longitud de paso óptico, en el intervalo de longitud de onda de 500nm a 210nm.

Estudio electroquímico

Se utilizó un potenciostato Epsilon (BASi) para el estudio electroquímico con una celda convencional de tres electrodos. El electrodo de trabajo fue un electrodo de pasta de carbón (EPC) preparado a partir de polvo de Grafito (Johnson Matthey 1 μm, 99.9%) y aceite mineral (Nujol de Sigma-Aldrich) con una relación de peso 1:1. Como contraelectrodo se utilizó un alambre de platino (BASi MW-1032) y como electrodo de referencia Ag/AgCl KCl 3M (BASi MF-2052), todos los potenciales en este trabajo están referidos a este electrodo de referencia.

Estabilidad de Piroxicam

1.1 Estabilidad de Piroxicam a diferentes valores de pH.

Esta molécula se utiliza en medio acuoso por lo que es importante conocer sus características en este medio, se han determinado las constantes de acidez del fármaco en agua mediante espectroscopia UV-Visible, donde se determinaron tres especies para el PX, como se muestra en la figura 1.1. El diagrama lineal de zonas de predominio en función de pH para la molécula de PX y las constantes de acidez, fueron obtenidas por Rodríguez-Barrientos [14].

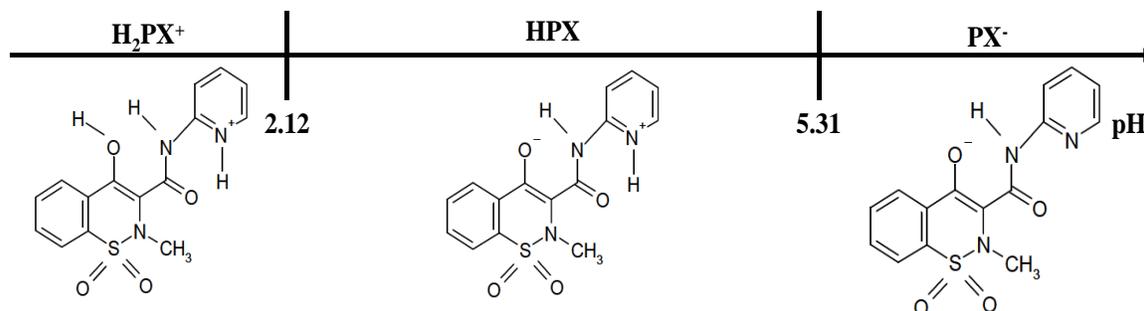
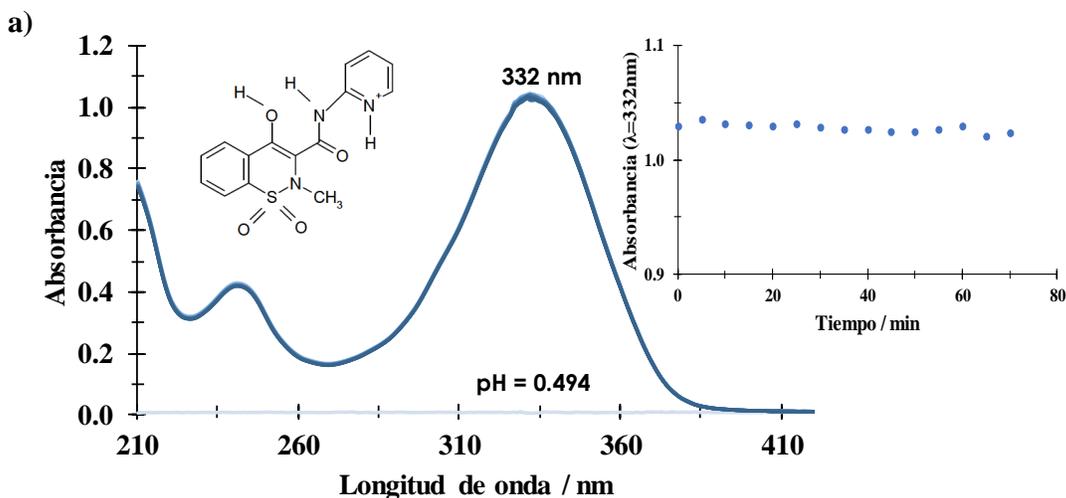


Figura 1.1. Diagrama lineal de zonas de predominio en función de pH para la molécula de PX construido bajo la metodología propuesta por Rojas-Hernández [16-19].

Como se observa en la figura 1.1 son tres las especies de la molécula de PX por lo que es importante conocer si no influye la estabilidad de las moléculas en el intervalo de trabajo. Para conocer esto se hizo un estudio por UV-Vis, siguiendo el comportamiento de las moléculas a temperatura ambiente, en presencia de oxígeno y con exposición a la luz, los espectros de absorción obtenidos para las diferentes especies de PX se muestran en la figura 1.2.



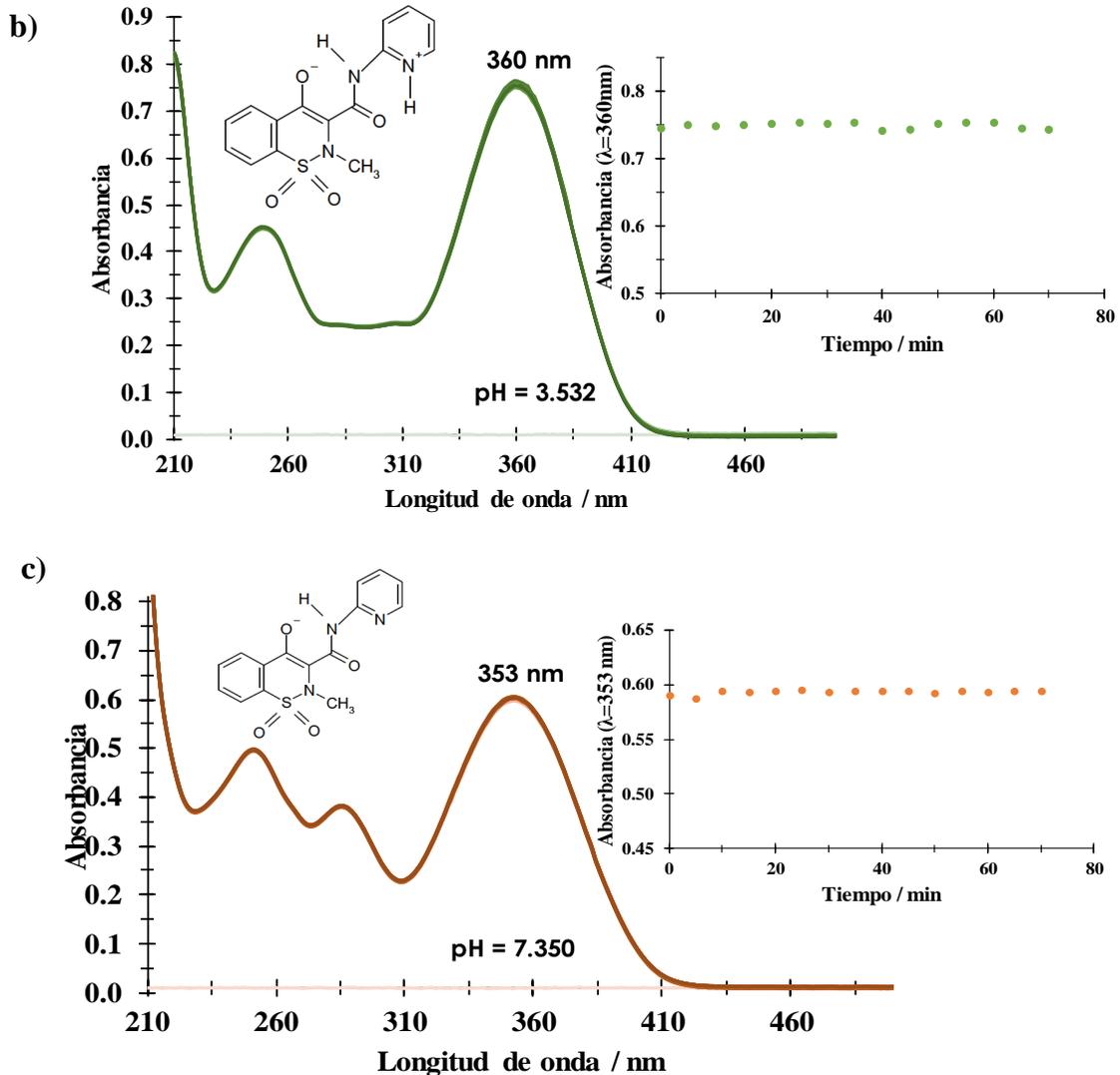


Figura 1.2. Espectros de absorción obtenidos para las diferentes especies de PX 99 μM . a) pH 0.494, b) pH 3.532 y c) pH 7.350.

En la figura 1.2 en las condiciones de trabajo es posible observar que la banda característica de las especies H_2PX^+ , HPX y PX^- están ubicadas en 332, 360 y 353nm, respectivamente. En el inserto de cada figura se aprecia una gráfica de absorbancia en función del tiempo y se puede observar que no hay cambios significativos en la absorbancia en el intervalo de trabajo teniendo un porcentaje de error de 0.35, 0.61 y 0.35%, para cada especie, por lo tanto, las moléculas del fármaco son estables en el intervalo de trabajo.

Caracterización electroquímica de Piroxicam

2.1 Comportamiento electroquímico de PX a diferentes valores de pH.

Para conocer la respuesta electroquímica de las especies de PX se emplearon diferentes técnicas electroquímicas para su estudio. Es importante mencionar que al pH que se eligió para el estudio de las diferentes especies es donde la fracción molar es mayor del 90% respecto a las otras especies, a diferencia de otros trabajos reportados en la literatura sobre el estudio de PX que no lo consideran [10-13].

En la figura 2.1, se muestra una familia de voltamperogramas de PX a diferentes valores de pH sobre un EPC el potencial de barrido se inicia en 0.1 V en dirección anódica a una velocidad de barrido de potencial 0.1 V s^{-1} .

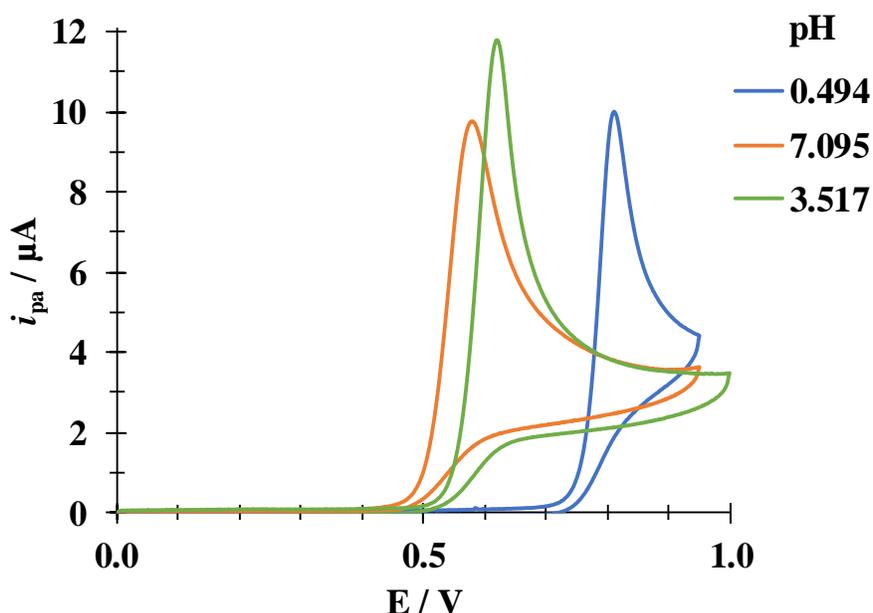


Figura 2.1. Familia de VC de PX a diferentes pH

En la figura 2.1 se puede observar que las tres especies no presentan pico de reducción y que la especie que presenta mayor respuesta en función de la concentración es la HPX.

2.2 Estudio electroquímico para la especie de H_2PX^+ .

En la figura 2.2 se muestra el VC (línea azul) obtenido de H_2PX^+ $102 \mu\text{M}$ a pH 0.494 sobre EPC. El potencial de barrido se inicia en 0.1 V hacia dirección anódica a una velocidad de barrido 0.1 V s^{-1} y se invierte en 0.950 V en este intervalo se aprecia un pico de oxidación en 0.810 V con una corriente $10 \mu\text{A}$, al regresar de 0.950 V a 0 V no se observa un pico de reducción esto indica que el proceso de oxidación de H_2PX^+ es irreversible. El VC (línea

anaranjada) es el blanco del medio HCl 0.5 M el cual no presenta ningún proceso en la ventana de potencial de trabajo.

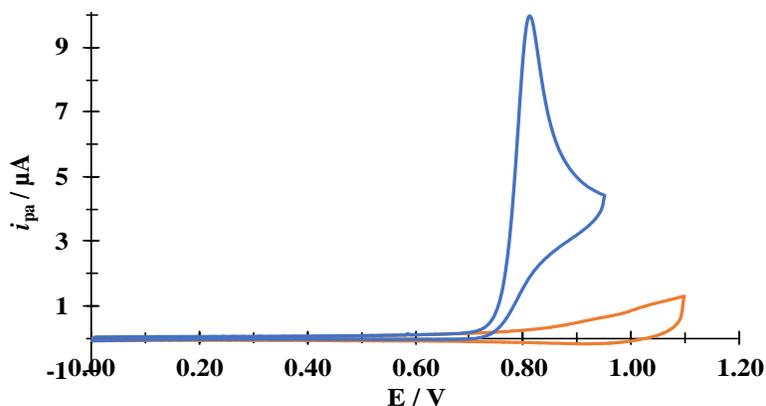


Figura 2.2. Voltamperograma cíclico de H_2PX^+ 102 μM a pH 0.494 sobre EPC. El potencial de barrido se inicia en 0.1 V en dirección anódica a una velocidad de barrido 0.1Vs^{-1} .

Con la finalidad de conocer qué limita la transferencia de carga se hace un estudio por VC a diferentes velocidades de barrido de potencial como se muestra en la figura 2.3 las cuales van desde 20 a 200 mVs^{-1} para la especie H_2PX^+ 102 μM a pH 0.494 sobre EPC, se puede observar que al aumentar la velocidad de barrido de potencial aumenta la corriente de pico y el potencial de pico se recorre a potenciales más positivos.

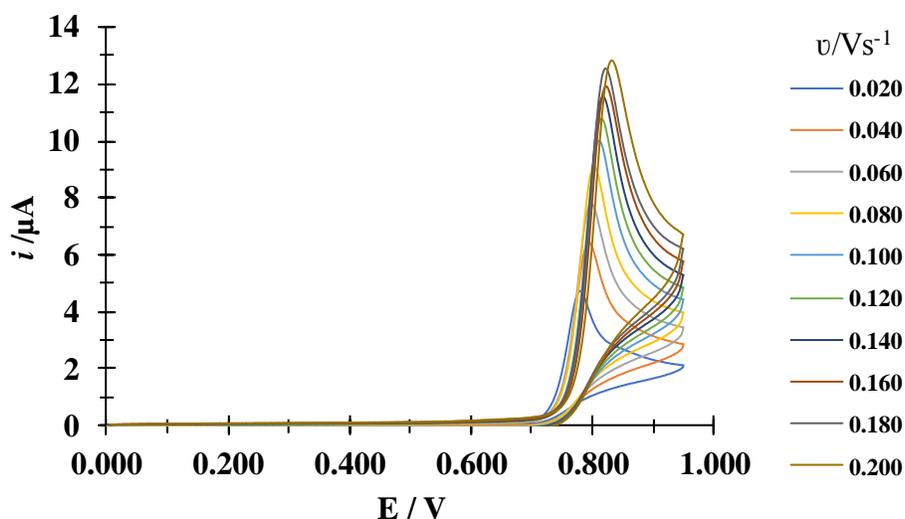


Figura 2.3. Familia de VC a diferentes velocidades de barrido de potencial mostradas en la figura de H_2PX^+ 102 μM a pH 0.494 sobre EPC.

