

**ESTUDIO DE LA SOLUBILIDAD DE LA SAL
NAPROXENO-COBRE EN MEDIOS ACUOSOS**



YADIRA MAYERLÍN AZA TENGANÁN

**UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
SANTIAGO DE CALI
2014**

**ESTUDIO DE LA SOLUBILIDAD DE LA SAL
NAPROXENO-COBRE EN MEDIOS ACUOSOS**

Trabajo de grado para optar al título de Químico Farmacéutico

YADIRA MAYERLÍN AZA TENGANÁN

**DIRECTORES
CAROLINA MORA GUERRERO M.Sc.
JULIE BENAVIDES ARÉVALO Ph.D.**

**Co- DIRECTOR
GIOVANNY ROJAS Ph.D.**

**UNIVERSIDAD ICESI
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS
PROGRAMA DE QUÍMICA FARMACÉUTICA
SANTIAGO DE CALI
2014**

Nota de aceptación

Directores del trabajo de grado

Co-Director del trabajo de grado

Firma del jurado

Firma del jurado

Santiago de Cali, 21 de julio de 2014

DEDICATORIA

Dedico este trabajo a DIOS, quien me enseñó a enfrentar retos y a comprender que para alcanzar una meta, requiere sacrificio.

¿No sabéis que los que corren en el estadio, todos a la verdad corren, mas sólo uno se lleva el premio?

Corred de tal manera que lo obtengáis

1-corintios 9:24

AGRADECIMIENTOS

- A Dios, que por medio de su fortaleza y amor, me ha acompañado durante el tiempo de estudio.
- A mis padres por su apoyo y amor incondicional
- A la Universidad Icesi, por los conocimientos y la oportunidad dada para prepararnos integralmente.
- A mis directores de trabajo de grado Carolina Mora Guerrero M.Sc y Julie Benavides Arévalo Ph.D, por su apoyo incondicional para el desarrollo de este trabajo de grado.
- A mi Co-director Giovanni Rojas Ph.D. por su generosa orientación y contribución para desarrollar este trabajo de grado.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	1
ABSTRACT	3
1.	INTRODUCCIÓN	5
2.	DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO	7
2.1	PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA.....	7
3.	MARCO DE REFERENCIA	9
3.1	GENERALIDADES DE LOS FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES (AINES).....	9
3.2	PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y FISICOQUÍMICAS DEL NAPROXENO	10
3.3	GENERALIDADES DE LOS COMPUESTOS DE COBRE (II)	11
3.4	ASPECTOS RELACIONADOS CON LA SOLUBILIDAD DE SOLUTOS ...	13
3.4.1	Etapas Implicadas en el proceso de formación de la disolución	14
3.4.2	Factores que Influyen en la Solubilidad de solutos	16
3.4.2.1	pH	16
3.4.2.2	Temperatura.....	18
3.4.3	Parámetros evaluados en la metodología analítica al ultravioleta para la cuantificación del compuesto NAP-Cu en medio acuoso.....	18

4.	OBJETIVOS.....	20
4.1	OBJETIVO GENERAL	20
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	20
5.	METODOLOGÍA	21
5.1	ETAPA 1. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LA SAL NAP-Cu.....	21
5.1.1	Materiales y Reactivos	21
5.1.2	Equipos	21
5.1.3	Parte Experimental.....	21
5.1.3.1	Formación del compuesto NAP-Cu	21
5.1.3.2	Caracterización de la sal NAP-Cu	22
5.1.3.2.1	Espectroscopia de infrarrojo (IR)	22
5.1.3.2.2	Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (Protónica).....	22
5.1.3.2.3	Análisis elemental	22
5.1.3.2.4	Cuantificación del metal Cobre (II) por absorción atómica en el compuesto NAP-Cu.....	23
5.1.3.2.4.1	Materiales y Reactivos	23
5.1.3.2.4.2	Equipos	23
5.1.3.2.4.3	Procedimiento	23
5.1.3.2.4.3.1	Mineralización de la sal NAP-Cu por digestión ácida: mezcla de los ácidos Nítrico-Perclórico (HNO ₃ -HClO ₄).....	23
5.1.3.2.4.3.2	Preparación de la curva de calibración	24
5.1.3.2.4.3.2.3	Determinación de Cobre (II) mediante Espectroscopia de Absorción Atómica	24
5.2	ETAPA 2. DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE LA SAL NAP-Cu A pH 1.2, FUERZA IÓNICA (μ) 0.15 mol-L ⁻¹ Y A DIFERENTES TEMPERATURAS DE ESTUDIO	25
5.2.1	Materiales y Reactivos	25
5.2.2	Equipos	25

5.2.3	Metodología	25
5.2.3.1	Obtención de la curva de calibración empleando la metodología analítica al ultravioleta para la cuantificación del compuesto NAP-Cu en medio acuoso	25
5.2.3.1.1	Especificidad	26
5.2.3.1.2	Linealidad.....	26
5.2.3.1.3	Precisión	27
5.2.3.1.3.1	Repetibilidad	27
5.2.3.2	Estudio de la solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso (pH 1.2 y μ 0.15 mol-L ⁻¹).	27
5.2.3.2.1	Ensayos preliminares para la determinación de la solubilidad del compuesto NAP-Cu.....	27
5.2.3.2.2	Sistema solvente empleado en el estudio de solubilidad del compuesto NAP-Cu.....	28
5.2.3.2.3	Determinación de la solubilidad del compuesto NAP-Cu	28
5.3	MATRIZ DE MARCO LÓGICO	30
6.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32
6.1	SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL NAP-Cu.....	32
6.1.1	Control de calidad del NAP	32
6.1.2	Descripción Física de la sal NAP-Cu	34
6.1.3	Caracterización de la Sal NAP-Cu por IR	35
6.1.4	Caracterización del la Sal NAP-Cu por RMN ¹ H.....	36
6.1.5	Caracterización de la Sal NAP-Cu mediante Análisis Elemental	39
6.1.6	Cuantificación de cobre por espectroscopia de Absorción Atómica.....	40
6.1.7	Propiedades Físicas y Químicas	43
6.2	ETAPA 2. DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE LA SAL NAP-Cu A pH 1.2, FUERZA IÓNICA (μ) 0.15 mol-L ⁻¹ Y A DIFERENTES TEMPERATURAS DE ESTUDIO	44
6.2.1	Obtención de la curva de calibración empleando la metodología analítica al ultravioleta para la cuantificación de la sal NAP-Cu en medio acuoso.....	44
6.2.1.1	Especificidad.....	44

6.2.1.2	Linealidad.....	48
6.2.1.3	Precisión	51
6.2.1.3.1	Repetibilidad del instrumento y del método	51
6.3	Determinación de la solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso	51
7.	CONCLUSIONES	62
8.	RECOMENDACIONES	64
9.	BIBLIOGRAFÍA	66
10.	ANEXOS	69

LISTADO DE TABLAS

Tabla 6.1 Análisis Elemental de NAP y la Sal NAP-Cu.....	40
Tabla 6.2. Observaciones de la comparación de los espectros de absorción de las soluciones de NAP-Cu en buffer pH 1.2 (μ 0.15 mol-L ⁻¹), expuestos a la luz y protegidos de la luz, en recipiente de vidrio ámbar.....	48
Tabla 6.3. Parámetros estadísticos para la linealidad de NAP-Cu en buffer pH 1,2 y μ 0.15 mol-L ⁻¹	49
Tabla 6.4. Cuadro de ANOVA para NAP-Cu en buffer pH 1.2y μ 0.15 mol-L ⁻¹	50
Tabla 6.5. Intervalos de confianza ($1 - \alpha = 0.95$) para el intercepto y la pendiente de la curva de calibración de NAP-Cu en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L ⁻¹	51
Tabla 6.6. Solubilidad experimental de NAP-Cu en función de la temperatura (\pm 0.1 °C), en buffer pH 1.2 y fuerza iónica 0,15 mol-L ⁻¹ , expresada en μ g/mL.....	52
Tabla 6.7. Solubilidad experimental de NAP-Cu en función de la temperatura (\pm 0.1 °C), en buffer pH1.2, fuerza iónica 0,15 mol-L ⁻¹ , expresada en molaridad (C).....	54
Tabla 6.8. Solubilidad experimental de NAP y NAP-Cu en función de la temperatura (\pm 0.1 °C), en medio acuoso a pH 1.2 y fuerza iónica 0,15 mol-L ⁻¹ , expresada en molaridad (C)	56
Tabla 6.9. Solubilidad experimental de NAP-Cu en función de la temperatura (K), en medio acuoso a pH 1.2 y fuerza iónica 0,15 mol-L ⁻¹ , expresada en molaridad (C).....	57
Tabla 6.10. Energía libre aparente para el proceso de disolución del NAP-Cu en medio acuoso a pH1.2 y fuerza iónica 0,15 mol-L ⁻¹ , en función de la temperatura (K), expresada en molaridad (C).....	59
Tabla 6.11. Energía libre aparente para el proceso de disolución del NAP en medio acuoso a pH1.2 y fuerza iónica 0,15 mol-L ⁻¹ , en función de la temperatura (K), expresada en molaridad (C).....	60

LISTADO DE FIGURAS

Figura 3.1 Proceso de Disolución de Sólidos y Líquidos.....	14
Figura 6.1 Espectro IR de NAP.....	33
Figura 6.2 Descripción Física de la sal NAP-Cu	34
Figura 6.3 Espectro IR de la sal NAP-Cu.....	35
Figura 6.4 Espectro RMN ^1H del NAP.....	37
Figura 6.5 Espectro RMN ^1H de la sal NAP-Cu.....	38
Figura 6.6 Curva de calibración para cuantificar Cu^{2+}	41
Figura 6.7 Espectro UV de la solución Buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol L $^{-1}$	44
Figura 6.8 Espectro UV del NAP-Cu en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L $^{-1}$ (Concentración 1.5 $\mu\text{g/mL}$).....	45
Figura 6.9 Espectro UV de la muestra resultante de la exposición a luz solar, envasada en frasco de vidrio transparente, en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L $^{-1}$ (Concentración 1.1 $\mu\text{g/mL}$ de NAP-Cu).....	46
Figura 6.10 Espectro UV de la muestra resultante de la exposición a luz solar, envasada en frasco de vidrio ámbar, en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L $^{-1}$ (Concentración 1.1 $\mu\text{g/mL}$ de NAP-Cu).....	47
Figura 6.11 Gráfica de linealidad para NAP-Cu en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L $^{-1}$ a 229,2 nm.....	49
Figura 6.12 Solubilidad de NAP en medios acuosos: buffer pH 1.2, μ 0.15 mol-L $^{-1}$ y buffer pH 7.4, μ 0.15 mol-L $^{-1}$, en fracción molar, en función de la temperatura.....	53

Figura 6.13 Solubilidad experimental de NAP y NAP-Cu en función de la temperatura (± 0.1 °C), en medio acuoso a pH1.2 y fuerza iónica $0,15 \text{ mol-L}^{-1}$, expresada en molaridad (C)..... 56

Figura 6.14 Ln Solubilidad de NAP-Cu en buffer pH 1.2, en función del recíproco de la temperatura (K^{-1}), molaridad..... 58

LISTADO DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado de calidad del Naproxeno.....	68
Anexo 2. Sistemas Buffer empleados en el trabajo de investigación.....	69

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se realizó el estudio de la solubilidad de la sal Naproxeno-Cobre (NAP-Cu), compuesto que fue obtenido mediante síntesis química a partir de Acetato de Cobre (Cu^{2+}) y Naproxeno (NAP), que es un fármaco antiinflamatorio no esteroideo. Además se realizó la purificación de esta sal, empleando agua destilada y utilizando filtración al vacío.

Teniendo en cuenta como referencia los estudios de solubilidad del NAP que se reportan en la literatura científica, se evaluó como la solubilidad de este principio activo puede cambiar mediante la formación del compuesto NAP-Cu. La determinación de esta propiedad fisicoquímica se llevó a cabo en medio acuoso a condiciones específicas de pH (1.2, pH fisiológico del estómago), temperatura (25.0, 30.0, 35.0 y 40.0 ± 0.1 °C) y fuerza iónica constante (μ 0.15 mol-L⁻¹). El rango de temperatura fue seleccionado teniendo en cuenta que el valor normal de la temperatura corporal en los seres humanos es aproximadamente 37 °C.

El átomo de Cobre tiene la capacidad de formar sales complejas y se conoce como átomo central en la formación de las mismas, por las características que este metal tiene, dentro de las que se resaltan, la disponibilidad de orbitales, su valencia variable y su capacidad para actuar como ácido de Lewis. De otro lado, el NAP debido a que tiene en su estructura un grupo carboxilato, actúa como ligando, ya que los electrones libres de este grupo funcional le permiten establecer enlaces iónicos, con el metal, formando así un tipo de sal compleja.

Una vez se obtuvo el compuesto NAP-Cu se llevó a cabo la caracterización del mismo mediante espectroscopia infrarrojo (IR), Resonancia Magnética Nuclear Protónica (RMN ¹H), Análisis Elemental y la cuantificación de Cobre (Cu^{2+}) por Absorción Atómica.

Con el desarrollo de este trabajo se buscó aportar información a cerca de la solubilidad de la sal NAP-Cu, compuesto de interés investigativo debido a su potencial antiinflamatorio, dando respuesta a la siguiente pregunta de investigación: ¿La solubilidad acuosa de la sal NAP-Cu determinada a diferentes temperaturas, a pH 1.2, y fuerza iónica (μ) 0.15 mol-L⁻¹, presenta un comportamiento diferente respecto a los valores de solubilidad reportados en la literatura para el fármaco sin modificar (NAP), bajo las mismas condiciones de temperatura, pH y fuerza iónica?

La dependencia de la solubilidad con la temperatura permitió calcular los parámetros termodinámicos aparentes (expresados en molaridad) del proceso de disolución del compuesto, como son: energía libre, entalpía y entropía. Los resultados obtenidos para estas propiedades termodinámicas fueron interpretados considerando las interacciones soluto-solvente (NAP-Cu / medio acuoso a pH 1.2, μ 0.15 mol-L⁻¹), especialmente las producidas por enlace de hidrógeno.

En este estudio se determinó que la solubilidad de la sal NAP-Cu se incrementa en función del aumento de la temperatura, indicando que el proceso de disolución es endotérmico, lo cual se evidenció en el valor positivo obtenido para la entalpía de disolución aparente ($\Delta H_{sln}^{\circ C-app}$).

Los resultados de la energía libre de solución aparente ($\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$) presentaron valores positivos, indicando la no espontaneidad del proceso de disolución del NAP-Cu en el sistema acuoso a pH 1.2. La entropía de disolución aparente ($\Delta S_{sln}^{\circ C-app}$) del NAP-Cu fue negativa conllevando a que no exista un favorecimiento entrópico.

En general, se observó un desfavorecimiento tanto entálpico como entrópico para el proceso de disolución de la sal NAP-Cu en agua a pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol-L^{-1} .

A partir de los resultados obtenidos en este trabajo de grado, se ofrece como principal aporte para próximas investigaciones, el estudio preliminar de la solubilidad del compuesto NAP-Cu; teniendo en cuenta que esta es una propiedad intrínseca de reconocida importancia en el ámbito farmacéutico para el diseño y formulación de medicamentos.

Palabras claves: antiinflamatorios no esteroideos, Naproxeno, Cobre, sal Naproxeno-Cobre, solubilidad, termodinámica de soluciones.

ABSTRACT

In the present investigation is show the preliminary study of the solubility of Naproxen-Copper (NAP-Cu) salt, this compound was obtained by chemical synthesis from acetate Copper (Cu^{2+}) and naproxen (NAP), which is non-steroidal anti-inflammatory drug. Furthermore purification of this salt was carried out by washing with purified water, and vacuum filtration.

Considering as reference the solubility studies of NAP that are reported in the literature, was assessed the solubility of the active substance under study (NAP-Cu). The determination of this physicochemical property was carried out in aqueous medium in specific conditions of pH (1.2, the physiological pH of the stomach), temperature (25.0, 30.0, 35.0, and 40.0 ± 0.1 °C) and constant ionic strength (μ 0.15 mol-L⁻¹). The temperature range was chosen considering that the normal value of body temperature in humans is about 37 °C.

The copper atom is capable of forming complex salts and it is known as the central atom in the formation of salts, because the features that this metal has among which stand out, the availability of orbital, the variable valence and ability to act as a Lewis acid. On the other hand, due to naproxen has in its structure a carboxy group, acts as a ligand, since the free electrons allow this functional group to establish ionic bonds with the metal, thus forming a type of complex salt.

Once the NAP-Cu compound was obtained was carried out with the same characterization by infrared spectroscopy (IR), Proton Nuclear Magnetic Resonance (NMR ¹H), Elemental Analysis and quantification of copper (Cu^{2+}) of salt formed by Atomic Absorption.

With the development of this study sought to provide information about the solubility of NAP-Cu salt, composed of research interest due to its anti-inflammatory potential, answering the following research question: ¿Does the aqueous solubility of the compound NAP-Cu determined at different temperatures, at pH 1.2, and ionic strength (μ) 0.15 mol-L⁻¹ has a different behavior with respect to the solubility values reported in literature for the unchanged drug (NAP); under the same conditions of temperature, pH and ionic strength?

The dependence of the solubility with temperature allowed calculating the apparent thermodynamic parameters (expressed in molarity) of the dissolution process of the compound, such as: free energy, enthalpy and entropy. The results obtained for these thermodynamic properties were interpreted considering the solute-solvent

interactions (NAP-Cu/aqueous medium at pH 1.2, 0.15 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$), especially those caused by hydrogen bonding.

In this study were determined that the solubility of NAP-Cu salt is increased depending on temperature rise, indicating that the dissolution process is endothermic, which was evidenced by the positive value obtained for the apparent dissolution enthalpy ($\Delta H_{sln}^{\circ C-app}$).

The results of free energy of the apparent solution ($\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$) showed positive values, indicating no spontaneity of the process of dissolution of NAP-Cu in the aqueous system at pH 1.2. The entropy of apparent dissolution of NAP-Cu ($\Delta S_{sln}^{\circ C-app}$) was negative leading to the absence of an entropic favoring.

In general, it is evident that a disfavor both enthalpy and entropy for the dissolution of the NAP-Cu salt in water at pH 1.2 and ionic strength 0.15 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ is presented

From the results obtained in this project, the preliminary study of the solubility of NAP-Cu compound provided as main contribution for future research; considering that this is an intrinsic property of recognized importance in the pharmaceutical field for the design and formulation of drugs.

Keywords: Non steroidal anti-inflammatory, Naproxen, Copper, Copper - naproxen salt, solubility, thermodynamics of solutions

1. INTRODUCCIÓN

El Naproxeno (NAP) es un analgésico antiinflamatorio no esterooidal (AINE) utilizado ampliamente en el tratamiento clínico de la artritis crónica y estados de dolor agudos. Estudios han demostrado que los iones metálicos desempeñan un papel vital en un gran número de procesos biológicos, y el desarrollo de algunas enfermedades está relacionado con la carencia de algunos metales; uno de ellos el Cobre (II), metal de transición que puede ser utilizado como agente antiinflamatorio y anti-artrítico; debido a su importancia fisiológica y actividad redox (Čongrádyová y Jomová , 2012).

Los compuestos de Cobre (II), incluyendo AINEs-Cu, muestran actividades antiinflamatorias significativas, como también la actividad mimética peróxido dismutasa (SOD); de esta manera la síntesis de un compuesto NAP-Cu podría ser una alternativa de investigación que aporte a la generación de un nuevo tratamiento farmacológico, que además de sus efectos inhibidores sobre la producción de prostaglandinas PG, también podría inhibir la producción o actuar como eliminador de radicales libres (Čongrádyová y Jomová , 2012).

La solubilidad es una propiedad fisicoquímica de los ingredientes farmacéuticos activos (IFA), de gran importancia debido a que influye en la disolución, absorción y distribución de los fármacos, y por lo tanto determina su capacidad para producir la actividad terapéutica, ya que sólo las moléculas disueltas son capaces de atravesar las membranas biológicas (Mora, 2006).

Teniendo en cuenta que el compuesto NAP-Cu puede ser una alternativa farmacoterapéutica para mejorar el potencial antiinflamatorio del NAP y considerando que la solubilidad es una propiedad intrínseca de los principios activos que influye en su capacidad para generar el efecto farmacológico en el organismo, y en los procesos de disolución y absorción de los fármacos a través de membranas celulares, en el presente trabajo de investigación se realizó la síntesis química de la sal NAP-Cu y se llevó a cabo el estudio preliminar de la solubilidad de este compuesto en solución buffer a pH 1.2 (pH fisiológico del estómago) y fuerza iónica constante (μ 0.15 mol-L⁻¹), y a diferentes temperaturas (25.0, 30.0, 35.0 y 40.0 \pm 0.1 °C).

Después de sintetizar el compuesto NAP-Cu, éste fue caracterizado empleando las técnicas analíticas de IR, RMN ¹H, Análisis Elemental y la cuantificación de Cobre mediante Absorción Atómica.

Como se puede observar, durante este estudio se tuvo en cuenta los factores que influyen en la solubilidad de los ingredientes farmacéuticos activos, principalmente aquellos que son dependientes del medio y tienen la capacidad de incrementar o disminuir esta propiedad fisicoquímica, como son el pH y la temperatura.

