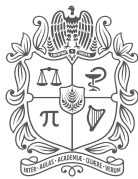


Facultad de Ciencias
Sede Bogotá

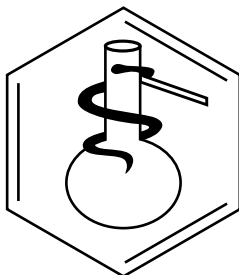


UNIVERSIDAD
NACIONAL
DE COLOMBIA



**REVISTA COLOMBIANA
DE CIENCIAS QUÍMICO-FARMACÉUTICAS**

Universidad Nacional de Colombia
Facultad de Ciencias
Departamento de Farmacia



REVISTA COLOMBIANA DE CIENCIAS QUÍMICO-FARMACÉUTICAS

Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia.

ISSN 0034-7418, Fax: 3165060, A. A. 14490, Bogotá, D. C., Colombia.

Correo electrónico: rcqifja_fcbog@unal.edu.co

<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcqifja>

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_serial&pid=0034-7418&vrep=

<https://scholar.google.com/citations?user=TuBT68sAAA&hl=es>

Rector Universidad Nacional de Colombia: Ignacio Mantilla Prada, Ph. D.

Vicerrector sede Bogotá: Jaime Franky Rodríguez, M. Sc.

Decano Facultad de Ciencias: Jaime Aguirre Ceballos, Ph. D.

Directora Departamento de Farmacia: Lucy Gabriela Delgado Murcia, Ph. D.

Director Área Curricular de Farmacia: Fleming Martínez Rodríguez, Ph. D.

Director-Editor Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas:

Fleming Martínez Rodríguez, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, correo electrónico:

fmartinezr@unal.edu.co

Comité Científico:

Alejandro Sosnik, Ph. D., Department of Materials Science and Engineering, Technion, Israel Institute of Technology, Haifa, Israel.

Carlos Bregni, Ph. D., Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Juan M. Iacobe, Ph. D., Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, España.

Mario F. Guerrero, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D. C., Colombia.

Mario G. de Carvalho, Ph. D., Departamento de Farmácia, Instituto de Ciências Naturais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil.

Martha R. Fontanilla, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D. C., Colombia.

Rubén H. Manzo, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Victor Romanowski, Ph. D., Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

Comité Editorial:

Abolghasen Jouyban, Ph. D., Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

Álvaro F. Jiménez-Kairuz, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Diego A. Chiappetta, Ph. D., Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Fernão Castro Braga, Ph. D., Departamento de Produtos Farmacéuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

María A. Peña, Ph. D., Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid, España.

Maria Concheiro, Ph. D., National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, U.S.A.

Paulo R. de Oliveira, Ph. D., Universidade Estadual do Centro-Oeste, Unicentro, Brasil.

Evaluadores:

Claudia E. Mora, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D. C., Colombia.

Diego A. Chiappetta, Ph. D., Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Daniel R. Delgado, Ph. D., Departamento de Ingeniería Industrial, Facultad de Ingeniería, Universidad Cooperativa de Colombia, Neiva, Colombia.

Fleming Martínez, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D. C., Colombia.

Freimar Segura, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias, Universidad de Antioquia, Colombia.

Geison Modesti-Costa, Ph. D., Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, D. C., Colombia.

Eduardo A. Lagomarsino, Ph. D., Cátedra de Farmacia Asistencial, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Lucinda Villacusa-Castillo, Ph. D., Departamento de Ciencias Biomédicas, Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, España.

Valeria Tripodi, Ph. D., Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Asistente editorial: Anyeli A. Rivera, B. A. (C)

Edición, armada electrónica e impresión: Procceditor Ltda., Bogotá. Teléfonos: 757 9200. Fax: ext. 102. Correo electrónico: procceditor@yahoo.com

MISIÓN

La *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* es un órgano de difusión en el cual se publican investigaciones científicas, comunicaciones técnicas y revisiones temáticas originales en las áreas de las ciencias farmacéuticas (ver Normas para publicación). La revista está destinada principalmente a químicos farmacéuticos, químicos, ingenieros químicos, médicos cirujanos, médicos veterinarios, y a otros profesionales de las ciencias físicas y naturales, de la ingeniería y de las profesiones sanitarias relacionadas con el uso de medicamentos.

VISIÓN

En pro de la difusión de las investigaciones, los contenidos de la *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* son de acceso libre, con ello se espera llegar a un número mayor de lectores, propiciando la consolidación de comunidades académicas. Además, se proyecta que los contenidos publicados contribuyan al desarrollo e innovación de las ciencias farmacéuticas.

ÉTICA

La responsabilidad de lo expresado en cada artículo es exclusiva de los autores y no representa ni compromete posiciones de la revista ni del cuerpo editorial. Los contenidos publicados pueden reproducirse siempre que se cite la fuente respectiva. Esta revista sigue los lineamientos del COPE (Committee on Publication Ethics), que pueden ser consultados en: <http://publicationethics.org/>

LICENCIA CREATIVE COMMONS



Todo el contenido de esta revista, excepto dónde está identificado, está bajo una Licencia Creative Commons de atribución aprobada en Colombia. Consulte la normativa en: http://co.creativecommons.org/?page_id=13

La totalidad de los números anteriores se encuentran disponibles en el sitio web: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcqifja>

Contenido

- Ultrasonic behavior of various chalcones in some solvents at different temperatures
Shipra Baluja, Divyata Lava 339
- A eletrorredução de benzodiazepinas e a sua avaliação matemática
Volodymyr Tkach, Sílvio C. de Oliveira, Reza Ojani, Olga Yelenich,
Petró I. Yagodynets' 362
- Automedicación en estudiantes de medicina de la Universidad del Rosario en
Bogotá D. C., Colombia
Claudia Alejandra López-Cabra, Jubby Marcela Gálvez-Bermúdez,
Camilo Domínguez-Domínguez, Adriana del Pilar Urbina-Bonilla,
Carlos Alberto Calderón-Ospina, Álvaro Vallejos-Narváez 374
- Estudo de estabilidade da eletrossíntese e do desempenho eletroanalítico do
compósito poli(L-metionina)-nano-Au na presença de dopamina e de ácido úrico
Volodymyr V. Tkach, Sílvio C. de Oliveira, Yana G. Ivanushko,
Svitlana M. Lukanova, Reza Ojani, Petró I. Yagodynets', Aline M. da Rocha 385
- Microencapsulación de aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.)
mediante secado por aspersión
Alex Pastuña-Pullutasig, Orestes López-Hernández, Alexis Debut,
Andrea Vaca, Eduardo Rodríguez-Leyes, Roxana Vicente,
Víctor Gonzalez, María González-Sanabia, Fausto Tapia-Hernández 422
- Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto
con alto potencial biológico
Andrés Ahumada, Andrés Ortega, Diana Chito, Ricardo Benítez 438
- Validación de una metodología analítica USP por HPLC para
la cuantificación de warfarina sódica en tabletas
Fredys Sánchez-Hoyos, Argenis Cárdenas, Jairo Mercado-Camargo,
Gina Domínguez-Moré, Harold Gómez-Estrada 470
- Antecedentes del estudio metabólico de MDPV y metilona. Propuesta de
un modelo de biotransformación a través de hongos del género *Cunninghamella*
Eliana A. Silva, Jorge A. Martínez 484

Ultrasonic behavior of various chalcones in some solvents at different temperatures

Shipra Baluja*, Divyata Lava

Physical Chemistry Laboratory, Department of Chemistry, Saurashtra University, Rajkot-360005, India

*E-mail: shipra_baluja@rediffmail.com

Received: April 13, 2016

Accepted: August 29, 2016

SUMMARY

Ultrasonic velocity, density and viscosity of some synthesized chalcones were measured in N,N-dimethyl formamide and chloroform at different temperatures (298.15 to 318.15 K). From these experimental data, various acoustical parameters such as specific impedance (Z), adiabatic compressibility (κ_s), Rao's molar sound function (R_m), intermolecular free path length (L_f), solvation number (S_n), internal pressure (π) have been calculated in order to understand the molecular interactions in the studied solutions. The results are interpreted in terms of molecular interactions occurring in the solutions.

Keywords: Ultrasonic velocity, chalcones, acoustical parameters, DMF, chloroform.

SUMMARY

Comportamiento ultrasónico de varias chalconas en algunos disolventes a diferentes temperaturas

La velocidad ultrasónica, la densidad y la viscosidad de soluciones de algunas chalconas sintéticas se midieron en N, N-dimetilformamida y cloroformo a diferentes temperaturas (desde 298,15 hasta 318,15 K). A partir de estos datos experimentales, se calcularon diversos parámetros acústicos tales como la impedancia específica (Z), la compresibilidad adiabática (κ_s), la función de sonido molar de Rao (R_m), la longitud de trayecto libre intermolecular (L_f), el número de solvatación (S_n) y la presión interna (π), para comprender las interacciones moleculares en las soluciones

estudiadas. Los resultados se interpretan en términos de las posibles interacciones moleculares que ocurren en las soluciones.

Palabras clave: Velocidad ultrasónica, chalconas, parámetros acústicos, DMF, cloroformo.

INTRODUCTION

Ultrasonic, a versatile non-destructive technique is a subject of extensive research because of its applications in various fields such as biology, medicine, in chemical industries, consumer industries, medical field, physics, etc. [1-9]. Further, now a days, ultrasonic waves are used in chemical and food processing industries [10-13].

The study of ultrasonic velocity along with density and viscosity at different temperatures and concentrations has been used to draw conclusion about molecular interactions, complex formation, etc. [14-16]. The ultrasonic technique is highly sensitive to molecular interactions and it gives valuable information about nature and strength of molecular interactions in solutions.

Chalcones are an important class of biologically active compounds which are known to exhibit a wide spectrum of biological and pharmacological activities like antispasmodic, anti-helminthics, anti-inflammatory, antiviral, ant allergic, antifungal, antibacterial, anticancer, anti-tubercular, anti-HIV, antioxidant, etc. [17-27].

Owing to vast biological and pharmacological applications of chalcones, it would be interesting to study acoustical properties of such compounds. The obtained data may be useful to scientists for Quantitative Structure Activity Relationship (QSAR) study of these compounds.

Thus, in the present work, some new chalcones are synthesized and their structure characterization was done by IR, ^1H NMR and mass spectral data. The density, ultrasonic velocity and viscosity of these synthesized compounds were measured in N,N-dimethyl formamide and chloroform over a wide range of concentration at different temperatures. From these experimental data, various acoustical parameters such as specific impedance (Z), adiabatic compressibility (χ_s), Rao's molar sound function (R_m), inter molecular free path length (L_f), solvation number (S_n), internal pressure (π) have been calculated. The obtained results are discussed in term of solute-solute and solute-solvent interactions occurring in the studied solutions.

EXPERIMENTAL

Materials

α -tetralone, methanol, 4-fluoro benzaldehyde and 4-methyl benzaldehyde used in the synthesis were supplied from Spectrochem Pvt. Ltd. (Mumbai, India). The solvents, DMF and chloroform used in the present work were of AR grade supplied by LOBA Chemie Pvt. Ltd. (Mumbai, India) and were purified according to the standard reported method [28]. The purified solvents were kept over molecular sieves. The final purities of the solvents were checked by GC-MS (SHIMADZU-Model No.-QP-2010).

Synthesis

Equimolar mixture of α -tetralone and substituted benzaldehydes in ethanol was refluxed for 4 h in presence of catalytic amount of potassium hydroxide. The reaction progress was checked by analytical thin layer chromatography (TLC) using (4:1-Hexane: Ethyl acetate) as mobile phase. After completion of reaction, the temperature of reaction mass was allowed cool up to room temperature and the resulting solid was filtered, washed with water and was dried under vacuum to give crude product. The obtained crude product was purified by washing with diethyl ether.

The reaction scheme is given in figure 1.

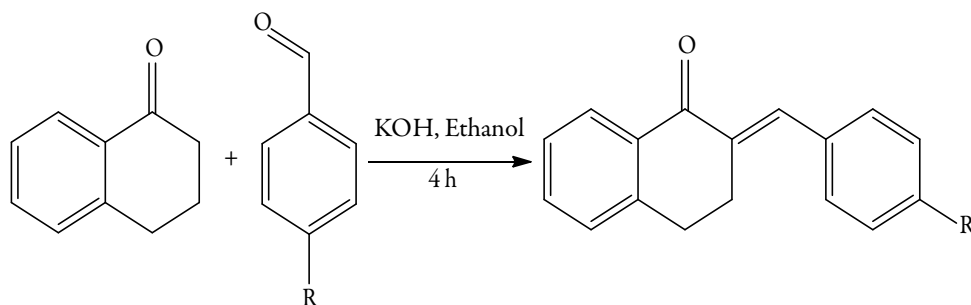


Figure 1. Reaction scheme for the synthesis of chalcones

Overall, two compounds were synthesized and the IUPAC names of these compounds are:

SB-1:2-(4-fluorobenzylidene)-3,4-dihydro naphthalene-1,(2*H*)-one.

SB-2:2-(4-methylbenzylidene)-3,4-dihydro naphthalene-1,(2*H*)-one.

Spectroscopy study

The structure of the synthesized compounds was confirmed by IR, ^1H NMR and mass spectral analysis. The IR spectra of compounds were taken on FT-IR (SHIMADZU Model-IRaffinity-1S). ^1H NMR spectra were taken on a Bruker AVANCE III (400 MHz). In all the cases, ^1H NMR spectra were obtained in deuterated dimethyl sulfide (DMSO-d_6) using TMS as an internal standard. The NMR signals are reported in δ ppm. Mass spectra were determined using direct inlet probe on a GC-MS (SHIMADZU Model-QP2010) mass spectrometer.

The melting points of compounds were measured by Different Scanning Calorimeter (SHIMADZU DSC-60) under nitrogen atmosphere.

Measurements of density, ultrasound velocity and viscosity

Measurements of density and ultrasound velocity

The solutions of chalcones were prepared in DMF and chloroform in the concentration range from 0.01 to 0.10 mol.L⁻¹ and were stored in bottles with PTFE septum until further use. The standard uncertainties of solutions are 0.0001 mol.L⁻¹. An electronic balance (Mettler Toledo Model-AB204-S) with accuracy of ± 0.0001 g was used for weighing.

The density and ultrasonic velocity of pure solvents and solutions were measured at different temperatures (298.15, 308.15 and 318.15 K) using Anton Paar Density and Sound velocity meter (DSA 5000M). The temperature was controlled up to ± 0.01 K by a built-in Peltier device. Before measurements, the instrument DSA 5000M was calibrated by ultra-pure water in the experimental temperature range. The standard uncertainty of the density and ultrasonic velocity was found to be 0.5 kg.m⁻³ and 0.5 m.s⁻¹, respectively.

Measurement of viscosity

To determine the viscosity of pure solvents and solutions, Ubbelohde viscometer was used. The measured quantity of the distilled water / solvent / solution was placed in the viscometer, which was suspended in a constant temperature bath (NOVA Instruments Pvt. Ltd.-Ahmedabad) (NV-8550 E) at definite temperature. The accuracy of bath was $\pm 0.5^\circ \text{C}$. A digital stop watch (Hanhart-Germany) with accuracy of ± 0.01 second was used to determine flow time of solutions. Using the flow times (t) and known viscosity of standard water sample, the viscosity of solvent and solutions were determined according to equation:

$$\frac{\eta_1}{\eta_2} = \frac{t_1 \rho_1}{t_2 \rho_2} \quad (1)$$

where η_1 and η_2 are the viscosities of water and solutions respectively; t_1 and ρ_1 are the flow of time and density of water whereas t_2 and ρ_2 are the flow of time and density of solutions respectively.

RESULTS AND DISCUSSION

Table 1 shows the substitutions and other physical properties of synthesized compounds.

Table 1. Physical constants of the synthesized compounds.

Compound	Mol. Formula	Mol. Wt. (g.mol ⁻¹)	% Yield	R _f *value	Melting point (K)
SB-1	C ₁₇ H ₁₃ FO	252.12	78	0.49	386.15
SB-2	C ₁₈ H ₁₆ O	248.31	74	0.36	395.81

*4:1-Hexane: Ethyl acetate

Spectral Data:

Figures 2 and 3 show IR and ¹H NMR of synthesized compounds.

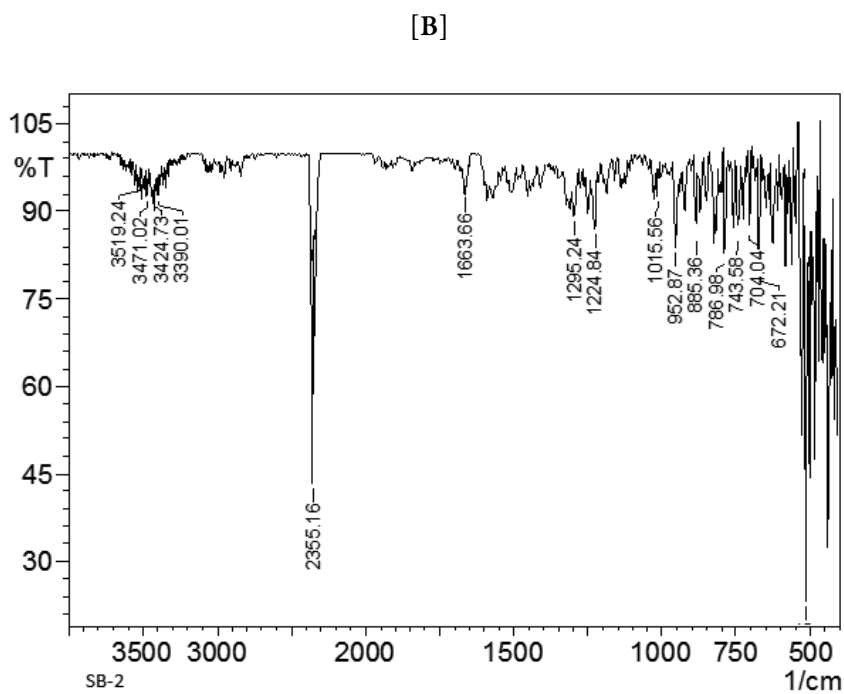
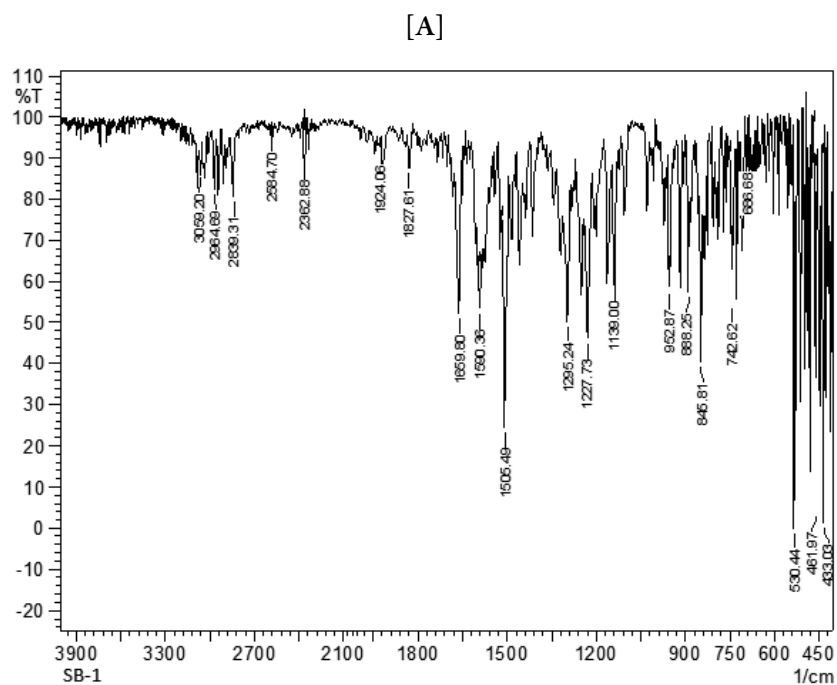
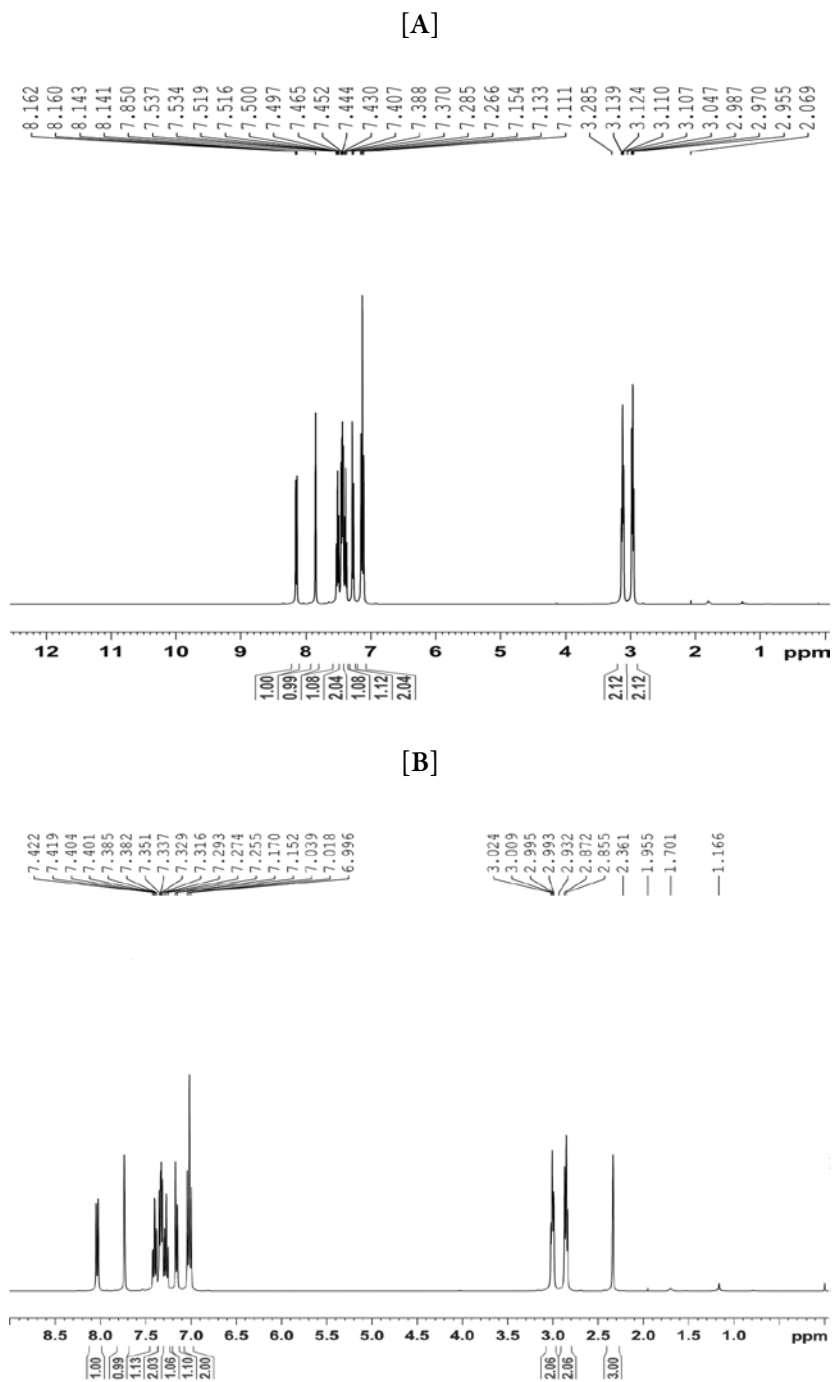


Figure 2: IR spectra of [A] SB-1 and [B] SB-2


 Figure 3: $^1\text{H-NMR}$ spectra of [A] SB-1 and [B] SB-2

SB-1:

IR (cm^{-1} , *KBr*): 3059.20 (Ar-H asym. stretching), 2964.69-2839.31 (CH_2 stretching of cyclohexanone ring), 1659.80 (C = O stretching), 1295.24-1227.73 ($-CH_2$ bending), 952.87 (ring stretching in cyclohexanone), 845 (C-H out of plane bending), 1139 (C-F stretching).

1H NMR ($CDCl_3$) $\delta(ppm)$: 2.955-2.987 (2H, triplet, $J = 6.4$), 3.107-3.139 (2H, triplet, $J = 6.4$), 7.111-7.154 (2H, triplet, $J = 8.6$), 7.266-7.285 (1H, doublet, $J = 7.6$), 7.370-7.389 (1H, triplet, $J = 3.8$), 7.408-7.466, (2H, quartet), 7.497-7.537 (1H, triplet, $J = 8.0$), 7.851 (1H, Singlet), 8.141-8.162 (1H, doublet, $J = 8.4$).

MS: (m/z) = 252.12

SB-2:

IR (cm^{-1} , *KBr*): 3050.52 (Ar-H asym. str.), 2846.06 (CH_2 stretching of cyclohexanone ring), 1663.80 (C = O stretching), 1295.24-1224.73 ($-CH_2$ bending), 952.87 (ring stretching in cyclohexanone), 845 (C-H out of plane bending), 2951.19 ($-CH_3$ stretching).

1H NMR ($CDCl_3$) $\delta(ppm)$: 2.361 (3H, singlet) 2.855-2.932 (2H, triplet, $J = 6.4$), 2.993-3.024 (2H, triplet, $J = 6.4$), 6.996-7.152 (2H, triplet, $J = 8.6$), 7.170-7.255 (1H, doublet, $J = 7.6$), 7.274-7.316 (1H, triplet, $J = 3.8$), 7.329-7.351 (2H, quartet), 7.382-7.385 (1H, triplet, $J = 8.0$), 7.401-7.404 (1H, Singlet), 7.419-7.422 (1H, doublet, $J = 8.4$).

MS: (m/z) = 248.32

Table 2. Experimental data of density, ultrasonic velocity and viscosity of chalcones in chloroform and N,N-dimethyl formamide at different temperatures.

Conc. M	Density (Kg.m ⁻³)	Velocity (m.s ⁻¹)	Viscosity (mPa.s)	Density (Kg.m ⁻³)	Velocity (m.s ⁻¹)	Viscosity (mPa.s)
SB-1						
Chloroform				DMF		
298.15 K						
0.00	1479.32	983.90	0.7678	943.94	1457.71	0.8158
0.01	1478.65	985.01	0.7529	945.58	1461.57	0.8608
0.02	1478.11	986.11	0.7559	946.43	1462.97	0.8571
0.04	1476.99	987.98	0.7581	947.65	1463.64	0.8552
0.06	1476.04	989.58	0.7647	948.70	1464.44	0.8549
0.08	1475.26	991.15	0.7699	949.54	1465.03	0.8511
0.10	1474.55	992.67	0.7761	949.77	1466.34	0.8396
308.15 K						
0.00	1460.15	949.94	0.6837	934.38	1418.80	0.7011
0.01	1459.54	951.07	0.6843	936.02	1422.74	0.7498
0.02	1459.03	952.12	0.6897	936.88	1424.11	0.7472
0.04	1458.01	953.98	0.6936	938.98	1425.83	0.7418
0.06	1457.30	955.69	0.6959	939.16	1426.64	0.7391
0.08	1456.40	957.11	0.6968	940.00	1427.26	0.7319
0.10	1455.76	958.75	0.7004	940.23	1428.58	0.7295
318.15 K						
0.00	1440.27	916.11	0.6129	924.77	1380.15	0.6337
0.01	1440.18	917.25	0.6152	926.42	1384.19	0.6745
0.02	1439.71	918.30	0.6203	927.28	1385.60	0.6722
0.04	1438.77	920.23	0.6252	928.50	1386.29	0.6640
0.06	1438.11	921.23	0.6273	929.57	1387.79	0.6613
0.08	1437.31	923.39	0.6282	930.42	1388.56	0.6559
0.10	1436.74	925.06	0.6332	930.64	1389.31	0.6490

(keep going)

Table 2. Experimental data of density, ultrasonic velocity and viscosity of chalcones in chloroform and N,N-dimethyl formamide at different temperatures (*continuation*)

Conc. M	Density (Kg.m ⁻³)	Velocity (m.s ⁻¹)	Viscosity (mPa.s)	Density (Kg.m ⁻³)	Velocity (m.s ⁻¹)	Viscosity (mPa.s)
SB-2						
Chloroform				DMF		
298.15 K						
0.00	1478.99	983.92	0.7676	943.94	1457.71	0.8158
0.01	1477.99	984.77	0.7554	946.12	1465.31	0.7717
0.02	1477.26	985.71	0.7597	946.95	1467.22	0.7697
0.04	1475.91	987.32	0.7632	947.77	1468.01	0.7677
0.06	1474.72	988.84	0.7668	948.21	1468.97	0.7635
0.08	1473.63	990.20	0.7733	948.83	1469.36	0.7601
0.10	1472.85	991.35	0.7836	949.41	1470.19	0.7551
308.15 K						
0.00	1459.83	949.94	0.6835	934.38	1418.80	0.7011
0.01	1458.89	950.89	0.6757	936.57	1426.54	0.7396
0.02	1458.20	951.80	0.6797	937.41	1428.48	0.7681
0.04	1456.12	953.45	0.6818	938.25	1429.23	0.7657
0.06	1455.80	954.98	0.6871	938.70	1430.17	0.7599
0.08	1454.78	956.33	0.6924	939.17	1431.55	0.7574
0.10	1454.05	957.49	0.7019	939.82	1432.32	0.7540
318.15 K						
0.00	1440.27	916.11	0.6129	924.77	1380.15	0.6337
0.01	1439.52	917.05	0.6117	926.98	1388.02	0.6699
0.02	1438.88	918.00	0.6151	927.82	1389.96	0.6682
0.04	1437.69	919.67	0.6207	928.67	1390.72	0.6664
0.06	1436.64	921.25	0.6255	929.14	1391.69	0.6629
0.08	1435.68	922.57	0.6287	929.41	1392.05	0.6596
0.10	1435.00	923.78	0.6312	930.27	1393.12	0.6555

Table 2 shows experimental density, ultrasonic velocity and viscosities of pure solvents and solutions of both the compounds. From the experimental data of density, viscosity and ultrasonic velocity, various acoustical parameters such as specific acoustical

impedance (Z), adiabatic compressibility (κ_s), intermolecular free path length (L_f), Rao's molar sound function (R_m), free volume (V_f), internal pressure (π), solvation number (S_n) etc. are evaluated using following equations:

Specific acoustical impedance (Z):

$$Z = Up \quad (2)$$

Adiabatic compressibility (κ_s):

$$\kappa_s = \frac{1}{U^2 \rho} \quad (3)$$

Intermolecular free path length (L_f) [29]:

$$L_f = \kappa_j \kappa_s^{1/2} \quad (4)$$

where K_j is Jacobson constant ($=2.0965 \times 10^{-6}$)

Rao's molar sound function (R_m) [30]:

$$R_m = \left(\frac{M}{\rho} \right) U^{1/3} \quad (5)$$

where M is the apparent molecular weight of solution and can be calculated according to the following equation:

$$M = M_1 W_1 + M_2 W_2 \quad (6)$$

where W_1 and W_2 are weight fractions of solvent and solute respectively. M_1 and M_2 are molecular weights of the solvent and solute respectively.