Al graficar la corriente de pico en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido de potencial se observa que presenta una tendencia lineal (figura 2.4), la ecuación de la recta corresponde $i_{pa} = (29.60 \pm 0.45)(\mu AV^{-0.5} s^{0.5})v^{0.5} + (0.57 \pm 0.11)\mu A$ con un coeficiente de correlación de 0.9988, de acuerdo con la expresión de Randles-Sevcik (ecuación 1) [20] la transferencia de carga está limitada por difusión sobre la superficie del electrodo por su comportamiento lineal.

$$i_{pa} = (2.686 \times 10^5)n^{3/2}SD_R^{1/2}C_Rv^{0.5} \quad (1)$$

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

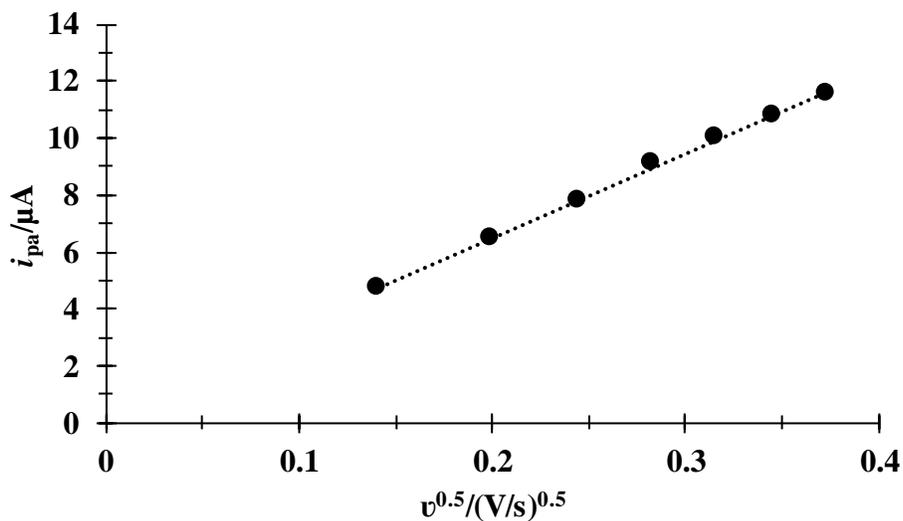


Figura 2.4. Gráfico $i_{pa}=f(v^{0.5})$ correspondiente a la figura 2.3. La línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos).

Para corroborar que la transferencia de carga está controlada por difusión se graficó $\ln(i_{pa})$ vs $\ln(v)$ (figura 2.5) con el criterio de que la pendiente debe ser de 0.5 [20].

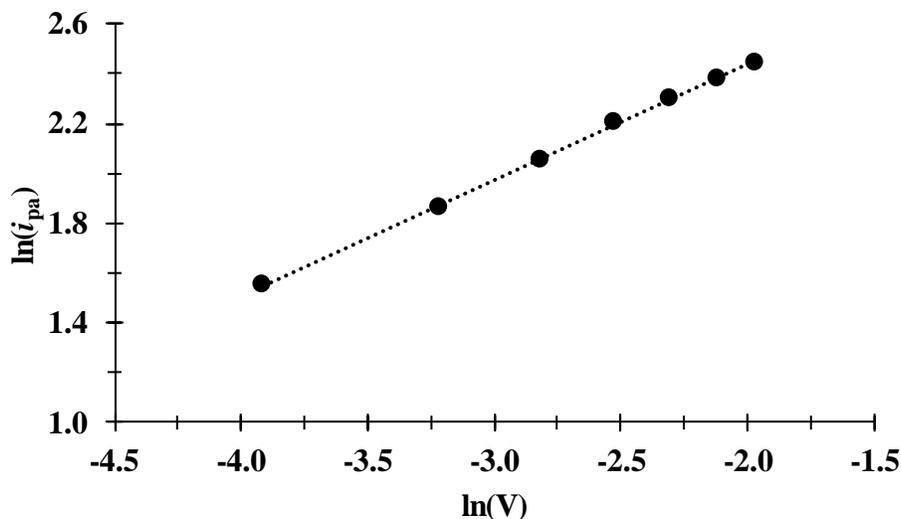


Figura 2.5. Gráfico $\ln(i_p) = f(\ln(v))$ correspondiente a la figura 2.3.

La ecuación de la recta de la figura 2.5 corresponde $\ln(i_p) = (0.4639 \pm 0.0054)\ln(v) + (3.365 \pm 0.015)$, con un coeficiente de correlación de 0.9993. Como se puede observar la pendiente de la recta tiene un valor de 0.4639 ± 0.0054 que se aproxima a 0.5 lo cual indica que la transferencia de carga está controlada por difusión.

Como la gráfica $i_p = f(v^{1/2})$ presenta el perfil de una línea recta, de cuya pendiente se puede extraer información analítica importante, es posible determinar el número de electrones que participan en la reacción electroquímica o el coeficiente de difusión de la especie H_2PX^+ en medio acuoso, para esto es necesario conocer el valor de uno de los parámetros. Una manera de conocer el número de electrones, sin conocer el valor del coeficiente de difusión, es mediante la cronoamperometría (CA).

2.2.1 Estimación del número de electrones transferidos durante la oxidación de H_2PX^+ .

La CA está descrita por la ecuación de Cottrel (ecuación 2) como se muestra a continuación

$$i = nFSC_R D_R^{1/2} \pi^{-0,5} t^{-0,5} \quad (2)$$

donde F es la constante de Faraday ($96485.4 \text{ Cmol}^{-1}$), i es la corriente (en A), n el número de electrones, S el área del electrodo (en cm^2), D_R la constante de difusión (en cm^2s^{-1}), C_R la concentración del analíto (en molcm^{-3}) y t el tiempo (en s).

En la figura 2.6 se muestran los cronoamperogramas ($i=f(t)$) para diferentes potenciales impuestos, los cuales van de 0.680 a 0.850 V y en su inserto el gráfico de $i=f(t^{-0.5})$ para el potencial de 0.810 V que cumple con la ecuación 2 reafirmando que la transferencia de carga está controlada por difusión. La ecuación de la recta corresponde a $i = (4.2357 \pm 0.0024)(\mu A s^{0.5})t^{-0.5} + (0.351 \pm 0.031)\mu A$, con un coeficiente de correlación de 0.9994.

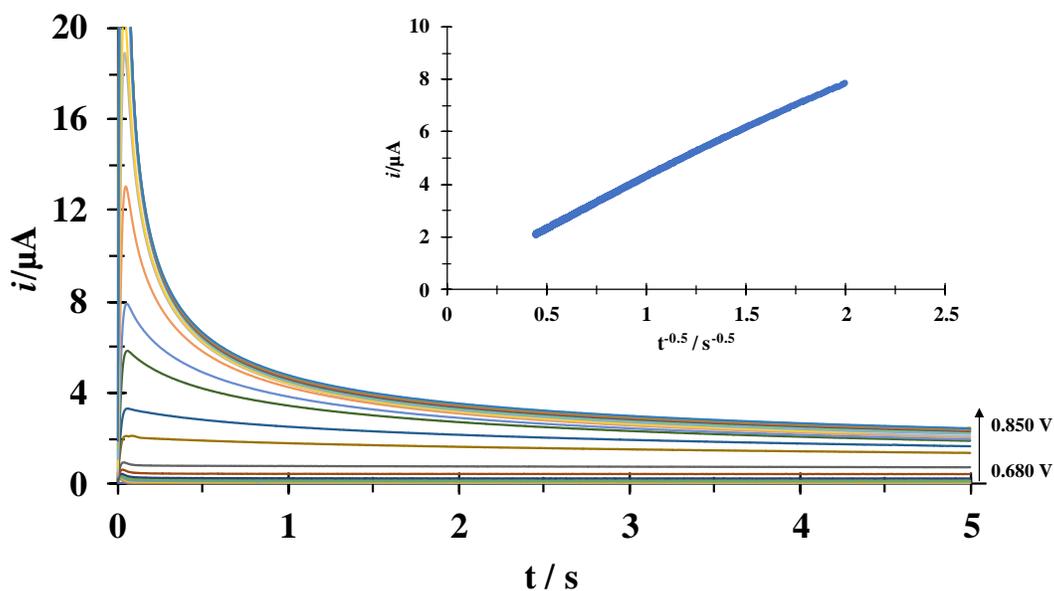


Figura 2.6. Familia de cronoamperogramas de H_2PX^+ 102 μM a pH 0.494 sobre EPC para diferentes potenciales que va de 0.680 a 0.890 V. En el inserto se presenta el gráfico de $i=f(t^{-0.5})$ para el potencial de 0.850 V.

A partir de la familia de cronoamperogramas de la figura 2.6 es posible construir curvas de $i = f(E)$ para diferentes tiempos de muestreo (ver figura 2.7).

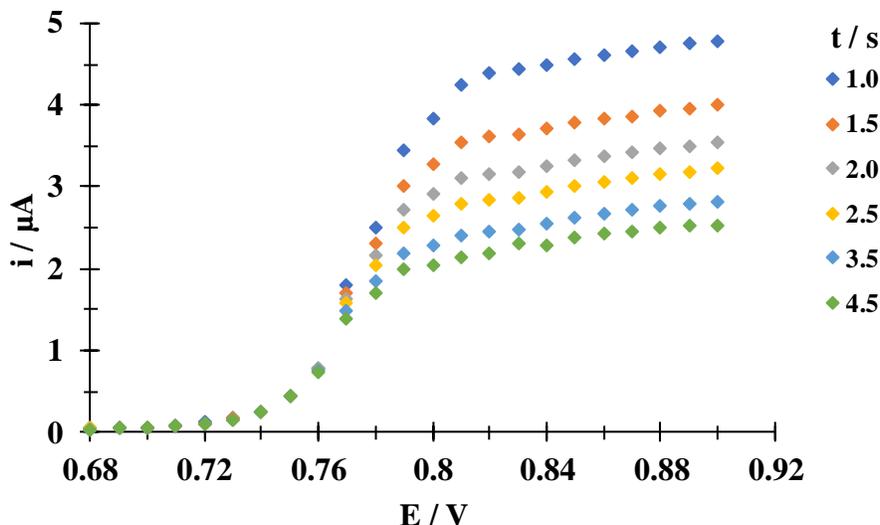


Figura 2.7. Curvas de corriente en función de potencial para diferentes t mostrados en la figura obtenidas a partir de la familia de cronoamperogramas de la figura 2.6.

De las curvas obtenidas en la figura 2.7 y usando la ecuación Heyrovsky-Ilkovic (ecuación 3), es posible construir el gráfico E en función de $\log((i_l - i)/i)$ para diferentes tiempos de muestreo [21].

$$E = E_{1/2} - \frac{RT}{nF} \log\left(\frac{i_l - i}{i}\right) \quad (3)$$

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 (en A), i la corriente medida a cada potencial (en A), F es la constante de Faraday ($96485.4 \text{ Cmol}^{-1}$), T es la temperatura (298.15 K) y R es la constante de los gases ($8.314 \text{ Jmol}^{-1}\text{K}^{-1}$).

En la figura 2.8 se muestra un ejemplo de los datos experimentales los cuales son descritos por la ecuación 3 a un tiempo de muestreo de 2.5 s correspondiente a la curva $E = (-0.0293 \pm 0.0012)(V)\log(i_l - i/i) + (0.77258 \pm 0.00078)V$, con un coeficiente de correlación de 0.9931, con el valor de la pendiente y el de la intersección al eje es posible determinar n y $E_{1/2}$, respectivamente. En la tabla 2.1 se muestran los valores calculados de n y $E_{1/2}$ para distintos tiempos de muestreo, t .

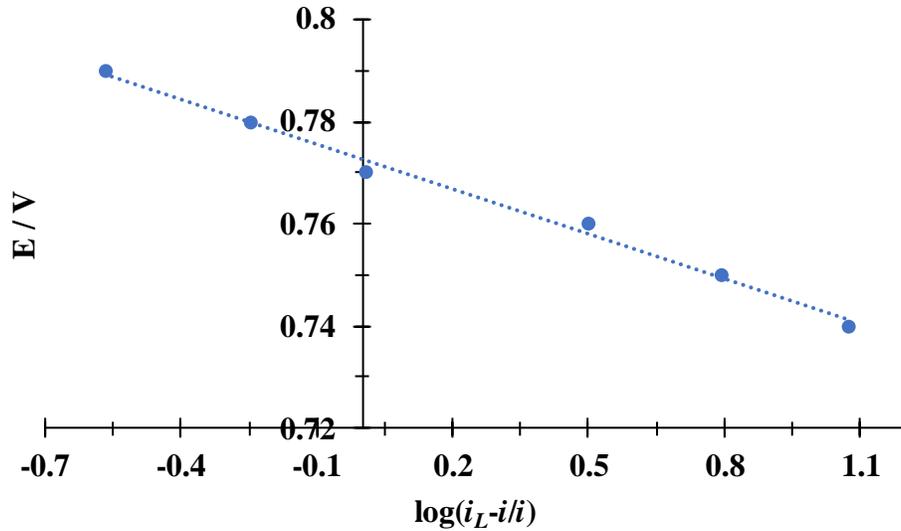


Figura 2.8. Curva $E = f(\text{Log}(i_L-i/i))$ para un tiempo de muestreo de 2.5 segundos.

Tabla 2.1. Cálculo de número de electrones, n , y del potencial de media onda, $E_{1/2}$, para diferentes tiempos de muestreo, t , obtenidos a partir de las curvas $E = f(\text{Log}(i_L-i/i))$.

Pendiente / V	t/s	n	$E_{1/2} / V$
-0.0289 ± 0.0012	1.0	2.047 ± 0.085	0.77769 ± 0.00086
-0.0286 ± 0.0011	1.5	2.069 ± 0.080	0.77510 ± 0.00078
-0.0289 ± 0.0012	2.0	2.049 ± 0.085	0.77348 ± 0.00076
-0.0293 ± 0.0012	2.5	2.016 ± 0.082	0.77258 ± 0.00078
-0.0301 ± 0.0014	3.5	1.967 ± 0.092	0.77124 ± 0.00083
-0.0308 ± 0.0015	4.5	1.918 ± 0.093	0.77018 ± 0.00089

Por lo tanto, los valores promedios obtenidos fueron $n = 2.011 \pm 0.058$ y $E_{1/2} = (0.7734 \pm 0.0027)$ V.