Finalmente, se calcularon las propiedades termodinámicas aparentes (expresadas en molaridad) del proceso de disolución de la sal NAP-Cu ($\Delta H_{sln}^{\circ C-app}$, $\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$ y $\Delta S_{sln}^{\circ C-app}$), en medio acuoso, en el cual se da la transferencia de las moléculas de este soluto desde la fase sólida hasta la fase líquida.

2. DESCRIPCIÓN DEL TRABAJO

2.1 PLANTEAMIENTO Y JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

Los antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) se encuentran entre los fármacos más ampliamente utilizados, puesto que los medicamentos de esta categoría ofrecen un alivio sintomático del dolor y la inflamación en artropatías crónicas como la artrosis y la artritis reumatoide, así como en entidades inflamatorias más agudas generadas por lesiones y fracturas (Dale, 2007).

Para que este tipo de fármacos produzcan dichos efectos terapéuticos, inicialmente se deben disolver en los fluidos del tracto gastrointestinal, cuando se emplean formas farmacéuticas sólidas para su administración peroral, de tal manera que haya una concentración suficiente del mismo para su absorción. La disolución del principio activo depende de su solubilidad en el fluido gástrico, así, cuanto más soluble sea en este medio más cantidad estará disuelta y disponible para el proceso de absorción, y por consiguiente más fármaco alcanzará la circulación sistémica, para acceder a los tejidos y producir el efecto terapéutico esperado (Jones, 2006).

Los AINEs son ácidos orgánicos débiles, con valores de pKa menores a 5, por lo cual su solubilidad en medios acuosos depende del pH, permaneciendo disociados a un pH de dos unidades por encima del pKa (Hanson, 2003).

El NAP es un principio activo que pertenece a la categoría de los AINEs, cuyo valor de pKa es de 4.15 (Hanson, 2003), y por tal razón su solubilidad está en función del pH del medio, en consecuencia a valores de pH inferiores a su pKa (< 4.15), el fármaco se encontrará principalmente en su forma molecular, por lo cual la disolución en medio acuoso estará disminuida, mientras que a pH superior a su pKa (> 4.15), el compuesto comenzará a disociar, logrando generar interacciones ion-dipolo que favorecerán el proceso de hidratación y por consiguiente, el aumento de la solubilidad de este ingrediente farmacéutico activo (Jones, 2006).

Reportes de estudios de solubilidad del NAP en medios acuosos indican que su solubilidad es baja, en especial a pH 1.2 (Mora, 2006), por lo tanto, dentro de los medios que se han empleado para mejorar la solubilidad de este principio activo en medios acuosos, está el disponer de la sal sódica del mismo.

Los compuestos formados por fármacos tipo AINEs y un metal como el Cobre (Cu^{2+}), son de gran interés en la investigación y el desarrollo de nuevos medicamentos, de esta manera algunos de los estudios reportados son: síntesis y caracterización de naproxenato de cobre monohidrato o con cafeína o con nicotinamida, entre otros (Melník *et al.*, 1999); síntesis de compuestos con NAP y algunos metales de transición (zinc, cobre, hierro, entre otros) (Zhang *et al.*, 2000).

En la literatura se ha reportado el potencial antiinflamatorio del NAP-Cu, (Čongrádyová y Jomová, 2012), sin embargo no existen estudios de solubilidad de este tipo de complejos, ni de sales de NAP-Cu en medios acuosos y a diferentes temperaturas, lo cual identifica una oportunidad para llevar a cabo estudios de investigación relacionados con la determinación de propiedades fisicoquímicas de los fármacos unidos a Cobre, en especial la solubilidad por la importancia que tiene en el diseño y formulación de productos farmacéuticos.

La solubilidad de los componentes de una formulación farmacéutica, principalmente la del fármaco, es uno de los factores más importantes que se debe considerar, debido a que esta propiedad fisicoquímica influye en los procesos de disolución y absorción de los principios activos, y por tanto en la acción de los medicamentos, ya que solo las moléculas disueltas son capaces de atravesar las membranas biológicas (Vila, 2001).

Teniendo en cuenta el fundamento expuesto, se plantea la siguiente pregunta de investigación para el desarrollo del presente trabajo: ¿La solubilidad acuosa de la sal NAP-Cu determinada a diferentes temperaturas, a pH 1.2, y fuerza iónica (μ) $0.15 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, presenta un comportamiento diferente respecto a los valores de solubilidad reportados en la literatura para el fármaco sin modificar (NAP), bajo las mismas condiciones de temperatura, pH y fuerza iónica?

Con el desarrollo de este trabajo de investigación se obtuvo resultados del estudio de la solubilidad de la sal NAP-Cu en un medio acuoso a pH 1.2 (pH fisiológico del estómago) y fuerza iónica constante (μ $0.15 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$), y a diferentes temperaturas ($25.0, 30.0, 35.0$ y $40.0 \pm 0.1^\circ\text{C}$), proporcionando así información útil respecto a una de las propiedades fisicoquímicas de gran importancia en el diseño, formulación y desarrollo de medicamentos, como es la solubilidad.

Además, se determinaron las funciones termodinámicas aparentes del proceso de disolución de este compuesto ($\Delta H_{sln}^{\circ C-app}$, $\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$ y $\Delta S_{sln}^{\circ C-app}$). Por lo tanto, el presente trabajo de grado se constituye en un referente de consulta para posteriores investigaciones en el área de fisicoquímica farmacéutica, especialmente en la realización de estudios de solubilidad de ingredientes

farmacéuticos activos, que aporten al diseño y formulación de nuevas formas farmacéuticas.

3. MARCO DE REFERENCIA

3.1 GENERALIDADES DE LOS FÁRMACOS ANTIINFLAMATORIOS NO ESTEROIDALES (AINES)

En la actualidad una de las categorías de medicamentos más empleados en la terapia de los pacientes son los AINEs, que tienen la propiedad de disminuir la inflamación, el dolor, la fiebre y la coagulación, principalmente mediante la inhibición de la formación de prostaglandinas, que son mediadores importantes del dolor y la inflamación en los tejidos y de control de la temperatura en el hipotálamo (Lorenzo *et al.*, 2008).

Los AINEs además de su efecto antiinflamatorio y antipirético, de acuerdo a recientes investigaciones, poseen posibles beneficios terapéuticos en la prevención de diversos tipos de cáncer incluyendo el colorectal y el de pulmón, e incluso en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (Weder, *et al.*, 2002). Dentro de esta categoría de fármacos se encuentran: el ibuprofeno, el ketoprofeno, la indometacina, la fenacetina, el NAP, entre otros (Dale, 2007).

El NAP pertenece a la categoría de los fármacos antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), específicamente al grupo de los derivados del ácido propiónico. Este fármaco además de su acción antiinflamatoria, poseen actividad analgésica y antipirética, que a diferencia de los analgésicos opiáceos, no posee capacidad significativa para producir adicción (Mora, 2006).

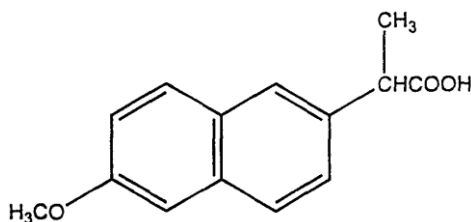
El NAP al hacer parte de los AINEs no selectivos tradicionales, inhibe la producción de prostaglandinas (PGE₂) y tromboxanos mediante la inhibición de los dos tipos de ciclooxigenasa (COX-1 y COX-2), lo que resulta en un efecto antiinflamatorio. Sin embargo, estos fármacos se asocian a efectos gastrointestinales y renales secundarios graves debidos a la inhibición de la COX-1, la cual posee propiedades gastroprotectoras, es decir inhiben la secreción ácida, mejoran la corriente sanguínea de la mucosa y estimulan la secreción de moco protector (Lorenzo *et al.*, 2008).

3.2 PROPIEDADES FÍSICAS, QUÍMICAS Y FISICOQUÍMICAS DEL NAPROXENO

El Ácido-6-metoxi- α -metil-2-naftalenacético (**NAP 1**) es muy utilizado en nuestro medio y se comercializa en diferentes formas farmacéuticas, principalmente como tabletas y cápsulas, y también en forma de suspensión oral, solución inyectable para administración intramuscular y en gel (P.R.Vademecum, 2013).

Este ingrediente farmacéutico activo es administrado generalmente por la vía peroral, por lo cual después de ser liberado de su sistema de entrega es absorbido a nivel de las membranas del tracto gastrointestinal para pasar a la circulación sanguínea y posteriormente dirigirse hacia el sitio blanco a ejercer su acción. El NAP después de ser ingerido, casi siempre se absorbe en forma de especie neutra y se acumula en los sitios de inflamación, lo cual se constituye en una propiedad farmacocinética atractiva para aquellas moléculas que se proyecten emplear como antiinflamatorios no esteroideos (Mora, 2006).

A continuación se muestra la estructura química del NAP y algunas propiedades fisicoquímicas de este principio activo.



NAP 1 (realizada en software chemdraw)

Nombre químico: Ácido-6-metoxi- α -metil-2-naftalenacético (O'Neil *et al.*, 2013)

Formula molecular: C₁₄H₁₄O₃ (O'Neil *et al.*, 2013)

CAS: 22204-53-1 (O'Neil *et al.*, 2013)

Masa molar: 230.26 g·mol⁻¹ (O'Neil *et al.*, 2013)

pKa (25 °C): 4.15 (Hanson, 2003)

Forma disponible: Ácido o sal sódica (Hanson, 2003).

Descripción física: Polvo cristalino blanco a casi blanco, sabor amargo, inodoro (Hanson, 2003)

Solubilidad: Prácticamente insoluble en agua a pH 2.0; escasamente soluble en alcohol (Hanson, 2003). A pH 1.2, fuerza iónica 0.15 mol-L^{-1} y diferentes condiciones de temperatura presenta los siguientes valores de solubilidad, expresados en molaridad (mol-L^{-1}): $6.67 (0.08) \times 10^{-5}$ ($20.0 \text{ }^\circ\text{C}$); $8.28 (0.05) \times 10^{-5}$ ($25.0 \text{ }^\circ\text{C}$); $9.69 (0.11) \times 10^{-5}$ ($30.0 \text{ }^\circ\text{C}$); $1.169 (0.017) \times 10^{-4}$ ($35.0 \text{ }^\circ\text{C}$); $1.493 (0.021) \times 10^{-4}$ ($40.0 \text{ }^\circ\text{C}$) (Mora, 2006). Soluble 1 en 25 de etanol, 1 en 15 de cloroformo, 1 en 40 de éter y 1 en 20 de metanol (O'Neil *et al.*, 2013).

De igual forma, se reportan los datos de solubilidad en molaridad (mol-L^{-1}) a pH 7.4, fuerza iónica 0.15 mol-L^{-1} y diferentes condiciones de temperatura, los cuales son: $1.210 (0.013) \times 10^{-2}$ ($20.0 \text{ }^\circ\text{C}$); $1.273 (0.016) \times 10^{-2}$ ($25.0 \text{ }^\circ\text{C}$); $1.363 (0.004) \times 10^{-2}$ ($30.0 \text{ }^\circ\text{C}$); $1.455 (0.028) \times 10^{-2}$ ($35.0 \text{ }^\circ\text{C}$); $1.556 (0.006) \times 10^{-2}$ ($40.0 \text{ }^\circ\text{C}$) (Mora, 2006).

Punto de fusión: $152\text{-}154 \text{ }^\circ\text{C}$ (O'Neil *et al.*, 2013).

Estabilidad: Almacenar en recipientes herméticamente cerrados, protegidos de la luz y la humedad (Reynolds, 1993).

Datos espectrofotométricos: La longitud de onda de máxima absorción en la región ultravioleta (UV) es 229 nm , obtenida a pH 1.2 y $\mu 0.15 \text{ mol-L}^{-1}$ (Mora *et al.*, 2006).

Aspectos farmacológicos: Fármaco utilizado como analgésico, antipirético y antiinflamatorio en artritis reumatoide, artrosis y artritis gotosa aguda, también es indicado para aliviar el dolor postoperatorio, postparto y dolor visceral asociado con el cáncer (Lorenzo *et al.*, 2008).

3.3 GENERALIDADES DE LOS COMPUESTOS DE COBRE (II)

Los átomos de los elementos metálicos tienen una clara tendencia a perder electrones y convertirse por tanto en iones con carga positiva, esto es debido a que poseen un radio atómico elevado en relación a la carga de sus núcleos lo que posibilita que sus electrones de valencia se desprendan con facilidad. Por otro

lado, los ligandos son nucleófilos, aniones, moléculas polares o fácilmente polarizables que poseen al menos un par de electrones de valencia no compartidos (Basolo, 1980).

Para la formación de un compuesto con metales, los orbitales de valencia no ocupados del átomo central son ocupados por los pares de electrones no compartidos del ligando. En el caso el compuesto NAP-Cu, el cobre en su forma catiónica (Cu^{2+}) ejerce intensas acciones atractivas sobre el extremo carboxílico cargado de forma negativa del NAP. El interés en este tipo de sales radica en el incremento de la absorción y aceptación en el organismo, comparado con los cationes o ligandos individuales (Basolo, 1980).

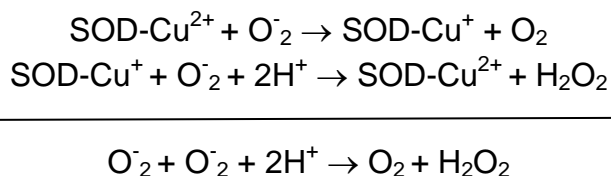
Los compuestos que están formados por enlaces iónicos, provenientes de ácidos o bases débiles permanecen en la forma no ionizada, en tanto estén en estado sólido, sin embargo, una vez se encuentren en un ambiente acuoso se disocian dependiendo del pH del medio. Esto significa que en un momento dado de tiempo, la solución acuosa de estos compuestos tendrá tres componentes principales: sales, iones metálicos libres y ligandos libres. La concentración de cada uno de estos dependerá de las constantes de estabilidad, el poder de polarización del ión metálico, el pH y la temperatura del medio (Clavijo, 2002).

Dentro de los compuestos que involucran fármacos unidos a cobre se reporta la síntesis y caracterización de naproxenatos de cobre con diversos ligandos como son: agua, 1,4 dioxano, cafeína, nicotinamida o piridilcarbinol (Melník *et al.*, 1999). De igual forma se ha realizado la síntesis y evaluación de complejos con NAP y algunos otros metales de transición dentro de los que se destacan zinc, hierro y cobre (Zhang *et al.*, 2000).

Otros estudios han estado enfocados en evaluar las propiedades antiinflamatorias de los complejos AINEs-Cu, los cuales se forman principalmente a través de los grupos carboxilatos presentes en las moléculas de los fármacos antiinflamatorios (ibuprofeno, naproxeno, indometacina, entre otros) mediante su unión al átomo central de cobre (Cu^{2+}). Estos fármacos en forma de carboxilatos de cobre se constituyen en importantes agentes antiinflamatorios y anticancerígenos (Weder, *et al.*, 2002).

Los complejos de cobre incluyendo AINEs-Cu, presenta una significativa actividad anti-inflamatoria, también como una actividad mimética SOD (superóxido dismutasa). La SOD es una metaloenzima que actúa como inhibidor preventivo de

la oxidación lipídica, catalizando la dismutación del anión superóxido (O_2^-) en H_2O_2 y O_2 mediante el siguiente mecanismo (Robbins *et al.*, 2006):



Algunas investigaciones proponen que los AINEs al formar complejos con un metal como (Cu^{2+}) además de los efectos inhibitorios en la síntesis de prostaglandinas también podrían inhibir la producción de radicales libres *in vivo*. Cualquiera que sea el mecanismo de acción anti-inflamatoria de los complejos formados con cobre (Cu^{2+}), su función beneficiosa y su efecto clínico han sido aspectos ampliamente investigados en los últimos 50 años (Weder, *et al.*, 2002).

De acuerdo con la revisión bibliográfica realizada no se reportan estudios sobre la solubilidad en medios acuosos para los compuestos AINEs-Cu(II), tanto para complejos como para sales provenientes de estos. Por esta razón, mediante la ejecución del presente trabajo se contribuye a generar información científica relacionada con la síntesis de la sal NAP-Cu y el estudio de su solubilidad en solventes acuosos, teniendo en cuenta factores como el pH y la temperatura.

3.4 ASPECTOS RELACIONADOS CON LA SOLUBILIDAD DE SOLUTOS

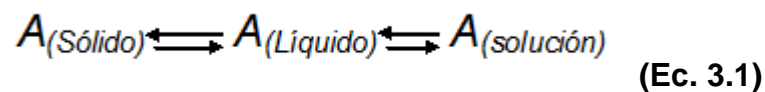
El estudio de la solubilidad de los fármacos en medios acuosos que simulan las condiciones fisiológicas del organismo, como las que se encuentran en el fluido gástrico o en la circulación sanguínea, es un paso importante en las etapas de pre-formulación y formulación de formas farmacéuticas, puesto que se constituye en un parámetro esencial para determinar la biodisponibilidad de los principios activos, es decir, para establecer el porcentaje de fracción de fármaco administrado que está disponible para producir un efecto farmacológico (Baños, 2002).

La solubilidad es definida en términos cuantitativos como la concentración de un soluto en una solución saturada a una determinada temperatura y presión constante, y en forma cualitativa, como la interacción espontánea de dos o más sustancias que forman una dispersión molecular homogénea (Mora, 2006). Esta propiedad fisicoquímica depende de las características físicas y químicas del

soluto y el solvente, y de factores como la temperatura, la presión, el pH y en un menor grado, del estado de subdivisión del soluto (Martin *et al.*, 1993).

3.4.1 Etapas Implicadas en el proceso de formación de la disolución

El proceso de disolución de un soluto (sólido A) en algún solvente, se considera que se produce en dos pasos: en el primero, el sólido absorbe energía para convertirse en líquido y en el segundo paso, el soluto en estado líquido se disuelve en la solución, como se indica en la siguiente ecuación (Hanson, 2003):



En esta segunda etapa se involucran los siguientes aspectos (Vila, 2001):

- Las moléculas de soluto vencen las fuerzas cohesivas (atractivas) que las mantiene unidas en estado líquido. Por su parte las moléculas de disolvente deben separarse suficientemente para crear cavidades donde se acomoden las moléculas de soluto. Esta etapa es endotérmica ya que necesita un aporte de energía y su contribución a la solubilidad es desfavorable.
- Las moléculas de soluto se insertan en las cavidades creadas en el disolvente. Se produce la solvatación del soluto, es decir la interacción entre el soluto y el disolvente mediante interacciones moleculares atractivas. Debido a que este proceso es exotérmico contribuye favorablemente a la solubilidad.

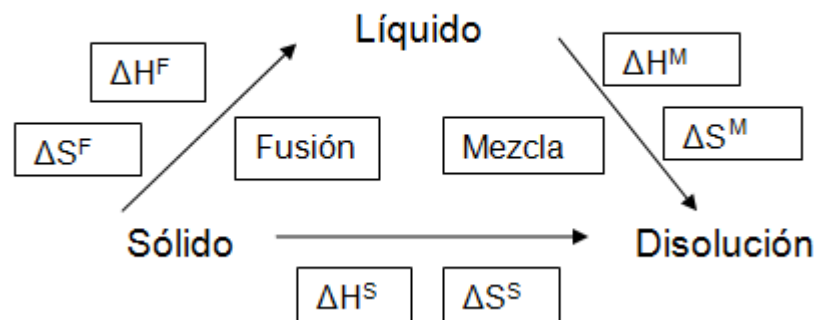


Figura 3.1 Proceso de Disolución de Sólidos y Líquidos (Vila, 2001)

La Figura 3.1 representa las etapas incluidas en el proceso de disolución de un soluto en un solvente. Como se puede observar, el esquema indica el paso en el

cual el soluto en estado sólido vence las fuerzas atractivas del cristal, seguida de la mezcla con el disolvente, de acuerdo con las etapas a) y b) descritas anteriormente. Además esta figura resume el proceso de disolución de sólidos en un solvente líquido, incluyendo las magnitudes termodinámicas de fusión y mezcla (Vila, 2001).

Las ecuaciones 3.2 y 3.3 indican la entalpia ($\Delta H^{\circ}_{\text{sln}}$) y la entropía ($\Delta S^{\circ}_{\text{sln}}$) estándar de solución del sólido, respectivamente (Vila, 2001):

$$\Delta H^{\circ}_{\text{sln}}(\text{sólido}) = \Delta H^{\text{F}} + \Delta H^{\text{M}} \quad (\text{Ec. 3.2})$$

$$\Delta S^{\circ}_{\text{sln}}(\text{sólido}) = \Delta S^{\text{F}} + \Delta S^{\text{M}} \quad (\text{Ec. 3.3})$$

Donde ΔH^{F} es la entalpia de fusión y ΔH^{M} es la entalpia de la mezcla, ΔS^{F} es la entropía de fusión y ΔS^{M} es la entropía de la mezcla.

