



Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa

CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL IBUPROFENO EN MEDIO
ACUOSO

TESIS QUE PRESENTA
TANIA CAMPOS HERNANDEZ

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS (QUÍMICA)

ASESORES: Dra. MARÍA TERESA RAMÍREZ SILVA
Dra. ANNIA GALANO JIMENEZ

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICA E INGENIERÍA
ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

NOVIEMBRE DE 2010

Jurado asignado

Presidente Dr. Alberto Rojas Hernández

Vocal Dr. Carlos Andrés Galán Vidal

Secretario Dr. Robin Preenja Sagar

Agradecimientos

Agradezco a mi familia, a mi madre, mi padre y mis hermanos por todo su cariño, comprensión y por compartir la alegría de vivir la vida. En esta nueva etapa de mi vida, agradezco lo aprendido a través de ellos. A mi María Elena, no por mamá, si no por esa mujer que estudia biología, porque su forma de vida me alienta a seguirla. A mi padre, por ser el hombre que siempre entenderá muy bien mi corazón, porque nuestro corazón esta hecho del mismo barro y entonces siempre podré llamarlo por teléfono cuando lo necesito. A Fabiola, porque compartimos de todo, libros, pelis, montaña, pero sobretodo porque siempre ha sido mi hermana la mayor, que va y me busca siempre que la necesito. Al Wallo porque en estos dos años también a alcanzado sus metas, viajando, viviendo intensamente y concluyendo sus estudios, por ser tan alegre y despreocupado, pero también tan responsable. A mi bubita porque me puede ver como soy y me apoya a serlo. A la cha, por el amor y cariño.

A mi guita, por heredarme una familia, porque aunque se pasó al otro lado yo la sigo teniendo presente.

A Miguel, por ser mi compañero y mi amor en estos dos años, por lo que eso ha implicado, porque aun habiendo altibajos hemos encontrado la forma de querernos. A Látika mi minina, que me ha acompañado en todas mis noches de desvelo.

Al colectivo de mujeres tejiendo resistencias: Cris, Pilar, Vicky, Paty, Magos, Eli, Gaby, Toño, Benita. A ellas les agradezco ser mis compañeras, ser mi colectivo. Ustedes saben que el motor de mi vida es el activismo y que no hay mejor alimento para continuar que tener la esperanza en que podemos construir un mundo mejor, cuando estoy entre ustedes yo tengo esa esperanza. Gracias a todos los compas de la Otra Campaña y a los compas zapatistas. Y a Humberto, por ser compa, uamero y químico a la vez.

A los uameros rebeldes que reivindicán el compromiso social de la universidad, un especial agradecimiento por compartir la UAM como centro de resistencia. En especial a Lalo.

A los que me han formado en la gran casa que es la UAM, primero a mis asesoras de tesis: Dra. María Teresa y Dra. Annia, muchas gracias por ser clave fundamental para que concluyera mis estudios. Al Dr. Alberto por ser siempre crítico de mi trabajo, por compartir su conocimiento. A los profesores que me formaron, porque las clases en la UAM tienen un toque especial, tal vez por la cercanía que se tiene al profesor, tal vez porque me dieron clase los mejores, o tal vez porque los que me dieron clase son apasionados de la química. Cualquiera que sea la clave, se agradece.

A los analíticos: Brisa, Norma, Alicia, Gabi, Gina, Manuel y Karla. Por compartir el cubil, las ideas, pero sobretodo por compartir las dudas.

A Tere, primero por aceptarme como alumna, por el compromiso que tuvo durante mi formación, por ser mi profesora, por ser objetiva y por comprenderme. Gracias también por ser amiga.

Agradezco al CONACYT por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación a través de la beca de posgrado (269959) y a través de PROMEP (SIATA).

Uno no escoge

Uno no escoge el país donde nace;
pero ama el país donde ha nacido.

Uno no escoge el tiempo para venir al mundo;
pero debe dejar huella de su tiempo.

Nadie puede evadir su responsabilidad.

Nadie puede taparse los ojos, los oídos,
enmudecer y cortarse las manos.

Todos tenemos un deber de amor que cumplir,
una historia que nacer
una meta que alcanzar.

No escogimos el momento para venir al mundo:
Ahora podemos hacer el mundo
en que nacerá y crecerá
la semilla que trajimos con nosotros.

Gioconda Belli



El 19 de abril de 2004, Pável González González desapareció, dejando su bicicleta en las instalaciones de la facultad de Filosofía y Letras. Fue torturado y asesinado por un grupo porrill de la facultad de derecho llamado Apocalipsis, que a su vez obedece al Yunque. Pável cursaba dos carreras universitarias y era un luchador social comprometido con la causa zapatista.

Contra el Olvido y la Impunidad

El 4 de mayo del 2006, Alexis Benhumea fue a golpearse a los compañeros de Atenco asesinados por el gobierno. Allí, la policía de Pánuco Mata le disparó una bala en la cabeza, causándole fractura cerebral. Desde entonces, él vive con la muerte, y falleció el 7 de junio de los 20 años de edad.



Alexis Benhumea

Historia y estudiante de la Facultad de Ciencias y del CIDE de la UNAM,
asesinado por los gobiernos federal y del Estado de México.
Tu ejemplo nos empuja a seguir luchando
Compañero Alexis: ¡Estarás por siempre entre nosotros!

Alexis Benhumea fue herido en la cabeza por la PFP el 4 de Mayo del 2006 como parte de la represión que sufrió La Otra Campaña en el pueblo de Atenco. Durante el operativo la PFP y policías locales cometieron atropellos, violaron a nuestras compañeras y negaron la entrada de la ambulancia que pudo haber salvado la vida de nuestro compañero. Murió el 7 de junio de 2006. Era estudiante de dos carreras universitarias y tenía 20 años de edad.

Contenido

1. Capítulo introducción.....	7
1.1. Introducción.....	7
1.1.1. Metabolitos del Ibuprofeno.....	9
1.1.2. Constante de acidez.....	10
1.1.3. Caracterización fisicoquímica de fármacos empleando DFT.....	11
1.2. Objetivo.....	12
2. Capítulo Espectroscopia UV-Vis.....	13
2.1. Marco teórico.....	13
2.1.1. Espectroscopia de Absorción.....	13
2.1.2. Ley de aditividad para absorbancias.....	13
2.2. Desarrollo experimental.....	14
2.2.1. Reactivos.....	14
2.2.2. Equipo.....	15
2.2.3. Pruebas de estabilidad.....	15
2.2.4. Sistema acuoso no amortiguado.....	15
2.2.5. Sistema acuoso con amortiguamiento.....	16
2.3. Resultados.....	16
2.3.1. Estabilidad.....	18
2.3.2. Sistema con amortiguamiento.....	19
2.3.3. Determinación de la constante de acidez utilizando SQUAD.....	22
2.3.4. Sistema sin amortiguamiento.....	31
2.4. Conclusiones.....	34
3. Capítulo Electroforesis Capilar de Zona.....	35
3.1. Marco teórico.....	35
3.1.1. Capilares.....	35
3.1.2. Acondicionamiento del capilar.....	36
3.2. Metodología.....	37
3.2.1. Reactivos.....	37
3.2.2. Equipo.....	37

3.3.	Resultados.....	38
3.3.1.	Electroferogramas.....	38
3.3.2.	Electroferogramas a diferentes valores de pH	39
3.3.3.	Movilidades Aparentes	40
3.3.4.	Movilidad efectiva.....	42
3.3.5.	Resultados de Estabilidad	46
3.3.6.	Comportamiento del la movilidad efectiva a diferentes valores de pH	48
3.3.7.	Determinación de tiempos de migración a pH inferior a 4.805	50
3.3.8.	Cálculo de la constante de equilibrio empleando SQUAD.....	52
3.3.9.	Calculo de los coeficientes de absortividad molar empleando ECZ	54
3.4.	Conclusiones	55
4.	Capítulo Caracterización fisicoquímica empleando DFT.....	56
4.1.	Marco Teórico	56
4.1.1.	Parámetros dentro de los métodos DFT	58
4.1.2.	Funcionales con gradiente de la densidad.....	58
4.1.3.	Funcionales híbridos	60
4.1.4.	Efectos del disolvente	60
4.1.5.	Modelos continuos	61
4.2.	Antecedentes	63
4.3.	Metodología.....	64
4.4.	Resultados.....	65
4.4.1.	Estudio Conformacional.....	65
4.4.2.	Cálculo del pKa empleando DFT.....	68
4.4.3.	Espectro IR y asignación de bandas	70
4.5.	Conclusiones	71
5.	Conclusiones Generales	72
6.	Referencias.....	73

1. CAPÍTULO INTRODUCCIÓN

1.1. Introducción

El ibuprofeno es clasificado como un antiinflamatorio no esterooidal (AINE). Se utiliza frecuentemente para el alivio sintomático del dolor de cabeza (cefalea), dolor dental (odontalgia), dolor muscular (mialgia), molestias de la menstruación (dismenorrea), dolor neurológico de carácter leve, síndrome febril y dolor trans cirugía (postquirúrgicos). También se usa para tratar cuadros inflamatorios, como los que se presentan en artritis, artritis reumatoide y artritis gotosa. Generalmente la dosis diaria recomendada en adultos es de 1.2 g diarios, dependiendo de la gravedad del trastorno y de las molestias del paciente, pero que no deberá exceder 2.4 g diarios. La producción anual rebasa los kilotones y es el tercer fármaco antiinflamatorio más usado en el mundo [1].

Los AINE son nombrados así para distinguirse de antiinflamatorios que son esteroides, los cuales tienen una acción desinflamatoria muy similar. Los AINE tienen la particularidad de ser considerados no narcóticos, por lo que pueden ser comprados sin receta médica en países como México. La mayoría de los AINE son inhibidores no selectivos de la enzima ciclooxigenasa que son parte del ciclo catalítico de la formación de las prostglandinas. A su vez la prostglandina actúa como molécula mensajera en el proceso de inflamación. La mayoría de los AINE son ácidos con valores de pKa de 3-5.

El ibuprofeno se descompone en presencia de luz y puede reaccionar con el CO₂ del aire [2]. Tiene una solubilidad en agua de 0.1 mg/ml a 25°C y a pH 6. La solubilidad aumenta en valores de pH básicos [3].

En la figura 1.1 se muestra la estructura del ácido 2-(p-isobutilfenil) propiónico (Ibuprofeno), se observa que tiene un carbono quiral por lo que el ibuprofeno es ópticamente activo, sus enantiómeros son el S-(+)-Ibuprofeno y R-(-)-Ibuprofeno. Farmacéuticamente el S-(+)-ibuprofeno es activo, el otro enantiómero no presenta propiedades terapéuticas, pero tampoco se tiene reportado que ocasione interferencias o efectos secundarios por lo que los fármacos son la mezcla racémica [3].

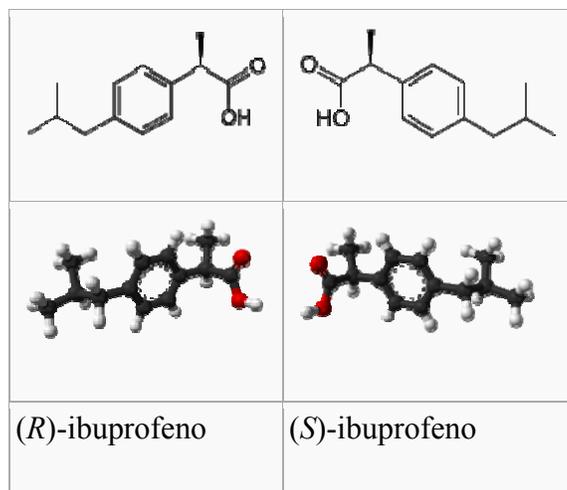


Figura 1.1. Los enantiómeros del Ibuprofeno

A pesar de que S-Ibuprofeno es el farmacológicamente activo y por lo tanto el de mayor interés, solo se tiene reportada la conformación del R-Ibuprofeno empleando DFT. Vueba y colaboradores [4] estudiaron al menos ocho conformaciones de mínima energía de la molécula del R-Ibuprofeno. Encontraron que la conformación más estable de las ocho, es la mostrada en la figura 1.2.

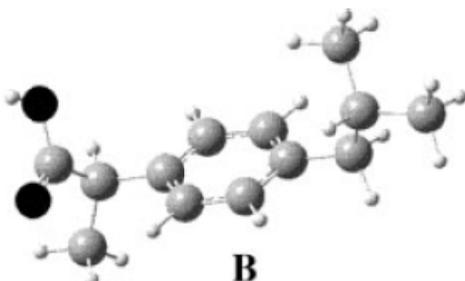


Figura 1.2. Representación esquemática de la conformación más estable de la molécula del Ibuprofeno según Vueba y col. [4].

1.1.1. Metabolitos del Ibuprofeno

Hutt y col. [5] reportan que a partir de orina de humanos, que regularmente usan el fármaco, los principales metabolitos del Ibuprofeno son el hidroxibuprofeno y el carboxibuprofeno, los cuales se muestra en la figura 1.3. El 90% del fármaco Ibuprofeno es metabolizado por el humano [1] por lo que en las aguas de desecho urbanas, la mayoría del Ibuprofeno se encontrará en alguna de sus formas metabólicas.

Ibuprofeno	Hidroxibuprofeno	Carboxibuprofeno
$C_{13}H_{18}O_2$	$C_{13}H_{18}O_3$	$C_{13}H_{16}O_4$
206 g/mol	222 g/mol	236 g/mol

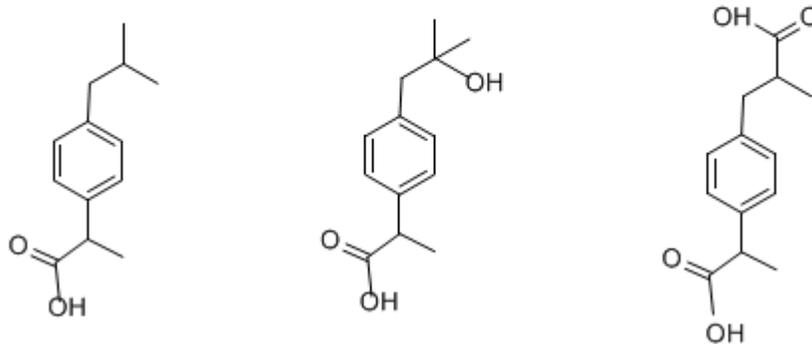


Figura 1.3. Ibuprofeno y sus principales metabolitos.

El fármaco y el residuo metabolizado del fármaco Ibuprofeno, se ha encontrado en su mayor parte en las plantas de tratamiento de aguas, encontramos los primeros reportes en el año de 1998 [1]. Las principales fuentes de contaminación del agua son la industria farmacéutica y la fuente doméstica; la industrial se da mediante descargas de las aguas usadas en los procesos de fabricación a los ríos, la doméstica se da vía la orina que tanto humanos como animales desechan después de haber ingerido el medicamento. Según los reportes la contaminación doméstica es la principal causa de contaminación en los ríos urbanos. Se han encontrado niveles de 0.087 ppb de Ibuprofeno en ríos canadienses y de 0.45 a 0.68 ppb en ríos Europeos. Winkler y colaboradores [2] detectaron los metabolitos utilizando espectrometría de masas y coinciden con los metabolitos encontrados en humanos por Hutt, pero aclaran que no hay

metabolitos estándar para poder afirmar que los metabolitos que ellos reportan, sean los únicos metabolitos del ibuprofeno.

1.1.2. Constante de acidez

Debido a la baja solubilidad en agua que tiene el Ibuprofeno, su constante de acidez ha sido calculada principalmente en mezclas de disolventes orgánicos con agua [6]. El solvente orgánico comúnmente usado es el metanol porque se acepta que su efecto de solvatación es lo más parecido al del agua [7].

El pKa del ibuprofeno a 25°C en medio acuoso ha sido estimado por varios autores, realizando mediciones en mezclas de disolvente orgánico-agua a diferentes proporciones para posteriormente realizar una extrapolación y así obtener la constante en medio totalmente acuoso.

Las titulaciones potenciométricas están limitadas por la poca solubilidad de los fármacos en agua por lo que Avdeef y colaboradores [8] utilizan mezclas de solvente metanol agua y la ecuación conocida como extrapolación de Yasuda-Shedlovsky para llegar al 0% de metanol, dicha ecuación tiene un error de ± 0.2 unidades de pKa para ácidos débiles [7].

$${}^s pKa + \log[H_2O] = a\varepsilon^{-1} + b$$

Donde:

${}^s pKa$: pKa a diferentes proporciones solvente orgánico-agua

ε : Constante dieléctrica del solvente binario

a y b : Constantes empíricas

Las constantes a y b se obtienen al realizar la regresión, para 100% acuoso se usa $\varepsilon = 78.3$ y $[H_2O] = 55.5$

Meloun ha realizado una revisión de todos los pKa acuosos reportados [6], el estudio tiene el propósito de hacer una evaluación comparativa entre todos los datos y todos los métodos para unificar un criterio, en dicha evaluación, las técnicas instrumentales más usadas son espectrofotometría y potenciometría y reportan un valor del pKa en el intervalo de 4.30 a 4.64.

Shalaeva y colaboradores [9] determinaron la constante, disolviendo al Ibuprofeno también en metanol y empleando electroforesis capilar. Obtuvieron un valor de pKa de 4.35 y 4.36 empleando dos diferentes metodologías que incluían diferentes equipos y amortiguadores acuosos y cosolventes.

1.1.3. Caracterización fisicoquímica de fármacos empleando DFT

La química computacional se vuelve una herramienta importante en todas las áreas de la química, porque permite obtener información para corroborar datos experimentales. Tal es el caso del uso de la teoría de funcionales de la densidad (DFT) para obtener constantes fisicoquímicas [10]. Por ejemplo, el cálculo de las frecuencias empleando DFT nos permite obtener el espectro infrarrojo teórico y la asignación de bandas. Actualmente para obtener información de las energías vibracionales de una molécula de manera experimental, se emplea espectroscopia FTIR y Raman.

Por otro lado, el estudio conformacional de moléculas de fármacos empleando DFT, ha permitido entender interacciones entre moléculas farmacológicamente activas y diferentes matrices [4]. Como matrices se han estudiado principalmente los excipientes que se usan en la industria farmacéutica y fluidos biológicos.

Sin embargo existen otras matrices de interés que aún no han sido estudiadas empleando DFT, tal es el caso de ríos, lagunas y aguas de desecho. Es decir, existe un problema ambiental de contaminación de Ibuprofeno en ríos y lagunas, por lo que es importante determinar el Ibuprofeno también en estas matrices.

En la realización del trabajo se tiene la expectativa de que el estudio sirva posteriormente para llevar a cabo mediciones en aguas de desecho, por lo que la caracterización fisicoquímica de la molécula debe ser completa.

Por lo anterior se quiere conocer las características químicas del Ibuprofeno con las herramientas de espectroscopía UV-Vis, electroforesis capilar de zona y completar el estudio con la teoría de funcionales de la densidad.

1.2. Objetivo

El objetivo general es la caracterización química del Ibuprofeno en medio acuoso. Para ello se plantean como objetivos particulares:

- Determinación del equilibrio de acidez del Ibuprofeno en un medio acuoso.
- Determinar el valor de pKa en solución acuosa empleando espectrofometría UV-Vis
- Determinar el valor de pKa en solución acuosa empleando Electroforesis Capilar de Zona.
- Caracterización de la molécula y determinación del valor de pKa en solución acuosa empleando DFT

2. CAPÍTULO ESPECTROSCOPIA UV-VIS

2.1. Marco teórico

2.1.1. Espectroscopia de Absorción.

Los métodos espectroscópicos de absorción emplean la absorción de radiación electromagnética que presenta una molécula a una frecuencia característica correspondiente a la energía de transición existente entre diferentes niveles de energía electrónica.

La espectroscopia de ultravioleta consiste en la observación de la absorción de radiación electromagnética en las regiones del visible y el ultravioleta del espectro. Un haz de una fuente luminosa se hace pasar a través de la muestra y la transmisión óptica se mide con un detector. La absorbancia A de una muestra está descrita por la ley de Lambert-Beer.

$$A = \log \frac{I_0}{I} = \epsilon b [J] \quad (2.1)$$

Donde

I_0 ; Intensidad de la luz incidente.

I : Intensidad de la luz transmitida a través de la muestra.

$[J]$: Concentración de la especie absorbente J

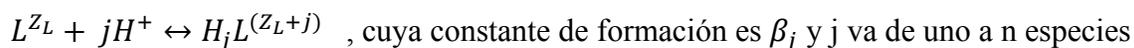
b : Longitud del paso óptico.

ϵ : Coeficiente de absorptividad.

2.1.2. Ley de aditividad para absorbancias

Cuando en el sistema existen más de un componente que absorbe radiación, se emplea la ley de aditividad para absorbancias, que asume que las especies actúan independientes unas de otras y que sus absorbancias son aditivas.