Otra manera de determinar el número de electrones que participan en la reacción es relacionando los dos métodos anteriores, considerando que la pendiente de las ecuaciones 1 y 2 son igual a:

$$m_{\text{Randles-Sevcik}} = 0.4463nFS \left[\frac{nF}{RT} \right]^{\frac{1}{2}} C_R D^{\frac{1}{2}}$$

$$m_{Cottrell} = nFS C_R \pi^{-0.5} D^{\frac{1}{2}}$$

Y haciendo el cociente de las dos pendientes,

$$\frac{m_{Randles-Sevcik}}{m_{Cottrel}} = \frac{0.4463nFS \left[\frac{nF}{RT}\right]^{\frac{1}{2}} C_R D^{\frac{1}{2}}}{nFS C_R \pi^{-0.5} D^{\frac{1}{2}}}$$

$$\frac{m_{Randles-Sevcik}}{m_{Cottrel}} = 0.4463 \left[\frac{\pi F}{RT}\right]^{1/2} n^{1/2}$$

$$\frac{m_{Randles-Sevcik}}{m_{Cottrel}} = 5n^{1/2}$$

Despejando n,

$$n = \left[\frac{m_{Randles-Sevcik}}{5m_{Cottrel}}\right]^2$$

Sustituyendo en la ecuación anterior las pendientes de las rectas obtenidas anteriormente, tenemos que,

$$n = \left[\frac{29.60}{5(4.2357)}\right]^2 = 2.00513433730375$$

Propagando incertidumbre se tiene que

$$\Delta n = n \left[\left(\frac{\Delta m_{Randles-Sevcik}}{m_{Randles-Sevcik}} \right)^2 + \left(\frac{\Delta m_{Cottrel}}{m_{Cottrel}} \right)^2 \right]^{\frac{1}{2}}$$

Sustituyendo tenemos que

$$\Delta n = 0.031$$

Por lo tanto,

$$n = 2.005 \pm 0.031$$

Con esto se confirma que participan 2 electrones en la reacción electroquímica.

Considerando la información obtenida por voltamperometría cíclica indica que el proceso de oxidación sigue un mecanismo Electroquímico (E)-Químico (C) e intercambian dos electrones en el proceso para la especie predominante. De acuerdo con lo que reporta Guzmán [22] para la molécula de Tenoxicam, se propone un posible mecanismo para el Piroxicam (ver figura 2.9).

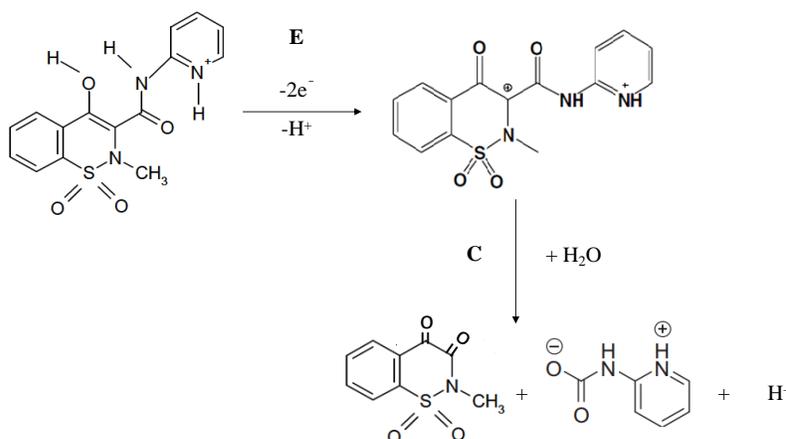


Figura 2.9. Propuesta de posible mecanismo EC involucrado durante la oxidación electroquímica del piroxicam en disolución acuosa a pH 0.494 utilizando un electrodo de pasta de carbono.

La reacción E sería la descrita en la figura 2.9 y la C se debería a que después de que la molécula PX pierde dos electrones y un protón, el catión puede reaccionar con el medio produciendo el rompimiento irreversible del PX en dos productos.

2.2.2 Voltamperometría lineal de disco rotatorio (DR)

En la figura 2.10 se muestra los voltamperogramas lineales obtenidos durante la oxidación electroquímica de H_2PX^+ a diferentes velocidades de rotación del electrodo con una velocidad de barrido de potencial de 15 mV/s. Se puede observar que al aumentar la velocidad de rotación del electrodo alcanza una corriente límite anódica la cual aumenta con el incremento de la velocidad de rotación [23].

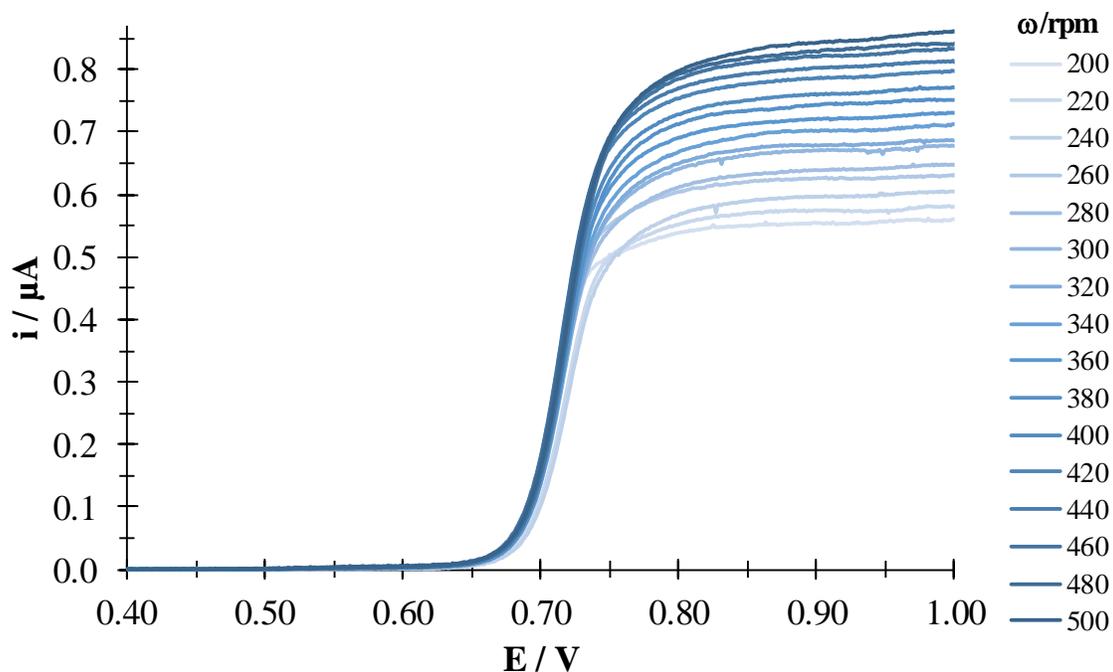


Figura 2.10. Familia de voltamperogramas de barrido lineal de H_2PX^+ 20 μM a pH 0.494 sobre EPC con una velocidad de barrido de 15 mVs^{-1} aplicando diferentes velocidades de rotación del electrodo, indicados en la figura.

En la figura 2.11 se puede ver que la corriente límite (i_L) para diferentes velocidades de rotación es directamente proporcional a la raíz cuadrada de la velocidad de rotación, de acuerdo con la ecuación de Levich [22] (ecuación 4),

$$i_{L,a} = 0.20nFS D_R^{2/3} \nu^{-1/6} C_R \omega^{1/2} = B \omega^{1/2} \quad (4)$$

donde, 0.20 es una constante que se utiliza cuando la velocidad de rotación está en rpm, ν es la velocidad cinemática (en este caso $0.01 \text{ cm}^2\text{s}^{-1}$), ω es la velocidad de rotación (rpm), F es la constante de Faraday ($96485.4 \text{ Cmol}^{-1}$), $i_{L,a}$ es la corriente límite anódica (en A), n el número de electrones, S el área del electrodo (en cm^2), D_R el coeficiente de difusión (en cm^2s^{-1}), C_R la concentración del analito (en molcm^{-3}) y B es la constante de Levich.

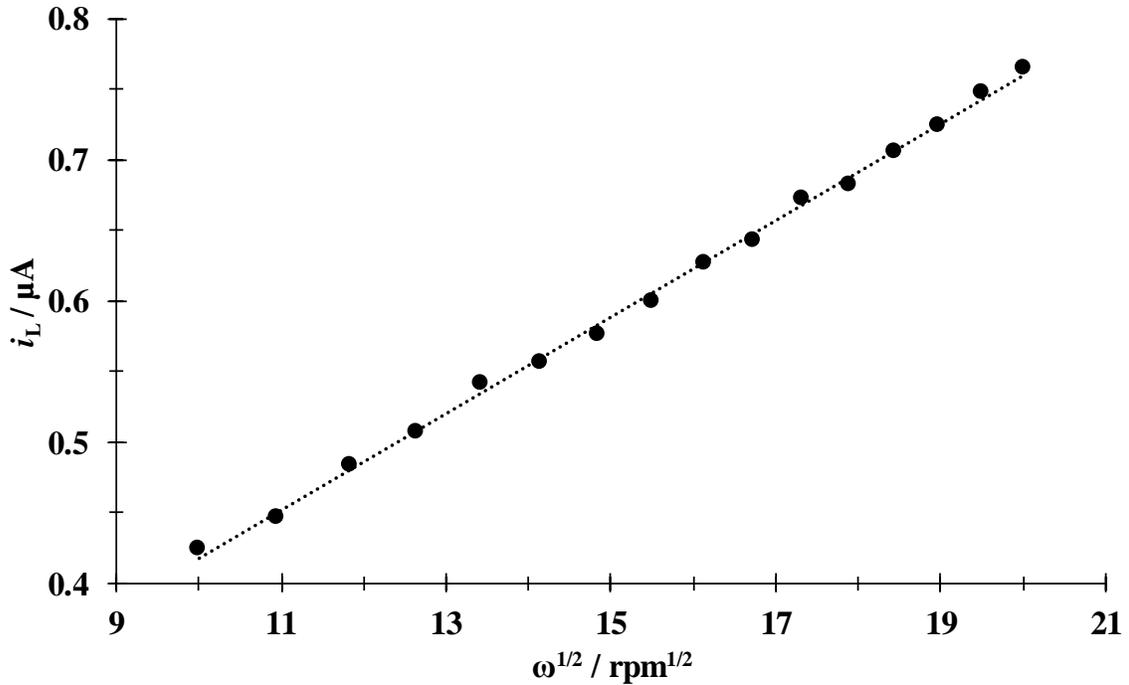


Figura 2.11. Gráfico de $i_L = f(\omega^{0.5})$ correspondiente a la figura 9

La ecuación de la recta de la figura 2.11 corresponde a $i_{L,a} = (0.03417 \pm 0.00041)(\mu\text{Arpm}^{-0.5})\omega^{0.5} + (0.0763 \pm 0.0065)\mu\text{A}$, con un coeficiente de correlación de 0.9980.

2.2.3 Cálculo experimental del coeficiente de difusión de H_2PX^+ .

Dado que el número de electrones transferidos durante la oxidación electroquímica de H_2PX^+ fue determinado, es posible calcular el coeficiente de difusión ya que la reacción electroquímica sigue la expresión de Randles-Sevcik (ecuación 1), la de Cottrel (ecuación 2) y la de Levich (ecuación 4), éste se puede hallar por las pendientes de las expresiones ya mencionadas como se muestra en la tabla 2.2.

Tabla 2.2. Valores del coeficiente de difusión obtenidos por diferentes técnicas electroquímicas

Técnica	Pendiente	$10^6 D / \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$
VC	$(29.60 \pm 0.45) \mu\text{AV}^{-0.5} \text{s}^{0.5}$	4.81 ± 0.14
CA	$(4.2357 \pm 0.0024) \mu\text{As}^{0.5}$	4.795 ± 0.036
DR	$(0.03417 \pm 0.00041) \mu\text{Arpm}^{-0.5}$	4.87 ± 0.83

Los coeficientes de difusión obtenidos por las tres técnicas electroquímicas son estadísticamente iguales y los tres están en el mismo orden de magnitud. Cabe mencionar que la mejor técnica para la determinación de este parámetro es por DR con menor error estadístico.

2.2.4 Determinar la constante de velocidad heterogénea k_0 .

Una vez determinado los parámetros termodinámicos se procede a calcular un parámetro cinético importante que es la constante de velocidad heterogénea con la finalidad de conocer si el proceso de la reacción electroquímica es rápida o lenta. Koutecky y Levich [24,25] proponen que al obtener el inverso de la corriente en los experimentos obtenidos en disco rotatorio se separa la contribución cinética y faradaica como se expresa en la ecuación 5, la cual se expresa como la suma recíproca de la corriente, donde I_k es la corriente cinética y i_L la corriente de Levich.

$$\frac{1}{i} = \frac{1}{i_k} + \frac{1}{i_L} \quad (5)$$

Sustituyendo (4) en (5) se tiene la ecuación de Koutecky-Levich (ecuación 6). De esta ecuación se obtiene los parámetros cinéticos, ya que permite la separación de las partes cinética y faradaica.

$$\frac{1}{i} = \frac{1}{i_k} + \frac{1}{i_{l,c}} = \frac{1}{i_k} + \frac{1}{0.2nFSD_R^{2/3}v^{-1/6}C_R\omega^{1/2}} \quad (6)$$

En la figura 2.12 se muestra el gráfico del inverso de la corriente en función del inverso de la velocidad de rotación a la un medio para potenciales 0.75, 0.79 y 0.95 V, de acuerdo a la ecuación 6 sigue una tendencia lineal, donde la pendiente es el inverso de la constante de Levich y la ordenada es el inverso de la corriente cinética.

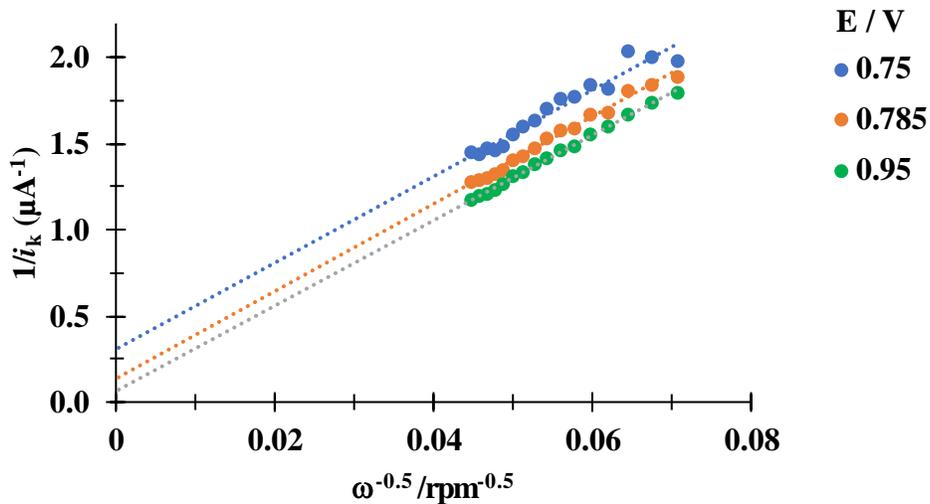


Figura 2.12. Curvas de Koutecky-Levich para diferentes valores de potencial, indicadas en la figura en V para H_2PX^+ 20 μM a pH 0.494 sobre EPC.

Las rectas de la figura 2.12, se extrapola a $\omega^{-0.5} = 0$ se obtiene el inverso de la corriente cinética ($1/i_k$). Con i_k a diferentes valores de potencial y siguiendo la ecuación de Tafel [21] (ecuación 7) es posible construir el gráfico $\ln(i_k)$ en función de sobrepotencial (η) (figura 2.13).

$$\ln(i_k) = \ln(i_0) - \frac{\alpha n F}{RT} \eta \quad (7)$$

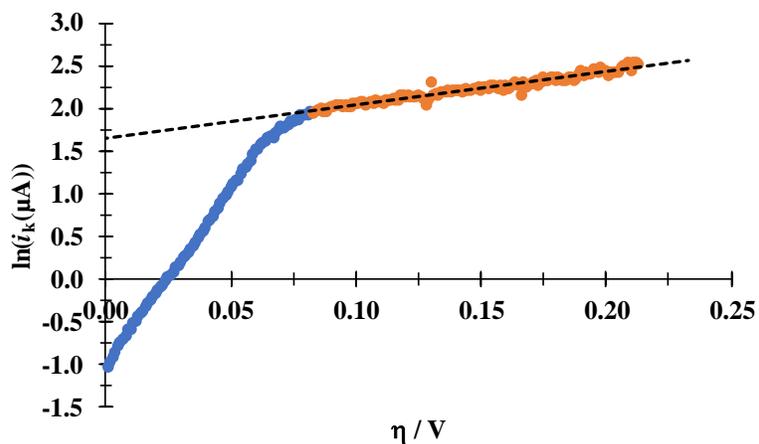


Figura 2.13. Curva de Tafel de H_2PX^+ 20 μM a pH 0.494 sobre EPC.

con la interpolación de la recta al eje se obtiene el valor de $\ln(i_0)$ y ocupando la ecuación 8 es posible obtener el valor de k_0 .

$$i_0 = nFAk_0C \quad (8)$$

Despejando k_0 ,

$$k_0 = \frac{i_0}{nFAC}$$

Po lo tanto, el valor de la constante de la velocidad heterogénea es de 0.019 cms^{-1} . Por lo tanto, se tiene un proceso de oxidación irreversible con una constante de velocidad heterogénea grande y una reacción química acoplada con una velocidad de reacción grande [20].

