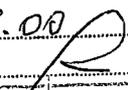


R E C I B I D O	UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO
	VICE-RECTORADO DE INVESTIGACIÓN
	14/9/2015
	HORA: 8:00
FIRMA: 	

UNIVERSIDAD NACIONAL DEL CALLAO

FACULTAD DE INGENIERÍA QUÍMICA

**INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN DE LA FACULTAD DE
INGENIERÍA QUÍMICA**



*1110
May
04/08/2015
14:00h.
253*

INFORME FINAL DEL PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

**“DETERMINACIÓN DEL DICLOFENACO POR ANÁLISIS
INSTRUMENTAL EN MEDICAMENTOS DE MARCA”**

AUTOR: Q.F. WALTER TAPIA CHACALTANA

**(PERIODO DE EJECUCIÓN: Del 01 de Setiembre 2013 al
31 de Mayo del 2015)**

(Resolución Rectoral de aprobación No 832--2013-R.)

Callao, 2015

ÍNDICE

	Pág.
I. INDICE	01
1.1 De contenido.	
1.2 De tablas.	03
1.3 De figuras	04
II. RESUMEN y ABSTRACT	06
2.1 Resumen	06
2.2 Abstract	07
III. INTRODUCCION	08
3.1. Planteamiento del problema	09
3.2. Importancia y justificación del proyecto	09
IV. MARCO TEORICO	10
4.1. El Diclofenaco	10
4.2. Aspectos farmacológicos del diclofenaco	12
4.3. Cromatografía	22
4.4. Espectrofotometría ultravioleta – visible	28
4.5. Espectrofotometría infrarroja	45
V. MATERIALES Y METODOS	57
5.1. Materiales y Equipos	57
5.2. Población y muestra	57
5.3. Técnicas e instrumentos de recolección de datos	58
5.4. Técnicas para el tratamiento de datos	61
VI. Resultados	63
VII. Discusión	77
VIII. Referenciales	79

IX.	Apéndices	81
X.	Anexos	84
	10.1 Figuras	84
	10.2. Matriz de consistencia	88
	10.3. Operacionalización de variables	89

INDICE DE TABLAS

Tabla N° 4.1 : Clasificación de la cromatografía	26
Tabla N° 4.2 : Tipos de enlaces	29
Tabla N° 4.3 : Transiciones electrónicas ente orbitales σ , π , η	30
Tabla N° 4.4 Características de transiciones electrónicas entre orbitales, E, π y H	30
Tabla N° 4.5: Parámetros ondulatorios	30
Tabla N° 4.6 Características de absorción de algunos cromóforos	31
:Tabla N° 4.7 Efectos de los ligandos sobre los máximos de absorción con transiciones d-d	37
Tabla N° 4.8 : Longitud de enlace ultravioleta	38
Tabla N° 4.9 : Características de la radiación	40 :
Tabla N° 6.1 : Resultados de la cromatografía comparativa	64
Tabla N° 6.2 : Resultados de la espectrofotometría U.V.	65
Tabla N° 6.3 : Resultados comparativos del St. y productos comerciales	66

INDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura N° 4.1 :Fórmula química del Diclofenaco	10
Figura N° 4.2 :Fenómeno de absorción	32
Figura N° 4.3 : Espectro de absorción en una mezcla	45
Figura N° 4.4 : Zonas del espectro Infrarrojo	46
Figura N° 4.5 : Esquema básico de un espectrofotómetro Infrarrojo	48
Figura N° 4.6 : Espectrofotómetro Infrarrojo con transformada de Fourier	55
Figura N° 4.7 : Medidor de energía	55
Figura N° 4.8 : Del interferograma al Espectro I.R. por transformada de Fourier	56
Figura N° 5.1. : Espectro U.V. del Diclofenaco Standard	60
Figura N° 5.2. : Espectro Infrarrojo del Diclofenaco por ATR	61
Figura N° 6.1 : Factor de retención	63
Figura N° 6.2. :Espectrofotometría ultravioleta del Diclofenaco Voltaren y Dolotren	64
Figura N° 6.3 : Espectro infrarrojo St. y medicamentos comerciales	65
Figura N° 6.4 : Cromatografía de capa fina	66
Figura N° 6.5 Espectrofotometría ultravioleta	70
Figura N° 6.6 : Espectrofotometría infrarroja	73
Figura N° 9.1 : Cromatograma TLC Diclofenaco St. y muestras	81:
Figura N° 9.2. : Espectro U.V. del diclofenaco en muestra (Dolotren)	82
Figura N° 9.3: : Espectro infarrojo con transformada de Fourier FTIR Del Diclofenaco en muestra (Voltaren) en solución Metanólica	83
Figura N° 10.1 Equipo de cromatografía de capa fina	84
Figura N° 10.2 : Concentración plasmática del diclofenaco	85

Figura N° 10.3 : Espectrofotómetro U.V. – visible Varian	86
Figura N° 10.4 : Espectrofotómetro Varian, Cary 50 (dirección del haz de luz)	87

II. RESUMEN Y ABSTRACT

2.1 Resumen

Cuando un paciente presenta dolor debido a problemas de índole artrítico o similar, se requiere de medicamentos antiinflamatorios, analgésicos por la que el diclofenaco, medicamento que pertenece a la categoría de los AINE (antiflamatorio no esteroideo), su acción farmacológica está destinada a disminuir aquellas sustancias químicas que son causantes de la inflamación, y el dolor⁴.

Actúa inhibiendo la síntesis de prostaglandinas; desempeñando una acción importante en la aparición de la inflamación, el dolor, la fiebre.

Se absorbe en forma rápida y luego de ingerir 50 mg, las concentraciones plasmáticas alcanzan el valor máximo de 3.9 $\mu\text{mol/l}$ al cabo de 20 a 60 minutos. La mitad de las dosis se metaboliza en el hígado y se fija 99% a las proteínas séricas (albúminas).

Se excreta 60% por orina en forma de metabolitos, mientras que el resto se elimina por la bilis, por las heces.

Siendo el objetivo del presente trabajo de investigación, identificar el diclofenaco, para lo cual se va a recurrir a los métodos o técnicas instrumentales como la espectrofotometría u.v.-visible, espectrofotometría FTIR (espectrofotometría infrarroja con transformada de Fourier) y la cromatografía en medicamentos comerciales, de cuyo resultado se determinará la presencia del diclofenaco concluyéndose que se trata de un medicamento que está presente en dichos medicamentos.

Palabras claves: AINE, Antiflamatorio, migraña, cromatografía, espectrofotometría, ATR.

2.2 Abstract

When a patient presents with pain due to problems arthritic nature or the like is required or anti-inflammatory drugs, analgesics why diclofenac drug that belongs to the category of NSAIDs (antiflamatory non steroidal) its pharmacological actions to reduce those causing chemicals inflammation, anddolor⁴

It inhibits the synthesis of prostaglandins; play an important action in the development of inflammation, pain, fever.

It absorbs quickly and after ingesting 50 mg, plasma concentrations reach the maximum value of 3.9 $\mu\text{mol} / \text{l}$ after 20-60 minutes. Half of the dose is metabolized in the liver and 99% is bound to serum proteins (albumin).

60% is excreted in urine as metabolites, while the remainder is excreted in the bile, feces.

Since the objective of this research, identify diclofenac for which is to resort to methods and instrumental techniques such as UV-visible spectrophotometry, FTIR spectrophotometry (infrared spectrophotometry with Fourier transform) and chromatography in commercial drugs, of which results in the presence of diclofenac concluding that it is a drug that is present in these medicines be determined.

Keywords: NSAIDs, anti inflammatory, migraine, chromatography, spectroscopy, ATR.

III. INTRODUCCIÓN

El diclofenaco fármaco antiinflamatorio y analgésico cuya acción farmacológica estriba en la inhibición de la síntesis de las prostaglandinas y de su liberación durante el proceso inflamatorio, por lo que se indica que el diclofenaco inhibe las enzimas ciclooxigenasas COX1 y COX2.

El ámbito analgésico se relaciona con la disminución de los mediadores de la vía nociceptiva, bloqueando la generación de impulsos a nivel periférico.

Posee además un efecto antipirético vinculado con la disminución de las prostaglandinas a nivel hipotalámico, en el centro termorregulador favoreciendo la pérdida de calor.

Los conjugados representan aproximadamente del 5 al 10% de la dosis recuperada por la orina. Menos del 5% se elimina por la bilis.

El metabolito principal es el 4-hidroxiclofenaco y constituye aproximadamente el 40% de la dosis total excretada. Otros metabolitos como el 3-hidroxi, el 5-hidroxi y el 4,5-dihidroxiclofenaco representan del 10 al 20% de la dosis eliminada por la orina.

Siendo el objetivo identificar el diclofenaco mediante las técnicas analíticas instrumentales por espectrofotometría U.V – visible y cromatografía en medicamentos comerciales, por lo cual se ha utilizado el Voltaren y el Dolotren, por lo que constituiría un aporte científico a los laboratorios a través del control de calidad del medicamento por lo que se justifica el presente trabajo de investigación.

3.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Ante el fenómeno de la inflamación, y el dolor a consecuencia de la acción de las prostaglandinas, los Aine y en especial el diclofenaco inhiben la síntesis de las prostanglandinasa y de los tromboxanos.

Por lo que frente a esta situación se plantea realizar una serie de análisis químicos instrumentales al principio activo de los medicamentos comerciales que contienen el diclofenaco, fármaco de acción fundamentalmente antiinflamatoria y analgésica.

3.2 IMPORTANCIA Y JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO

El presente trabajo de investigación constituiría un aporte científico a los laboratorios farmacéuticos al garantizar la calidad de sus productos mediante los controles de calidad y con el auxilio de las técnicas de análisis químico como los espectrofotométricos U.V-visible, el espectrofotómetro infrarrojo FTIR y la técnica cromatográfica, por lo que se **justifica** el presente proyecto de investigación.

IV. MARCO TEÓRICO

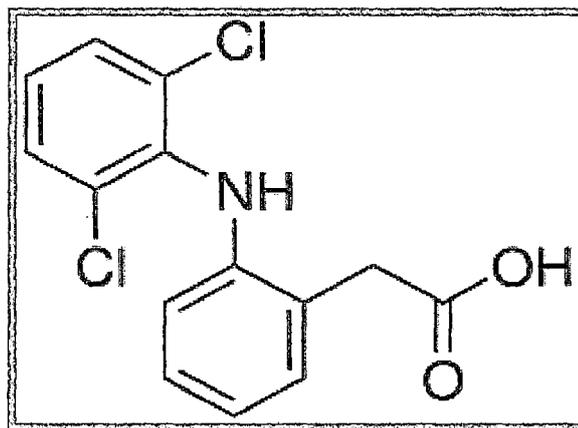
4.1 EL DICLOFENACO

El diclofenaco, es un fármaco antiinflamatorio y analgésico cuya denominación mediante la nomenclatura iupac es la siguiente:

Acido 2-{2-[(2,6-diclorofenil)amino]fenil}acético

FIGURA N° 4.1

FORMULA QUIMICA DEL DICLOFENACO



Fuente:Katzung, Bertram G. (2007).

El diclofenaco, fármaco inhibidor de la cicloxigenasa, presenta como antecedentes que el primer agente antiinflamatorio no esteroideo (AINE) utilizado luego del ácido salicílico² fue la fenilbutazona en 1952. Posteriormente, se comenzaron a prescribir los compuestos competitivos como el ácido mefenámico, el ibuprofeno y la indometacina. El objetivo de desarrollar el diclofenaco sódico fue sintetizar un AINE con elevada actividad y excelente tolerancia. Para ello, los investigadores evaluaron las características estructurales y físico químicas de los AINE disponibles.

Los factores considerados fueron el transporte de la droga a través de las membranas biológicas, la estructura espacial y atómica de las moléculas y la estructura electrónica.

La estructura espacial y atómica del diclofenaco influye en la unión a los receptores. Además, la estructura electrónica controla las interacciones específicas entre la droga y sus receptores.

Los estudiosos detectaron que la fenilbutazona, el ácido mefenámico y la indometacina poseen 3 características en común. Estas 3 drogas son ácidos débiles, con una acidez constante de entre 4 y 5. Además, todos tienen 2 anillos aromáticos rotados entre sí. Asimismo, los 3 agentes tienen un grado similar de afinidad por los lípidos reflejada por el coeficiente de partición entre el n-octanol y el agua.

Por lo tanto, los farmacólogos postularon que un agente antirreumático efectivo debería tener una constante de acidez de entre 4 y 5, un coeficiente de partición de aproximadamente 1 y 2 y los anillos aromáticos rotados entre sí.

El coeficiente de partición de un ácido depende del grado de disociación y este coeficiente determina las características farmacocinéticas de la droga, incluyendo la absorción, la ligazón a proteínas y receptores y por supuesto la eliminación.

El diclofenaco tiene una constante de acidez de 4 y un coeficiente de partición de 13.4. Entre los elementos estructurales de esta droga se incluye el grupo ácido fenilacético, un grupo amino secundario y un anillo fenilo; en el que las 2 posiciones orto se encuentran átomos de cloro.

Los agentes antiinflamatorios ibuprofeno, ketoprofeno y naproxeno tienen una constante de acidez y un coeficiente de partición similares a los del

diclofenaco no obstante, de manera contraria al diclofenaco, estas drogas no contienen anillos rotados entre sí.

El piroxicam y la fenilbutazona tienen una vida media plasmática prolongada de más de 40 horas; en cambio, para el diclofenaco la vida media es de únicamente 1.8 horas.

Se indica que entre los más de 200 análogos, el diclofenaco sódico demostró tener las propiedades farmacológicas más interesantes. Los resultados de los trabajos experimentales y clínicos permiten que el autor concluya afirmando que las consideraciones que llevaron a la síntesis del diclofenaco estaban bien fundamentados.

4.2 ASPECTOS FARMACOLOGICOS EN EL DICLOFENACO

Mecanismo de acción: el mecanismo de acción del diclofenaco, como el de otros AINE, no se conoce por completo, pero parece implicar la inhibición de las vías de las ciclooxigenasas (COX-1 y COX-2). El mecanismo de acción del diclofenaco también puede estar relacionado con la inhibición de la prostaglandina sintetasa.

Farmacocinética: después de una dosis oral, el diclofenaco se absorbe en 100% después de la administración oral en comparación con la administración intravenosa, medida por la recuperación de la orina. Sin embargo, debido al metabolismo de primer paso, sólo alrededor del 50% de la dosis absorbida es disponible sistémicamente. Después de la administración oral repetida, no se produce acumulación del fármaco en plasma. La presencia de alimentos retrasa la absorción y disminuye las concentraciones plasmáticas máximas, pero no afecta la absorción global. El diclofenaco presenta una farmacocinética lineal, siendo las concentraciones plasmáticas proporcionales a las dosis.

El volumen aparente de distribución del diclofenaco de 1,3 l/kg. El diclofenaco se une extensamente (> del 99%) a las proteínas séricas humanas, principalmente a la albúmina. La unión a proteínas séricas es

constante en el intervalo de concentraciones (0,15 a 105 mg / mL) logrado con las dosis recomendadas.

El diclofenaco se difunde dentro y fuera del fluido sinovial: la difusión dentro de la articulación se produce cuando los niveles plasmáticos son más altos que los del líquido sinovial, después de lo cual el proceso se revierte. Se desconoce si la difusión en la articulación desempeña un papel en la eficacia de diclofenaco.

El diclofenaco se elimina a través del metabolismo y la posterior excreción urinaria y la biliar del glucurónido y los conjugados de sulfato de los metabolitos. La vida media terminal de diclofenaco sin cambios es de aproximadamente 2 horas. Aproximadamente el 65% de la dosis se excreta en la orina y aproximadamente el 35% en la bilis como conjugados de diclofenaco sin cambios además de los cinco metabolitos identificados. Dado que la eliminación renal no es una vía importante de eliminación de diclofenaco sin cambios, no es necesario ajustar la dosis en pacientes con insuficiencia renal leve a moderada disfunción renal

Toxicidad: Los estudios de carcinogenicidad a largo plazo en ratas tratadas con diclofenaco sódico en dosis de hasta 2 mg/kg/día (0,2 veces la dosis máxima recomendada en humanos) han puesto de manifiesto un aumento significativo en la incidencia de tumores. Un estudio de carcinogenicidad de 2 años realizado en ratones empleando diclofenaco sódico a dosis de hasta 0,3 mg/kg/día (0,014 veces la dosis máxima humana recomendada) en los machos y 1 mg / kg / día (0,04 veces la dosis máxima humana recomendada en las hembras no revelaron ningún potencial oncogénico.

El diclofenaco sódico no mostró actividad mutagénica en los ensayos in vitro de mutación puntual en mamíferos (linfoma de ratón) y microorganismos (levaduras, Ames) y sistemas de ensayo "in vitro" e "in

vivo", incluyendo las pruebas de aberración cromosómica en células de hámsters chinos.

El diclofenaco sódico administrado a ratas macho y hembra a 4 mg/kg/día (0,4 veces la dosis máxima humana recomendada) no afectó a la fertilidad.

4.2.1 INDICACIONES Y POSOLOGIA

Tratamiento de enfermedades reumáticas crónicas inflamatorias tales como artritis reumatoide, espondilolartitis anquilopoyética, artrosis, espondiloartritis. Reumatismo extrarticular. Tratamiento sintomático del ataque agudo de gota. Tratamiento sintomático de la dismenorrea primaria. Tratamiento de inflamaciones y tumefacciones postraumáticas.

ADMINISTRACIÓN ORAL

Los adultos: en casos leves, así como en tratamientos prolongados se recomienda administrar 75 mg-100 mg al día. La dosis máxima diaria inicial en el tratamiento con diclofenaco es de 100-150 mg. Resulta adecuada la administración en 2-3 tomas diarias. En la dismenorrea primaria, la dosis diaria, que deberá ajustarse individualmente, es de 50-200 mg. Se administrará una dosis inicial de 50-100 mg y si es necesario se aumentará en los siguientes ciclos menstruales. El tratamiento debe iniciarse cuando aparezca el primer síntoma. Dependiendo de su intensidad, se continuará unos días. Los comprimidos entéricos de diclofenaco se tomarán enteros con líquido preferentemente antes de las comidas.

En ancianos: la farmacocinética de diclofenaco 50 mg comprimidos entéricos no se altera en los pacientes ancianos, por lo que no se considera necesario modificar la dosis ni la frecuencia de administración. Sin embargo, al igual que con otro fármaco

antiinflamatorio no esteroideo, deberán adoptarse precauciones en el tratamiento de estos pacientes, que por lo general son más propensos a los efectos secundarios, y que tienen más probabilidad de presentar alteraciones de la función renal, cardiovascular o hepática y de recibir medicación concomitante. En concreto, se recomienda emplear la dosis eficaz más baja en estos pacientes.

Niños: la seguridad y eficacia de diclofenaco 50 mg en comprimidos entéricos no se ha establecido en este grupo de pacientes, por lo que no se recomienda su uso en niños.

Pacientes con alteración renal: en el uso de fármacos antiinflamatorios no esteroideos en pacientes con insuficiencia renal conviene adoptar precauciones.

Pacientes con alteración hepática: aunque no se han observado diferencias en el perfil farmacocinético, se aconseja adoptar precauciones en el uso de fármacos antiinflamatorios.

4.2.2 CONTRAINDICACIONES

El diclofenaco en comprimidos entéricos no debe administrarse en los siguientes casos: Pacientes con hipersensibilidad conocida al diclofenaco a cualquiera de los excipientes.