Si las especies L^{Z_L} , $HL^{(Z_L+1)}$, ..., $H_jL^{(Z_L+j)}$, ..., $H_nL^{(Z_L+n)}$ están relacionadas mediante el equilibrio de formación global, definido de la siguiente manera:



Entonces, la ley de aditividad para absorbancia, será :

$$\begin{aligned} A^{(\lambda)} &= A_L^{(\lambda)} + A_{HL}^{(\lambda)} + \dots + A_{H_jL}^{(\lambda)} + \dots + A_{H_nL}^{(\lambda)} \quad (2.2) \\ &= \varepsilon_L^{(\lambda)} b[L^{Z_L}] + \varepsilon_{HL}^{(\lambda)} b[HL^{(Z_L+1)}] + \dots + \varepsilon_{H_jL}^{(\lambda)} b[H_jL^{(Z_L+j)}] + \dots + \varepsilon_{H_nL}^{(\lambda)} b[H_nL^{(Z_L+n)}] \end{aligned}$$

A partir de lo anterior se puede determinar que la relación de las fracciones es

$$\frac{f_{L^-}}{f_{HL}} = \frac{A_T^\lambda - A_{HL}^\lambda}{A_{L^-}^\lambda - A_T^\lambda} \quad (2.3)$$

Para el caso del equilibrio monoprótico que presenta el ibuprofeno, se tiene que:

$$pH = pKa + \log \frac{|Ibu^-|}{|Hibu|} \quad (2.4)$$

Si se establece que la relación entre fracciones es igual a la relación en concentraciones

$$\frac{f_{L^-}}{f_{HL}} = \frac{|Ibu^-|}{|Hibu|}$$

Entonces se puede utilizar la ec 2.3 y la 2.4 para obtener el pKa como una función de las absorbancias

2.2. Desarrollo experimental

2.2.1. Reactivos

Todas las soluciones se prepararon con agua desionizada 18 MΩ. Las disoluciones de Ibuprofeno se realizaron con Ibuprofeno (Reactivo analítico 99.5% Fluka) y metanol (grado cromatográfico Merck). Se trabajó con amortiguador Britton- Robinson preparado con ácido

bórico (grado reactivo J.T.Baker), ácido fosfórico (grado reactivo J.T.Baker), ácido clorhídrico (Merck 1.19 g/ml, 37%) e hidróxido de sodio (Merck 99 %).

2.2.2. Equipo

Se usó un espectrofotómetro UV-VIS (Perkin Elmer Lambda 20). El pH de las disoluciones fue ajustado empleando un pH-metro Mettler Toledo MP230. Para mantener la temperatura constante se usó una celda de reacción de 10 ml termostática con un baño de temperatura Cole Parmer 12101-10 y un agitador Spinbar.

2.2.3. Pruebas de estabilidad

Con base en lo reportado en la literatura, las pruebas de estabilidad se realizaron bajo las siguientes condiciones: Temperatura constante de 25 °C, protección de la luz usando una celda de reacción cubierta de papel aluminio, atmósfera de nitrógeno y agitación constante empleando agitador y barra magnética.

Fijadas las condiciones anteriores, se planteó la siguiente metodología:

Se adicionó a la celda de reacción 10 ml de una solución de Ibuprofeno de 1.18×10^{-5} M se ajustó el pH empleando HCl 0.1 M o NaOH 0.1 M, posteriormente se registró la lectura del pH. Una vez registrado el pH, se siguió el espectro de absorción haciendo un barrido de 200 a 300nm durante una hora, con intervalos de 1 minuto durante los primeros diez minutos, e intervalos de 5 minutos durante el resto del tiempo. La misma metodología se realizó a concentraciones de Ibuprofeno de 5×10^{-4} M.

2.2.4. Sistema acuoso no amortiguado

Para el seguimiento de la desprotonación del Ibuprofeno y tomando las mismas precauciones antes mencionadas para la estabilidad, se siguieron las dos metodologías siguientes:

1. Se preparan 10ml de una solución 0.01 M de HCl y de la concentración deseada de Ibuprofeno, se colocan en la celda de reacción. Para que la concentración de Ibuprofeno sea constante, se preparan 5 ml de una solución 0.1 M de NaOH y de la misma concentración de Ibuprofeno. Se realizan adiciones de la segunda disolución a la celda de reacción, al mismo tiempo se registran los valores de pH y el espectro de absorción UV-Vis.

2. Se preparan 10 ml de una solución 0.01 M de NaOH y de la concentración deseada de Ibuprofeno y se colocan en la celda de reacción. Se preparan 5 ml de una solución 0.1 M de HCl y de la misma concentración de Ibuprofeno. Se realizan adiciones en la celda de reacción, al mismo tiempo se registran el pH.

2.2.5. Sistema acuoso con amortiguamiento

Se prepara una serie de soluciones amortiguadoras Britton-Robinson 0.01 M en agua, las disoluciones se ajustan a diferentes valores de pH empleando NaOH 0.1M. Se preparan aproximadamente diez disoluciones en un intervalo de pH de 3 a 7. A cada sistema amortiguado se le adiciona la misma cantidad de Ibuprofeno, al mismo tiempo que se registra el espectro. Se registra el espectro del sistema sin Ibuprofeno para tener el blanco del sistema.

2.3. Resultados

La figura 2.1 muestra el espectro de absorción del ibuprofeno reportado en la literatura [5], se reportan tres bandas a 220, 264 y 272 nm. A una concentración de 5×10^{-5} M se observa la banda de 220 nm. A una concentración de 1.2×10^{-3} M se observan las bandas de 264 y 272 nm tanto en disolvente metanol como en 0.1 M de NaOH. Las tres bandas son representativas, pero a altas concentraciones la de 220 es muy intensa y no se alcanza a observar por saturación del equipo.

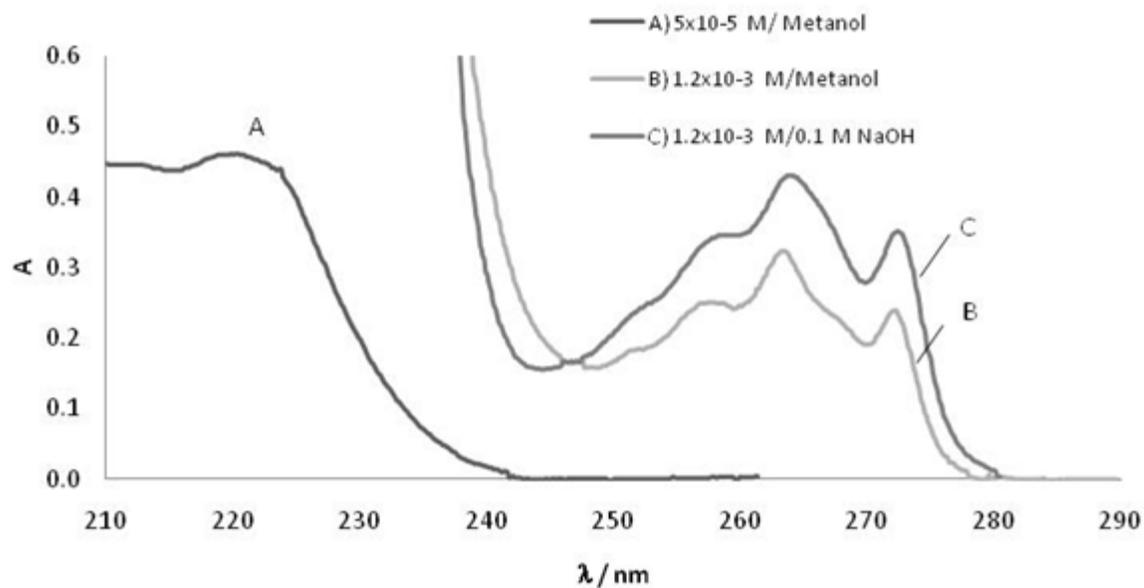


Figura 2.1. Espectro del Ibuprofeno en metanol y 0.1M NaOH [5].

La figura 2.2 muestra el espectro de éste trabajo a diferentes concentraciones. A una concentración de 5×10^{-5} M la banda representativa es 220 nm, mientras que a una concentración de 1.5×10^{-4} M se pueden observar también con claridad las bandas en 264 y 272 nm

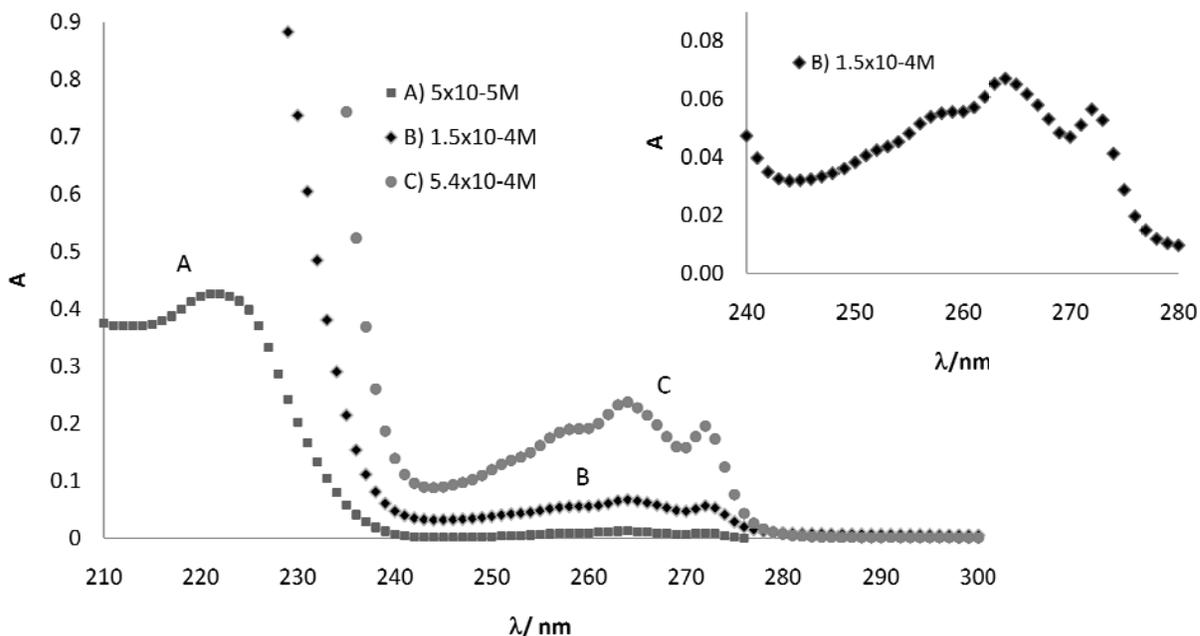


Figura 2.2. Espectros del Ibuprofeno en agua reportados en este trabajo, a tres diferentes concentraciones.

Tanto los espectros reportados en la literatura como los de este trabajo presentan tres bandas a la longitud de 220 nm, 264 nm y a 272 nm. Debido a que la banda de 220 nm se observa mejor a bajas concentraciones, mientras que las otras se observan mejor a concentraciones más altas, para el presente estudio dividimos el espectro del Ibuprofeno en dos zonas. La primera zona de 200 a 255 nm para analizar la banda de 220 nm y la segunda zona de 232 a 300 nm para analizar las bandas de 264 y 272 nm.

2.3.1. Estabilidad

Para garantizar que los resultados sean reproducibles, se realizó un estudio sobre la estabilidad del Ibuprofeno en atmósfera nitrogenada, cubierta de la luz y a 25°C. El estudio se realizó a pH 2 porque se considera que a ese pH predomina la especie ácida y pH 8 porque se considera que a ese pH predomina la especie básica. A dos concentraciones de Ibuprofeno, 5×10^{-4} M (A) y 1.18×10^{-5} M (B)

Para el experimento con una concentración A y a pH 2, la media es de 0.2479 uA después de la hora se tiene una desviación de ± 0.0079 que equivale al 3.2 %. Para el B a pH 8, la media es de 0.2848 uA después de la hora se tiene una desviación de ± 0.012 que equivale al 4.3 %. Para el experimento B a pH 2, la media es de 0.3964 uA después de la hora se tiene una desviación de ± 0.0064 que equivale al 1.6 %. Para el experimento A y a pH 8, la media es de 1.097 uA después de la hora se tiene una desviación de ± 0.082 que equivale al 7.5 %.

No hay un cambio significativo de la absorbancia en función del tiempo a pH 2, ni a pH 8. La señal de la absorbancia es más estable sobre todo en tiempos menores a 30 min garantizando que la desviación sea menor al 5% para ambas concentraciones.

2.3.2. Sistema con amortiguamiento

La figura 2.3 se muestra la familia de espectros para la zona comprendida entre $\text{pH } 2.21 < \text{pH} < 6.12$, en un estudio con soluciones de amortiguamiento a una concentración de $9.6 \times 10^{-5} \text{M}$. Se puede observar un máximo en 224 nm y un punto isobéptico en 233 nm. En las bandas de 224 nm se observa un desplazamiento batocrómico e hipercrómico.

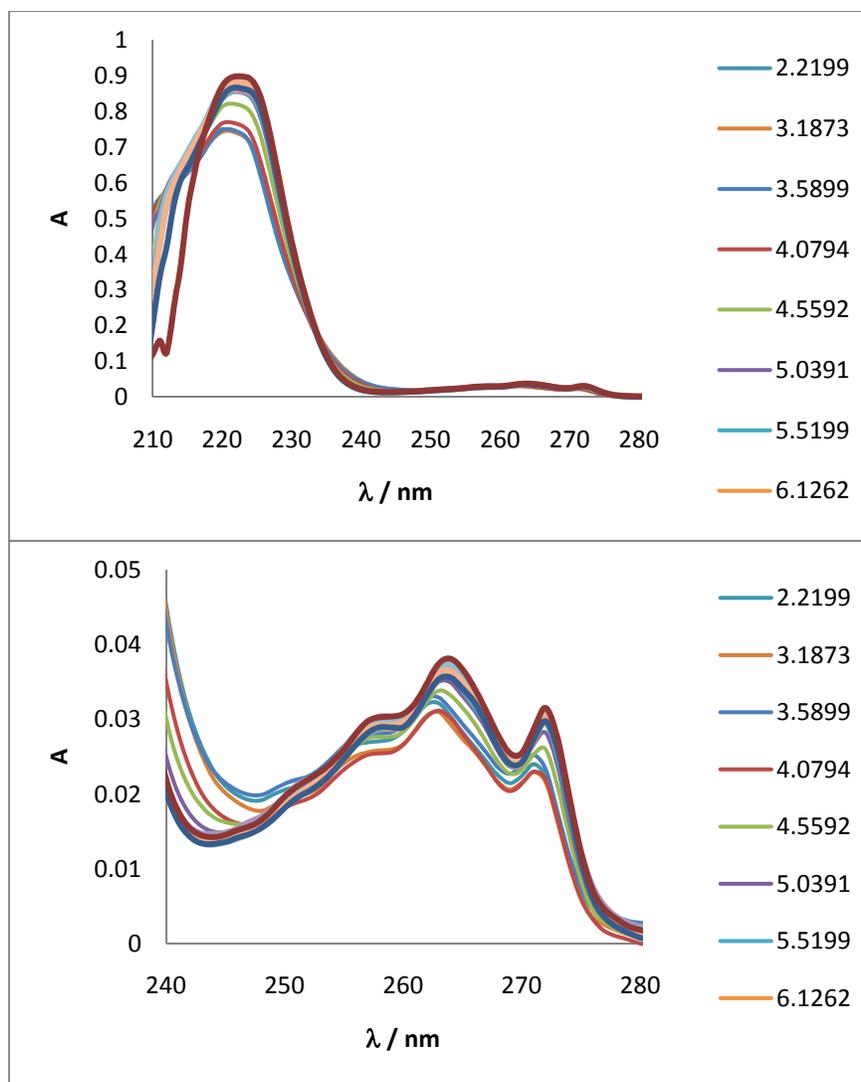


Figura 2.3. Espectros de absorción del Ibuprofeno $9.6 \times 10^{-5} \text{M}$ a diferentes valores de pH.

Un acercamiento a la gráfica en la zona de 237 a 300 nm se observan dos bandas más en 264 y 372 nm. También se observa otro punto isobéptico en 256 nm. En las bandas de 264 y 272 nm se observa un desplazamiento batocrómico e hipercrómico.

La figura 2.4 muestra los cambios de absorbancia con respecto a pH para la banda de 224 nm mostrando la tendencia de una sigmoide.

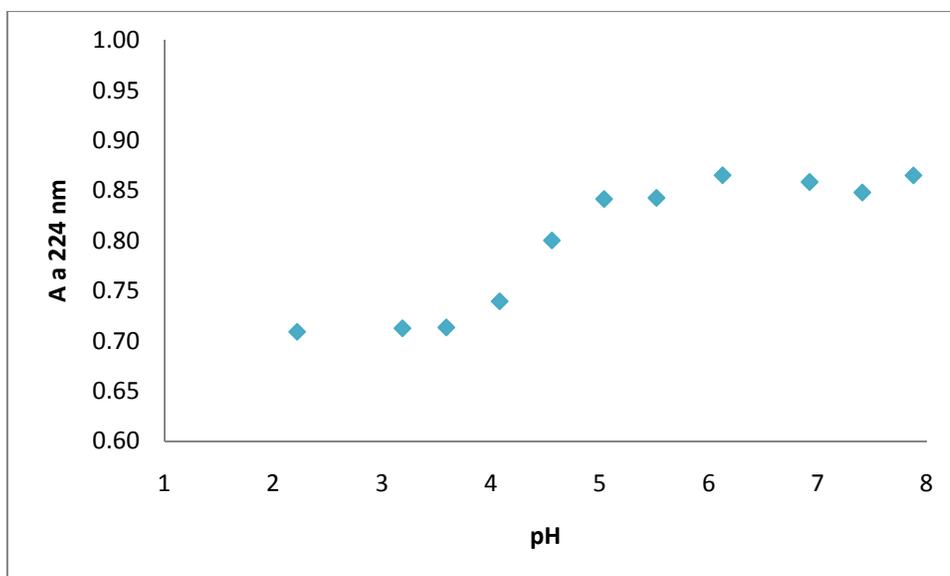


Figura 2.4. Comportamiento de la absorbancia a 224nm a diferentes valores de pH. $9.6 \times 10^{-5} \text{M}$

Sin embargo la banda de 264 y 272 nm no presenta una tendencia sigmoide.

Por otro lado al realizar un análisis del comportamiento de otras bandas de absorción se encuentra que la banda de 238 nm presenta la tendencia, que se muestra en la figura 2.5.

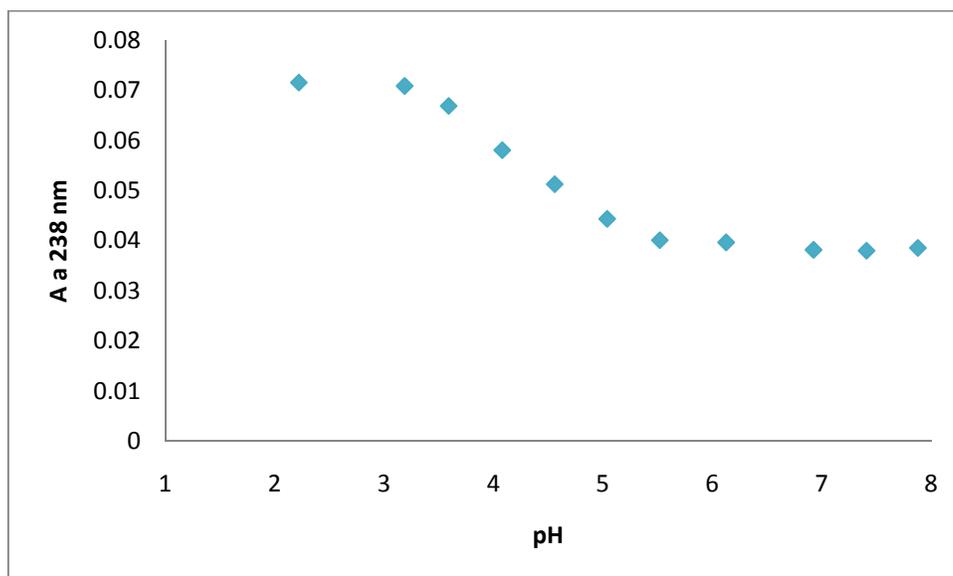


Figura 2.5. Comportamiento de la absorbancia a 238nm a diferentes valores de pH. $9.6 \times 10^{-5} \text{M}$

2.3.3. Determinación de la constante de acidez utilizando SQUAD

Tomando en cuenta que la molécula del Ibuprofeno presenta un protón ácido, se plantea el siguiente equilibrio:



Empleando la ley de aditividad de absorbancias, para este caso:

$$A^{(\lambda)} = \varepsilon_{Ibu^{-}}^{(\lambda)} l[HIbu^{-}] + \varepsilon_{HIbu}^{(\lambda)} l[HIbu] \quad (2.6)$$

Por lo tanto, se espera que SQUAD arroje la constante global de formación, es decir, la constante de acidez y los coeficientes de absorptividad molares de la especie protonada y desprotonada [11]. No se realiza con SQUAD el cálculo de un modelo poliprótico porque no tiene significado físico.

Al programa se le ingresaron los espectros de de 200 a 255 nm, cada 1 nm. Se alimentaron nueve espectros de la valoración. El programa calculó el pKa en 4.345 ± 0.033 con una desviación estándar total de 3.0×10^{-2} y una suma de residuos de 8.5×10^{-2} .