2.3 Estudio electroquímico para la especie HPX.

La especie HPX tiene un comportamiento parecido a la especie totalmente protonada por lo tanto se hace los mismos estudios de caracterización. A continuación, se presenta la familia de voltamperogramas cíclicos para la especie HPX (figura 2.14).

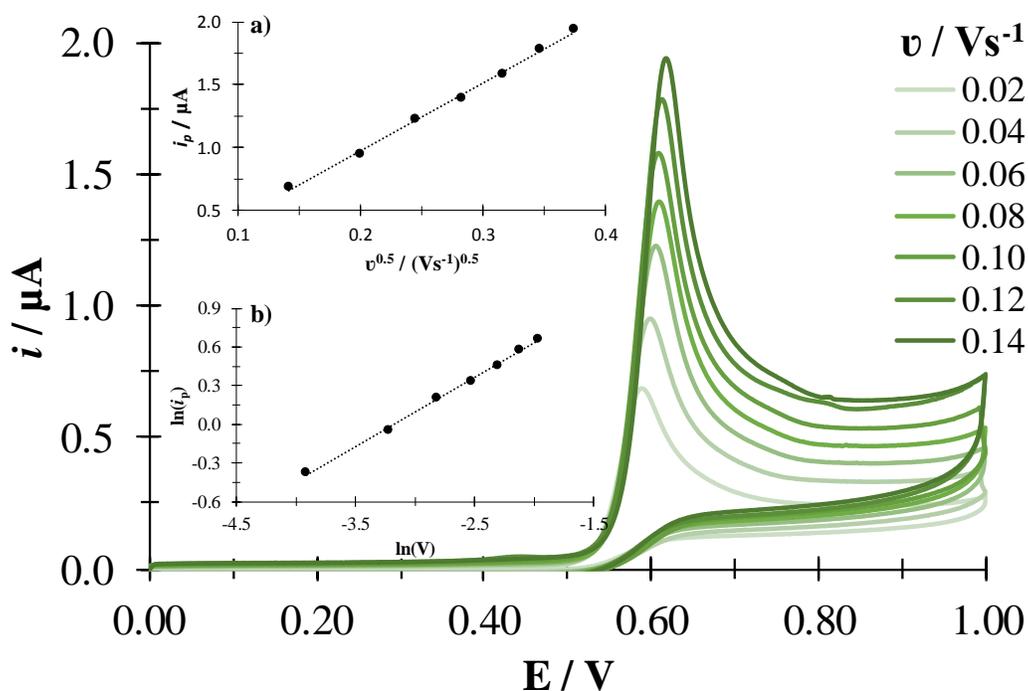


Figura 2.14. Familia de VC's a diferentes velocidades de barrido de potencial mostradas en la figura de H_2PX^+ $102 \mu\text{M}$ a $\text{pH } 3.543$ sobre EPC. En el inserto: a) Gráfico $i_{pa}=f(v^{0.5})$ la línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos). b) Gráfico $\ln(i_p) = f(\ln(v))$.

Como se puede observar en el inserto de la figura 2.14, al graficar corriente de pico en función de $v^{1/2}$, sigue una tendencia lineal, la ecuación de la recta corresponde a $i_{pa} = (5.41 \pm 0.13)(\mu AV^{-0.5} s^{0.5})v^{0.5} - (0.108 \pm 0.037)\mu A$, con un coeficiente de correlación de 0.9970. Por otro lado, la función $\ln(i_p) = f(\ln(v))$, presenta una tendencia lineal $\ln(i_p) = (0.537 \pm 0.012)\ln(v) + (1.705 \pm 0.032)$, con un coeficiente de correlación de 0.9977.

Por lo anterior, se establece que el proceso está controlado por difusión.

2.3.1 Estimación del número de electrones transferidos durante la oxidación de HPX.

Por la técnica de CA se obtienen la familia de cronoamperogramas para diferentes potenciales impuestos, figura 2.15, los cuales van de 0.450 a 0.660 y en su inserto se muestra el gráfico de $t = f(t^{-0.5})$ para el potencial de que cumple la ecuación de Cottrell. La ecuación de la recta corresponde a $i = (0.56564 \pm 0.00015)(\mu As^{0.5})t^{-0.5} + (0.0261 \pm 0.0032)\mu A$, con un coeficiente de correlación de 0.9999.

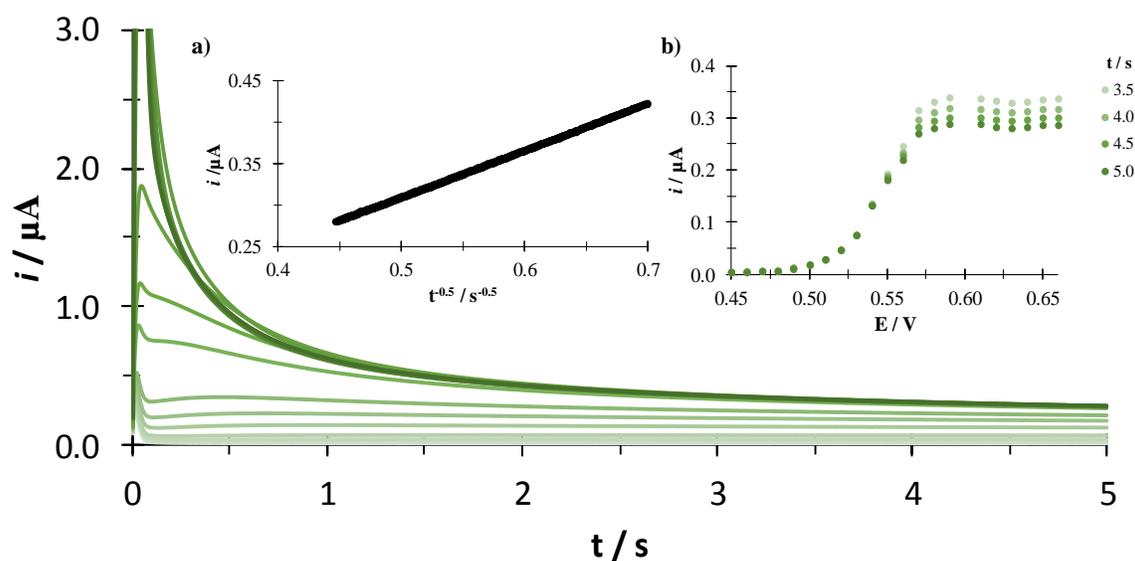


Figura 2.15. Familia de cronoamperogramas de H_2PX^+ 102 μM a pH 3.543 sobre EPC para diferentes potenciales que va de 0.450 a 0.660 V. En el inserto se presenta los gráficos de: a) $i=f(t^{-0.5})$ para el potencial de 0.630 V. b) Curvas de corriente en función de potencial para diferentes t mostrados.

De las curvas obtenidas en la figura 2.15.b) y usando la ecuación Heyrovsky-Ilkovic (ecuación 3) es posible construir el gráfico E en función de $\log((i_t - i)/i)$ para diferentes tiempos de muestro.

En la figura 2.16 se muestra un ejemplo de los datos experimentales los cuales son descritos por la ecuación 3 a un tiempo de muestreo de 5s correspondiente a la curva $E = (-0.0316 \pm 0.0010)(V)\log(i_L - i/i) + (0.54299 \pm 0.00046)V$, con un coeficiente de correlación de 0.9989, con el valor de la pendiente y el de la intersección al eje de la recta es posible determinar n y $E_{1/2}$, respectivamente. En la tabla 2.3 se muestran los valores calculados de n y $E_{1/2}$ para distintos tiempos de muestreo, t .

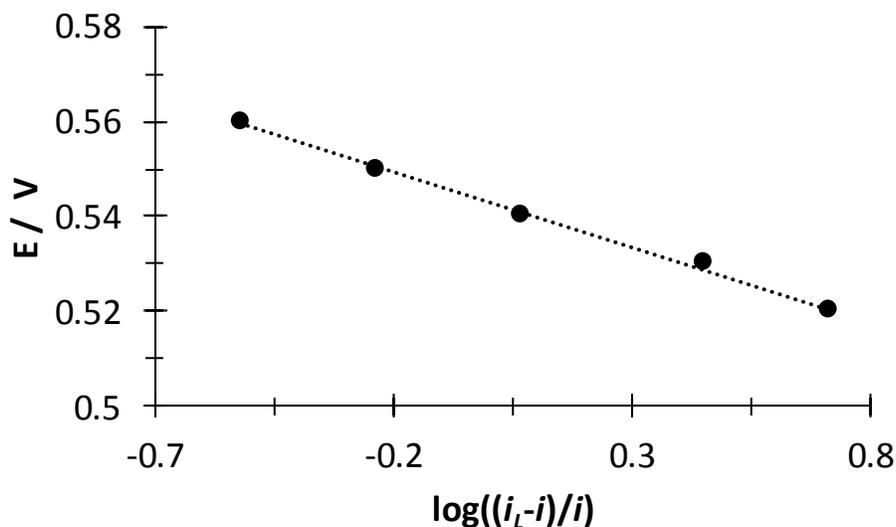


Figura 2.16. Curva $E = f(\text{Log}(i_L - i/i))$ para un tiempo de muestreo de 5 segundos.

Tabla 2.3. Cálculo de número de electrones, n , y del potencial de media onda, $E_{1/2}$, para diferentes tiempos de muestreo, t , obtenidos a partir de las curvas $E = f(\text{Log}(i_L - i/i))$.

Pendiente / V	t/s	n	$E_{1/2}/V$
-0.03179 ± 0.00098	3.5	1.856 ± 0.057	0.54589 ± 0.00047
-0.03183 ± 0.00095	4.0	1.854 ± 0.055	0.54491 ± 0.00044
-0.03163 ± 0.00093	4.5	1.865 ± 0.055	0.54385 ± 0.00043
-0.0316 ± 0.0010	5.0	1.869 ± 0.059	0.54299 ± 0.00046

Por lo tanto, los valores promedios obtenidos fueron $n = 1.8609 \pm 0.0071$ y $E_{1/2} = (0.5444 \pm 0.0013) V$.

2.3.2 Cálculo experimental del coeficiente de difusión

Con la finalidad de hallar el coeficiente de difusión y la constante de velocidad heterogénea se lleva a cabo la oxidación electroquímica de HPX por voltamperometría lineal de disco rotatorio. La figura 2.17 muestra el efecto de la velocidad de rotación del electrodo durante la oxidación de HPX y $v = 15 \text{ mV s}^{-1}$. En el inserto de la figura 2.17 se puede ver que las corrientes límites (i_L) para diferentes velocidades de rotación es directamente proporcional a la raíz cuadrada de la velocidad de rotación, de acuerdo con la ecuación de Levich (ecuación 4), la ecuación de la recta corresponde a $i_{L,a} = (0.05080 \pm 0.00048)(\mu\text{Arpm}^{-0.5})\omega^{0.5} + (0.1421 \pm 0.0074)\mu\text{A}$, con un coeficiente de correlación de 0.9990.

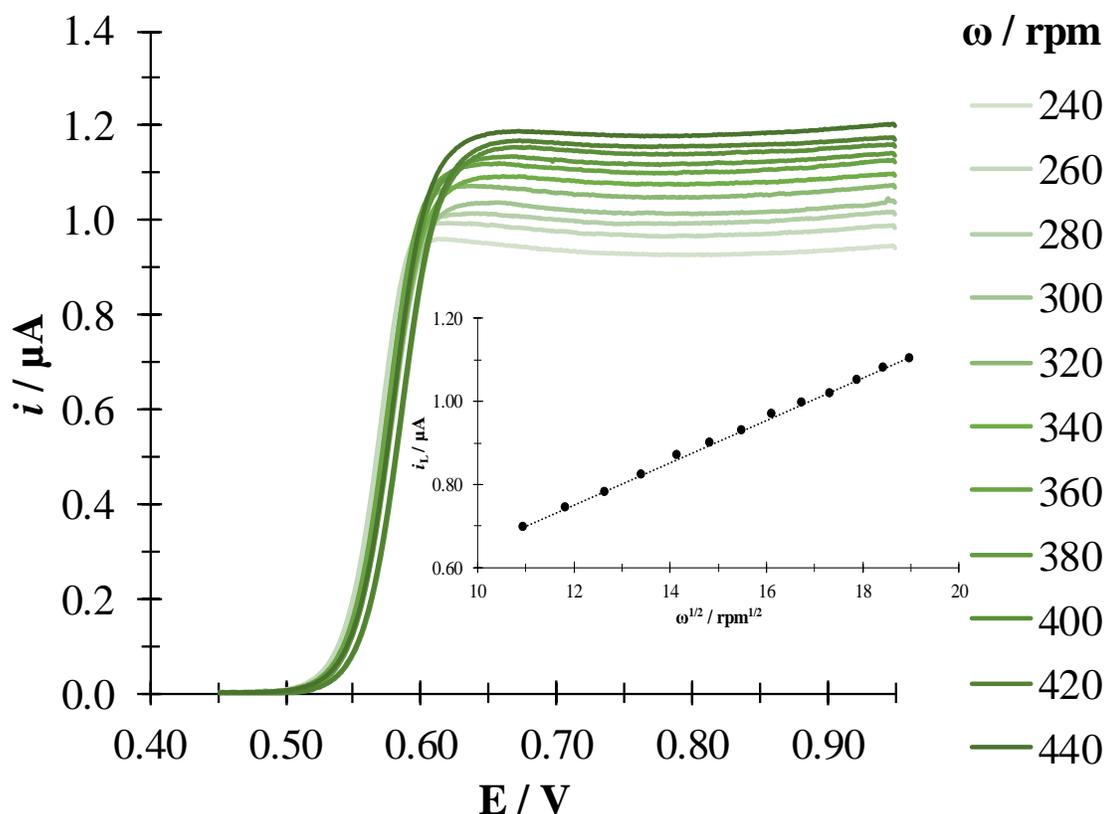


Figura 2.17. Familia de voltamperogramas de barrido lineal de H_2PX^+ $20 \mu\text{M}$ a $\text{pH } 3.543$ sobre EPC con una velocidad de barrido de 15 mVs^{-1} aplicando diferentes velocidades de rotación del electrodo, indicados en la figura. En el inserto el gráfico de $i_L = f(\omega^{0.5})$.

En la tabla 2.4 se muestra el coeficiente de difusión para la especie HPX obtenido por diferentes técnicas electroquímicas.