Al igual que otros antiinflamatorios no esteroideos, el diclofenaco en comprimidos entéricos está también contraindicado en pacientes en los que la administración de ácido acetilsalicílico u otros fármacos con actividad inhibidora de la prostaglandina-sintetasa haya desencadenado ataques de asma, urticaria o rinitis aguda.

Pacientes que presenten sangrado gastrointestinal. Pacientes con diagnóstico de úlcera gastrointestinal. Pacientes con enfermedad de Crohn. Pacientes con colitis ulcerosa. Pacientes con antecedentes de asma bronquial. Pacientes con disfunción renal moderada o severa. Pacientes con alteración hepática severa. Pacientes con desórdenes de la coagulación o que se hallen recibiendo tratamiento con anticoagulantes.

Advertencias: Las hemorragias o la ulceración/perforación gastrointestinales pueden presentarse en cualquier momento durante el tratamiento, con o sin síntomas de alerta o de historia previa y suelen tener consecuencias más graves en ancianos. En el caso raro, de que se produzca hemorragia o ulceración gastrointestinal en pacientes que están siendo tratados con diclofenaco, deberá interrumpirse el tratamiento. Al igual que con otros antiinflamatorios no esteroideos, en casos raros, pueden aparecer reacciones alérgicas, inclusive reacciones anafilácticas o anafilactoides, aunque no haya habido exposición previa al fármaco. Al igual que otros antiinflamatorios no esteroideos, diclofenaco puede enmascarar los signos y síntomas de una infección debido a sus propiedades farmacodinámicas.

Los comprimidos entéricos de diclofenaco contienen lactosa y aunque se han descrito casos de intolerancia en niños y adolescentes, la cantidad presente en esta especialidad no es probablemente suficiente para provocarla.

No se ha establecido la seguridad y eficacia de diclofenaco comprimidos entéricos en niños, por lo que no se recomienda su uso en estos pacientes.

4.2.3 PRECAUCIONES

Es necesaria una estrecha vigilancia médica en pacientes con síntomas indicativos de trastornos gastrointestinales, con antecedentes que sugieran úlcera gástrica o intestinal, con colitis ulcerativa o con enfermedad de Crohn así como en pacientes con función hepática alterada. Al igual que sucede con otros antiinflamatorios no esteroideos, el empleo de diclofenaco comprimidos entéricos puede producir elevaciones de uno o más enzimas hepáticos. Durante el tratamiento prolongado con diclofenaco debería controlarse la función hepática como medida de precaución. Si las pruebas de función hepática siguen siendo anormales o empeoran, si aparecen signos y síntomas clínicos que coincidan con el desarrollo de una enfermedad hepática o si se presentan otras manifestaciones (p. ej., eosinofilia, rash, etc.) deberá interrumpirse el tratamiento con diclofenaco. Puede aparecer una hepatitis sin síntomas prodrómicos. Se tendrá precaución al administrar diclofenaco a pacientes con porfiria hepática ya que puede desencadenar un ataque.

Debido a la importancia de las prostaglandinas para mantener la irrigación sanguínea renal, se debe tener especial precaución en los pacientes con función cardíaca o renal alteradas, en personas de edad avanzada, en los pacientes que están siendo tratados con diuréticos y en aquellos con depleción sustancial del volumen extracelular por cualquier causa, p. ej., en la fase pre o postoperatoria de intervenciones quirúrgicas mayores. Por lo tanto, como medida cautelar, se recomienda controlar la función renal cuando se administre diclofenaco en tales casos. El cese del tratamiento suele ir seguido de la recuperación hasta el estado previo al mismo.

Durante el tratamiento prolongado con diclofenaco, es aconsejable, como con otros antiinflamatorios no esteroideos, efectuar recuentos hemáticos. Como otros antiinflamatorios no esteroideos, diclofenaco puede inhibir temporalmente la agregación plaquetaria. Los pacientes con problemas de hemostasia deben ser cuidadosamente controlados; por ello se recomienda precaución en pacientes de edad por razones médicas básicas. En concreto se debe emplear la dosis eficaz más baja en pacientes de edad avanzada débiles o en los de poco peso.

Los pacientes que experimenten vértigo u otros trastornos del sistema nervioso central, incluyendo trastornos visuales, deberán evitar conducir vehículos o manejar maquinarias.

El diclofenaco se clasifica dentro de la categoría C de riesgo durante las primeras 30 semanas de embarazo, y dentro de la categoría D a partir de entonces hasta el parto.

No se dispone de información suficiente para garantizar la seguridad de la administración de diclofenaco entérico durante el embarazo. No se recomienda la administración de este fármaco a menos que resulte imprescindible y que el médico lo aconseje. Tras dosis diarias de 150 mg, la sustancia activa pasa a la leche materna, aunque en cantidades tan pequeñas que no son de esperar efectos indeseados en el lactante. Por ello, se valorará su administración durante la lactancia.

4.2.4 INTERACCIONES

Al administrar el litio y la digoxina, el diclofenaco puede aumentar la concentración plasmática de litio y digoxina.

- Diuréticos: como otros antiinflamatorios no esteroideos, el diclofenaco puede disminuir la acción de los diuréticos. El

tratamiento concomitante con diuréticos ahorradores de potasio puede asociarse con una hiperpotasemia, lo cual hace necesaria la monitorización frecuente de los niveles séricos de potasio.

- **Antiinflamatorios no esteroideos:** la administración simultánea de diversos antiinflamatorios no esteroideos por vía sistémica puede aumentar la frecuencia de aparición de efectos indeseados.
- **Anticoagulantes:** aunque los estudios clínicos no parecen indicar que el diclofenaco influya sobre la acción de los anticoagulantes, existen informes aislados que muestran un aumento del riesgo de hemorragia con el empleo de terapia combinada de diclofenaco y anticoagulantes. Por consiguiente, se recomienda una estrecha vigilancia en tales pacientes.
- **Antidiabéticos:** los ensayos clínicos han demostrado que el diclofenaco puede administrarse junto con antidiabéticos orales sin que influya sobre su efecto clínico. Sin embargo, existen casos aislados de efectos tanto hipoglucémicos como hiperglucémicos con diclofenaco que precisaron modificar la dosificación de los agentes hipoglucemiantes.
- **Metotrexato:** se procederá con precaución cuando se administren agentes antiinflamatorios no esteroideos en menos de 24 horas antes o después de un tratamiento con metotrexato, ya que puede elevarse la concentración plasmática de metotrexato y, en consecuencia, aumentar la toxicidad del mismo.
- **Ciclosporina:** debido a los efectos de los agentes antiinflamatorios no esteroideos sobre las prostaglandinas renales, puede producirse un aumento de la nefrotoxicidad de la ciclosporina.

- Antibacterianos quinolónicos: existen informes aislados de convulsiones que pueden haber sido debidas al uso concomitante de quinolonas y antiinflamatorios no esteroideos.

4.2.5 REACCIONES ADVERSAS

Estimación de frecuencias: muy frecuentes >10%, frecuentes 1-10%, poco frecuentes; raros 0,001%-1%, raros<0,001%.

- Tracto gastrointestinal.: frecuentes: dolor epigástrico, náuseas, vómitos, diarrea, calambres abdominales, dispepsia, flatulencia, anorexia.: poco frecuentes: hemorragia gastrointestinal (hematemesis, melena, diarrea sanguinolenta), úlcera gástrica o intestinal con o sin hemorragia o perforación; raros: estomatitis aftosa, glositis, lesiones esofágicas, bridas intestinales en región diafragmática, trastornos del tracto intestinal bajo como colitis hemorrágica inespecífica y exacerbación de colitis ulcerativa o enfermedad de Crohn; estreñimiento, pancreatitis.
- Sistema nervioso central. Se produce frecuentes síntomas: cefaleas, mareos, vértigo; poco frecuentes: somnolencia; raros: trastornos sensoriales, incluyendo parestesias, trastornos de la memoria, desorientación, insomnio, irritabilidad, convulsiones, depresión, ansiedad, pesadillas, temblor, reacciones psicóticas, meningitis aséptica.
- Órganos sensoriales especiales. casos raros como trastornos de la visión (visión borrosa, diplopía), alteración de la capacidad auditiva, tinnitus, alteraciones del gusto.
- En la piel, se produce frecuentes síntomas como, erupciones cutáneas.: poco frecuentes: urticaria; raras: erupciones vesiculares, eccemas, eritema multiforme, síndrome de Stevens-Johnson, síndrome de Lyell (epidermólisis tóxica

aguda), eritrodermia (dermatitis exfoliativa), caída del cabello, reacción de fotosensibilidad, púrpura, inclusive púrpura alérgica.

- Riñones: son poco frecuentes los edemas así como el fallo renal agudo, trastornos urinarios, tales como hematuria, proteinuria, nefritis intersticial, síndrome nefrótico, necrosis papilar.
- Hígado: frecuentes: aumento de las transaminasas séricas; poco frecuentes: hepatitis con o sin ictericia. raras: hepatitis fulminante.
- Sangre: raros: los casos de trombocitopenia, leucopenia, anemia hemolítica, anemia aplásica, agranulocitosis.
- Hipersensibilidad: poco frecuentes: reacciones de hipersensibilidad, tales como asma, reacciones sistémicas anafilácticas/anafilactoides, incluyendo hipotensión; raros: vasculitis, neumonitis.
- Sistema cardiovascular: raros: palpitaciones, dolor torácico, hipertensión, insuficiencia cardíaca congestiva.
- Los síntomas de una sobredosis aguda de un anti-inflamatorio no esteroídico incluyendo al diclofenaco son letargo, somnolencia, náuseas, vómitos y dolor epigástrico, los cuales son generalmente reversibles con un tratamiento de soporte. Puede ocurrir sangrado gastrointestinal. Se puede producir hipertensión, insuficiencia renal aguda, depresión respiratoria y coma, pero son raros. Se han descrito reacciones anafilactoides se han reportado con la ingestión terapéutica de los AINEs, y estas pueden ocurrir después de una sobredosis.
- Los pacientes deben ser sometidos a cuidados sintomáticos y de apoyo. No existen antídotos específicos para el diclofenaco. Pueden estar indicados la inducción de emesis y / o la administración de carbón activado (60 a 100 g en adultos, 1 a 2 g / kg en niños) en pacientes atendidos dentro de las 4 horas

de la ingestión con síntomas o después de una sobredosis (de 5 a 10 veces la dosis habitual). La diuresis forzada, la alcalinización de la orina, la hemodiálisis o la hemoperfusión no deben ser de utilidad debido a la extensa unión del diclofenaco a las proteínas del plasma.

4.3 CROMATOGRAFÍA

4.3.1 LA CROMATOGRAFÍA Y SU EVOLUCIÓN

En algún momento hemos observado sin darnos cuenta los fenómenos sobre los procesos cromatográficos. Por ejemplo, cuando se ha visto caer algo de chicha sobre un mantel, entonces se observa una mancha con anillos concéntricos de diferentes tonalidades o quizás, nos hemos fijado también, que cuando queremos eliminar una mancha de tinta negra frotando con un papel impregnado de alcohol, ésta se acaba dispersando, sin dejando manchas de otros colores diferentes.

La introducción de la cromatografía, como técnica de análisis científico, la debemos a los trabajos del botánico Michael Tswett, que en 1906 consiguió separar los diferentes colorantes de una planta, entre ellos la clorofila, haciendo pasar una dilución de la muestra a través de una columna de vidrio rellena de un material adsorbente, la solución iba bajando por gravedad y mojando este material de forma que, a medida que avanzaba, se veía cómo iban quedando anillos de colores diversos a alturas diferentes de la columna, cada uno de ellos correspondiendo a un colorante concreto.

De aquí se pasó a utilizar la cromatografía en papel, por su simplicidad de uso. En ésta, el adsorbente es fijo: siempre es

celulosa. Hacia el final de la década de los años 1930, se vio la ventaja que suponía ampliar la gama de adsorbentes posibles, extendiéndolos en forma de una fina capa sobre vidrios de microscopio y utilizándolos de forma similar al papel.

La cromatografía en capa fina, tal y como la conocemos ahora, se consolidó hacia 1950, sobre todo gracias a los trabajos del científico Stahl, encaminados a mejorar la capacidad de separación y la reproductibilidad de la técnica, así como a sistematizar nuevas aplicaciones. En aquel momento, casi todos los análisis cromatográficos eran precisamente en capa fina.

Desde entonces, ha habido una rápida evolución hacia la instrumentalización de la técnica, especialmente en la década de los 60. Sobre todo se han automatizado los análisis basados en cromatografía en columna, dando lugar a la HPLC, que es la técnica, con diferencia, más extensamente utilizada hoy en día.

Actualmente, se ven las técnicas TLC y HPLC como complementarias o rivales, según sean las escuelas científicas¹³ que las observan y comentan.

La ventaja del método instrumental HPLC es que, al ser automatizado, permite cuantificar las muestras, a diferencia de la TLC, que es manual y sólo cualitativa, o en algunos casos semi cuantitativa, si no se utilizan aparatos complementarios como los densitómetros.

Por otra parte, la ventaja de la TLC –como ya se ha mencionado– radica en ser una técnica muy accesible a nivel de costes, precisamente por no necesitar instrumental. Igualmente es una ventaja su eficacia. Al tratarse de una técnica muy sensible, precisa muy poca cantidad de muestra para hacer una identificación correcta.

La única objeción que se puede hacer, es que se debe actuar con mucho cuidado durante el análisis para obtener reproductibilidad en los resultados, puesto que intervienen muchas variables, a veces difíciles de acotar, en el transcurso de la aplicación, como por ejemplo la temperatura ambiental, la saturación en disolventes en el interior de la cubeta, etc. Éste puede ser uno de los motivos que ha provocado un cierto retroceso en su uso en las décadas comprendidas entre los 60 y los 80 y, sobre todo, una carencia de publicación de metodologías de análisis basados en TLC.

No obstante, en 1988 apareció la revista científica *The Journal of Planar Chromatography*, que pone de manifiesto un resurgimiento de la técnica, favorecido posiblemente por la aparición en el mercado de nuevos tipos de adsorbentes y aparatos complementarios que ayudan a la reproductibilidad y a la cuantificación de las analíticas.

Actualmente la TLC tiene especialmente buena acogida para llevar a cabo análisis en los sectores medioambientales, forenses (sobre todo de drogas) y en la industria de alimentación y farmacéutica.

4.3.2 LA CROMATOGRAFIA Y SU ENTORNO

Para conocer acerca de la cromatografía hagamos un ejemplo en el que queremos conocer los componentes de un medicamento constituido por tres principios activos.

Luego de la separación del excipiente del fármaco se deberá separar cada uno de los tres principios activos, A, B, y C, tomando en cuenta que cada uno presenta diferentes propiedades físico química y en base a esas propiedades cada uno de ellos se irá separando.

Pues bien, en un proceso cromatográfico existe una **fase estacionaria**, constituida por un material adsorbente contenido en una columna o esparcido encima de una superficie plana (papel o placa). Hay además una **fase móvil** que se desplaza respecto a la primera. Ésta puede estar formada por una mezcla de diferentes disolventes,

que reciben el nombre de **sistema eluyente**. En este caso, lo denominamos fase móvil líquida. Por otra parte, hablamos de fase móvil gaseosa,

Cuando es un gas inerte el que se desplaza por encima de la fase estacionaria transportando los componentes de la muestra, puesto que la esencia de la cromatografía es siempre la misma, idéntica para cualquier técnica de aplicación (HPLC, GC o TLC).

Se trata de separar e identificar los diferentes componentes de una muestra, basándose en la competencia de interacciones que éstos presentan entre las dos fases: móvil y estacionaria.

Cada sustancia se “repartirá” entre ellas, según sea su afinidad respectiva, dependiendo de fenómenos como la solubilidad, las interacciones químicas, la presión de vapor, etc.

La clasificación de las diferentes técnicas cromatográficas se hace en función de la relación de estas dos fases: móvil y estacionaria, según sea sólido/líquido, sólido/gas, líquido/líquido o líquido/gas, conforme se aprecia en la tabla 4.1 (pag. 26).

TABLA N° 4.1
CLASIFICACIÓN DE LA CROMATOGRAFÍA

	Según la fase móvil	Según el soporte de la fase estacionaria	NOMBRE
Cromatografía Sólido / líquido	Líquida	Columna	Cromatografía de columna
			HPLC
		superficie plana	Cromatografía depapel
			Cromatografía de capa fina
Cromatografía Sólido / gas	Gas	Columna	Cromatografía de gas (GC)

Fuente:unicum.cat/es/2011/06/

4.3.3 LA CROMATOGRAFÍA DE CAPA FINA

- En un proceso de cromatografía líquida entran en juego, por lo tanto, tres elementos principales: el adsorbente, el sistema eluyente, y finalmente la muestra a analizar y su naturaleza química.
- El soporte de la TLC son placas de máximo 20 x 20 cm de vidrio, aluminio o plástico, recubiertas por una cara de una fina capa de material adsorbente, que tradicionalmente ha sido celulosa, gel de sílice, óxido de aluminio o poliamida, y que últimamente se ha

ampliado la gama de posibilidades a sílices químicamente modificados.

- El número de sistemas eluyentes son casi infinitos. En su mayoría son combinaciones de disolventes de diferentes polaridades, con presencia ocasional de ácidos o bases. El único requisito que se exige a estos reactivos químicos, es que los productos sean de calidad PA (para análisis), como mínimo.
- Cuando se “siembra” una gota de una disolución del Standard y de la muestra cerca del extremo de una placa cromatográfica, para luego, sumergir en un determinado sistema eluyente contenido en un recipiente luego, éste empieza a ascender por capilaridad por encima de la placa (fase estacionaria) arrastrando la muestra problema.
- Lo que sucederá, transcurridos unos minutos, es que cada componente diferente de la muestra, se quedará a una distancia concreta del origen, según presente más o menos afinidad por los disolventes de la fase móvil, “dibujando” un *spot* o mancha. El conjunto de todas estas manchas y su distribución relativa, se convierte en una especie de huella digital de la muestra, que la permite identificar.
- La interrogante que aparece ahora, es cómo el analista¹¹, sabe que éste conjunto de “manchas” corresponden precisamente a la muestra y no a ningún otro tipo de muestra. Por lo que se indica que la positividad está en el comportamiento de los patrones utilizados.
- Por ejemplo en una mezcla de (03) medicamentos diferentes como el diclofenaco, la aspirina, el meloxicam , nunca presentarán la misma composición química, y por lo tanto, siempre se puede encontrar un sistema eluyente y unas condiciones cromatográficas concretas que nos permitan obtener distribuciones de manchas propias y perfectamente distinguibles para cada uno de los analgésicos.

- La forma de actuar, por lo tanto, es sembrar junto con la muestra problema que queremos analizar, todos aquellos patrones conocidos que sospechamos que pueden constituir el analgésico de la muestra.
- Una vez desarrollada la cromatografía, por comparación con las “huellas digitales” obtenidas, podremos identificar, sin duda, la naturaleza del “principio activo” presente en la muestra analizada.
- Es absolutamente recomendable, para obtener buenas identificaciones, sembrar siempre patrones junto a la muestra que se quiere analizar, para que se desarrollen exactamente con las mismas condiciones y no utilizar resultados de antiguas cromatografías. También hay considerar variables como la temperatura o el grado de saturación de la cubeta que influyen en el proceso, provocando pequeñas variaciones en la distribución de las diferentes alturas de las “manchas”.
- Es cierto, tal y como dicen Kirchner, Miller y Keller^[3] que la cromatografía en capa fina o TLC presenta el inconveniente de requerir un trabajo prolongado de puesta a punto de las condiciones operativas: encontrar qué composición debe tener el sistema eluyente, determinar el tipo de adsorbente a utilizar y concretar otras condiciones cromatográficas, todo para la resolución de un problema analítico muy concreto. Ahora bien, una vez han sido establecidas las condiciones óptimas, la cromatografía de capa fina se convierte en uno de los métodos con más ventajas de la química analítica.