Los coeficientes de absorptividad molares de las dos especies se muestran en la figura 2.6, se observa la banda de 224 nm y el punto isobéptico en 233 nm.

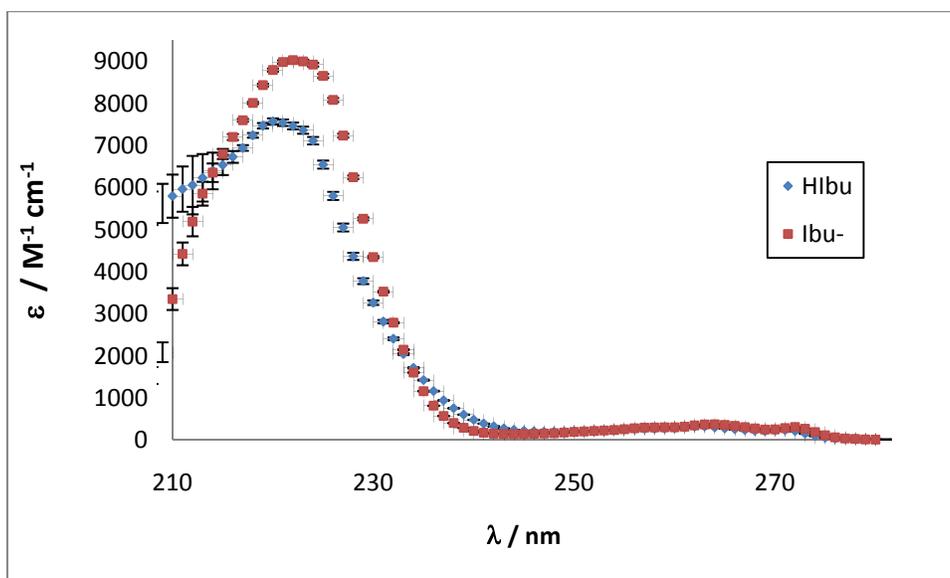


Figura 2.6. Coeficientes de absorptividad molar del Ibuprofeno, con sus respectivas desviaciones estándar

A partir de los coeficientes de absorptividad molares arrojados por SQUAD se calculan los espectros simulados para ambas especies. Para ello, nuevamente se hace uso de la ley de aditividad de absorbancias.

$$A(\lambda) = \left(\varepsilon_{Ibu^-}^{(\lambda)} f_{Ibu^-} + \varepsilon_{HIbu}^{(\lambda)} f_{HIbu} \right) b [Ibu] \quad (2.6)$$

Las fracciones molares de las especies

$$f_{Ibu^-} = \frac{1}{1 + 10^{(pKa - pH)}} \quad (2.7)$$

Como se observa en la figura 2.7 el ajuste es superponible, en la banda de 224 nm para ambos valores de pH se nota un ligero desajuste.

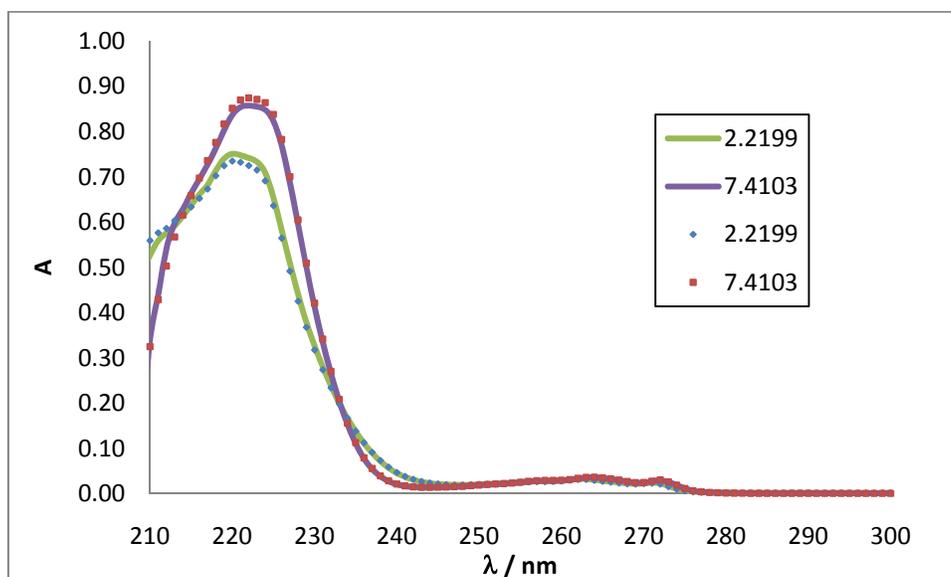


Figura 2.7. Espectro del Ibuprofeno $9.5 \times 10^{-5} M$. El espectro simulado está representado por líneas continuas, mientras el experimental por puntos

Con respecto a los puntos isobásticos, tanto el cálculo teórico como el experimental concuerdan exactamente en que el primer punto isobástico a una longitud de onda de 233 y para el segundo, el simulado se encuentra a 252 nm, es decir a 4 nm del experimental.

Los siguientes resultados son de la valoración con amortiguamiento a una concentración de Ibuprofeno de 5.5×10^{-4} M. La figura 2.8 muestra la familia de espectros en el intervalo de pH de 2.584 a 8.315. Se observa un máximo en 225 nm, un punto isobéptico en 235 nm. Antes de 224 nm se observa que la familia de espectros presenta ruido. El acercamiento muestra las bandas en 264 y 272 nm, así como el punto isobéptico en 251 nm.

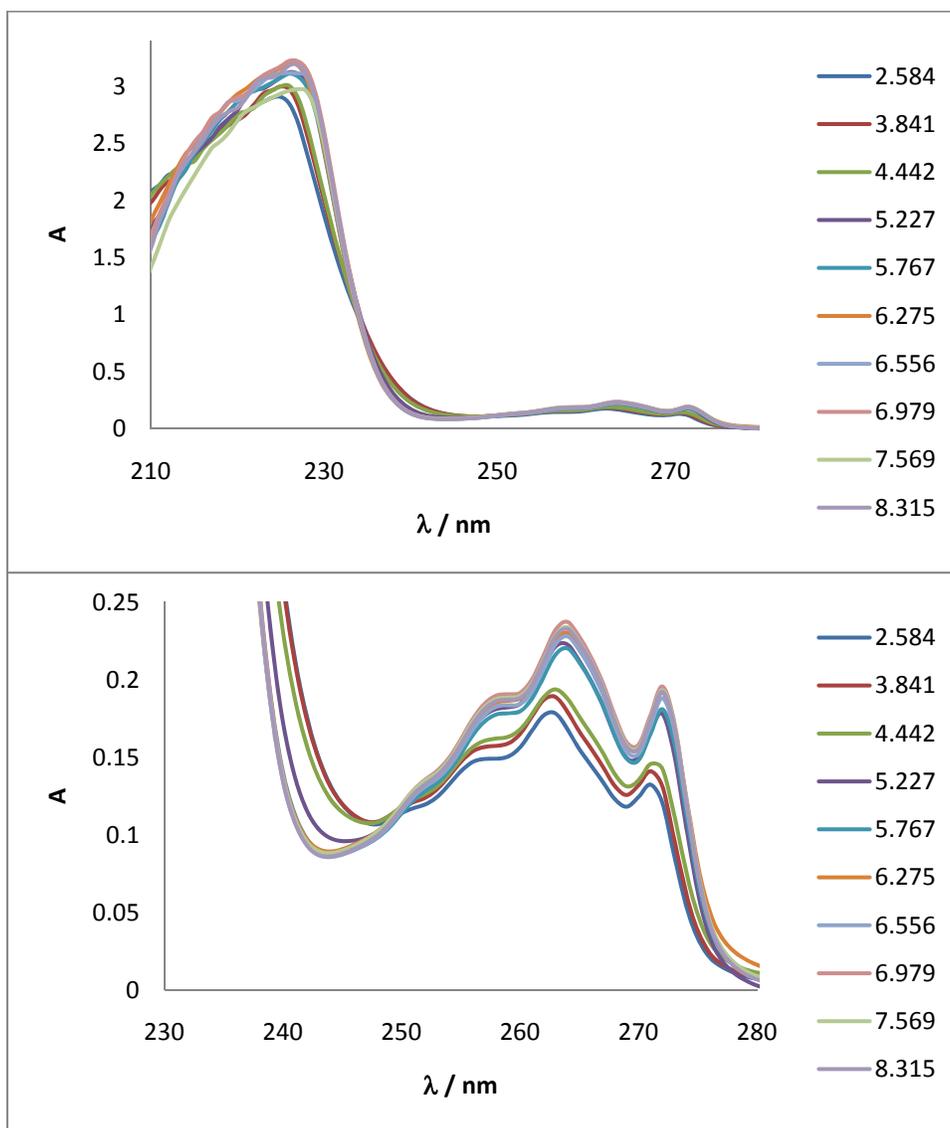


Figura 2.8. Espectros de absorción del Ibuprofeno 5.5×10^{-4} M a diferentes valores de pH

Se buscó que las longitudes de onda que presentan un máximo de absorbancia, en el gráfico de absorbancia con respecto a pH tuviera una tendencia a una sigmoide, sin embargo para las longitudes de onda de 225, 264 y 272 nm no fue así.

En cambio, para una longitud de onda de 239 nm, los cambios de absorbancia con respecto a pH muestran la tendencia de una sigmoide, como se aprecia en la figura 2.9.

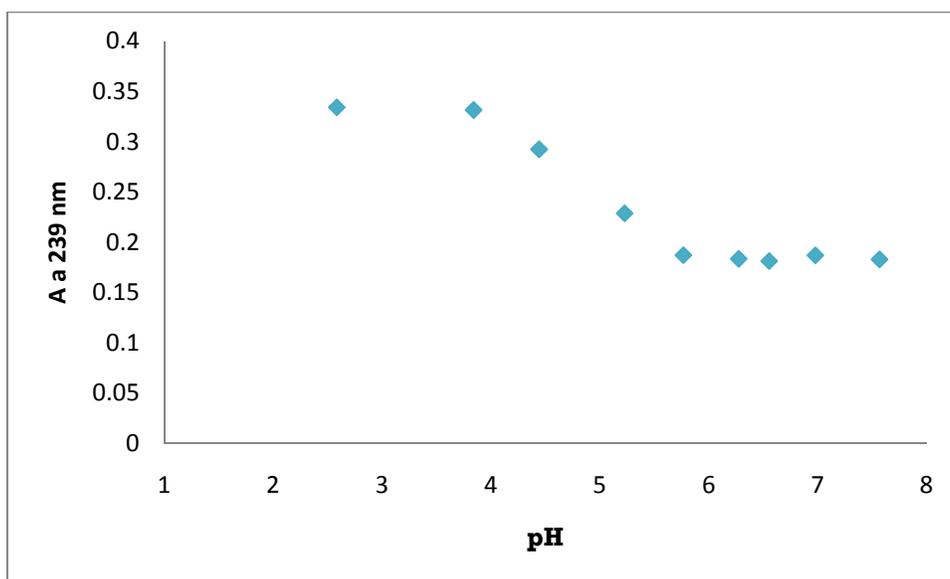


Figura 2.9. Comportamiento de la absorbancia del Ibuprofeno 5.5×10^{-4} M a diferentes valores de pH. La absorbancia registrada a 239 nm.

Al programa se ingresan los 10 espectros de la valoración, de 232 a 300 nm, cada 1 nm. El programa calculó el pKa en 4.744 ± 0.029 con una desviación estándar total de 8.86×10^{-2} y una suma de residuos de 4.3×10^{-2}

Los coeficientes de absorptividad molares de las dos especies se muestran en la figura 2.10, se ve el máximo en 264 nm y el punto isobéptico en 235 nm. La figura muestra los coeficientes de absorptividad molares en el intervalo de interés y donde se encuentra el punto isobéptico a 248 nm, para la región de 264 y 272 nm las desviaciones estándar de los coeficientes son

menores al 2 %. Y de manera general, se tienen desviaciones estándar de los coeficientes menores al 3% en las bandas de interés.

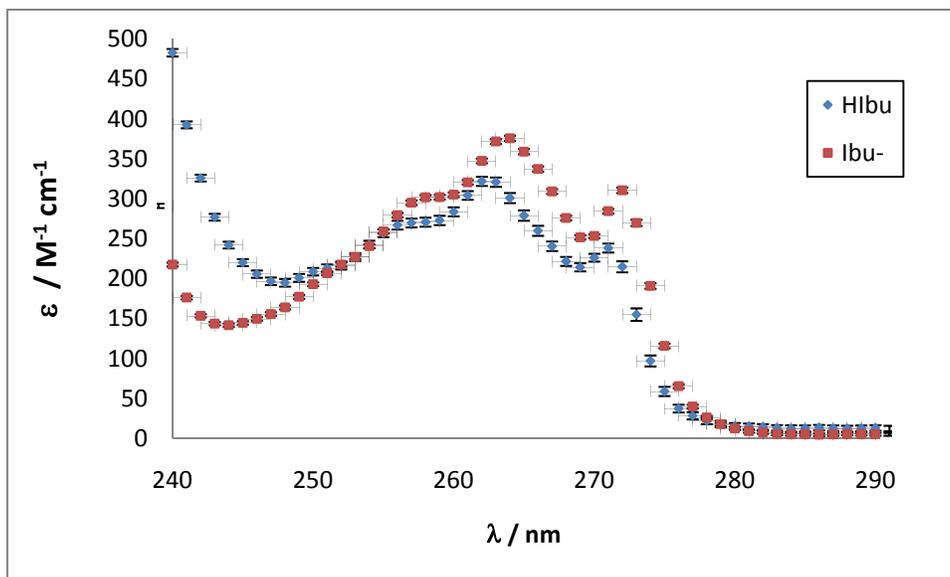


Figura 2.10. Coeficientes de absortividad molar estimados por SQUAD.

La figura 2.11 presenta los espectros simulados y los espectros experimentales a dos terminados valores de pH, se observa que en general los espectros simulados son superponibles a los espectros experimentales. El ajuste es bueno en el intervalo de 240 a 280 nm que es la región de interés.

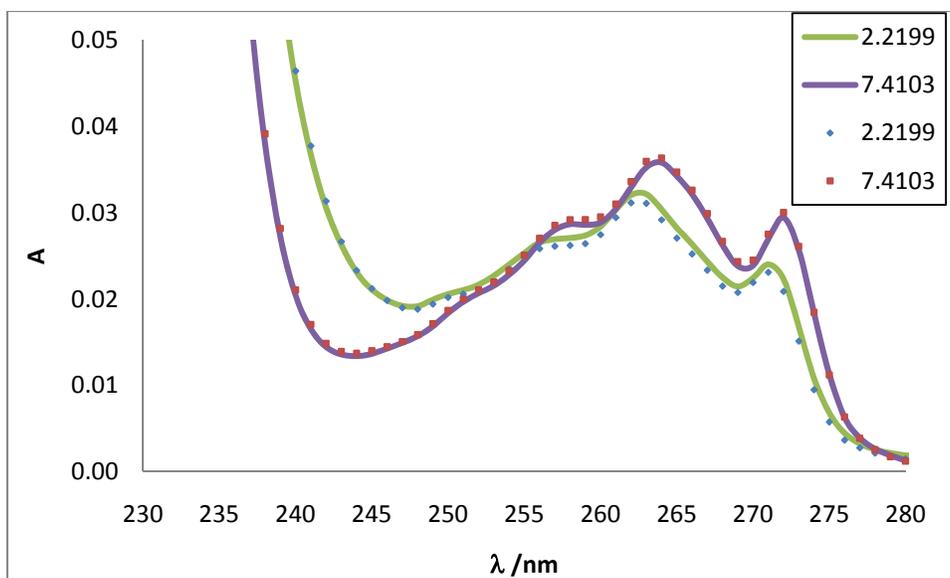


Figura 2.11. Espectros del Ibuprofeno 5.5×10^{-4} M. Los espectros simulados están representado por líneas continuas, los espectros experimentales por puntos

De los dos puntos isobécticos que se aprecian en esta región se puede decir que son los mismos para el conjunto de espectros simulados situados en 234 y 248 nm que para el experimental en 235 y 251 nm.

La tabla 2.1 presenta los resultados, de experimentos a diferentes concentraciones, se observa que a concentraciones pequeñas el pKa está muy bajo y el error es alto. Mientras que para un pKa de 4.538 el error es diez veces más pequeño.

Tabla 2.1. Valores de pKa calculados para sistemas amortiguados.

	pKa	U	Datos	σ^a
9.6×10^{-5} M	4.345	8.5×10^{-2}	9 espectros	3.0×10^{-2}
	± 0.033		200 a 255 nm	
4.0×10^{-4} M	4.538	2.1×10^{-2}	8 espectros	7.2×10^{-3}
	± 0.031		232 a 300 nm	

$4.8 \times 10^{-4} \text{ M}$	4.534	7.9×10^{-2}	9 espectros	1.2×10^{-3}
	± 0.045		232 a 300 nm	
$5.5 \times 10^{-4} \text{ M}$	4.744	4.3×10^{-2}	10 espectros	8.8×10^{-3}
	± 0.029		232 a 300	

U es la suma de residuos y σ^a es la desviación estándar en el dato de absorbancia

Se realiza una prueba estadística t, el segundo y el tercer valor de pKa son estadísticamente iguales al 98% de confianza. En cambio el primer y el último valor tienen una diferencia significativa.

Por lo anterior se concluye que el mejor valor del pKa empleando la metodología antes citada es de 4.538 ± 0.031 . La figura 2.12 muestra los coeficientes de absortividad molar estimados por SQUAD del mejor cálculo, las desviaciones son menores al 2% y los coeficientes de la especie Ibu^- son ligeramente mayor a los coeficientes antes reportados.

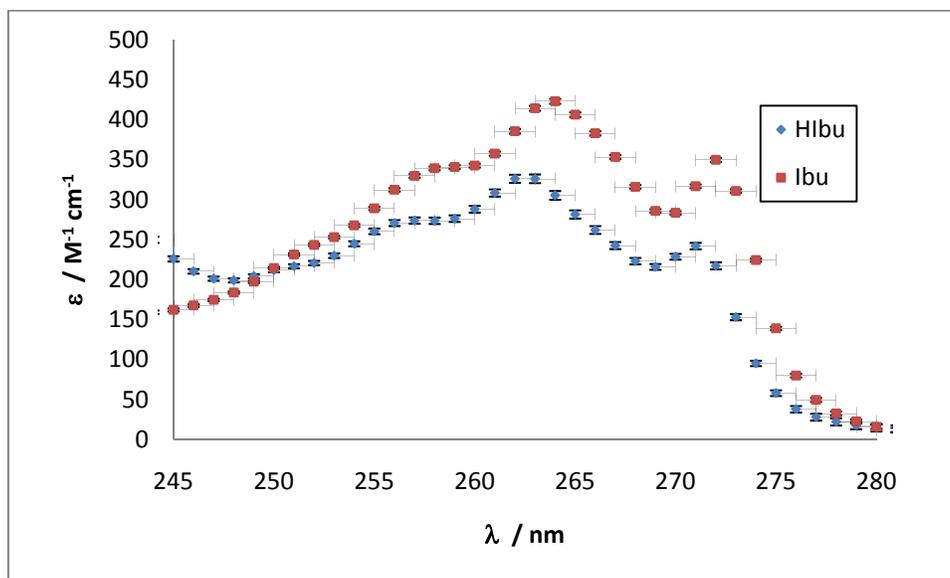


Figura 2.12. Coeficientes de absortividad molar estimados por SQUAD
(pKa de 4.538 ± 0.031)

La figura 2.13 muestra la comparación entre los espectros simulados y los espectros experimentales, se observa que el ajuste es mejor a los ajustes mostrados con anterioridad. Los espectros simulados son superponibles a los espectros experimentales.

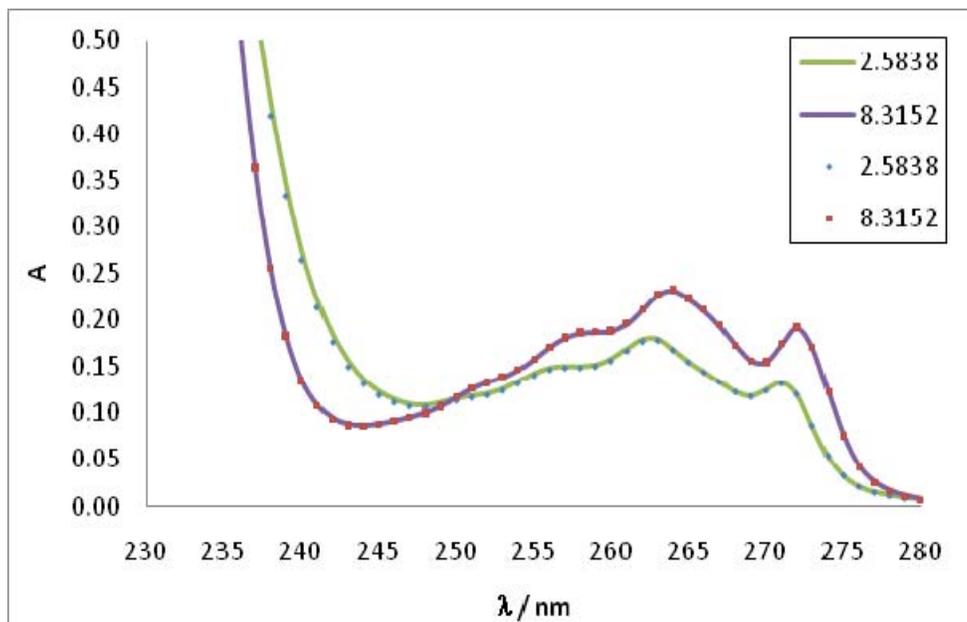


Figura 2.13. Espectros del Ibuprofeno 4.0×10^{-4} M. Los espectros simulados están representado por líneas continuas, los espectros experimentales por puntos

A partir del valor de la constante de acidez, es posible calcular las fracciones molares de ambas especies para el equilibrio planteado.