Free volume (V_f) [31]:

$$V_f = \left[\frac{M U}{K \eta} \right]^{3/2} \quad (7)$$

Internal pressure (π) [32]:

$$\pi = b R T \left[\frac{K_n}{U} \right]^{1/2} \frac{\rho^{2/3}}{M^{1/6}} \quad (8)$$

Solvation number (S_n) [31]:

$$S_n = \frac{M_2}{M_1 \left[1 - \frac{Ka}{Ka1} \right] \left[\frac{(100 - X)}{X} \right]} \quad (9)$$

where X is the number of grams of solute in 100 g of the solution. M_1 and M_2 are the molecular weights and κ_{a1} and κ_a are adiabatic compressibility of solvent and solute respectively.

Some of these evaluated parameters are reported in table 3.

Table 3. Some acoustical parameters of SB-1 in chloroform and N,N-dimethyl formamide at different temperatures.

Conc. M	$Z, 10^{-6}$ Kg.m ⁻² .s ⁻¹	$V_f, 10^{12}$ m ³	$R_m, 10^4$ m ^{-8/3} .s ^{1/3}	$\pi, 10^{-10}$ Pa	$Z, 10^{-6}$ Kg.m ⁻² .s ⁻¹	$V_f, 10^{12}$ m ³	$R_m, 10^4$ m ^{-8/3} .s ^{1/3}	$\pi, 10^{-10}$ Pa
Studied compounds								
Chloroform					DMF			
298.15K								
0.00	1.4555	3.0586	8.0264	1.4042	1.3760	2.8942	8.7795	1.5623
0.01	1.4565	2.9835	8.0483	1.3862	1.3820	3.1801	8.8294	1.5923
0.02	1.4576	3.0149	8.0695	1.3848	1.3846	3.1948	8.8814	1.5772
0.04	1.4592	3.0543	8.1112	1.3788	1.3870	3.2480	8.9853	1.5531
0.06	1.4607	3.1190	8.1515	1.3769	1.3893	3.3110	9.0906	1.5309
0.08	1.4622	3.1763	8.1909	1.3740	1.3911	3.3530	9.1972	1.5062
0.10	1.4637	3.2402	8.2297	1.3720	1.3927	3.3504	9.3113	1.4742
308.15K								
0.00	1.3871	2.4382	8.0371	1.3817	1.3257	2.2141	8.790	1.507
0.01	1.3881	2.4527	8.0591	1.3780	1.3317	2.4834	8.840	1.546
0.02	1.3892	2.4934	8.0804	1.3793	1.3342	2.4980	8.893	1.532
0.04	1.3909	2.5364	8.1223	1.3751	1.3388	2.5238	8.992	1.505
0.06	1.3927	2.5705	8.1622	1.3695	1.3398	2.5607	9.107	1.480
0.08	1.3939	2.5959	8.2024	1.3628	1.3416	2.5728	9.215	1.452
0.10	1.3957	2.6379	8.2419	1.3587	1.3432	2.6120	9.330	1.428

(keep going)

Table 3. Some acoustical parameters of SB-1 in chloroform and N,N-dimethyl formamide at different temperatures (*continuation*).

Conc. M	$Z, 10^{-6}$ Kg.m ⁻² .s ⁻¹	$V_f 10^{12}$ m ³	$R_m, 10^4$ m ^{8/3} .s ^{1/3}	$\tau, 10^{-10}$ Pa	$Z, 10^{-6}$ Kg.m ⁻² .s ⁻¹	$V_f 10^{12}$ m ³	$R_m, 10^4$ m ^{8/3} .s ^{1/3}	$\tau, 10^{-10}$ Pa
Studied compounds								
Chloroform				DMF				
318.15K								
0.00	1.3194	1.9597	8.0501	1.3628	1.2763	1.8254	8.7996	1.4895
0.01	1.3210	1.9806	8.0697	1.3615	1.2823	2.0332	8.8512	1.5243
0.02	1.3221	2.0144	8.0911	1.3629	1.2848	2.0463	8.9045	1.5103
0.04	1.3240	2.0565	8.1335	1.3600	1.2872	2.0499	9.0108	1.4793
0.06	1.3248	2.0825	8.1717	1.3551	1.2900	2.0806	9.1199	1.4548
0.08	1.3272	2.1063	8.2143	1.3479	1.2919	2.0962	9.2294	1.4280
0.10	1.3291	2.1497	8.2541	1.3456	1.2929	2.1040	9.3450	1.3997
SB-2								
298.15 K								
0.00	1.4552	3.0577	8.0282	1.4038	1.3760	2.8942	8.7795	1.5623
0.01	1.4555	2.9968	8.0506	1.3884	1.3864	2.7090	8.8297	1.5068
0.02	1.4561	3.0351	8.0717	1.3883	1.3894	2.7289	8.8809	1.4938
0.04	1.4572	3.0804	8.1128	1.3837	1.3913	2.7710	8.9848	1.4710
0.06	1.4583	3.1263	8.1529	1.3793	1.3929	2.8019	9.0924	1.4463
0.08	1.4592	3.1895	8.1921	1.3777	1.3942	2.8347	9.1970	1.4235
0.10	1.4601	3.2770	8.2291	1.3798	1.3958	2.8597	9.3026	1.3995

(*keep going*)

Table 3. Some acoustical parameters of SB-1 in chloroform and N,N-dimethyl formamide at different temperatures (continuation).

Conc. M	$Z \cdot 10^{-6}$ Kg.m ⁻² .s ⁻¹	$V_f \cdot 10^{12}$ m ³	$R_m \cdot 10^4$ m ^{-8/3} .s ^{1/3}	$\pi \cdot 10^{-10}$ Pa	$Z \cdot 10^{-6}$ Kg.m ⁻² .s ⁻¹	$V_f \cdot 10^{12}$ m ³	$R_m \cdot 10^4$ m ^{-8/3} .s ^{1/3}	$\pi \cdot 10^{-10}$ Pa
Studied compounds								
Chloroform					DMF			
308.15 K								
0.00	1.3868	2.4374	8.0389	1.3814	1.3257	2.2141	8.7897	1.5070
0.01	1.3872	2.4055	8.0615	1.3692	1.3361	2.4416	8.8409	1.5346
0.02	1.3879	2.4374	8.0827	1.3692	1.3391	2.6140	8.8927	1.5524
0.04	1.3883	2.4686	8.1287	1.3630	1.3410	2.6528	8.9976	1.5281
0.06	1.3903	2.5169	8.1628	1.3613	1.3425	2.6739	9.1063	1.5006
0.08	1.3912	2.5658	8.1848	1.3612	1.3445	2.7138	9.2157	1.4769
0.10	1.3922	2.6380	8.2141	1.3643	1.3461	2.7464	9.3218	1.4535
318.15 K								
0.00	1.3194	1.9597	8.0501	1.3628	1.2763	1.8254	8.7996	1.4895
0.01	1.3201	1.9628	8.0721	1.3575	1.2867	2.0203	8.8518	1.5181
0.02	1.3209	1.9876	8.0935	1.3571	1.2896	2.0360	8.9043	1.5048
0.04	1.3222	2.0314	8.1353	1.3554	1.2915	2.0683	9.0103	1.4815
0.06	1.3235	2.0718	8.1761	1.3529	1.2931	2.0923	9.1203	1.4563
0.08	1.3245	2.1039	8.2158	1.3490	1.2938	2.1165	9.2307	1.4322
0.10	1.3256	2.1326	8.2536	1.3446	1.2960	2.1376	9.3364	1.4081

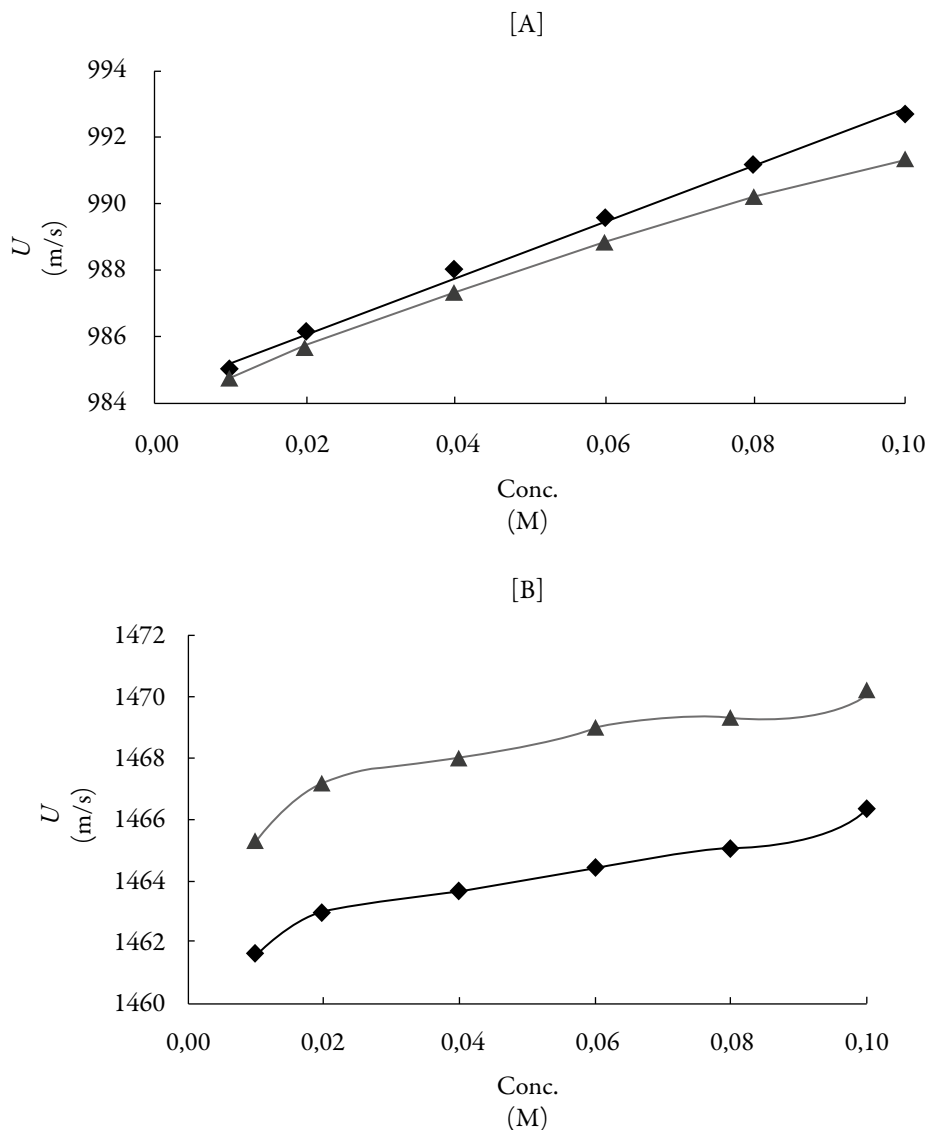


Figure 4. The variation of ultrasonic velocity (U) with concentration for the studied compounds in [A] chloroform and [B] DMF at 298.15 K. SB-1, (\blacklozenge); SB-2, (\blacktriangle).

Figure 4 shows the variation of ultrasonic velocity with concentration for the studied compounds in both the solvents. It is observed from Figure 4 that the velocity increases almost linearly with concentration for both SB-1 and SB-2 in chloroform whereas in dimethyl formamide, the increase is non-linear. Further, the velocity is higher in DMF

than that in chloroform. The increase of velocity is related to intermolecular free path length (L_f) which is found to decrease with concentration in both the solvents as shown in Figure 5. Again, the decrease is linear in chloroform and non-linear in dimethyl formamide for both the compounds. Thus, velocity is reciprocal of intermolecular free path length. The decrease of L_f suggests that compound and solvent molecules interact with each other i.e., compound-solvent interactions takes place in solution. This causes decrease in distance between compound and solvent molecules causing thereby an increase in velocity.

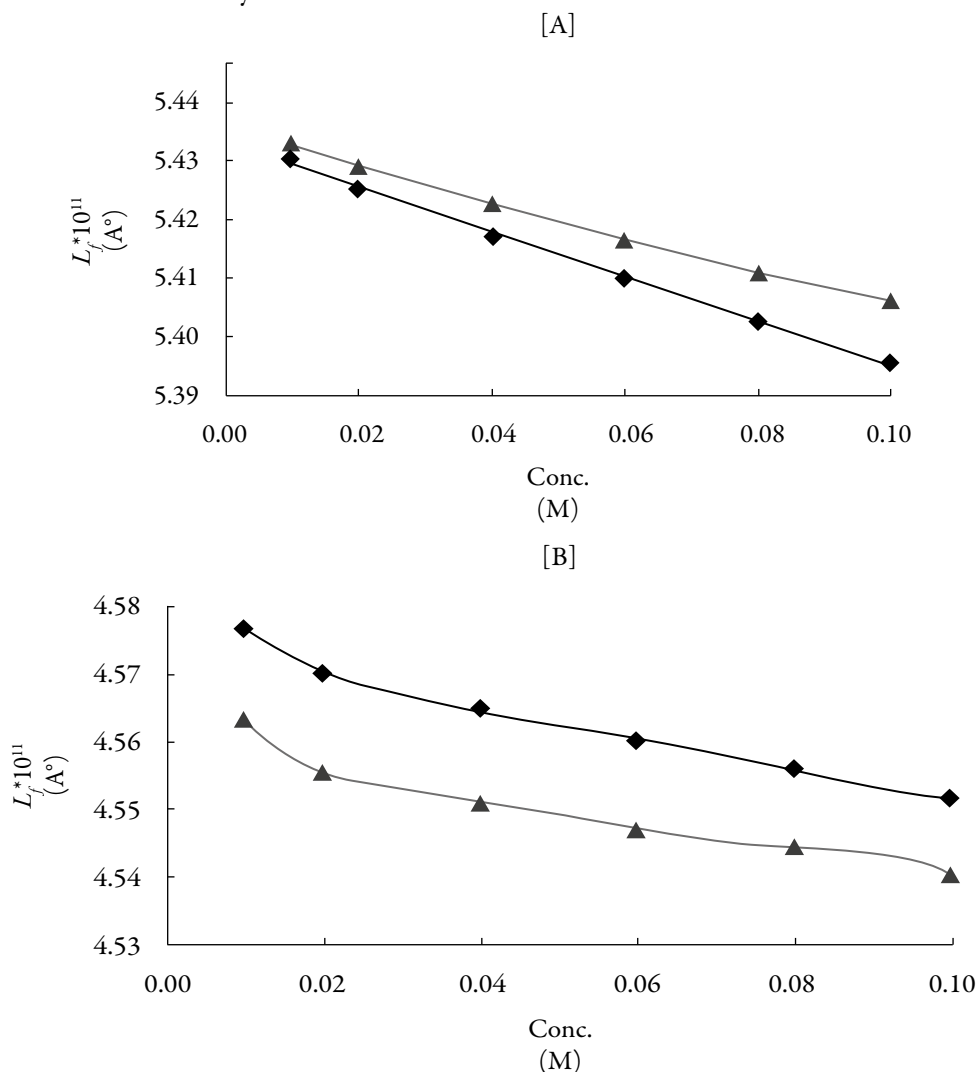


Figure 5. The variation of free path length (L_f) with concentration of the studied compounds in [A] chloroform and [B] DMF at 298.15 K. SB-1, (\blacklozenge); SB-2, (\blacktriangle).

Figure 6 shows that the variation of adiabatic compressibility (κ_s) with concentration which is again found to decrease with concentration for both compounds in both the solvents. This further confirms the existence of compound-solvent interactions in studied systems. The predominance of solute-solvent interaction is further proved by increase of specific impedance (Z) (table 3).

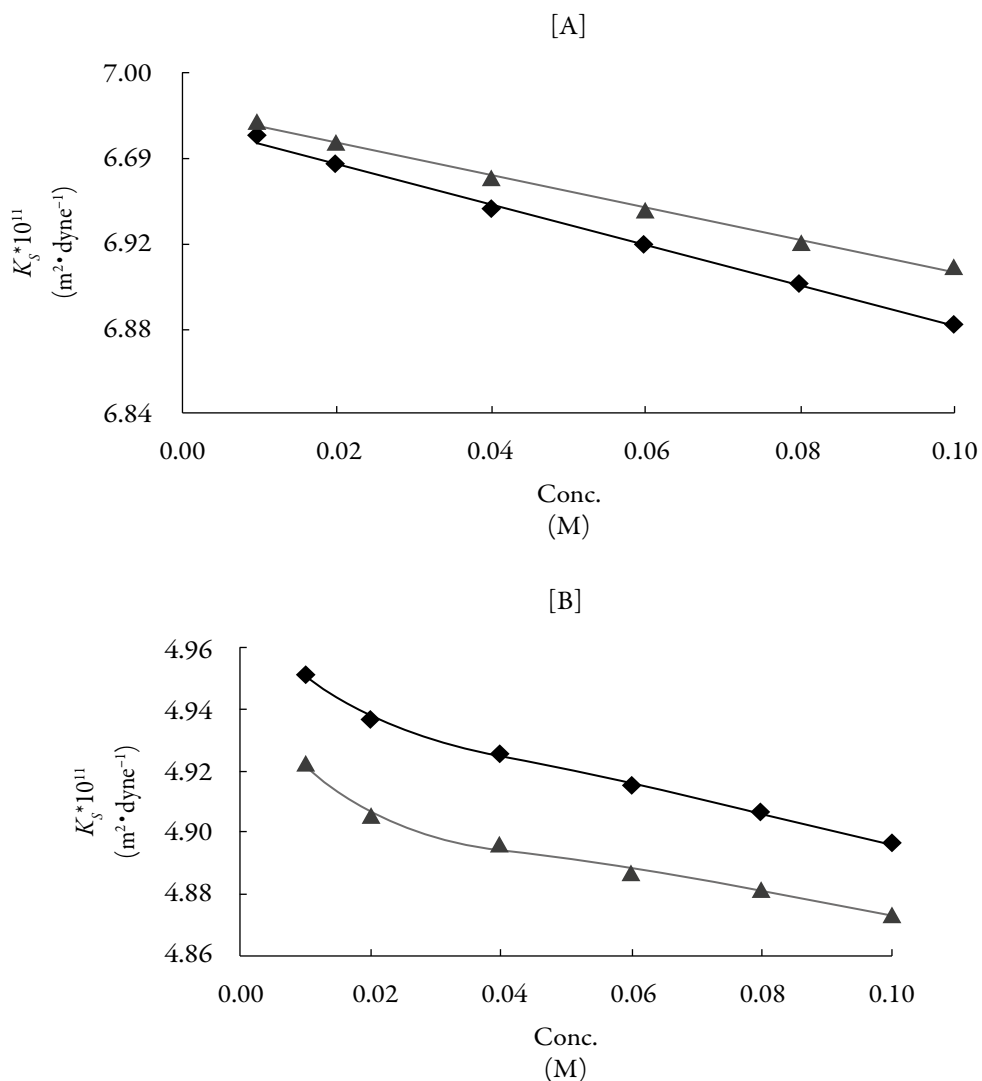
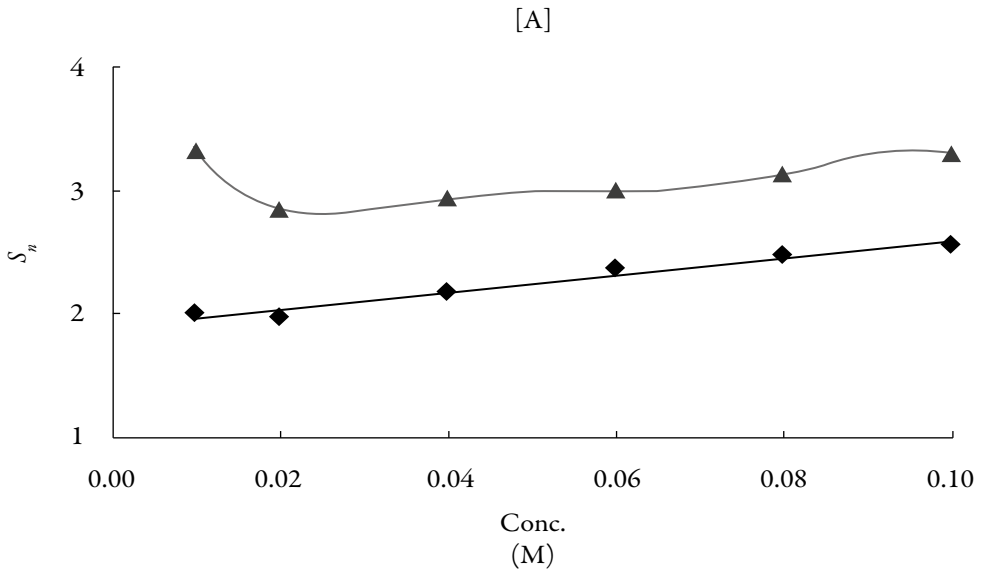


Figure 6. The variation of adiabatic compressibility (κ_s) with concentration for studied compound in [A] Chloroform and [B] DMF at 298.15 K. SB-1, (◆); SB-2, (▲).

Table 3 shows that Rao's molar function increases continuously for all the solutions for both the compounds indicating thereby that there is no complex formation in the studied solutions. The internal pressure (π) is a measure of cohesive energy in the solution which is found to decrease. This suggests that in the studied systems, compound-compound interactions also exist. This is again suggested by increase in free volume which is found to increase. However, the decrease of internal pressure and increase in free volume is in very small magnitude. Thus, in the studied systems, both compound-solvent and compound-compound interactions are present but their magnitudes are much different.

The magnitude and type of interactions are also predicted by a parameter Solvation number which is a measure of structure forming or structure breaking tendency of solute in a particular solvent. Figure 7 shows the variation of solvation number (S_n) with concentration. It is observed from figure 7 that solvation number increases with concentration for both the compounds and are found to be positive. The positive values of solvation number suggest structure forming tendency of the studied compounds in the studied solvents. This again proves that in studied solutions, compound-solvent interactions dominate.



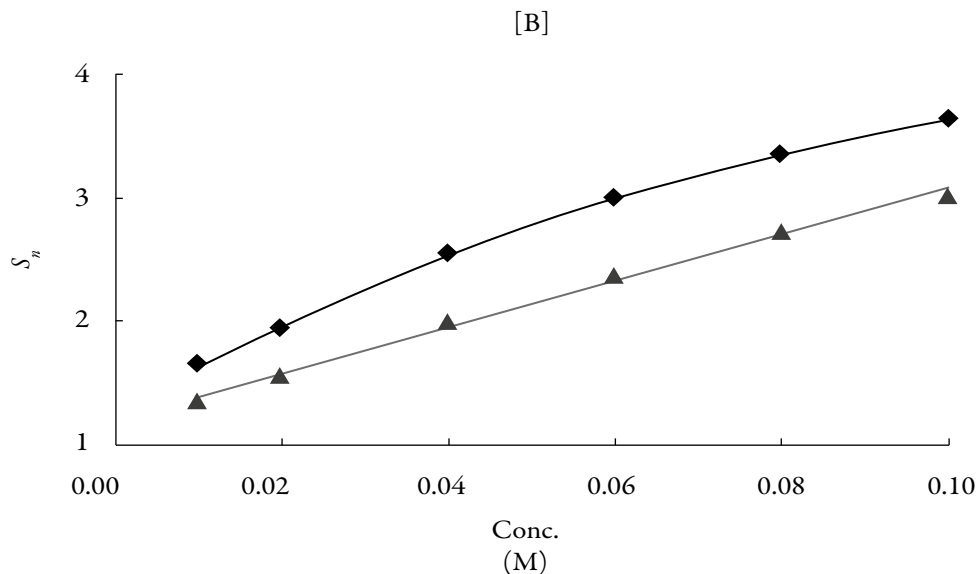


Figure 7. The variation of solvation number (S_n) with concentration for the studied compounds in [A] Chloroform and [B] DMF at 298.15 K. SB-1, (\blacklozenge); SB-2, (\blacktriangle).

CONCLUSION

On the bases of the evaluated data, it is concluded that in both chloroform and DMF, predominance of compound-solvent interactions exist for both the compounds. Further, interactions increases with increase in concentration but decreases with increase in temperature. In DMF, high values of ultrasonic velocity are observed. “However, in chloroform reverse order of compounds for ultrasonic velocity is obtained, indicating thereby that compound SB-2 containing 4-methyl group causes strong solute-solvent interactions in chloroform than 4-fluoro group (as in SB-1).

DISCLOSURE STATEMENT

No potential conflict of interest was reported by the authors.

REFERENCES

1. T. Sumathi, U. Maheswari, Ultrasonic and theoretical studies of some ternary liquid mixtures at various temperatures, *Ind. J. Pure Appl. Physics*, **47**, 782-786 (2009).
2. J.M. Thijssen, The history of ultrasound techniques in ophthalmology, *Ultrasound Med. Biol.*, **19**, 599-618 (1993).
3. C.L. De Korte, M. Nillesen, A. Saris, R. Lopata, J. Thijssen, L. Kapusta, New developments in paediatric cardiac functional ultrasound imaging, *J. Med. Ultrasonics*, **41**, 279-290 (2014).
4. B.J. Staples, B.L. Roeder, G.A. Hussein, O. Badamjav, G.B. Schaalje, W.G. Pitt, Role of frequency and mechanical index in ultrasonic enhanced chemotherapy in rats, *Cancer Chemother. Pharmacol.*, **64**, 593-600 (2009).
5. R. Paproski, A. Forbrich, M. Hitt, R. Zemp, RNA biomarker release with ultrasound and phase-change nanodroplets, *Ultrasound Med. Biol.*, **40**, 1847-1856 (2014).
6. W.P. Mason, Sonics and ultrasonics: Early history and applications, *IEEE Trans Son. Ultrasonic*, **23**, 224 (1976).
7. G. Gooberman, "Ultrasonics-Theory and application", The English University Press Ltd., London EC4, 1968.
8. V. Kühnel, U. Kaatze, Uncommon ultrasonic absorption spectra of "tetra alkyl ammonium bromides" in aqueous solution, *J. Phys. Chem.*, **100**, 19747-19757 (1996).
9. M.R. Doosti, R. Kargar, M.H. Sayadi, Water treatment using ultrasonic assistance: A review, *Proc. Int. Acad. Ecology. Environ. Sci.*, **2**, 96-110 (2012).
10. H.S. Lillard, Decontamination of poultry skin by sonication, *Food Tech.*, **48**, 72-73 (1994).
11. Z. Dolatowski, J. Stadnik, D. Stasiak, Applications of ultrasound in food technology, *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*, **6**, 89-99 (2007).
12. S. Songül, C. Ysal, Use of ultrasound in food preservation, *Nat. Sci.*, **5**, 5-13 (2013).
13. R. Palani, A. Geetha, S. Saravanan, S. Tontapur, Physico-chemical behavior of binary liquid mixtures of some monohydroxy alcohols with DMSO as common solvent, *Rasayan J. Chem.*, **1**, 481-488 (2008).