4.4 ESPECTROSCOPIA U.V. – VISIBLE

La espectrofotometría U.V. - visible es un método óptico analítico que basa en la absorción ó transmisión de la energía radiante emitida por una fuente de luz que atraviesa una sustancia. Este

método es espectroscópico porque se basa en la medida de la intensidad y de la longitud de onda de la energía radiante.

4.4.1 ORBITALES MOLECULARES Y ENLACE QUÍMICO

Las distribuciones espaciales de los electrones en las moléculas se denominan *orbitales moleculares* (O.M.) y de una manera simple se puede suponer que el orbital molecular es la suma de los *orbitales atómicos* (O.A.) enlazantes y que el número de orbitales resultante es igual al número de orbitales utilizados en la combinación.

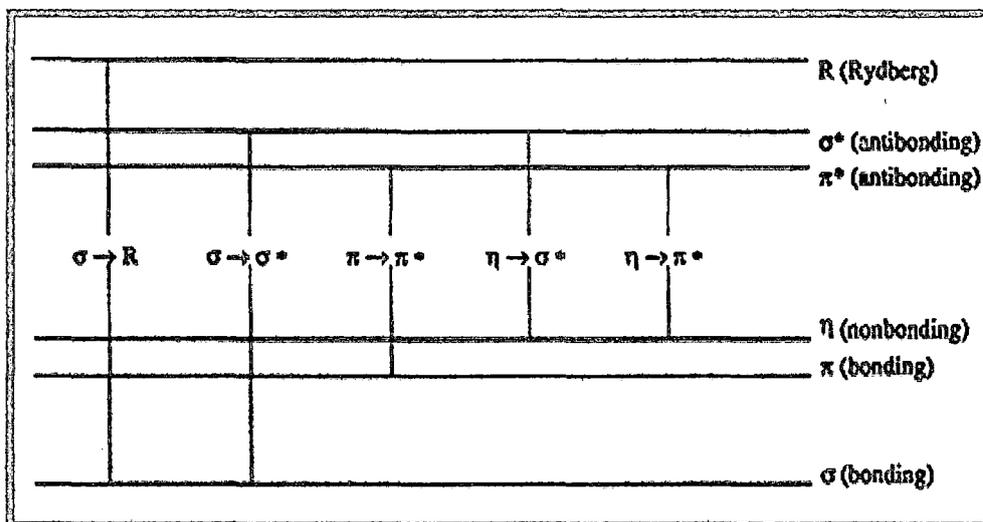
TABLA N° 4.2
TIPOS DE ENLACES

O.A. sigma (σ):	Las moléculas orgánicas están asociadas con el enlace simple. Resulta del solapamiento frontal de dos orbitales atómicos.
O.A. pi (π):	El doble enlace en las moléculas orgánicas contiene dos tipos de orbitales moleculares, un orbital σ y un orbital π . Los orbitales moleculares π resultan del solapamiento lateral de orbitales atómicos π .

Fuente:unicum.cat/es/2011/06/

Además de los electrones σ y π , muchas moléculas orgánicas contienen electrones que no forman enlaces. Estos electrones no compartidos se representan en el símbolo η .

FIGURA N° 4.3
TRANSICIONES ELECTRÓNICAS ENTRE
ORBITALES σ , π , y η



Fuente:unicum.cat/es/2011/06/

TABLA N° 4.4
CARACTERÍSTICAS DE TRANSICIONES ELECTRÓNICAS
ENTRE ORBITALES Σ , Π Y η

Transición	λ (nm)	ξ (L mol ⁴ cm ⁻¹)	Ejemplo
$\sigma \rightarrow \sigma^*$	<200	-	Hidrocarburos saturados
$\pi \rightarrow \pi^*$	200–500	@ 10 ⁴	Alquenos, alquinos aromáticos
$\eta \rightarrow \sigma^*$	160–260	10 ² – 10 ³	H ₂ O, CH ₃ OH, CH ₃ CL
$\eta \rightarrow \pi^*$	250–600	10 – 10 ³	Carbonilos, nitro, nitrato, carbonilo.

Fuente:Gant T.J. 2010

TABLA N° 4.5
PARÁMETROS ONDULATORIOS

Período (p):	Tiempo necesario para que dos máximos sucesivos de una onda pasen por un punto.
Frecuencia (v):	Número de oscilaciones del campo eléctrico por segundo y es igual 1/p (1 ciclo por segundo = 1 Hertz, Hz). La frecuencia es una magnitud invariable que está determinada por la fuente de radiación.
Velocidad de propagación (V₁):	Velocidad a la que un frente de onda se desplaza a través de un medio, depende tanto de la densidad del medio como de v. En el vacío la velocidad de la R.E. es independiente de la frecuencia: $C_{\text{vacío}} = 2.997 \times 10^{10} \text{ cm/s} \approx 3.0 \times 10^{10} \text{ cm/s}$
Longitud de onda (λ)	Es la distancia lineal entre dos máximos o dos mínimos sucesivos de una onda.

Fuente: Gant T.J. 2010

Número de onda: se define como el número de ondas por centímetro y es igual a $1/\lambda \text{ (cm}^{-1}\text{)}$.

ABSORCIÓN DE LA RADIACIÓN

Al pasar R.E. por una capa transparente de un sólido, líquido o gas, pueden eliminarse selectivamente ciertas frecuencias como consecuencia del proceso llamado absorción. En este caso la E.R. se transfiere a los átomos o moléculas que constituyen la muestra, como resultado de ello estas partículas *pasan del estado de menor energía a estados de mayor energía o estados excitados.*

ABSORCIÓN MOLECULAR

La absorción por moléculas poliatómicas, es un proceso considerablemente más complejo que la absorción atómica, ya que el número de estados de energía está muy aumentado. Aquí la energía total de una molécula está dada por:

$$E = E_{\text{electrónica}} + E_{\text{vibracional}} + E_{\text{rotacional}}$$

Para cada estado de energía electrónica de la molécula hay normalmente varios estados vibratorios posibles y a su vez, para cada uno de éstos existen numerosos estados rotatorios. Como consecuencia el número de posibles niveles de energía de una molécula es mucho mayor que el de una partícula atómica. Es por ello que los espectros de absorción aparecen como anchas bandas.

4.4.2 ESPECTRO DE ABSORCIÓN

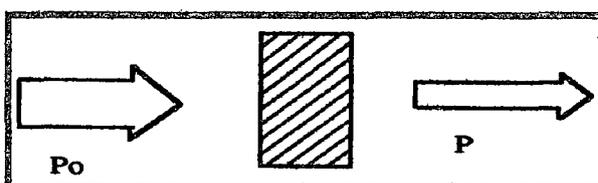
Tanto las moléculas como los átomos tienen un número limitado de niveles o estados energéticos cuantizados. Para que se produzca absorción de radiación, la energía del fotón excitante (incidente) debe igualar a la diferencia de energía entre el estado fundamental y uno de los estados excitados de la especie absorbente. Estas diferencias de energía (ΔE) son únicas, por lo tanto permiten caracterizar los constituyentes de una muestra. Para este objeto se obtiene experimentalmente una representación gráfica de la variación de la absorbancia en función de la longitud de onda.

4.4.3 LEY DE BEER

La Figura N° 4.7, esquematiza el fenómeno de absorción, aquí un haz de radiación monocromático, pasa a través de una capa de solución de b cm de espesor y que contiene una especie molecular absorbente cuya concentración es consecuencia de

Figura N° 4.2

Fenómeno de absorción



Fuente: Giant. T.J. 2010

Las interacciones entre los fotones y las partículas absorbentes, la potencia del haz disminuye de P_0 a P . Por lo tanto la transmitancia T de la solución es la fracción de radiación incidente transmitida por la solución según:

Según la Ley de Beer, entonces, la absorción A estará determinada por:

$$A = \log \frac{P_0}{P} = \log_{10} T = \xi \cdot b \cdot c$$

donde:

- ξ absortividad molar
- B longitud de paso óptico
- C concentración en moles/l

4.4.4 MEDICIÓN EXPERIMENTAL DE LA ABSORCIÓN

Según vimos en el esquema anterior la absorción es directamente proporcional a la longitud (b) de la trayectoria de la radiación a través de la solución y a la concentración (c) del absorbente:

$A = a \cdot b \cdot c$ (a : constante de proporcionalidad).

Si c se expresa en moles por litro y b en cm, entonces la absortividad (ξ). Luego A se denomina *absortividad molar*.

$$A = \xi \cdot b \cdot c.$$

La Ley de Beer se cumple igualmente en soluciones que contienen más de una especie absorbente, siempre que no haya interacción entre dichas especies. Por tanto, para un sistema multicomponente la relación será:

$$A_T = A_1 + A_2 + \dots + A_n$$

$$A_T = \xi_1 bc_1 + \xi_2 bc_2 + \dots + \xi_n bc_n$$

4.4.5 LIMITACIONES A LA APLICABILIDAD DE LA LEY DE BEER

Se observan frecuentemente desviaciones de la proporcionalidad entre a y c (cuando b es constante). Algunas de estas desviaciones son importantes y representan limitaciones reales de la ley. Estas son de tipo:

- * Químico;
- * Instrumental.

La Ley de Beer es sólo aplicable a soluciones en las que las interacciones dependientes de la concentración de las moléculas o iones son mínimas. Concentraciones "altas" alteran las absorptividades molares y por lo tanto conducen a una relación no lineal entre A y c .

a) **DESVIACIONES QUÍMICAS**

Cuando las especies absorbentes experimentan asociación, disociación o reacción con el solvente originan productos con características absorbentes distintas de las del analito.

Un ejemplo típico se observa con soluciones de dicromato potásico no amortiguadas, en las que existen los siguientes equilibrios:



A casi todas las longitudes de onda los valores de ξ del ion dicromato y las dos especies de cromatos son muy diferentes.

b) **DESVIACIONES INSTRUMENTALES**

RADIACION POLICROMATICA

El requisito básico para el cumplimiento de la Ley de Beer es que la radiación incidente sea *monocromática*. Dependiendo de las características tecnológicas del sistema óptico del instrumento será más o menos accesible poder utilizar en forma práctica una radiación limitada a una sola longitud de onda.

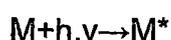
RADIACION DISPERSA.

La radiación dispersa suele diferir considerablemente en longitud de onda con respecto a la radiación principal; además puede alcanzar el detector sin haber pasado a través de la muestra problema

4.4.6 APLICACIONES DE LAS MEDICIONES DE ABSORCIÓN DE LA RADIACIÓN ULTRAVIOLETA Y VISIBLE

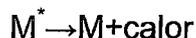
ESPECIES ABSORBENTES

La absorción de radiación ultravioleta y visible por una especie M, puede considerarse como un proceso en dos etapas, la primera de las cuales corresponde a la excitación según:



donde M^* representa la partícula atómica o molecular en su estado electrónico excitado que se produce como resultado de la

absorción del fotón $h\nu$. Este estado excitado tiene un breve tiempo de existencia (10^{-8} a 10^{-9} s) y desaparece a través de algunos de los diferentes procesos de relajación (calor).



La absorción de la radiación ultravioleta o visible, se produce por lo general como consecuencia de la excitación de los electrones de enlace; debido a esto, la longitud de onda de los picos de absorción se puede correlacionar con los tipos de enlace existentes en la especie que se estudia.

a. EXPLOTACIÓN ANALÍTICA

- Identificación proximal de los grupos funcionales en una molécula.
- Método bastante selectivo para el análisis cuantitativo de compuestos cuyos enlaces producen absorción.

Conviene considerar tres tipos de transiciones electrónicas que permiten explicar por qué algunas especies pueden absorber energía radiante. Estos tres tipos son:

- * Los electrones π , σ y n .
- * Los electrones d y f .
- * Los electrones de transferencia de carga.

La absorción de radiación ultravioleta y visible (200–800 nm) se restringe a un número limitado de grupos funcionales, llamados *cromóforos*, que contienen electrones de valencia con energías de excitación relativamente bajas. Ver tabla N° 4.6.(pag. 37).

TABLA N° 4.6
CARACTERÍSTICAS DE ABSORCIÓN DE ALGUNOS CROMÓFOROS

Alqueno	$C_6H_{13}CH = CH_2$	n-Heptano	177	13,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
Alquino	$C_5H_{11}C=C-CH_3$	n-Hexano	178	10,000	$\pi \rightarrow \pi^*$
			196	2,000	-
			225	160	-
Carbonilo	CH_3COCH_3	n-Heptano	186	1,000	$\pi \rightarrow \sigma^*$
		n-Hexano	280	16	$\pi \rightarrow \pi^*$
			180	larga	$\pi \rightarrow \sigma^*$
					$\pi \rightarrow \pi^*$
Carboxilo	$\begin{array}{c} O \\ \\ CH_3COH \end{array}$	Etanol	204	41	$\pi \rightarrow \pi^*$
Amido	$\begin{array}{c} O \\ \\ CH_3CNH_2 \end{array}$	Agua	214	60	$\pi \rightarrow \pi^*$
Azo	$CH_3N=NCH_3$	Etanol	339	5	$\pi \rightarrow \pi^*$

Fuente :Gant T.J. 2010

b. ABSORCIÓN EN LA QUE PARTICIPAN LOS ELECTRONES d y f

- * Iones de los metales de transición
- * Serie de los lantánidos y actínidos

Los iones y complejos de los 18 elementos de las dos primeras series de transición son coloreados en uno de sus estados de oxidación o en todos ellos. Dependiendo las características colorimétricas del complejo; del tipo de ligando (agente complejante) y del estado de oxidación.

TABLA N° 4.7

Efectos de los ligandos sobre los máximos de absorción con transiciones d-d

ION CENTRAL	Aumento de fuerza del campo de unión				
	6Cl	6H ₂ O	6NH ₃	3en(1)	6CN-
Cr (III)	736	573	462	456	380
Co (III)	-	538	435	428	294
Co (II)	-	1345	980	909	-

Fuente: Gant T.J. 2010

c. ABSORCIÓN POR TRANSFERENCIA DE CARGA

Para fines analíticos es el tipo más importante de absorción por especies inorgánicas, debido a que las absorptividades molares de los picos son muy grandes ($\xi < 10^5$). Esta es una particular característica de los complejos inorgánicos denominados también, complejos de transferencia de carga.

Ejemplos:

- * Hierro III- ion tiocianato
- * Hierro II - (o-Fenantrolina)

4.4.7 INSTRUMENTACIÓN

Los instrumentos que miden la absorción selectiva de la radiación en las soluciones se conocen con los nombres de: colorímetros, fotómetros y espectrofotómetros. Hoy en día es pertinente diferenciar

los instrumentos según su sistema de detección: detectores simples (convencional) o detectores multicanal (arreglo de diodo).

4.4.8 BREVE DESCRIPCIÓN DE LOS PRINCIPALES COMPONENTES DE INSTRUMENTOS CONVENCIONALES

a) FUENTE DE ENERGÍA RADIANTE

Debe producir un haz de radiación cuya potencia sea suficiente para facilitar la detección y medida además de ser estable.

Tenemos como lámparas:

* Lámpara de hidrógeno

* Lámpara de deuterio.

Ambas lámparas producen un espectro continuo entre 160–375 nm y deben emplearse ventanas de cuarzo en los tubos: ya que el vidrio absorbe fuertemente en esta región del espectro electromagnético.

Lámpara de filamento de tungsteno

Es la fuente más común para la zona del visible e infrarrojo. Esta lámpara es útil para la región entre 320 – 2,500 nm.

b) SISTEMA SELECTOR DE LA LONGITUD DE ONDA DE TRABAJO.

b1) Fotómetro (colorímetro): este tipo de instrumentos utiliza filtros que permiten obtener bandas de radiación que abarcan un intervalo limitado de longitudes de onda (con un fotómetro nos es posible obtener una banda de absorción variable en forma continua). Ver tabla N° 4.8 (pag. 40).

TABLA N° 4.8
LONGITUDES DE ONDA ULTRAVIOLETA

Región λ (nm)	Color filtro	Color solución
380–435	Azul	Amarillo
480–490	Verde azulado	Rojo
500–560	Verde amarillento	Violeta
580–595	Anaranjado	Azul verdoso
595–650	Rojo	Verde azulado

Fuente: Gant T.J. 2010

(b2) Espectrofotómetro: utilizan un complejo sistema óptico de selección de longitud de onda (sistema monocromador), el cual consta de variados componentes tales como:

- prisma o rejilla;
- lentes;
- espejos;
- ranuras de entrada y salida.

Estos instrumentos pueden seleccionar longitud de onda en forma continua y en algunos casos con precisión de décimas de nm. Por lo tanto, es posible obtener en forma continua el espectro de absorción de una molécula.

c) RECIPIENTES PARA LA MUESTRA

La mayor parte de las aplicaciones espectrofotométricas utiliza las muestras en solución líquida, por esta razón se requieren recipientes para colocar la muestra (celdas). La celda debe transmitir el 100% de la energía radiante en la zona espectral de trabajo, por lo que en la región ultravioleta se utiliza celdas de

cuarzo que abarca una región de 200 a 2000 nm y en la región visible se utiliza celdas de vidrio abarcando la región de 350 a 2,000 nm.

La longitud de una celda más común para el trabajo en las regiones de las zonas UV-VIS es 1 cm (otras son: 2, 5 y 10 cm).

d) DETECCIÓN DE LA RADIACIÓN

Dispositivo electrónico llamado *transductor* que convierten la energía radiante en una señal eléctrica.

TABLA N° 4.9

CARACTERISTICAS DE LA RADIACION	
Responder a la E.R. en un amplio intervalo longitud de onda	Poseer elevada sensibilidad.
Respuesta lineal.	Tiempo de respuesta rápido, etc...
Celdas fotovoltaicas.	Tubos fotomultiplicadores.
Fototubos.	Diodo de silicio.

Fuente: Gant T.J. 2010

e) PROCESADORES DE SEÑALES E INSTRUMENTO DE LECTURA.

Dispositivo electrónico que amplifica la señal eléctrica generada en un detector. En este sentido existe una amplia gama de alternativas, desde galvanómetros hasta avanzadas computadoras.

4.4.9 ANÁLISIS CUALITATIVO Y CUANTITATIVO

a. Técnicas cualitativas.

Las aplicaciones cualitativas no ofrecen una herramienta muy útil, ya que con estos espectros existe un número relativamente escaso de máximos y mínimos. Sin embargo el análisis cualitativo es una excelente herramienta cuando va precedido de algún método de separación.

b. Análisis cuantitativo.

b.1) Aplicación:

Compuestos orgánicos:aldehídos – cetonas, ácidos carboxílicos, compuestos aromáticos, alcaloides, vitaminas entre otros.

Compuestos inorgánicos: a las especies absorbentes como nitratos, carbonatos etc.

Compuestos no absorbentes: aquellos que requieren una derivatización.

b.2) Principales características:

- Alta sensibilidad:
- Absortividad molar $\xi \approx 10^5$
- Intervalos de concentración 10^{-4} a 10^{-6} M.
- Selectividad: a la selección de la longitud de onda en la que el único componente absorbente de una muestra sea la sustancia que se determina.
- Precisión y exactitud: dependiendo del nivel de concentración es posible lograr valores menores que 1% de error relativo.