Los valores de entalpia y entropía de disolución (ecuaciones 3.2 y 3.3) determinan el signo y la magnitud de la energía libre estándar de disolución ($\Delta G^{\circ}_{\text{sln}}$) (Vila, 2001):

$$\Delta G^{\circ}_{\text{sln}} = \Delta H^{\circ}_{\text{sln}} - T\Delta S^{\circ}_{\text{sln}} \quad (\text{Ec. 3.4})$$

La energía libre de disolución se relaciona directamente con la solubilidad, X_2 , porque ésta es una constante de equilibrio (Vila, 2001):

$$\Delta G^{\circ}_{\text{sln}} = -RT \ln X_2 \quad (\text{Ec. 3.5})$$

En las ecuaciones 3.4 y 3.5, el signo positivo es desfavorable y el signo negativo favorable. Para que el proceso de disolución sea espontáneo, la variación de energía libre debe ser negativa, es decir, esta función termodinámica debe disminuir. La entalpia de fusión ΔH^{F} es constante e independiente del disolvente, su signo es siempre positivo (desfavorable), ya que la fusión requiere el aporte de calor. Sin embargo, esta etapa es posible porque la fusión produce un aumento de entropía, $\Delta S^{\circ}_{\text{sln}}$ (mayor desorden). Por su parte, el signo de la entalpia de disolución depende del valor de las magnitudes termodinámicas de fusión y mezcla (Vila, 2001).

Finalmente, ΔH^M depende de la naturaleza del disolvente y puede ser endotérmica y exotérmica. De esta manera la creación de una cavidad en el disolvente requiere suministro de calor (proceso endotérmico), mientras que la solvatación es un proceso exotérmico, favorable (Vila, 2001).

De acuerdo a lo anterior, el proceso de disolución en medio acuoso para la mayoría de los solutos sólidos implica un consumo de energía, es decir es un proceso endotérmico. Van'tHoff propuso la siguiente ecuación, que define la relación entre una constante de equilibrio, en este caso la solubilidad, y la temperatura:

$$\ln \left(\frac{K_2}{K_1} \right) = \frac{\Delta H^\circ}{R} \left[\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2} \right] \quad (\text{Ec. 3.6})$$

Donde, K_1 es la solubilidad a la temperatura absoluta T_1 y K_2 es la solubilidad a la temperatura T_2 , ΔH° es una constante que corresponde al calor o a la entalpía de disolución y R es la constante de los gases cuyo valor es 8.3143J/(K-mol) (Hanson, 2003). Entonces si en el proceso de disolución se absorbe calor, ΔH es por convención positiva y la solubilidad del soluto aumentará con el incremento de la temperatura. Caber resaltar que en la ecuación de Van't Hoff se considera la ΔH como constante en el intervalo de temperatura entre 80-100°C, debido a que en este rango de temperatura no se genera variación en la capacidad calorífica (ΔC_p), parámetro termodinámico que mide la energía que puede almacenar una molécula en las rotaciones o vibraciones internas, generadas por la energía suministrada en forma de calor (Hanson, 2003).

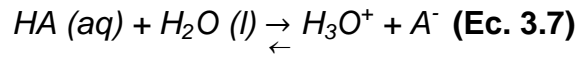
Por lo tanto mediante la ecuación 3.6 se puede determinar la solubilidad a cualquier temperatura, si se conoce el valor de ΔH° y la solubilidad a una determinada temperatura (Hanson, 2003). Esta relación entre la solubilidad y la temperatura es importante para el desarrollo de este trabajo de investigación, puesto que se determinó la solubilidad de la sal NAP-Cu a diferentes temperaturas

3.4.2 Factores que Influyen en la Solubilidad de solutos

3.4.2.1 pH

La mayor parte de los fármacos son ácidos o bases débiles. En el caso de los ácidos débiles, éstos se encuentran parcialmente disociados en disolución acuosa, lo cual se expresa mediante su respectiva constante de disociación. Si HA

representa un ácido débil que se disuelve en un medio acuoso, su proceso de disociación se puede ilustrar de la siguiente manera:



Donde, A es la base conjugada del ácido débil (HA), y el ion H_3O^+ , es el producto de la unión entre el agua y el ion H^+ ; dado que está en disolución acuosa no puede permanecer aislado, debido al carácter dipolar de la molécula de agua.

La concentración del agua al ser mayor que las otras especies es constante y por lo tanto, se omite de la expresión de la constante de equilibrio, la cual se puede escribir como:

$$K_a = \frac{[A^-][H_3O^+]}{[HA]} \text{ (Ec. 3.8)}$$

La magnitud de K_a indica la tendencia del ácido a ionizarse en agua, cuanto más grande es el valor de K_a , más fuerte es el ácido. Mediante la reacción de disociación se puede deducir que en un medio ácido los hidrogeniones $[H_3O^+]$ presentes en el mismo reaccionarán con la base conjugada del ácido débil $[A^-]$, en consecuencia el equilibrio estará favorecido hacia la formación del ácido débil en su forma molecular. En este caso, la solubilidad del ácido débil en medio acuoso se verá disminuida debido a que las interacciones de tipo ion-dipolo entre el ácido y el agua estarán limitadas (Bursten, 2004).

Para determinar la solubilidad de un ácido débil como el NAP se debe tener en cuenta el pK_a del compuesto, que es 4.15 (Hanson, 2003) y el pH del medio en el que se disolverá. De esta forma, a un pH ácido como el que se tiene en el fluido gástrico (pH 1.0 a 2.0), el fármaco se encontrará predominantemente en su forma molecular, por lo cual su solubilidad estará desfavorecida en medio ácido; en cambio a un pH alcalino (pH 5.0 a 7.0), la solubilidad del fármaco se incrementará debido a que éste se encontrará principalmente en su forma disociada (Hanson, 2003).

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, la solubilidad de un ácido débil en función del pH del medio, se expresa mediante la ecuación 3.9.

$$S_{(pH)} = S_0(1 + 10^{pH-pK_a}) \text{ (Ec. 3.9)}$$

Donde, S_0 es la solubilidad intrínseca correspondiente a la forma no disociada del compuesto (Hanson, 2003).

3.4.2.2 Temperatura

Como se mencionó anteriormente, la solubilidad de un sólido en un líquido depende de la temperatura. Si se absorbe calor, ΔH^0_{sln} por convención es positiva y la solubilidad del soluto aumenta al aumentar la temperatura. Si se libera energía durante el proceso, ΔH^0_{sln} es negativa por convención y la solubilidad disminuye al aumentar la temperatura (Gupta, 2000).

3.4.3 Parámetros evaluados en la metodología analítica al ultravioleta para la cuantificación del compuesto NAP-Cu en medio acuoso

El método analítico definido para la cuantificación de la sal NAP-Cu en el medio acuoso a pH 1.2 y fuerza iónica μ 0.15 mol-L⁻¹, fue la espectrofotometría UV, en razón de que el NAP presenta en su estructura molecular grupos cromóforos compatibles (naftilo y carbonilo), los cuales permiten obtener una adecuada absorción en la región UV (Mora, 2006).

Los parámetros evaluados en la metodología analítica al ultravioleta para la cuantificación del compuesto en estudio fueron: especificidad, linealidad, repetibilidad del instrumento de medida y del método (Ospina, 1994 y 1995). Estos parámetros fueron definidos de acuerdo con el objetivo del análisis fisicoquímico a realizar durante el presente trabajo de grado.

A continuación se definen cada uno de los parámetros evaluados (Mora *et al.*, 2006):

Especificidad: Capacidad de evaluar inequívocamente el analito en presencia de componentes que se espera estén presentes en la matriz (solventes, excipientes, impurezas, productos de degradación, entre otros).

Linealidad: Es la habilidad del método para obtener resultados en la prueba, proporcionales a la concentración del analito presente en la muestra, dentro de un rango dado de concentraciones con el cual se obtiene una regresión lineal. Generalmente se expresa en términos de la pendiente y el coeficiente de correlación de la regresión lineal, calculados de acuerdo a una relación matemática de los resultados obtenidos de la prueba.

Precisión: La precisión de un método analítico se refiere al grado de concordancia entre los resultados individuales de la prueba, cuando el procedimiento se aplica repetidamente a muestras múltiples o a una muestra homogénea. La precisión del método, se expresa como la desviación estándar o desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones y puede ser una medida, ya sea del grado de reproducibilidad o repetibilidad.

Mientras que la reproducibilidad involucra el uso del procedimiento analítico en diferentes laboratorios, la repetibilidad se refiere al uso del procedimiento analítico dentro del laboratorio por un período corto de tiempo, por el mismo analista y utilizando el mismo equipo.

4. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Estudiar la solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso, como parte de la etapa de pre-formulación para el diseño de potenciales formas farmacéuticas.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar el compuesto NAP-Cu a partir de NAP y Acetato de Cobre, y caracterizarlo estructuralmente, utilizando técnicas analíticas como IR, RMN ^1H , análisis elemental y cuantificación de Cobre por absorción atómica.
- Determinar la solubilidad de la sal NAP-Cu, a condiciones fisiológicas de pH y fuerza iónica (pH: 1.2; μ : $0.15 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) y a diferentes temperaturas (25.0, 30.0, 35.0 y $40.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$).

5. METODOLOGÍA

La metodología que se llevó a cabo en este proyecto se divide en dos etapas. En la primera etapa se realizó la síntesis, la caracterización estructural de la sal NAP-Cu, utilizando análisis instrumental de espectroscopia IR, análisis elemental y RMN ^1H , así como también se cuantificó el Cobre contenido en el compuesto por absorción atómica. En la segunda etapa, se determinó la solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso a pH 1.2 y fuerza iónica $0,15 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, a las temperaturas de 25.0, 30.0, 35.0 y $40.0 \pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$.

5.1 ETAPA 1. SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN ESTRUCTURAL DE LA SAL NAP-Cu

5.1.1 Materiales y Reactivos

Acetato de cobre (II), Sigma Aldrich; agua desionizada conductividad $< 2 \mu\text{ S}$; Naproxeno USP; etanol J.T. Baker; Metanol J.T Baker; filtros Advantec MFS No. 131; material para filtración al vacío, material de vidrio graduado y/ aforado.

5.1.2 Equipos

Espectrofotómetro IR, ThermoScientific Nicolet; espectrofotómetro UV-VIS, UV-1800 SHIMADZU; balanza analítica RADWAG AS 220/c/2, precisión 0.1 mg; Nevera Mabe; planchas de agitación y calentamiento VWR, bomba de filtración al vacío, GAST; micropipetas graduables Transferpette[®]; conductímetro SCHOTT, horno de secado Binder[®].

5.1.3 Parte Experimental

5.1.3.1 Formación del compuesto NAP-Cu

Para la síntesis de la sal NAP-Cu, se disolvió 9,201 g de Acetato de Cobre (II) en 500 mL de agua; la mezcla se agitó hasta disolución completa. A esta solución se le agregó lentamente una solución previamente preparada de 46,101 g de NAP

USP en 1 L de una mezcla de solventes etanol/metanol en proporción 1:1 (manteniendo una temperatura de 40.0 °C).

La mezcla, se mantuvo en agitación constante durante 30 minutos a 70.0°C, hasta obtener una mezcla homogénea, que posteriormente fue sometida en un baño de hielo para precipitar los sólidos, realizando lavados con agua destilada y utilizando papel de filtro Advantec MFS No. 131. Finalmente los sólidos se secaron a una temperatura de 110.0 ± 2.0 °C durante 72 horas.

5.1.3.2 Caracterización de la sal NAP-Cu

5.1.3.2.1 Espectroscopia de infrarrojo (IR)

Se utilizó el equipo de infrarrojo ThermoScientificNicolet,y pastilla de KBr, para obtener los espectros de absorción al IR de la sal NAP-Cu. El equipo se encuentra ubicado en el laboratorio de Análisis Instrumental de la universidad Icesi.

5.1.3.2.2 Espectroscopia de Resonancia Magnética Nuclear (Protónica)

Se obtuvo el espectro de RMN ^1H para el compuesto NAP-Cu disuelto en cloroformo deuterado (CDCl_3), mediante prestación del servicio por parte del laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad del Valle.

5.1.3.2.3 Análisis elemental

Se realizó el análisis elemental de la sal NAP-Cu mediante prestación del servicio por parte del laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad del Valle. En el Anexo 1 se presenta el certificado de análisis.

5.1.3.2.4 Cuantificación del metal Cobre (II) por absorción atómica en el compuesto NAP-Cu

5.1.3.2.4.1 Materiales y Reactivos

Soporte universal; recipiente metálico, material de vidrio graduado/ aforado, Aceite Mineral, Acido Nítrico (HNO_3 al 76 %), Ácido perclórico (HClO_4 al 36 %), estándar de Cobre de 1000 ppm, agua destilada.

5.1.3.2.4.2 Equipos

Balanza semianalítica de precisión (± 0.001 g), RADWAG AS 220/c/2; plancha de calentamiento, ThermoScientific, Cabina de Extracción.

5.1.3.2.4.3 Procedimiento

5.1.3.2.4.3.1 Mineralización de la sal NAP-Cu por digestión ácida: mezcla de los ácidos Nítrico-Perclórico (HNO_3 - HClO_4)

Se realizó el montaje del sistema para la mineralización de la sal NAP-Cu, utilizando un baño de aceite mineral. Además se preparó 100 mL de la mezcla de ácidos ($\text{HNO}_3/\text{HClO}_4$) en proporción 2:1. Luego se pesó 1,006 g de la sal NAP-Cu, al cual inicialmente se adicionó, 20 mL de la mezcla de ácidos, preparada, mezclando con un agitador de vidrio. Cabe resaltar que este procedimiento se llevó a cabo en la cabina de extracción.

El tiempo de mineralización ácida de la sal NAP-Cu fue 100 horas, durante el cual se adicionó la mezcla de ácidos, dependiendo de la necesidad en el proceso.

La mineralización de la sal NAP-Cu, se realizó a una temperatura de 220 °C, las primeras 20 horas, luego se aumentó la temperatura a 350 °C durante las siguientes 40 horas y se finalizó con una temperatura de 500 °C las 40 horas restantes, momento en el cual se observó que la muestra tornó un color azul claro, translúcido indicando que el proceso se había completado.

5.1.3.4.3.2 Preparación de la curva de calibración

Se preparó una curva de calibración entre 15 a 50 mg/L, utilizando un estándar de cobre (II) de 1000 mg/L, completando a volumen de 10 mL con una solución al 5 % de la mezcla de ácidos HNO₃ al 76 %/ HClO₄ al 36 % (2:1).

La muestra obtenida de la mineralización de la sal NAP-Cu por digestión ácida se adicionó a un balón aforado de 100 mL y se completó volumen con agua destilada, de esta dilución se tomó 0,2 mL y se completó con agua destilada a un volumen de 10 mL.

5.1.3.4.3.2.3 Determinación de Cobre (II) mediante Espectroscopia de Absorción Atómica

Se utilizó el equipo de Espectroscopia de Absorción Atómica, Perkin Elmer; para obtener los espectros de absorción al IR de la sal NAP-Cu. El equipo se encuentra ubicado en el laboratorio de Análisis Instrumental de la Universidad Icesi, es importante tener en cuenta que el Cu²⁺ absorbe a 324.9 nm.

5.2 ETAPA 2. DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE LA SAL NAP-Cu A pH 1.2, FUERZA IÓNICA (μ) 0.15 mol-L⁻¹ Y A DIFERENTES TEMPERATURAS DE ESTUDIO

5.2.1 Materiales y Reactivos

Sal NAP-Cu; agua destilada conductividad $<2 \mu$ S; cloruro de potasio R.A. Merck; ácido clorhídrico fumante P.A. Merck; filtros Millipore[®] 25 mm, 0.45 μ m diámetro de poro; tubos de vidrio con tapa rosca; jeringas plásticas; material de vidrio graduado y/o aforado.

5.2.2 Equipos

Balanza analítica digital, RADWAG AS 220/c/2, precisión 0.1 mg; balanza semianalítica digital, RADWAG PS750/c/1, precisión 0.001 g; Shaker orbital, agitador de vórtice IKA[®]; potenciómetro-pH SCHOTT; espectrofotómetro UV-VIS, UV-1800 SHIMADZU; micropipetas graduables Transferpette[®]; conductímetro SCHOT, equipo de ultrasonido ULTRASONIC[®].

5.2.3 Metodología

5.2.3.1 Obtención de la curva de calibración empleando la metodología analítica al ultravioleta para la cuantificación del compuesto NAP-Cu en medio acuoso

La técnica analítica empleada para la cuantificación de la sal NAP-Cu fue la de espectrofotometría UV. Para ello, se elaboró una curva de calibración para la cuantificación del compuesto NAP-Cu en solución buffer pH 1.2 y fuerza iónica μ 0.15 mol-L⁻¹ (Anexo 2), teniendo en cuenta parámetros como especificidad, linealidad y repetibilidad del instrumento de medida y del método. Estos fueron definidos de acuerdo con el objetivo del análisis fisicoquímico a realizar (Ospina, 1994).

La metodología empleada para la evaluación de cada uno de los parámetros estudiados, se describe a continuación:

5.2.3.1.1 Especificidad

Inicialmente se realizó un registro en la región ultravioleta entre 200 y 350 nm con el solvente acuoso puro (buffer pH 1.2, μ 0.15 mol-L⁻¹ (Anexo 1), para observar si existía algún tipo de absorción en esta región del espectro. Además, se obtuvo el espectro de absorción molecular para la sal NAP-Cu en este sistema buffer con el propósito de definir su longitud de onda de máxima absorción (λ_{\max}). Para ello se utilizó una solución de 1.5 μ g/mL del compuesto.

De igual forma, se obtuvo el espectro de absorción del NAP-Cu degradado, empleando dos soluciones acuosas de 1.5 μ g/mL del compuesto (una envasada en frasco de vidrio ámbar y la otra en un envase de vidrio translúcido), las cuales fueron sometidas a condiciones de estrés: exposición directa a la luz solar por varios días (7 días).

El criterio de aceptación de este parámetro es que se encuentren claramente diferenciados los espectros de absorción de cada uno de los componentes que puedan estar presentes en la solución en el momento de la lectura, de tal forma que la señal que genere la sal NAP-Cu sea diferente de la producida por el medio solvente y por los posibles productos de degradación (Mora *et al.*, 2006). Baena tesis

5.2.3.1.2 Linealidad

En la evaluación de este parámetro se empleó cinco concentraciones crecientes de NAP-Cu en el sistema buffer: 0.8, 1.1, 1.4, 1.7 y 2.0 μ g/mL en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹. La solución de cada concentración fue preparada por triplicado a partir de la dilución de tres soluciones madre de 5 mg/L de NAP-Cu en buffer pH 1.2. Es importante mencionar que debido a que el compuesto es muy hidrófobo, y por lo tanto insoluble en sistemas acuosos, la cantidad de 5 mg de NAP-Cu fue disuelta previamente en 80 mL de metanol. Durante el ensayo de especificidad también se evaluó que no existiera interferencia de este solvente en la obtención del espectro de absorción del compuesto en estudio.

Los resultados obtenidos fueron evaluados utilizando un análisis de regresión lineal y un ANOVA, además se aplicó la prueba t de Student para el intercepto, la pendiente y el coeficiente de correlación.

5.2.3.1.3 Precisión

5.2.3.1.3.1 Repetibilidad

Para determinar la repetibilidad relacionada con el instrumento de medida (espectrofotómetro), se preparó una solución de NAP-Cu de 1.1 $\mu\text{g/mL}$ en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L^{-1} y la cual fue leída diez veces.

En la evaluación de la repetibilidad del método, se elaboraron seis soluciones de 1,1 $\mu\text{g/mL}$ de NAP-Cu en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L^{-1} , a partir de una solución madre de 5 mg/L de NAP-Cu. Para esto se realizaron las diluciones correspondientes hasta obtener lecturas de absorbancia en la zona media de la gráfica de linealidad. Es importante mencionar que las soluciones fueron preparadas en un mismo día, por el mismo analista y leídas en el mismo equipo.

Para el caso de la repetibilidad del instrumento y del método, el análisis estadístico se llevó a cabo mediante la determinación del coeficiente de variación entre las lecturas obtenidas.

5.2.3.2 Estudio de la solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso (pH 1.2 y μ 0.15 mol-L^{-1})

5.2.3.2.1 Ensayos preliminares para la determinación de la solubilidad del compuesto NAP-Cu

Se llevaron a cabo ensayos previos para la determinación de la solubilidad del compuesto NAP-Cu en el sistema solvente utilizado en el estudio (buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol L^{-1}), con los cuales se estableció el tiempo requerido para alcanzar el equilibrio de solución. Este tiempo fue determinado a la temperatura máxima del estudio, correspondiente a 40.0 ± 0.1 $^{\circ}\text{C}$, ya que de esta forma se cubrirían las otras temperaturas a las que se determinaría la solubilidad del compuesto (25.0, 30.0, 35.0 ± 0.1 $^{\circ}\text{C}$). El procedimiento consistió en la realización de muestreos sucesivos a través del tiempo y la respectiva cuantificación del fármaco, hasta encontrar valores relativamente constantes de solubilidad. De esta manera, el tiempo de equilibrio de solución establecido fue de siete días.

5.2.3.2.2 Sistema solvente empleado en el estudio de solubilidad del compuesto NAP-Cu

Para la determinación de la solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso se empleó un sistema buffer a pH 1.2, valor de pH que es acorde con el reportado para el organismo, donde el pH fisiológico para el estómago es de 1.0 (Ansel, 1999). La solución buffer fue ajustada a una fuerza iónica (μ) de 0.15 mol-L⁻¹ con KCl, valor también considerado como fisiológico a nivel del tracto gastrointestinal (Cevc, 1993). En el Anexo 2 se presentan los cálculos realizados para la preparación de esta solución buffer.