14. A. Nain, D. Chand, Volumetric, ultrasonic and viscometric behavior of glycine, DL-alanine and L-valine in aqueous 1,4-butanediol solutions at different temperatures, *J. Chem. Thermodyn.*, **41**, 243-249 (2009).
15. M. Gowrisankar, P. Venkateswarlu, K. Sivakumar, S. Sivarambabu, Ultrasonic studies on molecular interactions in binary mixtures of N-methyl aniline with methyl isobutylketone + 3-pentanone, and + cycloalkanones at 303.15 K, *J. Solution Chem.*, **42**, 916-935 (2013).
16. R. Palani, A. Geetha, Acoustical and excess thermodynamic studies of molecular interaction in aqueous mixed solvent systems at 303, 308 and 313 K, *Phys. Chem. Liq.*, **47**, 542-552 (2009).
17. X. Wu, R.T. Edward, L. Kostetski, N. Kocherginsky, A.L.C. Tan, P. Wilairat, M.L. Go, Antiplasmodial activity of ferrocenyl chalcones: Investigations into the role of ferrocene, *Eur. J. Pharm. Sci.*, **27**, 175-187 (2006).
18. B. Das, G. Mariappan, S. Saha, D. Bhowmik, Chiranjib, Anthelmintic and antimicrobial activity of some novel chalcone derivatives, *J. Chem. Pharm. Res.*, **2**, 113-112 (2010).
19. T. Suwa, K. Fukushima, K. Kyogoku, Effect of an anti-ulcer agent, 2'-carboxymethoxy-4,4'-bis(3-methyl-2-butenyloxy) chalcone (SU-88), on the biosynthesis of gastric sulfated mucosubstances in restrained and water-immersed rats, *Jap. J. Pharm.*, **34**, 89-94 (1984).
20. K. Mallikarjun, Antiviral activity of substituted chalcones and their respective Cu(ii), Ni(ii) and Zn(ii) complexes, *J. Chem.*, **2**, 58-61 (2005).
21. J. Jeon, S. Kim, C. Kim, J. Kim, J. Jun, Synthesis of biologically active chalcones and their anti-inflammatory effects, *Bull. Korean Chem. Soc.*, **33**, 953-957 (2012).
22. O. Muraoka, T. Sawada, E. Morimoto, G. Tanabe, Chalcones as synthetic intermediates. A facile route to (\pm)-magnosalicin, an antiallergyneolignan, *Chem. Pharm. Bull.*, **41**, 772-774 (1993).
23. S. Gafner, J. Wolfender, S. Mavi, K. Hostettmann, Antifungal and antibacterial chalcones from *Myricaserrata*, *Planta Medica*, **62**(1), 67-90 (1996).
24. S. Syam, S. Abdelwahab, M. Al-Mamary, S. Mohan, Synthesis of chalcones with anticancer activities, *Molecules*, **17**, 617961-617995 (2012).

25. Y. Rajendra Prasad, A. Srinivasa-Rao, R. Rambabu, Synthesis of some 4'-amino chalcones and their antiinflammatory and antimicrobial activity, *Asian J. Chem.*, **21**, 907-914 (2009).
26. V. Mudalir, V. Joshi, Synthesis and insecticidal activity of new substituted phenoxychalocones, *Ind. J. Chem.*, **34B**, 456-457 (1995).
27. E. Oganessian, A. Saraf, A. Simonyan, I. Shriyaev, Structure-activity relationship in flavonoids. Anti-allergic activity of chalcones, *Pharm. Chem. J.*, **25**, 526-530 (1991).
28. J. Riddick, W. Bunger, T. Sakano, "Organic solvents-physical properties and methods of purification Techniques of Chemistry", Wiley-Interscience Publication, John Wiley, New York, 1986.
29. G. Sastry, V. Satry, B. Krishnamurty, Ultrasonic parameters in mixed salt solutions, *Ind. J. Pure Appl. Physics*, **6**, 637-638 (1986).
30. B. Jacobson, A. Anderson, J. Arnold, A Proton magnetic resonance study of the hydration of deoxyribonucleic acid, *Nature (London)*, **173**, 772-773 (1954).
31. S. Bagchi, S.K. Nema, R.P. Sing, Ultrasonic and rheological investigations of solid propellant binders, *Eur. Polym. J.*, **25**, 441-444 (1989).
32. C.V. Suryanarayana, J. Kuppuswamy, Role of internal pressure in the chemistry of electrolyte solutions, *J. Acoust. Soc.*, **9**, 4-8 (1981).

HOW TO CITE THIS ARTICLE

Sh. Baluja, D. Lava, Ultrasonic behavior of various chalcones in some solvents at different temperatures, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(3), 339-361 (2017).

A eletrorredução de benzodiazepinas e a sua avaliação matemática

Volodymyr Tkach^{1,2*}, Sílvio C. de Oliveira², Reza Ojani³, Olga Yelenich¹, Petró I. Yagodynets¹

*Correio eletrônico: nightwatcher2401@gmail.com

¹ Universidade Nacional de Chernivtsi, 58012, Rua de Kotsyubyns'ky, 2, Chernivtsi, Ucrânia

² Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Sen. Felinto. Müller, 1555, C/P. 549, 79074-460, Campo Grande, MS, Brasil

³ Universidade de Mazandarã, 47416-95447, 3º km. da Rodovia de Forças Aéreas Iranianas, Babolsar, República Islâmica do Irã

Recebido em: 09 de janeiro de 2016

Aceito em: 13 outubro de 2016

RESUMO

O processo da eletrorredução de benzodiazepinas, uma ferramenta, capaz de usar-se em pesquisa eletroanalítica, foi analisado dos pontos de vista mecanístico e matemático. O modelo correspondente veio sendo investigado por meio da teoria de estabilidade linear e análise de bifurcações e, por meio da sua análise, pôde-se obter o requisito da melhor eficiência do processo, investigar a pH-dependência do seu desempenho, bem como as condições das instabilidades oscilatória e monotônica. Faz-se uma tentativa de uma análise mecanística sistemática do desempenho de sensores eletroquímicos de benzodiazepinas.

Palavras-chave: benzodiazepinas, ansiolíticos, análise eletroquímica farmacêutica, potencial de hidrogênio, estado estacionário estável.

SUMMARY

Benzodiazepines' electrochemical reduction and its mathematical evaluation

The benzodiazepines' electrochemical reduction process, a tool, capable to be used in electroanalytic investigation, was analyzed by mechanistic and mathematical

means. The correspondent model was analyzed by means of linear stability theory and bifurcation analysis, and by its mean it was possible to get the requisite for the best process efficiency, the pH-dependence of its function, like also of oscillatory and monotonic instability. An effort is made for the systematic mechanistic analysis of the work of benzodiazepine electrochemical sensors.

Key words: benzodiazepines, anxiolytic drugs, pharmaceutical electrochemical analysis, hydrogen potential, stable steady-state.

INTRODUÇÃO

Benzodiazepinas (compostos heterocíclicos não saturados de sete átomos, dos quais os dois são de nitrogênio, conforme a nomenclatura de Hantsch-Widman [1]), uma das classes de o fármacos sedativos, ansiolíticos, antipsicóticos, neurolépticos e relaxantes [2-4] mais utilizados. O mecanismo do seu desempenho farmacológico baseia-se na ação direta sobre os receptores de GABA, aumentando a difusão dos íons cloreto para dentro dos neurônios [5], o que lhes dá o efeito relaxante.

Apesar da sua efetividade, as benzodiazepinas, porém, não são idôneas para uso duradouro e excessivo, haja vista os efeitos colaterais [6], como: sonolência excessiva, paralisia geral, supressão da libido e, no caso do uso frequente e duradouro, dependência do fármaco, e até a morte súbita. Destarte, o desenvolvimento de um método, capaz de determinar eficazmente a concentração dos fármacos em diferentes meios, é uma tarefa muito atual [7].

Os métodos eletroanalíticos são uma das ferramentas flexíveis, elegantes e modernas, utilizadas para a determinação de concentração de vários fármacos e outras substâncias biologicamente ativas [8-14] e as benzodiazepinas não é uma exceção [15-20]. No trabalho [20] foi feita uma revisão de vários métodos de eletrodetecção de várias benzodiazepinas. Cada método em si tinha suas vantagens. No entanto, numa impressão geral, a investigação tinha caráter esporádico, carecendo, destarte, de uma base rígida que desse orientações fundamentais. Outrossim, não foi feita uma avaliação teórica da influência do pH, bem como da possibilidade da aparição de instabilidades eletroquímicas, características para eletrooxidação e eletrorredução de compostos orgânicos (inclusive a eletropolimerização de compostos heterocíclicos) [21-28], durante a eletrorredução de benzodiazepina.

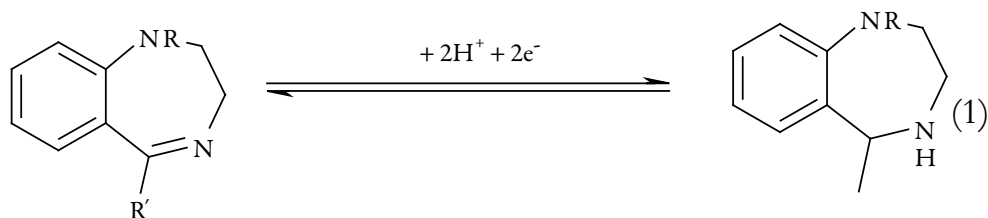
Isto pode ser feito por meio de uma análise mecanística do comportamento eletroquímico de benzodiazepinas, que se realiza por meio do desenvolvimento e da análise de um modelo matemático, capaz de descrever adequadamente o comportamento do sistema. A modelagem também dá possibilidade de compará-lo com os sistemas análogos.

Destarte, o objetivo geral deste trabalho é uma investigação teórica mecanística da eletrorredução de benzodiazepina. Ele se realiza por meio da realização dos objetivos específicos, como:

- desenvolvimento do modelo matemático de equações de balanço, que descreve o comportamento no sistema;
- análise do modelo;
- relação entre os resultados da análise do modelo e as observações experimentais;
- comparação do comportamento do sistema com o dos semelhantes [29-35].

O SISTEMA E O MODELO

As benzodiazepinas contêm pelo menos uma ligação azometínica, ou seja, ligação de Schiff. A redução de uma ligação de Schiff, em que um sistema com déficit de elétrons recebe os dois elétrons e os dois prótons, formando uma amina secundária, pode ser realizada por via eletroquímica.



Em geral, as benzodiazepinas podem ter mais de uma ligação de Schiff e, com isso, a eletrorredução pode correr de forma ainda mais profunda.

Os prótons tomam parte ativa da eletrorredução. Destarte, o processo será pH-dependente e, por conseguinte, o sistema descrever-se-á pelo sistema de três equações diferenciais de balanço:

ε – a concentração de benzodiazepina na camada pré-superficial;

η – o grau de recobrimento do cátodo pela benzodiazepina;

b - a concentração de prótons na camada pré-superficial.

A fim de simplificar o modelo, evitando a aparição de equações diferenciais em derivadas parciais de segunda ordem, supomos que o eletrólito esteja agitando-se intensamente (destarte é possível menosprezar a influência do fluxo de convecção), que o eletrólito de suporte esteja em excesso (o que possibilita o menosprezo das influências do fluxo de migração). Também é suposto que o perfil concentracional das substâncias seja lineal e a espessura da camada constante e igual a δ .

A *benzodiazepina* entra na camada pré-superficial por meio da sua difusão e, também, por meio da dessorção. Sai da camada por meio da adsorção. Por conseguinte, a equação de balanço da sua concentração na camada descrever-se-á como:

$$\frac{de}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{\Delta}{\delta} (\varepsilon_0 - \varepsilon) + \rho_{-1} - \rho_1 \right) \quad (2),$$

em que ε é o Δ coeficiente de difusão do composto heterocíclico, ε_0 , a sua concentração no interior da solução, ρ_1 e ρ_{-1} são velocidades de adsorção e de dessorção do fármaco.

A *benzodiazepina* entra na superfície por meio da sua adsorção e sai dela por meio da dessorção. Ela também desaparece por meio da eletrorredução. Assim sendo, a sua equação de balanço será descrita como:

$$\frac{d\eta}{dt} = \frac{1}{\Psi} (\rho_1 - \rho_{-1} - \rho_2) \quad (3)$$

Em que Ψ é a concentração superficial máxima de benzodiazepina e ρ_2 , a velocidade da sua eletrorredução.

Os *prótons* entram na camada pré-superficial por meio da sua difusão e saem de lá não só por meio da eletrorredução, mas também por meio da dita “evolução de hidrogênio”:



Posto assim, a sua equação de balanço ver-se-á descrita como:

$$\frac{db}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{d}{\delta} (h_0 - b) - \rho_2 - \rho_3 \right) \quad (5),$$

em que d é o coeficiente de difusão dos prótons e ρ_3 , a velocidade da “evolução de hidrogênio”.

As velocidades das respectivas reações podem calcular-se como (6-9), em que as velocidades dos respectivos processos obterão os valores de:

$$\rho_2 = k_2 \eta H^{2\nu} \exp\left(-\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right)$$

$$\rho_1 = k_1 \varepsilon \exp_p(b\eta); \rho_{-1} = k_{-1} \eta \exp_p(-b\eta),$$

$$\rho_3 = k_3 \eta H^{2\nu} \exp\left(-\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right) \quad (6-9),$$

Sendo os parâmetros k as constantes das respectivas reações, b é o parâmetro de interação das partículas da benzodiazepina na superfície, ν o número das ligações de Schiff na benzodiazepina concreta (usualmente, igual a 1, ou 2, raramente 3), F é o número de Faraday, φ_0 é o salto do potencial, R é a constante universal de gases e T é a temperatura absoluta do sistema.

Apesar de o modelo ter aparência comum para um processo de eletrorredução de um composto orgânico em meio ácido. No entanto, haja vista as influências importantes da dita “evolução do hidrogênio”, bem como as outras peculiaridades da molécula do composto heterocíclico de sete membros, o modelo apresentará algumas diferenças. Outrossim, a sua análise permitir-nos-á fazer algumas observações, que se discutirão abaixo.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para investigar o comportamento eletroquímico catódico das benzodiazepinas em meio fortemente ácido, investigamos o conjunto de equações diferenciais (2), (3) e (5), haja vista as relações algébricas (6-9), por meio da teoria de estabilidade linear. A matriz funcional de Jacobi, cujos elementos são calculados para o estado estacionário, descrever-se-á como:

$$\begin{pmatrix} \mathcal{G}_{11} & \mathcal{G}_{12} & \mathcal{G}_{13} \\ \mathcal{G}_{21} & \mathcal{G}_{22} & \mathcal{G}_{23} \\ \mathcal{G}_{31} & \mathcal{G}_{32} & \mathcal{G}_{33} \end{pmatrix} \quad (10),$$

em que:

$$g_{1_1} = \frac{2}{\delta} \left(-\frac{\Delta}{\delta} - k_1 \exp(-b\eta) \right) \quad (11)$$

$$g_{1_2} = \frac{2}{\delta} \left(k_{-1} \exp(-b\eta) - bk_{-1} \eta \exp(-b\eta) - bk_{-1} \varepsilon \exp(b\eta) \right) \quad (12)$$

$$g_{1_a} = 0 \quad (13)$$

$$g_{2_1} = \frac{1}{\Psi} \left(k_1 \exp(-b\eta) \right) \quad (14)$$

$$g_{2_2} = \frac{1}{\Psi} \left(\frac{-k_{-1} \exp(-b\eta) + bk_{-1} \eta \exp(-b\eta) + bk_1 \varepsilon \exp(b\eta) - k_2 H^{2\nu} \exp(-b\eta)}{\exp\left(-\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right) + bk_2 \eta H^{2\nu} \exp\left(-\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right) + jk_2 \eta H^{2\nu} \exp(-b\eta) \exp\left(-\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right)} \right) \quad (15)$$

$$g_{2_a} = \frac{1}{\Psi} \left(-2k_2 \nu H^{2\nu-1} \exp\left(\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right) \right) \quad (16)$$

$$g_{3_1} = 0 \quad (17)$$

$$g_{3_2} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{-k_2 H^{2\nu} \exp\left(-\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right) + bk_2 \eta H^{2\nu} \exp\left(-\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right) + jk_2 \eta H^{2\nu} \exp\left(-\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right)}{jk_3 \eta H^{2\nu} \exp\left(-\frac{2F \varphi_0}{RT}\right)} \right) \quad (18);$$

$$g_{3_a} = \frac{2}{\delta} \left(-\frac{d}{\delta} - 2\nu k_2 \eta H^{2\nu-1} \exp(-b\eta) \exp\left(-\frac{2\nu F \varphi_0}{RT}\right) - 2k_3 H \exp\left(-\frac{2F \varphi_0}{RT}\right) \right) \quad (19)$$

Analisando os membros a_{11} , a_{22} e a_{33} do jacobiano (11), (15), (15), vê-se que a *instabilidade oscilatória*, neste sistema, é possível, podendo ser causada pela interação de partículas adsorvidas de benzodiazepina (membro positivo $b\rho_1 + b\rho_{-1}$), bem como pelas influências da eletrorredução na dupla camada elétrica (DCE) (membro positivo $j\rho_2$). Com isso, o comportamento deste sistema será correspondente ao dos sistemas do tipo [29 – 35].

A amplitude e a frequência das oscilações ficarão dependentes da concentração de prótons, haja vista que os prótons participam da eletrorredução de benzodiazepina. Quanto menor é o pH, maior é a amplitude das oscilações, e menor, a sua frequência. Outro fator que influencia a amplitude e a frequência das oscilações é o material do eletrodo usado (porque dele vai depender a força da interação entre partículas adsorvidas) e, também, o número das ligações de Schiff (além dos outros grupos redutores, como carbonila) na molécula da benzodiazepina concreta. São estes os principais fatores que definirão a forma do comportamento oscilatório e a imagem das oscilações.

Para investigar a *estabilidade do estado estacionário*, utilizamos o critério de Routh-Hurwitz. Introduzindo, com vistas à não inclusão de expressões grandes, as novas variáveis, de modo que o determinante de jacobiano se escreve como:

$$\frac{4}{\delta^2\Psi} \begin{vmatrix} -\kappa_1 - X & -\Pi & 0 \\ X & \Pi - \Xi & -\Lambda \\ 0 & -\Xi & -\Lambda - \kappa_2 - \psi \end{vmatrix} \quad (20)$$

Abrindo-se os parênteses e aplicando-se a condição do critério Routh-Hurwitz $\text{Det } J < 0$, obter-se-á o requisito de estabilidade do estado estacionário, sob a forma de:

$$(\Pi\Lambda - \Pi\kappa_2 - \Pi\psi + \Xi\kappa_2 + \Xi\psi)(-\kappa_1 - X) - X(\Pi\Lambda + \Pi\kappa_2 + \Pi\psi) < 0 \quad (21)$$

O que pode ser transformado em:

$$-\kappa_1(\Pi\Lambda - \Pi\kappa_2 - \Pi\psi + \Xi\kappa_2 + \Xi\psi) - X(\Xi\kappa_2 + \Xi\psi) < 0 \quad (22)$$

Da inequação (22) vê-se que ela se satisfaz garantidamente, quando os parâmetros X , Ξ e ψ das influências dos processos eletroquímicos na DCE têm valores positivos, e os parâmetros Π , Λ e ψ , que descrevem o comportamento superficial, têm valores negativos. Isto ocorre, quando a interação das moléculas da benzodiazepina na superfície é repelente e quando a eletrorredução do fármaco não dá influências fortes na DCE. A zona do estado estacionário estável, correspondente ao trecho linear da curva parâmetro eletroquímico-concentração, deverá ser muito vasta e o processo reacional controlar-se-á pela difusão do fármaco e de prótons. Isto é correspondente aos casos dos sistemas análogos [29-35]. No entanto, é preciso fazer uma observação importante, exposta abaixo.

A diminuição do pH favorecerá a estabilidade do estado estacionário. Sem embargo, no caso dos valores muito baixos do potencial de hidrogênio, a eficiência eletroanalítica do estado estacionário estável desfar-se-á. Como a difusão dos prótons é mais rápida, eles ocuparão os sítios ativos do cátodo, o que impedirá a sua ocupação pelas moléculas do fármaco. Concluir-se-á, destarte, que, para o estado estacionário ser analiticamente eficiente, é preciso utilizar as soluções, cujo pH não deva ser muito alto (para não atrair a eletrorredução do ponto de vista cinético), nem muito baixo (para que seja satisfeita a demanda de um número necessário de sítios ativos livres de redução do fármaco).

O problema, que sobrevém no caso do uso de pH baixo, resolver-se-á pela simples utilização de um cátodo, quimicamente modificado por um material, capaz de adsorver seletivamente a benzodiazepina, sem permitir a evolução de hidrogênio. Um dos exemplos de tal material pode ser cobre ou p-aminoacetanilida, utilizada em [35].

No caso da igualdade de influências estabilizadoras e desestabilizadoras, formar-se-á a *instabilidade monotônica*, correspondente à margem entre os estados estacionários estáveis e instáveis. A sua condição principal é:

$$-\kappa_1(\Pi\Lambda - \Pi\kappa_2 - \Pi\psi + \Xi\kappa_2 + \Xi\psi) - X(\Xi\kappa_2 + \Xi\psi) = 0 \quad (23)$$

Ela se releva sob a forma do trecho N-formado no voltamperograma estacionário do sistema, significando que para um valor do potencial do cátodo existem três valores da densidade da corrente, sendo cada valor correspondente a um dos estados estacionários instáveis, que existem no sistema neste ponto.

No caso da *ausência da evolução de hidrogênio*, que se dá, no caso da vigência dos fatores, descritos acima, a eficiência eletroanalítica do estado estacionário, no caso de uso das soluções com o pH baixo, aumentará. Neste caso, a equação (5) alterar-se-á e ver-se-á como:

$$\frac{db}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{d}{\delta} (b_0 - b) - \rho_2 - \rho_3 \right) \quad (5')$$

e o comportamento do sistema aproximar-se-á do caso de [35].

CONCLUSÕES

Da análise do sistema com a eletrorredução de benzodiazepina em soluções ácidas, é possível concluir que:

- A estabilidade do estado estacionário, neste sistema, se mantém no caso da repulsão de partículas adsorvidas e da fraqueza das influências dos processos eletroquímicos na CDE. O processo reacional controlar-se-á pela difusão do fármaco e de prótons.
- A zona topológica da eficiência eletroanalítica de estabilidade do estado estacionário estável será menos vasta que a de estabilidade em geral, haja vista as influências da “evolução do hidrogênio”. Destarte, para a melhor eficiência eletroanalítica, use-se as soluções de pH de acidez média, ou os elétrodos quimicamente modificados por materiais que impeçam a “evolução de hidrogênio”.
- O comportamento oscilatório, neste sistema, é causado por fatores superficiais e eletroquímicos. O aumento do pH leva ao aumento do “comprimento da onda” e, ao mesmo tempo, ao decrescimento da frequência das oscilações.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. M. Gladis-Mondino, “Compostos Heterocíclicos. Estudo e Aplicações Sintéticas”, Série “Ciência e Tecnologia”, Editora Atheneu, São Paulo, 2014, 224 pág.
2. T. Mehdi, Benzodiazepines revisited, *Brit. J. Med. Pract.*, **5**, 501 (2012).
3. J.D. Jones, S. Mogali, S. Corner, Polydrug abuse: a review of opioid and benzodiazepine combination use, *Drug. Alcohol. Depend.*, **125**, 8 (2012).
4. J.R. Bostwick, M.I. Casher, S. Yasugi, Benzodiazepines: a versatile clinical tool, *Curr. Psych.*, **11**, 54 (2012).
5. B.G. Katzung, Sedative-hypnotic drugs, En: “Basic and clinical pharmacology”, 8th edition, The McGraw Hill Companies, Inc, USA, 2001, pp. 364-381.
6. J. Guina, S.R. Rossetter, B.J. de Rhodes *et al.*, Benzodiazepines for PTSD: A systematic review and meta-analysis, *J. Psychiatr. Pract.*, **21**, 281 (2015).

7. B. Moosmann, L.M. Huppertz, M. Hutter *et al.*, Detection and identification of the designer benzodiazepine flubromazepam and preliminary data on its metabolism and pharmacokinetics, *J. Mass. Spectrom.*, **48**, 1150 (2013).
8. K.R. Mahantesha, B.E. Kumara Swamy, K. Vasantakumar Pai, Poly (alizarin) Modified glassy carbon electrode for the electrochemical investigation of omeprazole: A voltammetric study, *Anal. Bioanal. Electrochem.*, **6**, 234 (2014).
9. Md. M. Rahman, X.-B. Li, N.S. Lopa *et al.*, Electrochemical DNA hybridization sensors based on conducting polymers, *Sensors*, **15**, 3801 (2015).
10. H. Beitollahi, H. Karimi-Maleh, I. Sheikhoae, Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid and uric acid using a modified multiwalled carbon nanotube paste electrode, *Casp. J. Chem.*, **1**, 17 (2012).
11. L.H. de Oliveira, A.C. Dias-Souza, L. Pizzuti *et al.*, Determinação voltamétrica do antioxidante galato de propila em biodiesel empregando eletrodos de pasta de carbono modificados com líquido iônico, *Orbital Elec. J. Chem.*, **6**, 255 (2014).
12. J.B. Raoof, A. Kiani, R. Ojani, R. Valliolahi, Electrochemical determination of dopamine using banana-MWCNTs modified carbon paste electrode, *Anal. Bioanal. Electrochem.*, **3**, 59 (2011).
13. S.C.B. Oliveira, C.H.S. Mendes, F.F.S. Filho *et al.*, Electrochemical oxidation mechanism of procarbazine at glassy carbon electrode, *J. Electroanal. Chem.*, **746**, 51 (2015).
14. S.Z. Mohammadi, H. Beitollahi, E.B. Asadi, Electrochemical determination of hydrazine using a ZrO₂ nanoparticles-modified carbon paste electrode, *Environ. Monit. Assess.*, **287**, 122 (2015).
15. K.C. Honeychurch, J.P. Hart, Electrochemical detection of benzodiazepines, following liquid chromatography, for applications in pharmaceutical, biomedical and forensic investigations, *Insciences J.*, **4**, 1 (2014).
16. J.B. Lloyd, D.A. Parry, Detection and determination of common benzodiazepines and their metabolites in blood samples of forensic science interest. Microcolumn cleanup and high-performance liquid chromatography with reductive electrochemical detection at a pendent mercury drop electrode, *J. Chromatogr.*, **449**, 281 (1988).

17. M.R. Ghanjali, H. Haji-Hashemi, F. Faridbod *et al.*, Potentiometric determination of alprazolam based on carbon paste and PVC membrane electrodes, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **7**, 1470 (2012).
18. L.J. Núñez-Vergara, S. Bollo, C. Olea-Azar *et al.*, Cyclic voltammetric and EPR spectroscopic studies of benzodiazepines: loperazolam and flunitrazepam, *J. Electroanal. Chem.*, **436**, 227 (1997).
19. M.E. Lozano-Chávez, J.M. Palacios-Santander, L.M. Cubillana-Aguilera *et al.*, Modified carbon-paste electrodes as sensors for the determination of 1,4-benzodiazepines: application to the determination of diazepam and oxazepam in biological fluids, *Sens. Act. B. Chem.*, **115**, 575 (2006).
20. M.N. Uddin, V.F. Samanidou, I.N. Papadoyannis, An overview on total analytical methods for the detection of 1,4-benzodiazepines, *Pharm. Anal. Acta*, **5**, 303 (2014).
21. M. Pagitsas, D. Sazou, The improved Franck-FitzHugh model for the electrodis-solution of iron in sulphuric acid solutions: linear stability and bifurcation analysis. Derivation of the kinetic equations for the forced Franck-FitzHugh model, *Electrochimica Acta*, **36**, 1301 (1991).
22. A.J. Pearlstein, J.A. Johnson, Global and conditional stability of the steady and periodic solutions of the Franck-Fitz-Hugh model of electrodis-solution of Fe in H₂SO₄, *J. Electrochem. Soc.*, **136**, 1290 (1989).
23. I. Das, N.R. Agrawal, S.A. Ansari, S.K. Gupta, Pattern formation and oscillatory electropolymerization of thiophene, *Ind. J. Chem.*, **47**, 1798 (2008).
24. S.U. Rahman, M.S. Ba-Shammakh, Thermal effects on the process of electropolymerization of pyrrole on mild steel, *Synth. Met.*, **140**, 207 (2004).
25. A.S. Liu, M.A.S. Oliveira, Electrodeposition of polypyrrole films on aluminum from tartrate aqueous solution, *J. Braz. Chem Soc.*, **18**, 143 (2007).
26. D. Sazou, The dynamical behavior of the electrochemical polymerization of indole on Fe in acetonitrile-water mixtures, *Synth. Met.*, **130**, 45 (2002).
27. I. Das, N. Goel, N.R. Agrawal, S.K. Gupta, Growth patterns of dendrimers and electric potential oscillations during electropolymerization of pyrrole using mono- and mixed surfactants, *J. Phys. Chem.*, **114**, 12888 (2010).