La fracción molar de la especie desprotonada está dada por la ecuación 2.7:

$$f_{Ibu^{-}} = \frac{1}{1 + 10^{(pKa-pH)}}$$

De esta manera se calcula el diagrama de distribución de especies. La figura 2.14 muestra el diagrama para este sistema, es un diagrama típico de un sistema monodonador.

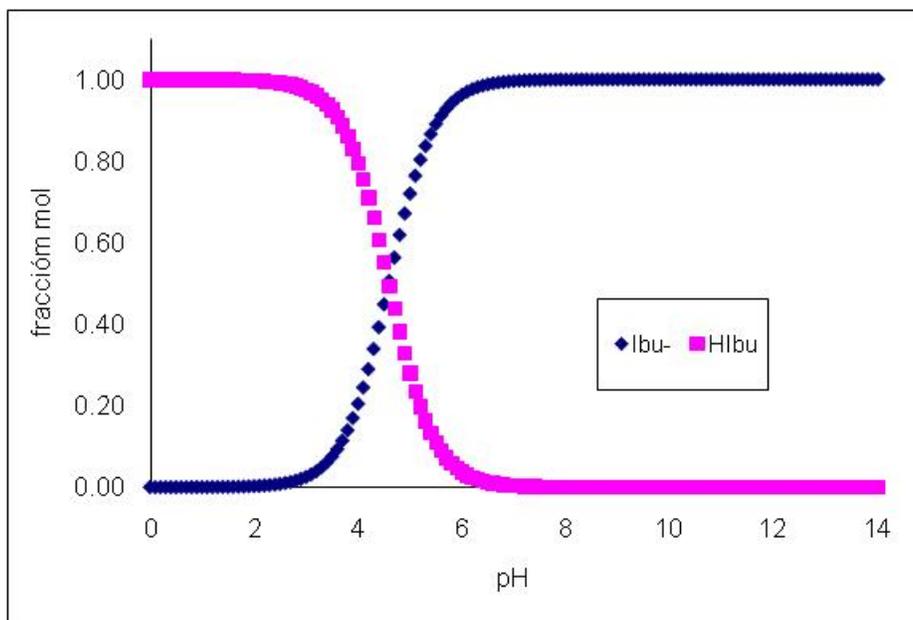


Figura 2.14. Diagrama de distribución del Ibuprofeno (pKa de 4.538)

A partir de las fracciones molares del sistema y de los coeficientes de absorptividad molares, es posible simular el comportamiento de la absorbancia con respecto al pH, a una determinada longitud de onda.

Aplicando la ecuación 2.6:

$$A^{(\lambda)} = A_{Ibu^-}^{(\lambda)} + A_{HIbu}^{(\lambda)}$$

$$A^{(\lambda)} = \epsilon_{Ibu^-}^{(\lambda)} l[HIbu^-] + \epsilon_{HIbu}^{(\lambda)} l[HIbu]$$

La figura 2.15 muestra dicho comportamiento, a una longitud de onda de 264 nm y a una concentración de 1×10^{-4} M de Ibuprofeno. Se puede observar que el comportamiento simulado, concuerda con lo encontrado en la experimentación.

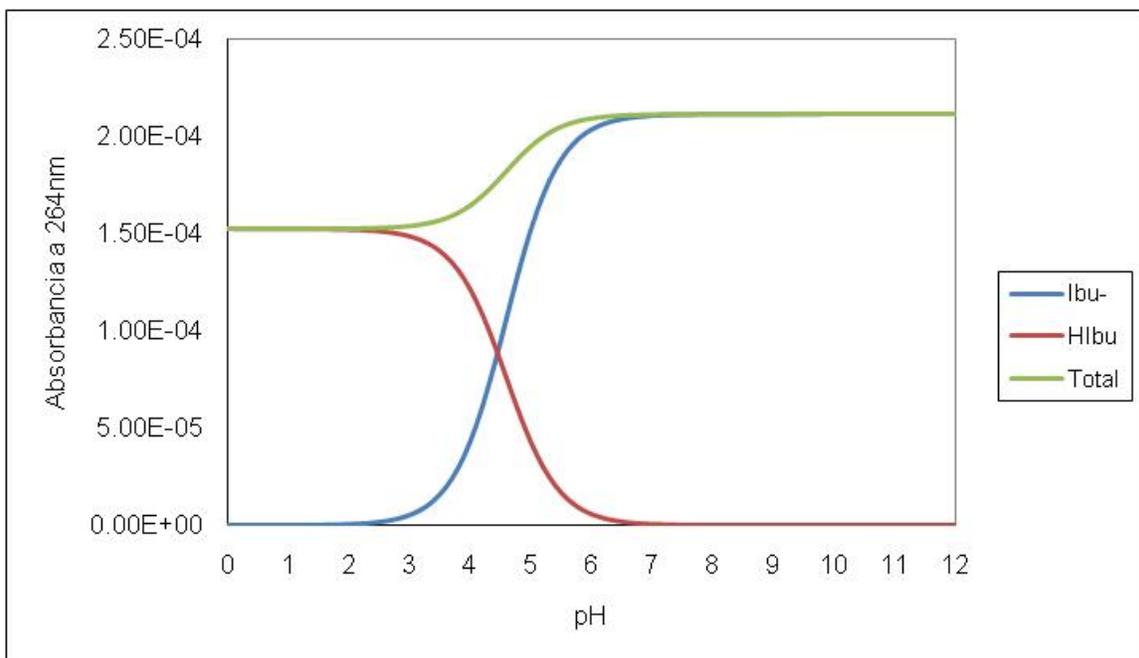


Figura 2.15. Absorbancias a 264 nm simuladas de las especies del Ibuprofeno $1 \times 10^{-4} \text{M}$ a diferentes valores de pH (pKa de 4.538).

La absorbancia en la zona de valores de pH básicos es mayor, porque la especie predominante es la especie desprotonada cuyo coeficiente de absortividad molar es más grande.

2.3.4. Sistema sin amortiguamiento

Se registraron los espectros en un intervalo de pH 7.733 a 2.285 en 11 espectros. La banda de 224 nm dio un máximo de 1.5 unidades de Absorbancia y las bandas de 264 y 272 nm dan un máximo de 0.08 uA. La figura 2.16 muestra las bandas de 264 y 272 nm, se ve que conforme disminuye el pH se observa un efecto hipsocrómico e hipocrómico para esas bandas.

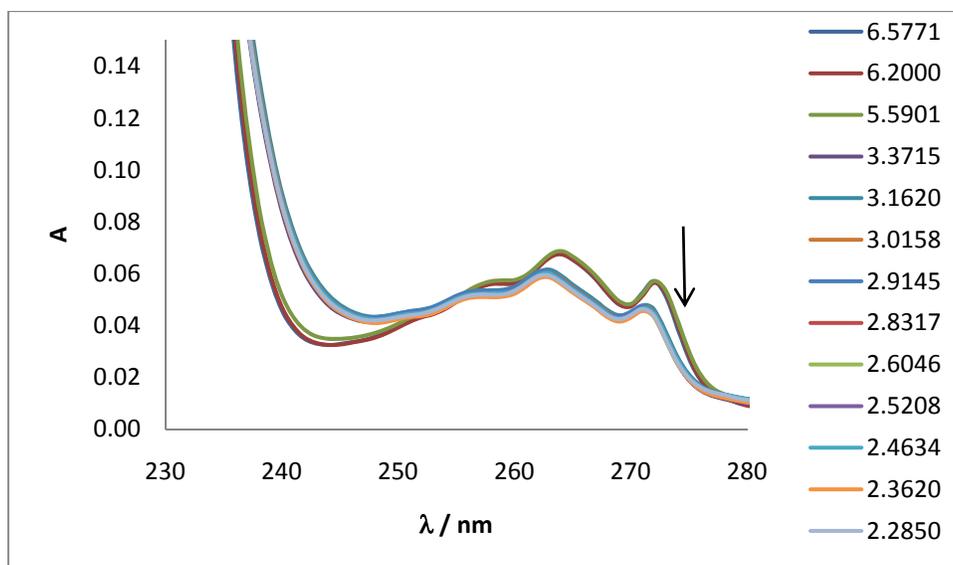


Figura 2.16. Espectros de absorción del Ibuprofeno a 1.5×10^{-4} M a diferentes valores de pH.

Se esperaba una tendencia sigmoide en 242, 264 y 272 nm. La figura 2.17 muestra el comportamiento de la absorbancia a diferentes valores de pH, se observa que la tendencia sigmoide se pierde debido a la falta de datos experimentales cercanos al pKa esperado. Que el sistema no esté amortiguado es una posible explicación de la ausencia de datos en la región.

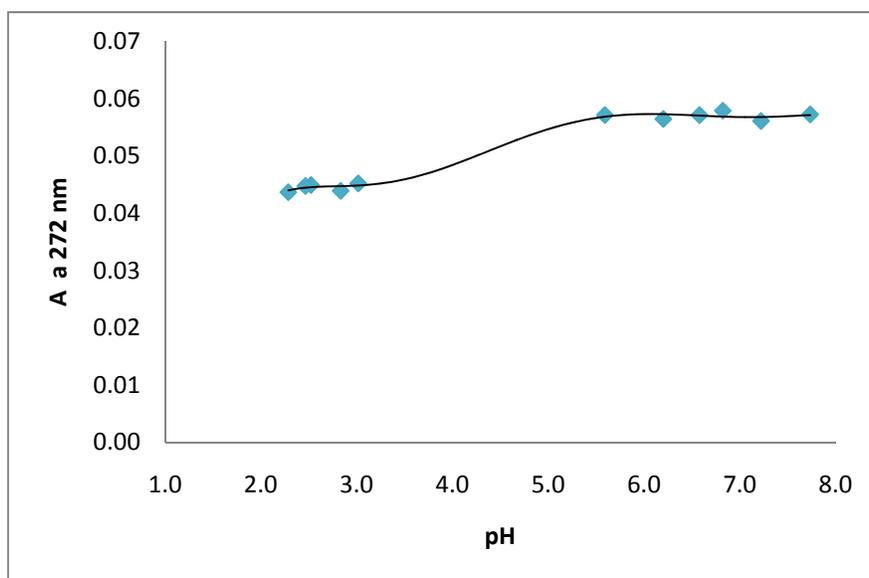


Figura 2.17. Comportamiento de la absorbancia del Ibuprofeno 1.5×10^{-4} M a diferentes valores de pH.

La línea continua corresponde al ajuste.

Ingresando los 100 datos de 200 a 300 nm, se obtiene un pKa de 3.7 con errores muy altos. Por esta razón se ingresó a SQUAD la familia de espectros de 232 nm a 300 nm, se obtuvo un valor de pKa de 4.491 ± 0.087 con una desviación estándar total de 1.9×10^{-3} y una suma de residuos de 2.3×10^{-2} . Cuando se ingresa los datos de 200 a 255 nm se obtuvo un pKa de 3.749. Esto se puede explicar a partir de reconocer que cuando el sistema no está amortiguado, el hidróxido de sodio del sistema contribuye a la absorbancia.

La siguiente tabla 2.2 presenta un resumen de los valores de pKa determinados sin amortiguamiento.

Tabla 2.2. Valores de pKa calculados para sistemas no amortiguados.

	pKa	U	Datos	σ^a
5.0×10^{-5} M	4.792	2.9×10^{-2}	11 espectros	7.6×10^{-2}
	± 0.049		200 a 255 nm	
1.0×10^{-4} M	4.727	3.1×10^{-2}	18 espectros	1.68×10^{-2}
	± 0.024		232 a 300 nm	
1.5×10^{-4} M	4.491	2.3×10^{-2}	11 espectros	1.9×10^{-3}
	± 0.087		232 a 300 nm	

U es la suma de residuos y σ^a es la desviación estándar en el dato de absorbancia

Se observa que los errores son mayores en comparación con los experimentos con amortiguamiento. De los experimentos sin amortiguamiento el mejor es el del experimento a 1.51×10^{-4} M el que presenta una desviación estándar en dato de absorbancia más pequeña, el pKa es de 4.491.

De igual manera cuando se realiza la simulación, se obtiene un ajuste de menor calidad comparando con el ajuste cuando se utiliza valores de pKa en sistema amortiguado.

2.4. Conclusiones

Se pudo identificar al Ibuprofeno de manera cualitativa, comparando los espectros experimentales con lo reportado en la literatura. Los espectros experimentales están en una disolución de metanol y en una disolución 0.1 M NaOH mientras que los experimentales están en disolución acuosa, a pesar de eso las bandas representativas siguen siendo las mismas.

Con respecto a la estabilidad se concluye que bajo la metodología propuesta, no se tiene el inconveniente de que el Ibuprofeno presente productos de descomposición.

De la determinación del pKa empleando espectrofotometría UV-Vis, se tiene que los mejores resultados se observan empleando un sistema acuoso con amortiguamiento. Esto se puede afirmar porque los errores arrojados por los cálculos de SQUAD son menores. Concuerta con que los espectros simulados utilizando los coeficientes de absortividad molar son superponibles a los espectros experimentales.

La razón por la que los experimentos con sistema amortiguado son mejores se debe a que en el sistema amortiguado no hay un cambio del valor de pH, pero también se deben a que con la resta del blanco amortiguado, se elimina el error que se produce por la absorción de NaOH.

Para el caso de un sistema con amortiguamiento, el mejor cálculo es un valor de pKa de 4.538 ± 0.031 , mientras que para un sistema sin amortiguamiento el mejor cálculo es a una concentración de 1.5×10^{-4} M con un pKa de 4.491 ± 0.087 . De estos dos datos, se realiza una prueba estadística t y se encuentra que los valores tienen una diferencia significativa. Por lo anterior se concluye que el mejor valor de pKa es empleando la metodología con sistema amortiguado y es el de 4.538 ± 0.031 .

Si comparamos este resultado con lo encontrado en la literatura encontramos que entra dentro del rango encontrado en la literatura, pero además consideramos que este valor de pKa es de mayor calidad puesto que la mayoría de los datos reportados son el resultado de aplicar una extrapolación.

3. CAPÍTULO ELECTROFORESIS CAPILAR DE ZONA

3.1. Marco teórico

La electroforesis capilar de zona es una técnica de separación por carga y tamaño. La electroforesis consiste en colocar un electrodo positivo y otro negativo dentro de una disolución con iones, posteriormente se aplica una diferencia de potencial. Cuando se emplea un capilar relleno por una disolución de separación que es además una disolución reguladora, se conoce como electroforesis capilar. El proceso electroforético que ocurre en el interior del capilar es definido como la migración de iones en disolución por atracción o repulsión de un campo eléctrico. La separación ocurre cuando los cationes se mueven en una dirección (hacia el cátodo) y los aniones a otra (hacia el ánodo). El mecanismo de separación se basa en las diferencias en la relación carga/masa, éstas implican distintas movilidades electroforéticas. Debido al uso de capilares de sílice se provoca un flujo electroosmótico que hace mover a los iones y a moléculas neutras en el medio, del ánodo al cátodo. La movilidad aparente del analito es una contribución de los dos fenómenos; electroforético y electroosmótico.

Por estas razones es necesario usar una sustancia neutra que se define como marcador de flujo electroosmótico y su tiempo de migración es el tiempo de migración del flujo electroosmótico. Cuando se separan las contribuciones para quedarse con la contribución electroforética, se tiene la ecuación de la movilidad efectiva del analito. Así la movilidad efectiva del analito es característica de la especie química según su carga y masa.

3.1.1. Capilares

Los capilares para esta técnica, son capilares de sílice fundida de un diámetro interno entre los 50 y los 75 μ metros, recubiertos con una capa muy delgada de poliimida [12]. La sílice fundida cumple con el requisito de ser transparente en la región UV-Visible, requisito necesario si el detector en línea es un detector óptico.

El capilar se encuentra dentro de un tubo de plástico que es llenado de un líquido refrigerante. La sílice fundida del capilar disipa el calor de joule hacia el líquido refrigerante, permitiendo mantener controlada la temperatura.

La poliimida permite que el capilar de sílice tenga la flexibilidad necesaria para no quebrarse, la capa de poliimida cubre casi todo el capilar, exceptuando unos micrómetros en la extremidades y aproximadamente un milímetro en la sección de la ventana del capilar. La ventana del capilar es la sección del capilar por donde pasa el haz de luz, por esta razón esta sección del capilar no se encuentra recubierta de poliimida. La ventana del capilar está delimitada por una pieza que controla exactamente la longitud de la misma. Las dimensiones de la ventana controlan el área de pico. Se utiliza una ventana de 500 μm cuando se trabaja con concentraciones muy diluidas o con una ventana de 800 μm para el resto de las concentraciones. En cambio, la longitud del paso óptico se encuentra controlada exclusivamente por el diámetro interno del capilar [13]. El área de pico y la longitud de paso óptico son parámetros que necesitan ser elegidos con cuidado para obtener menor dispersión de error.

Dentro del capilar los grupos silanol juegan un papel muy importante. Los grupo silanol se encuentran protonados cuando están en presencia de una disolución ácida, pero en presencia de disoluciones básicas, los grupos silanol se encuentran desprotonados.

Cuando los grupos silanol se encuentran desprotonados, la pared del capilar se encuentra cargada negativamente, como se explicó con anterioridad, para que ocurra el fenómeno de la electroósmosis, es necesario que la pared del capilar se encuentre cargada, que para el caso de los capilares de sílice fundida, la carga sólo puede ser negativa.

3.1.2. Acondicionamiento del capilar

Es el proceso que se realiza en el equipo para que dentro del capilar ocurra el fenómeno de electroósmosis es necesario que la pared del capilar este cargada negativamente y que la solución buffer de trabajo se encuentre cargada positivamente.

Consiste prácticamente en tres pasos. Limpiar el capilar de la presencia de otras especies, con o sin carga, para posteriormente hacer pasar una solución de hidróxido de sodio, la cual garantiza que los grupos silanol se encuentren en su totalidad desprotonados. Finalmente se hace pasar la solución buffer de trabajo.

La limpieza se lleva acabo haciendo pasar agua desionizada a presión durante el tiempo necesario para llenar el volumen del capilar dos veces. El software del equipo cuenta con un

programa para calcular las condiciones hidrodinámicas para que esto ocurra, dependiendo del capilar que se está utilizando. Para el caso en particular de un capilar de 50 μm de diámetro interno y una longitud total de 50.2 cm, el lavado hidrodinámico se realiza a 20 psi durante 2 minutos.

Posteriormente se inyecta NaOH 0.1M bajo las mismas condiciones hidrodinámicas de 20 psi durante 2 minutos. El exceso de la disolución de hidróxido de sodio se debe de retirar para que no interfiera con las mediciones a realizar, para ello se emplea la inyección de agua desionizada a las mismas condiciones.

El buffer de trabajo se inyecta a 20 psi durante 4 minutos. Un tiempo mayor en la inyección garantiza que a lo largo de todo el capilar se forme la doble capa. La doble capa se compone de una capa adsorbida, son cationes inmóviles que se quedan en la interfase con los grupos silanol desprotonados y una capa difusa alejada de la interfase del capilar, que se encuentra compuesta de cationes que se pueden mover libremente. La capa adsorbida es la solución buffer de trabajo cargada positivamente. Cuando el interior del capilar se han generado las condiciones para la existencia de esta doble capa, se dice que el capilar está acondicionado.

3.2. Metodología

3.2.1. Reactivos

Para todos los experimentos se utiliza agua desionizada 18 M Ω , así como metanol, acetona y todos los reactivos para los amortiguadores grado analítico. Se usa una disolución de 5×10^{-4} M de Ibuprofeno en una mezcla metanol-agua al 10 % v/v. Se usa amortiguador Britton-Robinson 0.01 M en agua, se preparan disoluciones a diferentes valores de pH. Se emplea acetona 10 $\mu\text{l/ml}$ como marcador neutro.

3.2.2. Equipo

Se utiliza un P/ACE MDQ Capillary Electrophoresis System (Beckman Coulter) con un capilar de 50 μm de diámetro interno y 50.2 cm de largo, con la ventana al detector a 40 cm desde la inyección y un detector de arreglo de diodos.