5.2.3.2.3 Determinación de la solubilidad del compuesto NAP-Cu

Para la determinación de la solubilidad de la sal NAP-Cu se prepararon tres muestras independientes, para lo cual en tubos de ensayo de vidrio con tapa rosca con capacidad de 10 mL, se adicionó el compuesto a un volumen de solvente establecido (aproximadamente 10 mL), hasta presentar un exceso del mismo sin disolver. Se introdujeron las muestras en un baño de ultrasonido durante una hora y posteriormente se trasladaron al agitador orbital con control de temperatura y se sometieron a 25.0, 30.0, 35.0 y 40.0 \pm 0.1 °C, durante el tiempo necesario para que el sistema alcance el equilibrio, el cual fue establecido en los ensayos preliminares. Durante este tiempo los tubos se mantuvieron en agitación constante.

Posteriormente, se tomó un volumen determinado de la solución de cada una de las muestras, empleando una jeringa plástica y se filtró a través de una membrana con un tamaño de poro de 0.45 μ m, con el fin de asegurar la ausencia de partículas sólidas no disueltas. Se utilizaron jeringas plásticas y filtros precalentados, con el fin de trabajar en condiciones isotérmicas para evitar la precipitación del compuesto por la disminución en la temperatura de la solución. Una vez se obtuvo la solución filtrada se tomó una cantidad (en masa) definida de la misma y se realizaron las diluciones gravimétricas adecuadas con solución buffer pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol-L⁻¹.

Finalmente, se procedió a realizar la valoración de la sal NAP-Cu mediante la técnica espectrofotométrica en la región ultravioleta, obteniendo lecturas de absorbancia dentro de la zona de linealidad en la curva de calibración. A partir de dichas lecturas y del factor de dilución empleado se determinó la concentración del soluto, que corresponde a la solubilidad acuosa del mismo a cada temperatura.

Cada valor de solubilidad se presenta como el resultado promedio de tres determinaciones con su respectiva desviación estándar y coeficiente de variación. Estos valores promediados fueron utilizados para realizar el gráfico de van'tHoff, el cual se ajustó por el método de mínimos cuadrados mediante el programa de Excel.

5.3 MATRIZ DE MARCO LÓGICO

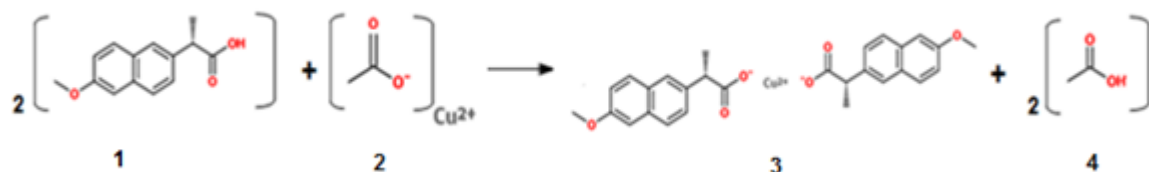
Objetivo General	Objetivos específicos	Actividad	Indicador
<p>Estudiar la solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso, como parte de la etapa de pre-formulación para el diseño de potenciales formas farmacéuticas.</p>	<p>Sintetizar el compuesto NAP-Cu y caracterizarlo estructuralmente, utilizando técnicas analíticas como IR, RMN ¹H análisis elemental y cuantificación de Cobre (Cu²⁺) por absorción atómica.</p>	<p>Realizar una revisión de la literatura científica.</p>	<p>Artículos y documentos propios de metales, complejos y ensayos anteriores.</p>
		<p>Adquirir materiales y reactivos.</p>	<p>Adquisición exitosa.</p>
		<p>Síntesis de la sal NAP-Cu.</p>	<p>Porcentaje de rendimiento de la sal NAP-Cu.</p>
		<p>Caracterizar la sal NAP-Cu. Realizar IR, RMN ¹H, Análisis Elemental y Cuantificación de cobre (Cu²⁺), por Absorción Atómica.</p>	<p>Obtención de espectros.</p> <p>Vibraciones y enlaces característicos de grupos químicos de la sal NAP-Cu</p> <p>Señales de protones, con un desplazamiento (ppm) específico de acuerdo a su ambiente químico.</p> <p>Porcentaje de carbono, hidrogeno y oxígeno presentes en la molécula de la sal NAP-Cu.</p> <p>Porcentaje de cobre (Cu²⁺) presente en la molécula sal NAP-Cu.</p>
	<p>Determinar la solubilidad de la sal NAP-Cu, a condiciones fisiológicas de pH y fuerza iónica (pH: 1.2; μ: 0.15 mol L⁻¹) y a diferentes temperaturas (25.0, 30.0, 35.0 y 40.0 \pm 0,1 °C).</p>	<p>Realizar una revisión de la literatura científica</p>	<p>Artículos científicos sobre estudios de solubilidad de NAP.</p>
		<p>Elaborar una curva de calibración para la cuantificación de la sal complejo NAP-Cu en solución buffer pH 1.2 y fuerza iónica μ 0.15 mol L⁻¹.</p>	<p>Curva de calibración que cumple con el parámetro de Especificidad, Linealidad y repetibilidad del método y del instrumento.</p>

		<p>Realizar ensayos preliminares de la solubilidad de la sal NAP-Cu a pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹, a las diferentes temperaturas de estudio.</p>	<p>Tiempo necesario para que el sistema alcance el equilibrio de solución en el solvente a utilizar.</p>
		<p>Determinación de la solubilidad de la sal NAP-Cu a pH 1.2 y μ 0.15 mol- L⁻¹, a 25.0, 30.0, 35.0 y 40.0 \pm 0.1 °C.</p>	<p>Valores de la solubilidad de la sal NAP-Cu a las diferentes temperaturas de estudio, en el sistema solvente definido.</p>

6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DEL NAP-Cu

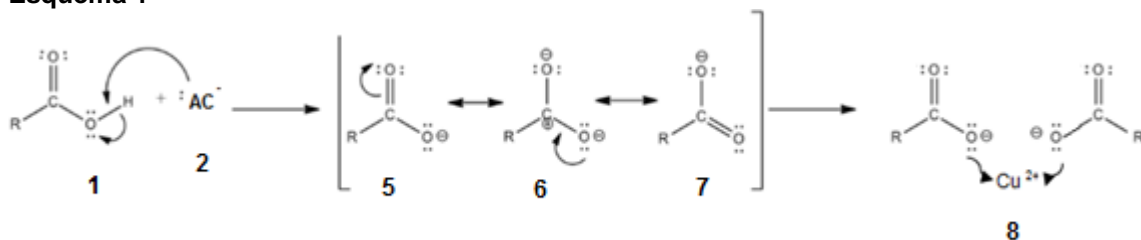
La síntesis realizada para la obtención de la sal NAP-Cu **3**, se realizó a partir del NAP **1**, y acetato de cobre **2**, como se muestra en la ecuación 6.1



(EC. 6.1)

El mecanismo propuesto para la síntesis de la sal NAP-Cu se describe en el esquema 1, donde **R** indica la parte hidrocarbonada de la molécula NAP, **AC⁻** el ion acetato y al **Cu²⁺**, el ion cobre.

Esquema 1



En el esquema 1 se observa que **2** acepta el ion H⁺, por lo tanto se produce la desprotonación de **1** generando estructuras resonantes **5 a 7**, posteriormente el cobre interacciona mediante fuerzas atractivas electrostáticas, formando la sal NAP-Cu.

6.1.1 Control de calidad del NAP

Inicialmente se realizó la caracterización por IR. El espectro de IR se muestra en la Figura 6.1 y en el anexo 2 se presenta el certificado de calidad del NAP que fue utilizado como materia prima para la síntesis de la sal NAP-Cu.

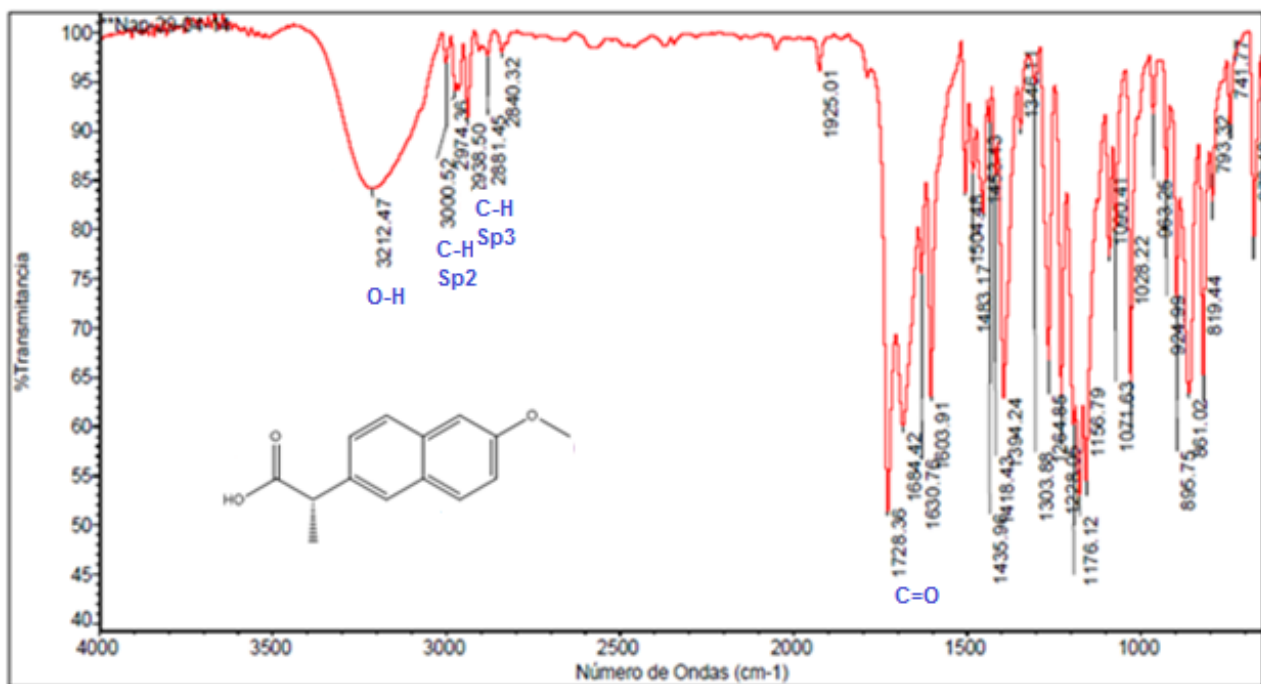


Figura 6.1 Espectro IR de NAP.

En el espectro IR se observa en 3212.47 cm^{-1} , una banda ancha de vibración de tensión del grupo OH, que pertenece al grupo funcional ácido carboxílico. Entre 1228.05 y 1303.88 cm^{-1} se encuentran las bandas intensas, debida al alargamiento C-O, teniendo en cuenta que para éteres del tipo Ar-O-CH₃ se presenta una tensión asimétrica C-O-C, y una vibración simétrica más débil, entre 1028.22 y 1071.63 cm^{-1} . La absorción de alta frecuencia por alargamiento C-H del carbono sp³, se observa en el espectro entre 2938.50 y 2974.36 cm^{-1} ; en 3000.52 cm^{-1} se encuentra la señal que corresponde a la absorción por estiramiento C-H del carbono Sp². Para enlaces dobles C=C la señal por conjugación se encuentra a 1603 cm^{-1} y la banda que corresponde al alargamiento del enlace C-C aparece a 1630 cm^{-1} .

Entre 819 y $875,19\text{ cm}^{-1}$ se observa la flexión, fuera del plano del enlace, C-H pertenecientes a los anillos aromáticos, este tipo de absorciones son internas. La señal de tensión del grupo carbonilo (C=O) se observa en $1728,36\text{ cm}^{-1}$. La señal que indica los sobretonos correspondientes al enlace C-H de los anillos aromáticos del NAP se observan entre $1925,01$ y 2100 cm^{-1} . Esta banda presenta

menor intensidad que las anteriormente descritas debido a que el momento dipolar del enlace es pequeño y por lo tanto la vibración de estiramiento y de deformación del enlace va a ser baja, en consecuencia se observa en ambos espectros bajas intensidades de absorción para este tipo de enlace (Morrison, 1998).

6.1.2 Descripción Física de la sal NAP-Cu

La sal NAP-Cu es un polvo fino de color verde esmeralda, inoloro

Rendimiento: 50 %

Punto de fusión: 250,05 °C



Figura 6.2 Descripción Física de la sal NAP-Cu.

6.1.3 Caracterización de la Sal NAP-Cu por IR

En la figura 6.3 se presenta el espectro de la sal NAP-Cu.

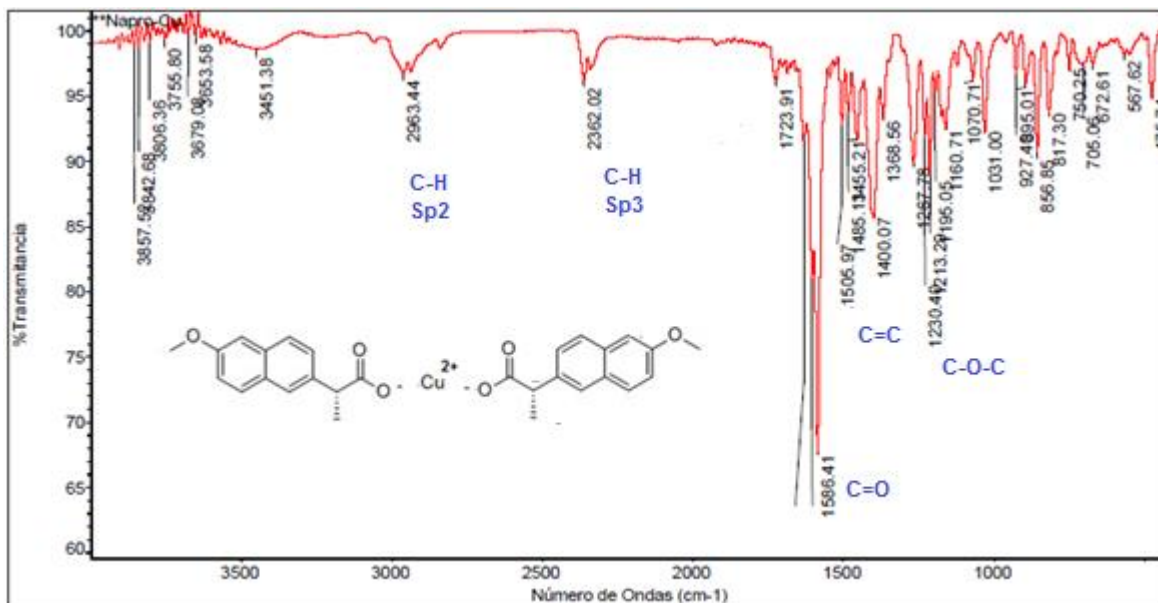
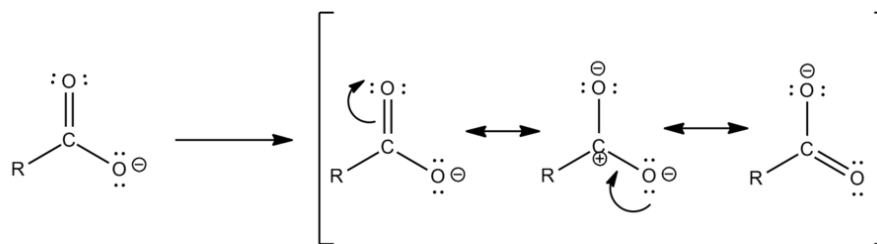


Figura 6.3 Espectro IR de la sal NAP-Cu.

En el espectro IR de la sal NAP-Cu, se observa como la banda en $3212,47\text{ cm}^{-1}$, que corresponde a la vibración de tensión del grupo OH, en el NAP (Figura 6.1), desaparece; además el espectro de IR de NAP-Cu presenta una disminución en el número de onda de las señales con respecto al del NAP, por ejemplo la señal que corresponde a la frecuencia de vibración del carbonilo (C=O), se desplazó hasta un número de onda de $1586,41\text{ cm}^{-1}$.



Esquema 2

(Vollhardt, 2000)

Es posible que la disminución del número de onda con respecto a las bandas se deba a que el par de electrones al conjugarse con el grupo carbonilo por efecto electrodonante, aumenta el carácter simple del grupo C=O y de esta manera baja la frecuencia de estiramiento.

Entre 1213.29 y 1230.0 cm^{-1} se observa las bandas intensas correspondientes a la vibración de tensión del enlace C-O-C, también la absorción de alta frecuencia por alargamiento C-H del carbono Sp^3 , se observa en el espectro de NAP-Cu en 2362.02 cm^{-1} y en 2963.44 cm^{-1} se encuentran las bandas intensas correspondientes a la vibración de tensión del enlace C-H del carbono Sp^2 . La señal correspondiente a la vibración de tensión del enlace C=C de los anillos aromáticos de NAP-Cu aparece alrededor de 1505.97 cm^{-1} . Entre 817.30 y 856.5 cm^{-1} se conserva la señal con respecto a la del NAP y corresponde a la flexión, fuera del plano del enlace, C-H de los anillos aromáticos. Finalmente con este análisis se puede concluir que el espectro IR del NAP-Cu tiene algunos cambios con respecto al espectro IR del NAP. Se resalta la ausencia de la banda del enlace O-H correspondiente al grupo carboxílico del NAP, confirmando la formación del enlace iónico entre Cu^{2+} y el NAP en su forma iónica.

6.1.4 Caracterización de la Sal NAP-Cu por RMN ^1H

En la figura 6.4 se presenta el espectro RMN ^1H del NAP. Entre 7.0 y 8.0 ppm se observa tres señales que corresponden a los protones de los anillos aromáticos; a 7.74 y 7.69 ppm se encuentran los protones más desplazados, posteriormente se observa las señales 7.44 y 7.41 ppm y finalmente a 7.20 y 7.10 ppm se encuentran las señales correspondientes a los protones que presentan menor desplazamiento. Entre 3.90 y 3.83 ppm se encuentra un singulete que integra para 3 protones y que corresponde a los protones unidos al grupo metoxilo (O-CH_3) y en este desplazamiento también se encuentra un cuarteto que integra para 1 protón, y la señal entre 1.56 y 1.54 ppm es un singulete e integra para tres protones y corresponde a los protones del CH_3 .

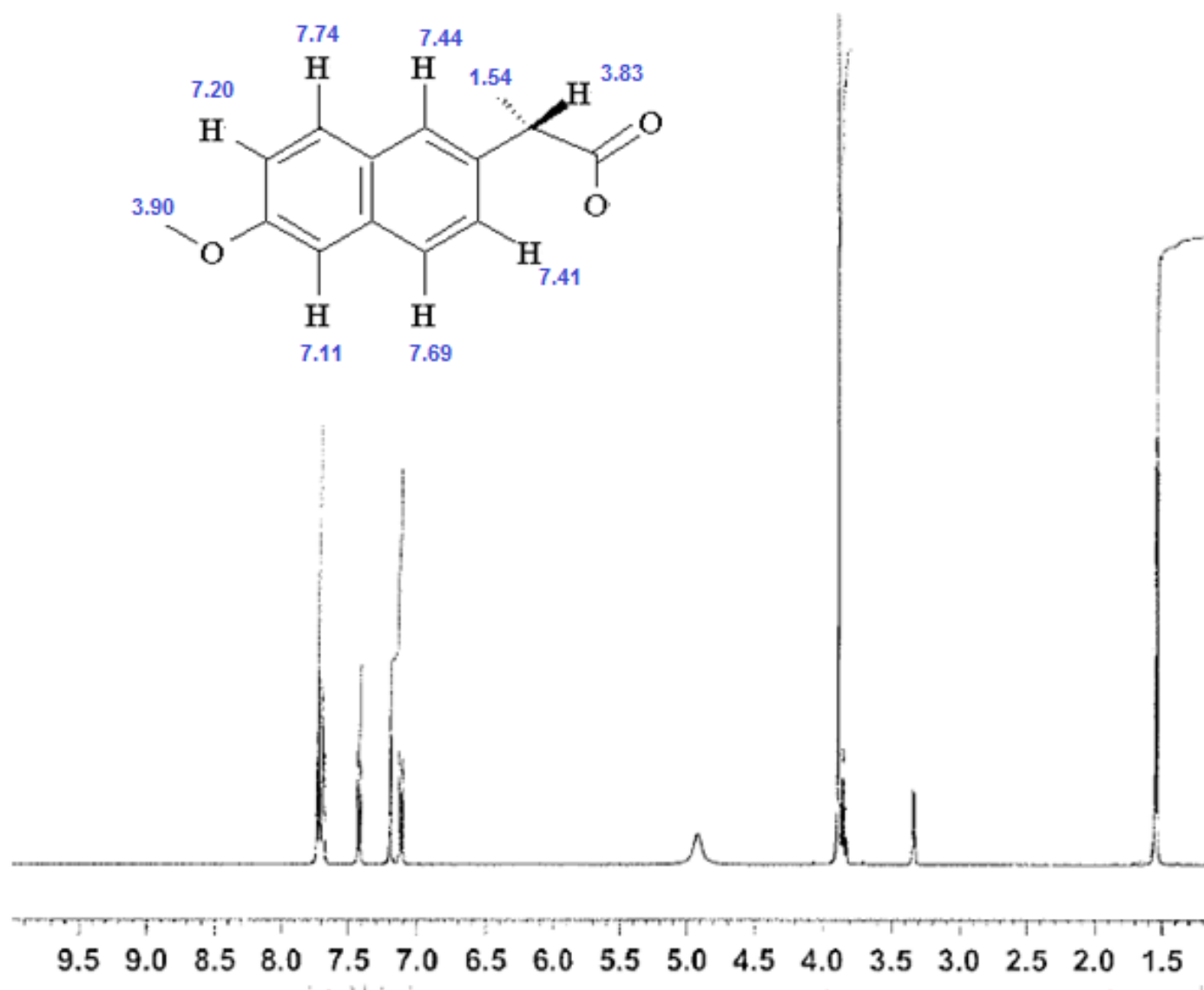


Figura 6.4 Espectro RMN ¹H del NAP.