Tabla 2.4. Valores del coeficiente de difusión obtenidos por diferentes técnicas electroquímicas

Técnica	Pendiente	$10^6 D/\text{cm}^2\text{s}^{-1}$
VC	$(5.41 \pm 0.13) \mu\text{A}\text{V}^{-0.5}\text{s}^{0.5}$	25.1 ± 4.2
CA	$(0.56564 \pm 0.00015) \mu\text{A}\text{s}^{0.5}$	13.4 ± 2.2
DR	$(0.05080 \pm 0.00048) \mu\text{A}\text{rpm}^{-0.5}$	8.6 ± 1.5

Los coeficientes de difusión obtenidos por las tres técnicas electroquímicas son diferentes debido a que la transferencia de carga no está controlada al 100 % por difusión, hay una contribución de adsorción el cual está afectando el área del electrodo. La técnica más común para determinar este parámetro es por DR por lo que se toma el valor del coeficiente de difusión hallado por esta técnica.

De acuerdo a la discrepancia que hay en los coeficientes de difusión se hizo un estudio para corroborar que la transferencia de cargar esta limitada por un proceso combinado (difusión-adsorción), en el cual se observó que la especie HPX se adsorbe un 10 % sobre la superficie del electrodo, esto indica que hay cambio en el área del electrodo.

2.3.3 Determinación de la constante de velocidad heterogénea

Para determinar la corriente cinética se hace uso de la ecuación 6 después se construye el grafico $\ln(i_k)$ en función de sobrepotencial (η) (figura 2.18).

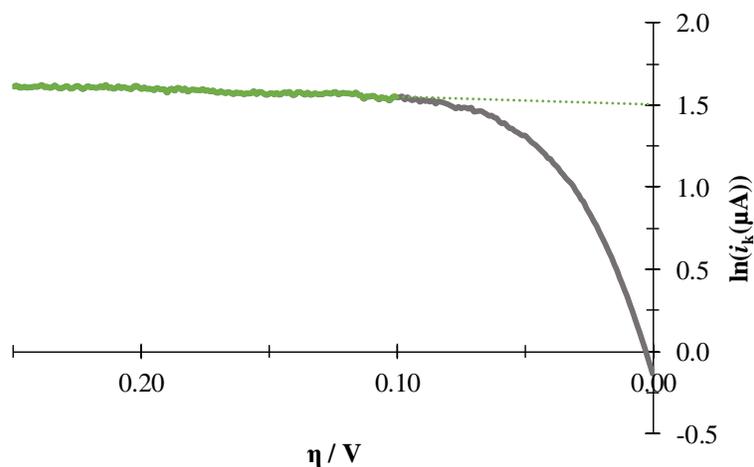


Figura 2.18. Curva de Tafel de H_2PX^+ 20 μM a pH 3.543 sobre EPC

con la interpolación de la recta al eje se obtiene el valor de $\ln(i_0)$ y ocupando la ecuación 8 se halló el valor de la constante de la velocidad heterogénea de 0.016 cm s^{-1}

2.4 Estudio electroquímico para la especie PX^- .

En este apartado se hace un estudio de caracterización para la especie PX^- con las mismas técnicas electroquímicas de las otras especies de PX estudiadas anteriormente. A continuación, se presenta la familia de voltamperogramas cíclicos para la especie HPX (figura 2.19).

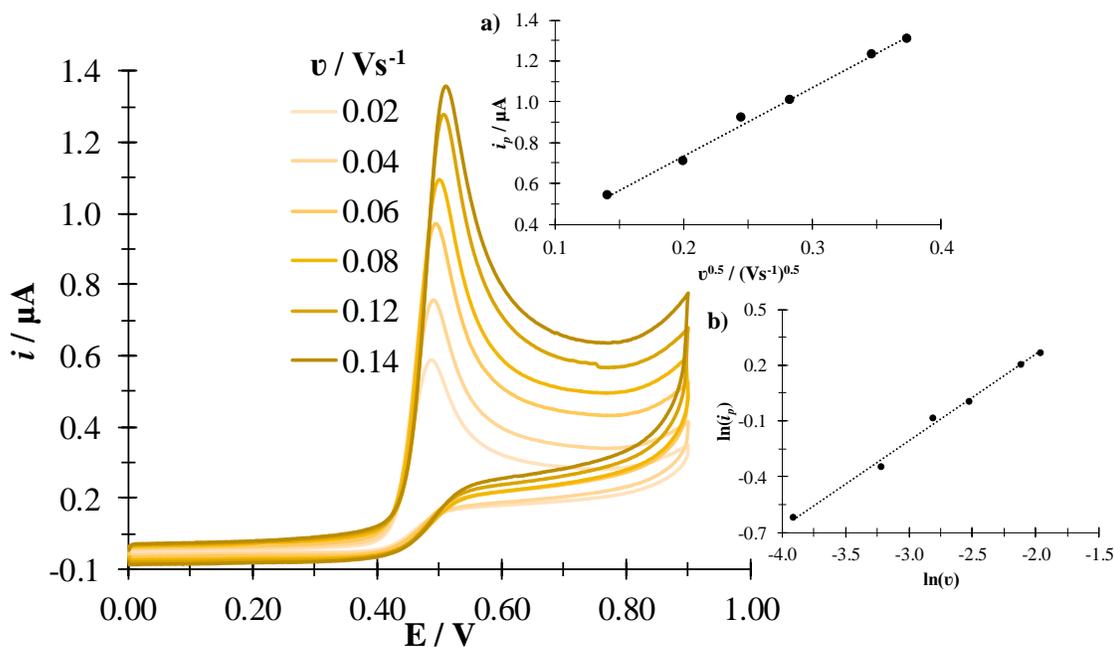


Figura 2.19. Familia de VC a diferentes velocidades de barrido de potencial mostradas en la figura de PX^- $20 \mu\text{M}$ a $\text{pH } 7.150$ sobre EPC. En el inserto: a) Gráfico $i_{pa}=f(v^{0.5})$ la línea punteada es la regresión lineal de los datos experimentales (puntos). b) Gráfico $\ln(i_p) = f(\ln(v))$.

Como se puede observar en el inserto de la figura 2.19, al graficar corriente de pico en función de la velocidad a la un medio, sigue una tendencia lineal, la ecuación de la recta corresponde a $i_{pa} = (3.36 \pm 0.12)(\mu\text{AV}^{-0.5}\text{s}^{0.5})v^{0.5} + (0.062 \pm 0.033)\mu\text{A}$ con un coeficiente de correlación de 0.9949. Por otro lado, la función $\ln(i_p) = f(\ln(v))$, presenta una tendencia lineal $\ln(i_p) = (0.465 \pm 0.017)\ln(v) + (1.188 \pm 0.050)$, con un coeficiente de correlación de 0.9944.

Por lo anterior, se establece que el proceso está controlado por difusión.

2.4.1 Estimación del número de electrones transferidos durante la oxidación de PX^-

Por la técnica de CA se obtienen la familia de cronoamperogramas para diferentes potenciales impuestas, figura 2.20, los cuales van de 0.340 a 0.520 V y en su inserto se muestra el gráfico de $t = f(t^{-0.5})$ para el potencial de que cumple la ecuación de Cottrell. La ecuación de la recta corresponde a $i = (0.49256 \pm 0.00067)(\mu A s^{0.5})t^{-0.5} + (0.0407 \pm 0.0071)\mu A$, con un coeficiente de correlación de 0.9991.

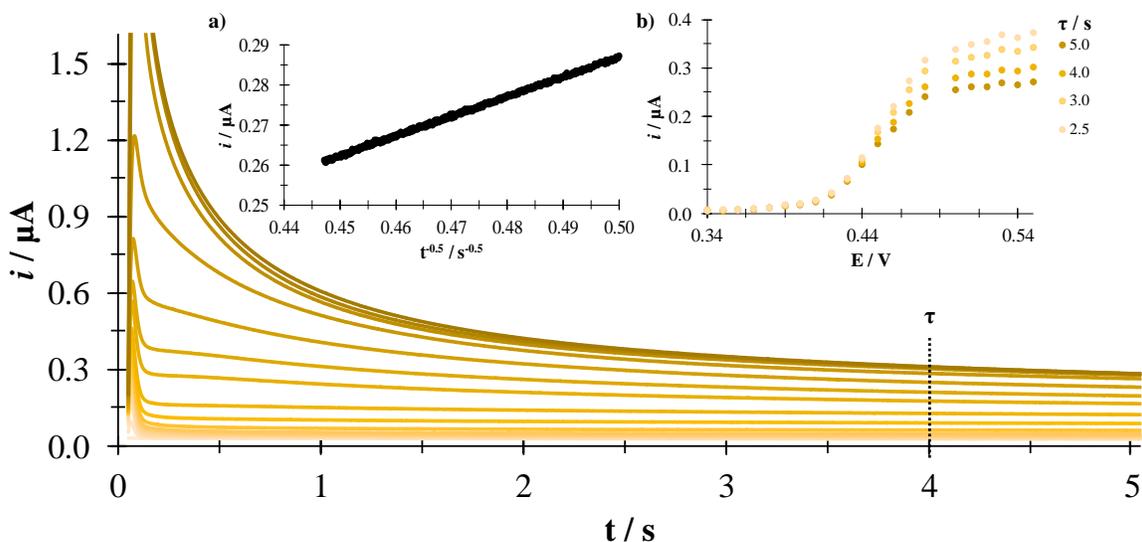


Figura 2.20. Familia de cronoamperogramas de PX^- 20 μM a pH 7.150 sobre EPC para diferentes potenciales que va de 0.340 a 0.520 V. En el inserto se presenta los gráficos de: a) $i=f(t^{-0.5})$ para el potencial de 0.520 V. b) Curvas de corriente en función de potencial para diferentes t mostrados.

De las curvas obtenidas en la figura 2.20.b) y usando la ecuación Heyrovsky-Ilkovic (ecuación 3) es posible construir el gráfico E en función de $\log((i_l - i)/i)$ para diferentes tiempos de muestreo.

En la figura 2.21 se muestra un ejemplo de los datos experimentales los cuales son descritos por la ecuación 3 a un tiempo de muestreo de 5s correspondiente a la curva $E = (-0.03767 \pm 0.00057)(V)\log(i_l - i/i) + (0.44772 \pm 0.00032)V$, con un coeficiente de correlación de 0.9989, con el valor de la pendiente y el de la intersección al eje de la recta es posible determinar n y $E_{1/2}$, respectivamente. En la tabla 2.5 se muestran los valores calculados de n y $E_{1/2}$ para distintos tiempos de muestreo, t.

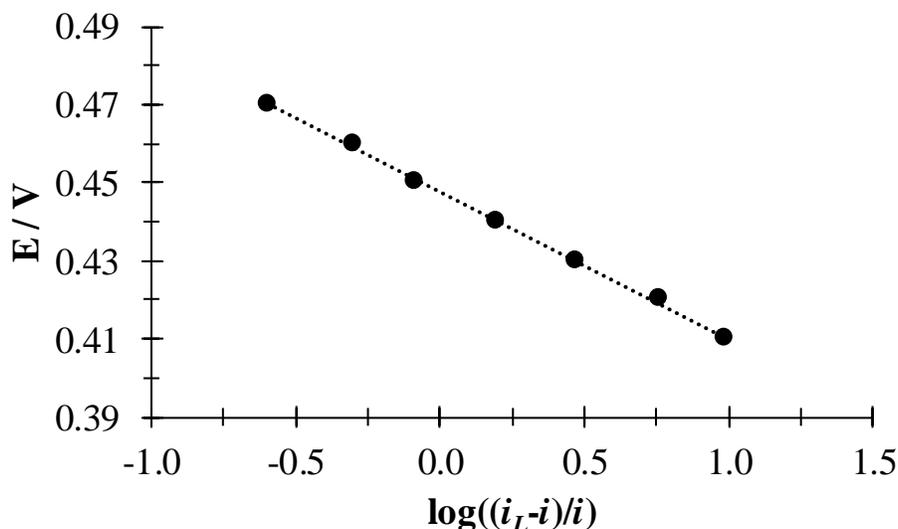


Figura 2.21. Curva $E = f(\text{Log } (i_L - i/i))$ para un tiempo de muestreo de 5 segundos.

Tabla 2.5. Cálculo de número de electrones, n , y del potencial de media onda, $E_{1/2}$, para diferentes tiempos de muestreo, t , obtenidos a partir de las curvas $E = f(\text{Log } (i_L - i/i))$.

Pendiente / V	t/s	n	$E_{1/2} / V$
-0.03179 ± 0.00098	2.5	1.617 ± 0.034	0.45086 ± 0.00048
-0.03183 ± 0.00095	3.0	1.608 ± 0.029	0.45002 ± 0.00040
-0.03163 ± 0.00093	4.0	1.578 ± 0.023	0.44884 ± 0.00032
-0.0316 ± 0.0010	5.0	1.571 ± 0.024	0.44771 ± 0.00032

Por lo tanto, los valores promedios obtenidos fueron $n = 1.593 \pm 0.023$ y $E_{1/2} = (0.4494 \pm 0.0014)$ V. Se puede observar que el número de electrones no se aproxima a 2 debido a que la transferencia de carga no está controlada al 100 % por difusión, y hay un cambio el área del electrodo.

2.4.2 Cálculo experimental del coeficiente de difusión

La figura 2.22 muestra una familia de voltamperogramas lineales en la cual observa el efecto de la velocidad de rotación del electrodo durante la oxidación electroquímica de PX^- con una velocidad de barrido de potencial de 15 mVs^{-1} . En su inserto se puede ver que las corrientes límites (i_L) para diferentes velocidades de rotación es directamente proporcional a la raíz cuadrada de la velocidad de rotación, de acuerdo con la ecuación de Levich (ecuación 4), la

ecuación de la recta corresponde a $i_{L,a} = (0.04806 \pm 0.00048)(\mu A rpm^{-0.5})\omega^{0.5} + (0.0994 \pm 0.0073)\mu A$, con un coeficiente de correlación de 0.9988.

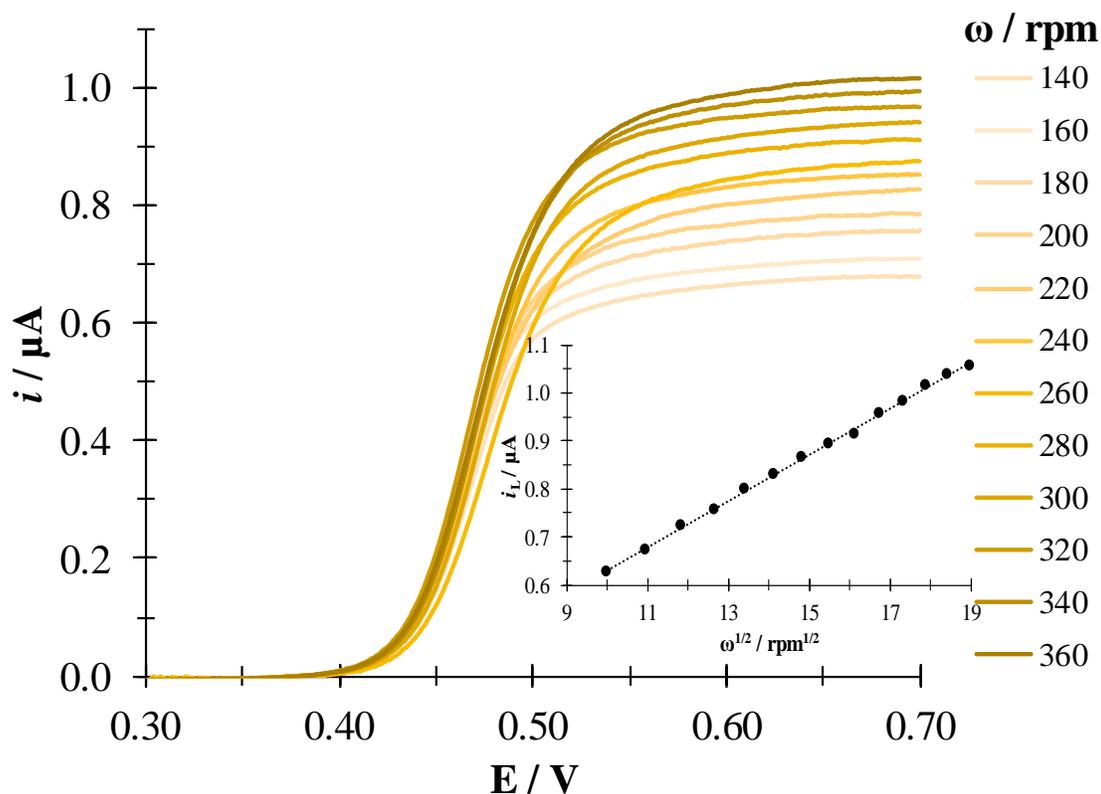


Figura 2.22 Familia de voltamperogramas de barrido lineal de PX^- 20 μM a pH 7.150 sobre EPC con una velocidad de barrido de 15 mVs^{-1} aplicando diferentes velocidades de rotación del electrodo, indicados en la figura. En el inserto el gráfico de $i_L = f(\omega^{0.5})$.