28. M. Bazzaoui, E.A. Bazzaoui, L. Martins, J.I. Martins, Electropolymerization of pyrrole on zinc–lead–silver alloys electrodes in acidic and neutral organic media, *Synth. Met.*, **130**, 73 (2002).
29. V. Tkach, V. Nechyporuk, P. Yagodynets', The mathematical stability study of the work of isomerization sensors, based on conduction polymers, *Anal. Bioanal. Electrochem.*, **6**, 273 (2014).
30. V. Tkach, B. Kumara-Swamy, R. Ojani *et al.*, El mecanismo de la oxidación de omeprazol sobre el electrodo de carbono vitroso, modificado por polializarina, y su descripción matemática, *Orbital Elec. J. Chem.*, **7**, 1 (2015).
31. V. Tkach, B. Kumara Swamy, R. Ojani *et al.*, O comportamento de paracetamol durante a sua oxidação electrocatalítica sobre poli(azul da anilina) e a sua descrição matemática, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **44**, 148 (2015).
32. V. Tkach, G. Maia, S.C. de Oliveira *et al.*, O estudo de estabilidade do Estado Estacionário no desempenho do sensor seletivo dos íons de metais transitivos, baseado em polipirrol, dopado pelo ácido 5-sulfosalicílico, *Quím. Mater.*, **4**, 5 (2014).
33. V. Tkach, V. Nechyporuk, P. Yagodynets', A investigação matemática do desempenho de biossensores eletroquímicos enzimáticos, baseados nos polímeros condutores, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **41**, 203 (2012).
34. V. Tkach, S.C. de Oliveira, O.I. Aksimentyeva *et al.*, The mathematical description for the hydrazine detection by Michael reaction with naphtholaminosulphonic acids, *Anal. Bioanal. Electrochem.*, **7**, 293 (2015).
35. V. Tkach, R. Ojani, V. Nechyporuk, P. Yagodynets', O estudo matemático do desempenho do sensor eletroquímico de nitrito, baseado em poli(p-aminoacetanilida), *Rev. Fac. Ing. UCV*, **30**, 65 (2015).

COMO CITAR ESTE ARTIGO

V. Tkach, S.C. de Oliveira, R. Ojani, O. Yelenich, P.I. Yagodynets', A eletrorredução de benzodiazepinas e a sua avaliação matemática, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(3), 362-373 (2016).

Automedicación en estudiantes de medicina de la Universidad del Rosario en Bogotá D. C., Colombia

Claudia Alejandra López-Cabra¹, Jubby Marcela Gálvez-Bermúdez², Camilo Domínguez-Domínguez³, Adriana del Pilar Urbina-Bonilla⁴, Carlos Alberto Calderón-Ospina⁵, Álvaro Vallejos-Narváez⁶

^{1,5} Escuela de Medicina y Ciencias de la Salud. Universidad del Rosario. Carrera 24 N.º 63C-69. Bogotá D. C., Colombia.

¹ Correo electrónico: claudia.lopez.cabra@gmail.com

² Correo electrónico: jubby.galvez@urosario.edu.co

³ Correo electrónico: camilo.dominguez@urosario.edu.co

⁴ Correo electrónico: adriana.urbina@urosario.edu.co

⁵ Correo electrónico: carlos.calderon@urosario.edu.co

⁶ Facultad de Medicina. Fundación Universitaria de Ciencias de la Salud. Carrera 19 N.º 8-32, Bogotá D. C., Colombia.

⁶ Correo electrónico: agvallejos@gmail.com

Recibido para evaluación: 28 de julio del 2016

Aceptado para publicación: 13 de octubre del 2016

RESUMEN

Introducción. La automedicación es un problema de salud pública frecuente en población estudiantil, el cual se da sobre todo en estudiantes de medicina, dado su mayor conocimiento en farmacología. Por tratarse de los futuros prescriptores, es importante establecer la magnitud del problema en esta población. *Materiales y métodos.* Se realizó un estudio de corte transversal mediante una encuesta aplicada a 276 estudiantes de medicina, en el que se indagaron datos demográficos, antecedentes patológicos, hábitos, frecuencia de automedicación, medicamentos automedicados, porcentaje de automedicación responsable, razones para automedicarse y conocimiento sobre esta conducta. *Resultados.* De las 276 encuestas realizadas, se analizaron 270. La prevalencia de automedicación fue del 79,3%. El único factor con asociación estadística fue pertenecer a un semestre clínico ($p = 0,020$). Los medicamentos automedicados con mayor frecuencia son acetaminofén (10,8%), e ibuprofeno (3,9%).

Entre los medicamentos automedicados, el 70,6% requiere prescripción médica. Las indicaciones más frecuentes fueron cefalea (10,6%), resfriado común (4,2%) y dismenorrea (3,4%). El 39,1% de los encuestados cumplen los criterios de automedicación responsable. *Conclusión.* La prevalencia de automedicación en la población evaluada es alta, y la mayoría de los medicamentos utilizados requieren fórmula médica. Los factores influyentes se relacionan con la edad y el semestre que cursan. La mayoría de estudiantes se automedica de manera inadecuada.

Palabras clave: automedicación, prevalencia, estudiantes de medicina, farmacoepidemiología, medicamentos de venta libre.

SUMMARY

Self-medication in medical students at the Universidad del Rosario in Bogota D. C., Colombia

Introduction. Self-medication is a common public health problem among students, mainly among medical students who have greater knowledge in pharmacology. We consider that it is important to establish the magnitude of the problem in future prescribers. *Materials and methods.* We performed a cross-sectional study through a survey of 276 medical students. We analyzed demographic data, medical history, habits, frequency of this behavior, drugs used as self-treatment, percentage of self-medication, reasons for self-medication and knowledge about this behavior. *Results.* Of the 276 surveys 270 were analyzed. We found a prevalence of 79.3% self-medication. The only associated factor with higher statistical significance was students who were in clinical practice ($p = 0.020$). Drugs that were mostly used were: acetaminophen (10.8%) and ibuprofen (3.9%). 70.6% of the mentioned drugs require a medical prescription. Most frequent reasons were: headache (10.64%), common cold (4.20%) and dysmenorrhea (3.37%). Only 39.1% of respondents met criteria for responsible self-medication. *Conclusion.* Prevalence of self-medication among medical students is high. Most of used drugs need a medical prescription. The factor influencing this behavior is the year of medical school to which they belong. Self-medication is mostly found when students are in clinical practice. Most students do not self-medicate responsibly.

Keywords: Self medication, prevalence, medical student, pharmacoepidemiology, non prescription drugs.

INTRODUCCIÓN

La automedicación se define como la autoadministración de un medicamento no prescrito por un médico, o de forma que esta no es dirigida por el mismo [1]. En los países en desarrollo es una práctica muy común, debido, en gran parte, al difícil acceso a los servicios de salud y a las demoras en atención que se presentan en el sistema de salud de estos países [1]. Existen varios factores personales, culturales y sociales que pueden influir en la automedicación, entre los que se incluyen el sexo, los ingresos, el autocuidado, el conocimiento de la medicación, la falta de seguridad social y la facilidad en la compra de medicamentos [2, 3]. Si bien la automedicación puede tener algunos beneficios —como lo son la menor demanda de asistencia sanitaria por dolencias menores, mayor rapidez y accesibilidad al tratamiento con medicamentos [3, 4]—, se asocia a problemas como interacciones medicamentosas, posibilidad de retraso en el diagnóstico de la enfermedad —lo cual puede ser potencialmente letal— y la posibilidad de generar reacciones adversas a los medicamentos (RAM), especialmente cuando se lleva a cabo de manera inadecuada (e. g. emplear medicamentos que son dispensados bajo fórmula médica, o bien no leer o no seguir las recomendaciones de uso establecidas por el fabricante) [3, 4]. De hecho, la Organización Mundial de la Salud (OMS) considera la “automedicación” como uno de los factores causales más importantes de las RAM. A su vez, las RAM representan un problema de salud pública importante, pues se ha estimado que estas motivan hasta el 6,8% de las hospitalizaciones [5, 6].

Por tanto, la automedicación es un problema de salud pública que se puede presentar en personas con diferentes niveles de escolaridad, por lo cual algunos estudios se han enfocado en el análisis de poblaciones de universitarios a fin de establecer la influencia del nivel educativo sobre esta conducta. Sin embargo, se debe tener en cuenta que el acceso a diferentes fuentes de información como Internet y otros medios de comunicación, las cuales brindan información diversa sobre medicamentos sin orientación médica acompañante, puede influir en la conducta de automedicación.

En nuestro estudio, la población seleccionada se compone de estudiantes de medicina de la Universidad del Rosario, teniendo en cuenta que el médico es el directo responsable de la prescripción y es un actor fundamental en la promoción del uso adecuado de los medicamentos. Por tanto, resultaba imprescindible documentar los patrones de utilización de los mismos en una cohorte de médicos en formación. Por otra parte, no existen investigaciones publicadas sobre la automedicación en estudiantes de medicina en Colombia. Además, es importante tener en cuenta que la automedicación dentro de los estudiantes universitarios en nuestro medio es muy común, y reportes internacionales indican que esta situación puede ser hasta del 76,9% en estudiantes de medicina [7].

El estudio que se presenta a continuación tuvo como objetivos determinar la prevalencia de la automedicación en estudiantes de medicina de la Universidad del Rosario, así como el porcentaje de automedicación responsable; establecer la existencia de posibles factores de riesgo asociados con la conducta de automedicarse, y las características de dicha automedicación en cuanto al tipo de medicamentos consumidos y su frecuencia.

MATERIALES Y MÉTODOS

Se realizó un estudio descriptivo de corte transversal por medio de una encuesta realizada a 276 estudiantes. La población de estudio se conformó con estudiantes de ciencias básicas y clínicas del programa de Medicina de la Universidad del Rosario, quienes debían encontrarse efectivamente matriculados y cursando un semestre entre primero y décimo; además, fueron elegidos al azar y debían participar voluntariamente.

La automedicación responsable se determinó empleando los criterios planteados a continuación, definidos por la OMS [8]: 1) El medicamento consumido se trataba de un medicamento de venta libre; 2) La indicación para la cual el estudiante consumió el medicamento correspondía a una indicación válida, basándose en la información consignada en la literatura; y por último, 3) El estudiante refirió tener la conducta de leer y seguir siempre las recomendaciones contenidas en la etiqueta o el inserto del medicamento. Estas tres preguntas fueron incluidas en la encuesta, y se requería contestarlas todas afirmativamente, con el fin de definir la automedicación como responsable.

Se realizó un análisis bivariado con los factores relacionados y la presencia de automedicación, los cuales se establecieron de acuerdo con estudios previos sobre automedicación en este grupo poblacional [9-11]. Las variables evaluadas fueron: sexo, estrato, consumo de drogas de abuso, tabaco y/o alcohol, sobrepeso, migraña, acné, cólicos menstruales, y pertenecer a un semestre clínico.

El cálculo de la muestra se realizó de la siguiente forma: con una prevalencia estimada del 76,9% de automedicación en estudiantes universitarios (de acuerdo con lo reportado en la literatura) [6, 7], con un nivel de confianza del 95% y un error máximo permisible del 5%, se calculó un tamaño de muestra de 266 estudiantes utilizando la herramienta STAT CALC de EPI INFO®, versión 2002, revisión 2. Tomando en cuenta el tamaño de muestra seleccionado de 266 estudiantes, se realizó un muestreo aleatorizado estratificado de acuerdo con el número de estudiantes de cada semestre. Se prosiguió con la aplicación de las encuestas (cuestionario anónimo de 14 preguntas) a cada uno de los estudiantes seleccionados en el muestreo, previa explicación del proyecto a los alumnos y del carácter voluntario de la participación en el mismo. Los datos

fueron registrados en una base de datos de Excel[®], y posteriormente analizados usando el programa estadístico SPSS[®] versión 15.

Tanto el protocolo, como la encuesta, fueron aprobados por el Comité de Ética en Investigaciones de la Universidad del Rosario.

RESULTADOS

El cálculo de tamaño de muestra fue de 266 estudiantes, y se realizaron 276 encuestas contemplando un porcentaje de pérdidas del 5%. De las 276 encuestas se analizaron 270, ya que seis de los encuestados no la diligenciaron en su totalidad, por lo que no se logró establecer la conducta de automedicación. La mayoría de encuestados fueron mujeres ($n = 175$, 64,8%). Con respecto a pertenecer a semestres clínicos o básicos, la mayoría se encontraban en semestres básicos ($n = 146$, 54,1%), es decir, de primero a cuarto semestre, datos que se encuentran relacionados en la tabla 1. La media de edad de los sujetos incluidos en el estudio fue de 20 años, con una desviación estándar de 1,92.

Tabla 1. Características de la población ($n = 270$).

Variable	Número de encuestados (n)	Porcentaje
Sexo		
Masculino	95	35,2%
Femenino	175	64,8%
Ciencias básicas	146	54,1%
Ciencias clínicas	124	45,9%

Características basales de la población estudiada.

La prevalencia de automedicación fue del 79,3% (214 sujetos). Además, se encontró que la mayoría de estudiantes se automedican cada 4 a 12 meses (38,1%), según lo que se expone en la figura 1. La única variable que mostró asociación estadísticamente significativa con la conducta de automedicarse fue la pertenencia a un semestre clínico ($p = 0,020$, OR 2,07 IC95% 1,11-3,85) (ver tabla 2). No se realizó un modelo de regresión logística, ya que en el análisis bivariado solo una variable evidenció asociación.

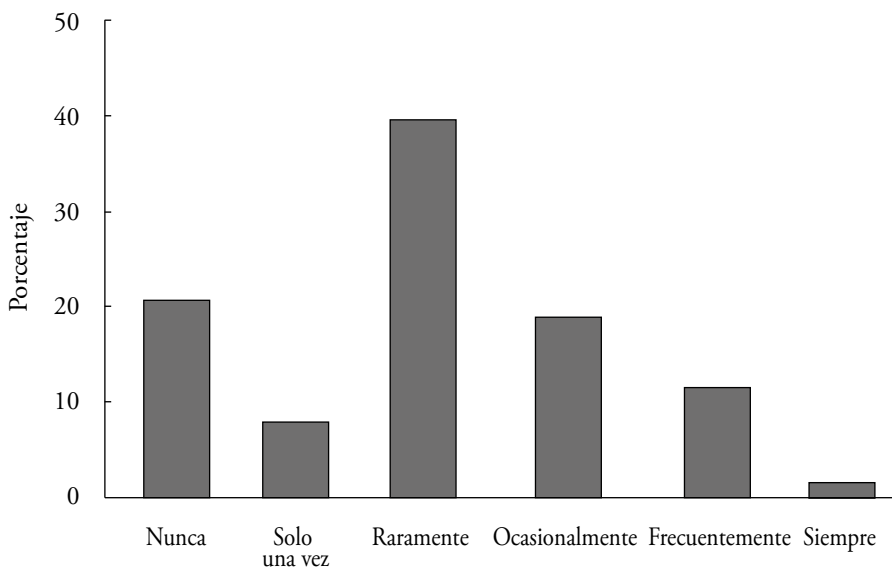


Figura 1. Frecuencia de la automedicación en estudiantes de medicina de la Universidad del Rosario. Raramente: cada 4 a 12 meses; ocasionalmente: cada 1 a 3 meses; Frecuentemente: más de una vez al mes; siempre: más de una vez a la semana

Tabla 2. Factores de riesgo asociados con la conducta de automedicarse.

Variable	Estudiantes que se automedican	Estudiantes que no se automedican	Valor de p	OR crudos	IC 95%
Consumo de tabaco	36 (17,0%)	7 (12,5%)	0,40	1,44	0,60-3,44
Consumo de alcohol	56 (26,1%)	15 (26,31%)	0,98	0,99	0,51-1,92
Migraña	53 (24,7%)	11 (19,0%)	0,51	1,38	0,67-2,85
Acné	50 (23,3%)	11 (19,2%)	0,51	1,27	0,61-2,65
Cólicos menstruales	111 (79,8%)	28 (77,7%)	0,78	1,13	0,47-2,75
Pertenecer a un semestre clínico	106 (49,5%)	18 (32,1%)	0,020*	2,07	1,11-3,85*

Evaluación de posibles factores asociados con la conducta de automedicarse. Se presentan los porcentajes correspondientes a cada variables para el grupo de estudiantes que se automedican, y para el que no lo hace. Al observar los valores de p y del intervalo de confianza (marcados con *), se encuentra que la pertenencia a un semestre clínico fue la única variable con correlación estadísticamente significativa.

Los medicamentos más frecuentemente automedicados por parte de los estudiantes de medicina son: acetaminofén (10,8%), ibuprofeno (3,9%), y combinaciones de acetaminofén (3,6%). Además, el 4,4% de los estudiantes se automedicaron antibióticos (ampicilina, amoxicilina, cefalexina y azitromicina).

Las causas más frecuentes para automedicarse en los estudiantes fueron cefalea (7,7%), resfriado común (4,1%), y dismenorrea (3,2%). El 56,1% de los estudiantes refiere leer siempre la información consignada en la etiqueta del medicamento acerca del uso adecuado del mismo, el 35,3% algunas veces y el 8,6% nunca. De acuerdo con los criterios de la OMS, el 39,1% de los estudiantes de medicina cumple los criterios para automedicación responsable, mientras que el 60,9%, no.

DISCUSIÓN

La automedicación es un problema prevalente en poblaciones estudiantiles [9, 10], y en la población en general. Las consecuencias de esta conducta han sido estudiadas ampliamente en la última década [6, 7, 9-11]. Sin embargo, en nuestro país es desconocida la automedicación en estudiantes de medicina, por lo que fue de nuestro interés estudiar la conducta de automedicación en esta población, pues serán ellos los responsables de prescribir los medicamentos, así como de garantizar un empleo óptimo de los mismos a través de las recomendaciones y el seguimiento adecuado a sus pacientes. Consideramos importante conocer cuál es la magnitud del problema en los estudiantes de medicina y si la conducta de automedicarse se hace o no de manera responsable.

Encontramos una prevalencia de automedicación del 79,3%, la cual es más alta que la prevalencia de automedicación encontrada en estudios similares, como, por ejemplo, el análisis realizado por El Ezz y Ez-Elarab [11], quienes encontraron una prevalencia del 55% en una población de estudiantes de medicina en Egipto. En otro estudio realizado en Karachi, Pakistán, comparó la conducta de automedicarse en estudiantes de medicina y estudiantes de otros programas de diferentes universidades, encontrando una prevalencia del 55,3% en estudiantes de medicina, y del 58,5% en estudiantes de otros programas [10]. En Colombia, se han realizado muy pocos estudios sobre automedicación en estudiantes universitarios. Uno de ellos, el estudio realizado por Tobón en la Universidad de Antioquia [12], encontró que un 97% de los entrevistados se automedican. Otro estudio realizado en la Universidad de Caldas encontró una prevalencia de automedicación del 47%, aunque dicha conducta fue evaluada dentro de los treinta días previos a la aplicación de la encuesta [13].

Por otro lado, Sawalha [6] encontró que la razón más prevalente de automedicación en su estudio fue la experiencia previa con el medicamento.

Nuestro estudio evidencia además que la automedicación en la población estudiada, a pesar del conocimiento del tema, se hace de manera irresponsable en la mayoría de casos, y es más frecuente en los semestres próximos a graduarse. Posiblemente esto se debe a una mayor confianza del estudiante en sí mismo como prescriptor y médico en ejercicio, a pesar de encontrarse en etapa de formación. En concordancia con nuestro trabajo, un estudio realizado en estudiantes holandeses de medicina encontró que la aceptación de la automedicación fue significativamente más alta entre los estudiantes de semestres clínicos [14].

El 70,6% de los medicamentos automedicados en el estudio requiere prescripción médica, y solo el 29,4% son de venta libre en Colombia, aspecto tenido en cuenta dentro de los criterios para la automedicación responsable. De lo anterior se podría deducir que la automedicación en esta población se hace de manera irresponsable, por lo cual consideramos que es preocupante la automedicación de medicamentos que necesitan prescripción médica, ya que estos necesitan de seguimiento médico, control de sus reacciones adversas y necesidad de titulaciones, en algunos casos.

En cuanto a los fármacos automedicados con más frecuencia en nuestro estudio estuvieron los analgésicos, tales como el acetaminofén, solo o en combinación con otros medicamentos (e. g. cafeína, butil-bromuro de hioscina, codeína) e ibuprofeno, principalmente para el manejo de la cefalea, el resfriado y la dismenorrea. Sin embargo, también hubo un porcentaje significativo de estudiantes que se automedican antibióticos, tales como ampicilina, amoxicilina, cefalexina y azitromicina. En el estudio realizado en Karachi, Pakistán, los medicamentos automedicados con más frecuencia fueron analgésicos, antipiréticos y antialérgicos, tanto en el grupo de estudiantes de medicina, como de otras carreras [10]. En el estudio realizado en la Universidad de Antioquia, los medicamentos más frecuentemente automedicados fueron antibióticos, sedantes, ansiolíticos, antihistamínicos, analgésicos, broncodilatadores y anticonceptivos orales. En el estudio de la Universidad de Palestina se encontró que los medicamentos más frecuentemente automedicados fueron combinaciones de acetaminofén con otros medicamentos, descongestionantes, antibióticos y laxantes. En este último estudio encontraron además que el uso de analgésicos fue más frecuente en mujeres, posiblemente a causa de la dismenorrea, la cual fue una indicación de automedicación importante en nuestro estudio [6].

La importancia de estos hallazgos radica en que los medicamentos utilizados para la automedicación no solo incluyen medicamentos de venta libre y con un margen de seguridad relativamente amplio, sino que también se emplearon medicamentos potencialmente peligrosos (por ejemplo, AINEs), así como antibióticos cuyo uso indiscriminado incrementa la problemática de la resistencia bacteriana. En este sentido, es

importante proponer la realización de estudios complementarios que determinen los factores asociados al uso de antimicrobianos y establezcan si la indicación, la prescripción, la posología y la duración del tratamiento es la adecuada, con relación a los estudiantes que se automedican.

Dentro de las limitaciones del presente estudio, se encuentra su metodología basada en encuestas, cuya aplicación conlleva necesariamente el sesgo de información.

Este estudio es el primero que se realiza en Colombia en estudiantes de medicina y revela una problemática importante en salud pública, ya que los futuros prescriptores de medicamentos y promotores del uso responsable de los mismos se automedica con frecuencia, y en la mayoría de casos de manera irresponsable. Este estudio y otros similares llevan a sugerir la promoción de campañas educativas que promuevan conductas seguras de automedicación entre los estudiantes de medicina y otras carreras.

Es de gran importancia la realización de estudios farmacoepidemiológicos complementarios que permitan abarcar otros grupos poblacionales, establecer factores de riesgo y posibles puntos de intervención, los cuales hagan posible la mejora del uso de medicamentos.

CONCLUSIONES

1. La automedicación prevalece en alto grado en una muestra de estudiantes de medicina colombianos, y en la mayoría de casos no se hace de manera responsable. Dentro de los factores de riesgo para automedicarse se encontraron la edad y la pertenencia a un semestre clínico. Los medicamentos con mayor frecuencia autoformulados en el presente estudio fueron los analgésicos/antipiréticos, indicados para cefalea y dismenorrea, principalmente; seguidos por los antibióticos para el manejo del resfriado común. Casi la mitad de los estudiantes reportó automedicarse con escasa frecuencia (cada cuatro a doce meses).

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la doctora Alejandra Salcedo por su apoyo en el diseño de la encuesta, a la doctora Gina Guzmán por su apoyo en el diseño de la base de datos, y a las estudiantes de medicina Paola González y Camila Londoño, quienes colaboraron en el diligenciamiento de la base de datos.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

2. National Library of Medicine, Concept details [Internet], Bethesda MD: The National Center for Biotechnology Information, URL: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/mesh/?term=self+medication>, consultado el 15 de julio de 2016.
3. M. Peñuela, A. de la Espriella, E. Escobar, M.V. Velásquez, J. Sánchez, A. Arango *et al.*, Factores socioeconómicos y culturales asociados a la autoformulación en expendios de medicamentos en la ciudad de Barranquilla, *Salud Uninorte*, **16**, 30 (2002).
4. Escuela Andaluza de Salud Pública, Automedicación, riesgos y beneficios, *Boletín Terapéutico Andaluz*, **12**, 15 (1996).
5. M.E. Ruiz, Risks of self-medication practices, *Curr. Drug Saf.*, **5**, 4 (2010).
6. C.A. Calderón-Ospina, A. Urbina-Bonilla, La farmacovigilancia en los últimos 10 años: actualización de conceptos y clasificaciones. Logros y retos para el futuro en Colombia, *Méd. UIS*, **24**, 1 (2011).
7. A.F. Sawalha, A descriptive study of self-medication practices among Palestinian medical and nonmedical university students, *Res. Social Adm. Pharm.*, **4**, 2 (2008).
8. H. James, S.S. Handu, K.A. Khaja, R.P. Sequeira, Influence of medical training on self-medication by students, *Int. J. Clin. Pharmacol. Ther.*, **46**, 1 (2008).
9. World Health Organization, The Role of the Pharmacist in Self-Care and Self-Medication [Internet], 1998, URL: <http://www.who.int/medicinedocs/en/d/Jwhozip32e/3.3.html#Jwhozip32e.3.3>, consultado el 15 de julio de 2016.
10. N.S. Aráoz-Olivos, J.M. Aguirre, M.F. Aquino, C.J. Courtis, M.H. Ramos, Auto-medicación en estudiantes del internado rotatorio, *Revista de Posgrado de la VIa Cátedra de Medicina*, **197**, 1 (2010).

11. S. Nabeel, R. Syed, S. Waqar, F. Irani, S. Saleem, Prescription of medicines by medical students of Karachi, Pakistan: A cross-sectional study, *BMC Public Health*, **8**, 162 (2008).
12. N.F. El Ezz, H.S. Ez-Elarab, Knowledge, attitude and practice of medical students towards self medication at Ain Shams University, Egypt, *J. Prev. Med. Hyg.*, **52**, 4 (2011).
13. F.A. Tobón, Estudio sobre automedicación en la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia, *Iatreia*, **15**, 242 (2002).
14. O. Buriticá, A. Giraldo, D. Franco, A. Cañas, J. Giraldo, Automedicación en estudiantes de la Universidad de Caldas, *Ciencias Básicas de la Salud*, **1**, 7 (2002).
15. T. Van der Veer, M.H. Frings-Dresen, J.K. Sluiter, Health behaviors, care needs and attitudes towards self-prescription: a cross-sectional survey among Dutch medical students, *PLOS One*, **6**, 11 (2011).

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

C.A. López-Cabra, J.M. Gálvez-Bermúdez, C. Domínguez-Domínguez, A.P. Urbina-Bonilla, C.A. Calderón-Ospina, Automedicación en estudiantes colombianos de pregrado de medicina de la Universidad del Rosario en Bogotá D. C., Colombia, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(3), 374-384 (2016).

Estudo de estabilidade da eletrossíntese e do desempenho eletroanalítico do compósito poli(L-metionina)-nano-Au na presença de dopamina e de ácido úrico

Volodymyr V. Tkach^{1,2*}, Sílvio C. de Oliveira², Yana G. Ivanushko¹, Svitlana M. Lukanova¹, Reza Ojani³, Petró I. Yagodynets¹, Aline M. da Rocha⁴

¹ Universidade Nacional de Chernivtsi, 58012, Rua de Kotsyubyns'ky, 2, Chernivtsi, Ucrânia

* Correio eletrônico: nightwatcher2401@gmail.com

² Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Av. Sen. Felinto. Müller, 1555, C/P. 549, 79074-460, Campo Grande, MS, Brasil

³ Universidade de Mazandarã, 47416-95447, 3o km. da Rodovia de Forças Aéreas Iranianas, Babolsar, República Islâmica do Irã

⁴ Universidade Federal de Minas Gerais, 31270-901, Av. Pres. Antônio Carlos, 6627, Pampulha, Belo Horizonte, Brasil

Recebido em: 22 de dezembro de 2015

Aceito em: 09 de novembro de 2016

RESUMO

A eletrossíntese e o desempenho eletroanalítico do compósito poli-L-metionina-nano Au foram descritos matematicamente, sendo a primeira descrita etapa por etapa. Os modelos matemáticos foram analisados por meio da teoria de estabilidade linear e da análise de bifurcações. A partir da análise foram inferidas as condições do estado estacionário estável (do modo mais confortável para a eletropolimerização, e do melhor desempenho do sensor), bem como das instabilidades oscilatória e monotônica. As conclusões da modelagem vão ao encontro do observado experimentalmente, completando também o conhecimento do processo.