En la figura 6.5 se observa el espectro RMN ^1H del NAP-Cu.

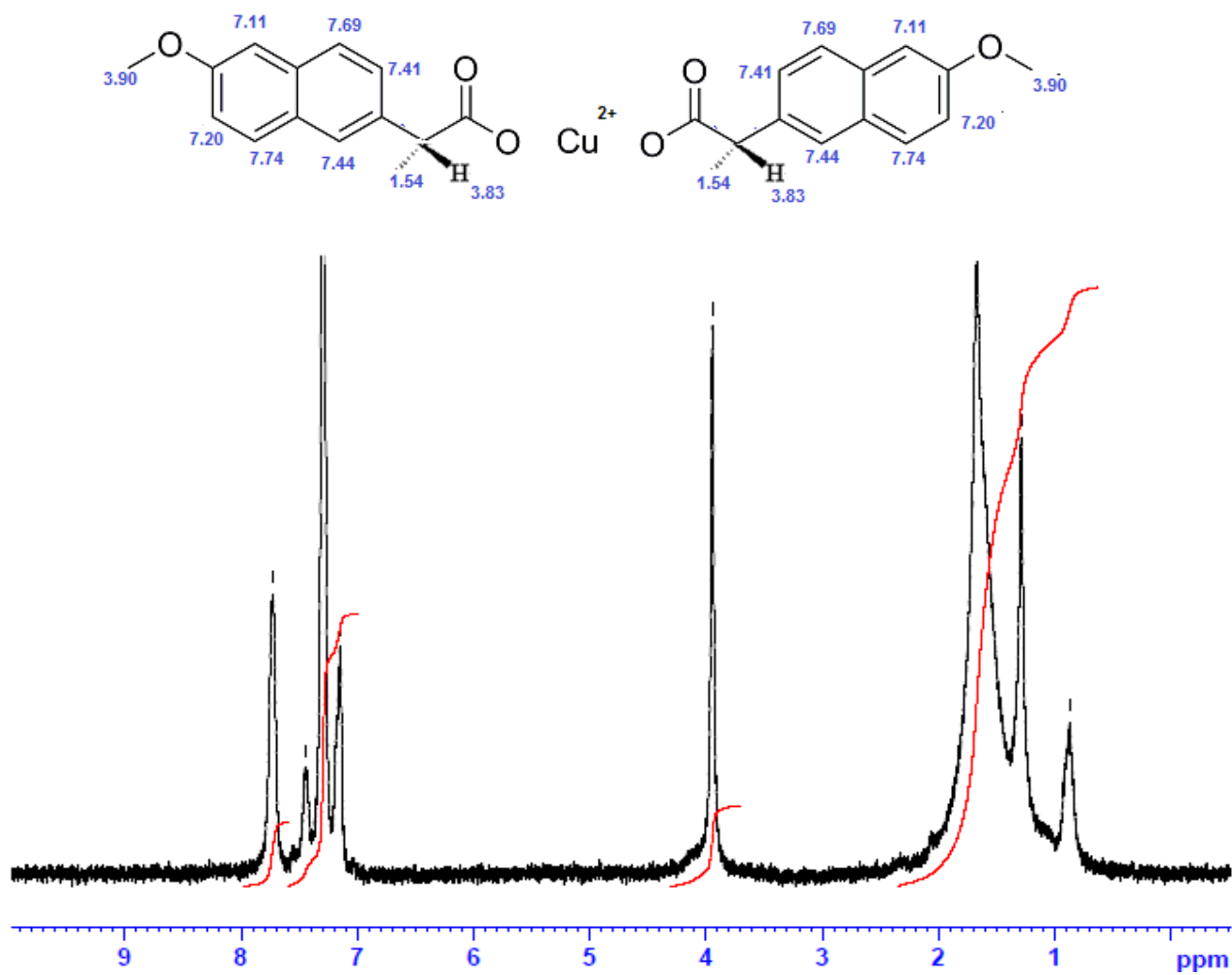


Figura 6.5 Espectro RMN ^1H de la sal NAP-Cu.

En el espectro de RMN ^1H , del NAP-Cu se observa las señales correspondientes a los protones de los anillos aromáticos entre 7.0 y 8.0 ppm, estas señales se encuentran en la misma zona, con respecto al espectro RMN ^1H , del NAP. Entre 3.90 y 3.83 ppm se observa las señales que corresponden a los protones unidos al grupo metoxilo (O-CH_3), el desplazamiento se debe a que este grupo se encuentra unido directamente con el oxígeno (átomo electronegativo) que produce desapantallamiento al disminuir densidad electrónica alrededor de los protones que hacen parte del grupo metoxilo, y por lo tanto absorben a campo bajo (Morrison, 1998); se considera que en este mismo desplazamiento se encuentra un cuarteto que integra para 1 protón; la señal que se encuentra entre 0.8-2.2 ppm corresponde a los protones unidos al grupo metilo ($-\text{CH}_3$), y el protón que hace parte del grupo carboxílico no se visualiza en el espectro ya que se encuentra entre 10.5 y 13.0 ppm. Como se puede observar las señales del espectro RMN ^1H de la sal NAP-Cu, no se tienen la suficiente resolución, para definir la integración, esto se debe a que las impurezas presentes en la muestra interfieren en la toma del espectro y por lo tanto en la definición de las señales obtenidas.

6.1.5 Caracterización de la Sal NAP-Cu mediante Análisis Elemental

El análisis elemental es una herramienta que aporta información del porcentaje de cada elemento en la molécula. Para realizar un análisis, del cambio que presentó la molécula de NAP con respecto a la sal NAP-Cu, haciendo referencia a dichos porcentajes, a continuación se presentan los resultados de análisis elemental tanto experimental y el obtenido teóricamente para la molécula de NAP y para el compuesto sintetizado NAP-Cu.

Tabla 6.1 Análisis Elemental de NAP y la Sal NAP-Cu.

Porcentajes Obtenidos Experimentalmente		Porcentajes Calculados Teóricamente	
NAP	NAP-Cu	NAP	NAP-Cu
Carbono:72,10 %	Carbono: 65,15%	Carbono:73,026%	Carbono: 64,42%
Oxígeno:21,81 %		Oxígeno: 20,845%	Oxígeno:18,39%
Hidrógeno: 6,09 %	Hidrógeno: 5,12%	Hidrógeno: 6,129%	Hidrógeno:5,02 %
	*Cobre (Cu ²⁺): 11,26%		Cobre (Cu ²⁺):12,17%

*Resultado obtenido experimentalmente

Teniendo en cuenta las estructuras moleculares de NAP y NAP-Cu, los porcentajes calculados teóricamente son muy similares a los obtenidos experimentalmente; este resultado demuestra la concordancia entre el porcentaje de cada elemento y la estructura molecular propuesta para la sal NAP-Cu.

Cuando se incorpora Cu²⁺ a la molécula de NAP, se forma la sal NAP-Cu mediante enlace iónico y en consecuencia se presenta una disminución en los porcentajes de cada elemento, como se indica en la Tabla 6.1.

6.1.6 Cuantificación de cobre por espectroscopia de Absorción Atómica

Finalmente para obtener conocimiento acerca del porcentaje de cobre incorporado en la molécula, de NAP-Cu, se realizó la cuantificación del metal por absorción atómica. Obteniendo los siguientes resultados.

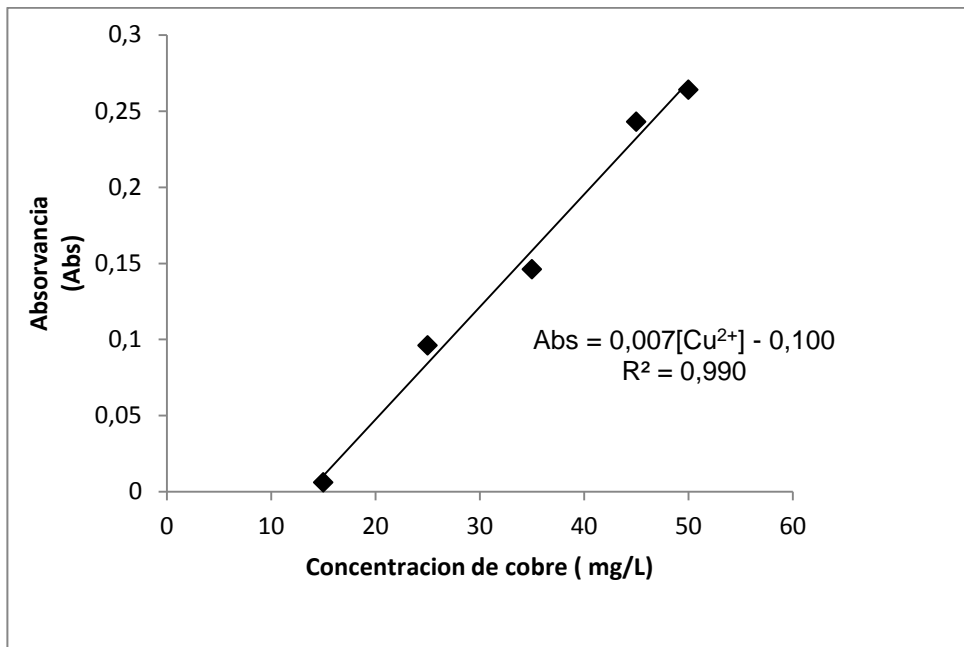


Figura 6.6 Curva de calibración para cuantificar Cu^{2+}

En la Figura 6.6 se presenta la curva mediante la cual se obtiene la ecuación de la recta y teniendo en cuenta la absorbancia de la muestra (0.058), se calcula la concentración de cobre:

$$\text{Abs} = 0,007[\text{Cu}^{2+}] - 0,100$$

$$[\text{Cu}^{2+}] = \frac{0,100 + 0,058}{0,007} = 22,571 \text{ mg/L}$$

Esta concentración es utilizada para calcular el porcentaje de cobre en 1g de muestra que fue sometida a proceso de digestión, en este cálculo se tendrá en cuenta el factor de dilución,

$$C_1 V_1 = C_2 V_2 \text{ (Ec. 6.1)}$$

$$C_1 \times 0,2 \text{ mL} = 22,571 \text{ mg/L} \times 10 \text{ mL}$$

$$C_1 = \frac{22,571 \text{ mg} \times 10 \text{ mL}}{0,2 \text{ mL}} = 1128,55 \text{ mg/L}$$

$$\frac{1128.55\text{mg} \cdot 100\text{mL}}{L} \cdot \frac{1\text{L}}{1000\text{mL}} \cdot \frac{1\text{g}}{1000\text{mg}} \cdot \frac{100\%}{1\text{gmuestra}} = 11,26 \text{ \% de metal en la muestra}$$

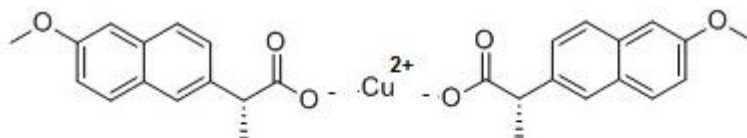
De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis elemental teórico, el cual indica un porcentaje de 12,17 % de cobre en la muestra de la sal NAP-Cu, y el porcentaje de cobre obtenido de la cuantificación por absorción atómica, de una muestra del compuesto sintetizado, previamente sometido a un proceso de digestión se obtiene un porcentaje cercano al valor teórico, por lo cual se puede concluir que el 11,26% de cobre fue incorporado a la molécula y además, este resultado coincide con el porcentaje que debería tener la estructura molecular propuesta para la sal NAP-Cu.

El porcentaje de carbono, calculado a partir de la estructura molecular propuesta para la sal NAP-Cu, coincide con el porcentaje obtenido mediante la técnica de análisis elemental, de igual manera ocurre con el porcentaje de oxígeno e hidrógeno. Cabe resaltar que el porcentaje de cada elemento disminuye una proporción debido a la incorporación de Cu^{2+} .

Todo el proceso de caracterización y el respectivo análisis, se realizó con el fin de identificar los grupos funcionales, presentes en la sal NAP-Cu de tal manera que se puede sustentar la estructura molecular propuesta para este compuesto sintetizado.

Los resultados obtenidos de la caracterización de la sal NAP-Cu, indican que el átomo de cobre (Cu^{2+}) fue incorporado a la molécula de NAP para formar el compuesto sintetizado (sal NAP-Cu). En el espectro (IR), se observa que la señal correspondiente al grupo (OH), desaparece debido a que en esta posición se incorpora el Cu^{2+} para formar un enlace iónico con el oxígeno del grupo funcional ácido carboxílico. Adicionalmente mediante RMN ^1H , se observó que las señales características correspondientes a los tipos de protones de la molécula de NAP, se mantienen en la molécula de la sal NAP-Cu, y el análisis elemental aporta información acerca de los porcentajes de C, H y O presentes en la molécula de NAP-Cu, estos valores coinciden con los porcentajes calculados teóricamente y finalmente mediante la cuantificación por espectroscopia de Absorción atómica se obtuvo que el porcentaje de cobre incorporado en la molécula fue de 11,26%. Teniendo en cuenta estos resultados a continuación se propone la siguiente

estructura química, con el peso molecular y el porcentaje de cada átomo presente en la molécula.



Chemical Formula: $C_{28}H_{26}CuO_6$

Exact Mass: 521,10

Elemental Analysis: C, 64.42; H, 5.02; Cu, 12.17; O, 18.39

Esta estructura se obtuvo de un software, utilizado para el diseño de estructuras químicas. El análisis elemental reportado a través del software, teniendo en cuenta la estructura molecular propuesta para el compuesto NAP-Cu, indica los porcentajes de cada átomo implicado en la estructura, y comparando con el análisis elemental que se realizó a la sal NAP-Cu sintetizado, los porcentajes son muy similares. El porcentaje de cobre (Cu^{2+}) obtenido mediante cuantificación por espectroscopia de Absorción Atómica 11,26% es cercano al reportado teóricamente, cuyo valor es 12,17%.

A continuación se presenta una caracterización física y química del compuesto:

6.1.7 Propiedades Físicas y Químicas

Fórmula molecular: $C_{28}H_{26}CuO_6$

Masa Molar: $522,05g\cdot mol^{-1}$

En conclusión, los resultados de la caracterización de la sal NAP-Cu, indica que se obtuvo el compuesto y que la estructura química propuesta es la más adecuada.

6.2 ETAPA 2. DETERMINACIÓN DE LA SOLUBILIDAD DE LA SAL NAP-Cu A pH 1.2, FUERZA IÓNICA (μ) 0.15 mol-L⁻¹ Y A DIFERENTES TEMPERATURAS DE ESTUDIO

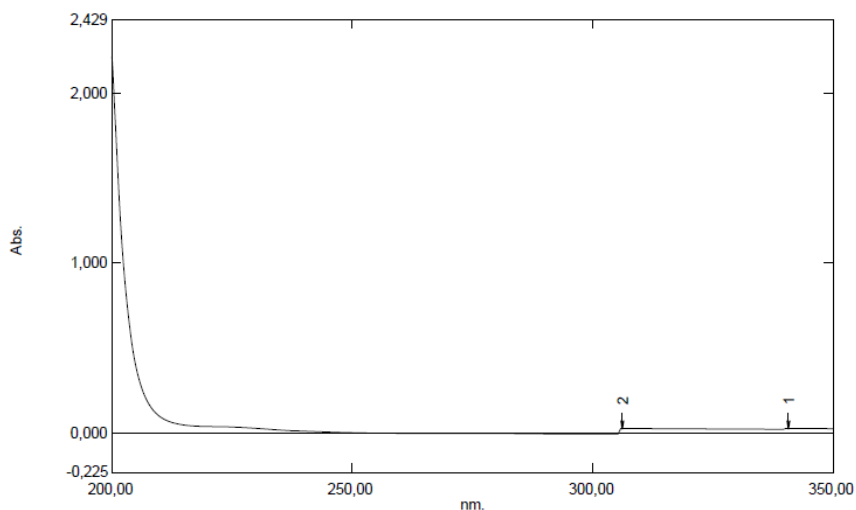
6.2.1 Obtención de la curva de calibración empleando la metodología analítica al ultravioleta para la cuantificación de la sal NAP-Cu en medio acuoso

Para obtener la curva de calibración a emplear en la cuantificación de la sal NAP-Cu en medio acuoso (pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹), se utilizó el método analítico de espectrofotometría UV, teniendo en cuenta que la sal NAP-Cu en su estructura molecular presenta grupos cromóforos compatibles (naftilo y carbonilo), los cuales permiten obtener una adecuada absorción en la región UV (Mora, 2006).

A continuación se presentan los resultados de los parámetros evaluados para la curva de calibración y se realiza el análisis correspondiente de los mismos.

6.2.1.1 Especificidad

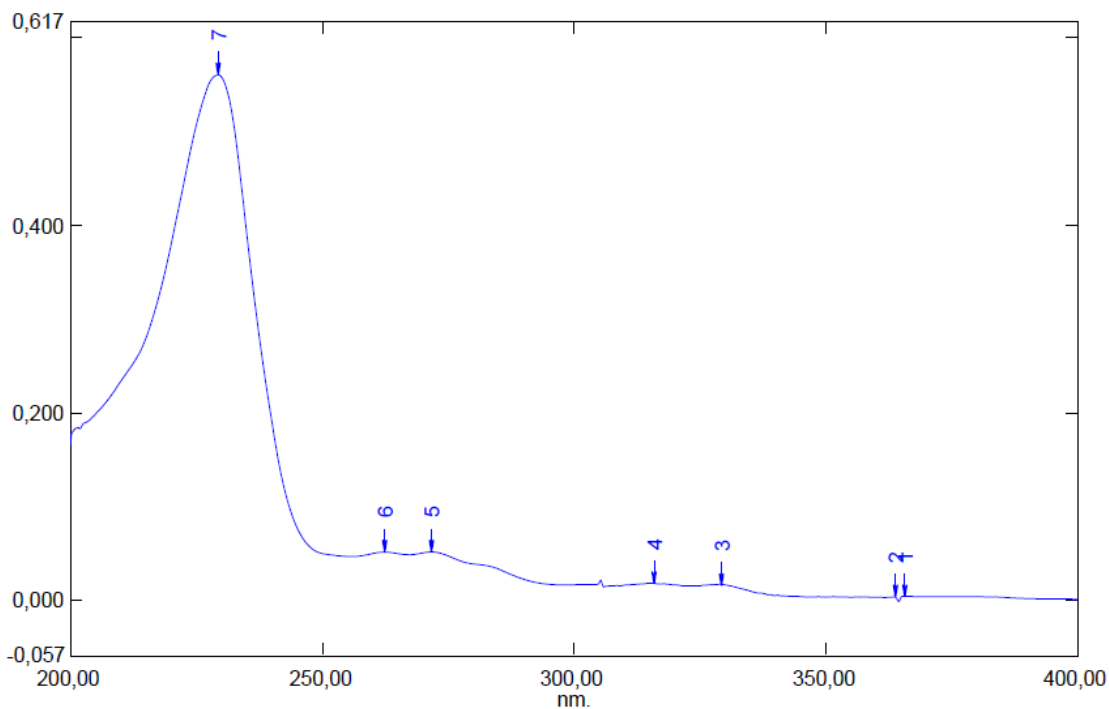
Como se observa en la Figura 6.7, la solución buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹ no presenta ningún tipo de absorción en el intervalo de 200 a 350 nm. El máximo de absorción (λ_{\max}) para la sal NAP-Cu en este sistema solvente fue de 229,20nm, considerando que este pico permitió obtener un valor de absorbancia intermedio en el intervalo entre 0.150 y 0.850, adecuado para el cumplimiento de la ley de Lambert y Beer, como se indica en la Figura 6.8.



No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	↑	340,90	0,029
2	↑	306,30	0,029
3	↓	339,40	0,024
4	↓	304,80	-0,004
5	↓	259,20	0,000

Figura 6.7 Espectro UV de la solución Buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol L⁻¹.