La inyección de la muestra se hace de manera hidrodinámica a 0.5 psi por 5 s en pH superiores a 5. La inyección se aumenta a 1 psi en valores de pH menores a 5. Para cada valor de pH se

hacen tres repeticiones. Se aplica un voltaje de 20 kV con polaridad invertida y a temperatura de 25° C. Los analitos se detectan por su absorbancia UV-Vis. Los electroferogramas y los datos se analizan con el software 32 Karat y Origin pro 8.

Con el propósito de que la columna esté acondicionada, el capilar se lava antes de cada corrida 2 min con NaOH 0.1 N, 2 min con agua y 4 min con buffer.

3.3. Resultados

3.3.1. Electroferogramas

Se realizaron una serie de inyecciones de la muestra para seleccionar la longitud de onda a la que es leído el electroferograma. La figura 3.1 muestra electroferogramas, empleando una solución de Ibuprofeno $4.8 \times 10^{-4}M$ amortiguada con una solución Britton-Robinson 0.01M pH aproximadamente de 8. Los electroferogramas son registrados a diferentes longitudes de onda, lo que se observa es que a una longitud de 220 nm no hay un registro de la acetona, esto se debe a que la acetona no absorbe a esa longitud de onda.

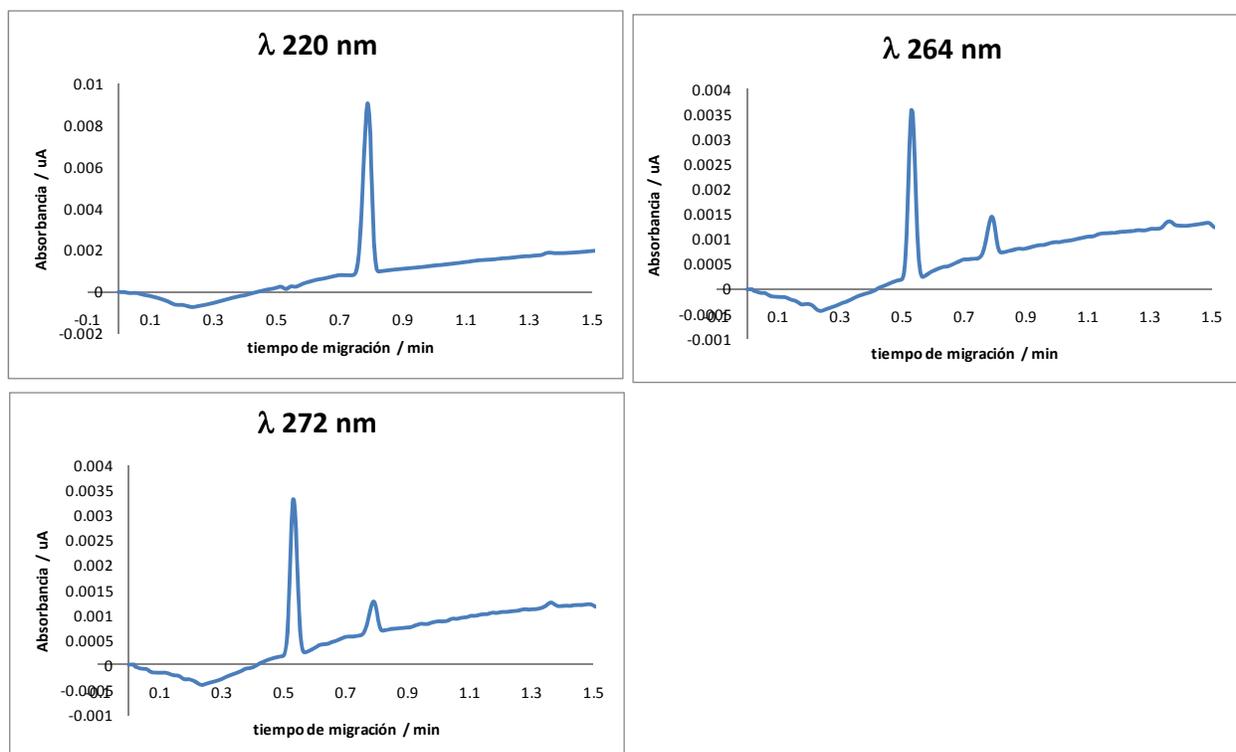


Figura 3.1. Electroferograma registrado a varias longitudes de onda, de una solución de Ibuprofeno $4.8 \times 10^{-4} \text{M}$ con una solución reguladora Britton-Robinson 0.01M pH 8

A 264 nm se observan los dos picos, el pico de la acetona es mayor porque a esa longitud los coeficientes de absorptividad molar del Ibuprofeno son pequeños. A 272 nm también se pueden observar ambos picos. Aunque pequeña la diferencia en los coeficientes de absorptividades molares, permiten que a 264 nm el electroferograma sea mejor. A partir de estos resultados, se eligió utilizar los electroferogramas a 264 nm .

3.3.2. Electroferogramas a diferentes valores de pH

Una vez elegida la absorbancia, se obtienen electroferogramas a diferentes valores pH. La figura 3.2 muestra el electroferogramas obtenido de una solución de Ibuprofeno $5 \times 10^{-4} \text{M}$ con una solución reguladora Britton-Robinson 0.01M pH 5.2. La acetona tiene un tiempo de migración de 0.69 min , que como se dijo antes equivale al tiempo del flujo electroosmótico. El ibuprofeno sale al 1.13 min , por lo tanto la carga promedio de las especies es negativa puesto que el Ibuprofeno sale después de la acetona.

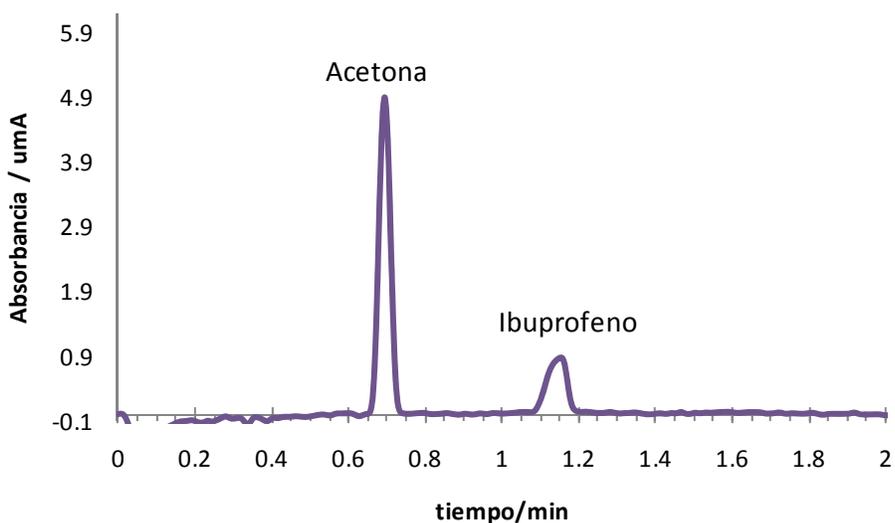


Figura 3.2. Electroferograma registrado a 264 nm , de una solución de Ibuprofeno $5 \times 10^{-4} \text{M}$ con una solución reguladora Britton-Robinson 0.01M pH 5.229

Es importante mencionar que los tiempos de migración son determinados haciendo uso del programa computacional Origin pro 8.1, en dicho programa los electroferogramas son analizados. De esta manera es posible, restar la línea base, calcular el porcentaje de área del pico y determinar el tiempo de migración con una mayor precisión. Remover la línea base permite obtener los porcentajes de área de pico de una manera más uniforme y calcular el porcentaje de área de pico permite reconocer la reproducibilidad de la medición.

La tabla 3.1 muestra los tiempos de migración de la acetona y del ibuprofeno a diferentes valores de pH que se determinaron a partir sus respectivos electroferogramas registrados a 264 nm, se observa que los tiempos de migración del ibuprofeno son siempre tiempos mayores al tiempo de migración del marcador del flujo electroosmótico.

Tabla 3.1. Tiempos de migración para la acetona y para el ibuprofeno

pH	Tiempos de migración (s)	
	Acetona	Ibuprofeno
7.685	31.75	46.74
6.739	33.74	52.25
5.229	39.74	62.74
5.000	58.99	101.75
4.805	70.74	128.00

3.3.3. Movilidades Aparentes

A partir de los tiempos de migración, se calculan las movilidades aparentes. La movilidad aparente de la acetona y del Ibuprofeno se calcula empleando la siguiente relación [3]:

$$u = \frac{L_T L_{eff}}{V t_m} \quad (3.1)$$

Donde:

μ : Movilidad aparente del analito ($m^2V^{-1}s^{-1}$)

L_T : longitud total del capilar (m)

L_{eff} : longitud efectiva al detector (m)

V : voltaje (V)

t_m : tiempo de migración del analito (s)

Tabla 3.2. Movilidades aparentes de la acetona y del Ibuprofeno

pH	Movilidad x 10^8 ($m^2V^{-1}s^{-1}$)	
	Acetona	Ibuprofeno
7.685	8.06	5.48
6.739	7.58	4.89
5.229	6.44	4.08
5.000	4.34	2.52
4.805	3.62	2.00

La tabla 3.2 nos permite observar que existe una disminución de la movilidad aparente conforme aumenta el pH, para ambos solutos. La acetona es el marcador del flujo electroosmótico, por lo que las movilidades de la acetona son a su vez las movilidades electroosmóticas. De esta manera, si se grafica la movilidad aparente de la acetona como una función del pH, como se muestra en la figura 3.3, se puede observar que la disminución presenta la tendencia sigmoidea. Es equivalente a la disminución del flujo electroosmótico debido a que conforme la solución buffer se acerca a valores de pH ácidos, la solución deja de estar cargada positivamente y el fenómeno de la electroósmosis disminuye.

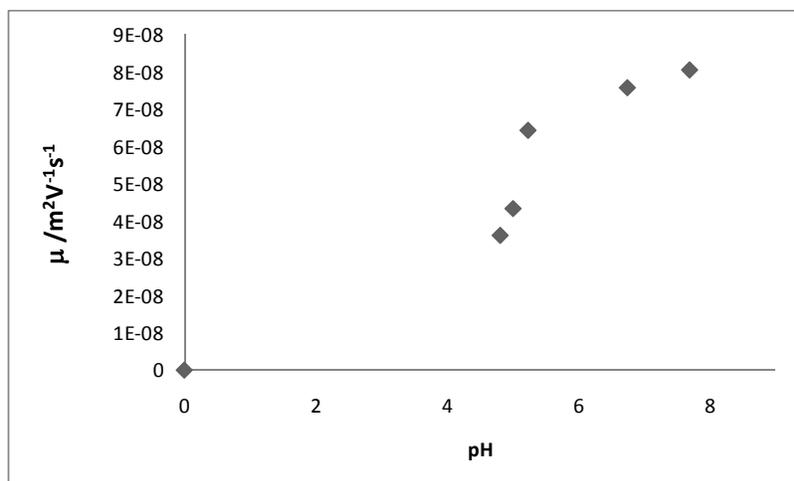


Figura 3.3. Comportamiento de la movilidad electroosmótica a diferentes valores de pH

Por esta razón, en el gráfico se ha agregado un punto calculado teóricamente, es el valor de la movilidad a pH cero.

3.3.4. Movilidad efectiva

Como se mencionó con anterioridad, la movilidad aparente es una contribución de los fenómenos electroforético y electroosmótico. Como se pretende que la propiedad medible sea sólo función de las especies químicas según su carga y masa, es necesario determinar la movilidad efectiva del analito.

La movilidad efectiva se calcula con la ecuación [14]

$$\mu_{ef} = \left(\frac{lL}{V}\right) \left(\frac{1}{t_m} - \frac{1}{t_{eof}}\right) \quad (3.2)$$

Donde:

μ_{ef} : Movilidad efectiva del analito ($m^2V^{-1}s^{-1}$)

l : longitud del capilar de la inyección al detector (m)

L: longitud total del capilar (m)

V : voltaje (V)

t_m : tiempo de migración del analito (s)

t_{eof} : tiempo de migración del flujo electroosmótico (s)

Aquí cabe aclarar que el lector puede estar acostumbrado a encontrar las movilidades efectivas como un valor absoluto, en las referencias de electroforesis es más usual encontrar valores absolutos de movilidad efectiva, sin embargo en química analítica es correcto reportar valores de movilidad efectiva con signo.

Tabla 3.3. Movilidades efectivas del Ibuprofeno

pH	$\mu_{eff} \times 10^8 \text{ (m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$
7.685	-2.587
6.739	-2.690
5.229	-2.459
5.000	-1.842
4.805	-1.610

Resulta que cuando se emplea la electroforesis como una técnica analítica se hace coincidir el orden de la resta del efecto del flujo electroosmótico de tal manera que el signo de la movilidad efectiva coincida con el signo de la carga de la especie. Esto me permite comenzar con la discusión acerca del modelo que se utiliza en este trabajo para calcular la constante de acidez.

Otras referencias han demostrado que los cambios de la movilidad efectiva con respecto al pH se deben a la presencia de constantes de equilibrio y que el cambio no es lineal. La movilidad efectiva es una propiedad que está ponderada por la fracción molar de las especies del analito de acuerdo a la ecuación [15]:

$$u_{eff} = \sum_i f_i u_i \quad (3.3)$$

A su vez, cuando se tiene un equilibrio químico rápido, las especies $L^{Z_L}, HL^{(Z_L+1)}, \dots, H_jL^{(Z_L+j)}, \dots, H_nL^{(Z_L+n)}$ están relacionadas mediante el equilibrio de formación global, definido de la siguiente manera:

$L^{Z_L} + jH^+ \leftrightarrow H_jL^{(Z_L+j)}$ cuya constante de formación es β_j y j va de uno a n especies

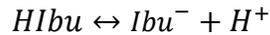
Las fracciones molares se calculan de acuerdo a la ecuación:

$$f_0 = f_L \equiv \frac{L^{Z_L}}{L'} = \frac{1}{1 + \beta_1[H^+] + \beta_2[H^+]^2 + \dots + \beta_j[H^+]^j + \dots + \beta_n[H^+]^n} \quad (3.4)$$

Y la movilidad efectiva para este equilibrio será:

$$u_{L'} = u_L f_L + u_{HL} f_{HL} + \dots + u_{H_jL} f_{H_jL} + \dots + u_{H_nL} f_{H_nL} \quad (3.5)$$

Para el caso en concreto del sistema, el equilibrio de disociación del Ibuprofeno, es sólo uno y se representa como:



La movilidad efectiva es una contribución de la movilidad de cada especie, como se establece en la siguiente ecuación:

$$\mu_{eff} = \mu_{Ibu^-} f_{Ibu^-} + \mu_{HIbu} f_{HIbu} \quad (3.6)$$

Y la fracción molar de la especie desprotonada es:

$$f_{Ibu^-} = \frac{1}{1+10^{(pK_a-pH)}} \quad (2.7)$$

Con base a lo anterior, es como se puede entender que la movilidad efectiva como una función del pH es de comportamiento sigmoide.

Veamos el siguiente ejemplo del comportamiento de las movilidades efectivas en un caso general en que las especies son L^- , HL y H_2L^+ , la curva sigmoide puede ser dividida en tres casos, los cuales se muestran en la figura 3.4.

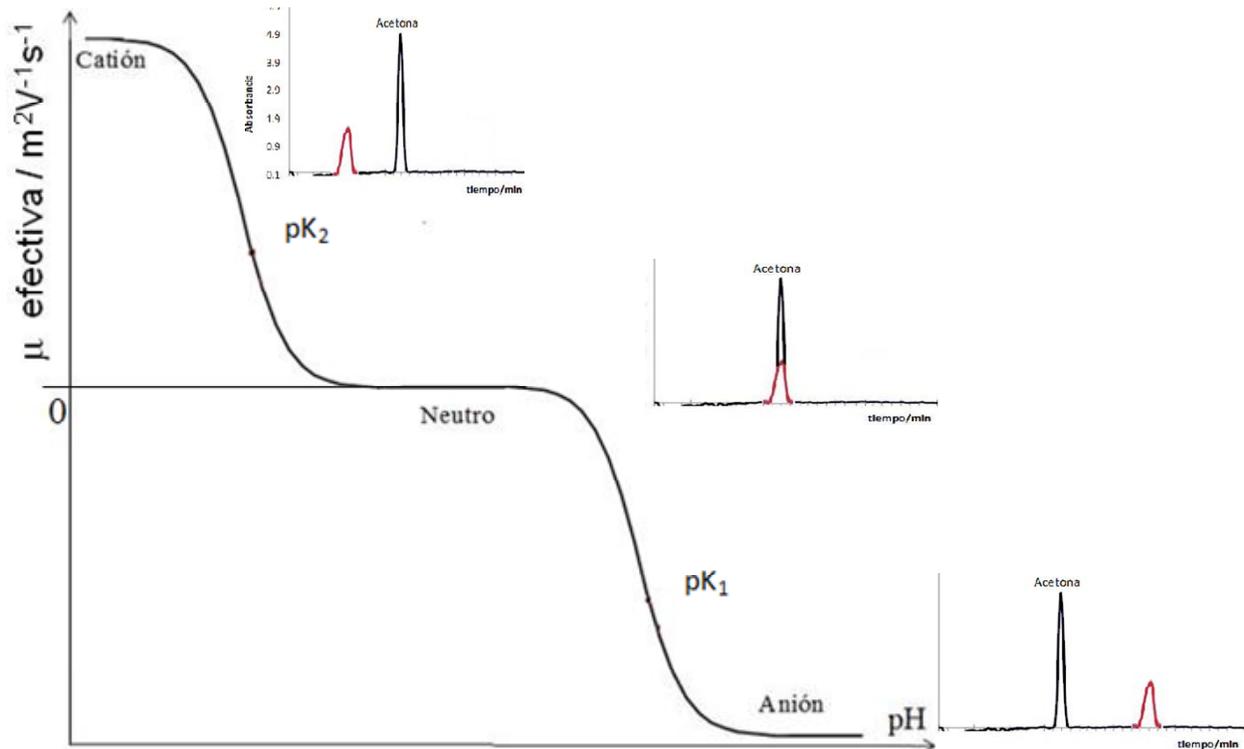


Figura 3.4. Esquema del comportamiento de las movilidades efectivas

Debido a que las muestras se introducen desde el ánodo y el flujo electroosmótico se mueve del ánodo al cátodo, los cationes tendrán tiempos de migración menores que las moléculas neutras, y los aniones tendrán tiempos mayores que las neutras.

Caso 1, Si $t_m < t_{eof}$, el cálculo de la μ_{eff} arrojará valores positivos, representa la presencia de las especies HL y H_2L^+

Caso 2, predominio de la especie neutra. De la figura 3.4 se observa que si t_m tiene el mismo valor que t_{eof} el valor de la movilidad efectiva es cero. Esto ocurre si el analito no presenta carga es decir, si en el analito predomina la especie neutra HL .

Caso 3, Si $t_m > t_{eof}$, el cálculo de la μ_{eff} arrojará valores negativos, representa la presencia de las especies L^- , HL

3.3.5. Resultados de Estabilidad

Una vez que los parámetros para determinar las movilidades efectivas han sido seleccionados y con el propósito de que el estudio tenga veracidad, se analiza el comportamiento de las especies químicas del Ibuprofeno en solución en función del tiempo. La determinación de la estabilidad del Ibuprofeno consiste en registrar los porcentajes de área de pico del analito en un intervalo de tiempo durante el cual se espera que no se presenten variaciones importantes. Para ello se obtienen electroferogramas a diferentes tiempos, manteniendo el pH constante. En la figura 3.5 se tiene graficada el porcentaje de área de pico de una solución de Ibuprofeno 5×10^{-4} M amortiguada con una solución Britton-Robinson 0.01M pH 7.11, en un intervalo de tiempo aproximado de dos horas. En ese lapso se obtiene una desviación estándar relativa menor al 2 %.

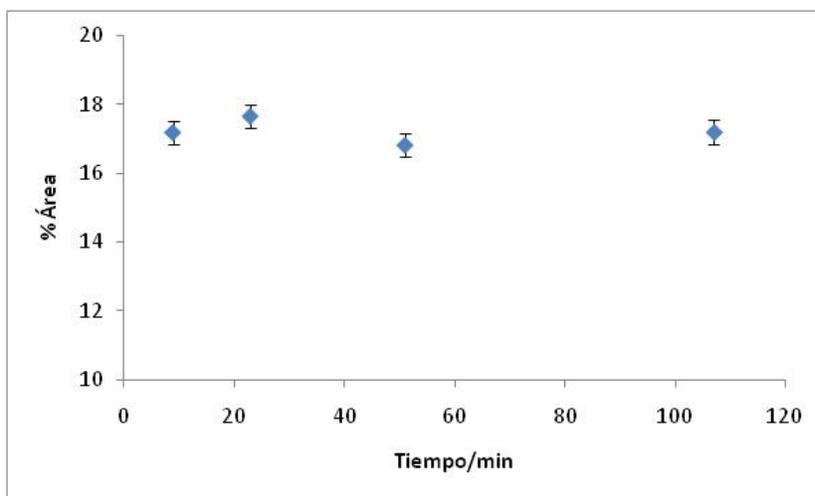


Figura 3.5. Comportamiento con respecto al tiempo, siguiendo el porcentaje de área de pico de la señal del Ibuprofeno $5 \times 10^{-4} \text{M}$ a un pH de 7.11.