4.4.10 PROCEDIMIENTO EN EL ANÁLISIS CUANTITATIVO

a) *Recopilación de antecedentes:*

- Referencias bibliográficas.
- Métodos normalizados.

b) Preparación y/o tratamiento de la muestra:

Separación del compuesto de interés (precipitación, extracción por solvente, cromatografía, etc)

- Derivatización si fuera necesario.

c) Selección de la longitud de onda de trabajo (λ máx.):

Obtención del espectro de absorción:

- En el *espectro de mono haz*, se va alternando la medida de la absorbancia entre el disolvente (blanco) y la solución que contiene la muestra en la medida que se va variando gradualmente la longitud de onda.
- En el *espectro de doble haz*, la operación descrita anteriormente es posible hacerla automática y simultáneamente.

Para ello los instrumentos disponen de sistemas con microprocesador que permiten una fácil y expedita obtención de la información. Mediante estos instrumentos es posible hacer barrido de longitudes de ondas en determinadas zonas del espectro y a diferentes velocidades.

La excepción a esto último la proporcionan los espectrofotómetros de Arreglo de Diodos ya que dada su configuración es posible obtener el espectro de absorción en un amplio rango de longitudes de onda (200–800 nm) en fracción de segundos.

Una vez establecida la longitud de λ máx. (máxima sensibilidad) se prepara la curva de calibración.

4.4.11 CURVA DE CALIBRACIÓN

Set de soluciones de concentraciones crecientes del analito, en un rango tal que se cumple la Ley de Beer.

«No es conveniente suponer que para una determinada concentración se cumple la Ley de Beer y por ello utilizar un patrón único como referencia ».

Una vez obtenidos los distintos puntos (o niveles de calibración) se debe determinar la ecuación de la recta mediante análisis de regresión lineal (o ajuste de la curva por mínimos cuadrados). Los instrumentos automatizados traen estas funciones ya incorporadas en su sistema de cálculo, lo cual permite obtener el resultado final directamente.

4.4.12 OTRAS APLICACIONES

Análisis de mezclas

Definimos anteriormente que en una mezcla de sustancias absorbentes, a una misma longitud de onda las absorbancias son aditivas. Considerando esto, es posible determinar componentes en una mezcla determinando las respectivas absorbancias a diferentes longitudes de onda.

Así tendremos las ecuaciones:

$$A_1 = C_x \xi_x + C_y \xi_y \text{ a } \lambda_1$$

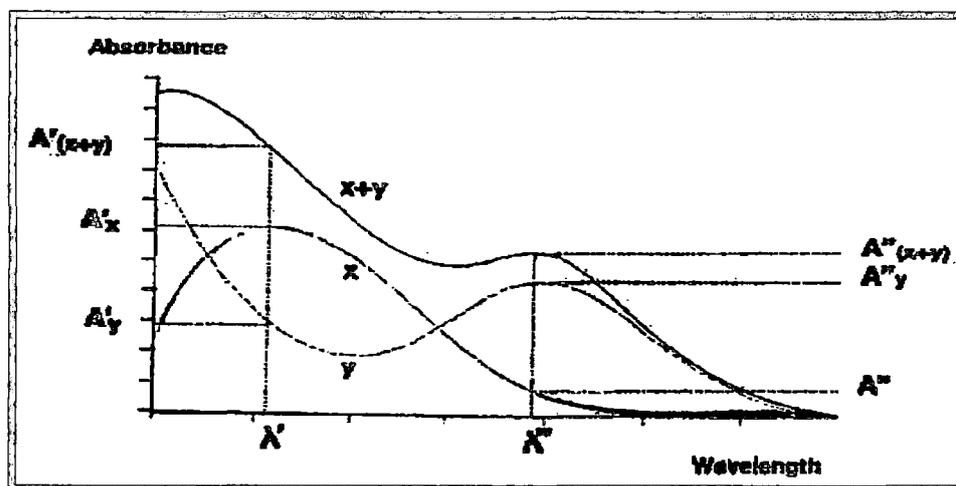
$$A_2 = C_x \xi_x + C_y \xi_y \text{ a } \lambda_2$$

A partir de estándares puros de las especies X e Y se obtienen, por separado los respectivos valores de las absorptividades molares de X

e Y. Luego quedan como incógnitas las concentraciones de X e Y a ambas longitudes de onda y se resuelve el sistema de ecuaciones.

FIGURA N° 4.3

ESPECTROS DE ABSORCION EN UNA MEZCLA



Fuente: Gant T.J. 2010

4.5 ESPECTROFOTOMETRIA INFRARROJA

4.5.1 GENERALIDADES

Actualmente se utilizan dos tipos de espectrofotómetros infrarrojo; que sí bien es cierto presentan el mismo fundamento,¹³ es decir utilizan una fuente de luz IR al emitir una radiación, que disminuye de intensidad al pasar a través de la muestra. La disminución está en función de la frecuencia y que a su vez corresponde a las vibraciones moleculares producidas por la excitación de la sustancia. La radiación residual se mide en un detector y se transforma electrónicamente en un espectro.

El detector más conocido es el DTGS, sulfato de triglicina deuterado.

FIGURA N° 4.4
ZONAS DEL ESPECTRO INFRARROJO

	770nm	1µm	2µm	10µm	20µm	50µm
	NIR		MIR			FIR
Light Source	Tungsten-halogen Lamp (12,500–3,800cm ⁻¹)					
	Ceramica (7,800–240cm ⁻¹)					
Beam Splitter	CaF ₂ (12,500–3,800cm ⁻¹)					
	KBr (7,800–350cm ⁻¹)					
	CsI (5,000–240cm ⁻¹)					
Detector	InGaAs (12,500–3,800cm ⁻¹)					
	DLATGS (7,800–240cm ⁻¹)					
	MCT (5,000–650cm ⁻¹)					
	13,000cm ⁻¹	10,000cm ⁻¹	5,000cm ⁻¹	1,000cm ⁻¹	400cm ⁻¹	200cm ⁻¹

Fuente: Catalogo Shimadzu IR Prestige 21- Columbia. U.S.A.

4.5.2 ESPECTROFOTÓMETRO CLÁSICO DE BARRIDO

Opera de acuerdo al principio de doble haz, lo que nos indica un separador de haz (chopper) que divide la radiación continua de la fuente de luz en dos haces de luz de igual intensidad. Uno de los haces se dirige a través de la muestra, el otro sirve de radiación de referencia y atraviesa generalmente el aire, aunque en soluciones también puede atravesar una celda con solvente puro. Luego en el fotómetro se reunifican dichos haces. El monocromador, prisma o red de difracción descompone la radiación resultante, de tal forma que se puede registrar el espectro con el detector en función a la longitud de onda (barrido) por lo que se registra en una unidad de tiempo una única longitud de onda. Seguidamente de la amplificación de la señal estas son registradas en un gráfico. Este espectro es registrado en aproximadamente diez minutos.

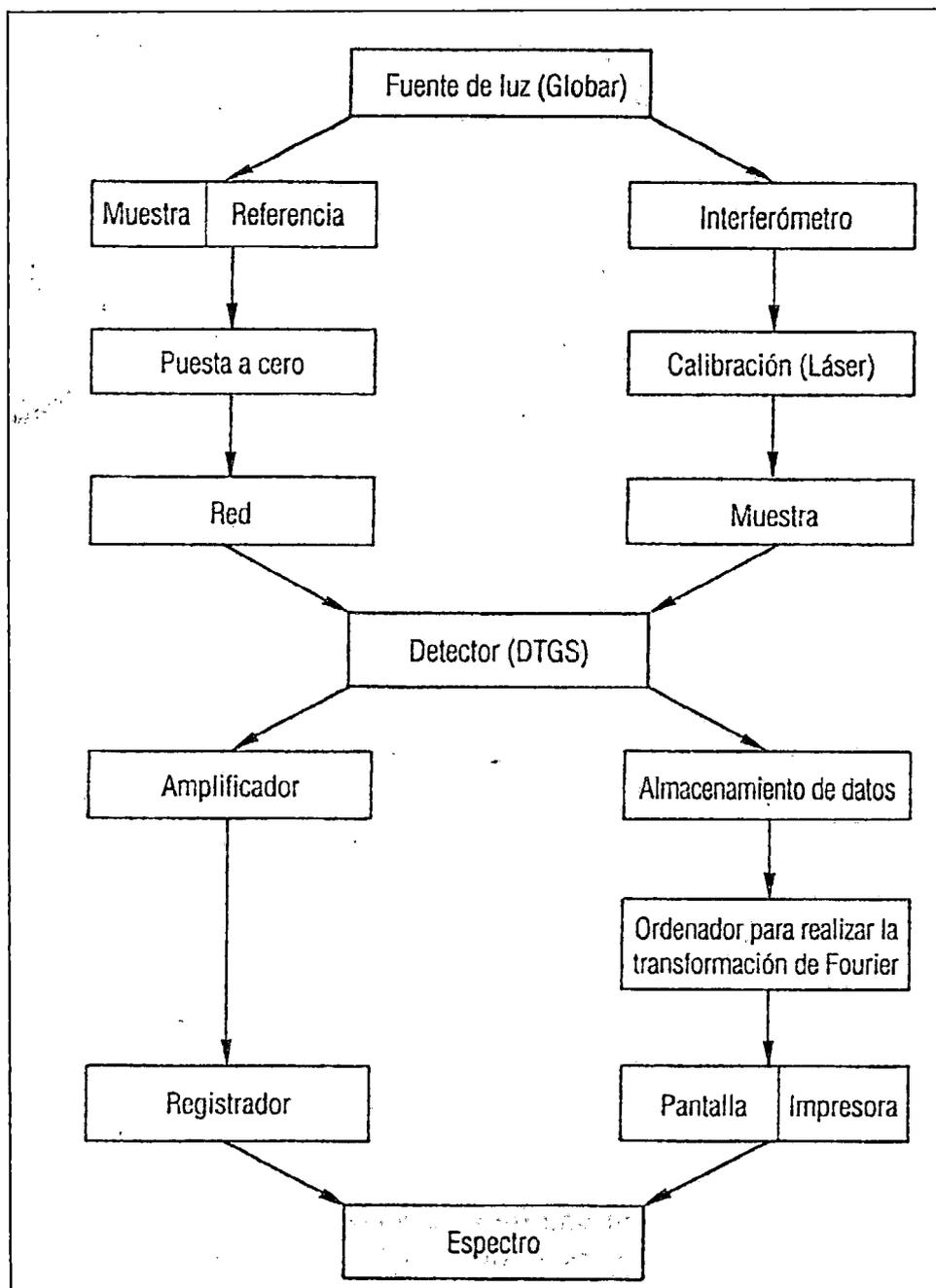
4.5.3 EL ESPECTROFOTOMETRO DE TRANSFORMADA DE FOURIER.

Se basa en el registro simultáneo de todas las frecuencias del espectro IR. y que se realiza en un período de tiempo sumamente corto en relación al método "Clásico de barrido"; esto es posible si la luz policromática de la fuente luminosa del IR con la misma intensidad y banda de frecuencias, se transforma en un interferograma, gracias al uso del interferómetro que significa que no es en función de la frecuencia sino del tiempo, ósea la transformación del dominio de **frecuencias**, al dominio del **tiempo**. Luego del paso de la radiación así obtenida a través de la muestra se vuelve a convertir el interferograma en un espectro mediante el recurso matemático, **la transformada de Fourier**.

Esta tecnología requiere del interferómetro de Michelson, en que la radiación se dirige al interferómetro a través de una placa de KBr o de CsI (recubierto con Ge) que funciona como separador de haz. La mitad del haz luminoso incide en un espejo fijo, la otra mitad incide sobre el espejo móvil, cuya distancia al espejo móvil se puede variar.

Ambos espejos reflejan la radiación hacia la placa, donde se produce la interferencia. La señal producida es comparada con la información obtenida con un emisor de radio de una determinada frecuencia de transmisión. Como la radiación IR es policromática, el interferograma obtenido es una superposición o suma de interferogramas correspondientes a todas las frecuencias individuales. Luego la radiación modulada atraviesa la muestra, donde se absorbe selectivamente de acuerdo a las vibraciones del analito. El detector registra la luz IR emergente como interferograma, transforma las señales ópticas en eléctricas y las almacena en la computadora y a través de la transformada de Fourier se obtiene el espectro IR para su interpretación. Por lo que esta nueva técnica permite una serie de ventajas en relación a la técnica convencional de barrido.

FIGURA Nº 4.5
ESQUEMA BÁSICO DE UN ESPECTROFOTOMETRO
INFRARROJO



Fuente: *Métodos Espectroscópicos en Química Orgánica*
Hesse et al. 2005

4.5.4 TECNICAS DE PREPARACION DE MUESTRAS POR REFLECTANCIA TOTAL ATENUADA (ATR).

El componente principal en los aparatos de ATR¹³ es el componente de reflectancia interna, que es generalmente un prisma o un material que transmita en el infrarrojo con un alto índice de refracción. La luz se focaliza en una de las caras del prisma y penetra en el material. La luz llega con un ángulo tal que impida la reflexión de la luz, de modo que llega a la interfase con un ángulo predeterminado (q_i).

Se denomina q_c al *ángulo crítico*. Donde q_c es:

$$q_c = \sin^{-1}(n_2/n_1) \quad (n_1 > n_2)$$

n_2 : Índice de refracción de alrededor del medio

n_1 : Índice de refracción del material.

Cuando $q_c < q_i$ la reflexión interna ocurre de forma completa y se puede decir que la luz está atrapada en el interior del prisma; después de un número de reflexiones la luz deja el prisma. Aunque en alguna de estas reflexiones internas algo de luz puede salir del prisma al medio e interactuar con ese medio, de manera que se produce una atenuación de la luz reflejada cuando ocurre la absorción. Este es el mecanismo por el cual el ATR se utiliza para generar un espectro infrarrojo.

La longitud de paso efectiva para cada celda de ATR depende de la profundidad de penetración de cada reflexión (l) y del número de dichas reflexiones. La última es determinada por q_i y las dimensiones del prisma.

Vemos que hay una dependencia de la longitud de penetración con los índices de refracción lo que da lugar a diferencias entre el método de ATR y los espectros de transmisión.

Los valores más frecuentes para la longitud de paso están entre 0.25 y 4 mm, por lo tanto la celda de ATR equivale a una celda de transmisión con una longitud de paso muy pequeña.

Un paso importante para obtener un buen espectro de ATR es que debemos favorecer el contacto físico entre la muestra y el cristal. Aquellos materiales maleables o que estén húmedos o incluso líquidos dan muy buenos espectros. Sin embargo las muestras en forma de polvo o finamente divididas no dan buenos resultados.

En cualquier caso la intensidad absoluta del espectro dependerá del contacto entre la muestra y el cristal, por ello aparecerán problemas a la hora de la reproducibilidad, ya que es muy difícil.

MATERIALES DEL PRISMA

La elección del material del prisma es crucial para el buen desarrollo del método. Se requiere uno que tenga un alto índice de refracción y el material debe ser inerte desde el punto de vista químico y que presente buenas propiedades mecánicas.

Para la mayoría de las aplicaciones la resistencia al agua es muy importante.

MUESTREO Y GEOMETRÍA DE LOS ACCESORIOS DE ATR.

SOLUCIONES.

Las soluciones deben ser preparadas usando una variación denominada *Reflectancia interna cilíndrica (CIR)* de cuya forma la celda toma el nombre de celda circular. El prisma presenta terminaciones cónicas y se monta de modo que la solución rodea al cristal. La luz se focaliza mediante lentes de modo que llegue a las terminaciones cónicas.

Estas celdas se usan para tamaños de muestra que van desde 5 ml a 120ml, usando para ello un prisma pequeño.

Esta técnica (CIR) que presenta una longitud de paso muy pequeña es utilizada muy frecuentemente para soluciones acuosas.

PASTAS Y SEMI-SÓLIDOS.

Estas muestras se examinan utilizando lo que se denomina *ATR horizontal (HATR)*. El prisma es ahora un paralelogramo con espejos en las terminaciones. La muestra se extiende sobre el cristal y se obtiene el espectro. La muestra se quita fácilmente con un trapo.

La muestra se fija al prisma por una serie de láminas. Hay algunos instrumentos poseen un mayor número de láminas para aumentar la presión de la muestra sobre el prisma y a la vez mejorar el contacto. Esto es usado generalmente para muestras finamente divididas.

VARIACIONES EN LA LONGITUD DE PENETRACIÓN.

Como la longitud de penetración depende del ángulo de incidencia(θ_i), podemos variar la esta distancia variando el ángulo.

Esto se puede llevar a cabo con un accesorio que nos permite variar el ángulo entre 30 y 60 grados. Para ello se utilizan espejos situados verticalmente (ATR vertical).

DESVENTAJAS

Aunque estas técnicas son muy flexibles presentan una serie de desventajas:

- a. No tienen mucho éxito con muestras en forma de polvo.
- b. Es muy sensible al contacto eficiente muestra-cristal, lo que da lugar a que no se utilice ampliamente para trabajos cuantitativos.

4.5.5 TÉCNICAS DE PREPARACIÓN DE MUESTRAS POR REFLECTANCIA DIFUSA.

La técnica de reflectancia difusa se ha convertido en una de las más utilizadas para el análisis de sólidos y de muestra divididas en forma de partículas, y es generalmente no requiere preparación de muestra o esta es mínima. Sin embargo el espectro producido puede exhibir picos inusuales cuando se compara con los espectros de transmisión. En ciertos casos el espectro de puede estar tan distorsionado que sea imposible determinar los componentes de la muestra. Para comprender estos fenómenos es necesario conocer en que se basa esta técnica.

Consideremos un rayo de luz que llega a la superficie de un medio particular

En la interfase las caras de los cristales están puestas al azar, luego hay un gran número de ángulos de incidencia del rayo con las caras. Algunos rayos llegarán con un ángulo tal que se produzca la reflexión en la superficie (r_1); lo más significativo es que este rayo no tiene interacción con la muestra. Otro rayo (r_2) llegará con un ángulo tal que se produzca la refracción y por tanto entrará en el cristalito. Este rayo puede salir o que se produzcan sucesivas refracciones en el interior. En general el rayo será reflejado y refractado en varios cristales antes de salir del sólido.

El ángulo de salida puede tomar cualquier valor. Son estos rayos los que interactúan con la muestra y contienen por lo tanto información espectral. Es necesario tener en cuenta que aunque el ángulo de salida es igual al ángulo de entrada, esto es solo cuando la superficie es perpendicular al rayo, sino se produce esto, no tiene por qué cumplirse esta ley.

Esta mezcla de rayos que se reflejan y otros que se refractan no puede ser separados, y siempre se va a producir. Por lo tanto la energía que mide el detector será la suma de las energías de los rayos que han sido reflejados y aquellos que si han interactuado con la materia.

La presencia del efecto especular que es producido por la reflexión tiene importantes consecuencias en el espectro, y aunque se cuente con filtros no siempre se puede discriminar los rayos reflejados de los refractados. Aunque en ciertas circunstancias se puede mejorar la información espectral.

La reflectancia difusa difiere de la transmisión en que la luz reflejada en la superficie no vuelve a incidir de nuevo y la información espectral depende de la dispersión de la luz por la muestra.

DESVENTAJAS.