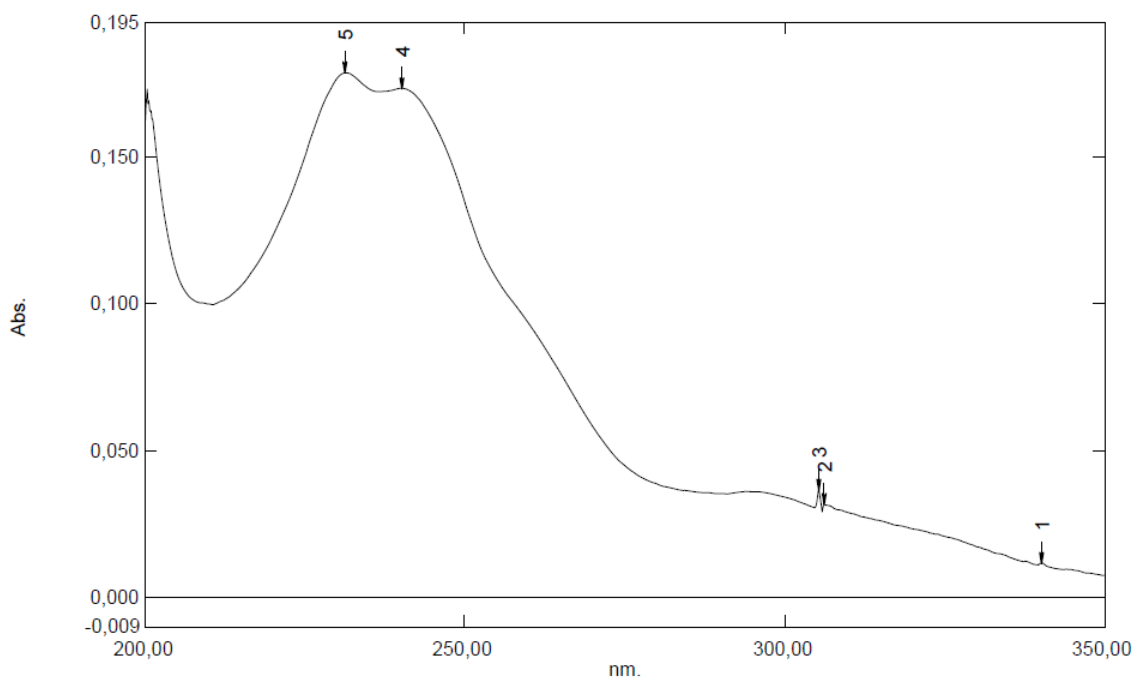
En la validación de una metodología analítica para la cuantificación de NAP en estudios de solubilidad en medios acuosos y reparto líquido/líquido mediante espectrofotometría ultravioleta, Mora y colaboradores reportaron una la longitud de onda de máxima absorción para este fármaco de 229 nm en medio acuoso a pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol·L⁻¹. Al comparar este valor con el obtenido para la sal NAP-Cu y bajo las mismas condiciones no se presentaron diferencias considerables en la longitud de onda de máxima absorción para la sal NAP-Cu, la cual fue de 229.20 nm.



No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	☉	365,80	0,004
2	☉	363,80	0,004
3	☉	329,20	0,017
4	☉	315,80	0,019
5	☉	271,60	0,052
6	☉	262,60	0,052
7	☉	229,20	0,561
8	☾	364,60	-0,001
9	☾	324,20	0,016
10	☾	306,00	0,014
11	☾	296,40	0,017
12	☾	267,20	0,049
13	☾	255,80	0,047

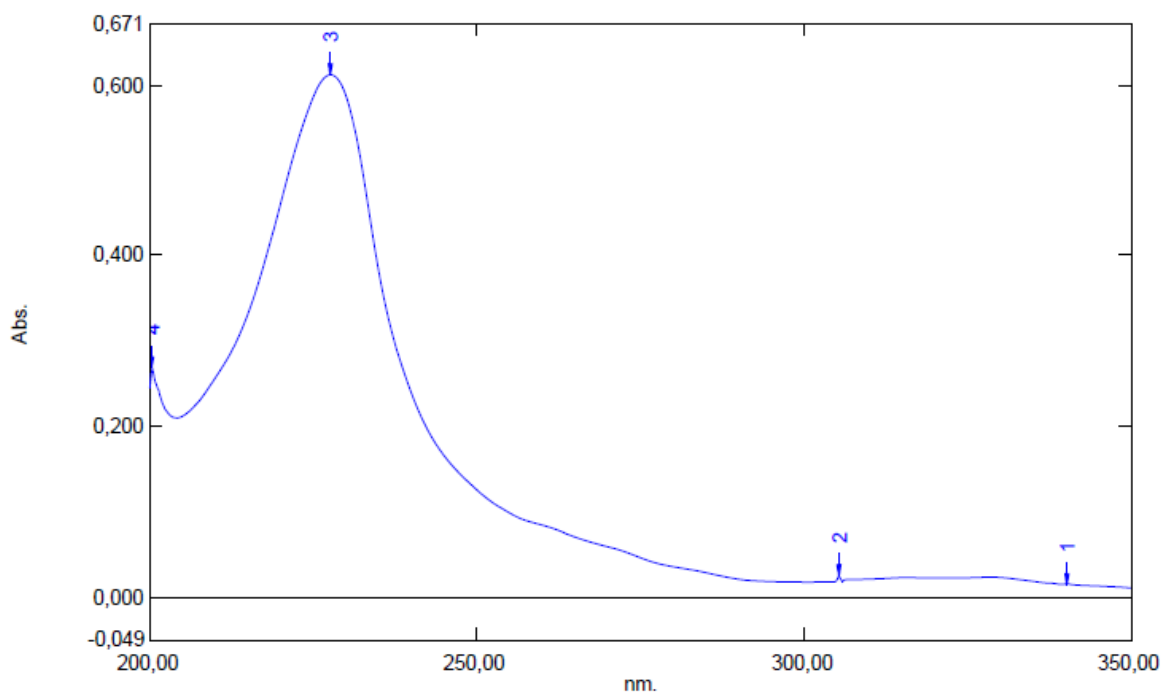
Figura 6.8 Espectro UV del NAP-Cu en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹ (Concentración 1.5 μ g/mL).

De otro lado, en la Tabla 6.2 se reportan las observaciones realizadas al comparar los espectros de absorción molecular al UV del compuesto NAP-Cu, expuesto a condiciones de estrés como exposición a la luz solar (Figuras 6.9 y 6.10), y el obtenido para la solución envasada en un recipiente ámbar, es decir con protección a la luz solar (Figura 6.10).



No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	⬆	340,30	0,016
2	⬆	305,40	0,025
3	⬆	227,60	0,611
4	⬆	200,40	0,268
5	⬇	339,70	0,016
6	⬇	305,90	0,018
7	⬇	303,50	0,018
8	⬇	204,00	0,210

Figura 6.9 Espectro UV de la muestra resultante de la exposición a luz solar, envasada en frasco de vidrio transparente, en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹ (Concentración 1.1 μ g/mL de NAP-Cu).



No.	P/V	Wavelength	Abs.
1	⬆	340,30	0,016
2	⬆	305,40	0,025
3	⬆	227,60	0,611
4	⬆	200,40	0,268
5	⬇	339,70	0,016
6	⬇	305,90	0,018
7	⬇	303,50	0,018
8	⬇	204,00	0,210

Figura 6.10 Espectro UV de la muestra resultante de la exposición a luz solar, envasada en frasco de vidrio ámbar, en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹ (Concentración 1.1 μ g/mL de NAP-Cu).

Tabla 6.2. Observaciones de la comparación de los espectros de absorción de las soluciones de NAP-Cu en buffer pH 1.2 (μ 0.15 mol-L⁻¹), expuestos a la luz y protegidos de la luz, en recipiente de vidrio ámbar.

Condición de estrés		Solución de 1.1 μ g/mL de NAP-Cu en buffer pH 1.2 (μ 0.15 mol-L ⁻¹)	
		Envasada en frasco de vidrio ámbar	Envasada en balón de vidrio transparente
Exposición a luz solar	Duración (días)	4	4
	Observación	No hubo alteración en la forma del espectro. Este presenta una ligera disminución del valor de absorbancia a 229.20 nm, respecto al de la solución de NAP-Cu sin degradar.	La señal de máxima absorción presenta una disminución considerable en el valor de absorbancia y se encuentra deformado con respecto al espectro patrón.

De acuerdo con la descripción realizada en la Tabla 6.2, las muestras de la sal NAP-Cu en el sistema acuoso (pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹), se deben proteger de la luz solar durante el desarrollo del estudio de solubilidad para evitar la descomposición del compuesto y la posible generación de productos de degradación que alteren la absorbancia generadas por el NAP-Cu y que por lo tanto, puedan afectar la especificidad de la metodología analítica.

Estudios anteriores han reportado que cuando se exponen soluciones acuosas (pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹) del NAP a una temperatura de 40 °C, el fármaco permanece estable y no se originan productos de descomposición, de tal forma que esta información se tuvo en cuenta para la realización del presente trabajo, indicando con ello que no existen otros compuestos que puedan interferir con la señal producida por la sal NAP-Cu (Mora *et al.*, 2006).

Por lo anterior, la metodología analítica cumple con el parámetro de especificidad.

6.2.1.2 Linealidad

A continuación se presenta la representación gráfica y la ecuación de la regresión lineal de la curva de calibración para la cuantificación del compuesto NAP-Cu en el sistema buffer pH 1,2 y fuerza iónica 0.15 mol-L⁻¹.

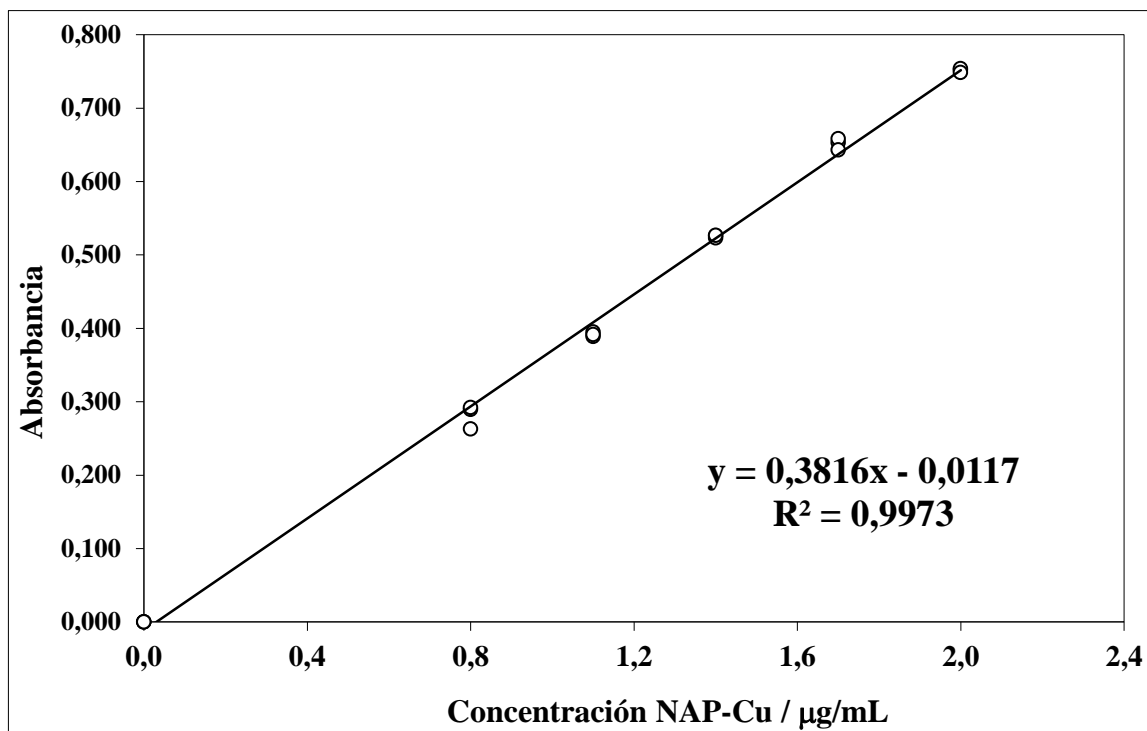


Figura 6.11 Gráfica de linealidad para NAP-Cu en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹ a 229,2 nm.

Para el parámetro de linealidad, se obtuvo un coeficiente de correlación (r) de 0,99867; con el fin de verificar la regresión lineal se determinó el estadístico t de Student para r y la pendiente (b) (Tabla 6.3).

Prueba t Student:

- Hipótesis nula (H_0): no existe una correlación significativa entre las dos variables: concentración (x) y absorbancia (y).
- Hipótesis alterna (H_1): Existe una correlación significativa entre las dos variables: concentración (x) y absorbancia (y).

Tabla 6.3. Parámetros estadísticos para la linealidad de NAP-Cu en buffer pH 1,2 y μ 0.15 mol-L⁻¹.

Parámetro	Valor	Desviación estándar	Hipótesis nula	Hipótesis alterna	t_{exp}	$t_{\text{tab}}(16;0.05)$
Intercepto (a)	-0.01166	0.00657 (Sa)	$H_0: \alpha=0$	$H_1: \alpha \neq 0$	1.774	2.120
Pendiente (b)	0.38159	4.922×10^{-3} (Sb)	$H_0: \beta=0$	$H_1: \beta \neq 0$	77.533	2.120
Correlación (r)	0.99867	-	$H_0: r=0$	$H_1: r \neq 0$	77.533	2.120

Tanto para la pendiente (b) como para el coeficiente de correlación (r), el valor de t experimental fue mayor que el t de la tabla ($77.533 > 2.120$), en consecuencia se rechaza la hipótesis nula ($H_0: r = 0$ y $H_0: \beta = 0$) y se acepta que existe una correlación significativa entre las dos variables, concentración (x) y absorbancia (y) con una confiabilidad del 95 %. De esta forma se evidencia que tanto r como b son diferentes de cero, indicando con ello que existe regresión lineal entre la concentración y la absorbancia.

Este resultado obtenido fue confirmado por el ANOVA para el coeficiente de regresión (Tabla 6.4):

Prueba de Fisher:

- Hipótesis nula (H_0): no existe diferencia significativa entre las respuestas (absorbancia) al variar la concentración.
- Hipótesis alterna (H_1): existe diferencia significativa entre las respuestas (absorbancia) al variar la concentración.

Tabla 6.4. Cuadro de ANOVA para NAP-Cu en buffer pH 1.2y μ 0.15 mol-L⁻¹.

Fuente de Variación (F.V.)	Grados de Libertad (G.L.)	Sumatoria de Cuadrados (S.C.)	Cuadrado Medio (C.M.)	F _{exp}	F _{tab}
Regresión	1	1.10663	1.10663	6011.41	4.49
Error	16	2.94541×10^{-3}	0.000184088	-	-

Se obtuvo un valor de F mayor al tabulado ($6011.41 > 4.49$), rechazándose la hipótesis nula, por lo tanto, con un 95 % de confianza, existe diferencia significativa entre las respuestas (absorbancia) al variar la concentración (Montgomery, 2004).

El valor de t experimental para el intercepto (a) fue menor al t tabulado ($1.774 < 2.120$), por lo tanto no se rechaza la hipótesis nula ($H_0: \alpha = 0$), con una confiabilidad del 95 %, lo que indica que la recta presenta un intercepto que no es significativamente diferente de cero. Además se calculó el límite de confianza para el intercepto, el cual contiene al origen (cero), demostrando así que existencia convergencia al origen (Tablas 6.3 y 6.5).

Tabla 6.5. Intervalos de confianza ($1 - \alpha = 0.95$) para el intercepto y la pendiente de la curva de calibración de NAP-Cu en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹.

Parámetro	Límite de confianza superior	Límite de confianza inferior
Intercepto ($a \pm t * S_a$)	0.002276	-0.025591
Pendiente ($b \pm t * S_b$)	0.392022	0.371154

Teniendo en cuenta los resultados obtenidos y el análisis estadístico realizado se demuestra que la metodología analítica para la cuantificación de la sal NAP-Cu en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹, cumple con el parámetro de linealidad, en el rango de concentraciones definidas.

6.2.1.3 Precisión

6.2.1.3.1 Repetibilidad del instrumento y del método

Para analizar la variación de las mediciones, obtenidas con el instrumento de medida (espectrofotómetro), se obtuvo el coeficiente de variación de las 10 lecturas de una solución de NAP-Cu de 1.1 μ g/mL en buffer pH 1.2 (μ 0.15 mol-L⁻¹), cuyo valor fue de 0.138 %; el cual no es mayor al porcentaje definido como máximo en la literatura, generalmente se reporta un valor máximo del 1 % (Green, 1996).

En cuanto a la repetibilidad del método, el coeficiente de variación para las 6 soluciones de NAP-Cu en buffer pH 1.2 (μ 0.15 mol-L⁻¹), fue de 1.339 %, valor acorde con el máximo permitido que se encuentra entre el 2 y el 3 % (Green, 1996). Considerando estos resultados se puede afirmar que la metodología cumple con el parámetro de repetibilidad.

6.3 Determinación de la solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso

Considerando que la solubilidad es definida como la concentración de soluto en una disolución saturada a una determinada temperatura y presión constante, la cual se determina en presencia de soluto sin disolver en un medio solvente definido, en el caso del presente estudio se obtuvo la solubilidad de la sal NAP-Cu a condiciones fisiológicas de pH y fuerza iónica (pH: 1.2; μ : 0.15 mol-L⁻¹) y a diferentes temperaturas (25.0, 30.0, 35.0 y 40.0 \pm 0,1 °C). También es importante tener en cuenta que para determinar la solubilidad de la Sal NAP-Cu, es

necesario, obtener datos en un intervalo de temperaturas para analizar la variación de la temperatura con respecto al tiempo.

Esta propiedad fisicoquímica se puede expresar en distintas unidades de peso o volumen de disolvente o de disolución (Vila, 1997). En este caso la solubilidad del compuesto sintetizado se expresa en términos de molaridad (C), la cual es una unidad de concentración volumétrica de uso común en el campo farmacéutico y en química analítica, y además puede convertirse a porcentaje peso a volumen, facilitando así la presentación de los resultados (Mora, 2006).

Una de las unidades de concentración más utilizadas en experimentación y en aplicaciones termodinámicas es la escala de fracción molar (X) debido a que suministra una medida de las proporciones relativas de moles de cada constituyente de la solución, y permite expresar relaciones directas entre el número de moléculas de soluto y de solvente en una muestra (Martin et al., 1993).

En el presente estudio no se pudo expresar la solubilidad del compuesto NAP-Cu en fracción molar, ya que no se disponía de los valores de densidad de la solución saturada de soluto a cada una de las temperaturas de estudio. Para determinar dichas densidades se requería un densímetro con control de temperatura, equipo que no se encuentra en el laboratorio donde se llevó a cabo la experimentación.

Otra manera de expresar la concentración es en partes por millón, que es frecuentemente empleada en análisis químico. Cuando esta medida se aplica a disoluciones acuosas diluidas, prácticamente coinciden con los gramos por millón de mililitros de disolución. Como en un kg hay 1 millón de mg y 1 litro pesa aproximadamente 1 kg se emplea corrientemente como expresión equivalente a mg/L o $\mu\text{g/mL}$ (Brown, 1977). Esta unidad de concentración también fue utilizada para expresar los valores de solubilidad del compuesto NAP-Cu en el medio acuoso de estudio.

En las Tabla 6.6 se presentan los resultados obtenidos de la solubilidad del NAP-Cu, en buffer pH 1.2 y fuerza iónica $0,15 \text{ mol-L}^{-1}$, en función de la temperatura expresada en escala de partes por millón ($\mu\text{g/mL}$).

Tabla 6.6. Solubilidad experimental de NAP-Cu en función de la temperatura ($\pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$), en buffer pH 1.2 y fuerza iónica $0,15 \text{ mol-L}^{-1}$, expresada en $\mu\text{g/mL}$.

Temperatura ($^\circ\text{C}$)	Solubilidad de NAP-Cu ($\mu\text{g/mL}$)					
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Promedio	Desviación estándar	Coficiente de variación
25.0	2.88	2.85	2.75	2.83	0.066	2.3%
30.0	3.15	3.41	3.01	3.19	0.202	6.3%
35.0	3.51	3.56	3.84	3.64	0.180	5.0%
40.0	4.15	4.19	4.26	4.20	0.058	1.4%

Los valores de solubilidad se calcularon a partir de los valores de absorbancia obtenidos, los cuales fueron interpolados en la curva de calibración que se elaboró previamente (Figura 6.13), obteniendo de esta manera concentraciones en $\mu\text{g/mL}$.

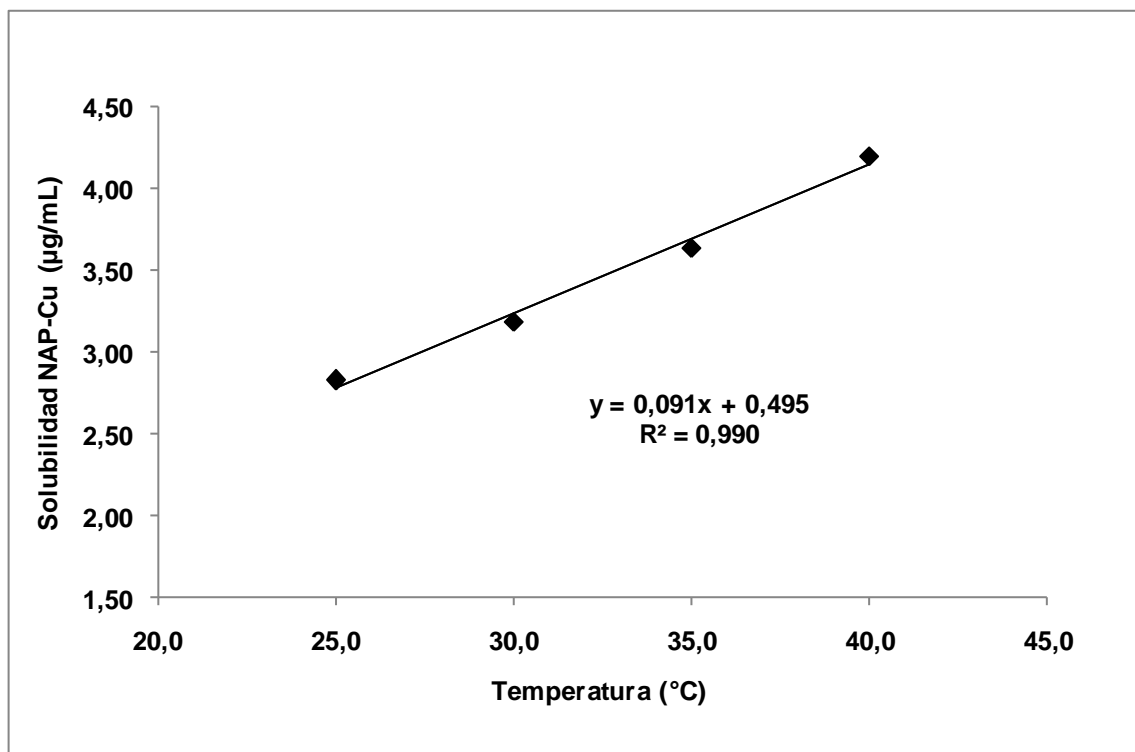


Figura 6.12 Solubilidad de NAP en medios acuosos: buffer pH 1.2, μ 0.15 mol-L⁻¹ y buffer pH 7.4, μ 0.15 mol-L⁻¹, en fracción molar, en función de la temperatura.