En la tabla 2.6 se muestra el coeficiente de difusión para la especie PX^- obtenido por diferentes técnicas electroquímicas.

Tabla 2.6. Valores del coeficiente de difusión obtenidos por diferentes técnicas electroquímicas

Técnica	Pendiente	$10^6 D / \text{cm}^2 \text{s}^{-1}$
VC	$(3.36 \pm 0.12) \mu A V^{-0.5} s^{0.5}$	9.7 ± 1.7
CA	$(0.49256 \pm 0.00067) \mu A s^{0.5}$	10.2 ± 1.7
DR	$(0.04806 \pm 0.00048) \mu A rpm^{-0.5}$	8.1 ± 1.4

Los coeficientes de difusión obtenidos por las tres técnicas electroquímicas son estadísticamente iguales y los tres están en el mismo orden de magnitud.

2.4.3 Determinación de la constante de velocidad heterogénea.

Para hallar la corriente cinética se hace uso de la ecuación 6 y de acuerdo a la ecuación de Tafel se construye el gráfico $\ln(i_k)$ en función de sobrepotencial (η) (figura 2.23).

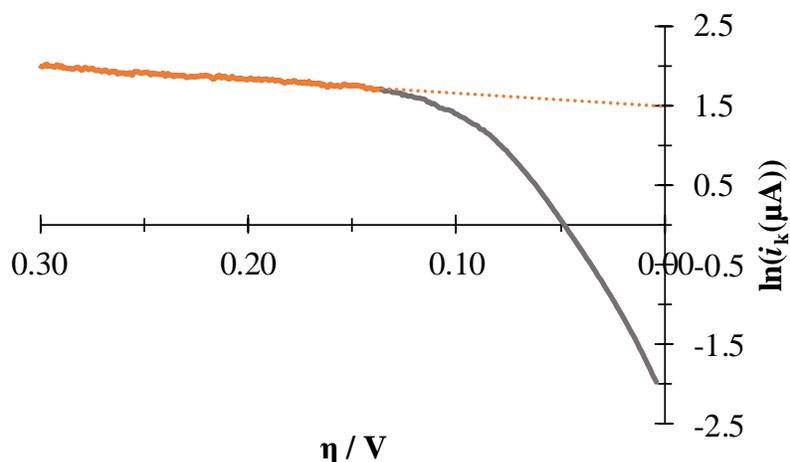


Figura 2.23. Curva de Tafel de H₂PX⁺ 20 μM a pH 7.150 sobre EPC

con la interpolación de la recta al eje se obtiene el valor de $\ln(i_0)$ y ocupando la ecuación 8 se halló el valor de la constante de la velocidad heterogénea de 0.016 cm s^{-1} .

2.5 Comparación de los parámetros fisicoquímicos de las diferentes especies de PX.

Tabla 2.7. comparación de los parámetros fisicoquímicos de las diferentes especies de PX.

Especie	Transferencia de carga	n	$10^6 D / \text{cm}^2 \text{ s}^{-1}$	$k_0 / \text{cm s}^{-1}$
H ₂ PX ⁺	Difusión	2	4.87 ± 0.83	0.019
HPX	Difusión	2	8.6 ± 1.5	0.016
PX ⁻	Difusión	2	8.1 ± 1.4	0.016

Se puede apreciar en la tabla 2.7 que para las tres especies la transferencia de carga está controlada por difusión sobre la superficie del EPC, la oxidación sigue un mecanismo

electroquímico-químico y participan dos electrones en la reacción electroquímica. El número de electrones determinado en este trabajo coincide con lo reportado por Abdolkarim et al [13] y por Torriero et al [26], ellos hacen un gráfico de E_p en función de pH. Sin embargo, Abdolkarim trabajó en el intervalo de 2 a 8 de pH y tiene un ajuste lineal en todo el intervalo de pH, pero en éste tiene que haber un cambio de pendiente ya que el segundo pKa de PX está en 5.31; Torriero trabajó en el intervalo de 2 a 6, en este intervalo tiene un cambio de pendiente antes del segundo pKa, por lo que la técnica que usan es poco confiable y en este trabajo se usó CA y el cociente de las pendientes de la ecuación de Randles-Sevcik y de Cottrell para corroborar que en efecto son 2 los electrones transferidos durante la oxidación de PX. Se halló los coeficientes de difusión de cada especie, cabe mencionar que estos no están reportados en la literatura, pero si hay coeficientes de difusión de la familia de los oxicams reportados en la literatura. Guzmán et al [27] reporta coeficientes de difusión de tenoxicam en medio acuoso, esta molécula tiene una estructura similar a la del piroxicam, los coeficientes obtenidos en este trabajo son del mismo orden del tenoxicam. Para las diferentes especies se tiene un proceso de oxidación irreversible con una constante de velocidad heterogénea grande y una reacción química acoplada con una velocidad de reacción grande

Determinación Analítica de Piroxicam

Después de la caracterización de las moléculas de Piroxicam, se procede a hacer un estudio de determinación para la cuantificación del fármaco en medio acuoso por diferentes técnicas electroquímicas (VC, CA y DR) sobre un EPC y calcular los parámetros analíticos para obtener el mejor método analítico [28].

3.1 Cuantificación de PX utilizando un EPC a pH 3.543

3.1.1 Determinación analítica utilizando el método de Voltamperometría Cíclica (VC)

En la figura 3.1, se presenta una familia de voltamperogramas cíclicos para distintas concentraciones de PX de 0-4.1 μM a pH 3.543 sobre el electrodo de pasta de carbono a una velocidad de barrido de potencial de 0.1 V s^{-1} , se puede observar que la corriente de pico anódico aumenta proporcionalmente con la concentración. En el inserto de la figura 3.1 se presenta la curva de calibración (CC) de la corriente del pico de oxidación en función de la concentración al $E_p = 0.610 \text{ V}$, donde es posible observar que la curva sigue una tendencia lineal.

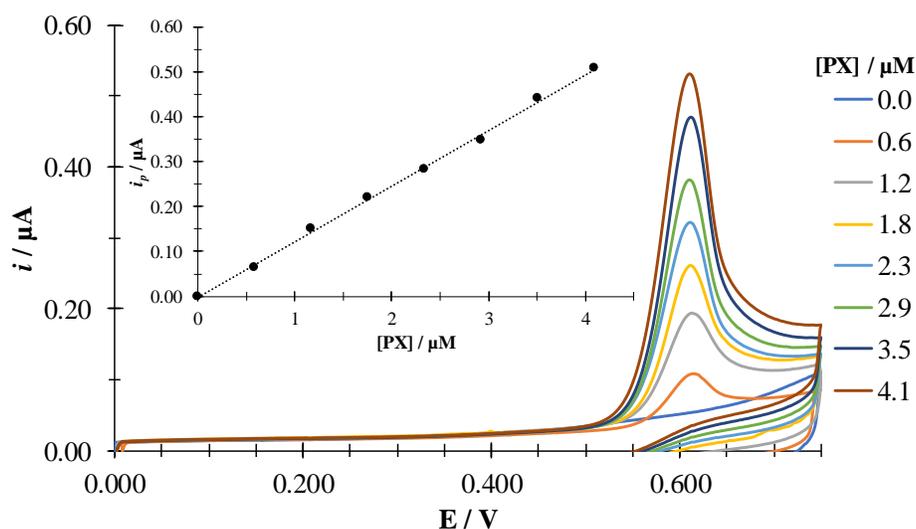


Figura 3.1. Familia de VC's de PX a diferentes concentraciones a pH 3.543 sobre EPC. Para una velocidad de barrido 0.1 V s^{-1} . En el inserto se presenta la gráfica $i_p = f[\text{PX}]$ a 0.610 V .

La ecuación de la recta del inserto de la figura 3.1 corresponde $i = (0.1237 \pm 0.0021) \mu\text{A} \mu\text{M}^{-1} [\text{PX}] - (0.0016 \pm 0.0052) \mu\text{A}$, con un coeficiente de correlación de 0.9982.

Se obtuvieron los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) con los datos de la recta [28], así como la sensibilidad de la curva de calibración ilustrada en la figura 3.1, estos valores se muestran en la tabla 3.1.

Tabla 3.1. Cálculo del límite de detección y cuantificación para PX a pH 3.543.

Sensibilidad	$(0.1237 \pm 0.0021) \mu\text{A}\mu\text{M}^{-1}$
LD	$(0.196 \pm 0.076) \mu\text{M}$
LC	$(0.654 \pm 0.073) \mu\text{M}$

3.1.2 Determinación analítica utilizando el método de Cronoamperometría

Se obtuvo una curva de calibración mediante cronoamperometría sobre el electrodo de pasta de carbono a un potencial impuesto de 0.630 V para distintas concentraciones de PX de 0-2.9 μM a pH 3.543 como se muestra en la figura 3.2. En el inserto de la figura se presenta la CC de la corriente en función de la concentración en un tiempo de muestreo de 4s, la cual sigue una tendencia lineal.

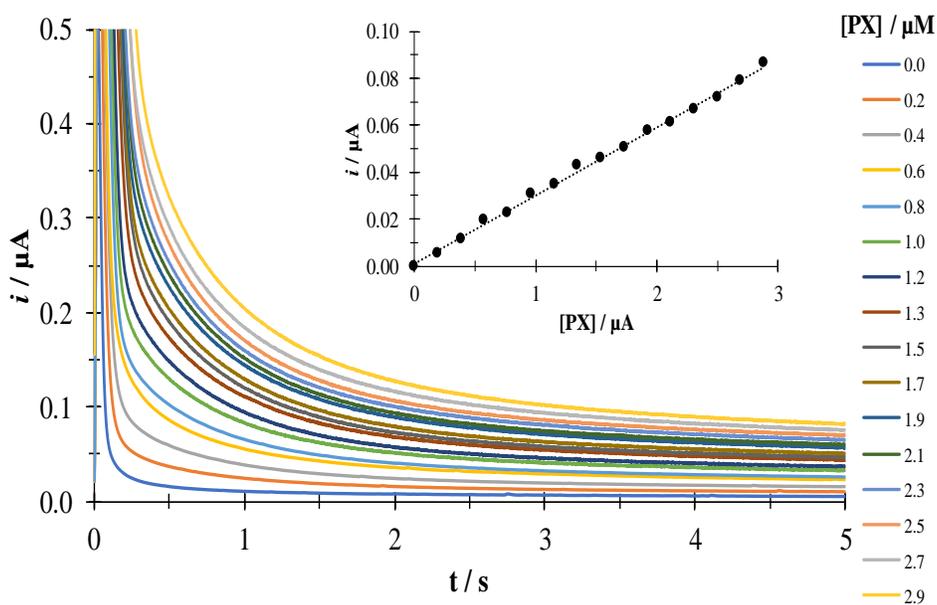


Figura 3.2. Familia de cronoamperogramas a diferentes concentraciones de HPX a pH 3.543 sobre EPC para un potencial impuesto de 0.630 V. En el inserto se presenta el gráfico de $i = f$ $[\text{PX}]$ a 4s.

La ecuación de la recta del inserto de la figura 3.2 corresponde $i = (0.02908 \pm 0.00040)\mu A\mu M^{-1}[PX] + (0.00090 \pm 0.00068)\mu A$, con un coeficiente de correlación de 0.9974. Los parámetros analíticos se muestran en la tabla 3.2.

Tabla 3.2. Cálculo del límite de detección y cuantificación para PX a pH 3.543.

Sensibilidad	$(0.02908 \pm 0.00040) \mu A\mu M^{-1}$
LD	$(0.146 \pm 0.053) \mu M$
LC	$(0.487 \pm 0.052) \mu M$

3.1.3 Determinación analítica utilizando el método de Disco Rotario

En la figura 3.3, se presenta una familia de voltamperogramas lineales de disco rotario para distintas concentraciones de PX de 0-2.9 μM a pH 3.543, se puede observar que la corriente limite aumenta con la concentración. En el inserto de la figura se presenta la CC de la corriente limite en función de la concentración en un potencial de 0.680V, es posible observar que la curva sigue una tendencia lineal.

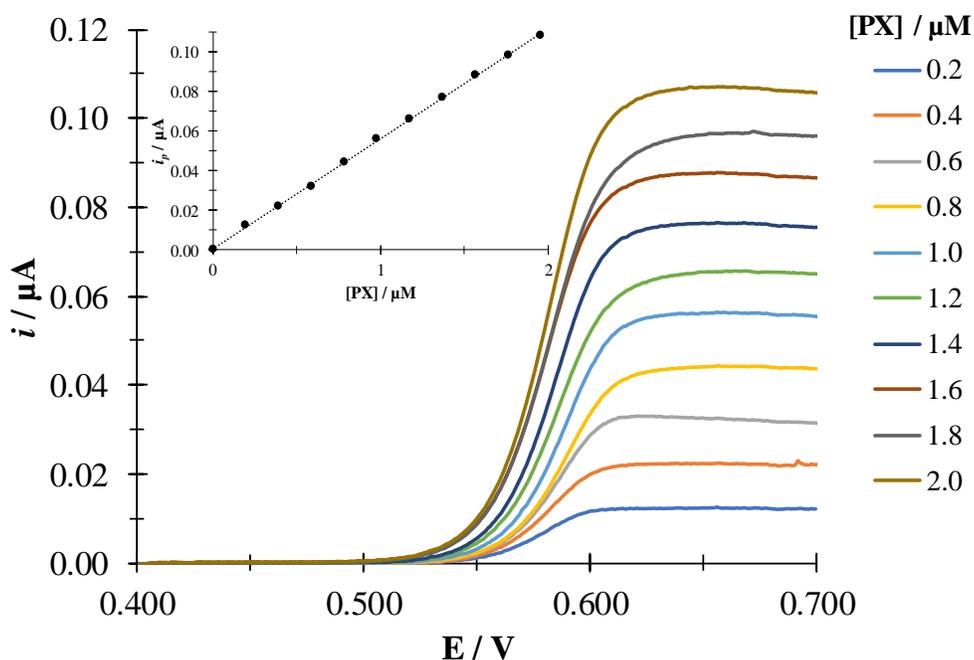


Figura 3.3. Familia de voltamperogramas de barrido lineal a diferentes concentraciones de HPX a pH 3.543 sobre un EPC con una velocidad de barrido de 5 mVs^{-1} y una velocidad de rotación del electrodo de 300 rpm. En el inserto se presenta la gráfica $i_l = f[PX]$ a 0.680 V.

La ecuación de la recta del inserto de la figura 3.3 corresponde $i = (0.05568 \pm 0.00040)\mu A\mu M^{-1}[PX] + (0.00061 \pm 0.00047)\mu A$, con un coeficiente de correlación de 0.9992. Los parámetros analíticos se muestran en la tabla 3.3.