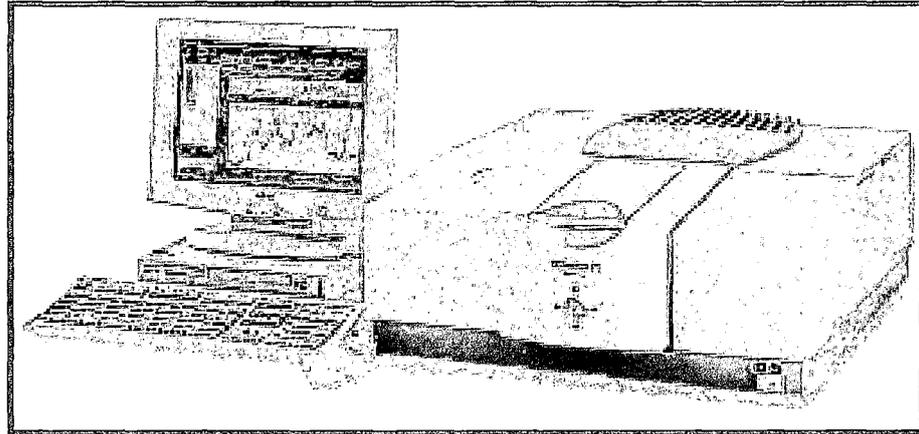
Además de los problemas de la reflexión en la superficie nos encontramos con otros problemas, principalmente a muestra en polvo.

Si la muestra contiene agua y debido al calentamiento producido por el rayo de luz infrarrojo, esta se puede evaporar dando lugar a vapor de agua, causa fuertes interferencias en el espectro.

El llenado de la celda es poco reproducible sobre todo cuando se quiere trabajar en análisis cuantitativo.

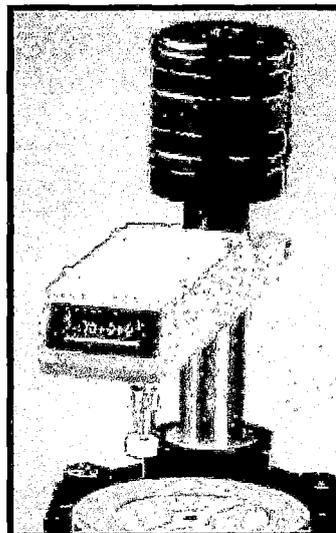
FIGURA N° 4. 6

**ESPECTROFOTOMETRO INFRAROJO CON
TRANSFORMADA DE FOURIER**



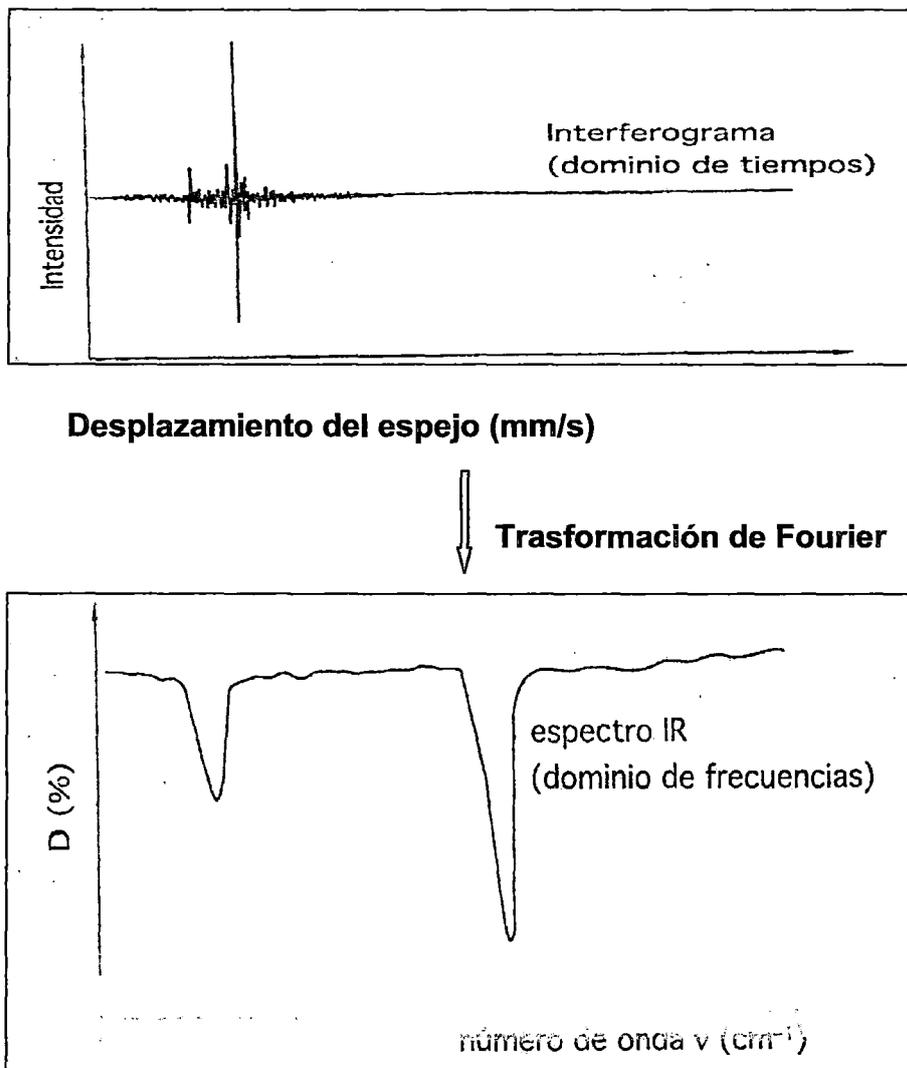
***Fuente: Catalogo Shimadzu IR
Prestige – 21 Columbia. U.S.A.***

**FIGURA N° 4.7
MEDIDOR DE ENERGIA
(HATR)**



Fuente :Shimadzu IR

FIGURA N° 4.8
DEL INTERFEROGRAMA AL ESPECTRO IR POR
TRANSFORMADA DE FOURIER



Fuente: *Métodos Espectroscópicos en Química Orgánica*
Hesse et al. 2005

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 MATERIALES y EQUIPOS

- * Fiola de 10 ml
- * Tanque cromatográfico
- * Embudos
- * Papel de filtro
- * Pera de decantación
- * Soporte universal
- * Vasos x 250 ml
- * Balón de nitrógeno
- * Placas cromatograficas de 20 x 20 cm.
- * Equipo de cromatografía de capa fina
- * Equipo de espectrofotometría u.v-visible
- * Equipo de espectrofotometía infrarrojo
- * Aro
- * Pipeta x 1 ml
- * Viales
- * Regla
- * Capilares
- * Fiola de 50 ml
- * Pulverizador
- * Balanza

5.2 POBLACION Y MUESTRA

Tratándose de una investigación experimental, la muestra está constituida por medicamentos antiinflamatorios comerciales cuyo tamaño de muestra se ha determinado de acuerdo a formula abajo indicada.

Para determinar el tamaño de muestra se aplica la siguiente fórmula:

$$n = \frac{Z^2 (p) (q)}{E^2}$$

Donde:

n = Muestra inicial

Z = Límite de confianza

pq = Campo de variabilidad, donde p representa **aciertos** y q a los errores.

E = Nivel de error o precisión.

Los valores a considerarse son:

$Z = 1.645$ (de tablas estadísticas)

$p = 0.90$ (elegida)

$q = 0.024$

$E = 0.10$

Reemplazando valores se obtiene, 06 muestras, de los cuales se procedió a su análisis químico de los medicamentos comerciales, voltaren, dolotren, (02 de cada uno).

5.3 TECNICAS e INSTRUMENTOS DE RECOLECCION DE DATOS

Para la separación e identificación del principio activo se utilizò las técnicas instrumentales de cromatografía de capa fina, espectrofotometría ultravioleta e infrarroja.

5.3.1 CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

a) SOLUCIÓN DE REFERENCIA (PATRÓN)

Preparada a una concentración de 1 mg/ml de una solución de diclofenaco

b) PREPARACIÓN DE LA FASE MÓVIL

Se han utilizado un sistema de fase móvil con la finalidad de elegir el solvente adecuado que permita obtener una mejor resolución de los analitos a investigar.

* Fase móvil: Metanol

c) PREPARACIÓN DE LA FASE ESTACIONARIA

Se han utilizado láminas de silicagel HF254 Merck de 10 x 20 cm, en soporte de aluminio para luego ser activadas mediante el calor a una temperatura de 60°C.

d) REVELADOR CROMATOGRAFICO

Reactivo de Permanganato.- A base de una solución de permanganato de potasio (1%).

Reactivo de Draggendorf. (Modificación del Reactivo de Munier -Macheboeuf).A base de una solución de subnitrato de bismuto en solución de ácido acético en ioduro de potasio.

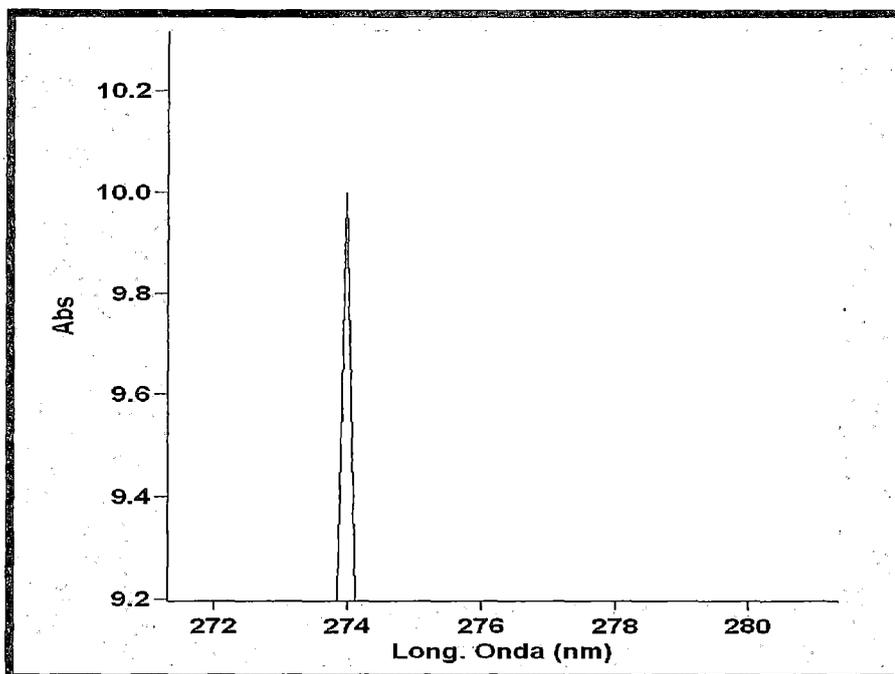
e) EXTRACCION DEL DICLOFENACO EN LA MUESTRA

El medicamento, comprimido de diclofenaco se mezcla en metanol q.p. y luego se procede a la filtración en un vial para la siembra correspondiente.

**5.3.2 ESPECTROFOTOMETRIA ULTRAVIOLETA- VISIBLE.
DETERMINACIÓN DEL DICLOFENACO**

Se utilizó el espectrofotómetro ultravioleta – visible marca Varian, y de modelo Cary 50 para su lectura en el que se determinó su λ máxima en metanol (ver fig. N° 5.1, pag. 60)..

FIGURA N° 5.1
ESPECTRO U.V. DEL DICLOFENACO STANDARD



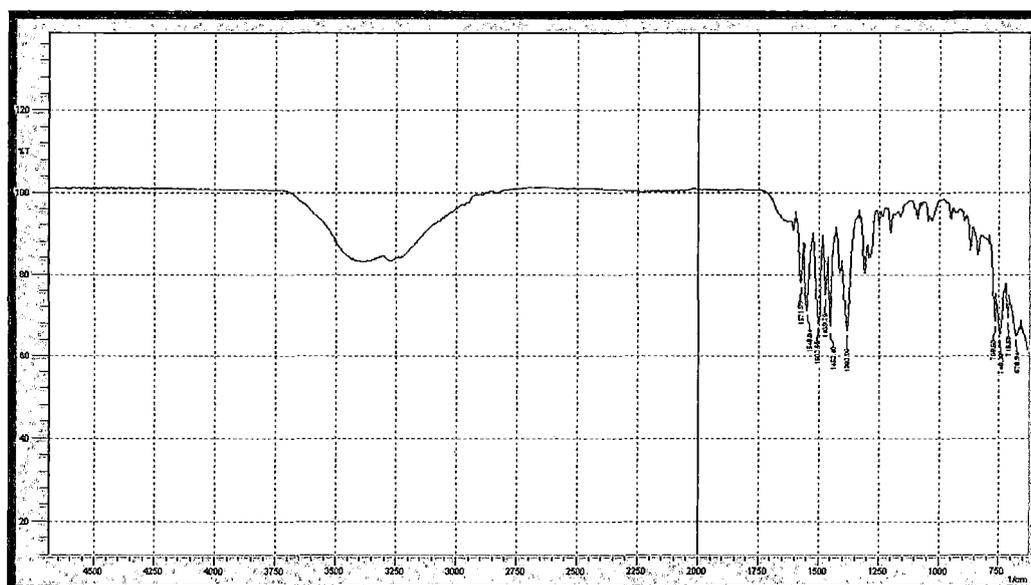
Fuente: Elaboración propia

5.3.3. DETERMINACIÓN DEL DICLOFENACO POR ESPECTROFOTOMETRIA INFRARROJO

Se utilizó el Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier modelo Prestige 21, mediante la técnica ATR. Luego de la extracción del analito y homogenizando se procede a la lectura del mismo.

Los picos principales en número de onda tenemos : 1572, 1504, 1308, 1286, 756 (ver fig. N° 5.2)

FIGURA N° 5.2
ESPECTRO INFRARROJO DICLOFENACO POR ATR



Fuente: Elaboración propia
FIQ-UNAC

5.4 TÉCNICAS PARA EL TRATAMIENTO DE DATOS

Para el tratamiento de datos es mediante el uso de la estadística descriptiva en base a los resultados analíticos de los medicamentos que contienen diclofenaco como el voltaren, dolotren y del standard, para lo cual se han realizado 03 lecturas de cada medicamento por los métodos de cromatografía de capa fina, de espectrofotometría ultravioleta y de la espectrofotometría infrarroja.

Los resultados obtenidos en los métodos por cromatografía de capa fina, espectrofotometría ultravioleta y espectrofotometría infrarroja se indican mediante los gráficos sobre histograma, curva normal, ajuste de la línea recta y gráfico de control del standard así como también de los medicamentos Voltaren y Dolotren.

De otra parte se indica que la cromatografía de capa fina los resultados obtenidos se expresan en Rf.

En el método de espectrofotometría Ultravioleta por su longitud de onda ($\lambda_{\text{max.}}$) son expresados en nanómetros y para el método de espectrofotometría infrarroja se expresan en cm^{-1} .

VI. RESULTADOS

En la investigación del presente trabajo, se ha realizado un diseño experimental aplicando los métodos cromatográficos, y espectrofotométricos ultravioleta-visible e infrarrojo por transformada de Fourier, utilizando el standard diclofenaco y los productos comerciales, Voltaren y Dolotren.

6.1 CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

6.1.1 REVELADORES CROMOGENICOS.

Con el reactivo de permanganato se obtuvieron manchas de color parduzco. También con el reactivo de Draggendorf se obtuvieron manchas anaranjadas y que son intensificadas con $H_2SO_4[0.05N]$.

6.1.2 DETERMINACIÓN DEL Rf

Por este método se establece el factor de retención en la cromatografía de capa fina en una sustancia química (Ver fig. N° 6.1)

Figura N° 6.1
FACTOR DE RETENCION (Rf)



Fuente : Camag 2003

En el presente trabajo se utilizó el standard Diclofenaco y los medicamentos comerciales Voltaren y Dolotren estableciéndose su Rf. de cada uno conforme se aprecia en la tabla que se indica a continuación.

TABLA N° 6.1

Resultados comparativos de la cromatografía de capa fina

N° de casos	Factor de Retención (Rf)		
	Standard	Voltaren	Dolotren
1	0.89	0.88	0.87
2	0.87	0.89	0.88
3	0.85	0.86	0.86

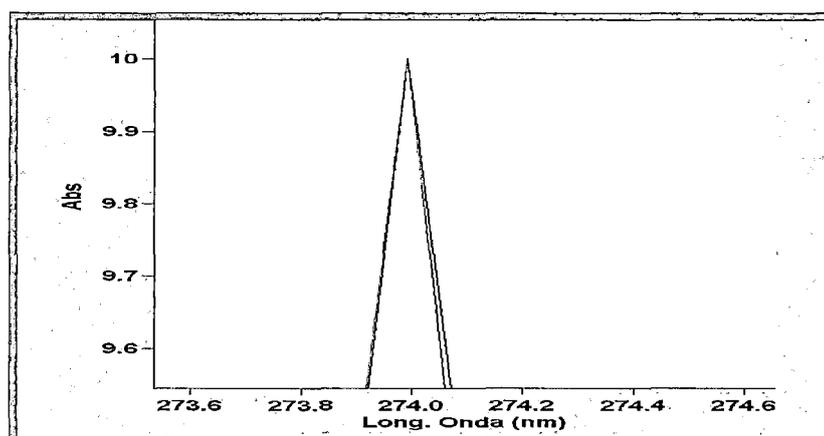
Fuente : *Elaboración propia*

6.2. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

Utilizando una solución metanólica del diclofenaco se realizó un barrido en la zona ultravioleta (200 a 400 nm) con el cual se observa que se obtiene una máxima de absorción a la longitud de onda de $\bar{X} = 274$ nm con el diclofenaco standard y en los extractos de los medicamentos Voltaren ($\bar{X} = 273.67$ nm), Dolotren ($\bar{X} = 275$ nm) que contienen diclofenaco conforme se observa en la figura de la máxima longitud de onda correspondiente a la muestras (ver fig. 6.2). Además conforme se observa en la tabla N° 6.2 (pag. 65), el resultado comparativo entre ellos.

FIGURA N° 6.2

ESPECTRO U.V. DEL DICLOFENACO EN VOLTAREN y DOLOTREN



Fuente: *Elaboración propia*

Tabla N° 6.2

Resultados comparativos de la Espectrofotometría U.V.

N° de casos	Longitud de onda		
	St.	Voltaren	Dolotren
1	275	274	276
2	274	275	275
3	273	272	274

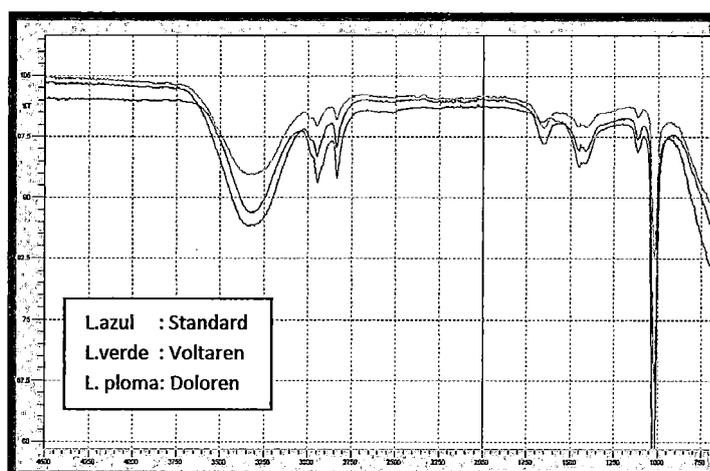
Fuente : Elaboración propia

6.3. ESPECTROFOTOMETRIA INFRARROJO

Se procedió a la identificación del diclofenaco mediante el uso de un Espectrofotómetro Infrarrojo con transformada de Fourier, observándose que dicha molécula presenta diversos picos y entre los más importantes expresados en número de onda: 1572, 1504, 1130, 1286, 756 cm^{-1} conforme está indicado en la figura N° 6.3

Figura N° 6.3

Espectro Infrarrojo del Standard y los medicamentos comerciales



Fuente: Elaboración propia

Finalmente el método por espectrofotometría infrarroja con la técnica de Atenuación Total Reflexiva (ATR), indican que se trata de ésta sustancia.