Como se puede evidenciar en la figura 6.12, la solubilidad de la sal NAP-Cu ($\mu\text{g/mL}$) aumenta con el incremento de la temperatura ($^{\circ}\text{C}$), indicando que la disolución de este compuesto en el medio solvente en estudio es endotérmico, es decir, se requiere del suministro de energía para que se lleve a cabo este proceso.

Los datos de solubilidad tienen un comportamiento lineal con un coeficiente de determinación R^2 de 0.990, por lo cual fue posible aplicar el tratamiento de van'tHoff para determinar los parámetros termodinámicos correspondientes, como se explicará más adelante.

En la Tabla 6.7 se muestran los datos obtenidos de la solubilidad del NAP-Cu, en buffer pH 1.2 y fuerza iónica 0,15 mol-L⁻¹, en función de la temperatura expresada en molaridad (mol-L⁻¹). La solubilidad del NAP-Cu en molaridad se calculó a partir de la concentración expresada en $\mu\text{g/mL}$ y utilizando la masa molar del compuesto sintetizado (522.05 g-mol⁻¹).

Tabla 6.7. Solubilidad experimental de NAP-Cu en función de la temperatura (± 0.1 °C), en buffer pH1.2, fuerza iónica $0,15 \text{ mol-L}^{-1}$, expresada en molaridad (C).

Temperatura (°C)	Solubilidad de NAP-Cu (mol-L^{-1})					
	Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación
25.0	5.51×10^{-6}	5.46×10^{-6}	5.27×10^{-6}	5.42×10^{-6}	1.264×10^{-7}	2.3%
30.0	6.04×10^{-6}	6.53×10^{-6}	5.76×10^{-6}	6.11×10^{-6}	3.877×10^{-7}	6.3%
35.0	6.73×10^{-6}	6.82×10^{-6}	7.37×10^{-6}	6.97×10^{-6}	3.450×10^{-7}	5.0%
40.0	7.95×10^{-6}	8.03×10^{-6}	8.17×10^{-6}	8.05×10^{-6}	1.107×10^{-7}	1.4%

De acuerdo con los resultados de solubilidad presentados en la Tabla 6.7 se puede apreciar que la sal sintetizada es muy insoluble en solventes acuosos, en este caso en buffer pH 1.2 y fuerza iónica $0,15 \text{ mol-L}^{-1}$, indicando que el NAP-Cu es un compuesto de naturaleza lipofílica.

Este comportamiento se puede explicar inicialmente teniendo en cuenta las características físicas del compuesto sintetizado. El NAP-Cu es un sólido (polvo fino), que tiene un punto de fusión de $250,05$ °C, por lo tanto el proceso de disolución estará afectado por las fuerzas atractivas del sólido, es decir, el primer paso que se va generar es la fusión del sólido, seguida de la mezcla con el disolvente. El alto punto de fusión de la sal NAP-Cu indica que las interacciones intramoleculares de cohesión son tan fuertes que el compuesto requiere energía para vencer esas fuerzas cohesivas, de tal manera que las moléculas del soluto (NAP-Cu), interactúen más fácilmente con las moléculas del solvente (buffer pH 1.2 y $\mu 0,15 \text{ mol-L}^{-1}$) (Vila, 1997).

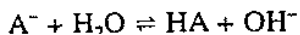
Otro aspecto a considerar, es que a pesar de que la sal NAP-Cu se formó a través de un enlace iónico, es decir hay iones disponibles mediante los cuales se puede establecer una interacción ion-dipolo entre el solvente acuoso y el soluto favoreciendo el proceso de solvatación; a la condición de pH 1.2 a la cual fue sometida la sal durante el estudio, estaría predominando la forma no ionizada del NAP-Cu, generando iones Cu^{2+} libres en solución acuosa. Estos iones tienen la capacidad de crear un campo eléctrico a su alrededor de tal manera que alteran la estructura del agua (dipolar), estableciendo una interacción electrostática del tipo ion-dipolo y en consecuencia reduciendo la cantidad de agua disponible para el proceso de disolución de la sal NAP-Cu. Por lo tanto, la disminución en la solubilidad de la sal NAP-Cu pudo ser producida por un efecto salino interno negativo conocido como *salting out* (Vila, 2001).

De otro lado, es importante mencionar que la sal NAP-Cu contiene dos grupos aromáticos naftilo y dos grupos metilo alrededor del ion metálico (Cu^{2+}), provenientes del NAP, los cuales le confieren características apolares a toda la molécula, más el radical metilo que hace parte del grupo metoxilo (Figura 6.15).

Las interacciones hidrofóbicas, que se producen mediante fuerzas de Van der Waals entre las partes apolares de las moléculas de NAP-Cu, excluyen a moléculas polares y por lo tanto la disolución del NAP-Cu en solventes acuosos estará desfavorecida (Dickerson, 1992).

Entre los factores que afectan la solubilidad de un compuesto, se encuentran el pH y la temperatura, y con el fin de determinar la solubilidad del compuesto sintetizado en condiciones fisiológicas, el estudio se realizó en un sistema buffer pH 1,2 (pH del estómago) y a un rango de temperatura entre 25 y 40°C.

El compuesto NAP-Cu es una sal que proviene de la reacción entre el NAP que es un ácido débil y el acetato de cobre (II), que es la base conjugada del ácido acético. Por lo tanto, la sal obtenida es un electrolito débil y en solución acuosa van a coexistir en equilibrio especies no disociadas y disociadas.



En el esquema anterior se puede observar que si se disminuye el pH de la disolución más cantidad de especies disociadas (A^-), se convertirán en especies no disociadas (HA), de acuerdo con el principio de Le Châtelier (Sokolosky, 2000). Teniendo en cuenta que la sal en solución se comporta como una base débil, su solubilidad está influenciada por el pH del medio acuoso en el que se disuelve, razón por la cual en la Tabla 6.7 se evidencia la baja solubilidad del compuesto cuando éste se encuentra en un medio muy ácido como lo es en agua a pH 1.2.

En la Tabla 6.8 y en la Figura 6.13 se presenta una comparación entre los valores de solubilidad del NAP y el NAP-Cu en buffer pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol-L^{-1} , expresada en molaridad (C). Los dos compuestos bajo estas condiciones están preferiblemente como especie molecular y por lo tanto, su interacción con el agua es debida básicamente a la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos polares de la molécula (carbonilo, hidroxilo y metoxilo) y los átomos de oxígeno e hidrógeno del agua. En el caso del NAP la constante de disociación es de 4.1 (pKa corregido a fuerza iónica de 0.15 mol-L^{-1}) (Mora, 2006).

Sin embargo, se puede observar que el NAP-Cu es más insoluble en medio acuoso a pH 1.2, que el NAP. La solubilidad de la sal NAP-Cu para las temperaturas de 25.0 °C y 30.0 °C disminuyó en un orden de magnitud y a 35.0 °C y 40.0 °C hasta en dos órdenes. Esto se explica porque en la estructura química del compuesto NAP-Cu se tienen dos grupos aromáticos naftilo y dos grupos metilo que se encuentran alrededor del ion cobre (Cu^{2+}), y dos radicales metilos del grupo metoxilo (Figura 6.15), generando interacciones hidrofóbicas que no favorecen las interacciones entre el soluto y las moléculas de solvente (agua). Este hecho también explica el por qué el punto de fusión para la sal NAP-Cu (250,05 °C) fue más alto que el reportado en la literatura para el NAP, el cual es

de 152 °C – 154 °C (O’Neil *et al.*, 2013). Como se conoce, entre mayor sea el punto de fusión de un compuesto poco polar menor será su solubilidad en medio acuoso.

Tabla 6.8. Solubilidad experimental de NAP y NAP-Cu en función de la temperatura (± 0.1 °C), en medio acuoso a pH 1.2 y fuerza iónica $0,15 \text{ mol-L}^{-1}$, expresada en molaridad (C)

Compuesto	Solubilidad de NAP-Cu (mol-L^{-1})			
	25.0 °C	30.0 °C	35.0 °C	40.0 °C
NAP (a)	8.28×10^{-5}	9.69×10^{-5}	1.169×10^{-4}	1.493×10^{-4}
NAP-Cu	5.42×10^{-6}	6.11×10^{-6}	6.97×10^{-6}	8.05×10^{-6}

(a) Tomado de Mora, 2006.

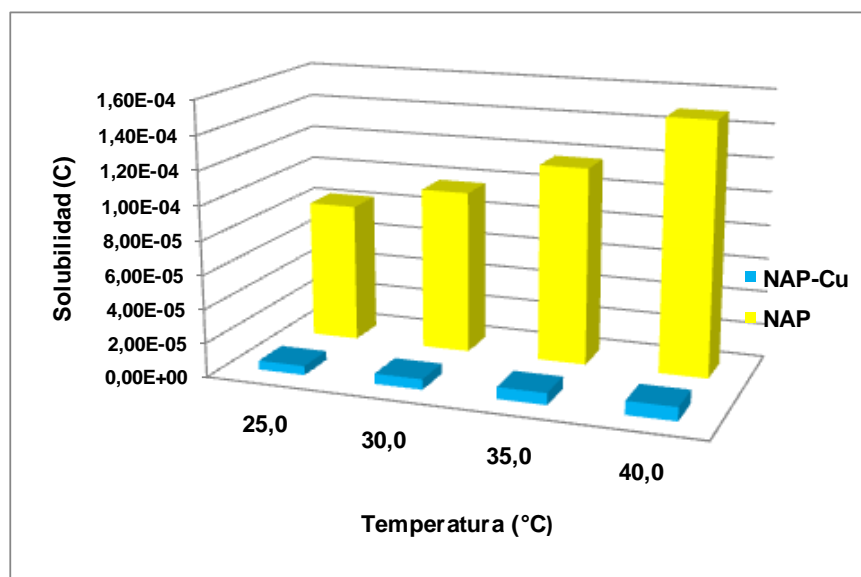


Figura 6.13 Solubilidad experimental de NAP y NAP-Cu en función de la temperatura (± 0.1 °C), en medio acuoso a pH1.2 y fuerza iónica $0,15 \text{ mol-L}^{-1}$, expresada en molaridad (C).

En la literatura científica se reporta que la solubilidad del NAP expresada en molaridad es baja en medios acuosos (buffer pH 1.2 y pH 7.4 a $\mu 0,15 \text{ mol-L}^{-1}$), con respecto a la obtenida en solventes orgánicos como cloroformo, octanol y miristato de isopropilo. Al comparar los resultados de solubilidad del NAP a pH 1.2 y pH 7.4, se observa que la solubilidad en medio acuoso a pH 7.4 es considerablemente mayor que la obtenida a pH 1.2 (especie molecular 99.87 %), lo cual se explica porque a pH 7.4 las moléculas del fármaco están en un 99.95 % como especie disociada, de tal forma que pueden ser fácilmente solvatadas por el agua mediante fuerzas de interacción ion-dipolo. Además, forman enlaces de hidrógeno con el agua, mediante los grupos carbonilo y metoxilo presentes en las moléculas de este principio activo. Todas estas interacciones conducen a que la

solubilidad del NAP en este medio se incrementa de manera considerable (Mora, 2006).

Por ello, sería interesante estudiar a futuro el comportamiento de la solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso a pH 7.4 (μ , 0,15 mol-L⁻¹) y en solventes orgánicos como los mencionados anteriormente, a diferentes temperaturas. Esto con el fin de explicar el proceso de disolución a nivel de las interacciones intermoleculares producidas entre este soluto y los distintos medios solventes.

Para analizar el comportamiento de la solubilidad del NAP-Cu en función de la variación de la temperatura, a continuación se consideran las etapas involucradas en el proceso de disolución. La sal NAP-Cu es un sólido con un alto punto de fusión (250,05°C), en consecuencia su disolución en el solvente se produce en dos pasos: absorción de energía por parte del compuesto para convertirse en líquido y posteriormente la disolución del mismo (Hanson, 2003).

Teniendo en cuenta el equilibrio que se presenta durante el proceso de disolución, es posible construir un gráfico de van'tHoff entre el logaritmo natural de la solubilidad (constante de equilibrio) y el inverso de la temperatura absoluta (K⁻¹). De esta manera, con los datos obtenidos de solubilidad en molaridad (mol-L⁻¹) del NAP-Cu en función de la temperatura (K), reportados en la Tabla 6.8, se realizó el gráfico de Ln solubilidad en función del recíproco de la temperatura absoluta 1/T (K⁻¹). Para ello se emplearon las cuatro temperaturas experimentales (25.0, 30.0, 35.0 y 40.0 ± 0.1 °C) involucradas en el estudio.

Tabla 6.9. Solubilidad experimental de NAP-Cu en función de la temperatura (K), en medio acuoso a pH 1.2 y fuerza iónica 0,15 mol-L⁻¹, expresada en molaridad (C).

Temperatura (K)	Recíproco de temperatura 1/T (K ⁻¹)	Solubilidad de NAP-Cu (mol-L ⁻¹) (a)	Ln Solubilidad
313,15	3.19 x 10 ⁻³	8.05 x 10 ⁻⁶	-1,17 x 10 ¹
308,15	3.25 x 10 ⁻³	6,97 x 10 ⁻⁶	-1,19 x 10 ¹
303,15	3.30 x 10 ⁻³	6,11 x 10 ⁻⁶	-1,20 x 10 ¹
298,15	3.35 x 10 ⁻³	5,42 x 10 ⁻⁶	-1,21 x 10 ¹

(a) Valores promedio de solubilidad de la Sal NAP-Cu obtenidos de la Tabla 6.7

En la Figura 6.14 se puede observar un incremento de la solubilidad del NAP-Cu en buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹, con el aumento en la temperatura. Además, los datos tienen un comportamiento lineal con un coeficiente de determinación r² de 0.997, por lo cual fue posible emplear el tratamiento de van'tHoff para determinar los parámetros termodinámicos del proceso de disolución como son: entalpía, entropía y energía libre.

En la ecuación de van'tHoff, la pendiente es $\Delta H^{\circ}_{\text{soln}}/R$, siendo $\Delta H^{\circ}_{\text{soln}}$ la entalpía de disolución:

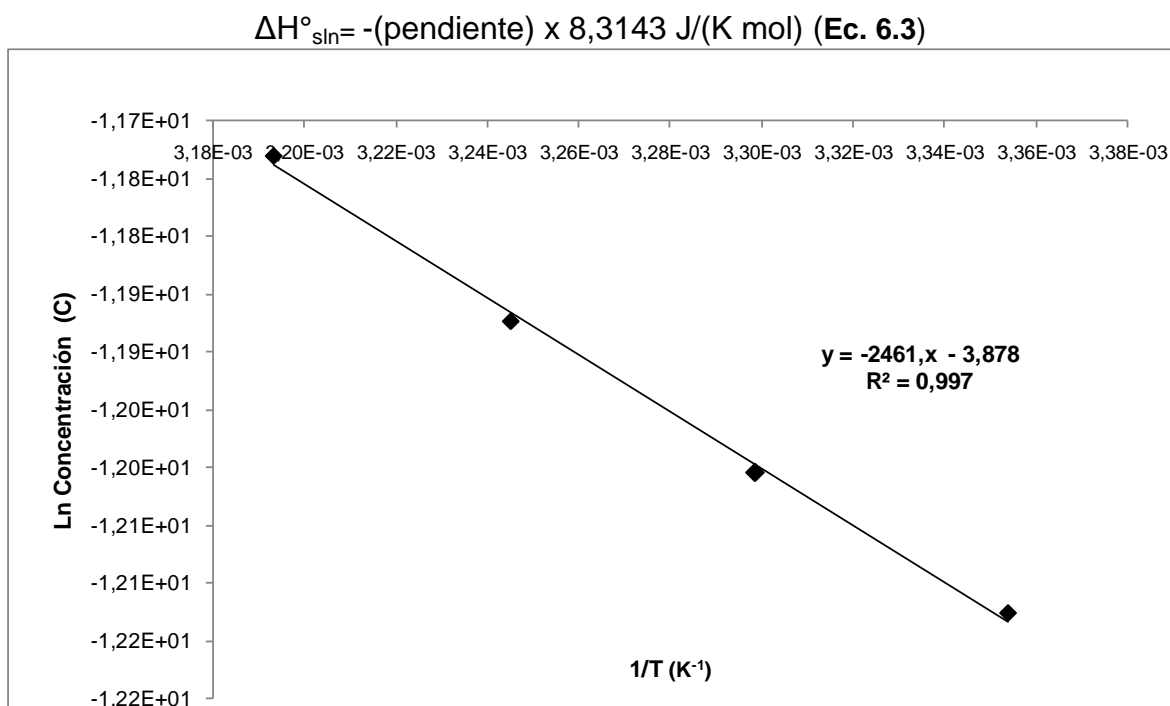


Figura 6.14 Ln Solubilidad de NAP-Cu en buffer pH 1.2, en función del recíproco de la temperatura (K^{-1}), molaridad.

Considerando que la unidad de concentración empleada para la solubilidad es la molaridad y no la fracción molar, se calculó la entalpía de disolución aparente para el compuesto NAP-Cu en solución acuosa a pH 1.2:

$$\Delta H_{sln}^{\circ C-app} = -(-2461,4 \text{ K}) \times 8,3143 \text{ J}/(\text{K mol}) = 20464,8 \text{ J}\cdot\text{mol}^{-1} \text{ o } 20,46 \text{ kJ}\cdot\text{mol}^{-1}$$

El valor absoluto de $\Delta H_{sln}^{\circ C-app}$ expresa la magnitud de la variación de la solubilidad con la temperatura, y el signo positivo indica que durante el proceso de disolución del NAP-Cu en medio acuoso a pH 1.2 hubo absorción de calor, es decir que el proceso fue endotérmico.

Este comportamiento se debe al mecanismo por el cual el soluto en estado sólido se disuelve para pasar al estado de solución. Una primera etapa a considerar es la fusión del NAP-Cu en estado sólido a soluto en estado líquido, lo cual requiere suministro de energía. En este caso, la entalpía de fusión del compuesto tendrá un signo siempre positivo (desfavorable), ya que la fusión requiere del aporte de calor (Vila, 1997). La entalpía de fusión para el NAP-Cu no fue determinada porque no se disponía de un calorímetro para ello y no estaba considerada dentro del alcance del presente estudio.

La segunda etapa a tener en cuenta, es en la cual el soluto en estado líquido se disuelve en la solución. Esta etapa incluye la ruptura de las uniones entre las moléculas del soluto (NAP-Cu) y la separación de las moléculas del solvente

(agua), para crear un espacio en el solvente donde se ubique el soluto. Para romper las uniones entre las moléculas del soluto en estado líquido se necesita suministro de energía; de igual manera para separar las moléculas del solvente. Si la fuente de esta energía fue el calor es evidente que para ambos procesos se requirió absorción de energía (Sokolosky, 2000). Por lo tanto, el calor de solución ($\Delta H_{sln}^{\circ C-app}$) positivo indica que el proceso de disolución para la sal NAP-Cu en el solvente acuoso está desfavorecido entálpicamente. Esto se debe principalmente a la alta hidrofobicidad del compuesto NAP-Cu y a la prevalencia de la especie molecular del mismo a pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹, como fue explicado anteriormente.

El resultado de $\Delta H_{sln}^{\circ C-app}$ reportado por Mora (2006) para la disolución del Naproxeno en medio solvente acuoso a pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹ fue de 29.8kJ-mol⁻¹, valor que también es positivo al igual que el obtenido para el compuesto NAP-Cu (20.46 kJ-mol⁻¹), indicando que el proceso de disolución del NAP en este medio solvente también fue endotérmico, es decir que se absorbe calor en el mismo.

De acuerdo con la ecuación 6.3, se calculó la energía libre de disolución ($\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$) para cada una de las temperaturas de estudio, a partir de los valores de solubilidad reportados en la Tabla 6.8, en escala de molaridad. De esta manera se obtuvo la energía libre de disolución aparente, cuyos valores se reportan en la Tabla 6.10.