Tabla 3.3. Cálculo del límite de detección y cuantificación para PX a pH 3.543.

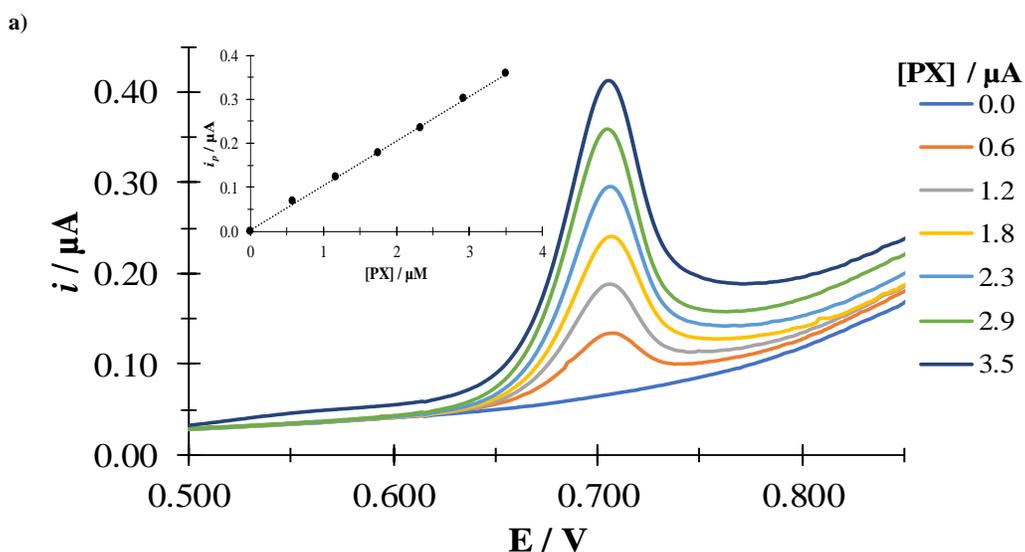
Sensibilidad	$(0.05568 \pm 0.00040) \mu A\mu M^{-1}$
LD	$(0.045 \pm 0.017) \mu M$
LC	$(0.149 \pm 0.017) \mu M$

Como se puede observar de las tres técnicas la que tiene mejor sensibilidad es la de VC, pero con DR el LD y LC son mejores. Para proponer un método de cuantificación dependerá que parámetro se desea mejorar.

Con la finalidad de conocer los parámetros analíticos para otros pHs donde predomina otras especies se hace un estudio de cuantificación de PX a pH 1.054 y 9.015.

3.2 Cuantificación de PX sobre un EPC a pH 1.054

Se obtuvieron las curvas de calibración mediante diferentes técnicas electroquímicas propuestas sobre el electrodo de pasta de carbono a diferentes concentraciones de PX a pH 1.054. Como se puede observar las corrientes fueron proporcionales a las concentraciones añadidas del fármaco.



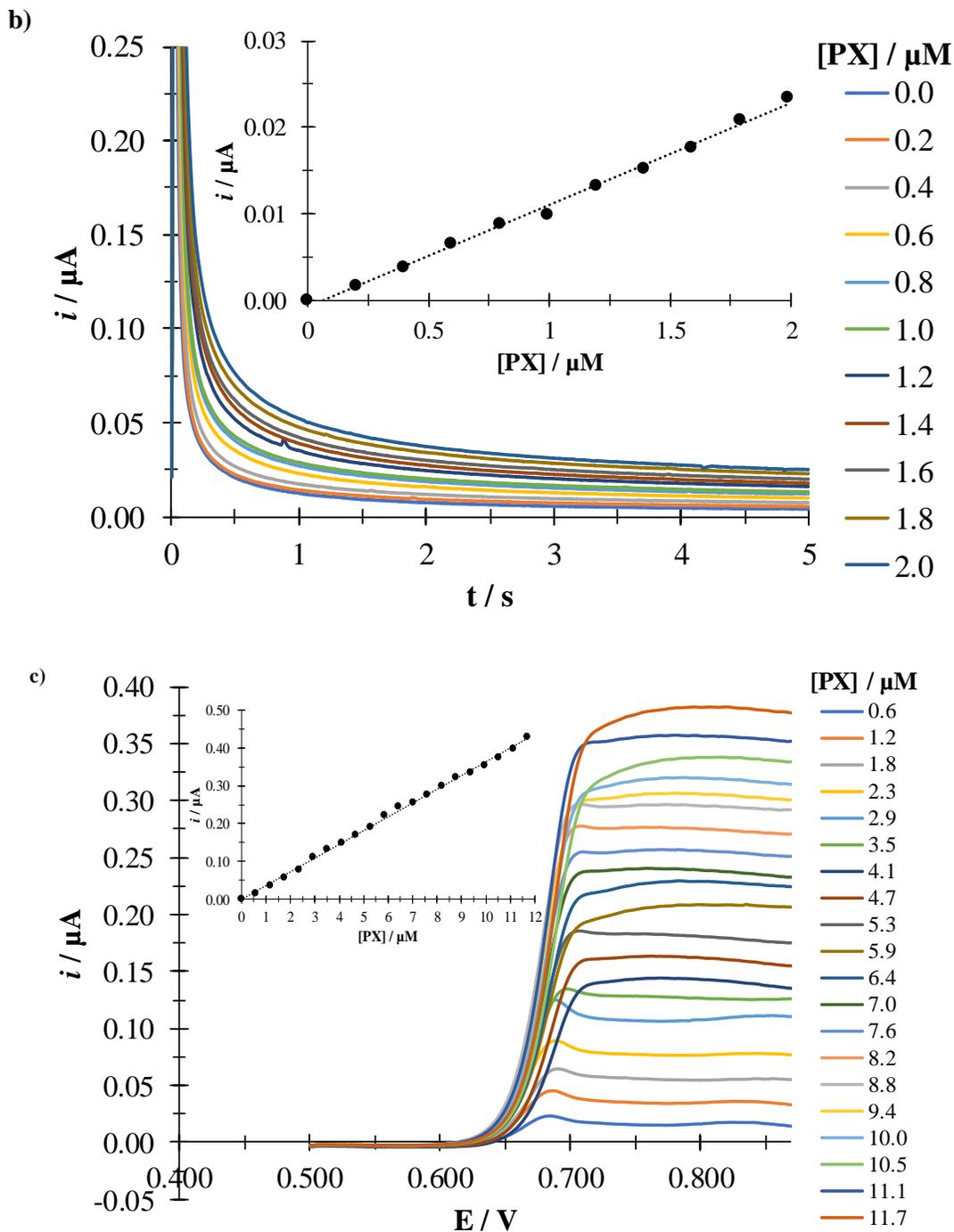


Figura 3.4. Familia de: **a)** VC's, a velocidad de barrido 0.1Vs^{-1} (En el inserto se presenta la gráfica $i_p = f[\text{PX}]$ a 0.710 V); **b)** cronoamperogramas, para un potencial impuesto de 0.730 V (En el inserto se presenta el gráfico de $i = f[\text{PX}]$ a 4 s); **c)** voltamperogramas de barrido lineal, a velocidad de barrido de 15 mVs^{-1} y una velocidad de rotación del electrodo de 300 rpm (En el inserto se presenta la gráfica $i_l = f[\text{PX}]$ a 0.800 V). A diferentes concentraciones de HPX a pH 1.054 sobre un EPC.

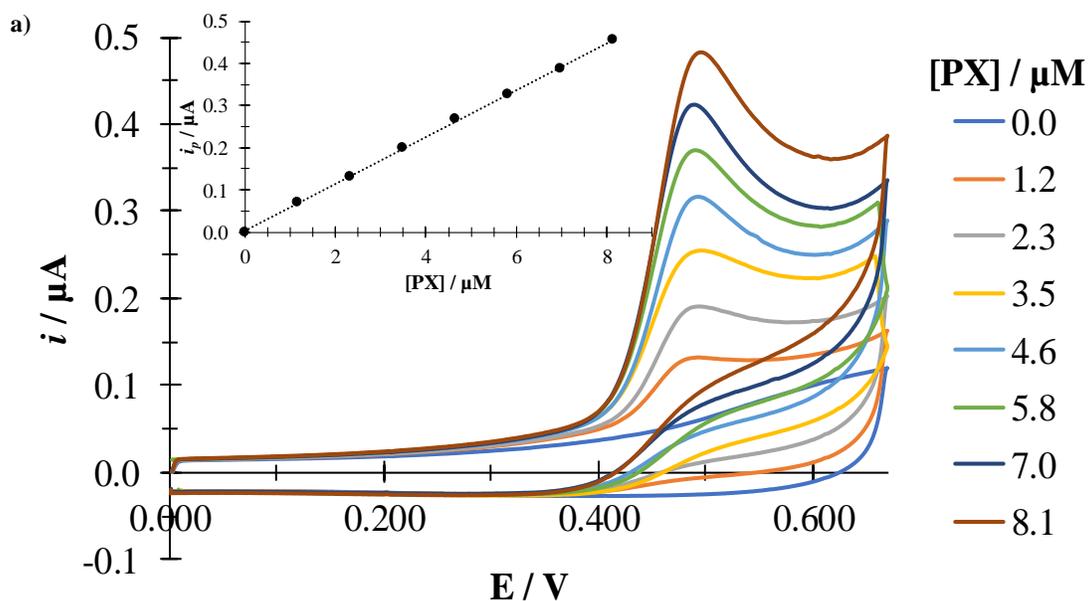
En el inserto de cada figura se aprecian las curvas de calibración para cada técnica electroquímica observando que siguen una tendencia lineal de la corriente en función de la concentración de PX. En la tabla 3.4 se presenta la ecuación de las rectas obtenidas para las diferentes técnicas.

Tabla 3.4. Ecuación de las rectas que se encuentran en el inserto de la figura 3.4.

Técnica	Ecuación	r^2
VC	$i = (0.1012 \pm 0.0013)\mu A\mu M^{-1}[PX] + (0.0032 \pm 0.0026)\mu A$	0.9992
CA	$i = (0.01175 \pm 0.00027)\mu A\mu M^{-1}[PX] - (0.00074 \pm 0.00032)\mu A$	0.9953
DR	$i = (0.03637 \pm 0.00035)\mu A\mu M^{-1}[PX] - (0.0012 \pm 0.0024)\mu A$	0.9982

3.3 Cuantificación de PX sobre un EPC a pH 9.015

Se obtuvieron las curvas de calibración mediante diferentes técnicas electroquímicas (VC, CA y DR) sobre el electrodo de pasta de carbono a diferentes concentraciones de PX a pH 1.054. Como se puede observar las corrientes fueron proporcionales a las concentraciones añadidas del fármaco.



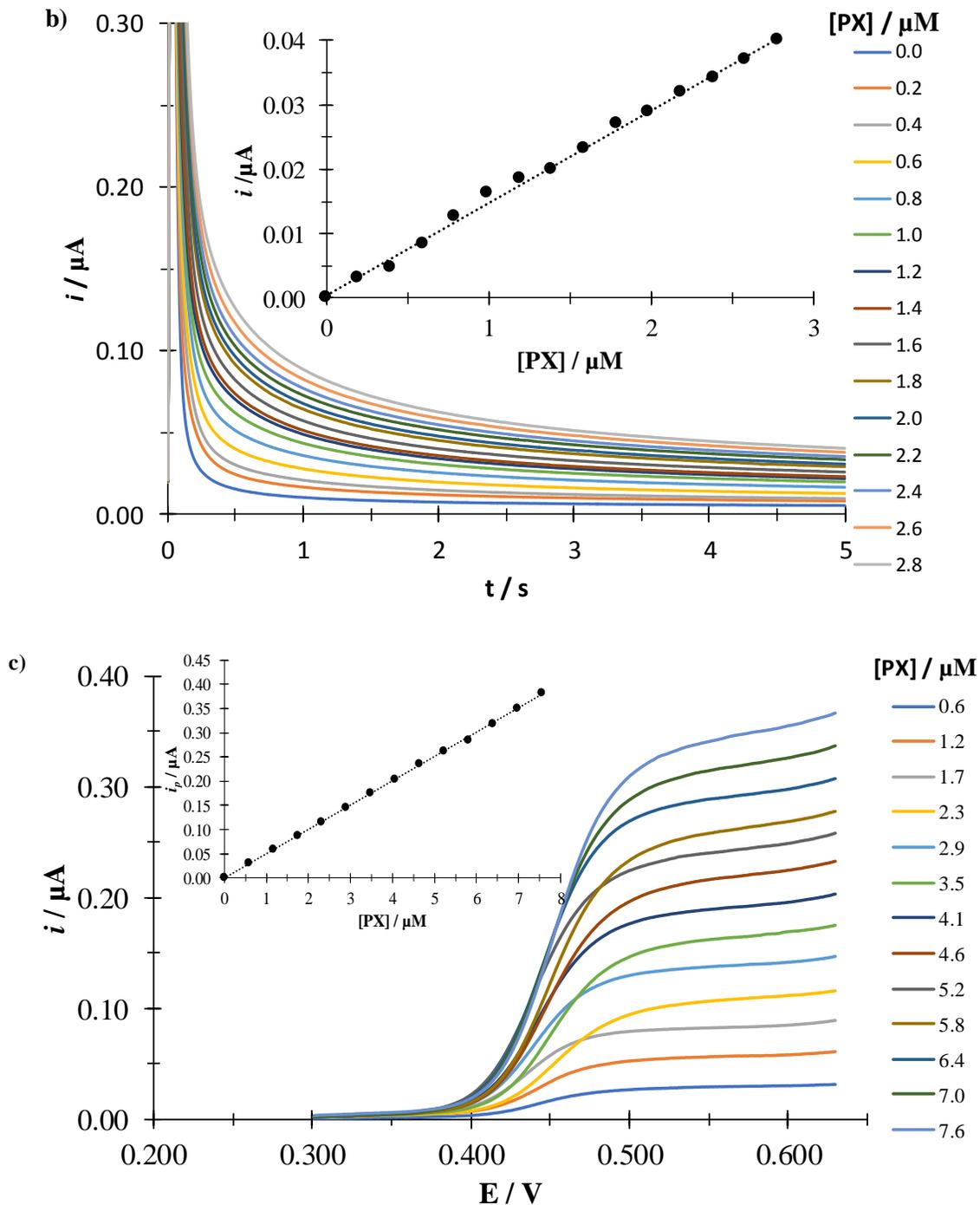


Figura 3.5. Familia de: **a)** VC's, a velocidad de barrido 0.1Vs^{-1} (En el inserto se presenta la gráfica $i_p = f[\text{PX}]$ a 0.490 V); **b)** cronoamperogramas, para un potencial impuesto de 0.530 V (En el inserto se presenta el gráfico de $i = f[\text{PX}]$ a 4 s); **c)** voltamperogramas de barrido lineal, a velocidad de barrido de 15 mVs^{-1} y una velocidad de rotación del electrodo de 300 rpm (En el inserto se presenta la gráfica $i_l = f[\text{PX}]$ a 0.600 V). A diferentes concentraciones de HPX a pH 9.015 sobre un EPC.

Como se puede observar en el inserto de cada figura se aprecian las curvas de calibración que siguen una tendencia lineal de la corriente en función de la concentración de PX. En la tabla 3.5 se presenta la ecuación de las rectas obtenidas para las diferentes técnicas.

Tabla 3.5. Ecuación de las rectas que se encuentran en el inserto de la figura 3.5.