Palavras-chave: metionina, nanocompósitos, eletropolimerização, polieletrólitos, estado estacionário estável.

SUMMARY

The stability study of the electrochemical synthesis and electroanalytical function of poly(L-methionine)-nano-Au composite in the presence of dopamine and uric acid

The electrosynthesis and the electroanalytic function of the poly-L-methionine-nano-Au composite were mathematically described and the first one of the processes was described stage by stage. The mathematical models were analyzed by linear stability theory and bifurcation analysis. Basing on the analysis, the stable steady-state conditions, like also oscillatory and monotonic instability conditions were inferred.

Key words: methionine, nanocomposites, electropolymerization, polyelectrolytes, stable steady-state.

INTRODUÇÃO

Dopamina, que é uma das três catecolaminas naturais, desempenha um papel importante como neurotransmissor nos sistemas cardiovascular, hormonal, renal e nervoso central [1-3]. Os seus níveis extremos podem causar deficiências de metabolismo, bem como as doenças mentais, como esquizofrenia ou Parkinson. Destarte, a medição das suas concentrações faz-se tarefa importante.

Ácido úrico, além de ser o produto final de metabolismo de purinas no organismo humano, é também o produto principal de metabolismo de algumas espécies de animais, como peixes, anfíbios e répteis [4], a sua secreção pelo organismo é um processo geneticamente determinado [5]. A sua falta constitui hipouricemia, associada a síndromes como a doença de Wilson [6], ou a síndrome de Fanconi [7]. Já a hiperfunção de ácido úrico pode causar doenças, associadas à sua presença excessiva como doença de Lesch-Nyhan [8]. Assim sendo, a determinação da sua concentração também é uma tarefa atual.

Diante do exposto, um método analítico sensível e exato, capaz de detectar ambos os compostos será útil não só para a investigação fisiológica de organismos humanos e animais, mas também para a diagnóstica temporã na medicina humana e veterinária [9].

Para a detecção dos mencionados compostos são frequentemente usadas as técnicas voltamperométricas [10]. No entanto, a eletrooxidação simultânea de dopamina e

ácido úrico sobre os elétrodos não revestidos acontece no mesmo potencial. Destarte, os picos nos voltamperogramas se coincidem, sendo impossível discriminá-los [11-13].

Poder-se-ia resolver o problema, aumentando a seletividade, usando os elétrodos, modificados química e eletroquimicamente por polímeros [14-23], especialmente sendo dopados por DNA [23], sistemas coloidais dopados por corantes [24], óxidos metálicos [25], nanotubos de carbono [26-28], heteropoliânions [29, 30] e nanopartículas metálicas [31-36]. As nanopartículas metálicas recebem atenção por terem área ativa extensa (especialmente as depositadas eletroquimicamente sobre superfícies modificadas), transporte efetivo de massas e alta atividade eletrocatalítica [36-38]. Porém, as nanopartículas metálicas podem agir fracamente na ausência de um material condutor estabilizador, que também desempenha as funções de mediador de transferência eletrônica. Para resolver este problema, usam-se os materiais estabilizadores, como os ligantes ou polímeros, sintetizados química ou eletroquimicamente [39-45]. A estrutura porosa de polímeros condutores deixa que as nanopartículas se dispersem na matriz polimérica, formando-se os novos sítios ativos [46-50].

As nanopartículas de ouro podem aderir-se fortemente à superfície, formando ligações covalentes com os grupos funcionais como nitrila, amina ou tiólico [51-53]. Foi mostrado que os polímeros que contêm unidades tiofênicas ou metionínicas fortemente interagem com as nanopartículas de ouro [54-55]. Porém, o uso de monômeros tiofênicos pode ser restrito haja vista o “paradoxo de politiofeno”, o fenômeno da concorrência entre a eletropolimerização e sobreoxidação do polímero formado [56-58], possível também para alguns outros monômeros e que é nociva tanto para morfologia e condutividade do polímero, quanto ao desempenho do futuro sensor.

Além disso, para tal comportamento, bem como para os mais sistemas com eletropolimerização [59-66], modificação e desempenho de sensores, baseados em polímeros condutores [67-72] são possíveis as instabilidades eletroquímicas, que afetam negativamente a clareza da resposta do sensor, a resposta do equipamento eletroquímico, a morfologia do polímero condutor resultante.

A determinação da causa destas instabilidades constitui um dos problemas mais difíceis de físico-química. Anteriormente, elas obtiveram explicação fenomenológica, que, apesar de ter fundamento lógico não tinha forte base teórica e só valia para um sistema concreto. Para o melhor conhecimento do mecanismo da confecção e do desempenho de compostos sensórios, da descrição do melhor modo da confecção e das margens do melhor desempenho, bem como para o descobrimento exato da causa das possíveis desvios do padrão, causados pelas instabilidades, é preciso construir um modelo matemático, capaz de descrever adequadamente os processos no sistema.

No trabalho [73] foi descrito o sensor eletroquímico de dopamina e ácido úrico, baseado no compósito de poli-(L-metionina) e nanopartículas de ouro. A sua confecção foi feita em 2 etapas:

- Eletropolimerização de L-metionina;
- Eletrodeposição de nanopartículas de ouro.

Depois foi testado o desempenho do compósito no processo da determinação eletroquímica dos mencionados compostos. Neste trabalho, os modelos matemáticos vão ser desenvolvidos para todos os três processos mencionados, sendo ele a continuação da pesquisa, descrita nos trabalhos [73-84]. Nos trabalhos [74-84] tem sido feita a tentativa da modelagem matemática dos processos da eletrossíntese e de modificação de polímeros condutores conjugados (com a ênfase no desempenho de sensores e biossensores, baseados em polímeros condutores).

O caso de metionina é diferente, pois é o polímero condutor doutro tipo (neste caso, polieletrólito, que não é conjugado e isto explica o fato de o potencial de polimerização ser superior que no caso dos compostos heterocíclicos aromáticos), que também é capaz de formar sais e complexos que dificultam a eletropolimerização. É mais uma causa da escolha do eléctrodo de carbono vítreo em vez do metálico. O fato de o polímero ser um polieletrólito também explica a dependência do pH para o comportamento do compósito com respeito ao seu desempenho.

SEÇÃO I. ELETROPOLIMERIZAÇÃO

Caso da eletropolimerização sobre o carbono vítreo

A eletrossíntese de polímeros condutores por meio de eletropolimerização pode ser feita de três modos: potenciodinâmico, galvanostático e potencioestático.

Se a eletropolimerização for realizada no modo potenciodinâmico (como foi feito em [73]), serão obtidos os filmes finos cujas características dependem das janelas de potencial escolhidas para a obtenção do revestimento. Além disso, encontrar-se-ão muitas dificuldades. A morfologia do polímero não será satisfatória, haja vista que o polímero resultante será parcialmente sobreoxidado. Além disso, durante a eletropolimerização potenciodinâmica também são possíveis os “pontos mortos”, nos quais a polimerização não ocorre durante algum tempo.

A eletropolimerização galvanostática pode ser realizada (e se realiza com bastante frequência), mas é difícil determinar a densidade da corrente mais adequada à

eletropolimerização do monômero. E, ainda por cima, a corrente que circula pode sobreoxidar o polímero resultante, como no caso da eletropolimerização potenciodinâmica.

A polimerização potencioestática é a mais frequentemente usada pois é muito fácil manter o potencial do eletrodo próximo ao pico do voltamperograma cíclico feito nas condições da eletropolimerização.

Para todos os três modos, os modelos matemáticos vêm sendo propostos nos trabalhos [74, 75] e no caso do aminoácido no eletrodo de carbono vítreo, todas elas funcionam (menos o modelo do crescimento da cadeia, descrito em [74] para compostos aromáticos). Vamos mostrar o modelo em detalhes para o modo potenciodinâmico usado no trabalho [73].

Para a descrição da eletropolimerização no modo potenciodinâmico (supondo a diferença de potenciais do ânodo e do cátodo constantes), usamos três variáveis:

c – a concentração do monômero na camada pré-superficial;

ϑ – o grau do recobrimento da superfície do eletrodo pelo monômero;

q – a carga do ânodo.

Nos modelos, descritos neste artigo, para simplificar a modelagem, supõe-se que:

- o eletrólito de suporte esteja em excesso – destarte podemos menosprezar o fluxo de migração, bem como as despesas do dopante;
- o reator esteja sendo agitado intensamente – assim podemos menosprezar o fluxo causado por convecção;
- a distribuição concentracional do monômero na seção 1, dos íons metálicos na seção 2 e do analíto na seção 3 na camada pré-superficial seja linear e a espessura da camada, constante e igual a δ .

O monômero entra na camada pre-superficial difundindo-se no interior da solução e desorvendo-se da superfície e sai da camada adsorvendo para a superfície de eletrodo. Então, a equação do balanço pode ser descrita como

$$\frac{dc}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(v_{-1} - v_1 + \frac{D}{\delta} (c_b - c) \right) \equiv F_1 \quad (1)$$

Sendo v_{-1} e v_1 as velocidades de desorção e adsorção, D o coeficiente da difusão do monômero e c_b a concentração do monômero no interior da solução.

O monômero chega até a superfície adsorvendo-se sobre ela e sai dela desorvendo-se. Ele também é consumido durante a sua polimerização. A equação do balanço do monômero (eq. 6) na superfície do catodo pode-se descrever como.

$$\frac{d\Theta}{dt} = \Gamma_{t,\max} (v_1 - v_{-1} - v_2) \equiv F_2 \quad (2)$$

Sendo $\Gamma_{t,\max}$ a concentração superficial máxima do monômero e v_2 a velocidade da sua eletropolimerização.

Para o ânodo aplica-se a densidade da corrente conveniente para o processo. O valor desta corrente diminui para que ocorra a reação eletroquímica. Nas condições do modo potenciodinâmico, a equação de balanço de carga pode ser descrita como:

$$\frac{dq}{dt} = \frac{U}{AR} - i_F \equiv F_3 \quad (3)$$

sendo U a diferença de potenciais do ânodo e do cátodo, A a área do eletrodo e R a resistência da superfície, i_F é a corrente faradaica.

As velocidades dos processos respectivos e a corrente de Faraday podem calcular-se como:

$$v_1 = k_1 \exp\left(-\frac{(K_0 - K_1)\varphi_0^2 + 2K_2\varphi_0\varphi_1}{2RTT_{\max 1}} \gamma\right) \exp(a\theta) c(1 - \theta) \quad (4)$$

$$v_{-1} = k_{-1} \exp\left(\frac{(K_0 - K_1)\varphi_0^2 + 2K_2\varphi_0\varphi_1}{2RTT_{\max 1}} (1 - \gamma)\right) \exp(-a\theta) \theta \quad (5)$$

$$v_2 = k_2 \theta^x \exp\left(\frac{zF}{RT} \varphi_0\right) \quad (6)$$

$$i_F = i_{\text{anódico}} - i_{\text{catódico}} = zFv_2 \quad (7)$$

em que k_1 e k_{-1} são as constantes de adsorção e desorção do monômero, K_1 e K_0 significam respectivamente as capacidades elétricas das regiões das camadas, pré-superficial que se referem à superfície coberta pelo monômero e à superfície livre, φ_1 é o salto de potencial relativo ao potencial de carga zero na região da dupla camada (CED), relativa

à região da superfície coberta pelo monômero e φ_0 significa o salto de potencial relativo ao potencial de carga zero na região da CED relativa à superfície livre e γ é a constante ($\gamma < 1$) que descreve o grau de modificação da capacidade da CED durante a adsorção, k_2 a constante da reação, x a ordem da reação do monômero, z a quantidade dos elétrons transferidos, F a constante de Faraday, R é a constante universal dos gases e T é a temperatura absoluta da solução.

Resultados e discussão (subseção 1.1.)

O comportamento do sistema eletroquímico será investigado por meio da análise do sistema de equações diferenciais (1-3) reformuladas, haja visto as relações algébricas (4-7). A matriz funcional de Jacobi, cujos elementos vêm descritos para o estado estacionário, como:

$$J = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} \end{pmatrix} \quad (8)$$

sendo:

$$a_{11} = \frac{\partial F_1}{\partial c} = \frac{2}{\delta} \left(-\frac{D}{\delta} - \frac{v_1}{c} \right)$$

$$a_{12} = \frac{\partial F_1}{\partial \theta} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{v_1}{1-\theta} - \alpha_1 v_1 - \alpha_{-1} v_{-1} + \frac{v_{-1}}{\theta} \right)$$

$$a_{13} = \frac{\partial F_1}{\partial q} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{(K_0 - K_1)\phi_0 + K_1\phi_1}{RT\Gamma_m K_0(1-\theta) + K_1\theta} (\gamma v_1 + (1-\gamma)v_{-1}) \right)$$

$$a_{21} = \frac{\partial F_2}{\partial c} = \Gamma_{\max}^{-1} \frac{v_1}{c}$$

$$a_{22} = \frac{\partial F_2}{\partial \theta} = \Gamma_{\max}^{-1} \left(\begin{array}{l} -\frac{v_1}{1-\theta} + \alpha_1 v_1 + \alpha_{-1} v_{-1} - \frac{v_{-1}}{\theta} - k_2 \exp\left(\frac{nF}{RT}\varphi_0\right) \\ -k_2 x \Theta^{x-1} \frac{nF}{RT} \frac{\varphi_0(K_0 - K_1) + K_1\varphi_1}{K_1\theta + K_0(1-\theta)} \end{array} \right)$$

$$a_{23} = \frac{\partial F_2}{\partial q} = \Gamma_{\max}^{-1} \left(\begin{array}{c} -\frac{(K_0 - K_1)\phi_0 + K_1\phi_1}{RT\Gamma_m K_0(1-\theta) + K_1\theta} (\gamma v_1 + (1-\gamma)v_{-1}) \\ -\alpha \frac{zF}{RT} v_2 \frac{1}{K_0(1-\theta) + K_1\theta} \end{array} \right)$$

$$a_{31} = \frac{\partial F_3}{\partial q} = 0$$

$$a_{32} = \frac{\partial F_3}{\partial \Theta} = zF \left(-k_2 \exp\left(\frac{nF}{RT}\varphi_0\right) - k_2 x \Theta^{x-1} \frac{nF}{RT} \frac{\varphi_0(K_0 - K_1) + K_1\varphi_1}{K_1\theta + K_0(1-\theta)} \right)$$

$$a_{33} = \frac{\partial F_2}{\partial q} = -\alpha \frac{zF}{RT} v_2 \frac{1}{K_0(1-\theta) + K_1\theta} \tag{9 - 17}$$

O estado estacionário estável: para determinar as condições do estado estacionário estável, vamos usar o critério de Routh e Hurwitz. A equação característica do sistema de equações (1-3) pode ser descrita como:

$$\Phi^3 + A\Phi^2 + B\Phi + \Gamma = 0 \tag{18}$$

sendo que:

$$A = -(a_{11} + a_{22} + a_{33}) \tag{19}$$

$$B = \begin{vmatrix} a_{11} & a_{12} \\ a_{21} & a_{22} \end{vmatrix} + \begin{vmatrix} a_{11} & a_{32} \\ a_{31} & a_{33} \end{vmatrix} + \begin{vmatrix} a_{22} & a_{23} \\ a_{32} & a_{33} \end{vmatrix} \tag{20}$$

$$\Gamma = - \begin{vmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} \end{vmatrix} \tag{21}$$

O critério de Routh e Hurwitz requer que, para um estado estacionário estável, os menores dos membros da diagonal principal da matriz de Hurwitz.

$$\begin{pmatrix} A & 1 & 0 \\ \Gamma & B & A \\ 0 & 0 & \Gamma \end{pmatrix} \quad (22)$$

sejam positivos. Os menores dos membros da diagonal principal da matriz:

$$\Delta_1 = A, \Delta_2 = \begin{vmatrix} A & 1 \\ \Gamma & B \end{vmatrix}, \Delta_3 = \begin{vmatrix} A & 1 & 0 \\ \Gamma & B & A \\ 0 & 0 & \Gamma \end{vmatrix} \quad (23)$$

Visto que $\Delta_3 = \Gamma\Delta_2$, podemos formar a condição do estado estacionário estável como $\Gamma > 0$.

Para simplificar a análise de Jacobiano, é introduzido novas variáveis de modo que o jacobiano será descrito como:

$$\frac{2}{\delta\Gamma_{\max}} \begin{vmatrix} -\kappa - g_1 & -V_s & \Delta\psi \\ g_1 & V_s - V_p & -\Delta\psi - X_2 \\ 0 & \tilde{N}_2 - zFV_p & \tilde{N}_3 - X_2 \end{vmatrix} \quad (24)$$

sendo:

$$\frac{D}{\delta} = \kappa - \text{parâmetro de difusão}; \frac{v_1}{c} = g_1 - \text{parâmetro de adsorção} \quad (25);$$

$$-\frac{v_1}{1-\theta} + \alpha_1 v_1 + \alpha_1 v_{-1} - \frac{v_{-1}}{\theta} = V_s - \text{parâmetro do comportamento superficial} \quad (26);$$

$$k_2 \exp\left(\frac{nF}{RT}\varphi_0\right) + k_2 x \Theta^{x-1} \frac{nF}{RT} \frac{\varphi_0(K_0 - K_1) + K_1\varphi_1}{K_1\theta + K_0(1-\theta)} = V_p - \text{parâmetro da eletropoli-merização} \quad (27);$$

$$\frac{(K_0 - K_1)\phi_0 + K_1\phi_1}{RT\Gamma_m K_0(1-\theta) + K_1\theta} (\gamma v_1 + (1-\gamma)v_{-1}) = \Delta\psi - \text{parâmetro do impacto superficial na transferência de carga} \quad (28);$$

$\alpha \frac{zF}{RT} v_2 \frac{1}{K_0(1-\theta) + K_1\theta} = X_2$ - parâmetro do impacto de polimerização na transferência de carga (29);

$-\frac{V}{AR^2} \frac{\partial R}{\partial \theta} = \tilde{N}_2$, $-\frac{V}{AR^2} \frac{\partial R}{\partial q} = \tilde{N}_3$ - parâmetros da mudança da resistência da superfície (30, 31).

Levando em consideração o critério de estabilidade e as expressões (24-31), resolve-se a inequação $\text{Det } J < 0$ e obtém-se a condição de estabilidade do estado estacionário como:

$$-K < g_1 \left(\frac{(\Delta\psi\tilde{N}_2 - \Delta\psi z F V_p + V_p\tilde{N}_3 - V_s X_2)}{V_s\tilde{N}_3 - V_s X_2 - V_p\tilde{N}_3 + V_p X_2 + \Delta\psi\tilde{N}_2 + X_2\tilde{N}_2 - \Delta\psi z F X_p - \Delta\psi z F X_2} + 1 \right) \quad (32)$$

Pode-se concluir que para a estabilidade do estado estacionário contribuem:

- alta velocidade da difusão (altos valores de κ);
- alta velocidade-padrão de adsorção (altos valores de g_1);
- alto valor da velocidade-padrão da eletropolimerização (altos valores da V_p), acompanhado pelas influências na dupla camada dos processos superficiais (valores negativos de $\Delta\psi$) ou da eletropolimerização (negatividade do parâmetro V_p);
- as influências das mudanças cíclicas da superfície não dão um impacto importante à estabilidade do estado estacionário.

A equivalência dos efeitos favoráveis à estabilidade e à instabilidade do estado estacionário leva à aparição da instabilidade monotônica (ou instabilidade de sela e nó), cuja condição principal pode ser descrita como:

$$-K = g_1 \left(\frac{(\Delta\psi\tilde{N}_2 - \Delta\psi z F V_p + V_p\tilde{N}_3 - V_s X_2)}{V_s\tilde{N}_3 - V_s X_2 - V_p\tilde{N}_3 + V_p X_2 + \Delta\psi\tilde{N}_2 + X_2\tilde{N}_2 - \Delta\psi z F X_p - \Delta\psi z F X_2} + 1 \right) \quad (33)$$

Para a instabilidade oscilatória ser realizada, é preciso (não sendo suficiente) que a diagonal principal da matriz de Jacobi contenha os elementos positivos, pois eles descrevem a positiva ligação de retorno, ou seja, autocatálise no sentido mais amplo do termo.

Na diagonal principal tem 3 elementos, capazes de ser positivos, os dois estão na célula a_{22} , o que será no caso de:

- o elemento V_s ser positivo;
- o elemento V_p ter valores negativos.

Mais um está na a_{33} para o caso de o elemento \tilde{N}_3 ser positivo.

O primeiro caso é o da interação lateral de partículas adsorvidas, que promove o crescimento da cadeia, mas não faz parte do mecanismo. A interação lateral pode ser promovida pela:

- interação spin-spin dos radical-cátions;
- interação eletrostática dos íons bipolares.

O segundo caso descreve as influências na dupla camada elétrica da eletropolimerização, aliás, dos processos da eletro-oxidação que a acompanham. Tais influências usualmente se manifestam quando ocorre o recarregamento da camada durante a formação do filme polifuncional, no momento da eletro-oxidação dos redutores fortes.

O terceiro caso descreve o comportamento oscilatório durante a formação do polímero passivo de alta resistência e de baixa capacidade de depositar a carga elétrica.

Desta forma em geral, o comportamento do sistema com a eletropolimerização do aminoácido sobre o carbono vítreo não difere dos outros casos de eletropolimerização, sendo porém, mais complicado.

Caso da eletropolimerização sobre metais ativos

Alguns dos monômeros (inclusive aminoácidos) podem complicar a sua eletropolimerização sobre certos metais por causa da formação de complexos, sendo este fenômeno observado na modificação electroquímica, bem como na eletropolimerização [85, 86]. Para o processo da electromodificação este processo tem sido considerado nocivo, porém, para o caso da eletropolimerização a formação de complexos contribui muito na adesão do filme polimérico, na condutividade, na cor e nas propriedades electrocrômicas.

Assim sendo, a escolha do carbono vítreo como o material do ânodo em vez de uma superfície metálica como aço ou alumínio é explicada também pela possível formação de complexos, cuja formação diminui a quantidade dos sítios ativos de ligação com as nanopartículas de ouro.

Para descrever matematicamente a eletropolimerização potencioestática do aminoácido sobre metais de transição, usar-se-ão as 3 variáveis:

c – a concentração do aminoácido na camada pré-superficial;

θ – o grau de recobrimento da superfície pelo monômero;

χ – o grau de recobrimento da superfície pelo complexo do monômero, supondo o suposto acima.

O monômero entra na camada pre-superficial difundindo a ele do interior da solução e desorrendo-se da superfície e sai da camada adsorvendo para a superfície de eletrodo. Então, a equação do balanço (eq. 5) pode ser descrita conforme:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(v_{-1} - v_1 + \frac{D}{\delta} (c_b - c) \right) \equiv F_1 \quad (34)$$

Sendo v_1 e v_{-1} as velocidades da adsorção e da desorção do monômero, D o coeficiente da difusão e c_b a concentração do monômero no interior da solução.

O monômero entra na superfície por meio da adsorção e sai por meio da sua desorção. Também ele participa da eletropolimerização com o seu próprio complexo e da formação do próprio. Destarte, a equação de balanço será descrita como:

$$\frac{d\theta}{dt} = \Gamma_{t,\max} (v_1 - v_{-1} - v_2 - v_3) \equiv F_2 \quad (35)$$

sendo $\Gamma_{t,\max}$ a concentração máxima superficial do monômero, v_2 a velocidade da eletropolimerização e v_3 a da formação do complexo.

O complexo é formado por meio da reação entre o monômero e a superfície metálica e participa da eletropolimerização com o próprio monômero. Destarte, a equação de balanço será descrita como

$$\frac{d\chi}{dt} = \Gamma_{\chi,\max} (v_3 - v_2) \equiv F_3 \quad (36)$$

Sendo $\Gamma_{\chi,\max}$ a concentração superficial máxima do complexo.

As velocidades da adsorção e da desorção do monômero, da sua eletropolimerização e da formação do complexo podem descrever-se como:

$$v_1 = k_1 \exp\left(-\frac{(K_0 - K_1)\varphi_0^2 + 2K_2\varphi_0\varphi_1}{2RT\Gamma_{\max 1}}\gamma\right) \exp(a(\theta_b)) c_b (1-\theta) \quad (37, 38)$$

$$v_{-1} = k_{-1} \exp\left(\frac{(K_0 - K_1)\varphi_0^2 + 2K_2\varphi_0\varphi_1}{2RT\Gamma_{\max 1}}(1-\gamma)\right) \exp(-a\theta)\theta$$

$$v_2 = k_2 \theta^x \chi^y \exp\left(-\frac{zF}{RT}\varphi_0\right) \quad (39)$$

$$v_3 = k_3 \theta \exp(\beta_1 \chi) \quad (40)$$

sendo β_1 o coeficiente da interação entre o monômero e a superfície metálica, x e y as ordens de reações, obtidas por meio da aplicação das leis de Mayo-Lewis da eletroco-polimerização.

O comportamento do sistema será estudado por meio da análise do sistema de equações (34-36), sendo tomadas em conta as relações algébricas (37-40) por meio da teoria de estabilidade lineal. A matriz funcional de Jacobi para o sistema (34-36) será descrito como:

$$J = \begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} \end{pmatrix} \quad (41)$$

sendo que:

$$a_{11} = \frac{\partial F_1}{\partial c} = \frac{2}{\delta} \left(-\frac{\partial v_1}{\partial c} - \frac{D}{\delta} \right) \quad a_{12} = \frac{\partial F_1}{\partial \theta} = \frac{2}{\delta} \left(-\frac{\partial v_1}{\partial \theta} + \frac{\partial v_{-1}}{\partial \theta} \right) \quad a_{13} = \frac{\partial F_1}{\partial \chi} = -\frac{\partial v_1}{\partial \chi}$$

$$a_{21} = \frac{\partial F_2}{\partial c} = \Gamma_{\max 1}^{-1} \frac{\partial v_1}{\partial c} \quad a_{22} = \frac{\partial F_2}{\partial \theta} = \Gamma_{\max 1}^{-1} \left(\frac{\partial v_1}{\partial \theta} - \frac{\partial v_{-1}}{\partial \theta} - \frac{\partial v_2}{\partial \theta} - \frac{\partial v_3}{\partial \theta} \right)$$

$$a_{23} = \frac{\partial F_2}{\partial \chi} = \Gamma_{\max 1}^{-1} \left(\frac{\partial v_1}{\partial \chi} - \frac{\partial v_2}{\partial \chi} - \frac{\partial v_3}{\partial \chi} \right) \quad a_{31} = \frac{\partial F_3}{\partial c} = 0$$

$$a_{32} = \frac{\partial F_3}{\partial \theta} = \Gamma_{c,\max}^{-1} \left(\frac{\partial v_3}{\partial \theta} - \frac{\partial v_2}{\partial \theta} \right) \quad a_{33} = \frac{\partial F_3}{\partial \chi} = \Gamma_{c,\max}^{-1} \left(\frac{\partial v_3}{\partial \chi} - \frac{\partial v_2}{\partial \chi} \right) \quad (42-50)$$

Para simplificar a análise da matriz, introduzimos as novas variáveis para o determinante obter a forma

$$\frac{2}{\delta \Gamma_{\max} \Gamma_{c,\max}} \begin{vmatrix} -L - \kappa & -\Sigma_S & X_S \\ L & \Sigma_S - \Sigma_P - \Sigma_C & X_S - X_P - X_C \\ 0 & \Sigma_C - \Sigma_P & X_C - X_P \end{vmatrix} \quad (51)$$

Aplicando o critério de Routh-Hurwitz obtém-se a condição da estabilidade do estado estacionário de forma seguinte:

$$\kappa > \frac{L(\Sigma_C X_S - \Sigma_P X_S + \Sigma_C X_S + \Sigma_S X_C - \Sigma_S X_P - \tilde{A})}{\tilde{A}} \quad (52)$$

sendo:

$$\tilde{A} = \Sigma_S X_C - 2\Sigma_P X_C - 2\Sigma_C X_C - \Sigma_S X_P - \Sigma_C X_S + \Sigma_P X_S \quad (53)$$

A condição pode ser interpretada de seguinte forma. O estado estacionário tende a ser estável no caso de a reação ser “cineticamente controlada”, ou seja, quando a velocidade da difusão é superior à dos processos químicos. Outrossim, os valores mais altos das velocidades da eletropolimerização e da formação de complexos em relação às velocidades de adsorção e dessorção favorecem a estabilidade.