Tabla 6.10. Energía libre aparente para el proceso de disolución del NAP-Cu en medio acuoso a pH1.2 y fuerza iónica 0,15 mol-L⁻¹, en función de la temperatura (K), expresada en molaridad (C)

Temperatura (K)	Temperatura (°C)	$\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$ (kJ-mol ⁻¹) (a)
313.15	40.0	30.54
308.15	35.0	30.42
303.15	30.0	30.26
298.15	25.0	30.06

(a) Calculado empleando los valores promedio de solubilidad del NAP-Cu obtenidos de la Tabla 6.7

Los resultados del cambio en la energía libre de solución aparente reportados en la Tabla 6.10, presentan valores positivos, indicando la no espontaneidad del proceso de solución, es decir, el soluto tiende a permanecer en su propia fase (sólida), lo cual se refleja en la baja solubilidad de este compuesto en el sistema solvente buffer pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol-L⁻¹.

En el mismo estudio realizado por Mora (2006), se calculó la $\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$ a las temperaturas entre 25.0 °C y 40.0 °C para el NAP en medio acuoso a pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹, cuyos valores se presentan en la Tabla 6.11.

Tabla 6.11. Energía libre aparente para el proceso de disolución del NAP en medio acuoso a pH1.2 y fuerza iónica 0,15 mol-L⁻¹, en función de la temperatura (K), expresada en molaridad (C).

Temperatura (K)	Temperatura (°C)	$\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$ (kJ·mol ⁻¹) (a)
313.15	40.0	22.94 (0.04)
308.15	35.0	23.20 (0.04)
303.15	30.0	23.294 (0.029)
298.15	25.0	23.298 (0.016)

(a) Datos obtenidos de Mora (2006), con su correspondiente desviación estándar.

Los resultados para $\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$ reportados en la Tabla 6.11 son también positivos, mostrando que el proceso de solución del NAP en el solvente acuoso a pH 1.2, no es espontáneo; comportamiento que es similar al obtenido para el NAP-Cu en la presente investigación.

Es interesante observar que la magnitud de la energía libre obtenida para la disolución del NAP-Cu es mayor a la reportada para el proceso de solución del NAP, lo cual concuerda con el comportamiento presentado para la solubilidad de estos dos compuestos. Como se mencionó anteriormente, el NAP es más soluble que el NAP-Cu en buffer a pH 1.2, por esta razón para este compuesto se obtuvo menores valores de energía libre en comparación con los reportados para el NAP-Cu (Tablas 6-10 y 6.11).

Con los datos de $\Delta G_{sln}^{\circ C-app}$ obtenidos a cada temperatura de estudio y el valor de $\Delta H_{sln}^{\circ C-app}$ reportado, se calculó la entropía de disolución aparente ($\Delta S_{sln}^{\circ C-app}$). Los resultados obtenidos se muestran en la Tabla 6.12.

Tabla 6.12. Entropía aparente para el proceso de disolución del NAP-Cu en medio acuoso a pH 1.2 y fuerza iónica 0,15 mol·L⁻¹, en función de la temperatura (K), expresada en molaridad (C).

Temperatura (K)	Temperatura (°C)	$\Delta S_{sln}^{\circ C-app}$ (J·mol ⁻¹ ·K ⁻¹)
313.15	40.0	-32.18
308.15	35.0	-32.31
303.15	30.0	-32.31
298.15	25.0	-32.18

Como se evidencia en la Tabla 6.12, el cambio de entropía en el proceso de disolución del NAP-Cu en buffer pH 1.2, presenta valores negativos indicando que el grado de aleatoriedad o desorden del sistema por la disolución del soluto en el medio solvente tiende a disminuir y por lo tanto, ese proceso está desfavorecido entrópicamente.

Como se expresó anteriormente, la primera etapa involucrada en el proceso de disolución del NAP-Cu en el medio acuoso, fue la fusión del soluto, la cual produce un aumento de la entropía o mayor desorden en el sistema. De igual forma, en la segunda etapa, cuando se produce la ruptura de las uniones entre las moléculas de soluto en estado líquido y se da la formación de la cavidad en el solvente donde se ubicará el soluto, se aumenta el desorden en el sistema, así como también, cuando se genera el proceso de mezcla entre las moléculas de soluto y de solvente.

Sin embargo, debido a que la interacción entre el NAP-Cu y el agua (buffer pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹) no son favorables por las características apolares de este compuesto y porque al pH de estudio prevalece la forma molecular del mismo, es posible que se genere un ordenamiento molecular por la solvatación de este compuesto con el agua (enlaces de hidrógeno) y se produzca la estructuración de la misma alrededor de los grupos no polares de las moléculas del NAP-Cu (efecto hidrofóbico) (Mora, 2006). Todo esto conduce a que se genere un estado relativamente ordenado o de baja entropía.

En la investigación desarrollada por Mora (2006), se calculó la ΔS_{sln}^{c-app} a 303 K, expresada en molaridad, para el NAP en medio acuoso a pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹, cuyo valor fue de 21.7 J-mol⁻¹K⁻¹, es decir, se obtuvo un valor positivo a diferencia del calculado para esta función termodinámica en el caso de la disolución de NAP-Cu. Este valor indica que la combinación entre las moléculas de NAP y de disolvente está generando desorden en el sistema, que favorece el proceso de disolución. Sin embargo, en este mismo estudio se obtuvo la entropía de solución expresada en fracción molar (ΔS_{sln}^{oX}), cuyo valor fue de -10.91 J-mol⁻¹K⁻¹ a 303 K, mostrando en este caso que se está generando un ordenamiento en el sistema durante el proceso de disolución del NAP en medio acuoso a pH 1.2 (Mora, 2006).

De acuerdo con los resultados obtenidos para los parámetros termodinámicos de entalpía y entropía de disolución aparentes del NAP-Cu en buffer pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol-L⁻¹, existe en general un desfavorecimiento tanto entálpico como entrópico.

7. CONCLUSIONES

1. Se logró sintetizar la sal Nap-Cu a partir de 0.2mol/L de NAP en una mezcla de metanol – etanol (1:1) y 0.05 mol/L de Acetato de Cobre en agua. El rendimiento de la reacción fue del 50 %.
2. El compuesto NAP-Cu es un sólido con apariencia de polvo fino, inoloro, color verde esmeralda, con punto de fusión de 250.05 °C y presenta una muy baja solubilidad en agua a pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹.
3. La sal NAP-Cu fue caracterizada estructuralmente mediante diferentes técnicas analíticas como IR, RMN ¹H, análisis elemental y cuantificación de Cobre por absorción atómica, permitiendo proponer una estructura química para el compuesto, cuya masa molar es de 522.05 g-mol⁻¹.
4. La metodología analítica empleada para la cuantificación del NAP-Cu por espectrofotometría UV, en el medio solvente a pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹, cumple con los parámetros de especificidad, linealidad para la curva de calibración, y repetibilidad del instrumento y del método.
5. La solubilidad de la sal Naproxeno-Cobre en medio acuoso a pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol-L⁻¹ es muy baja, considerando que se obtuvieron valores entre 2,83 μ g/mL y 4,20 μ g/mL, en el rango de temperatura de 25.0 °C a 40.0 °C. De igual forma, al expresar la solubilidad del NAP-Cu en escala de molaridad, los datos se encuentran en el rango de $5,42 \times 10^{-6}$ y $8,05 \times 10^{-6}$. Esto indica que el compuesto presenta una naturaleza hidrofóbica.
6. Al comparar los datos de solubilidad reportados para el NAP en pH 1.2 y μ 0.15 mol-L⁻¹ con los obtenidos para al NAP-Cu en el mismo sistema solvente, se observó que la solubilidad del NAP-Cu para las temperaturas de 25.0 °C y 30.0 °C disminuyó en un orden de magnitud, y a 35.0 °C y 40.0 °C hasta en dos órdenes, lo cual fue explicado considerando las diferencias en las estructuras químicas de estos dos compuestos y su interacción con las moléculas de agua.
7. El compuesto NAP-Cu es la sal obtenida de un electrolito débil (NAP, pKa: 4.1, corregido a fuerza iónica de 0.15 mol-L⁻¹ (Mora, 2006),) por lo cual su solubilidad en medio acuoso va a depender del pH del medio. En buffer

pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol-L^{-1} , el NAP-Cu está preferiblemente como especie no disociada y por lo tanto, su interacción con el agua es debida a la formación de puentes de hidrógeno entre los grupos polares de la molécula (carbonilo, hidroxilo y metoxilo) y los átomos de oxígeno e hidrógeno del agua.

8. El cambio en la energía libre de disolución aparente del NAP-Cu, presentó un valor positivo, indicando que el soluto tiende a permanecer en su propia fase (sólida), lo cual se reflejó en la baja solubilidad de este compuesto en el sistema solvente a pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol-L^{-1} .
9. La solubilidad del NAP-Cu en el sistema solvente en estudio, presentó un incremento de la solubilidad con el aumento de la temperatura en el rango de $25.0 \text{ }^\circ\text{C}$ a $40.0 \text{ }^\circ\text{C}$, indicando que el proceso de disolución es endotérmico, lo cual se evidenció en el valor positivo obtenido para la entalpía de disolución aparente.
10. La entropía de disolución aparente del NAP-Cu fue negativa para el medio acuoso a pH 1.2 y 0.15 mol-L^{-1} , lo cual se explica por la posible generación de un ordenamiento molecular por la solvatación del NAP-Cu con el agua (enlaces de hidrógeno) y se produzca la estructuración de la misma alrededor de los grupos no polares de las moléculas de este compuesto (efecto hidrofóbico), conduciendo a que no exista un favorecimiento entrópico en el proceso de disolución.
11. En general, se evidenció que se presenta un desfavorecimiento tanto entálpico como entrópico para el proceso de disolución de la sal NAP-Cu en agua a pH 1.2 y fuerza iónica 0.15 mol-L^{-1} .

8. RECOMENDACIONES

- ✓ Se recomienda determinar el contenido de humedad de la sal NAP-Cu y revisar el tiempo de secado al que fue sometido el compuesto después de su purificación (lavado con agua purificada), con el fin de asegurar que no contiene moléculas de agua que afecten la obtención del espectro de RMN-H.
- ✓ Investigar una técnica eficaz de purificación de la sal NAP-Cu, de tal manera que se pueda obtener mejores resultados en la caracterización mediante espectroscopia RMN ^1H y RMN ^{13}C .
- ✓ Se recomienda utilizar otras técnicas para la caracterización de la Sal NAP-Cu como cristalografía de rayos x.
- ✓ Repetir el estudio de solubilidad, a las mismas condiciones ya que se obtuvo un resultado de coeficiente de variación mayor al 5%; el cual se atribuye al trabajo en el laboratorio por parte del analista.
- ✓ Evaluar la posibilidad de obtener el espectro de RMN-13C para el compuesto NAP-Cu como complemento a la caracterización estructural realizada, de acuerdo con una metodología apropiada para compuestos que contienen Cobre.
- ✓ Para la cuantificación del Cobre por absorción atómica, se realizó previamente el proceso de digestión en medio ácido de la muestra de NAP-Cu. Debido a la intermitencia que se tuvo en el tiempo de calentamiento de la muestra en un baño de aceite, de las dos muestras que se sometieron al proceso, solamente una terminó la digestión completa. Se recomienda realizar este proceso de manera continua e incluir como mínimo tres muestras del compuesto para obtener una mayor precisión en los resultados de cuantificación.
- ✓ Respecto a la metodología analítica empleada para la cuantificación del NAP-Cu por espectrofotometría UV, en el medio solvente a pH 1.2 y μ 0.15 mol-L $^{-1}$, se propone también evaluar el parámetro de precisión intermedia, variando el día en que la metodología analítica es desarrollada y cuando el análisis es realizado por otra persona.
- ✓ Complementar el estudio de solubilidad de la sal NAP-Cu en medios acuosos, determinando la solubilidad de este compuesto a pH 7.4 y μ 0.15 mol-L $^{-1}$ (condiciones fisiológicas de pH y fuerza iónica en la sangre) y a

diferentes temperaturas (25.0, 30.0, 35.0 y $40.0 \pm 0,1$ °C). Esto con el fin de comparar su comportamiento a esta condición de pH con los valores de solubilidad reportados en el presente trabajo a pH 1.2 y con los datos de solubilidad del NAP que se encuentran registrados en la literatura en buffer a pH 7.4 y fuerza iónica 0.15 mol-L^{-1} .

- ✓ De igual forma, se propone determinar la solubilidad del compuesto NAP-Cu en diferentes medios solventes orgánicos (octanol, cloroformo, miristato de isopropilo y ciclohexano) a diferentes temperaturas (25.0, 30.0, 35.0 y $40.0 \pm 0,1$ °C), con el fin de comparar los resultados que se obtengan con la solubilidad del NAP-Cu en medios acuosos y los datos de solubilidad del NAP que se reportan en la literatura para estos solventes orgánicos.
- ✓ Finalmente, se recomienda continuar profundizando en la evaluación de los parámetros termodinámicos relacionados con el proceso de disolución del NAP-Cu en pH 7.4 y 7.6; y fuerza iónica 0.15 mol-L^{-1} , y en los solventes orgánicos, así como también, determinar la entalpía de fusión de este compuesto. Estos valores de pH son propuestos debido a que corresponden al pH de la sangre y pH del intestino (ligar donde se absorbe NAP) respectivamente.

9. BIBLIOGRAFÍA

ANSEL, H.C., N.G. Popovich, and L.V. Allen, (1999), *Pharmaceutical Dosage Forms and Drug Delivery Systems*, 6th edition, Lippincott Williams & Wilkins, Baltimore, pp. 101-106, 548-551.

Aulton, M. E. (2003). FARMACIA La Ciencia del Diseño de las Formas Farmaceuticas. Madrid - España: ELSEVIER.

BASOLO, F. (1980). Química de los compuestos de Coordinación, Barcelona-Buenos Aires-México. REVERTÉ

BURSTEN, B. L. (2004). QUIMICA. La ciencia central. Mexico: Pearson Educación.

CEVC, G., (1993), Lipid properties as a basis for membrane modeling and rational liposomedesign, In: *Liposomes Technology*, Edited by Gregoriadis G., CRC Press, Boca Raton, Vol. 1, p. 21.

CLAVIJO. A., (2002), Fundamentos de química analítica. Equilibrio Iónico y análisis químico. 1ª edición, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá.

ČONGRÁDYOVÁ, K. J. (2012). COPPER COMPLEXES OF NON-STEROIDAL ANTI-INFLAMMATORY DRUGS. Department of Chemistry, Faculty of Natural Sciences, Constantine the Philosopher University in Nitra, Tr. A.106-111.

DALE, R. Y. (2007). Farmacología. España : ELSEVIER ESPAÑA.

Gennaro, A. R. (2003). Remington Farmacia. Medica Panamericana.

GREEN, M.J., (1996), A practical guide to analytical method validation, *Anal. Chem. News & Features*, **May 1**, 305A-309A.

GUPTA, P.K., (2000), Solutions and phase equilibrium, In: *Remington. The Science and Practice of Pharmacy*, 20th edition, Edited by Gennaro, A.R., Lippincott, Williams & Wilkins, Philadelphia, Ch. 16, pp. 208-226.

HANSON, G.R., (2003), Fármacos Analgésicos, Antipiréticos y Antiinflamatorios, en: *Farmacia, Remington*, 20ª edición, Editado por Gennaro A.R., Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires.

JONES, L., (2006), Principios de Química: Los caminos del descubrimiento, 3th edición, Editorial Médica Panamericana, Buenos Aires.

JOSEP-ELADI BAÑOS DÍEZ, M. F. (2002). Principios de Farmacología Clínica . Barcelona: MASON.

LORENZO., A. Moreno, I. Lizasoain, J.C. Leza, M.A. Moro, A. Portóles, (2008). Farmacología Básica y Clínica. Buenos Aires: Panamericana.

MARTIN, A.N., P. Bustamante, and A.H.C. Chun, (1993), *Physical Chemical Principles in the Pharmaceutical Sciences*, 4th edition, Lea & Febiger, Philadelphia.

MELNÍK, M., L. Macásková, E. Holloway, J. Mrozinski, B. Kalin'ska (1999). Spectral and magnetic properties of copper (II) naproxenates. *Inorganica Chimica Acta*, Elsevier.

MONTGOMERY, D.C., (2004), Diseño y Análisis de Experimentos, 2ª edición, Limusa S.A. de C.V., México D. F., pp. 640-644.

Mora, C.,(2006), Estudio Termodinámico de la Transferencia del Naproxeno entre Medios Acuáticos y Algunos Sistemas Orgánicos, Ciencias, Tesis de Maestría en Ciencias Farmacéuticas, Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá.D.C

Mora, (2006). Validación de una Metodología Analítica para la Cuantificación de Naproxeno en Estudios de Reparto Líquido/Líquido mediante espectrofotometría ultravioleta. *Rev.Col.Cienc.Quím.Farm.* vol 1 , 81-105.

O'Neil,(2013). The Merck Index. Cambridge: Merck & Co., Inc., Whitehouse.

O.M.S. (02 de 011.). Nota descriptiva N° 194. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/es/index.html>.

OSPINA, L.S., (1994), El método de análisis para los estudios de estabilidad y de biodisponibilidad de medicamentos: Parte I, *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.*, **22**, 7-12.

OSPINA, L.S., (1995), El método de análisis para los estudios de estabilidad y de biodisponibilidad de medicamentos: Parte II, *Rev. Col. Cienc. Quím. Farm.*, **23**, 95-100.

REYNOLDS, J.E.F., (1993), Martindale, The Extrapharmacopoeia, 30th edition, The Pharmaceutical Press, London, pp. 25-26.

ROBBIN,. Kumar, Abbas, Fausto, Mitchel, (2006). Patología Humana, 7th edición, ELSEVIER, Madrid-España

Vademecum, P. (2008). Medicamentos de Uso en Colombia. Colombia: LICITELCO S.A.

VILA, J.L, (2001). Tecnología Farmacéutica I. Disoluciones, 2ª edición, Síntesis, España.

Weder, (2002). Copper complexes of non – steroidal anti – inflammatory drugs: an opportunity yet to be realized. Coordination chemistry reviews , 95-126.

ZHANG, Q, et al. (2000). Some Transition Metal Complexes with Naproxen, School of Resources and Environment, Lanzhou University, China

10. ANEXOS

ANEXO 1. CERTIFICADO DE CALIDAD



浙江天新药业有限公司
ZHEJIANG TIANXIN PHARMACEUTICAL CO.,LTD

CERTIFICATE OF ANALYSIS

P.O.NO.: GN118

Product name: Naproxen

Batch No.: NX1209304

Manufacturing date	Jun 3, 2012	Release date	Jun 11, 2012
Retest date	Jun 2, 2015	Article No.	01101
Package	25 kg per drum	Package size	Φ410 × 580 (mm)
Ref. pharmacopoeia(s)	USP34	Quantity	500 kg

Test Item	Specification	Result
Description	White to off-white, practically odorless, crystalline powder	Comply
Identification		
A. Infrared Absorption	Meet the requirements	Comply
B. Ultraviolet Absorption	Meet the requirements	Comply
Specific rotation	+83.0° ~ +89.5°	+86.1°
Loss on drying	≤0.5%	0.03%
Heavy metals	≤0.002%	<0.002%
Residual solvent - Methanol	≤0.3%	Not Detected
Chromatographic purity		
Single impurity	≤0.5%	<0.5%
Total impurities	≤2.0%	<2.0%
Assay	98.5% ~ 101.5%	99.8%

(THIS BLANK IS EMPTY.)



Conclusion: **This batch complies with the specification of USP34.**

Remark: Preserve in tight containers, protected from light.

Reported by: [Signature]

QA Manager: [Signature]

12090247

Add.: No.215, Fengze Road, Tiantai, Zhejiang 311200, China

Tel: +86-576-83993659 / 83993819

ANEXO 2. SISTEMAS BUFFER EMPLEADOS EN EL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

La solubilidad de la sal NAP-Cu en medio acuoso se determinó empleando una solución buffer de pH 1.2 con fuerza iónica μ 0.15 mol-L⁻¹, simulando condiciones de pH y fuerza iónica (μ) del estómago (Anselet *al.*, 1999). A continuación se presentan los cálculos realizados para obtener las concentraciones de las especies requeridas en la preparación del sistema buffer, con las características mencionadas (Mora, 2006).

A2.1. Preparación del sistema buffer pH 1.2 (μ 0.15 mol-L⁻¹)

De acuerdo con las indicaciones de la Farmacopea Americana (USP 35), para la preparación de 1 L de esta solución se tomaron 425 mL de una solución de HCl 0.2 mol-L⁻¹ y se mezclaron con 250 mL de una solución de KCl 0.2 mol-L⁻¹ (USP 35). Teniendo en cuenta que bajo condiciones fisiológicas estándar, la fuerza iónica μ tiene un valor de 0.15 mol-L⁻¹ (Cevc, 1993), fue necesario ajustar la fuerza iónica de la solución buffer como se presenta a continuación. La fuerza iónica es definida en molaridad como:

$$\mu = \frac{1}{2} \sum C_i Z_i^2$$

Donde, el término C es la concentración en molaridad de cualquier ión y Z es su valencia (Martin *et al.*, 1993). Por lo tanto la fuerza iónica de la solución expuesta en la farmacopea USP 35 es igual a 0.135 mol-L⁻¹, requiriendo entonces 0.015 mol-L⁻¹ de KCl adicional (1.1183 g/L) para igualar μ a 0.15 mol-L⁻¹ (Mora, 2006).