A partir de los mismos datos, y empleando los datos de tiempo de migración de la acetona también se obtiene la movilidad efectiva del ibuprofeno, la figura 3.6 muestra la movilidad efectiva en el mismo intervalo de tiempo, la desviación estándar relativa es menor al 3%. Estudios similares se hicieron a otros valores de pH. Después de analizar los resultados, y tomando en cuenta, que el tiempo de trabajo es de aproximadamente una hora, se puede afirmar que en este intervalo de tiempo el Ibuprofeno es estable.

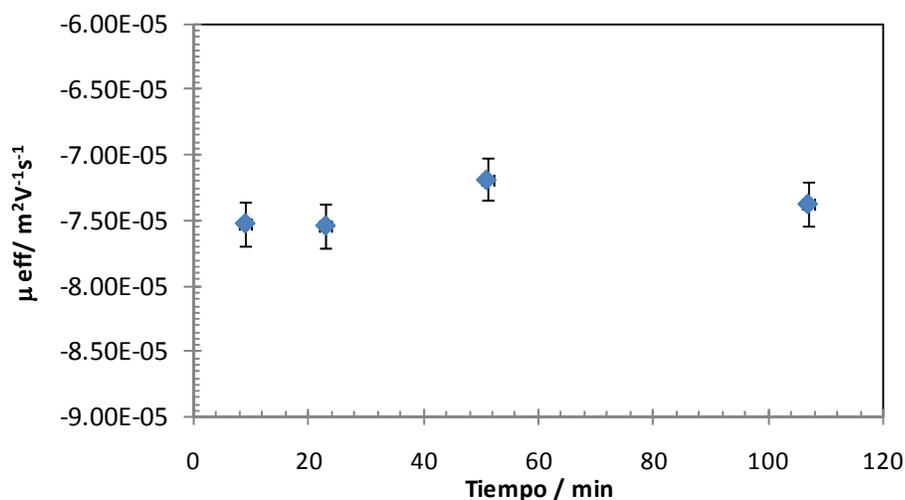


Figura 3.6. Comportamiento con respecto al tiempo, siguiendo la movilidad efectiva del Ibuprofeno $5 \times 10^{-4} \text{M}$, pH 7.11.

3.3.6. Comportamiento de la movilidad efectiva a diferentes valores de pH

La figura 3.7 muestra la movilidad efectiva contra pH, de soluciones de Ibuprofeno $5 \times 10^{-4} \text{M}$ amortiguadas con solución Britton-Robinson 0.01M en agua, a diferentes pH. Los puntos representan las movilidades experimentales, que se obtuvieron por triplicado.

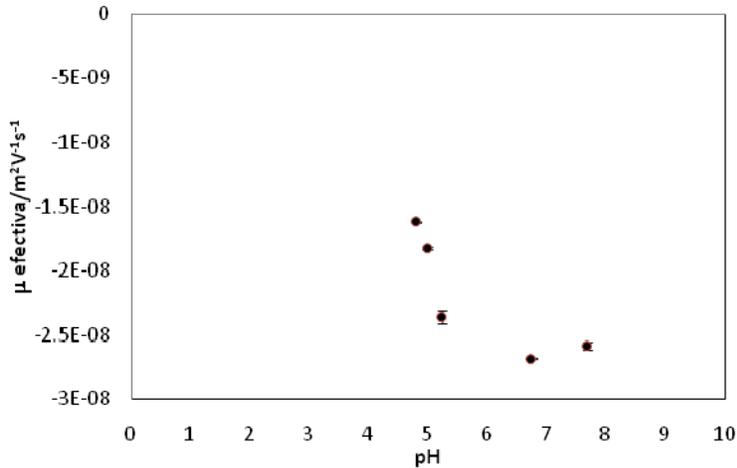


Figura 3.7 Movilidad efectiva de una disolución de Ibuprofeno $5 \times 10^{-4} \text{M}$ en función del pH. Amortiguada con solución acuosa Britton-Robinson 0.01M

En la zona de pH mayores de 4.805 se tienen las movilidades que muestran la tendencia esperada de una sigmoide.

A partir de lo planteado con anterioridad, se determinan las movilidades efectivas de ambas especies.

Tabla 3.4. Movilidades efectivas de las especies del Ibuprofeno

Especie	HIbu	Ibu ⁻
$\mu_{\text{eff}} \times 10^8 \text{ (m}^2 \text{V}^{-1} \text{s}^{-1})$	0	-2.638

Salta a la vista la ausencia de datos experimentales a valores de pH menores a 4.6. Esto se debe a dos motivos que analizaré a continuación.

La figura 2.14 muestra el diagrama de distribución en fracción molar. Se puede observar el orden de magnitud de la fracción mol del Ibu^- a antes del pKa, a valores menores a pH tres, la fracción es prácticamente cero.

La tabla 3.5 muestra las fracciones molares de la especie Ibu^- a ciertos valores de pH. La siguiente columna muestra la movilidad efectiva a ese pH. La movilidad efectiva se calcula empleando la ecuación $\mu_{eff} = \mu_{Ibu^-}f_{Ibu^-} + \mu_{HIbu}f_{HIbu}$, recordemos que la movilidad efectiva esta ponderada por la fracción de las especies.

Tabla 3.5. Fracciones molares y movilidades efectivas estimadas de las especies del Ibuprofeno

pH	f_{Ibu^-}	μ_{eff}
4.5	4.48E-1	1.18E-8
4.0	2.04E-1	5.40E-9
3.5	7.52E-2	1.98E-9
3.0	2.51E-3	6.61E-10
2.5	2.06E-3	2.13E-10
2.0	2.56E-3	6.76E-11

Conforme disminuye el valor de pH, el fenómeno electroforético deja de tener influencia o dicho de otra manera, se tiene el problema de tener una escasa contribución electroforética debido a que la especie predominante es la neutra.

Aunado al problema anterior, se tiene una disminución de la contribución electroosmótica debido a que los elementos del buffer están en buena medida protonados a pH entre 1 y 3. Después del acondicionamiento del capilar, la pared del capilar se encuentra cargado

negativamente. Si el buffer no se encuentra cargado positivamente, aún cuando se aplica un potencial, no hay movilidad electroosmótica.

Lo anterior nos permite pronosticar que a un pH menor a 3 la fracción molar de la especie iónica es lo suficientemente pequeña para que a nivel experimental no se obtenga señal en un el electroferograma. De hecho si quisiéramos ser más claros, se puede utilizar los valores del diagrama de la figura 2.14 y las ecuaciones 3.1 a 3.3 y 3.6, para demostrar que los tiempos de migración a estos pH ácidos son inadecuadamente largos.

Sin embargo de la formalidad de las ecuaciones físicas que describen la técnica, podemos obtener dos puntos a favor. El más importante es que la técnica nos permite tener un punto más en nuestra gráfica de movilidad efectiva en función del pH. La movilidad efectiva de la especie neutra es cero, lo que hace que a pH cero, se tiene un valor exacto de cero para la movilidad efectiva total.

El segundo punto es que la gráfica nos permite pronosticar que a un pH superior a 3 es posible obtener electroferogramas. Se usa entonces la fracción molar para estimar los posibles tiempos de migración. El tiempo de migración estimado puede diferir al que realmente encontramos a nivel experimentación, claro que eso depende de varios factores, como por ejemplo la temperatura y la viscosidad del flujo, los cuales a su vez dependen del calor de Joule, pero no es necesario obtener el tiempo de migración calculados de manera exacta, ya que esto sirve solo de guía para la experimentación. Se procede entonces a la modificación de la muestra, parámetros de inyección y modo de separación, con el propósito de obtener señal a un pH inferior al valor de 4.805.

3.3.7. Determinación de tiempos de migración a pH inferior a 4.805

A partir de los resultados anteriores se modifica la metodología. Lo primero que se plantea es modificar la preparación de la muestra, se decide preparar la muestra en una disolución al 100% metanol. De la muestra en metanol se toma una alícuota de 880 µl para preparar el vial de inyección de la muestra. Esto se realiza para eliminar la posibilidad de que el Ibuprofeno tienda

a precipitarse dentro del capilar, porque como se ha mencionado a pH ácidos la solubilidad del Ibuprofeno disminuye [7-9].

Lo que se discute a continuación tiene el propósito de demostrar que los resultados con la muestra disuelta en metanol pueden ser computados con los resultados que se obtuvieron empleando la mezcla metanol-agua al 10 % v/v.

Se utiliza el sistema CE EXPERT [10] propio del equipo, para determinar el volumen en nl (nanolitros) del capilar que estamos utilizando, se determina también el volumen en nl de la muestra que se inyecta de acuerdo a las condiciones hidrodinámicas. Se encuentra que el porcentaje en volumen del metanol dentro del capilar durante la medición es muy parecido al porcentaje de metanol que se encuentra dentro del capilar cuando la muestra se disolvió en la mezcla de metanol-agua.

Por si esto fuera poco convincente, hay que decir que la cantidad de metanol dentro de la muestra no influye en la movilidad efectiva puesto que la poca contribución que pueda tener, es restada por la forma de la ecuación 3.2 de movilidad efectiva.

Una vez aclarado lo anterior, se procede a modificar de la metodología las condiciones de inyección, así como el modo de separación de la muestra. La temperatura de trabajo es al igual que para los otros puntos de 25°C.

La muestra se inyecta a 1 psi durante 5 segundos, se usa el capilar de longitud más corta que es el de 30 cm, la separación es de manera normal a 20 kV. Cada punto se realiza por triplicado.

Tabla 3.6. Movilidades aparentes de la acetona y del Ibuprofeno

pH	Tiempos de migración (s)	
	Acetona	Ibuprofeno
4.399	105.2520	183.2538
4.331	104.7504	169.0032

4.182	121.0026	187.5036
3.964	135.0030	193.5036

Se observa que a pesar de que es un capilar de longitud más pequeña y de que la inyección es del doble de presión, los tiempos de migración son más largos como se esperaba.

Tabla 3.7. Movilidades efectivas del Ibuprofeno

pH	$\mu_{eff} \times 10^9 \text{ (m}^2\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}\text{)}$
4.399	-6.1874
4.331	-5.5530
4.182	-4.4845
3.964	-3.4262

Los resultados de movilidad efectiva son del orden de magnitud que se esperaba. Bajo estas condiciones no es posible encontrar electroferogramas con señal a un pH inferior a 3.964. Pero cabe mencionar, que de igual manera se intenta realizar un punto más a pH de 3.856 aplicando la misma metodología que se uso anteriormente y aplicando polaridad invertida. El electroferograma se encuentra un poco distorsionado y resulta difícil determinar los dos picos (señal de la Acetona y del Ibuprofeno).

3.3.8. Cálculo de la constante de equilibrio empleando SQUAD

Debido a que las ecuaciones de la ley de aditividad para absorbancias tiene la misma forma que la de movilidad efectiva, es posible utilizar el programa computacional SQUAD para ajustar el valor de la constante de acidez de un equilibrio monoprótico [6]. Siguiendo con la analogía, así como en espectrofotometría SQUAD es capaz de determinar el valor de la constante de acidez y los coeficientes de absortividad molares de las dos especies, cuando se ingresen las movilidades efectivas, SQUAD obtendrá un valor refinado de la constante de acidez y las movilidades efectivas de las dos especies.

De los resultados de la sección anterior, se ingresan los valores de movilidad efectiva de nueve valores de pH, por triplicado. A esto se suma el valor de origen, que como se discutió anteriormente la movilidad efectiva tiene el valor de cero a pH cero. Bajo estos datos es posible calcular el valor de pKa a pesar de la ausencia de datos experimentales en un intervalo más ácido.

Al programa se le ingresaron las movilidades efectivas, los valores de pH y un valor aproximado de pKa de 4.2. El programa obtuvo un valor de pKa de 4.548 ± 0.065 . En la figura 3.8 el ajuste por SQUAD se representa con la línea continua, que se realizó a partir de la ecuación 3.6, la curva muestra su forma sigmoide que coincide con la forma de los datos experimentales.

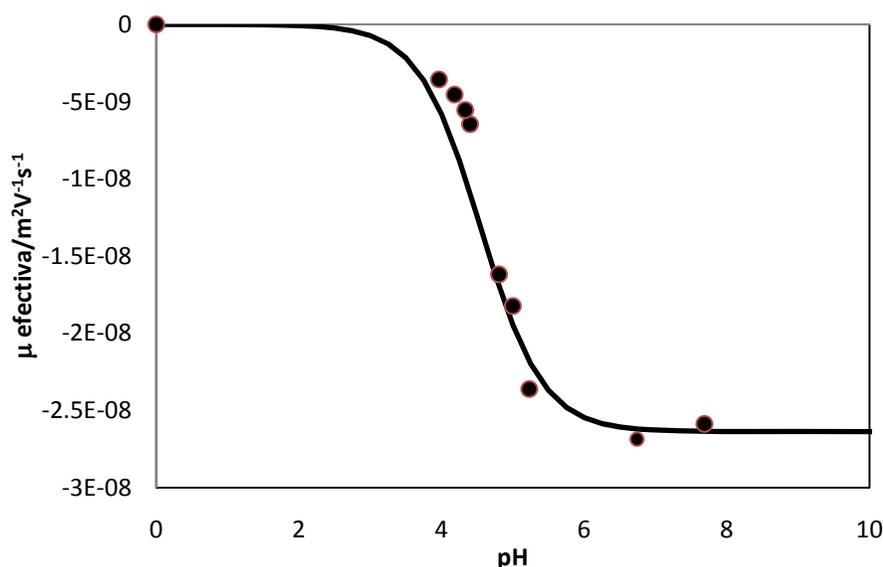


Figura 3.8. Gráfica de la movilidad efectiva contra pH (pKa 4.548) de soluciones de Ibuprofeno $5 \times 10^{-4} \text{M}$ amortiguadas con solución Britton-Robinson 0.01M a diferentes pH.

La línea sólida corresponde al ajuste por SQUAD.

Se realiza una prueba estadística t para comparar con el resultado que se obtuvo empleando espectroscopia UV-Vis, recordando que se obtuvo un pKa de 4.538 ± 0.031 . Del resultado de la prueba t , se tiene que los dos valores experimentales son estadísticamente iguales al 90% de confianza.

3.3.9. Calculo de los coeficientes de absortividad molar empleando ECZ

A partir de los electroferogramas es posible calcular los coeficientes de absortividad molar, al menos, para la especie desprotonada. Una vez que los electroferogramas son analizados en Origin, el punto máximo del pico es registrado.

A una unidad logarítmica después del pKa, la especie predominante es la especie desprotonada, la absorbancia máxima debe ser constante ya que la ley de aditividad para absorbancias es:

$$A^{(\lambda)} = \varepsilon_{Ibu^-}^{(\lambda)} l[Ibu^-] \quad (3.7)$$

La tabla 3.6 muestra una serie absorbancias máximas registradas de los electroferogramas del ibuprofeno a una longitud de 220 nm. Los electroferogramas se realizaron bajo las siguientes características: La concentración del Ibuprofeno en el vial es de 1.38×10^{-4} M de Ibuprofeno, la solución buffer de trabajo es de 0.014 M en agua. La inyección de la muestra es de manera hidrodinámica y se trabajó con un capilar de diámetro interno de 50 μm , por lo que la longitud de paso óptico es de 0.005 cm.

A partir de la concentración en el vial y tomando en cuenta las dimensiones del capilar y las condiciones de inyección de la muestra, se puede calcular la concentración de Ibuprofeno presente en el capilar.

Tabla 3.8. Absorbancias máximas registradas y coeficientes de absortividad molar estimados

$A^{(220\text{ nm})} \times 10^3$ (uA)	$\varepsilon_{Ibu^-}^{(220)}$ ($\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$)
5.010	4.13×10^3
5.123	5.02×10^3
5.249	6.12×10^4

El orden de magnitud del coeficiente de absorptividad molar calculado, $\epsilon_{Ibu^-}^{(220)}$, concuerda con la magnitud de los coeficientes que se obtuvieron durante los trabajos con espectrofotometría UV- Vis, sin embargo no son exactamente iguales. Calcular los $\epsilon_{Ibu^-}^{(\lambda)}$ a otras longitudes de onda, nos permitiría hacer una comparación más rica y acertada. Como el equipo de ECZ cuenta con un arreglo de diodos, si es posible obtener los electroferogramas a las mismas longitudes de onda con las que se trabajó en UV, sin embargo el procesamiento de los datos será largo, por lo que este trabajo no los presenta.

3.4. Conclusiones

El estudio por electroforesis capilar permite confirmar que el equilibrio de disociación del Ibuprofeno en el sistema es el que se planteó en la ecuación 2, esto debido a que el comportamiento de las movilidades efectivas contra pH corresponde a lo esperado para un solo equilibrio de disociación. Y la carga promedio de las especies coincide con la carga propuesta del equilibrio es decir, HIbu como especie neutra y Ibu^- como especie aniónica.

Fue posible trabajar bajo condiciones que garantizan que la solución de Ibuprofeno es estable. El valor de $pK_a 4.548 \pm 0.065$ se calculó empleando ECZ, empleando una metodología basada en la movilidad efectiva del compuesto en función del pH. El valor que se obtuvo es estadísticamente comparable con el valor que se obtuvo empleando espectroscopia UV-Vis. Dado que ECZ no es sensible a los disolventes neutros, la presencia del metanol en el disolvente no afecta el valor del pK_a , por lo que podemos afirmar que el valor de pK_a reportado es en medio acuoso.

Emplear un equipo con detección óptica, permite además estimar los coeficientes de absorptividad molar de especies cargadas eléctricamente.

4. CAPÍTULO CARACTERIZACIÓN FÍSICOQUÍMICA EMPLEANDO DFT

4.1. Marco Teórico

La Teoría de Funcionales de la Densidad (DFT) es un método que utiliza los principios de la mecánica cuántica para obtener información relevante a partir de la densidad de probabilidad electrónica. A partir del desarrollo de la química cuántica se estableció que es posible obtener la energía molecular de un sistema resolviendo la ecuación de Schrödinger.

$$\hat{H}\Psi(r_1, r_2, \dots, r_N) = E\Psi(r_1, r_2, \dots, r_N) \quad (4.1)$$

Uno de los problemas que se presenta es que para encontrar la función de onda la resolución es compleja debido a las variables incluidas en la resolución del problema. Para un sistema de N electrones, resolver la función de onda, si sólo depende de la posición (x,y,z) serán un problema de 3N variables.

$$\rho_0(r) = \int |\Psi(r_1, r_2, \dots, r_N)|^2 dr_2 \dots dr_N \quad (4.2)$$

En 1964 Hohenberg y Kohn demostraron que en moléculas con estado fundamental no degenerado, la energía molecular del estado fundamental es un funcional de la densidad de probabilidad [16-17]. Demostraron que la densidad de probabilidad electrónica determina el potencial externo, el cual a su vez sólo depende de r, esto es importante porque entonces también la densidad determina el Hamiltoniano y no solamente la función de onda.

$$E_0 = E_v[\rho_0] = \bar{T}[\rho_0] + \bar{V}_{Ne}[\rho_0] + \bar{V}_{ee}[\rho_0] \quad (4.3)$$

Del Hamiltoniano, los términos cinéticos y de repulsión de electrones pasan a ser funcionales y se pueden resolver por separado. El funcional asociado al término cinético tiene la ventaja de ser universal por lo que sólo se debe de resolver una vez para el sistema. El otro funcional tiene asociado el potencial externo, aunque aún no se sabe cómo se obtendrá tiene la ventaja de que depende únicamente de los electrones.

Establecieron además, que la verdadera densidad electrónica del estado fundamental minimiza el funcional de la energía molecular del estado fundamental, lo que se conoce como el teorema variacional de Hohenberg-Kohn. Empleando lo anterior, es posible calcular la energía molecular (E_0) sin necesidad de primero calcular la función de onda. Lo que convierte un problema de $3N$ variables en un problema de 3 variables. Aunque aún no quedaba escrito cuál es el funcional correcto.

Posteriormente en 1965 Kohn y Sham desarrollaron el método matemático para obtener (E_0) a partir de la densidad [18-19]. Emplearon un sistema hipotético de electrones no interactuantes, lo que permite que en el desarrollo del funcional de la energía ($E_v[\rho_0]$) los términos del funcional que tiene que ver con el sistema no interactuante sean solubles. El funcional que tiene que ver con la energía cinética de correlación, con la energía de intercambio y con la energía de correlación coulombiana ahora forman el funcional desconocido que recibe el nombre de funcional de la energía de correlación e intercambio (E_{xc}).

Kohn y Sham desarrollaron una ecuación que determina la densidad a partir de los orbitales de Kohn-Sham (KS), se usa entonces el teorema variacional de Hohenberg-Kohn pero en lugar de variar la densidad, se emplean los orbitales KS. El principio variacional, ahora recae en encontrar los orbitales KS que minimicen la expresión de KS para la energía. En dicha expresión, se incluye el término potencial de correlación intercambio (V_{xc}) que a su vez es la derivada del funcional de correlación intercambio (E_{xc}) con respecto a la densidad.