Luego con los resultados obtenidos, se procedió a la elaboración de la tabla N° 6.3 "Resultados comparativos del St. y los productos comerciales que se presenta a continuación

Tabla N° 6.3
Resultados comparativos del Standard y los productos comerciales

N° de casos	Espectrofotometría Infrarroja con Transformada de Fourier (cm ⁻¹)		
	St. (cm ⁻¹)	Voltaren (cm ⁻¹)	Dolotren (cm ⁻¹)
1	1571	1572	1574
2	1572	1573	1573
3	1573	1571	1573

Fuente: Elaboración propia

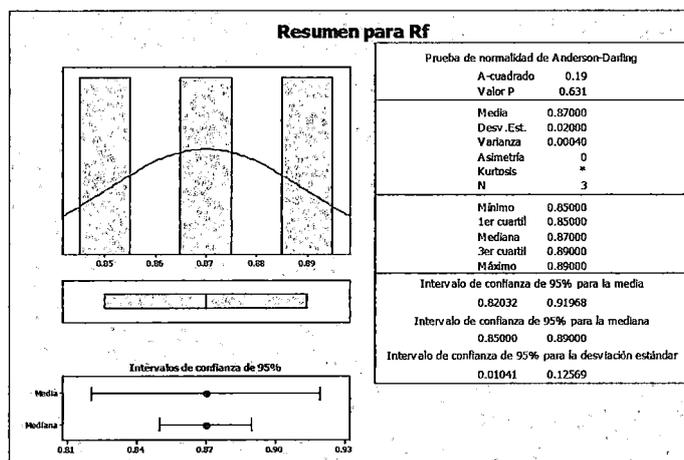
6.4 Resultados del análisis estadístico

6.4.1 En la cromatografía de capa fina se presenta los estadísticos de la media, desviación standard, curva normal, diagrama de cajas que se indica a continuación

HISTOGRAMA, CURVA NORMAL SUPERPUESTA, DIAGRAMA DE CAJAS
Figura N° 6.4

CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA Standard

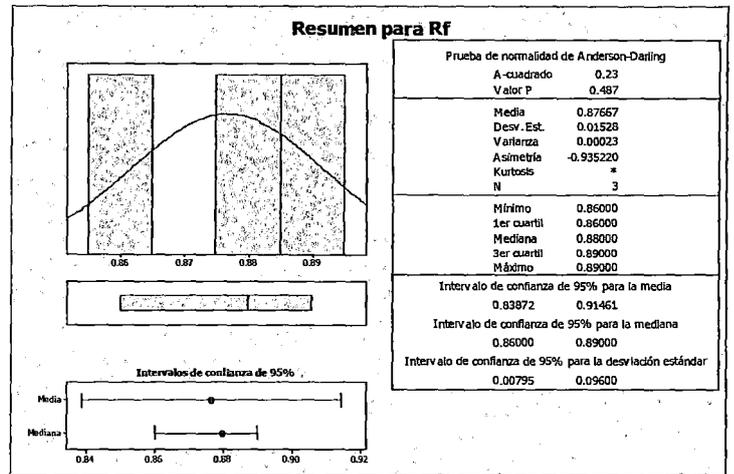
N° casos	Rf
1	0.89
2	0.87
3	0.85
\bar{X}	0.87
σ	0.02



CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

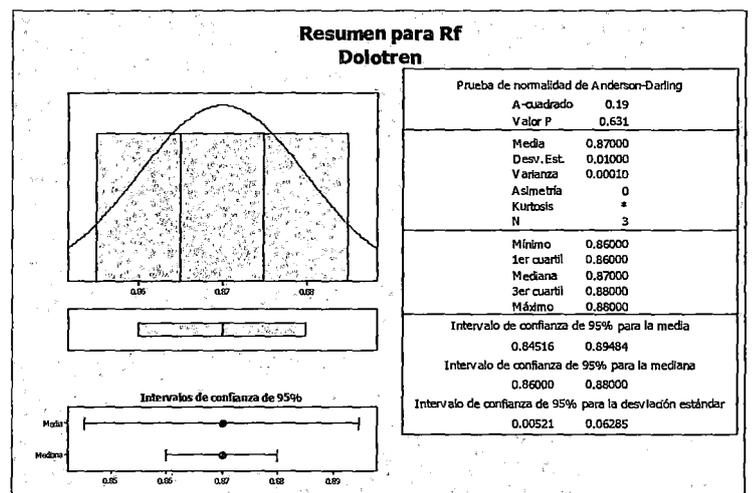
Voltaren

Nº casos	Rf
1	0.89
2	0.87
3	0.85
\bar{X}	0.87667
σ	0.01528



Dolotren

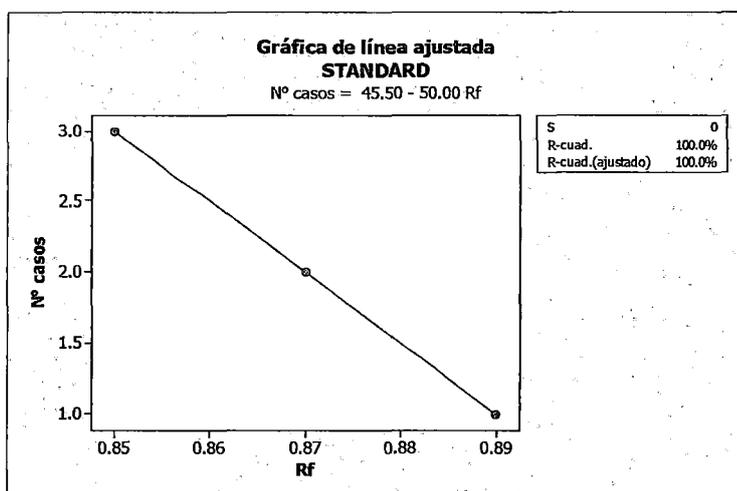
Nº casos	Rf
1	0.87
2	0.88
3	0.86
\bar{X}	0.87
σ	0.01



AJUSTES DE LA LINEA RECTA CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

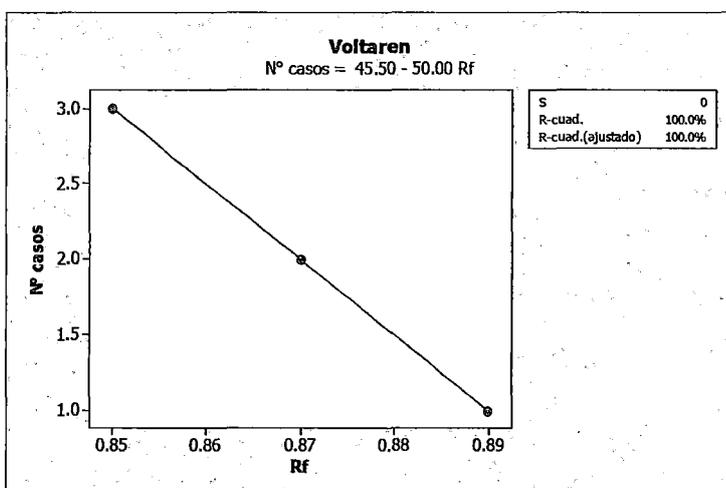
STANDARD

N° casos	Rf
1	0.89
2	0.87
3	0.85



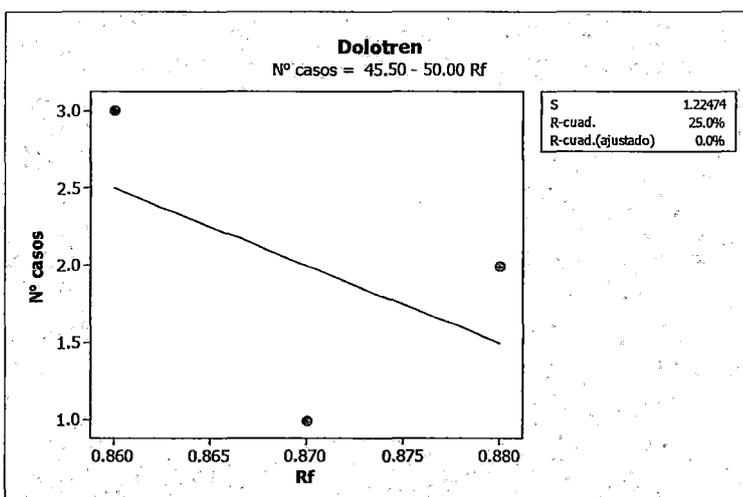
Voltaren

N° casos	Rf
1	0.89
2	0.87
3	0.85



Dolotren

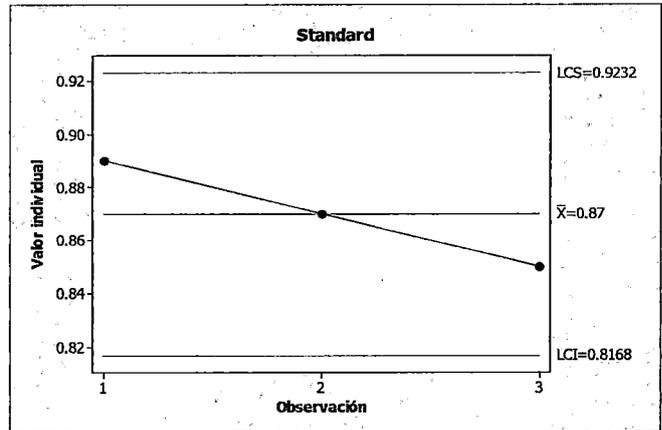
N° casos	Rf
1	0.87
2	0.88
3	0.86



GRAFICOS DE CONTROL CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA

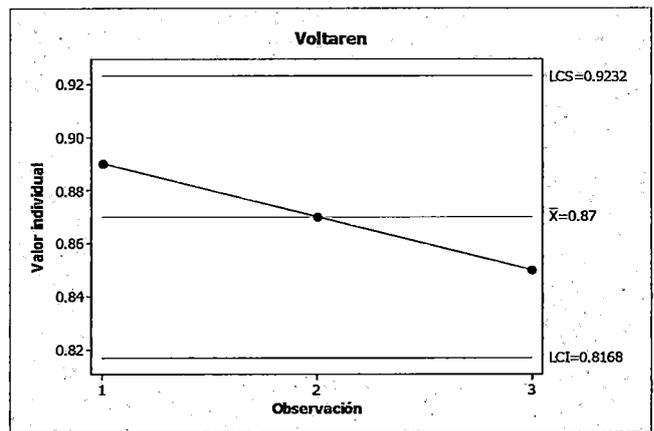
Standard

Nº casos	Rf
1	0.89
2	0.87
3	0.85



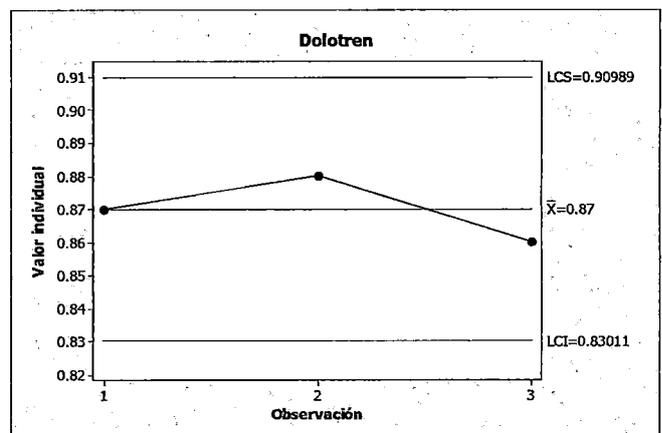
Voltaren

Nº casos	Rf
1	0.89
2	0.87
3	0.85



Dolotren

Nº casos	Rf
1	0.87
2	0.88
3	0.86



6.4.2 En la Espectroscopía ultravioleta, se presenta los estadísticos de la media, desviación standard, además de los histogramas, curva normal y los gráficos de control tanto del standard como de los medicamentos comerciales que se indica a continuación

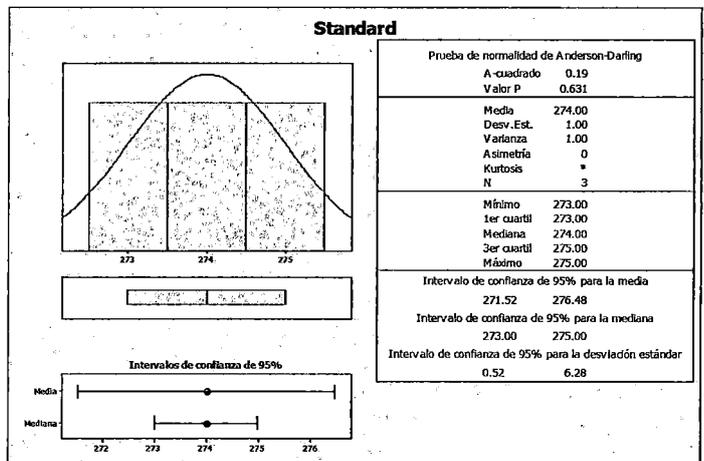
Figura N° 6.5

ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

HISTOGRAMA, CURVA NORMAL SUPERPUESTA, DIAGRAMA DE CAJAS

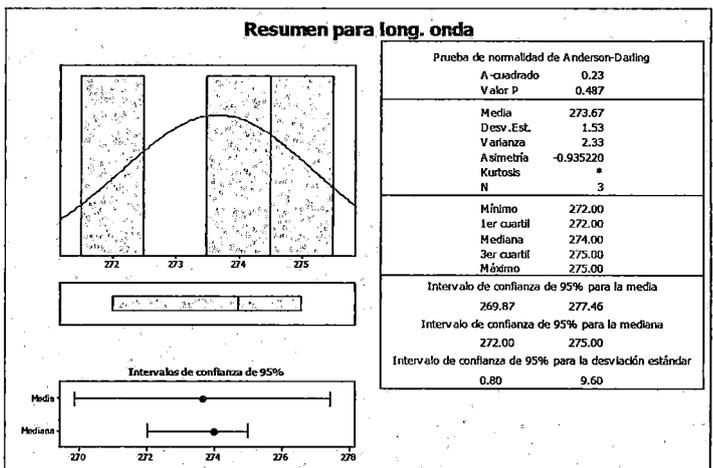
Standard

N° casos	Long. onda
1	275
2	274
3	273
\bar{X}	274
σ	1.00



VOLTAREN

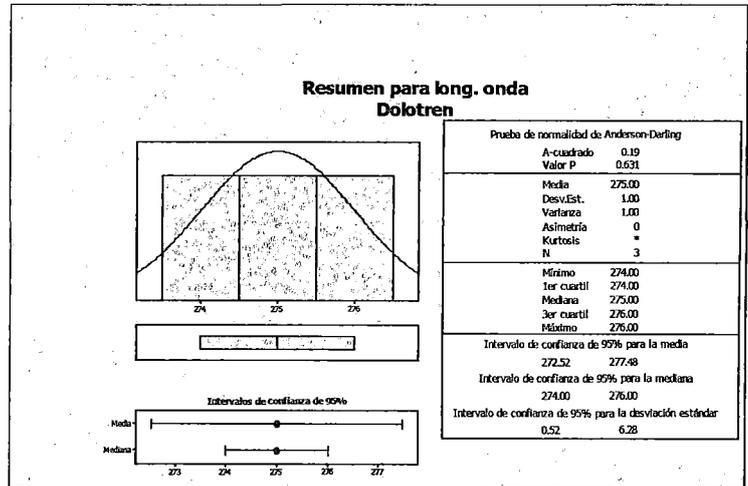
N° casos	Long. onda
1	274
2	275
3	272
\bar{X}	273.67
σ	1.53



ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

Dolotren

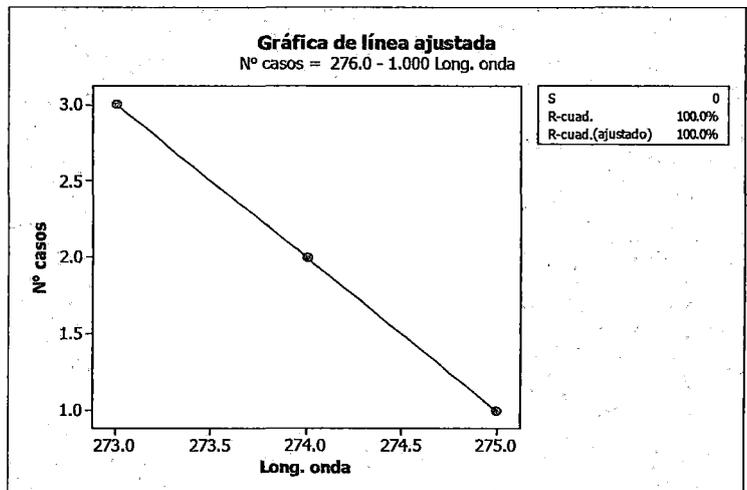
Nº casos	Long. onda
1	276
2	275
3	274
\bar{X}	275
σ	1.00



AJUSTE DE LA LINEA RECTA

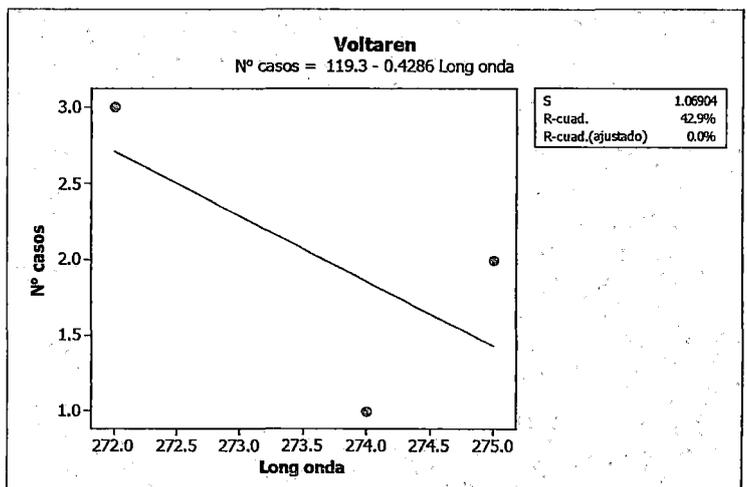
Standard

Nº casos	Long. onda (nm)
1	275
2	274
3	273



Voltaren

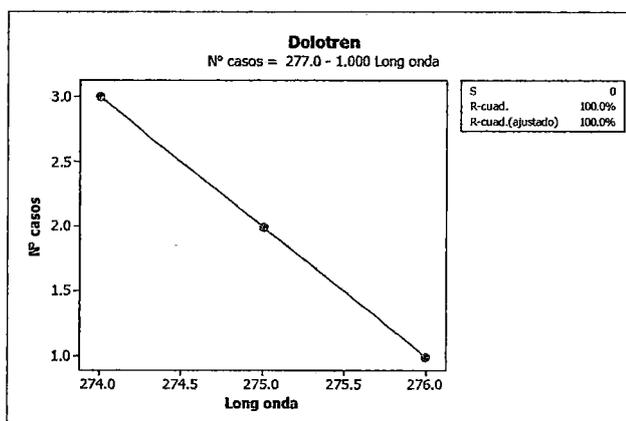
Nº casos	Long. onda (nm)
1	274
2	275
3	272



ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

Dolotren

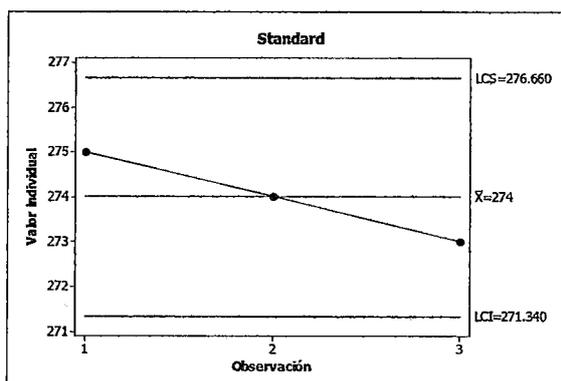
N° casos	Long. onda (nm)
1	274
2	275
3	272



GRAFICOS DE CONTROL

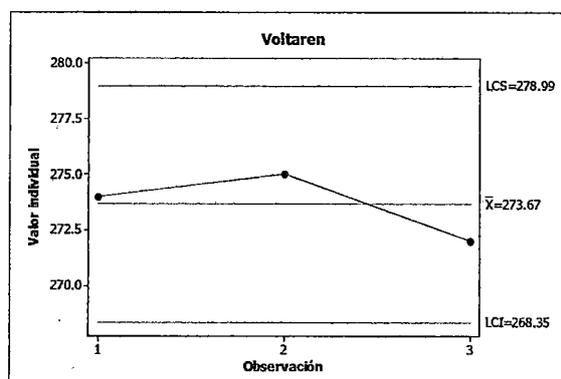
Standard

N° casos	Long. Onda (nm)
1	275
2	274
3	273



Voltaren

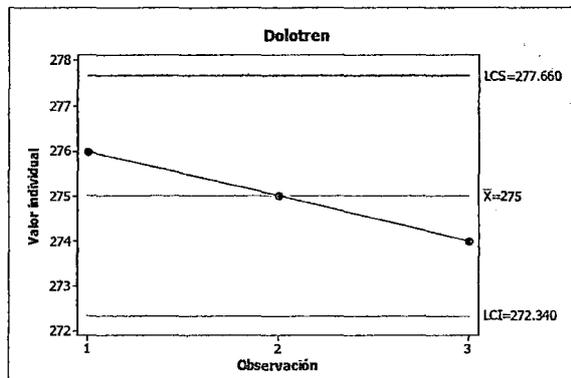
N° casos	Long. Onda (nm)
1	274
2	275
3	272



ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA

Dolotren

N° casos	Long. onda (nm)
1	274
2	275
3	272



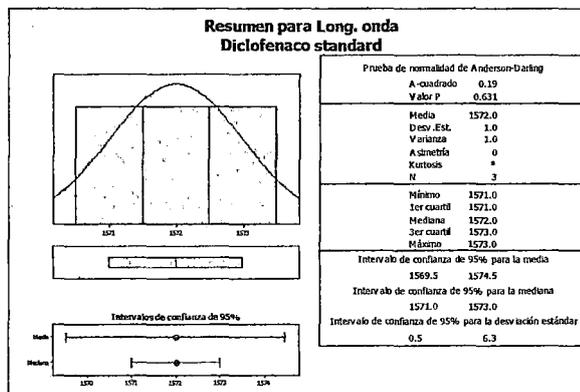
6.4.3 En la **Espectroscopía infrarroja**, se presenta los estadísticos de la media, desviación standard, además de los histogramas, curva normal y daigramas de cajas, los gráficos de control tanto del standard como de los medicamentos comerciales que se indica a continuación

Figura N° 6.6

HISTOGRAMA, CURVA NORMAL SUPERPUESTA, DIAGRAMA DE CAJAS

Standard

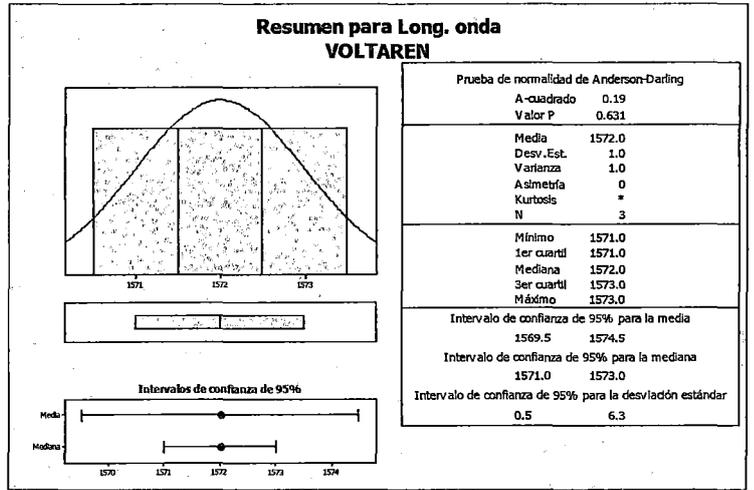
N° casos	Long. onda (carbonilo) cm^{-1}
1	1571
2	1572
3	1573
\bar{X}	1572
σ	1.0



ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

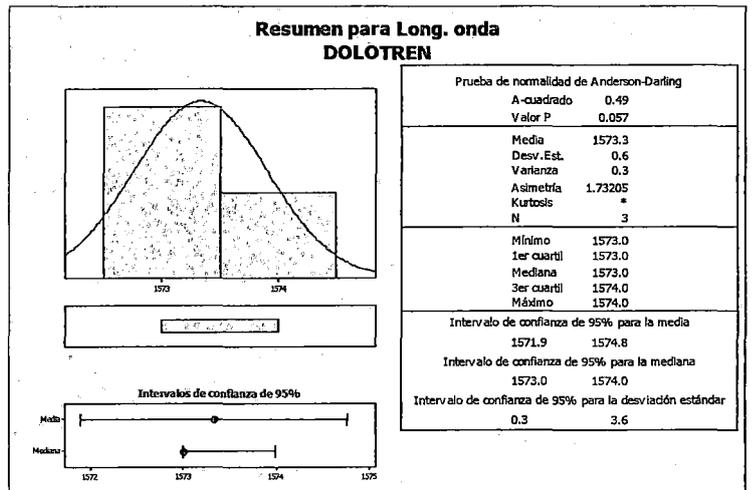
Voltaren

Nº casos	Long. onda (cm^{-1})
1	1572
2	1573
3	1571
\bar{X}	1572
σ	1.0



Dolotren

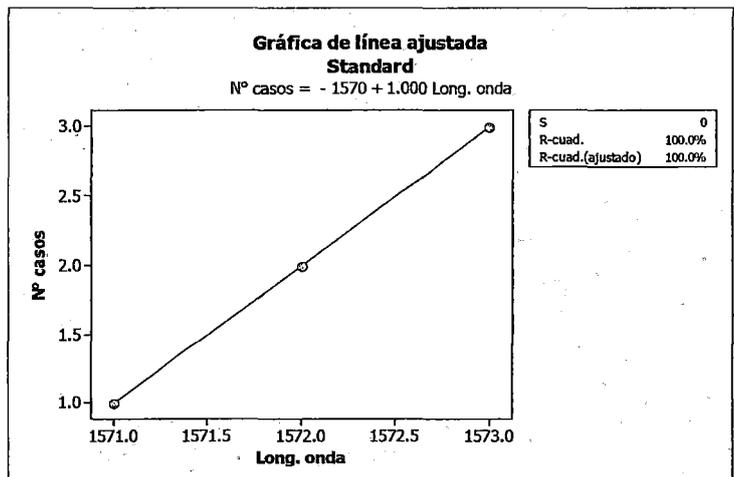
Nº casos	Long. onda (cm^{-1})
1	1574
2	1573
3	1573
\bar{X}	1573.3
σ	0.6



AJUSTE DE LA LINEA RECTA

Standard

Nº casos	Long. onda (cm^{-1})
1	1571
2	1572
3	1573

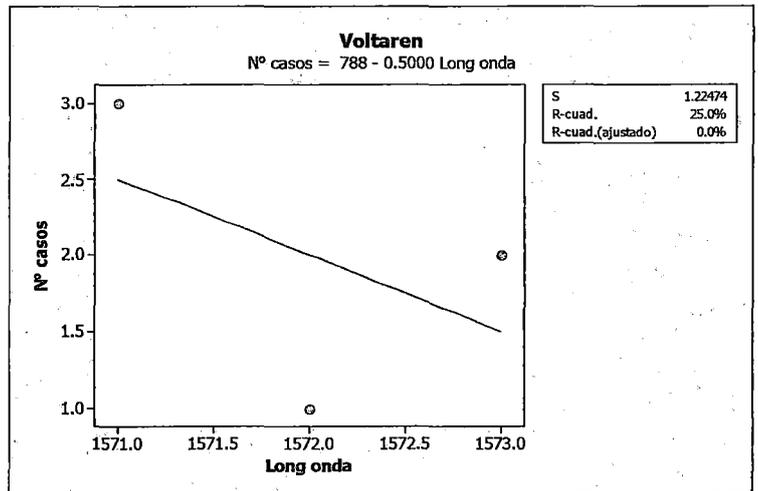


ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

AJUSTE DE LA LINEA RECTA

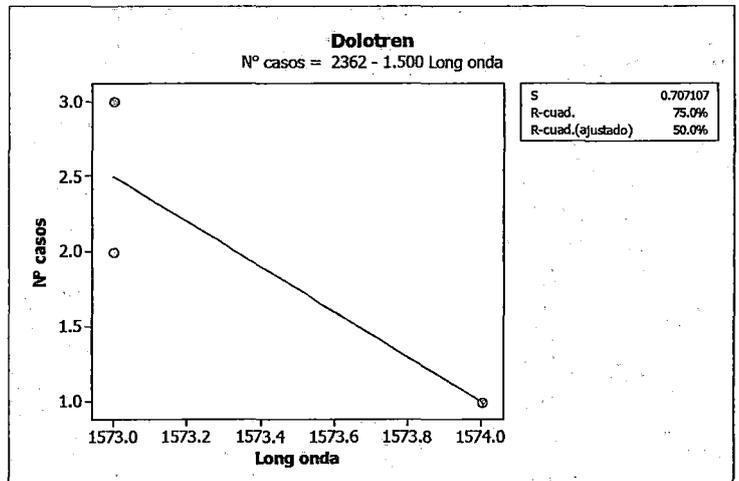
Voltaren

Nº casos	Long. onda (cm ⁻¹)
1	1572
2	1573
3	1571



Dolotren

Nº casos	Long. onda (cm ⁻¹)
1	1574
2	1573
3	1573

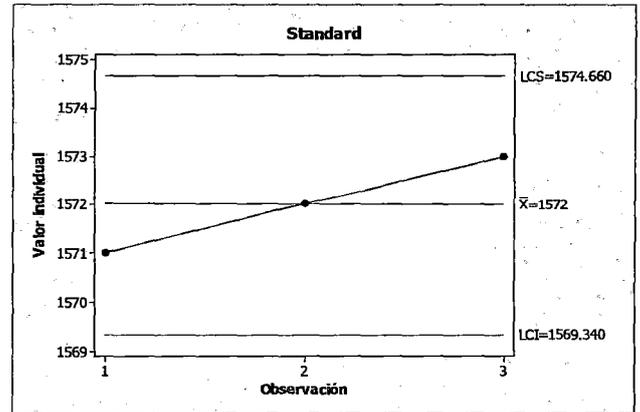


ESPECTROSCOPIA INFRARROJA

GRAFICOS DE CONTROL

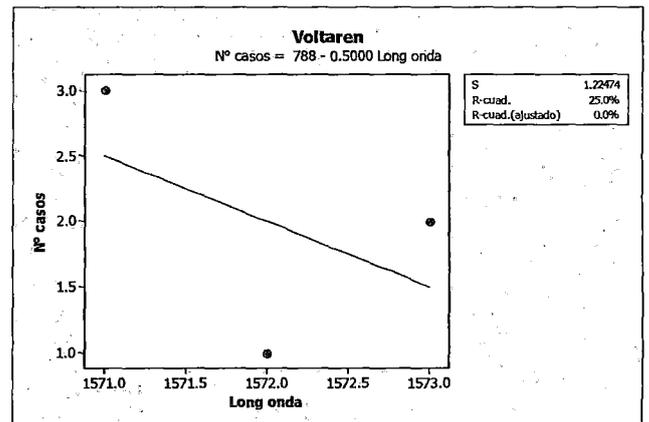
Standard

N° casos	Long. onda (cm ⁻¹)
1	1571
2	1572
3	1573



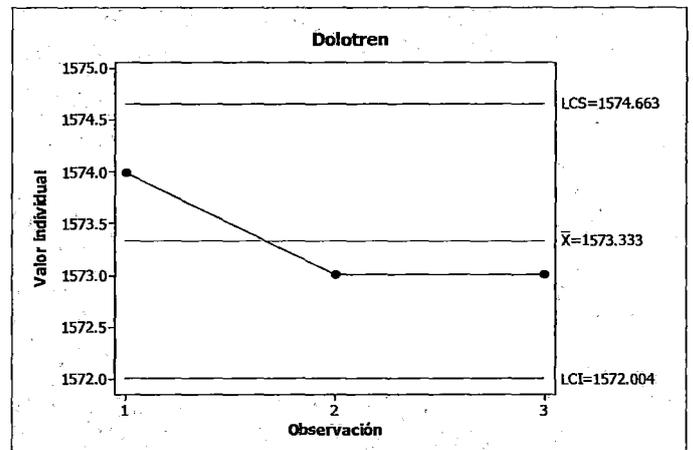
Voltaren

N° casos	Long. onda (cm ⁻¹)
1	1572
2	1573
3	1571



Dolotren

N° casos	Long. onda (cm ⁻¹)
1	1574
2	1573
3	1573



VII. DISCUSIÓN

7.1 Diclofenaco en Voltaren.

7.1.1 Cromatografía en capa fina

De acuerdo a la figura N° 6.4 (pag. 66), y los estadísticos, histogramas, curva normal y los gráficos de control de los medicamentos comerciales considerando el Factor de Referencia (Rf) en relación al standard; estos se corresponden con el Standard.

7.1.2 Espectrofotometría ultravioleta

De acuerdo a la figura N° 6.5 (pag. 70), y los estadísticos, histogramas, curva normal y los gráficos de control de los medicamentos comerciales considerando su lamda máxima expresados en nm, en relación al standard; estos se corresponden.

7.1.3 Espectrofotometría Infrarroja

De acuerdo a la figura N° 6.6 (pag. 73), y los estadísticos, histogramas, curva normal y los gráficos de control de los medicamentos comerciales considerando su longitud de onda del grupo carbonilo expresada en cm^{-1} , en relación al standard; estos se corresponden.

7.2 Diclofenaco en dolotren

7.2.1 Cromatografía en capa fina

De acuerdo a la figura N° 6.4 (pag. 66), y los estadísticos, histogramas, curva normal y los gráficos de control de los medicamentos comerciales considerando el Factor de Referencia (Rf) en relación al standard; estos se corresponden en Standard.

7.1.2 Espectrofotometría ultravioleta

De acuerdo a la figura N° 6.5 (pag. 70), y los estadísticos, histogramas, curva normal y los gráficos de control de los medicamentos comerciales considerando su lamda máxima expresados en nm, en relación al standard; estos se corresponden.

7.1.3 Espectrofotometría Infrarroja

De acuerdo a la figura N° 6.6 (pag. 73), y los estadísticos, histogramas, curva normal y los gráficos de control de los medicamentos comerciales considerando su longitud de onda del grupo carbonilo expresada en cm^{-1} , en relación al standard; estos se corresponden.

7.3. En lo referente al método cromatográfico de capa fina se ha utilizado uno de los reveladores distintos al método utilizado que se reporta en la bibliografía, es decir se utiliza como revelador el reactivo de una solución de permanganato de potasio en medio neutro y con buenos resultados.

7.4. Finalmente con todos los resultados obtenidos, e indicados anteriormente efectivamente el principio activo, Diclofenaco medicamento antiinflamatorio analgésico y antipirético es parte constitutiva de los medicamentos Voltaren y Dolotren.

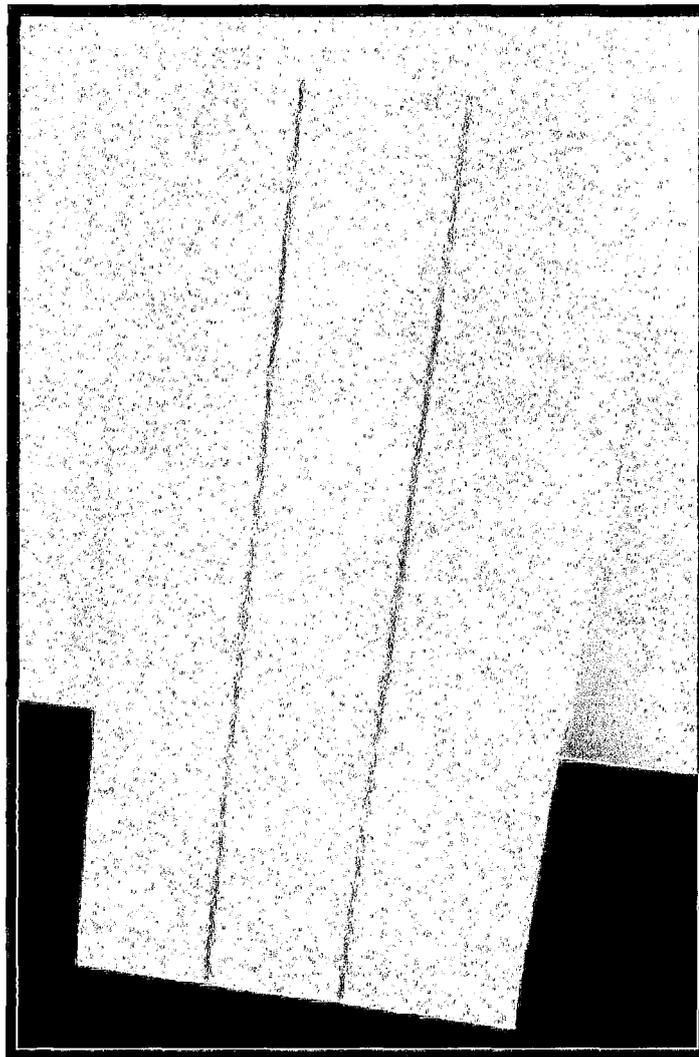
VIII. REFERENCIALES

1. F.C.JENTOFT **Methods in Catalysis Research u.v. spectroscopy, Spectroscopy Diffuse Reflectance.** Hamburg. Fritz-Haber-Institut der Max-Planck-Gesellschaft..(2008)
2. F.C.JENTOFT **UV–VIS–NIR Spectroscopy in Catalysis: Theory, Experiment, Analysis, and Application under Reactive Conditions, ,** Advances in Catalysis. 52, 129-211. (2009).
3. J.K. KIRCHNER, J.M. MILLER, J.G. KELLER; **Analytical Chemistry**; 23, 420,1951
4. GAN TJ. **Diclofenac: an update on its mechanism of action and safety profile.***Curr Med Res Opin.*(2010) 26(7):1715-31.
5. HEWLETT PACKARD. **The Diode-Array Advantage in UV-VIS spectroscopy.**(1988). Publication N°12 - 5594–8912.
6. INGE, J.A. Jr. AND CROUCH, S.R.. **Spectrochemical Analysis.** Prentice Hall International, Inc.1988
7. LANAS A, SOPEÑA F. **Nonsteroidal anti-inflammatory drugs and lower gastrointestinal complications.***GastroenterolClin North Am.* 2009 jun;38(2):333-52.
8. MASSEY T, DERRY S, MOORE RA, MCQUAY HJ. **Topical NSAIDs for acute pain in adults.***Cochrane Database Syst Rev.* 2010 Jun 16;(6):CD007402. Review.
9. MASSEY T, DERRY S, MOORE RA, MCQUAY HJ **Topical NSAIDs for acute pain in adults.***Cochrane Database Syst. Rev.*6;(6)CD007402. Review..(2010)
10. ONG CK, SEYMOUR RA, LIRK P, MERRY AF. **Combining paracetamol(acetaminophen) with nonsteroidalant inflammatory drugs: a qualitative systematic review of analgesic efficacy for acute postoperative pain.***AnesthAnalg.*(2010) Apr 1;110(4):1170-9

11. STANDING JF, SAVAGE I, PRITCHARD D, WADDINGTON M. **Diclofenacfor acute pain in children.** *Cochrane Database Syst Rev.*(2009) Oct 7;(4).
12. RENNER RM, JENSEN JT, NICHOLS MD, EDELMAN A. **Pain control in first trimester surgical abortion.** *Cochrane Database Syst Rev.* 2009 Apr 15;(2)
13. SKOOG, D.A. Y WEST, D.M. 1984. **Análisis Instrumental.** 2ª edición. Ed. Interamericana.