Ao serem iguais as influências mencionadas, realiza-se a bifurcação de sela e nó e realiza-se a instabilidade monotônica, a condição de cuja aparição é:

$$\kappa = \frac{L(\Sigma_C X_S - \Sigma_P X_S + \Sigma_C X_S + \Sigma_S X_C - \Sigma_S X_P - \tilde{A})}{\tilde{A}} \quad (54)$$

Usando a metodologia apresentada acima, pode-se ver que o comportamento oscilatório pode ser descrito pela positividade de seguintes elementos da diagonal principal da matriz e causado pelos seguintes fatores:

- Σ_s , nas condições da atração entre partículas adsorvidas,
- Σ_p no caso do rearranjo da dupla camada durante a eletropolimerização ($\varphi_0 < 0$)
- X_c no caso da atração entre o monômero e a superfície metálica.

Se as duas primeiras são características para todos os processos da eletropolimerização, a terceira é específica para os sistemas com a formação de complexos na superfície. Assim, o fator mencionado é responsável pelo comportamento oscilatório aquando da eletropolimerização, acompanhada pela formação de complexos.

SEÇÃO II. ELETRODEPOSIÇÃO

Modo potencioestático

Segundo o artigo [73], na síntese do revestimento sensitivo, após a eletropolimerização do monômero, neste caso do aminoácido metionina, ocorreu a deposição catódica de nanopartículas de ouro.

Outro jeito de modificar poderia ser a intercalação delas para dentro da matriz polimérica por meio da dopagem. Porém, se tal processo fosse feito a matriz polimérica bloquearia parcialmente o contato de partículas intercaladas com o analito. Destarte ocorreu a deposição catódica de nanopartículas de ouro com a próxima ligação delas com o polieletrólito depositado.

Embora as instabilidades ocorram mais frequentemente nos processos anódicos, nos processos catódicos [87] também podem ocorrer oscilações eletroquímicas, multiplicidade de estados estacionários e outros. Assim sendo, isso leva a pensar que no caso da eletrodeposição descrita em [73], sob algumas condições, talvez não mencionadas no trabalho, podem ocorrer as instabilidades de estados estacionários.

Como a eletrodeposição ocorreu sem adsorção do íon complexo de ouro, para a descrição matemática do processo no modo potencioestático (sendo o valor concreto do potencial catódico mencionado no trabalho referente) usam-se as duas variáveis (usar-se-iam as 3, caso a eletrorredução fosse precedida pela adsorção):

c – a concentração dos íons complexos AuCl_4^- ;

T – o grau do revestimento da superfície do eletrodo pelas nanopartículas de ouro, haja vista o pressuposto acima.

Os íons complexos difundem-se para a camada pré-superficial e, após isso, são eletrorreduzidos formando o metal sob a forma de nanopartículas. Posto assim, a equação de balanço dos íons complexos de ouro (III) será descrita como:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{D}{\delta} (c_0 - c) - r_{red} \right) \quad (55)$$

sendo r_{red} a velocidade de deposição catódica, c_0 a concentração dos íons complexos no interior da solução.

As nanopartículas metálicas formam-se aquando da eletrorredução do ânion $AuCl_4^-$ e, depois, formam ligações covalentes com o polieletrólito depositado. Destarte, a equação de balanço será descrita como:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{1}{\Gamma_{max}} (r_{red} - r_{lig}) \quad (56)$$

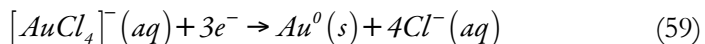
sendo Γ_{max} a concentração máxima de partículas metálicas sobre o polieletrólito e r_{lig} a velocidade da formação de ligações entre elas e o polieletrólito.

As velocidades das reações podem ser calculadas como:

$$r_{red} = k_{red} c (1 - T) \exp\left(\frac{3F}{RT} \varphi_0\right) \quad (57)$$

$$r_{lig} = k_{lig} T \exp(\gamma T) \quad (58)$$

sendo k_{red} a constante da eletrorredução, k_{lig} da formação do compósito. A aparição do número 3 na equação (57) é explicada pelo fato de se transferirem, aquando da reação elementar, os 3 elétrons:



γ é o coeficiente que descreve a interação entre o polieletrólito e as nanopartículas metálicas.

Analisar-se-á o sistema de equações (55, 56), tendo em conta as relações (57, 58) por meio da teoria de estabilidade linear e da análise de bifurcações. A matriz funcional de Jacobi, sendo os seus elementos calculados para o estado estacionário, ver-se-á como:

$$\begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} \\ a_{21} & a_{22} \end{pmatrix} \quad (60)$$

Sendo:

$$\begin{aligned} a_{11} &= \frac{2}{\delta} \left(-K_{red}(1-T) \exp\left(\frac{3F}{RT} \varphi_0\right) - \frac{D}{\delta} \right) & a_{12} &= \frac{2}{\delta} \left(K_{red} c \exp\left(\frac{3F}{RT} \varphi_0\right) \right) \\ a_{21} &= \frac{1}{\Gamma_{max}} \left(-K_{red}(1-T) \exp\left(\frac{3F}{RT} \varphi_0\right) \right) \\ a_{22} &= \frac{1}{\Gamma_{max}} \left(-K_{red} c \exp\left(\frac{3F}{RT} \varphi_0\right) - k_{lig} \exp(\gamma T) - \gamma k_{lig} T \exp(\gamma T) \right) \end{aligned} \quad (61 - 64)$$

Depois da simplificação, feita por meio da introdução de novas variáveis, o determinante da matriz descrever-se-á como:

$$\frac{2}{\delta \Gamma_{max}} \begin{vmatrix} -\Xi - K & \Phi \\ \Xi & -\Phi - P \end{vmatrix} \quad (65)$$

Como a condição de $\text{Tr } J < 0$ é satisfeita para a maioria dos sistemas (e, pelo que se vê, para este também), a principal será $\text{Det } J > 0$, que se satisfará em condição de:

$$K > -\frac{\Xi P}{\Phi + P} \quad (66)$$

Esta condição confirma a ausência da possibilidade de quaisquer instabilidades no sistema, descrito em [73]. Manter-se-á, nele, o estado estacionário estável.

O κ , parâmetro de difusão, é sempre positivo e os parâmetros Ξ e Φ , também. Assim, o único parâmetro, capaz de ser negativo, pode ser P , mas isso só acontecerá no caso da interação repelente, o que não existe no sistema em destaque. Assim, não serão satisfeitas, para ele, as condições de $\text{Det } J = 0$ (com a positividade do parâmetro P , o determinante será positivo) para a instabilidade monotônica, e de $\text{Tr } J = 0$ para a oscilatória (o traço da matriz terá valores negativos). Assim, matematicamente é confirmada a razoabilidade da escolha de modo da eletrodeposição catódica de nanopartículas.

Em geral, porém, ambas as instabilidades podem ocorrer, mas só no caso da ocorrência da interação repelente entre o revestimento e as nanopartículas.

Modo galvanostático

Como foi descrito na subseção 2.1, a razoabilidade da escolha do modo da eletrodeposição para o processo do artigo [73] (potenciostático), foi comprovada pela modelagem matemática. Para o sistema concreto não acontecem quaisquer instabilidades eletroquímicas, mantendo-se o estado estacionário estável.

Para os modos galvanostático e potenciostático o comportamento é mais complicado, pois há mais fatores que o definem.

Assim, para analisá-lo matematicamente, introduzir-se-ão as três variáveis:

c – a concentração dos íons complexos AuCl_4^- ;

T – o grau do revestimento da superfície do eletrodo pelas nanopartículas de ouro,

Q – a carga do eletrodo.

Como no caso da subseção anterior, os íons complexos difundem-se para a camada pré-superficial e, após isso, são eletrorreduzidos, formando o metal sob a forma de nanopartículas. Posto assim, a equação de balanço dos íons complexos de ouro (III) será descrita como:

$$\frac{dc}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{D}{\delta} (c_0 - c) - r_{red} \right) \quad (67)$$

sendo r_{red} a velocidade de deposição catódica e c_0 a concentração dos íons complexos no interior da solução.

As nanopartículas metálicas formam-se aquando da eletrorredução do ânion AuCl_4^- e, depois formam ligações covalentes com o polieletrólito depositado. Destarte, a equação de balanço será descrita como:

$$\frac{dT}{dt} = \frac{1}{\Gamma_{max}} (r_{red} - r_{lig}) \quad (68)$$

Sendo Γ_{max} a concentração máxima de partículas metálicas por sobre o polieletrólito e r_{lig} a velocidade da formação de ligações entre elas e o polieletrólito.

A equação de balanço de carga do eléctrodo, para o modo galvanostático será descrita como

$$\frac{dQ}{dt} = i - i_F \quad (69)$$

E, como na subsecção anterior,

$$r_{red} = k_{red}c(1-T)\exp\left(\frac{3F}{RT}\varphi_0\right) \quad (70)$$

$$r_{lig} = k_{lig}T\exp(\gamma T) \quad (71)$$

$$i_F = -3Fr_{red} \quad (72),$$

sendo a aparição do número 3 explicada acima.

Analizamos o comportamento do sistema da eletrodeposição galvanostática de nanopartículas de ouro por meio do uso da metodologia anteriormente descrita com o sistema de equações diferenciais (67-69). Os elementos estacionários da matriz funcional de Jacobi podem calcular-se como:

$$\begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} \end{pmatrix} \quad (73)$$

Sendo:

$$\begin{aligned} a_{11} &= \frac{2}{\delta} \left(-k_{red}(1-T)\exp\left(\frac{3F}{RT}\varphi_0\right) - \frac{D}{\delta} \right) & a_{12} &= \frac{2}{\delta} \left(-k_{red}c\exp\left(\frac{3F}{RT}\varphi_0\right) \right) \\ a_{13} &= \frac{2}{\delta} \left(-k_{red}c(1-T)f\exp\left(\frac{3F}{RT}\varphi_0\right) \right) & a_{21} &= \frac{1}{\Gamma_{max}} \left(-k_{red}(1-T)\exp\left(\frac{3F}{RT}\varphi_0\right) \right) \\ a_{22} &= \frac{1}{\Gamma_{max}} \left(-k_{red}c\exp\left(\frac{3F}{RT}\varphi_0\right) - k_{lig}\exp(\gamma T) - \gamma k_{lig}T\exp(\gamma T) \right) \\ a_{23} &= \frac{1}{\Gamma_{max}} \left(k_{red}c(1-T)f\exp\left(\frac{3F}{RT}\varphi_0\right) \right) \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 a_{31} &= -3F \left(k_{red} (1-T) \exp \left(\frac{3F}{RT} \varphi_0 \right) \right) & a_{32} &= 3F \left(k_{red} c \exp \left(\frac{3F}{RT} \varphi_0 \right) \right) \\
 a_{33} &= -3F \left(k_{red} c (1-T) f \exp \left(\frac{3F}{RT} \varphi_0 \right) \right) & & (74-82)
 \end{aligned}$$

Após a introdução de novos parâmetros, que descrevem vários impactos dos processos ao estado estacionário, o determinante do jacobiano ver-se-á como:

$$\frac{6F}{\delta\Gamma_{max}} \begin{vmatrix} -\Xi - K & \Phi & -U \\ \Xi & -\Phi - P & U \\ -\Xi & \Phi & -U \end{vmatrix} \quad (83)$$

Haja vista a não negatividade do coeficiente na expressão (83), a condição de estabilidade do estado estacionário, aplicando-se o critério Routh-Hurwitz, obter-se-á sob a forma de:

$$(-\Xi - K)PU + \Xi PU < 0 \quad (84)$$

que se reduz até

$$-\kappa PU < 0 \quad (85)$$

Como não há, no sistema em destaque, forças repelentes entre as nanopartículas e o polieletrólito, bem como a diminuição da capacidade de deposição de carga por parte do composto formado, comparado com o polímero, não vai haver possibilidade de instabilidades oscilatória e monotônica e a condição (85) se satisfaz sempre. Assim sendo, no modo galvanostático a eletrodeposição de nanopartículas de ouro sobre o poliaminóácido também corre sem instabilidades.

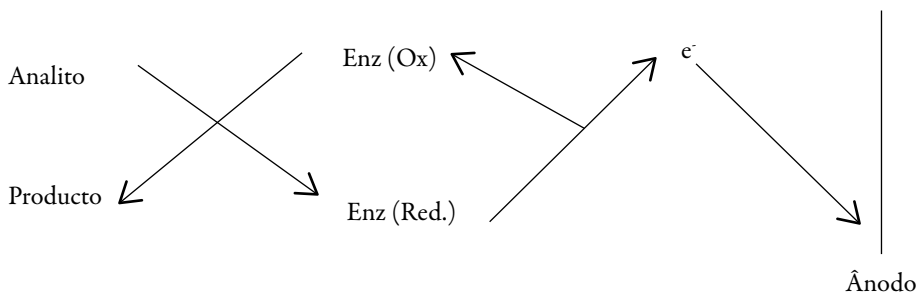
Em geral, porém o comportamento oscilatório pode ser causado pela possível interação repelente entre as nanopartículas metálicas (negatividade de P) e diminuição da possibilidade de depositar carga elétrica pelo composto (negatividade de U).

A instabilidade monotônica pode ser causada pela igualdade dos impactos da atração entre as nanopartículas metálicas e o polieletrólito aos da sua eletrodeposição (nulidade de P).

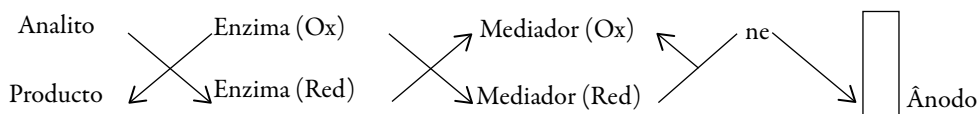
SEÇÃO III. DESEMPENHO DO SENSOR

Os PC são amplamente usados em sensores e biossensores eletroquímicos [14-58]. Como é conhecido, o polímero condutor pode desempenhar, no sensor, o papel de

- substância ativa (sendo o exemplo, o polímero condutor, substituído pelo fragmento do fator ou cofator da enzima–esquema I);



- mediador (esquema–II)



- catalisador.

A descrição matemática do desempenho de compósitos, baseados em polímeros condutores, pode ser feita de dois jeitos:

- considerando o compósito como um todo (menosprezando a distribuição de papéis dos seus componentes no desempenho do sensor), ou seja, tendo em base o Esq. I;
- tendo em conta os papéis dos componentes do compósito (neste caso, as nanopartículas são substância ativa e o polímero condutor, o mediador), ou seja, tendo em base o Esq. II.

Ambas as possibilidades foram usadas nos nossos trabalhos anteriores.

Embora o primeiro jeito possa ser criticado pela possível inexatidão, tal “junção” pode simplificar a modelagem, especialmente quando é preciso descrever matematicamente a determinação de dois compostos diferentes ou de investigar, por meio da modelagem, a influência da presença de outras substâncias ao desempenho do sensor.

Na subseção 3.1. será modelado e investigado teoricamente o desempenho do sensor, descrito em [73]. Na subseção 3.2. será descrita a influência de outras substâncias ao seu desempenho.

A descrição matemática da detecção simultânea de dopamina e ácido úrico no pH neutro por meio do sensor, baseado no compósito nano-Au-poli aminoácido.

Para tal, serão introduzidas as três variáveis:

A_1 – a concentração da dopamina na camada pré-superficial;

A_2 – a concentração do ácido úrico na camada pré-superficial;

Θ – o grau do recobrimento do compósito reduzido, sendo que a forma oxidada, a princípio, cobre toda a superfície,

Supondo o exposto acima.

Os analitos entram na camada pré-superficial por meio da difusão e depois reagem com o compósito, sendo oxidadas. Além disso, eles voltam ao seu estado inicial mudando-se o potencial do eletrodo, pois o comportamento eletroquímico do compósito, segundo [73] foi reversível. Outrossim, eles reagem um com outro destarte, as equações de balanço da concentração dos analitos na camada pré-superficial serão descritas como:

$$\frac{dA_1}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{D}{\delta} (A_{1B} - A_1) - r_1 - r_d \right) = F_1 \quad (86)$$

$$\frac{dA_2}{dt} = \frac{2}{\delta} \left(\frac{\Delta}{\delta} (A_{2B} - A_2) - r_2 - r_d \right) = F_2 \quad (87)$$

Sendo D e Δ os seus coeficientes de difusão, A_{1B} e A_{2B} as concentrações dos analitos no interior da solução, r_1 , r_2 e r_d as velocidades das reações da oxidação química entre o compósito e os analitos e da possível reação da dopamina com o ácido úrico.

A forma reduzida do compósito é formada por meio da oxidação de analitos, sendo depois eletroquimicamente oxidada. Como a reação do compósito é reversível, a forma reduzida também é formada aquando do processo catódico de redução. Destarte, a equação de seu balanço será descrita como:

$$\frac{d\Theta}{dt} = \frac{1}{\Gamma_{\max}} (r_1 + r_2 + r_{-3} - r_3) = F_3 \quad (88)$$

com as variáveis análogas às descritas nas seções anteriores.

As velocidades das respectivas reações podem ser calculadas como:

$$r_1 = k_1 A_1 (1 - \Theta);$$

$$r_2 = k_2 A_2 (1 - \Theta);$$

$$r_3 = k_3 \Theta \exp(nF\varphi_0/RT)$$

$$-r_3 = k_{-3} (1 - \Theta) \exp(-nF\varphi_0/RT) \quad (89 - 92)$$

Investigando-se o comportamento do sensor, analisa-se o sistema (86-88) por meio da teoria de estabilidade linear. Os elementos estacionários da matriz funcional de Jacobi serão:

$$\begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} \end{pmatrix} \quad (93)$$

sendo:

$$a_{11} = \frac{\partial F_1}{\partial A_1} = -\frac{2}{\delta} \left(k_1 (1 - \Theta) + \frac{D}{\delta} + k_d A_2 \right) \quad a_{12} = \frac{\partial F_1}{\partial A_2} = -\frac{-2k_d A_1}{\delta}$$

$$a_{13} = \frac{\partial F_1}{\partial \Theta} = \frac{2}{\delta} k_1 c_1 \quad a_{21} = \frac{\partial F_2}{\partial A_1} = -k_d A_2 \quad a_{22} = \frac{\partial F_2}{\partial A_2} = -\frac{2}{\delta} \left(k_2 (1 - \Theta) - \frac{\Delta}{\delta} - k_d A_1 \right)$$

$$a_{23} = \frac{\partial F_2}{\partial \Theta} = \frac{2}{\delta} k_2 c_2 \quad a_{31} = \frac{\partial F_3}{\partial A_1} = \frac{k_1 (1 - \Theta)}{\Gamma_{\max}} \quad a_{32} = \frac{\partial F_3}{\partial A_2} = \frac{k_2 (1 - \Theta)}{\Gamma_{\max}}$$

$$-k_1 A_1 - k_2 A_2 - k_3 \exp\left(\frac{nF}{RT} \varphi_0\right) - k_3 \Theta \frac{nF}{RT} \frac{\varphi_0 (K_0 - K_1) + K_1 \varphi_1}{K_1 \Theta + K_0 (1 - \Theta)}$$

$$a_{33} = \frac{\partial F_3}{\partial \Theta} = \frac{-k_3 \exp\left(-\frac{nF}{RT} \varphi_0\right) + k_3 (1 - \Theta) \frac{nF}{RT} \frac{\varphi_0 (K_0 - K_1) + K_1 \varphi_1}{K_1 \Theta + K_0 (1 - \Theta)}}{\Gamma_{\max}} \quad (94-102)$$

Com a introdução de novas variáveis, o determinante simplificar-se-á até:

$$\frac{4D\Delta}{\delta^2\Gamma_{\max}} \begin{vmatrix} -R_1 - \kappa_1 - U_1 & -U_2 & X_1 \\ -U_1 & -R_2 - \kappa_2 - U_2 & X_2 \\ R_1 & R_2 & -X_1 - X_2 - W_{-1} + W_{-2} - W_1 - W_2 \end{vmatrix} \quad (103)$$

Aplicando-se o critério de estabilidade mencionado acima, obter-se-á a condição de estabilidade do estado estacionário sob a forma:

$$\begin{aligned} & X_1(-U_1R_2 - R_2k_1 - U_1R_2 - k_1k_2 - U_1k_2 - k_1U_2) + \\ & X_2(-U_2R_1 - R_1k_2 - U_2R_1 - R_1k_2 - U_2R_1 - k_1k_2 - U_2k_1 - k_2U_1) - \\ & (W_1 + W_2 + W_{-1} - W_{-2})(U_2R_1 + R_1k_2 + U_2R_1 + k_1k_2 + U_2k_1 + k_2U_1 + U_1R_2 + R_2k_1) < 0 \end{aligned} \quad (104)$$

Mesmo que se mantenham na expressão (104) os parênteses, pode-se ver que as expressões que os coeficientes que acompanham os parâmetros da concentração dos analitos (X_1 e X_2) são negativos, assim o aumento da velocidade da difusão do analito (aumento de valores de parâmetros κ), e das suas reações (aumento de valores dos parâmetros U e R) faz com que o estado estacionário seja mais estável, sendo confirmado o controle de reação pela difusão, relatado em [73]. A aceleração das reações eletroquímicas (aumento de W_1 e de W_2) sem influências à dupla camada (positividade de W_2 e a negatividade de W_{-2}). Posto assim, a região do melhor desempenho (trecho linear da curva parâmetro eletroquímico–concentração do analito) para o sensor deve ser vasta, o que está de acordo com os dados experimentais [73].

Aquando da igualdade dos efeitos da dupla camada às outras, ocorre a instabilidade monotônica, a condição de cuja aparição pode ser descrita como:

$$\begin{aligned} & X_1(-U_1R_2 - R_2k_1 - U_1R_2 - k_1k_2 - U_1k_2 - k_1U_2) + \\ & X_2(-U_2R_1 - R_1k_2 - U_2R_1 - k_1k_2 - U_2k_1 - k_2U_1) - \\ & (W_1 + W_2 + W_{-1} - W_{-2})(U_2R_1 + R_1k_2 + U_2R_1 + k_1k_2 + U_2k_1 + k_2U_1 + U_1R_2 + R_2k_1) = 0 \end{aligned} \quad (105)$$

Como nos casos anteriores do comportamento dos sensores eletroquímicos, baseados em polímeros condutores [74-84], o comportamento oscilatório pode ser causado pela influência das etapas eletroquímicas à dupla camada (neste caso, a negatividade de W_2 e a positividade de W_{-2}). Porém agora, haja vista a reversibilidade da reação, o “ciclo de

limite” vai ser acompanhado pelo arranjo-rearranjo desta camada e as mudanças cíclicas das suas capacitâncias. Esta causa do comportamento oscilatório é a única, pois as propriedades dos analitos não preveem autocatálise.

Destarte, o modelo confirma o observado experimentalmente em [73], sendo também possível a sua aplicação para casos análogos.

A influência do pH e do pOH ao desempenho do sensor

Em [73] foi visto que o desempenho do sensor era melhor sob $\text{pH}=7$, o que se deve à melhor estabilidade do aminoácido no meio neutro.

As diferentes inclinações da curva de relações de correntes de picos com o pH aos lados básico e ácido (Fig. 4b de [73]) podem ser explicadas pelas diferentes capacidades dos analitos de reagirem com os ácidos e as bases fortes.

Para explicar a diferença do comportamento do sensor nos valores do pH, diferentes de 7, desenvolvemos um modelo matemático, capaz de descrever adequadamente os processos no sistema que ocorrem aquando da análise da concentração de cada analito dos mencionados.

O modelo, descrito em [84] pode aplicar-se ao sensor, descrito em [73], sendo as conclusões da modelagem aplicadas. Mas, como o modelo [84] é generalista, é preciso adaptá-lo, aliás, aplicá-lo para o caso particular destacado, o que se fará nesta subsecção.

Para avaliar matematicamente a influência do pH ao desempenho do sensor, descrito em [73] para cada um dos analitos, podemos introduzir 3 variáveis:

- A – a concentração do analito na camada pré-superficial;
- Θ – o grau do recobrimento do compósito reduzido;
- H – a concentração dos prótons na camada pré-superficial.

supondo o suposto acima.

Analogamente à subsecção 3.1 e aos artigos [83, 84] e haja vista a reversibilidade do comportamento eletroquímico do compósito, descrevem-se as equações de balanço. Destarte, o sistema de equações se apresenta como:

$$\left. \begin{aligned} \frac{dA}{dt} &= \frac{2}{\delta} \left(\frac{D}{\delta} (A_B - A_1) - r_1 - H_1 \right) = F_1 \\ \frac{d\Theta}{dt} &= \frac{1}{\Gamma_{\max}} (r_1 + r_{-3} - r_3 - H_2) = F_3 \\ \frac{dH}{dt} &= \frac{2}{\delta} \left(\frac{\Delta}{\delta} (H_b - H) + r_3 - r_{-3} - H_1 - H_2 - H_3 \right) \end{aligned} \right\} \quad (106-108)$$

sendo os parâmetros H as velocidades das reações dos prótons com o analito, o composto reduzido e o oxidado correspondentemente. Se o ácido for selênico, haverá a destruição do composto eliminando-se as nanopartículas de ouro.

As velocidades das respectivas reações podem ser calculadas como:

$$r_1 = k_1 A (1 - \Theta);$$

$$r_3 = k_3 \Theta \exp (nF\varphi_0/RT)$$

$$r_{-3} = k_{-3} (1 - \Theta) H^n \exp (-nF\varphi_0/RT)$$

$$H_1 = k_{H1} A H$$

$$H_2 = k_{H2} H \Theta$$

$$H_3 = k_{H3} H (1 - \Theta) \quad (109-114)$$

tomando em conta que o polímero reage diferentemente com o composto reduzido e oxidado.