De esta manera, si se conocen los spin-orbitales KS y si conocemos (E_{xc}) se puede obtener la energía molecular (E_0). El problema, radica en que aún no hemos dicho cómo es que será calculado (E_{xc}).

Para encontrar el funcional (E_{xc}) se empieza empleando la LDA o (Aproximación de Densidad Local) la cual establece que si la densidad varía de forma extremadamente lenta con respecto a la posición, entonces el funcional E_{xc} sería un valor exacto en el límite. Y entonces el funcional de intercambio correlación con LDA incluye un término que es la energía de intercambio más la de correlación por electrón en un gas de electrones homogéneos. A su vez se puede demostrar que E_{xc} es la suma por intercambio y correlación. El problema se resuelve

de manera exacta pero proviene de una aproximación, por lo que (E_{xc}) sigue siendo un funcional aproximado y no es el exacto.

Cuando se trabaja con moléculas de capa abierta, es necesario usar LSDA o aproximación de densidad de spin local que permite que los electrones opuestos tengan diferentes orbitales espaciales KS. LSDA por lo tanto da mejores aproximaciones en moléculas de capa abierta que LDA.

De esta manera un método DFT es tan bueno como buena sea la aproximación de (E_{xc}), aunque LDA es la primera aproximación, existen muchas más. El método $X\alpha$ por ejemplo, omite la contribución de correlación en el funcional (E_{xc}) e ingresa un parámetro ajustable alfa. Por lo que es precisamente en la expresión asignada a este funcional en lo que se diferencian los diferentes métodos DFT.

4.1.1. Parámetros dentro de los métodos DFT

Cuando se dice que DFT usa parámetros empíricos dentro de su algoritmo, es crucial hacer la distinción de que dichos parámetros van incluidos únicamente dentro de la expresión del funcional de la energía de correlación e intercambio (E_{xc}). Y todas las integrales electrónicas son calculadas sin emplear parámetros empíricos. Esto es relevante porque por otro lado existen métodos mecanocuánticos clasificados como semiempíricos que emplean parámetros empíricos en la resolución de las integrales electrónicas. Por lo que es importante no confundir los métodos DFT con métodos semiempíricos.

4.1.2. Funcionales con gradiente de la densidad

Como se dijo anteriormente, las aproximaciones LDA y LSDA están basadas en el modelo de gas de electrones homogéneo en el que se asume que la densidad varía de manera extremadamente lenta con respecto a la posición. Resulta que esta aproximación es buena para sólidos, pero es muy mala para moléculas, porque en las moléculas la densidad electrónica está muy lejos de comportarse de manera homogénea. Los funcionales de gradiente incluyen en (E_{xc}) el gradiente de la densidad electrónica. El funcional de correlación e intercambio con gradiente se separa en un funcional de gradiente con el término de correlación (E_c) y otro funcional de gradiente que incluye el intercambio (E_x).

$$E_{xc} = E_c + E_x \quad (4.4)$$

Un ejemplo de un funcional de intercambio con gradiente (E_x) es el funcional de Becke de 1988[20]:

$$E_x^B = E_x^{LSDA} - b \sum_{\sigma=\alpha,\beta} \int \frac{(\rho^\sigma)^{\frac{4}{3}} \chi_\sigma^2}{1+6b\chi_\sigma \sinh^{-1} \chi_b} dr \quad (4.5)$$

Donde

$$E_x^{LSDA} = -\frac{3}{4} \left(\frac{6}{\pi}\right)^{1/3} \int [(\rho^\alpha)^{4/3} + (\rho^\beta)^{4/3}] dr \quad (4.6)$$

$$\chi_\sigma = |\nabla \rho^\sigma| / (\rho^\sigma)^{4/3}$$

Se observa que χ_σ está en función de la densidad electrónica (ρ) y del gradiente de la densidad electrónica.

Del funcional de intercambio con gradiente de Becke sólo “b” es un parámetro empírico, cuyo valor se obtuvo ajustando las energías de intercambio resultante para varios átomos. Su valor es de 0.0042 unidades atómicas [21].

Como ejemplo de un funcional de correlación con gradiente, tenemos el funcional LYP cuyas siglas se deben a sus autores Lee, Yang y Parr [22].

$$E_c^{LYP} = -a \int \frac{4}{1+d\rho^{-1/3}} \frac{\rho_\alpha \rho_\beta}{\rho} - ab \int \omega \left\{ \rho_\alpha \rho_\beta \left[2^{11/3} C_F (\rho_\alpha^{8/3} + \rho_\beta^{8/3}) + \left(\frac{47}{18} - \frac{7}{18} \delta\right) |\nabla \rho|^2 - \left(\frac{5}{2} - \frac{1}{18} \delta\right) (|\nabla \rho_\alpha|^2 + |\nabla \rho_\beta|^2) - \frac{\delta - 11}{9} \left(\frac{\rho_\alpha}{\rho} |\nabla \rho_\alpha|^2 + \frac{\rho_\beta}{\rho} |\nabla \rho_\beta|^2 \right) \right] - \frac{2}{3} \rho^2 |\nabla \rho|^2 + \left(\frac{2}{3} \rho^2 - \rho_\alpha^2\right) |\nabla \rho_\beta|^2 + \left(\frac{2}{3} \rho^2 - \rho_\beta^2\right) |\nabla \rho_\alpha|^2 \right\}$$

$$\omega = \frac{e^{-c\rho^{-1/3}}}{1+d\rho^{-1/3}} \rho^{-11/3} \quad \delta = c\rho^{-1/3} + \frac{d\rho^{-1/3}}{1+d\rho^{-1/3}} \quad C_F = \frac{3}{10} (3\pi^2)^{2/3} \quad (4.7)$$

Y donde a, b, c y d son parámetros

Los funcionales de intercambio se pueden usar con cualquier funcional de correlación, así por ejemplo se tiene el funcional BLYP que denota que se está empleando el funcional de intercambio de Becke con el funcional de correlación de LYP.

4.1.3. Funcionales híbridos

Un funcional híbrido mezcla términos con la aproximación LDA o LSDA para los funcionales de intercambio E_x , con expresiones para E_x y E_c de funcionales con gradiente. El funcional B3LYP, que se emplea en este trabajo, es un funcional híbrido:

$$E_{cx}^{B3LYP} = A E_x^{Slater} + (1 - A) E_x^{HF} + B E_x^B + E_c^{VWN} + C E_c^{LYP} \quad (4.8)$$

Dónde, el funcional de intercambio de Slater emplea LSDA [18], el de HF emplea LDA, en cambio el de Becke es un funcional con gradiente [20]. Con respecto a los funcionales de correlación, VWN emplea LSDA [23] y LYP es un funcional con gradiente o mixto [22].

Los valores de A, B y C son los parámetros empíricos, se obtuvieron ajustando a una serie de valores experimentales de 56 energías de atomización, 42 potenciales de ionización, 8 afinidades protónicas y 10 energías atómicas correspondientes a elementos de la primera fila de la tabla periódica [24]. El funcional híbrido B3LYP, ha demostrado ser una opción para realizar optimización de geometrías y para la determinación de constantes termodinámicas, por el contrario, no es bueno en cálculos cinéticos [25].

4.1.4. Efectos del disolvente

Los cálculos de las energías moleculares y otras propiedades empleando DFT arrojan valores de una molécula en fase gaseosa a baja presión y que se encuentra aislada. Para obtener esas propiedades como si la molécula estuviera en disolución, es necesario considerar que el disolvente puede tener un efecto sobre la geometría de la molécula, que a su vez afecta las propiedades moleculares y termodinámicas.

4.1.5. Modelos continuos

El campo de reacción está definido como el campo eléctrico que genera el disolvente sobre cada molécula del soluto. Este campo de reacción es el resultado de la polarización del solvente que se debe a la naturaleza del solvente, como el momento dipolar de las moléculas del disolvente, pero el campo de reacción también se ve influenciado por el momento dipolar de la molécula del soluto y las interacciones entre solvente y soluto.

Para incluir en los métodos mecanocuánticos los efectos del solvente, se han ideados modelos de solvatación sobre la molécula que calculan el cambio sobre la geometría debido a la solvatación. El más común es el modelo del disolvente continuo, en este modelo la estructura de la molécula del soluto se describe, pero la estructura del disolvente se ignora, en vez de eso el disolvente se describe como un dieléctrico continuo de extensión infinita que rodea una cavidad. La cavidad es un espacio dentro del solvente que ocupará la molécula del soluto.

El campo de reacción modifica la densidad electrónica de la molécula del soluto y la densidad electrónica a su vez modifica el campo de reacción. Cuando se permite que la densidad se vea modificada cuando la molécula pasa de fase gas a disolución hasta que se alcance la autoconsistencia entre la distribución de la carga de la molécula del soluto y el campo de reacción, se le llama modelo de campo de reacción autoconsistente (SCRF). A nivel mecanocuántico esto se hace agregando un nuevo término de energía potencial de interacción soluto-disolvente (\hat{V}_{int}) al Hamiltoniano electrónico molecular si se usa HF o al Hamiltoniano Kohn-Sham si se usa DFT, dicho término contempla la interacción entre una molécula del soluto y el continuo dieléctrico que rodea la cavidad.

Los modelos SCRF difieren en dos cuestiones: 1) En la manera en que se describe la cavidad y 2) La forma de \hat{V}_{int} .

En el método de Osanger [26] la cavidad es de forma esférica de radio a . Para obtener (\hat{V}_{int}) se considera la distribución de carga molecular como un dipolo eléctrico localizado en el centro de la cavidad, con el momento eléctrico dipolar μ . Osanger propuso una ecuación para obtener el campo de reacción producido por la polarización del disolvente. La energía potencial de la interacción electrostática entre μ y el campo de reacción es (\hat{V}_{int}).

El modelo continuo polarizado (PCM) fue desarrollado por Tomasi, Miertus y Scrocco [27], la cavidad no es una esfera si no un volumen ocupado por varias esferas entrelazadas, cada esfera es 1.2 veces el radio de Van der Waals de cada núcleo atómico de la molécula.

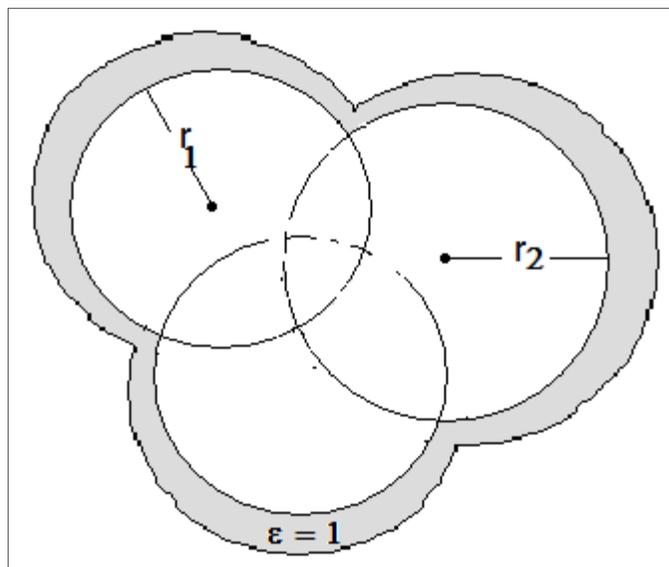


Figura 4.1. Esquema de la cavidad del modelo continuo polarizado PCM.

Se usa un método numérico para calcular la energía potencial de interacción soluto-disolvente (\hat{V}_{int}), esto porque la cavidad es compleja y entonces el efecto de polarización del solvente no se puede calcular de manera analítica.

Una variación del PCM es el método PCM Hartree-Fock de átomos unidos (UAHF) en este método la variación se encuentra en la manera de asignar los radios de las esferas en particular para los hidrógenos, los átomos de hidrogeno se incluyen con la esfera del átomo al que están enlazados, es decir los hidrógenos no constituyen por sí mismos una esfera.

Para el resto de los átomos que no sean hidrógeno, el radio de esfera que se asigna se encuentra parametrizado, el método tiene 11 parámetros ajustados para energías libres de solvatación en agua [28].

4.2. Antecedentes

Cooter y colaboradores [29] realizaron una revisión de las principales estrategias que actualmente se usan para calcular la constante de acidez acuosa. Las estrategias se agrupan en tres métodos. El método directo, el esquema de intercambio protónico y el cluster continuo híbrido. Dentro de esos tres métodos se puede usar modelos implícitos o explícitos de moléculas del solvente para mejorar el cálculo. Y por cada método, se pueden plantear diferentes ciclos termodinámicos para determinar la constante de acidez. Cooter y colaboradores encontraron que para el caso de ácidos carboxílicos, los cálculos utilizando el esquema de intercambio protónico es en general bueno. Usando el método directo el error incrementa pero dependiendo el modelo de solvente, puede arrojar buenos resultados.

Debido a que a nivel computacional se pueden obtener ΔG en gas o en solución, se plantea a nivel computacional dos estrategias:

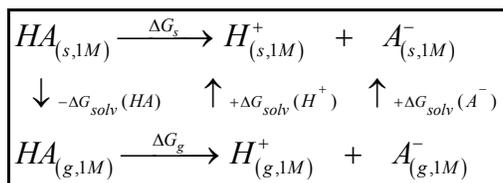
Estrategia S: todos los cálculos (energías, geometrías y correcciones termodinámicas) se realizan en solución y a partir de estos cálculos se obtienen las energías libres de Gibbs en solución (ΔG_s).

Estrategia GS: la modelación se realiza en dos etapas, en la primera se hacen cálculos en fase gaseosa para obtener las energías libres correspondientes (ΔG_g) y luego se realizan cálculos de puntos simple en solución para obtener las energías libres de Gibbs de solvatación (ΔG_{solv}). Las ΔG_s se obtienen entonces como $\Delta G_g + \Delta G_{solv}$.

En general los métodos que aplican la estrategia GS son mejores para el cálculo de pKa con respecto a los métodos que ocupan la estrategia S. Para la estrategia GS se emplean ciclos termodinámicos. Una buena razón para usar ciclos termodinámicos es que los modelos continuos de solvatación están parametrizados para arrojar energías de solvatación adecuadas.

En este trabajo se usaron ambas estrategias y dos métodos, un método directo (Ciclo A) y uno de esquema de intercambio protónico (ciclo B) [29]:

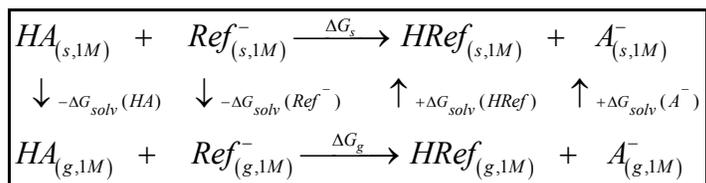
Ciclo A



El método con esquema de intercambio protónico (ciclo B) introduce un ácido de referencia que permite una vez restadas las energías cancelar errores sistemáticos. Para PCM el error en moléculas neutras es de 1 kcal/mol [30], pero para especies iónicas es de 4 kcal/mol [31] y cuando se emplea el ciclo B, el número de especies iónicas se conserva en ambos lados.

Así un buen cálculo empleando esquema de intercambio protónico dependerá en buena medida de la elección del ácido de referencia. En particular para este trabajo el ácido de referencia debe ser de una estructura parecida que el Ibuprofeno y el pKa experimental debe ser conocido.

Ciclo B



4.3. Metodología

Para la optimización de la geometría y el cálculo de las frecuencias se utilizó el funcional B3LYP y la base 6-311 +G(d). El cálculo de la energía se realizó con un punto simple con el mismo funcional y la base 6-311++G(d,p). Para la optimización en solvente se usó el modelo de solvatación PCM.

Con base a lo anterior se lleva a cabo la optimización de la geometría y el cálculo de las frecuencias en solvente agua. Las frecuencias obtenidas se escalaron con un factor de 0.9688 que es el recomendado para el funcional B3LYP con una base 6-311+G(d,p) [32], ya que se sabe que las frecuencias vibracionales armónicas son más grandes que las frecuencias vibracionales experimentales [33].

Para las energías libres de solvatación se utiliza el método HF y la base 6-311++G(d,p) y el mismo modelo de solvatación. Se usa ácido acético como ácido de referencia en el esquema de intercambio protónico (Ciclo B).

4.4. Resultados

4.4.1. Estudio Conformacional

Para el estudio conformacional se realizó un barrido de los ángulos diedros de la molécula para determinar mínimos locales de energías moleculares. Cada barrido fue realizado con el funcional B3LYP en combinación con la base 6-31+G(d) con pasos de 10° para el ángulo diedro θ . La molécula del Ibuprofeno tiene siete ángulos diedros θ , los cuales se muestran en la figura 4.2 la numeración corresponde a la secuencia en que fueron analizados. El ángulo θ_2 se forma entre los átomos 25,24,28,30 y θ_6 se forma entre 17,14,13,16.

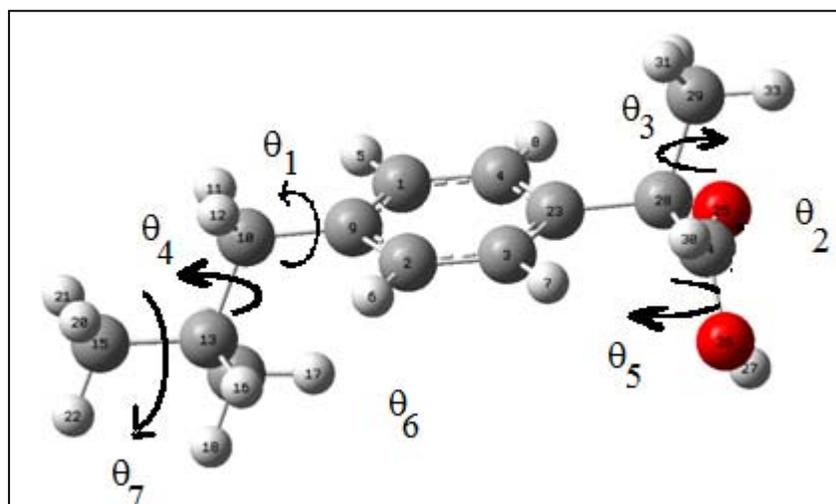


Figura 4.2. Molécula del Ibuprofeno, se muestra siete ángulos diedros

En la figura 4.3 se muestra el barrido del ángulo diedro θ_1 , se obtuvieron dos conformérotacionales con energías muy similares, a ambos se les realizó optimización de geometría completa y se encontró que sus energías libres de Gibbs se diferencian en 0.01 kcal/mol, el conformero A es el que presenta una menor energía. por esta razón se usa dicho conformero como geometría de partida para realizar el barrido de los siguientes diedros.

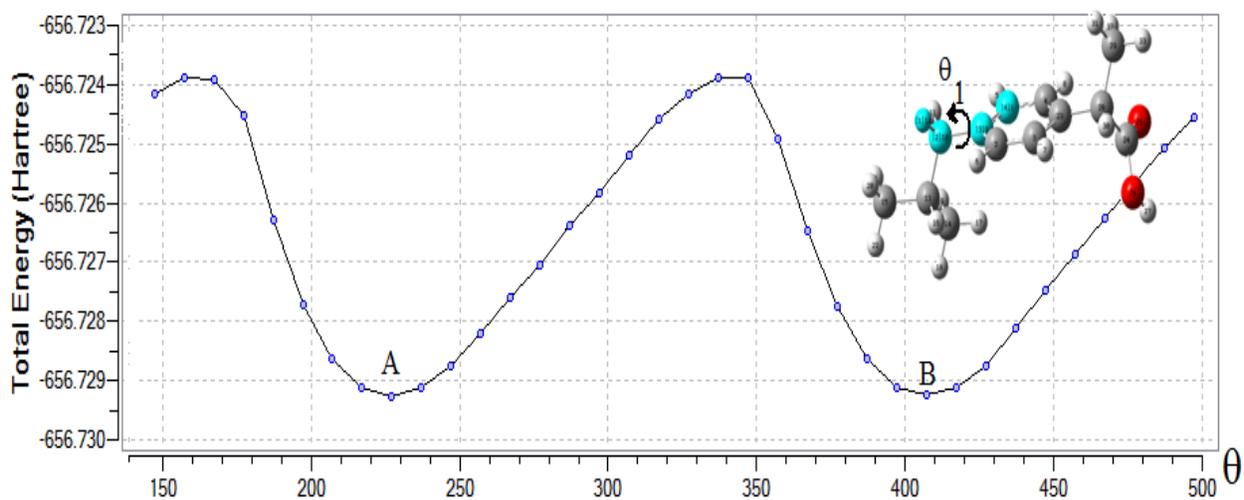


Figura 4.3. Barrido del ángulo diedro θ_1 . El punto A se encuentra a los 227.16° y con un $\Delta G = 0$ Kcal/mol. El punto B se encuentra a los 407.16° y con un $\Delta G = 0.01$ Kcal/mol.

El barrido de los ángulos θ_2 y θ_3 no arrojan mínimos locales de menor energía al conformero de partida. Para el barrido del ángulo θ_4 , el cual se muestra en la figura 4.4, se observa que hay dos conformérotacionales de energías similares, a ambos se les realiza optimización de geometría completa. A dicho nivel de cálculo, el conformero B resulta tener una menor energía libre de Gibbs, con una diferencia de 0.02 kcal/mol del conformero de partida.