IX. APENDICES

Figura N° 9.1.
CROMATOGRAMA TLC
DICLOFENACO ST Y MUESTRAS



Fuente : Elaboración propia

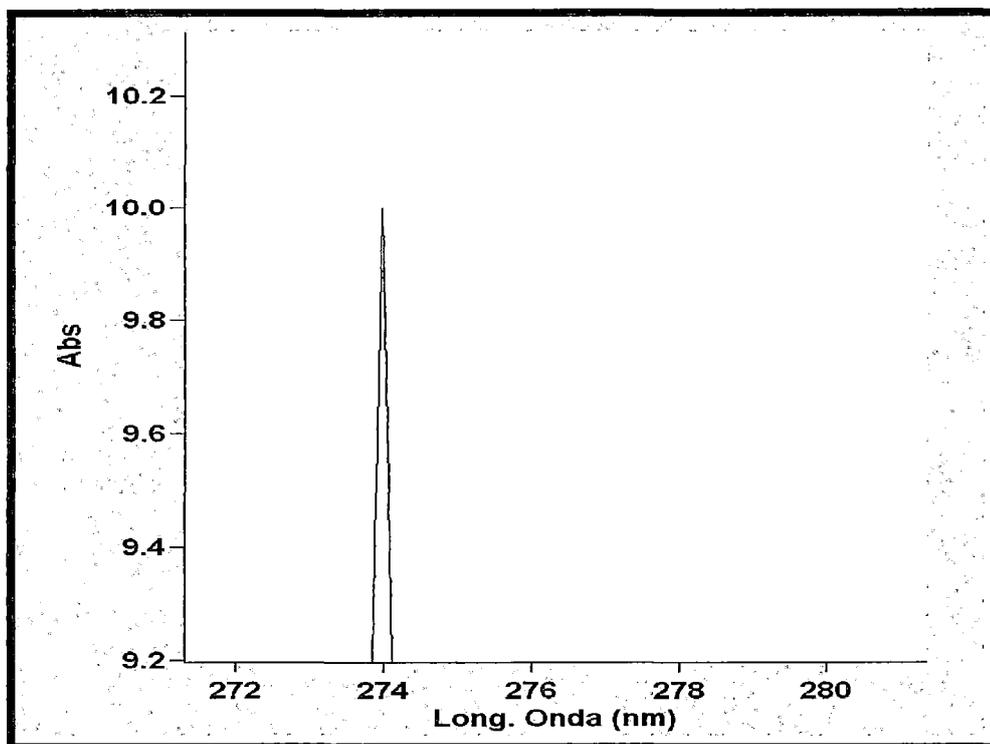
Columna izquierda : Diclofenaco Standard

Columna derecha : Diclofenaco en Voltaren

Columna central : Diclofenaco en Dolotren

Figura N° 9.2

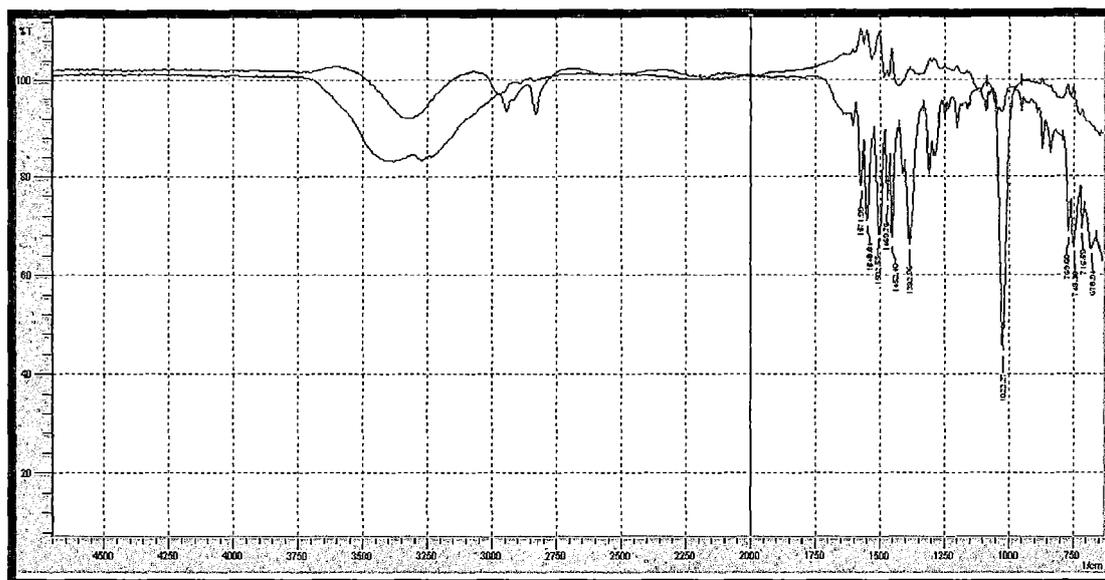
ESPECTRO U.V. DICLOFENACO EN MUESTRA (Dolotren)



Fuente: Elaboración propia

FIGURA Nº 9.3

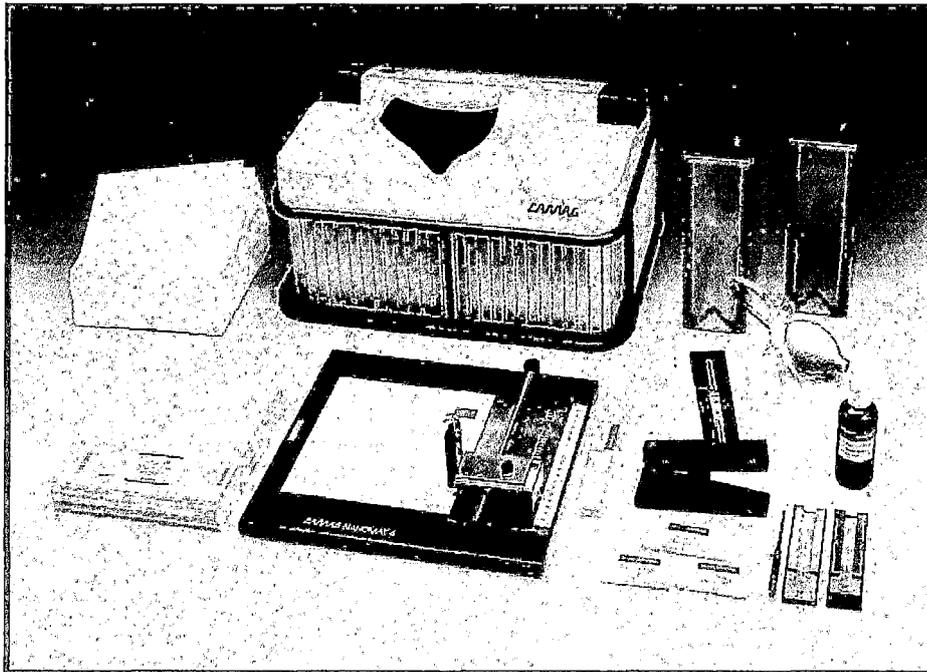
ESPECTRO INFRARROJO FTIR DEL DICLOFENACO
EN MUESTRA (Voltaren) EN SOLUCION METANOLICA



Fuente : Elaboracion propia

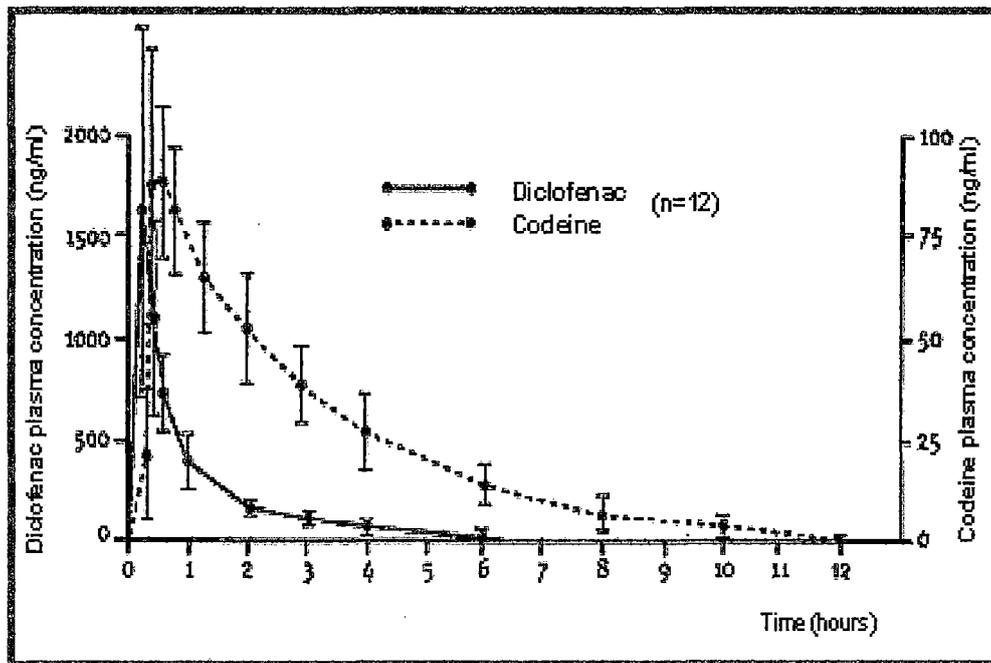
X. ANEXOS

FIGURA N° 10.1
EQUIPO DE CROMATOGRAFIA DE CAPA FINA



Fuente : *Planar Thin Layer Chromatography. Camag. 2003*

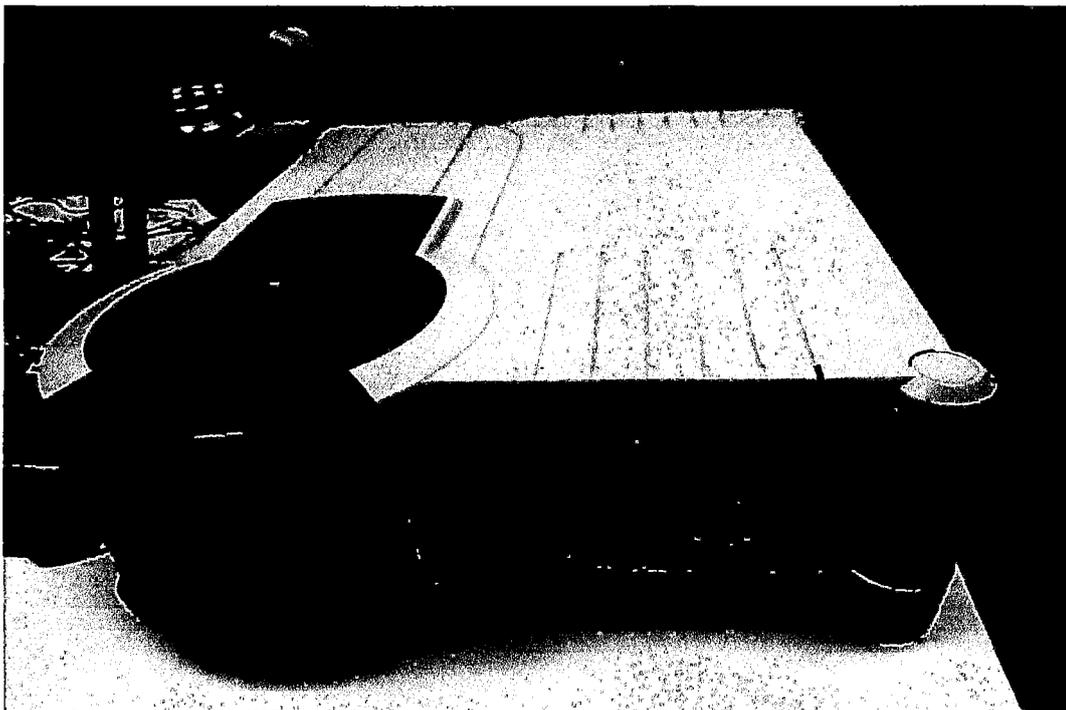
FIGURA N° 10.2
CONCENTRACION PLASMATICA DEL DICLOFENACO



Fuente: Gant T.J. 2010

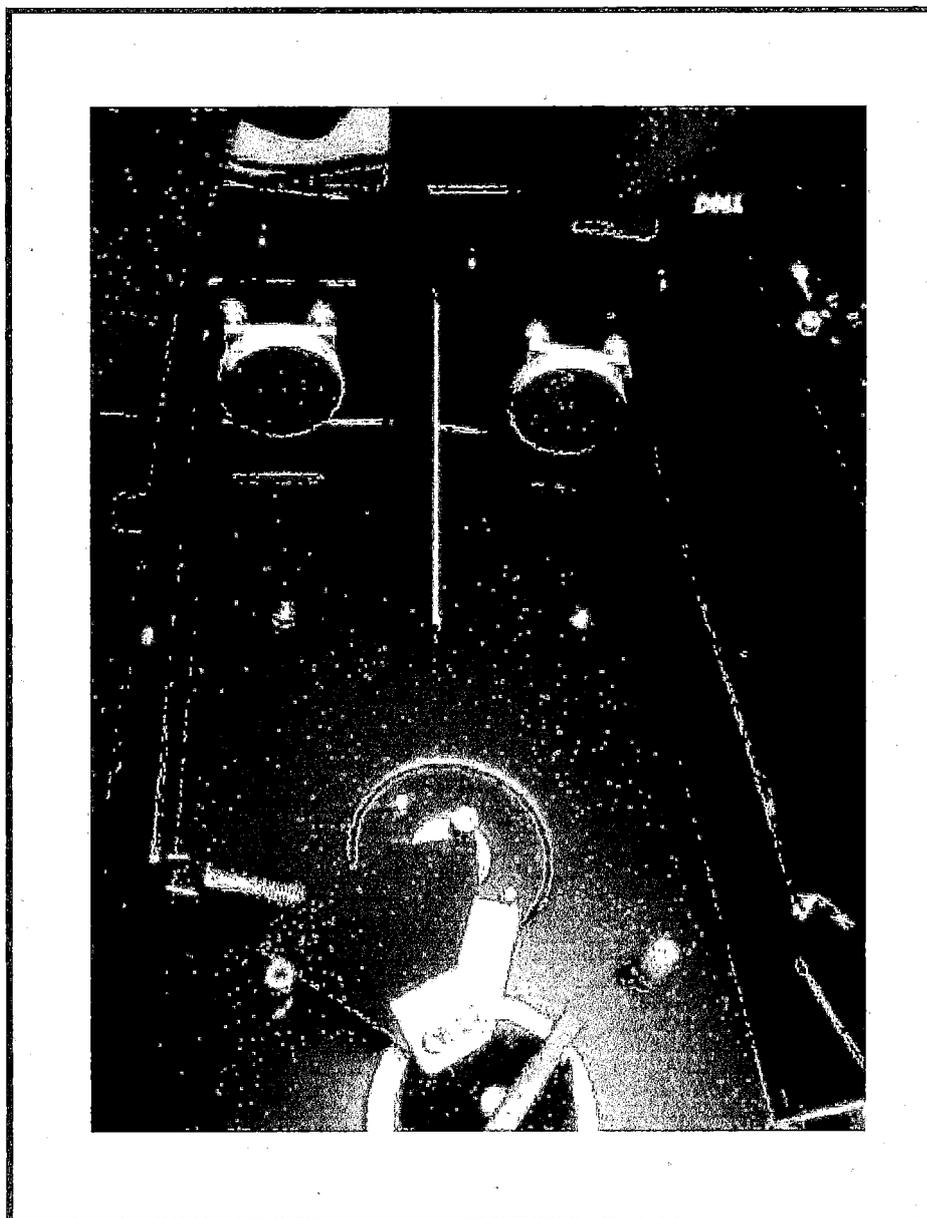
FIGURA N° 10.3

ESPECTROFOTOMETRO U.V.- VISIBLE



Fuente: Espectrofotometro Varian – Cary

Figura N° 10.4
Espectrometro Varian Cary 50
(Dirección haz de luz)



Fuente : Espectrofotómetro Varian - Cary. Agilent

MATRIZ DE CONSISTENCIA

PROBLEMA	OBJETIVOS	HIPOTESIS
Problema General	Objetivo general	Hipótesis general
<p>Cómo identificaría mediante el análisis instrumental el diclofenaco en medicamentos de marca?</p>	<p>Identificar el diclofenaco mediante las técnicas analíticas instrumentales espectrofotometría U.V. – visible, espectrofotometría FTIR y cromatografía en medicamentos de marca.</p>	<p>Al demostrar la identificación del diclofenaco permite inferir que presenta sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas en un paciente</p>
PROBLEMAS ESPECIFICOS	OBJETIVOS ESPECIFICOS	HIPÓTESIS ESPECÍFICA
<p>a. Cómo seleccionaría el diclofenaco en medicamentos de marca?</p> <p>b. Cómo analizaría el diclofenaco por cromatografía?</p> <p>c. Cómo analizaría el diclofenaco por espectrofotometría?</p>	<p>a. Seleccionarlos medicamentos que contienen diclofenaco en medicamentos de marca</p> <p>b. Analizar el diclofenaco por cromatografía.</p> <p>c. Analizar el diclofenaco por espectrofotometría.</p>	<p>Demostrar el diclofenaco en medicamentos de marca</p> <p>Demostrar el diclofenaco por cromatografía</p> <p>Demostrar el diclofenaco por espectrofotometría</p>

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA

OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

VARIABLE	DIMENSIONES	INDICADORES	MÉTODOS DE RECOLECCIÓN DE DATOS
VARIABLE INDEPENDIENTE Técnica analítica por Cromatografía de capa fina	Analito, Fase móvil Fase estacionaria	Color azulino con el reactivo tricloruro de fierro	Preparación de reactivos
VARIABLE INDEPENDIENTE Técnica analítica por espectrofotometría U.V.	Blanco, standard, muestra	Lambda máxima	Preparación de los reactivos y equipo
VARIABLE INDEPENDIENTE Técnica analítica por Espectrofotometría Infrarroja.	Blanco, standard, muestra	Transmitancia	Preparación de los reactivos y equipo
VARIABLE DEPENDIENTE: Identificación del diclofenaco	Lecturas en los equipos	Rf y color en cromatografía Absorbancia y Transmitancia en espectroscopía	Cromatografo de capa fina Espectrofotometro UV-visible Espectrofotometro I.R.

FUENTE: ELABORACIÓN PROPIA