Técnica	Ecuación de la recta	r^2
VC	$i = (0.05548 \pm 0.00047)\mu A\mu M^{-1}[PX] + (0.0039 \pm 0.0023)\mu A$	0.9996
CA	$i = (0.01436 \pm 0.00024)\mu A\mu M^{-1}[PX] + (0.00041 \pm 0.00039)\mu A$	0.9964
DR	$i = (0.05007 \pm 0.00029)\mu A\mu M^{-1}[PX] + (0.0002 \pm 0.0013)\mu A$	0.9996

3.4 Comparación de parámetros analíticos para proponer un método de cuantificación

Se obtuvieron los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) así como la sensibilidad de la curva de calibración ilustrada en las figuras anteriores, estos valores se muestran en la tabla 3.6, 3.7 y 3.8, con su respectivo pH.

Tabla 3.6. Cálculo del límite de detección y cuantificación para PX a distintas técnicas a pH 1.054 sobre el EPC.

Técnica	Velocidad de barrido mv/s	Sensibilidad ($\mu A\mu M^{-1}$)	LD (μM)	LC (μM)
VC	20	0.03122 ± 0.00080	0.41 ± 0.15	1.36 ± 0.15
	100	0.1012 ± 0.0013	0.115 ± 0.046	0.383 ± 0.044
DR (300 rpm)	15	0.03637 ± 0.00035	0.47 ± 0.17	1.57 ± 0.17
CA		0.01175 ± 0.00027	0.143 ± 0.054	0.478 ± 0.051

Tabla 3.7. Cálculo del límite de detección y cuantificación para PX a distintas técnicas a pH 3.543 sobre el EPC.

Técnica	Velocidad de barrido mV/s	Sensibilidad ($\mu A\mu M^{-1}$)	LD (μM)	LC (μM)
VC	20	0.05378 ± 0.00086	0.183 ± 0.071	0.609 ± 0.069
	100	0.1237 ± 0.0021	0.196 ± 0.076	0.654 ± 0.073
DR (300 rpm)	5	0.05568 ± 0.00040	0.045 ± 0.017	0.149 ± 0.017
CA		0.02908 ± 0.00040	0.146 ± 0.053	0.487 ± 0.052

Tabla 3.8. Cálculo del límite de detección y cuantificación para PX a distintas técnicas a pH 9.015 sobre el EPC.

Técnica	Velocidad de barrido mv/s	Sensibilidad ($\mu A\mu M^{-1}$)	LD (μM)	LC (μM)
VC	20	0.02651 ± 0.00018	0.124 ± 0.050	0.413 ± 0.049
	100	0.05548 ± 0.00047	0.191 ± 0.075	0.638 ± 0.074
DR (300 rpm)	15	0.05007 ± 0.00029	0.154 ± 0.057	0.512 ± 0.056
CA		0.01436 ± 0.00024	0.166 ± 0.061	0.552 ± 0.059

Se puede observar en las tablas que para la técnica de VC al aumentar la velocidad de barrido de potencial aumenta la sensibilidad, pero el LD y LC mejoran a velocidades bajas. Para CA y DR los parámetros analíticos son mejores a pH 3.543 (tabla 3.7). Al comparar las técnicas a pH 3.543 se determinó que la de DR es adecuado para llevar a cabo la cuantificación de PX presentando el mejor límite de detección y de cuantificación.

En la Tabla 3.9 se presenta una comparación de LD obtenidos para PX por medio de otros métodos y técnicas experimentales, se puede apreciar que utilizando simplemente un EPC es superior a métodos electroquímicos más sofisticados reportados y similar a las técnicas como la HPLC y espectrofluorimetría

Tabla 3.9. Comparación de LD de PX obtenido en otros trabajos mediante diversas técnicas experimentales con el obtenido en este trabajo.

Técnica	LD (ppm)	Referencia
Electrodo de pasta de carbono en solución acuosa mediante DR.	0.0149 ± 0.0056	Este trabajo
HPLC	$0.035 \pm n.r.$	[10]
Electrodo de pasta de carbono modificado con nanotubos de carbono de paredes múltiples por voltamperometría de diferencia de pulso.	$0.1 \pm n.r.$	[13]

Espectrofluorimetría	0.01 ± n.r.	[11]
Electrodo de cerámica de carbono incorporado con zeolita por voltamperometría de diferencia de pulso y amperometría hidrodinámica.	0.65 ± n.r. 0.29 ± n.r.	[29]
HPLC	0.025 ± n.r.	[30]

n.r. = no reportado

3.5 Recobro

Para conocer la precisión por DR se hace la recuperación de PX sobre un EPC a pH 3.543, se obtuvieron los recobros de tres puntos para conocer el porcentaje de recuperación y así tener un método confiable para la cuantificación de este fármaco. En la tabla 3.9 se presenta los datos obtenidos.

Tabla 3.10. Estudio de recuperación de PX sobre un EPC a pH 3.543 por la técnica de DR.

[PX] _{Calculada} / μM	[PX] _{Recuperada} / μM	Recobro (%)	Error (%)
0.5832 ± 0.0016	0.591 ± 0.019	101.3	1.3
0.9719 ± 0.0022	0.998 ± 0.018	102.6	2.6
1.3607 ± 0.0083	1.372 ± 0.018	100.8	0.8

Como es posible observar en la información proporcionada en la tabla 3.9, estadísticamente el porcentaje de error obtenido para cada punto es menor al 3% por lo que el método con las condiciones impuestas para la cuantificación de PX es confiable, y los valores de recuperación también se consideran aceptables (101.60 ± 0.94) %, lo que demuestra la precisión del método propuesto.

3.6 Cuantificación de la concentración de PX en una solución inyectable.

Se determinó la cantidad de PX en una solución inyectable por el método de curva de calibración y el de adiciones patrones por la técnica de DR, los resultados se muestran en la tabla 3.11.

Tabla 3.11. Cuantificación de PX en una solución inyectable sobre un EPC a pH 3.543

Método	Repeticiones	m / mg	%e	%R
Curva de calibración	9	39.66 ± 0.41	0.86	99
Adiciones patrón	10	38.88 ± 0.19	2.8	97

La muestra comercial reporta que cada ampolla contiene 40 mg de PX y debe contener no más del 7.5% de PX. Con este método se obtuvo un error porcentual menor al 7.5 % sobre la masa por lo que la solución cumple con lo indicado en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM).

CONCLUSIONES

En el intervalo de trabajo las especies de PX son estables. Las tres especies H_2PX^+ , HPX y PX^- del fármaco, en todos los casos su proceso de oxidación es irreversible, la transferencia de carga está limitada por difusión y están involucrados 2 electrones en el proceso. Por primera vez se determinó el coeficiente de difusión de cada una de las especies por diferentes métodos y siguen un mecanismo electroquímico-químico (EC) donde ambos tienen una cinética rápida.

A partir de la información anterior se llevó a cabo la cuantificación de PX por DR y este método es superior a métodos electroquímicos más sofisticados reportados y similar a las técnicas como la HPLC y espectrofluorometría. Además, se cuantificó la cantidad de PX en una solución inyectable marca FACICAM la cual cumple con lo indicado en la FEUM.

PERSPECTIVAS

- Φ Proponer un mecanismo de oxidación del piroxicam.
- Φ Identificar por cromatografía de líquido de alta presión los productos no electroactivos en la oxidación de PX.
- Φ Validar el método de cuantificación propuesto.
- Φ Estudiar los procesos de cronoamperograma.

BIBLIOGRAFÍA

- [1] Batlouni M., Antiinflamatorios No Esteroides: Efectos Cardiovasculares, Cerebrovasculares y Renales, *Arq Bras Cardiol*, 94.4 (2010), 538-46.
- [2] Barber P., Morera M., Aparicio A., Xirinachs Y., Evolución del Consumo y Gasto Farmacéutico Público de Antiinflamatorios no Esteroides en el periodo 2001-2005, *Rev. Costarric. Salud Pública*, 16 (2007), 19-26.
- [3] Salido M., Abásolo L., Bañares A., Revisión de los antiinflamatorios inhibidores selectivos de la ciclooxigenasa-2, *Inf Ter Sist Nac Salud*, 25 (2001), 46-52.
- [4] Scarpignato C., Hunt R.H., Nonsteroidal antiinflammatory drug-related injury to the gastrointestinal tract: clinical picture, pathogenesis, and prevention. *Gastroenterol. Clin. North Am.*, 39(2010), 433-464.
- [5] Scarpignato C., Piroxicam- β -Cyclodextrin: A GI Safer Piroxicam, *Curr. Med. Chem.*, 20 (2013), 2415-2437.
- [6] Barceló L.D., López de Alda M. J., Contaminación y calidad química del agua: el problema de los contaminantes emergentes. Fundación Nueva Cultura del Agua. Panel Científico-Técnico de seguimiento de la política de aguas.
- [7] Moreno V., Martínez J., Kravzov J., Pérez L. A., Moreno C., Altagracia M., Los medicamentos de receta de origen sintético y su impacto en el medio ambiente, *Rev Mex C Farm*, 44 (2013), 17-29.
- [8] “Farmacontaminación”: impacto ambiental de los medicamentos. *Boletín Infac*, volumen 24 n° 10. CEVIME, 2016.
- [9] Sun, S.X.; Lee, K.Y.; Bertram, C.T.; Goldstein, J.L. Withdrawal of COX-2 selective inhibitors rofecoxib and valdecoxib: impact on NSAID and gastroprotective drug prescribing and utilization. *Curr. Med. Res. Opin.*, 23 (2007), 1859-1866.
- [10] Abdulkarim M., Abdullah G., Sakeena M., Chitneni M., Yam M., Mahdi E., Salman I., Ameer O., Sattar M., Basri M., Noor A., Modification and validation of an HPLC method for quantification of piroxicam, *International Journal of Drug Delivery*. 3 (2011), 51-54.
- [11] Escandar G. M., Bytol A. J., Campiglia A. D., Spectrofluorimetric method for the determination of piroxicam and pyridoxine, *Anal. Chim. Anal.*, 466 (2002), 475-283.
- [12] Acuña J.A., Fuente C., Vázquez M. D., Tascón M. L., Sánchez P., Voltammetric determination of piroxicam in micellar media by using conventional and surfactant chemically modified carbon paste electrodes, *Talanta*. 40(1993), 1637-1642.
- [13] Abbaspour A., Mirzajani R., Electrochemical monitoring of piroxicam in different pharmaceutical forms with multi-walled carbon nanotubes paste electrode. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, 44 (2007), 41-48

- [14] Rodríguez D., Rojas A., Gutiérrez A., Moya R., Gómez R., Ramírez M. T., Determination of pKa values of tenoxicam from ¹H NMR chemical shifts and of oxicams from electrophoretic mobilities (CZE) with the aid of programs SQUAD and HYPNMR, *Talanta*, 80 (2009), 754-762.
- [15] Tesis de Moya Hernández, María R. “Estudio de especiación química de los fármacos antiinflamatorios tenoxicam y piroxicam con cationes metálicos de interés biológico” (2003)
- [16] Rojas A., González I., Relationship of multidimensional predominance-zone diagrams with multiconditional constants for complexation equilibria, *Anal. Chim. Acta*, 246 (1991), 435-442.
- [17] Rojas A., Ramírez M. T., Ibáñez J. G., González I., Construction of Multicomponent Pourbaix Diagrams Using Generalized Species, *J. Electrochem. Soc.*, 138 (1991), 365-371.
- [18] Rojas A., Ramírez M. T., Ibáñez J. G., González I., Multi-dimensional predominance-zone diagrams for polynuclear chemical species, *Anal. Chim. Acta*, 259 (1992), 95-104.
- [19] Rojas A., Ramírez M. T., González I., Equilibria among condensed phases and a multi-component solution using the concept of generalized species: Part II. Systems with polynuclear species, *Anal. Chim. Acta*, 278 (1993), 335-347.
- [20] Gosser D. K., *Cyclic Voltammetry Simulation and Analysis of Reaction Mechanisms*, VCH, Weinheim, 1993.
- [21] Bard A. J. and Faulkner L. R., *Electrochemical Methods and Applications*, Wiley Interscience, New York (2000).
- [22] Guzmán D.S., Ramírez M.T., Palomar M., Corona S., Galano A., Rojas A., Romero M., Spectro-electrochemical and DFT study of tenoxicam metabolites formed by electrochemical oxidation, *Electrochim. Acta*, 11 (2013), 314-323.
- [23] Gileadi E., *Electrode Kinetics for Chemists, Chemical Engineers, and Materials Scientists*, VCH, New York (1993).
- [24] Xing W., Yin G. and Zhang J., *Rotating Electrode Methods and Oxygen Reduction Electrocatalysts*. Elsevier, Amsterdam (2014)
- [25] Treimer S., Tanga A. and Johnson D. C., Consideration of the Application of Koutecky-Levich Plots in the Diagnoses of Charge-Transfer Mechanisms at Rotated Disk Electrodes, *Electroanalysis* 14 (2002), 165-171.
- [26] Torriero A., Tonn C., Sereno L., Raba J., Electrooxidation mechanism of non-steroidal anti-inflammatory drug piroxicam at glassy carbon electrode, *J. Electroanal. Chem.*, 588 (2006), 218-225.
- [27] Guzmán D.S., Ramírez M.T., Palomar M., Corona S., Galano A., Rojas A., Romero M., Electrochemical characterization of tenoxicam using a bare carbon paste electrode under stagnant and forced convection conditions, *Electrochim. Acta*, 59 (2012), 150-155.

[28] Miller J. N., Miller J. C., Estadística y Quimiometría para Química Analítica. Pearson. 4ª Edición. 2002.

[29] Asadpour K., Reza M., Zafiri M., Carbon ceramic electrode incorporated with zeolite ZSM-5 for determination of Piroxicam, Cent. Eur. J. Chem. 8 (2010), 155-162.

[30] Doliwa A., Santoyo S., Campanero M.A., Ygartua P., Sensitive LC determination of piroxicam after in vitro transdermal permeation studies, J. Pharm. Biomed. Anal., 26, 531-537 (2001).



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA

ACTA DE EXAMEN DE GRADO

No. 00282
Matrícula: 2163804997

CARACTERIZACIÓN Y CUANTIFICACION ELECTROQUIMICA DEL PIROXICAM SOBRE UN ELECTRODO DE PASTA DE CARBONO

En la Ciudad de México, se presentaron a las 11:00 horas del día 16 del mes de julio del año 2018 en la Unidad Iztapalapa de la Universidad Autónoma Metropolitana, los suscritos miembros del jurado:

DR. MARIO ALBERTO ROMERO ROMO
DRA. GABRIELA ROA MORALES
DRA. ELSA MIRIAM ARCE ESTRADA



MIGUEL ANGEL MARTINEZ CRUZ
ALUMNO

Bajo la Presidencia del primero y con carácter de Secretaria la última, se reunieron para proceder al Examen de Grado cuya denominación aparece al margen, para la obtención del grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS (QUIMICA)
DE: MIGUEL ANGEL MARTINEZ CRUZ

y de acuerdo con el artículo 78 fracción III del Reglamento de Estudios Superiores de la Universidad Autónoma Metropolitana, los miembros del jurado resolvieron:

APROBAR

REVISÓ

LIC. JULIO CESAR DE LARA ISASSI
DIRECTOR DE SISTEMAS ESCOLARES

Acto continuo, el presidente del jurado comunicó al interesado el resultado de la evaluación y, en caso aprobatorio, le fue tomada la protesta.

DIRECTOR DE LA DIVISIÓN DE CBI

DR. JESUS ALBERTO OCHOA TAPIA

PRESIDENTE

DR. MARIO ALBERTO ROMERO ROMO

VOCAL

DRA. GABRIELA ROA MORALES

SECRETARIA

DRA. ELSA MIRIAM ARCE ESTRADA