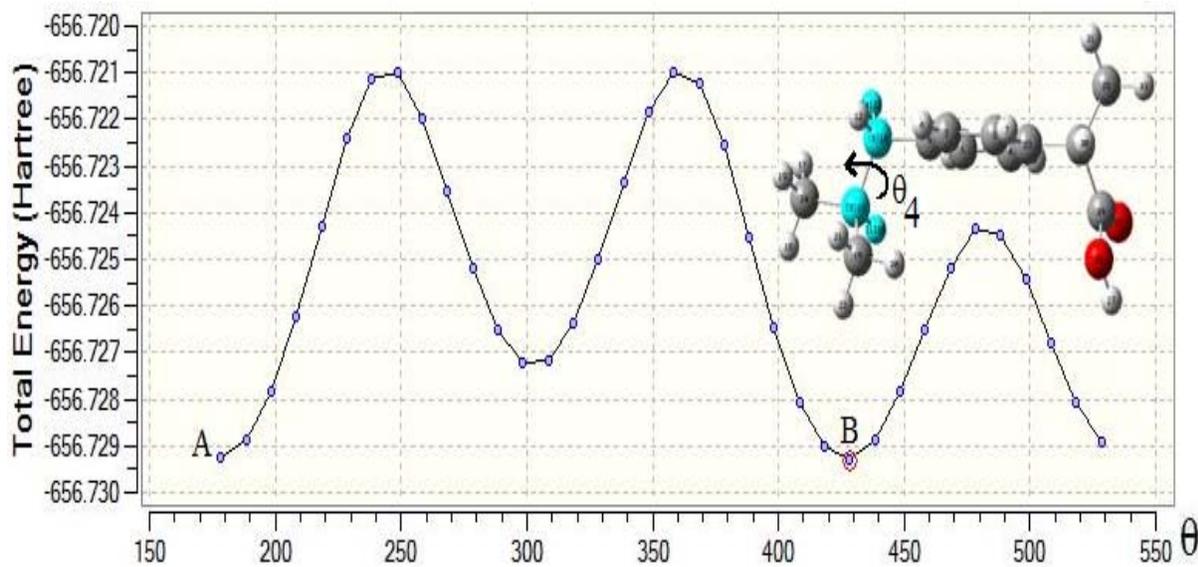


Figura 4.4. Barrido del ángulo diedro θ_4 . El conformero rotacional B es de menor energía. El punto A se encuentra a los 178.38° y con un $\Delta G = 0.021 \text{ Kcal/mol}$. El punto B se encuentra a los 428.38° y con un $\Delta G = 0 \text{ Kcal/mol}$.

El conformero B del barrido del ángulo diedro θ_4 se usa como geometría de partida para el análisis de los ángulos diedros restantes. Los barridos de los ángulos diedros θ_5 θ_6 θ_7 no presentan mínimos inferiores al de partida en las correspondientes superficies potenciales.

Para concluir el estudio conformacional, se realiza un cálculo de punto simple sobre el conformero de menor energía.

La figura 4.5 muestra finalmente el conformero de menor energía, se muestran además los valores de los ángulos diedros.

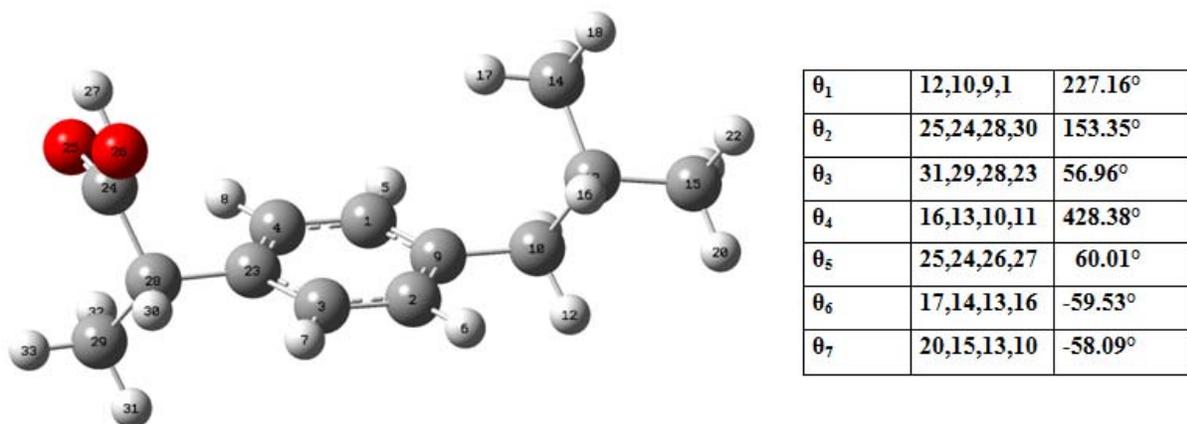


Figura 4.5. Confórmero del S-Ibuprofeno de menor energía y sus siete ángulos diedros

Se optimizaron geometrías y se calcularon las frecuencias en solvente agua. Todas las frecuencias fueron reales, indicando que las estructuras obtenidas corresponden a mínimos en las correspondientes superficies potenciales.

4.4.2. Cálculo del pKa empleando DFT

Para determinar el valor de la constante de acidez del Ibuprofeno, se plantea el siguiente equilibrio monoprótico:



Cuya constante de formación es la constante de acidez K_a

Se tiene que la energía libre de Gibbs de la reacción anterior se puede calcular como:

$$\Delta G_{soln} = \Delta G(Ibu^{-})_s + \Delta G(H^{+})_s - \Delta G(HIbu)_s \quad (4.9)$$

Donde el valor recomendado para la energía libre del protón en solución es de -270.28 kcal/mol [29].

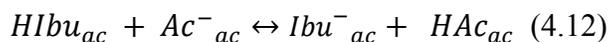
La constante de acidez es determinada empleando la siguiente ecuación:

$$\Delta G_{soln} = -RT \ln(K_a) \quad (4.10)$$

Empleando el método directo, el pKa se calcula como:

$$pK_a = \frac{\Delta G_{soln}}{RT \ln(10)} \quad (4.11)$$

Para el esquema de intercambio protónico, se introduce el ácido acético como ácido de referencia y el equilibrio es:



Donde HAC es ácido acético y Ac^- es el ion acetato.

Se tiene que la energía libre de Gibbs de la reacción anterior se puede calcular como:

$$\Delta G_{soln} = \Delta G(Ibu^-)_s + \Delta G(HAC)_s - \Delta G(Ac^-)_s - \Delta G(HIbu)_s \quad (4.13)$$

el pKa estará determinado por:

$$pK_a = \frac{\Delta G_{soln}}{RT \ln(10)} + pK_a(HAC)_{exp} \quad (4.14)$$

El pKa experimental reportado [34] del ácido acético es de 4.76

Empleando la estrategia de cálculo GS y el método directo (ciclo A) el pKa calculado es de 11.605. Empleando la estrategia de cálculo GS y el método de esquema de intercambio protónico (Ciclo B) se tiene un pKa de 5.103.

Empleando la estrategia S y el método directo se tiene un pKa de 13.87, mientras que empleando el esquema de intercambio protónico el pKa calculado es de 7.37. Se observa que los valores de pKa que se obtienen con el esquema de intercambio protónico son mejores que los que se obtienen con el método directo ya que el valor experimental del pKa del ibuprofeno es de 4.5 Comparando estrategias, la estrategia GS es mejor para obtener valores de pKa.

Para determinar el error del cálculo, se usan los valores de pKa experimentales reportados en este trabajo, se toma como cierto un pKa de 4.5 para el ibuprofeno. En base a esto se determina que el error más pequeño es de 0.7 unidades de pKa para el cálculo que arroja un pKa de 5.1. Para las otras estrategias y métodos el error es significativamente más grande. Esto se explica

porque como se dijo anteriormente existen errores sistemáticos asociados al cálculo, así el error asociado a un cálculo con el funcional B3LYP es de ± 2 kcal/mol [29-30], por utilizar PCM para las moléculas neutras se estima un error de ± 1 kcal/mol, y para el cálculo de las especies iónicas se usa un error de ± 4 kcal/mol [30,31].

Los errores reportados en la literatura para el cálculo de pKa de ácidos carboxílicos son de 2 unidades de pKa, por lo que el error que se obtiene con la metodología planteada en este trabajo, es considerablemente mejor.

4.4.3. Espectro IR y asignación de bandas

Las frecuencias son identificadas con la animación de los modos vibracionales, empleando el programa GaussView versión 5.0.8. La figura 15 muestra el espectro calculado en fase gas y la asignación de las bandas más representativas.

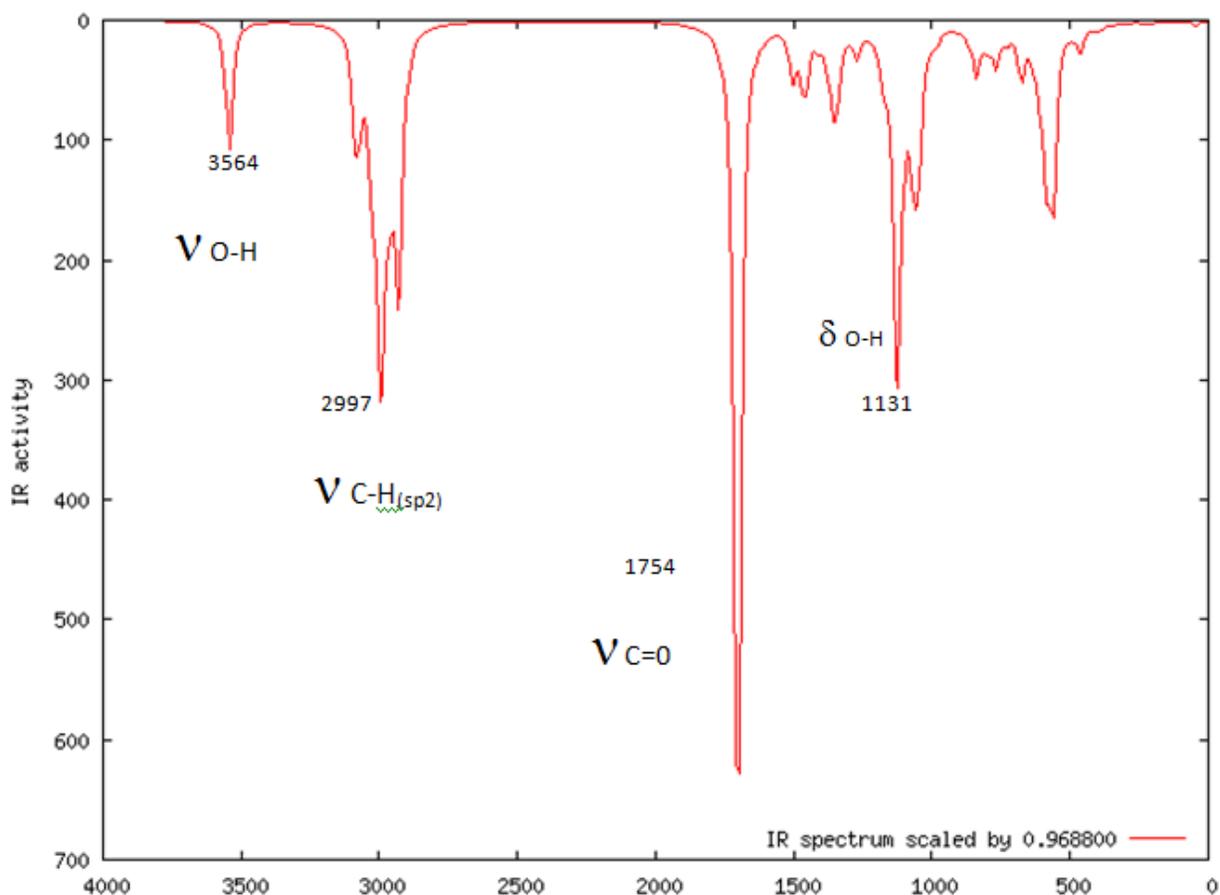


Figura 4.4. Espectro IR de la molécula del Ibuprofeno calculado con B3LYP/6-311 +G(d).

La asignación de las bandas se compara con las tablas de grupos reportadas en la literatura para compuestos orgánicos [35]. Según estas referencias para la vibración estiramiento de OH se espera en 3600 cm^{-1} y el grupo carboxilo tendrá tres bandas IR características: la banda correspondiente al estiramiento del carbonilo ($\nu_{\text{C=O}}$), esperada en el intervalo de $1725\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$, y las correspondientes al movimiento de torsión-estiramiento del grupo carboxilo que tiene dos señales, una en el intervalo de $1320\text{-}1200$ (ν_1) y una más débil en $1440\text{-}1390\text{ cm}^{-1}$ (ν_2). Los valores calculados son $\nu_{\text{C=O}} = 1754\text{ cm}^{-1}$, $\nu_1 = 1131\text{ cm}^{-1}$, y $\nu_2 = 1412\text{ cm}^{-1}$.

Los espectros IR experimentales encontrados en la literatura se encuentran en otro tipo de solventes y el IR experimental en gas no fue posible determinarlo para este trabajo.

4.5. Conclusiones

Se realizó el estudio conformacional del Ibuprofeno en fase gas. Fue posible calcular el pKa acuoso del Ibuprofeno, se emplearon dos estrategias y dos métodos. El cálculo más cercano al pKa experimental se obtiene con la estrategia computacional GS y el método de esquema de intercambio protónico (Ciclo B), con un valor de 5.1. Se concluye que el error es de 0.7 unidades de pKa comparando con los valores que se obtuvieron empleando espectroscopía UV-Vis y electroforesis capilar de zona, 4.538 ± 0.031 y 4.548 ± 0.065 respectivamente.

Fue posible realizar el cálculo de las frecuencias vibracionales con lo que se interpretó el espectro IR y se asignaron las bandas a sus respectivos modos vibracionales.

5. CONCLUSIONES GENERALES

Se caracterizó el Ibuprofeno en medio acuoso. Siendo el equilibrio en medio acuoso y el cálculo de la constante de acidez el principal logro.

Se pudo determinar:

- El valor de pKa en solución acuosa empleando UV-Vis 4.538 ± 0.031
- El valor de pKa en solución acuosa empleando ECZ. 4.548 ± 0.065
- El valor de pKa en solución acuosa empleando DFT 5.1

Se usaron dos técnicas experimentales y la teoría de funcionales de la densidad. Al realizar una prueba estadística t se tiene que los dos valores experimentales son estadísticamente iguales al 90% de confianza. Para el valor de pKa empleando DFT se obtiene un error de 0.7 unidades de pKa comparando con el valor experimental.

Por cada una de las técnicas empleadas se obtuvo información del Ibuprofeno que es relevante para su completo estudio. El estudio por electroforesis capilar permite confirmar que el equilibrio de disociación del Ibuprofeno en el sistema es el que se planteó en la ecuación 2, esto debido a que el comportamiento de las movilidades efectivas contra pH corresponde a lo esperado para un solo equilibrio de disociación. Y la carga promedio de las especies coincide con la carga propuesta del equilibrio es decir, Hibu como especie neutra y Ibu^- como especie aniónica.

De la determinación del pKa empleando espectrofotometría UV-Vis, se tiene que los mejores resultados se observan empleando un sistema acuoso con amortiguamiento.

Del estudio conformacional del Ibuprofeno en fase gas y en solvente agua. Fue posible concluir que para el Ibuprofeno, se obtiene un buen valor de pKa con la estrategia computacional GS y el método de esquema de intercambio protónico (Ciclo B), fue posible además realizar el cálculo de las frecuencias vibracionales con lo que se interpretó el espectro IR y se asignaron las bandas a sus respectivos modos vibracionales.

6. REFERENCIAS

1. J. Siemens, G. Huschek, C. Siebe, M. Kaupenjohann. *Water Res.* **42**, 2124, (2008)
2. M. Winkler, J. R. Lawrence, T. R. Neu. *Water Res.* **35**, 3197, (2001).
3. J. D. Higgins, T. P. Gilmor, S. A. Martellucci, R. D. Bruce, H. G. Brittain Ibuprofen Analytical profiles of Drug substances and Excipients. Edited by H. Brittain. Academic Press 27, 265 (2001).
4. M.L. Vueba, M.E. Pina, L.A.E. Batista de Carvalho, *J. Pharm. Sci.* **97**, 2, (2008)
5. H-R. Buser, T. Poiger, M. D. Muller, *Environ. Sci. Technol.* **33**, 2529, (1999).
6. M. Meloun, S. Bordovska, L. Galla, *J. Pharm. Biomed. Anal.* **45**, 552, (2007).
7. R. Ruiz, M. Roses, C. Rafols, E. Bosch, *Anal. Chim. Acta* **550**, 210 (2005).
8. A. Avdeef, KJ Box, J.E.A. Comer, M. Gilges, M. Hadley, C. Hibbert, W Patterson, K.T., *J. Pharm. Biomed. Anal.* **20** 631-641 (1999)
9. M. Shalaeva, J. Kenseth, F. Lombardo. A. Bastin *J. Pharm. Sci.* **97**, 2581 (2008)
10. J. Ho, M. L. Coote, *Theor. Chem. Acc.* **2010**, 125, 3–21.
11. D. J. Legget, *Computational methods for determination of formation constants*, Plenum Press, New York,(1985)
12. S. Ahuja, M. I. Jimidar, *Capillary Electrophoresis methods for pharmaceutical analysis*, Vol 9, Academic Press, USA, (2008).
13. H. Wan, A. Holmen, M. Nagard, W. Lindberg, *J. Chromatogr.* **A 979**, 369, (2002).
14. C. E. Kibbey, S.K. Poole, B. Robinson, J. D. Jackson, D. Durham, *J. Pharm. Sci.* **90**, 1164, (2001)
15. D. Rodríguez-Barrientos, A. Rojas-Hernández, A. Gutiérrez, R. Moya-Hernández, R. Gómez-Balderas, M.T. Ramírez-Silva, *Talanta*, **80**, 754, (2009).
16. P. Hohenberg y W. Kohn, *Phys. Rev.*, **B136**, 864 (1964).
17. Kohn, W, "Overview of Density Functional Theory", en: *Density Functional Theory*, Gross, E. K. U. y Dreizler, R. M. (eds.), (Plenum Press, New York, USA, 1995).

-
18. W. Kohn y L. J. Sham, *Phys. Rev.*, **140**, A1133 (1965).
 19. Dreizler, R. M. y Gross, E. K. U., *Density Functional Theory. An Approach to the Quantum Many-Body Problem*, (Springer-Verlag, Berlin, Germany, 1990).
 20. A. D Becke, *Phys. Rev. A.*, **38**, 3098 (1988).
 21. A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, **98**, 1372 (1993).
 22. C. Lee, W. Yang y R. G. Parr, *Phys. Rev. B*, **37**, 785 (1988).
 23. S. H. Vosko, L. Wilk y M. Nusair, *Canadian J. Phys.*, **58**, 1200 (1980).
 24. A. D. Becke, *J. Chem. Phys.*, **98**, 5648 (1993).
 25. Y. Zhao, D.G. Truhlar, *Acc. Chem. Res.* **41**,157, (2008).
 26. L. Osanger, *J. Am. Chem. Soc.*, **58**, 1486 (1938).
 27. V. Barone, M. Cossi and J. Tomasi, *J. Comp. Chem.*, **19**, 404 (1998).
 28. V. Barone, M. Corssi y J. Tomasi, *J. Chem. Phys.*, **107** , 3210 (1997)
 29. J. Ho, M. L. Coote, *Theor. Chem. Acc.* **125**, 3 (2010)
 30. A. Klamt, G. Schurman *J. Chem. Soc. Perkin. Trans 2*, 799 (1993)
 31. C.J. Cramer, D.G. Truhlar *Acc. Chem. Res.* **41**,760, (2008)
 32. J. P. Merrick, D. Moran, L. Radom, *J. Phys. Chem. A* **111**, 11683 (2007)
 33. W. J. Hehre, L. Radom, P. Schleyer, Pople, *Ab Initio Molecular Orbital Theory*; Wiley: New York, 1986.
 34. JR Pliego, J.M. Riveros *Phys. Chem.* **4**, 1622, (2002)
 35. R.M. Silverstein, F.X. Webster *Spectrometric Identification of Organic Copounds*, Wiley New York, 1998.



Universidad Autónoma Metropolitana
Unidad Iztapalapa

DETERMINACIÓN DE LA CONSTANTE DE ACIDEZ Y
CARACTERIZACIÓN QUÍMICA DEL IBUPROFENO

TESIS QUE PRESENTA
TANIA CAMPOS HERNANDEZ

PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRA EN CIENCIAS (QUÍMICA)

ASESORES: Dra. MARÍA TERESA RAMÍREZ SILVA

Dra. ANNIA GALANO JIMENEZ

DIVISIÓN DE CIENCIAS BÁSICA E INGENIERÍA
ÁREA DE QUÍMICA ANALÍTICA

SEPTIEMBRE DE 2010