Para analisar o comportamento do sistema com o desempenho do sensor em meio fortemente ácido e compará-lo para o caso de meio neutro, investigamos o sistema de equações diferenciais (106-108) por meio da teoria de estabilidade lineal e da análise de bifurcações. Os elementos estacionários da sua matriz funcional de Jacobi veem-se como:

$$\begin{pmatrix} a_{11} & a_{12} & a_{13} \\ a_{21} & a_{22} & a_{23} \\ a_{31} & a_{32} & a_{33} \end{pmatrix} \quad (115)$$

sendo:

$$\begin{aligned} a_{11} &= \frac{\partial F_1}{\partial A} = -\frac{2}{\delta} \left(k_1(1-\Theta) + \frac{D}{\delta} + k_{H1}H \right) & a_{12} &= \frac{\partial F_1}{\partial \Theta} = \frac{2}{\delta} k_1 A \\ a_{13} &= \frac{\partial F_1}{\partial H} = -\frac{2}{\delta} k_{H1} A & a_{21} &= \frac{\partial F_2}{\partial A} = \frac{k_1(1-\Theta)}{\Gamma_{\max}} \\ & & & -k_1 A - k_3 \exp\left(\frac{nF}{RT} \varphi_0\right) - k_3 \Theta \frac{nF}{RT} \frac{\varphi_0(K_0 - K_1) + K_1 \varphi_1}{K_1 \Theta + K_0(1-\Theta)} \\ a_{22} &= \frac{\partial F_2}{\partial \Theta} = \frac{-k_{-3} H \exp\left(-\frac{nF}{RT} \varphi_0\right) + k_{-3} H(1-\Theta) \frac{nF}{RT} \frac{\varphi_0(K_0 - K_1) + K_1 \varphi_1}{K_1 \Theta + K_0(1-\Theta)}}{\Gamma_{\max}} \\ a_{23} &= \frac{\partial F_2}{\partial H} = -\frac{k_{H2}(1-\Theta) + k_{-3}(1-\Theta) \exp\left(-\frac{nF}{RT} \varphi_0\right)}{\Gamma_{\max}} & a_{31} &= \frac{\partial F_3}{\partial A} = -\frac{2}{\delta} (k_{H1}H) \\ a_{32} &= \frac{\partial F_3}{\partial \Theta} = \frac{2}{\delta} (-k_{H2}H + k_{H3}H + k_3 \exp\left(\frac{nF}{RT} \varphi_0\right) + k_3 \Theta \frac{nF}{RT} \frac{\varphi_0(K_0 - K_1) + K_1 \varphi_1}{K_1 \Theta + K_0(1-\Theta)} + \\ & k_{-3} H \exp\left(-\frac{nF}{RT} \varphi_0\right) - k_{-3} H(1-\Theta) \frac{nF}{RT} \frac{\varphi_0(K_0 - K_1) + K_1 \varphi_1}{K_1 \Theta + K_0(1-\Theta)}) \\ a_{33} &= \frac{\partial F_3}{\partial \Theta} = \frac{2}{\delta} \left(-\frac{\Delta}{\delta} - k_{H1}A - k_{H2}\Theta - k_{-3}(1-\Theta) \exp\left(-\frac{nF}{RT} \varphi_0\right) - k_{H3}(1-\Theta) \right) \end{aligned} \quad (116-124)$$

Já pela análise dos elementos da diagonal principal da matriz funcional de Jacobi se vê que o comportamento pode ser causado pelos fatores mencionados da dupla camada, mas a amplitude de oscilações vai crescer haja vista a aparição dos elementos que descrevem o comportamento de prótons, introduzimos as novas variáveis para simplificar o Jacobiano e descrevê-lo de forma:

$$\frac{4}{\delta^2 \Gamma_{\max}} \begin{vmatrix} -K_1 - \eta - \Lambda & \lambda & X_1 \\ \eta & -\lambda - \Omega_3 + \Omega_{-3} & -X_2 - X_3 \\ -\Lambda & -\lambda + K + \Omega_{-3} - \Omega_3 & -X_3 - X_2 - X_1 - K_2 \end{vmatrix} \quad (125)$$

Que, após a junção dos parâmetros que descrevem o comportamento superficial num só, vai simplificar-se até:

$$\frac{4}{\delta^2 \Gamma_{\max}} \begin{vmatrix} -K_1 - \eta - \Lambda & \lambda & X_1 \\ \eta & -\lambda + \Omega & -X \\ -\Lambda & -\lambda + K - \Omega & -K_2 - X - X_1 - K_2 \end{vmatrix} \quad (126)$$

A condição da estabilidade de estado estacionário, obtida do requisito de (126) <0, pode ser expressa como:

$$\begin{aligned} &(-k_1 - \eta - \Lambda)(\lambda K_2 - \lambda X_1 - \lambda k_2 + \Omega k_2 - \Omega X_1 + \Omega K_2) \\ &+ \lambda(\eta K_2 + \eta X + \eta X_1 + \eta k_2 + \Lambda X) + X_1(\eta k - \eta \lambda - \eta \Omega - \Lambda \lambda + \lambda \Omega) < 0 \end{aligned} \quad (127)$$

Comparada à inequação (104), a (127) tem mais elementos positivos à esquerda. Assim sendo, pode ser confirmado que a diminuição do pH torna menor a faixa de exatidão do sensor e a intensidade do pico, haja vista o comportamento dos prótons.

Como pode ser observado, a estabilidade de estado estacionário mantém-se pelo aumento da velocidade da difusão do analito (aumento de κ_1) e das velocidades da saída de prótons. O aumento da concentração de prótons, bem como a rapidez da sua difusão não favorece a exatidão do sensor de aminas.

A instabilidade monotônica para este sistema é realizada no caso de:

$$\begin{aligned} &(-k_1 - \eta - \Lambda)(\lambda K_2 - \lambda X_1 - \lambda k_2 + \Omega k_2 - \Omega X_1 + \Omega K_2) \\ &+ \lambda(\eta K_2 + \eta X + \eta X_1 + \eta k_2 + \Lambda X) + X_1(\eta k - \eta \lambda - \eta \Omega - \Lambda \lambda + \lambda \Omega) = 0 \end{aligned} \quad (128)$$

A mesma análise pode ser feita também para o meio fortemente básico. Tal meio também não favorece a exatidão do sensor (não favorecendo a estabilidade de estado estacionário), mas, como as bases participam de menos reações, pois se comportam de maneira diversa, a zona de estabilidade é mais vasta que no caso do meio ácido (há menos elementos positivos à esquerda da inequação, análoga à inequação 127). Daí a assimetria do gráfico da dependência: “corrente de pico vs. pH”.

CONCLUSÕES

1. A modelagem matemática dos processos da eletropolimerização do aminoácido, da eletrodeposição de nanopartículas de ouro e do desempenho do sensor, baseado no compósito obtido, indo ao encontro dos dados experimentais, confirmou a presença de estruturas dissipativas temporais no primeiro e no terceiro processo (para o caso do sensor experimentalmente descrito). No caso destacado, no segundo processo não há estruturas dissipativas temporais, mas no caso geral da eletrodeposição de nanopartículas metálicas sobre o eletrólito elas podem ocorrer.
2. Aquando da eletropolimerização, a estabilidade de estado estacionário é favorecida pelos fatores abaixo:
no caso do eletrodo de carbono vítreo:
 - alta velocidade da difusão (altos valores de κ);
 - alta velocidade-padrão da adsorção (altos valores de g_1);
 - alto valor da velocidade-padrão da eletropolimerização (altos valores da V_p), acompanhado pelas influências na dupla camada dos processos superficiais (valores negativos de $\Delta\psi$) ou da eletropolimerização (negatividade do parâmetro V_p);no caso de eletrodo de metal ativo:
 - reação cineticamente controlada.
3. A eletrodeposição potencioestática de nanopartículas de ouro sobre o polieletrólito ocorre no estado estacionário estável. Obter-se-á o mesmo resultado ao se usar o modo galvanostático.
4. A comparação de modelos de desempenho do sensor nos modos neutro, fortemente ácido e básico confirma o fato de o sensor ser mais exato e ter resposta mais clara em meio neutro.
5. Os modelos podem ser usados não só para o sensor descrito, mas também para todos os sensores semelhantes.

CONFLITO DE INTERESSES

Os autores declaram que não há conflito de interesses.

REFERÊNCIAS

1. J.M. Fellous, R.E. Suri, The Roles of Dopamine, URL: <http://128.196.98.170/pubs/Dopamine-HBTNN2e-preprint.pdf>, acesso aos 26 de outubro de 2016.
2. L.C. Triarhou, Dopamine and Parkinson Disease, <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK6271/>, acesso aos 28 de setembro de 2016
3. P. Seeman, Glutamate and dopamine components in schizophrenia, *J. Psych. Neurosci.*, **34**, 143 (2009).
4. M.A. Singer, Do mammals, birds, reptiles and fish have similar nitrogen conserving systems?, *Comp. Biochem. Physiol.*, **134**, 543 (2003).
5. K. Ichida, M. Hosoyamada, N. Kamatani *et al.*, Age and origin of the G774A mutation in SLC22A12 causing renal hypouricemia in Japanese, *Clin. Genet.*, **74**, 243 (2008).
6. E.A. Roberts, M.L. Schilsky, Diagnosis and treatment of Wilson disease: An update, *Hepatology*, **47**, 2089 (2008).
7. Y. Moriwaki, T. Yamamoto, S. Takahashi *et al.*, Uric acid transport in Fanconi syndrome with marked renal hypouricemia, *Nephron*, **74**, 452 (1996).
8. R.J. Torres, J. Puig, Hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase (HPRT) deficiency: Lesch-Nyhan syndrome, *Orph. J. Rare Dis.*, **2**, 48 (2007).
9. R. Bravo, C.C. Hsueh, A. Jaramillo, A. Brajter-Toth, Possibilities and limitations in miniaturized sensor design for uric acid., *Analyst*, **123**, 1625 (1998).
10. G. Rivas, M.D. Rubianes, M.C. Rodrigues *et al.*, Carbon nanotubes for electrochemical biosensing, *Talanta*, **74**, 291 (2007).
11. J.C. Giddings, F.J. Yang, M.N. Myers, Theoretical and experimental characterization of flow field-flow fractionation, *Anal. Chem.*, **48**, 1126 (1976).
12. J.A. Stamford, J.B. Justice, Probing brain chemistry, *Anal. Chem.*, **68**, 359A (1996).

13. F. Gonon, M. Buda, R. Cespuglio *et al.*, In vivo electrochemical detection of catechols in the neostriatum of anaesthetized rats: dopamine or DOPAC?, *Nature*, **286**, 902 (1980).
14. G.Y. Jin, Y. Zhang, W.X. Cheng, Poly(p-aminobenzene sulfonic acid)-modified glassy carbon electrode for simultaneous detection of dopamine and ascorbic acid, *Sens. Act. B*, **107**, 528 (2005).
15. H. Zhao, Y. Zhang, Z. Yan, Study on the electrochemical behavior of dopamine with poly(sulfosalicylic acid) modified glassy carbon electrode, *Anal. Chim. Acta*, **441**, 117 (2001).
16. M. Li, H. Li, W. Zhong *et al.*, Stretchable conductive polypyrrole/polyurethane (PPy/PU) strain sensor with netlike microcracks for human breath detection, *Appl. Mat. Int.*, **6**, 1313 (2014).
17. J.D. Nickels, C.E. Schmidt, Surface modification of the conducting polymer, polypyrrole, via affinity peptide, *J. Biomed. Mater. Res. A*, **101**, 1464 (2013).
18. J.W. Park, S.J. Park, O.S. Kwon, Polypyrrole nanotube embedded reduced graphene oxide transducer for field-effect transistor-type H₂O₂ biosensor, *Anal. Chem.*, **86**, 1822 (2014).
19. Z. Yao, X. Hu, B. Huang *et al.*, Halochromism of a polythiophene derivative induced by conformational changes and its sensing application of carbon dioxide, *Appl. Mat.*, **5**, 5783 (2013).
20. G. Fukuhara, Y. Inoue, Chirality-sensing binaphthocrown ether-polythiophene conjugate, *Chem. Eur. J.*, **18**, 11459 (2012).
21. V. Raj, S. Kunnetheeri, Nonconjugated polyelectrolyte as efficient fluorescence quencher and their applications as biosensors: Polymer-polymer interaction, *ISRN Anal. Chem.*, ID: 841857 (2014).
22. N. Atta, M.F. El-Kady, A. Galal, Palladium nanoclusters-coated polyfuran as a novel sensor for catecholamine neurotransmitters and paracetamol, *Sens. Act. B*, **141**, 566 (2009).
23. L. Lu, X. Lin, Selective determination of uric acid with DNA doped polymers modified carbon fiber microelectrode, *Electrochem. Comm.*, **10**, 704 (2008).

24. S.B. Khoo, F. Chen, Studies of sol-gel ceramic film incorporating methylene blue on glassy carbon: An electrocatalytic system for the simultaneous determination of ascorbic and uric acids, *Anal. Chem.*, **74**, 5734 (2002).
25. P. Shakkthivel, S.M. Chen, Simultaneous determination of ascorbic acid and dopamine in the presence of uric acid on ruthenium oxide modified electrode, *Biosens. Bioelectr.*, **22**, 1680 (2007).
26. A.A. Ensafi, H. Bahrami, H. Karimi-Maleh, Sh. Mallakpour, Carbon paste electrode prepared from chemically modified multiwall carbon nanotubes for the voltammetric determination of isoprenaline in pharmaceutical and urine samples, *Chin. J. Cat.*, **33**, 1919 (2012).
27. A. Liu, I. Honma, H. Zhou, Simultaneous voltammetric detection of dopamine and uric acid at their physiological level in the presence of ascorbic acid using poly(acrylic acid)-multiwalled carbon-nanotube composite-covered glassy-carbon electrode, *Biosens. Bioelectr.*, **23**, 74 (2007).
28. A.N. Shipway, M. Lahav, I. Willner, Nanostructured gold colloid electrodes, *Adv. Mater.*, **12**, 993 (2000).
29. A.A. Al-Suhybani, A.M. Al-Mayouf, M.S.A. Saleh, A. Aouissi, Development of a 12-tungstosilicate-modified carbon electrode for cyclohexane electrocatalytic oxidation, *Int. J. Electrochem. Sci.*, **9**, 1547 (2014).
30. R. Ojani, M.A. Rahmaninifar, P. Naderi, Electrocatalytic reduction of nitrite by phosphotungstic heteropolyanion. Application for its simple and selective determination, *Electroanal.*, **20**, 1092 (2008).
31. A. Sivanesan, P. Kannan, J.S. Abraham, Electrocatalytic oxidation of ascorbic acid using a single layer of gold nanoparticles immobilized on 1,6-hexanedithiol modified gold electrode, *Electrochim. Acta*, **52**, 8118 (2007).
32. C.R. Raj, T. Okajima, T. Ohsaka, Gold nanoparticle arrays for the voltammetric sensing of dopamine, *J. Electroanal. Chem.*, **543**, 127 (2003).
33. L.Y. Zhang, R. Yuan, Y.Q. Chai, Z.L. Li, Investigation of the electrochemical and electrocatalytic behavior of positively charged gold nanoparticle and L-cysteine film on an Au electrode, *Anal. Chim. Acta*, **596**, 99 (2007).
34. M.A. Sheikh-Mohseni, S. Pirsá, Simultaneous determination of dopamine and acetaminophen by a carbon paste electrode doubly modified with poly (pyrrole) and CuO nanoparticles, *Anal. Bioanal. Electrochem.*, **8**, 777 (2017).

35. J. Hernández-Ferrer, "Caracterización electroquímica de nanopartículas de oro. Relacion de la forma tridimensional de la partícula y su orientación superficial", Tesis Doctoral. Universidad de Alicante, 2008.
36. E. Arkan, M. Shamsipur, R. Saber *et al.*, A novel electrochemical sensor based on a silver nanoparticle modified carbon ionic liquid electrode for selective and sensitive determination of levetiracetam in pharmaceutical tablets and blood plasma samples, *Anal. Meth.*, **6**, 2197 (2014).
37. S. Gupta, M. Tiwari, R. Prakash, Gold nanoparticles incorporated 3-(trimethoxysilyl)propyl methacrylate modified electrode for non-enzymatic electro-sensing of urea, *J. Nanosci. Nanotechnol.*, **14**, 2786 (2014).
38. G. Yin, L. Xing, X.J. Ma, J. Wan, Non-enzymatic hydrogen peroxide sensor based on a nanoporous gold electrode modified with platinum nanoparticles, *Chem. Papers*, **68**, 435 (2014).
39. D.N. Muraviev, Inter-matrix synthesis of polymer stabilised metal nanoparticles for sensor applications, *Contributions to Science*, **3**, 19 (2005).
40. Y. Ohnuki, T. Ohsaka, H. Matsuda, N. Oyama, Permselectivity of films prepared by electrochemical oxidation of phenol and amino-aromatic compounds, *J. Electroanal. Chem. Interf. Electrochem.*, **158**, 55 (1983).
41. J. Roncali, Conjugated poly(thiophenes). Synthesis, functionalization, and applications, *Chem. Rev.*, **92**, 711 (1992).
42. R. Ojani, J.B. Raoof, A. Ahmady, S.R. Hosseini, High improved methanol oxidation onto carbon paste electrode modified by nickel particles dispersed into poly(2,5-dimethylamine) film, *Casp. J. Chem.*, **2**, 45 (2013).
43. R. Ojani, J.B. Raoof, S.R. Hosseini, Electrocatalytic oxidation of methanol on carbon paste electrode modified by nickel ions dispersed into poly (1,5-diaminonaphthalene) film, *Electrochim. Acta*, **53**, 2402 (2008).
44. R. Ojani, J.B. Raoof, P.S. Afagh, Electrocatalytic oxidation of some carbohydrates by poly(1-naphthylamine)/nickel modified carbon paste electrode, *J. Electroanal. Chem.*, **571**, 1 (2004).
45. Z. Bagheryan, J.B. Raoof, R. Ojani, E. Hamidi-Asl, Introduction of ketamine as a G-quadruplex-binding ligand using platinum nanoparticle modified carbon paste electrode, *Electroanal.*, **25**, 2659 (2013).

46. J. Raoof, R. Ojani, S.R. Hosseini, An electrochemical investigation of methanol oxidation on nickel hydroxide nanoparticles, *South Afr. J. Chem.*, **66**, 47 (2013).
47. R. Ojani, J.B. Raoof, R. Valliolahi, Pt nanoparticles/graphene paste electrode for sodium borohydride electrooxidation, *J. Solid. State. Electrochem.*, **17**, 217 (2013).
48. S.J. Tian, J.Y. Liu, T. Zhu, W. Knoll, Polyaniline/gold nanoparticle multilayer films: Assembly, properties, and biological applications, *Chem. Mater.*, **16**, 4103 (2004).
49. L.J. Zhang, M.X. Wan, Polyaniline/TiO₂ composite nanotubes, *J. Phys. Chem. B*, **107**, 6748 (2003).
50. R. Davies, G.A. Schurr, P. Meenan *et al.*, Engineered particle surfaces, *Adv. Mat.*, **10**, 1264 (1998).
51. C.S.C. Bose, K. Rajeshwar, Efficient electrocatalyst assemblies for proton and oxygen reduction: the electrosynthesis and characterization of polypyrrole films containing nanodispersed platinum particles, *J. Electroanal. Chem.*, **333**, 235 (1992).
52. J. Li, X.Q. Lin, Electrocatalytic reduction of nitrite at polypyrrole nanowire–platinum nanocluster modified glassy carbon electrode, *Microchem. J.*, **87**, 41 (2007).
53. Y.C. Liu, H.T. Lee, S.J. Yang, Strategy for the syntheses of isolated fine silver nanoparticles and polypyrrole/silver nanocomposites on gold substrates, *Electrochim. Acta*, **51**, 3441 (2006).
54. S. Roux, G.J. Soler-Illia, A.A. Demoustier-Champagne *et al.*, Titania/polypyrrole hybrid nanocomposites built from in-situ generated organically functionalized nanoanatase building blocks, *Adv. Mat.*, **15**, 217 (2003).
55. W. Chen, C.M. Li, P. Chen, C.Q. Sun, Electrosynthesis and characterization of polypyrrole/Au nanocomposite, *Electrochim. Acta*, **52**, 2845 (2007).
56. B. Krische, M. Zagorska, The polythiophene paradox, *Synth. Met.*, **28**, 263 (1989).
57. K. Aoki, I. Mukoyama, J. Chen, Polymerization and dissolution of polythiophene films, *Russ. J. Electrochem.*, **40**, 319 (2004).

58. J. Mostany, B.R Scharifker, Impedance spectroscopy of undoped, doped and overoxidized polypyrrole films, *Synth. Met.*, **87**, 179 (1997).
59. I. Das, N.R. Agrawal, S.A. Ansari, S.K. Gupta, Pattern formation and oscillatory electropolymerization of thiophene, *Indian J. Chem. A*, **47A**, 1798 (2008).
60. I. Das, N. Goel, S.K. Gupta, N.R. Agrawal, Electropolymerization of pyrrole: Dendrimers, nano-sized patterns and oscillations in potential in presence of aromatic and aliphatic surfactants, *J. Electroanal. Chem.*, **670**, 1 (2012).
61. I. Das, N. Goel, N.R. Agrawal, S. K. Gupta, Growth patterns of dendrimers and electric potential oscillations during electropolymerization of pyrrole using mono and mixed surfactants, *J. Phys. Chem.*, **114**, 12888 (2010).
62. M.S. Ba-Shammakh, "Electropolymerization of pyrrole on mild steel for corrosion protection", Ph. D. Thesis, King Fahd University of Petroleum and Minerals, Dhara, Saudi Arabia, 2002.
63. D. Sazou, The dynamical behavior of the electrochemical polymerization of indole on Fe in acetonitrile-water mixtures, *Synth. Met.*, **130**, 45 (2002).
64. A.S. Liu, M.A.S. Oliveira, Electrodeposition of polypyrrole films on aluminum from tartrate aqueous solution, *J. Braz. Chem. Soc.*, **18**, 143 (2007).
65. K.R. Lemos-Castagno, "Eletropolimerização de pirrol sobre liga de alumínio 1100", Tese D. Sc., Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2007.
66. M. Bazzaoui, E.A. Bazzaoui, L. Martins, J.I. Martins, Electropolymerization of pyrrole on zinc-lead-silver alloys' electrodes in neutral and acid organic media, *Synth. Met.*, **130**, 73 (2002).
67. V.M. de Andrade, "Confecção de biossensores através da imobilização de bio-componentes por eletropolimerização de pirrol", Tese M. Eng., Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2006.
68. J.P. Tosar-Rovira, "Estudio de la inmovilización de oligonucleótidos a electrodos modificados de oro: polipirrol, y detección electroquímica de secuencias complementarias", Tesis Lic. Bioquím., Universidad de la República, Montevideo, 2008.
69. D. Zane, G. B. Appetecchi, C. Bianchini *et al.*, An impedimetric glucose biosensor based on overoxidized polypyrrole thin film, *Electroanal.*, **23**, 1134 (2011).

70. Y. Oztekin, A. Ramanaviciene, Z. Yazicigil *et al.*, Direct electron transfer from glucose oxidase immobilized on polyphenanthroline-modified glassy carbon electrode, *Biosens. Bioelectr.*, **26**, 2541 (2011).
71. R. Singh, Prospects of organic conducting polymer modified electrodes: Enzymosensors, *Int. J. Electrochem.*, N 502707(2012).
72. O. Korostynska, K. Arshak, E. Gill, A. Arshak, Review on state-of-the-art in polymer based pH sensors, *Sensors*, **7**, 3027 (2008).
73. R. Ojani, J.-B. Raoof, A.A. Maleki, S. Safshekan, Simultaneous voltammetric determination of ascorbic acid and dopamine at the surface of electrodes modified with selfassembled gold nanoparticle films, *Chin. J. Cat.*, **35**, 423 (2014).
74. V. Tkach, V. Nechyporuk, P. Yagodynets, Eletropolimerização dos compostos heterocíclicos. Modelos matemáticos, *Ciênc. Tecn. Mat.*, **24**, 54 (2012).
75. V. Tkach, V. Nechyporuk, P. Yagodynets', As eletropolimerizações galvanostática e potenciodinâmica (em voltagem constante), dos compostos heterocíclicos e a sua descrição matemática, *Tecn. Met. Mat. Min.*, **10**, 249 (2013).
76. V.V. Tkach, V.V. Nechyporuk, P.I. Yagodynets', The mathematical description of "the polythiophene paradox" for soluble polymers, *Geor. Chem. J.*, **11**, 387 (2011).
77. V. Tkach, V. Nechyporuk, P. Yagodynets, Estudio matemático de las condiciones de estabilidad en la polimerización electroquímica de compuestos heterocíclicos en presencia de oxidantes, *Afinidad*, **70**, 73 (2013).
78. V. Tkach, V. Nechyporuk, P. Yagodynets, Descripción matemática de la síntesis electroquímica de polímeros conductores en la presencia de surfactantes, *Avances en Química*, **8**, 9 (2013).
79. V.V. Tkach, V.V. Nechyporuk, P.I. Yagodynets', V. Meslyuk-Yu, Mathematical model of the work of the mediated conducting polymer sensors with the use of the polymers of heterocyclic compounds, *Revista de la Sociedad Química del Perú*, **77**, 259 (2011).
80. V. Tkach, V. Nechyporuk, P. Yagodynets', I. Rusnak, Los biosensores basados en los polímeros conductores, y la descripción matemática de su desempeño, *Orbital Electr. J. Chem.*, **4**, 136 (2012).

81. V. Tkach, B. Kumara Swamy, R. Ojani *et al.*, Mecanismo de la oxidación de omeprazol sobre el electrodo de carbono vitroso, modificado por polializarina, y su descripción matemática, *Orbital Electr. J. Chem.*, **7**, 1 (2015).
82. V. Tkach, B. Kumara Swamy, R. Ojani *et al.*, Comportamento de paracetamol durante a sua oxidação electrocatalítica sobre poli(azul da anilina) e a sua descrição matemática, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **44**, 148 (2015).
83. V. Tkach, V. Nechyporuk, P. Yagodynets, El estudio de estabilidad en el proceso del desempeño de los sensores y biosensores, basados en los polímeros conductores en medio fuertemente ácido, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **42**, 30 (2013).
84. V. Tkach, V. Nechyporuk, P. Yagodynets', A descrição matemática do processo da detecção de duas substâncias com um grupo funcional comum pelos sensores e biosensores eletroquímicos, baseados em polímeros condutores, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **42**, 215 (2013).
85. X. Bao, Metallopolymer electrochromic film prepared by oxidative electropolymerization of a Fe(II) complex with arylamine functionalized terpyridine ligand, *Inorg. Chem. Commun.*, **38**, 88 (2013).
86. M. Sousa, É. J. Dallan, R. Bertazzoli, Obtenção de um material adsorvente para íons de metais pesados, através da eletropolimerização de 2-mercapto-benzimidazol à superfície de carbono vítreo reticulado, *Quím. Nova*, **23**, 326 (2000).
87. D.N. Gritsan, "As investigações do processos eletródicos e da eletrodeposição dos metais. Cádmio" (publicado em russo), Kharkov, Vyshcha shkola, 1974, 144 páginas.

COMO CITAR ESTE ARTIGO

Volodymyr V. Tkach, Sílvio C. de Oliveira, Yana G. Ivanushko, Svitlana M. Lukaniova, Reza Ojani, Petró I. Yagodynets', Aline M. da Rocha, Estudo de estabilidade da eletrossíntese e do desempenho eletroanalítico do compósito poli(l-metionina)-nano-Au na presença de dopamina e de ácido úrico, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(3), 385-421 (2016).

Microencapsulación de aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) mediante secado por aspersión

Alex Pastuña-Pullutasig^{1*}, Orestes López-Hernández¹, Alexis Debut², Andrea Vaca², Eduardo Rodríguez-Leyes³, Roxana Vicente³, Víctor González³, María González-Sanabria⁴, Fausto Tapia-Hernández⁵

¹ Universidad Técnica de Ambato (UTA), Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos, Ambato, Ecuador

* Correo electrónico: alex.fcial@gmail.com

² Universidad ESPE (Escuela Politécnica del Ejército), Laboratorio de Caracterización de Nanomateriales, Centro de Nanociencias y Nanotecnologías, Pichincha, Ecuador

³ Centro de Productos Naturales del Centro Nacional de Investigaciones Científicas, La Habana, Cuba

⁴ Centro de Investigación y Desarrollo de Medicamentos, La Habana, Cuba

⁵ Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias, Riobamba, Ecuador

Recibido para evaluación: 4 de mayo del 2016

Aceptado para publicación: 25 de noviembre del 2016

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue microencapsular aceite de sachá inchi mediante secado por aspersión, con el fin de evitar las reacciones oxidativas de degradación, dado su alto contenido de ácidos grasos monoinsaturados y poliinsaturados, los cuales presentan grandes beneficios para la salud. Empleando maltodextrina y goma arábiga en una proporción (1:1), se evaluó la temperatura de entrada y la carga de aceite, siendo 150 °C y 33% las mejores condiciones de trabajo durante el proceso de secado. Se obtuvo un rendimiento y eficiencia de microencapsulación de $82,10 \pm 0,99\%$ y $93,90 \pm 0,56\%$, respectivamente. Cabe mencionar que esta investigación es la primera en emplear la técnica de secado por aspersión, y como agentes formadores de la pared polimérica la mezcla de maltodextrina y goma arábiga en la microencapsulación de aceite de sachá inchi. Mediante análisis fisicoquímico, se evaluó la humedad del aceite de sachá inchi microencapsulado, manteniendo un contenido de humedad a las 26 semanas de $4,60 \pm 0,02\%$. Al utilizar cromatografía de gases se encontró que no existe variación en cuanto al perfil de ácidos grasos antes y después

de la microencapsulación, y mediante espectroscopía infrarroja se demostró que el aceite de sachá inchi se encuentra en el interior de las microcápsulas. La microscopía electrónica de barrido permitió observar que las microcápsulas presentan forma esférica con una superficie lisa y libre de poros, lo que evita la exposición directa del aceite a las diferentes condiciones ambientales.

Palabras claves: Microencapsulación, sachá inchi, secado por aspersión.

SUMMARY

Microencapsulation of oil sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) by spray drying

The objective of this research was microencapsulated sachá inchi oil by spray drying, in order to prevent oxidative degradation reactions, given its high content of mono-unsaturated and polyunsaturated fatty acids, which present great health benefits. Employing a maltodextrin-gum arabic system in the same ratio (1:1), the inlet temperature and the oil charge was evaluated, being 150 °C and 33% the best conditions during the drying process, obtaining a performance and efficiency microencapsulation of $82.10 \pm 0.99\%$ and $93.90 \pm 0.56\%$, respectively. It should be mentioned that this research is the first one to use the spray drying technique and maltodextrin and arabic gum as polymeric wall formers agents for the sachá inchi oil microencapsulation. By physicochemical analysis, the microencapsulated sachá inchi oil moisture was evaluated, keeping a moisture content at 26 weeks of $4.60 \pm 0.02\%$, applying gas chromatography, it was found that there is no variation in the fatty acid profile before and after microencapsulation. Through infrared spectroscopy it was shown that sachá inchi oil is inserted into the core of the microcapsules. The electron microscopy scanning allowed to observe that the microcapsules have a spherical shape with a smooth surface and free of pores which prevent direct contact of the oil with different ambient conditions.

Keywords: Microencapsulation, sachá inchi, spray drying.

INTRODUCCIÓN

Sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.), es una planta tipo arbusto trepador que crece a una altitud de entre 100 a 1500 msnm [1], y es conocida comúnmente como maní del inca. Esta planta es originaria de la selva peruana, ya que se estima fue empleada por la civilización inca hace 3000 años. Hoy en día, se encuentra en las selvas montañosas de Colombia y Ecuador. En esta última, se evidencia un crecimiento progresivo de estos cultivos. Sacha inchi presenta cápsulas tetra lobulares, las cuales contienen cuatro semillas de un diámetro de alrededor de 2 cm [2].

Las semillas de sachá inchi presentan un contenido de proteína del 33%, y de lípidos en un 54% [1], del cual un 50,8% pertenece a ácidos grasos omega 3 (linolénico), cerca del 33,4% a ácidos grasos omega 6 (linoleico), y aproximadamente un 9% a ácidos grasos omega 9 (oleico) [3]; su contenido de ácidos grasos saturados es relativamente bajo, de alrededor del 6% [4].

El aceite de sachá inchi presenta un alto contenido de ácidos grasos poliinsaturados (PUFAs) —ya mencionado—, contiene vitaminas liposolubles como la A y E, y antioxidantes, todos estos propensos a reacciones de oxidación [5]. Este tipo de ácidos grasos poliinsaturados contrarrestan enfermedades cardiovasculares, de manera que este aceite de sachá inchi resulta de gran interés para las industrias alimenticias y farmacéuticas a nivel mundial.

Existen métodos físicos que impiden la oxidación al evitar el contacto de las sustancias bioactivas con el oxígeno; dentro de estos se encuentran los procesos de microencapsulación, los cuales llaman la atención por su bajo costo y fácil implementación en procesos industriales.

El proceso de microencapsulación mediante secado por aspersión permite enmascarar diversas sustancias bioactivas por un sistema de carácter polimérico, con el fin de protegerlas e impedir su degradación. La microencapsulación mediante secado por aspersión se considera un método de empaque a micro escala, en el que un material específico se puede recubrir de forma individual con el propósito de preservarlo por más tiempo [3, 6].

El proceso de secado por aspersión reduce al mínimo el deterioro oxidativo, lo que se demuestra mediante la caracterización fisicoquímica, al emplear ciertos métodos de laboratorio. La cromatografía de gases, por su parte, permite cuantificar el contenido de ácidos grasos del aceite microencapsulado. También se suele aplicar espectroscopía infrarroja, lo que permite evaluar la eficiencia de microencapsulación. La morfología de

las microcápsulas se evaluó por microscopía electrónica de barrido, lo cual permite analizar la forma y la superficie de las paredes que forman los polímeros durante el proceso de secado por aspersión [7]. Estos métodos se emplean en investigaciones realizadas sobre microencapsulación mediante secado por aspersión, como lo es un estudio realizado por López *et al.* [8] sobre microencapsulación de aceite de semillas de *Cucurbita pepo* L. También se pueden encontrar en un trabajo realizado por Cuaspuud [9], en la obtención de aceite de aguacate microencapsulado mediante secado por atomización.

La pared de la microcápsula es un medio que permite envasar, aislar y almacenar materiales a nivel microscópico para su posterior liberación bajo condiciones preestablecidas. Los materiales encapsulantes o formadores de pared más empleados en microencapsulación son los carbohidratos, las gomas, los lípidos y las proteínas.

Entre las gomas empleadas se encuentra la goma arábiga, un coloide vegetal extraído de la planta leguminosa *Acacia senegal* L., compuesta por ácido D-glucurónico, L-ramnosa, D-galactosa y L-arabinosa; contiene aproximadamente un 5% de proteína, responsable de sus propiedades emulsificantes [10]. Asimismo, presenta baja viscosidad en soluciones acuosas en comparación con otras gomas que producen soluciones de alta viscosidad a concentraciones bajas como de 1%. La goma arábiga es preferida como material de pared encapsulante, dada su alta solubilidad en agua (superior al 50%), y por presentar características de tensoactivo.

Entre los carbohidratos está la maltodextrina. Es un polímero sacárido nutritivo, consiste en unidades de D-glucosa unidas por la cadena α 1-4, con un equivalente de dextrosa (DE) menor que 20. Se obtiene por hidrólisis parcial del almidón empleando ácidos o enzimas y se utiliza como estabilizante de emulsiones [10].

La presente investigación busca microencapsular aceite de sachá inchi, empleando una mezcla polimérica con goma arábiga y maltodextrina como pared de revestimiento mediante la técnica de secado por aspersión, con la finalidad de proteger el aceite de procesos oxidativos, debido a su alto contenido de ácidos grasos insaturados.

METODOLOGÍA

Materiales

Aceite de sachá inchi (Isabru botanic, Ecuador); goma arábiga (Roig Farma, España); Maltodextrina (Roig Farma, España); Hexano (Mallinckrodt, EE. UU.); Ácido sulfúrico (Lobamachine, India); Fenol (Reagent, A.C.S., EE. UU.); Glucosa (Hysel, India).

Microencapsulación de aceite de sachá inchi

Para la microencapsulación se empleó como agente encapsulante una mezcla de goma arábica (GA) y maltodextrina (MD), en proporción 1:1. Se incorporó 3,5 partes de agua destilada con respecto a cada parte de polímero, se llevó la mezcla a agitación y se incorporó el aceite (AC) a fin de formar la emulsión. La emulsión tipo aceite agua (o/w) se llevó al secador por aspersión, donde se evaluó la temperatura de entrada a 150° C y 170° C, y la carga de aceite incorporada a la mezcla del 33% y el 50%, con el objetivo de alcanzar un rendimiento y una eficiencia de microencapsulación elevada.

Empleando el *software* Statgraphics Centurion XVI.I versión de prueba, se realizó el análisis estadístico mediante un diseño experimental 2², a fin de evaluar la temperatura de entrada y la carga de aceite incorporada a la mezcla, según los resultados de rendimiento y eficiencia obtenidos. Asimismo, se realizó una comparación de muestras de los resultados obtenidos mediante cromatografía de gases para determinar si existe diferencia significativa entre el contenido de ácidos grasos antes y después de la microencapsulación.

Determinación de la humedad de las micropartículas que contienen aceite de sachá inchi

La humedad se determinó tomando 5 g de aceite de sachá inchi microencapsulado y llevándolo a una balanza de humedad (Citizen, EE. UU.) que evalúa las muestras a 110 °C y a una atmósfera de presión; las mediciones se realizaron a las 0 semanas, 11 semanas, 15 semanas y 26 semanas; las condiciones de laboratorio en las que se realizó el análisis fueron de una temperatura ambiente entre 15 °C y 25 °C, con una humedad relativa del 70%.

Determinación del aceite libre después del proceso de secado por aspersión

Se determinó la cantidad de aceite de sachá inchi libre después del proceso de secado por aspersión utilizando un equipo Soxhlet, junto con 5 g de muestra microencapsulada, la cual se sometió a reflujo con hexano durante un tiempo de 3 h; posteriormente, se evaporó el hexano del balón contenedor empleando un rota evaporador, se llevó el balón a una estufa a 110 °C por 3 h y se dejó enfriar. Luego, se calculó el porcentaje de aceite libre por diferencia de pesos entre el balón vacío y el balón con la cantidad de aceite extraído.

Determinación de la eficiencia de microencapsulación

La eficiencia de microencapsulación (%ME) se calculó empleando la siguiente expresión [8]:

$$\%ME = \frac{\%Aceite\ total - \%Aceite\ libre}{\%Aceite\ total} * 100$$

Cromatografía de gases para el aceite de sachá inchi antes y después de la microencapsulación

Las muestras de aceite de sachá inchi antes y después de la microencapsulación fueron analizadas en el Centro de Productos Naturales del Centro Nacional de Investigaciones Científicas de Cuba.

Mediante cromatografía de gases, se determinó el contenido de ácidos grasos como ésteres metílicos por el método 108.003 del “Institute for Nutraceutical Advancement” [11], con la respectiva modificación descrita a continuación. Para la preparación de las muestras respectivas, se pesaron 150 mg de aceite de sachá inchi y 450 mg del aceite microencapsulado, se añadió 1 mL de solución de patrón interno (ácido C13:0, a 10 mg.mL⁻¹ en metanol), y 3 mL de cloruro de acetilo al 10 % (v/v) en metanol, se cerró el tubo de ensayo y se llevó a 85 °C (2 h), aplicando agitación discontinua. Se enfrió y se añadieron 4 mL de hexano y 4 mL de agua destilada. Se agitó (15 min) en una zaranda Agitateur (Francia), y se dejó en reposo. Se adicionaron 4 mL de etanol, se agitó de manera manual por unos segundos y se colocó una alícuota de 3 mL de la fase orgánica en otro tubo de ensayos, en el que se adicionaron 4 mL de hexano y 4 mL de hidróxido de sodio 1 M en metanol. Se cerró y agitó (15 min) en zaranda, luego se adicionaron 4 mL de agua destilada y nuevamente se agitó (15 min). Se dejó en reposo y se transfirió una alícuota de 2 mL hacia un vial de 4 mL de capacidad, del que se tomaron 60 µL y se diluyeron en 1,5 mL de hexano para el respectivo análisis. El análisis se realizó en un cromatógrafo Agilent 7890 A (EE. UU.), utilizando una columna capilar BPX-70 (30 m longitud x 0,25 mm diámetro interior). La temperatura inicial fue de 100 °C (4 min), con un incremento gradual de 10 °C.min⁻¹ hasta llegar a 180 °C; de manera inmediata se llevó a 185 °C con un incremento de 1 °C.min⁻¹, y finalmente se llevó hasta 240 °C, con un incremento de 25 °C.min⁻¹. El flujo de analito empleado fue de 0,8 mL.min⁻¹, el flujo de gas (H₂) fue de 35 mL.min⁻¹, y el flujo de aire fue de 350 mL.min⁻¹.

Espectroscopía infrarroja (IR)

La espectroscopía infrarroja se realizó en la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, Facultad de Ciencias, empleando un espectrofotómetro infrarrojo. La obtención de los espectros con la ayuda de este equipo fueron para la mezcla polimérica y el aceite de sachá inchi microencapsulado y sin microencapsular. Mediante el *software* Spectra Analysis se obtuvieron los espectros para su posterior análisis.

Evaluación de las microcápsulas por microscopía electrónica de barrido

Mediante microscopía electrónica de barrido se evaluó la forma y la superficie de las microcápsulas en el Laboratorio de Biotecnología, Facultad de Ciencias Exactas, Escuela Superior Politécnica del Ejército (Quito), para lo cual se empleó un microscopio electrónico de barrido (TESCAN, Alemania). La preparación de la muestra a analizar inició con la fijación de una pequeña cantidad sobre una placa porta muestras metálica (1 cm de diámetro), luego se llevó la placa con la muestra fijada a un metalizador al vacío (Q150R, Reino Unido), a fin de recubrirla con oro a 20 nm de espesor; una vez lista la muestra, se llevó al microscopio electrónico para su visualización y evaluación.

Escalado del proceso de microencapsulación

La reproducibilidad del proceso de microencapsulación de aceite de sachá inchi mediante secado por aspersión a escala industrial, se realizó utilizando la temperatura de entrada y la carga de aceite, lo cual generó mejor rendimiento y eficiencia de microencapsulación en los estudios previos a escala de laboratorio; se empleó un *spray dryer* de capacidad de evaporación de 100 kg/h.

Evaluación de la humedad del aceite microencapsulado a escala industrial

Se evaluó la humedad del aceite de sachá inchi microencapsulado obtenido del proceso industrial a las 0 semanas y 4 semanas, se empleó 5 g de aceite microencapsulado en una balanza de humedad (Citizen, EE. UU.), la cual evalúa las muestras a 110 °C y a una atmósfera de presión. Las condiciones de laboratorio en las que se realizó el análisis fueron de una temperatura ambiente de entre 15 °C y 25 °C, con una humedad relativa del 70%.

Determinación de la eficiencia de microencapsulación del proceso a escala industrial

La eficiencia de microencapsulación a escala industrial se determinó empleando la misma metodología realizada a escala de laboratorio.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Rendimiento y eficiencia de microencapsulación

Las emulsiones formadas por maltodextrina y goma arábiga, tuvieron una variación en cuanto a la carga de aceite incorporada a la mezcla y la temperatura de entrada. En la tabla 1 se presentan los tratamientos aplicados y los resultados obtenidos después del secado de las emulsiones.

Tabla 1. Tratamientos para el secado por aspersión.

Tratamientos	Carga %	Temperatura de entrada (°C)	Temperatura de salida (°C)	Rendimiento %	Eficiencia (ME)%
M1	33	150	90	82,10 ± 0,99	93,90 ± 0,56
M2	33	170	90	72,90 ± 2,26	93,65 ± 1,20
M3	50	150	90	62,65 ± 0,21	76,05 ± 0,35
M4	50	170	90	56,95 ± 2,19	73,90 ± 1,98

Los resultados de la microencapsulación muestran que el tratamiento M1 proporciona las mejores condiciones de trabajo, dando el mayor rendimiento y la mejor eficiencia dentro del proceso. En este se empleó una carga del 33% y una temperatura de entrada de 150 °C, alcanzando un rendimiento del 82,10 ± 0,99%, y una eficiencia del 93,90 ± 0,56%. Cabe recalcar que para la determinación del rendimiento obtenido no se considera la cantidad de agua incorporada en la mezcla, ya que se evapora y se elimina casi en su totalidad durante el secado de las emulsiones.

La Escuela de Ingeniería en Alimentos de la Universidad Peruana Unión y el Departamento de Agricultura, Alimentación y Ciencias Nutricionales de la Universidad de Alberta, realizaron una investigación sobre microencapsulación de aceite de sachá inchi mediante secado por aspersión, en la cual se emplea como material encapsulante zein (proteína extraída del maíz). En la investigación se evaluó el rendimiento de microencapsulación, de lo cual se obtuvo como mejor resultado 92,73% [7]. En cuanto a eficiencia de microencapsulación, un resultado similar se obtuvo en una investigación realizada por López *et al.* [8] sobre microencapsulación de aceite de semillas de *Cucurbita pepo* L., en la que se empleó una carga del 33%, como material encapsulante una mezcla de maltodextrina y goma arábica; la eficiencia de microencapsulación obtenida fue mayor al 90%, lo que permite comparar y establecer que los resultados obtenidos en esta investigación son aceptables. En la investigación realizada por López *et al.* [8] se evaluó la estabilidad de las microcápsulas a 6, 12 y 24 meses, se registró un incremento de la pérdida por desecación, pero no hubo una afectación sobre la permeabilidad de las microcápsulas, estableciendo que esta mezcla polimérica es adecuada para microencapsular aceites ricos en omega-3.

Análisis de humedad de las microcápsulas en función del tiempo

La caracterización fisicoquímica de las microcápsulas se realizó únicamente para el tratamiento que registró el mayor rendimiento. El aceite microencapsulado se conservó en un lugar a temperatura ambiente (15-25 °C), con una humedad relativa del 70%.

La evaluación de humedad de las microcápsulas mostró un incremento en función del tiempo (se evaluó la humedad a las 0, 11, 15 y 26 semanas).

El contenido de humedad después del proceso de secado registró un valor de $1,39 \pm 0,06\%$, y mostró un incremento (figura 1) hasta la última semana de evaluación, debido a que los materiales empleados para la pared de recubrimiento son de carácter hidrofílico. Sin embargo, se mantuvo bajo el límite permisible, el cual se establece para productos en polvo menor al 10% [12]. Este resultado es similar a un estudio realizado para secado por aspersión de aceite de aguacate con maltodextrina y goma arábiga en proporción 1:1, a una temperatura de entrada de $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, en el que se reporta una humedad de $1,42 \pm 0,12\%$ [9], la cual es similar a la obtenida en esta investigación.

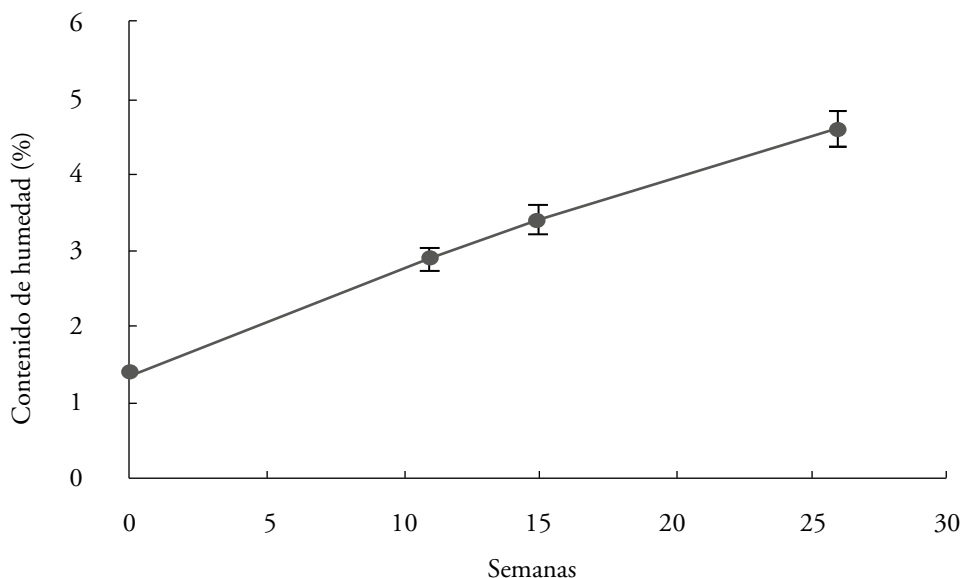


Figura 1. Incremento del contenido de humedad en función del tiempo.

Análisis del contenido de ácidos grasos mediante cromatografía de gases

Mediante cromatografía de gases se cuantificó el contenido de ácidos grasos del aceite de sacha inchi antes y después del proceso de microencapsulación. Estos resultados se presentan en la tabla 2.

Tabla 2. Perfil de los principales ácidos grasos del aceite de sachá inchi antes y después de la microencapsulación.

Ácidos grasos	Aceite sin microencapsular (%) (SM)	Aceite microencapsulado (%) (M)
C16:0	3,93 ± 0,23	3,84 ± 0,00
C18:0	2,67 ± 0,06	2,97 ± 0,00
C18:1	8,93 ± 0,12	8,90 ± 0,17
C18:2	35,47 ± 0,56	35,70 ± 0,34
C18:3	45,87 ± 0,67	45,13 ± 0,22

El aceite de sachá inchi resulta atractivo para la industria alimenticia en la formulación de alimentos funcionales debido a su alto contenido de ácidos grasos insaturados, como lo son el ácido linolénico (omega 3) (C18:3), el ácido linoleico (omega 6) (C18:2), y el ácido oleico (omega 9) (C18:1). También se encuentran presentes ácidos grasos saturados como el ácido esteárico (C18:0) y el ácido palmítico (C16:0). Los ácidos grasos que se nombran en la tabla 2 son los más representativos dentro del análisis.

Mediante una comparación de muestras realizada para los ácidos grasos contenidos en mayor porcentaje en el aceite de sachá inchi, se establece que no existe una diferencia significativa entre los ácidos grasos microencapsulados y sin microencapsular (figura 2), por lo cual se establece que el proceso de microencapsulación no afecta el contenido de ácidos grasos del aceite de sachá inchi.

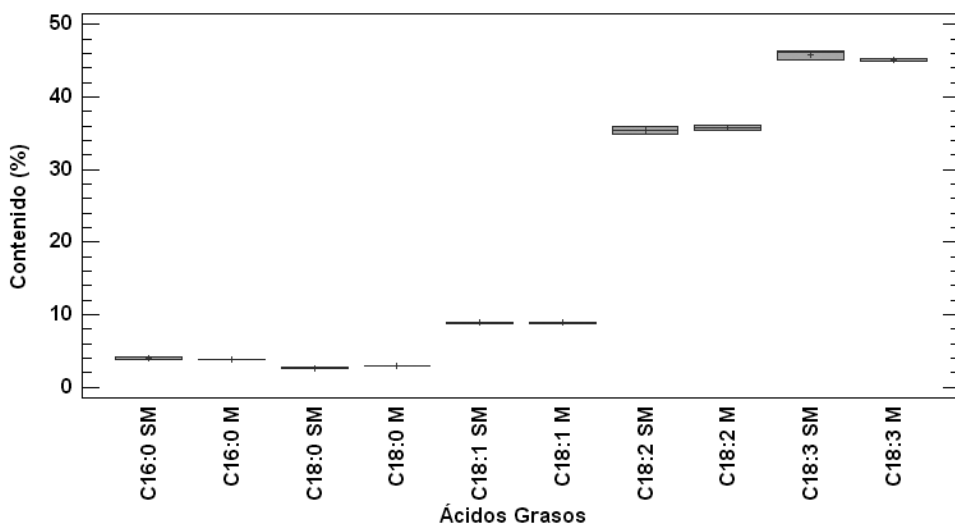


Figura 2. Comparación de muestras en Statgraphics.

Tabla 3. Comparación del contenido de ácidos grasos de aceite de sacha inchi.

Ácidos grasos	Esta investigación	Quispe y Saldaña [7]	Castaño <i>et al.</i> [13]
Palmítico (C16:0)	3,93	4,08	3,60
Estearico (C18:0)	2,67	2,96	2,90
Oleico (C18:1)	8,93	10,45	8,50
Linoleico (C18:2)	35,47	35,34	33,90
Linolénico (C18:3)	45,87	46,92	50,20

Otros estudios realizados por Quispe y Saldaña [7] y Castaño *et al.* [13] (los cuales se exponen en la tabla 3), demuestran que el aceite de sacha inchi, al igual que en esta investigación, presenta un alto contenido de ácidos grasos insaturados.

Análisis espectroscópico del aceite de sacha inchi microencapsulado

A un rango espectral de 4000 cm^{-1} a 580 cm^{-1} , se obtuvieron los espectros de infrarrojo del aceite de sacha inchi microencapsulado, del aceite sin microencapsular y de la mezcla polimérica (figura 3). Las bandas pertenecientes al grupo carboxilo característico

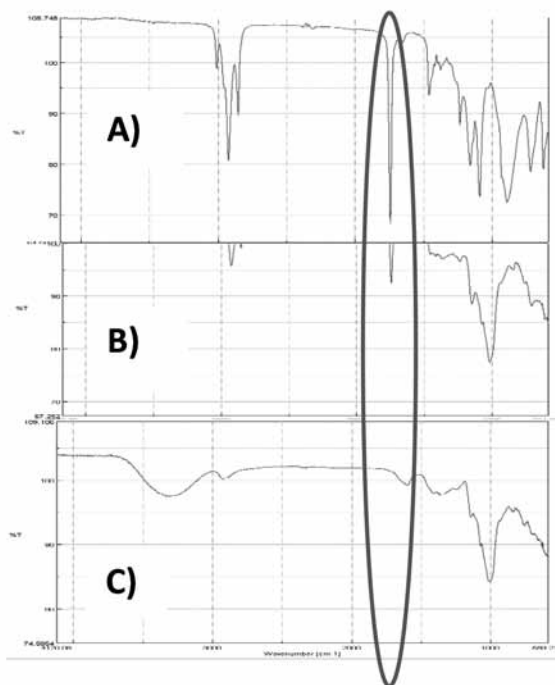


Figura 3. Espectros infrarrojo obtenidos en un rango de 4000 cm^{-1} a 580 cm^{-1} . A) Aceite de sacha inchi, B) aceite microencapsulado, C) mezcla polimérica.

de los ácidos grasos, encontradas entre $3007,44$ y $2846,42$ cm^{-1} , y entre $1741,41$ y $1366,32$ cm^{-1} , se encuentran minimizadas en el espectro obtenido del aceite microencapsulado, y en total ausencia en el espectro de la mezcla polimérica. Así, entonces, se determina que gran parte del aceite es enmascarado por la mezcla polimérica mediante secado por aspersión, lo que demuestra la efectividad del proceso de microencapsulación.

Morfología de las microcápsulas

Mediante microscopía electrónica de barrido se analizaron la forma y la superficie de las microcápsulas de aceite de sachá inchi (figura 4), lo que permitió observar la formación de microcápsulas esféricas de diferente tamaño, además de obtener una superficie lisa, compacta y libre de poros que evita el contacto directo del aceite con el oxígeno, previniendo así su degradación y alargando su tiempo de vida útil.

La morfología de las microcápsulas se atribuye a que durante el proceso de secado por aspersión —en el que ocurre una transferencia de calor y masa simultánea—, la emulsión es atomizada dentro de la cámara de secado, debido a una presión de aire que genera el equipo. Mediante otro flujo de aire caliente (transferencia de calor) se produce la rápida evaporación de las gotas formadas (transferencia de masa); al secarse, las gotas toman una forma esférica en la que la parte insoluble queda dentro, y la parte soluble afuera (atracción de masa física), formando la cubierta de la microcápsula [14, 15].

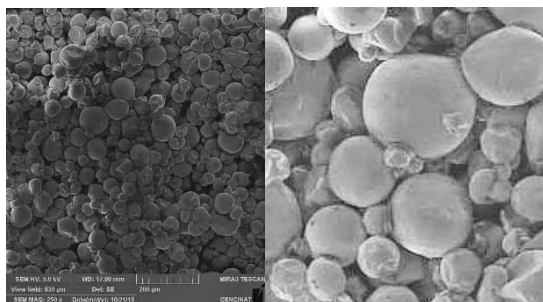


Figura 4. Microcápsulas de aceite de sachá inchi.

Microencapsulación de aceite de sachá inchi mediante secado por aspersión a escala industrial

Se llevó a cabo el proceso de microencapsulación de aceite de sachá inchi mediante secado por aspersión a escala industrial, empleando las mejores condiciones de trabajo a escala de laboratorio, como lo fueron la temperatura de entrada y salida de 150 $^{\circ}\text{C}$ y 90 $^{\circ}\text{C}$, respectivamente, una carga del 33% de aceite y una mezcla de maltodextrina y

goma arábiga en proporción 1:1. Se realizaron tres lotes y se determinó el rendimiento, resultados que se pueden observar en la figura 6, en la cual se evidencia un rendimiento superior al 70%, categorizado como óptimo a escala industrial.

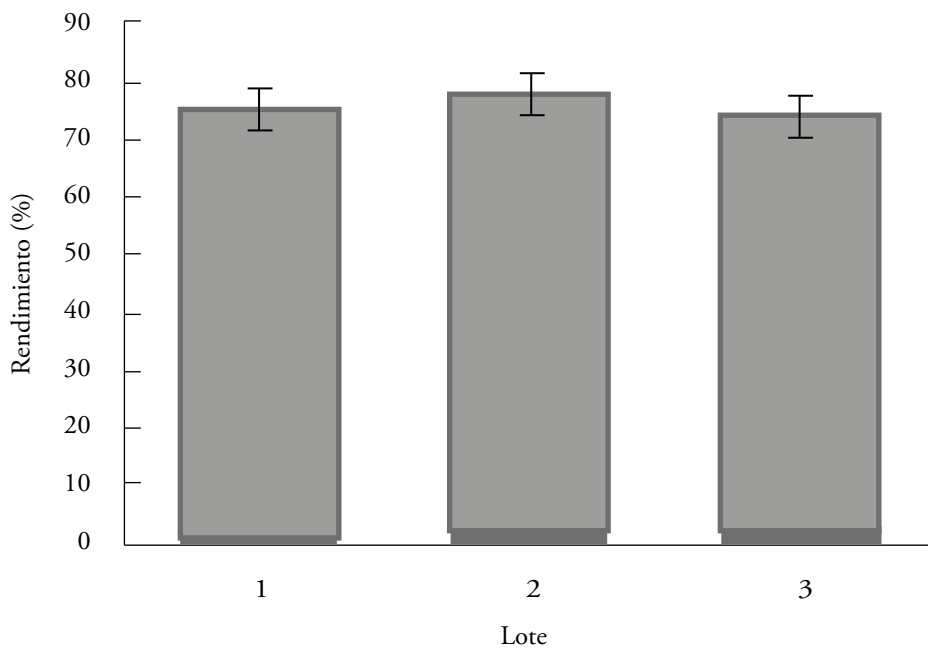


Figura 6. Rendimiento de aceite de sachá inchi microencapsulado de los tres lotes realizados a escala industrial.

Eficiencia de microencapsulación (ME)

A escala industrial se obtuvo una eficiencia de microencapsulación superior al 80%, resultado óptimo generado con las condiciones preestablecidas a escala de laboratorio, manteniendo así el principio de similaridad.

Evaluación de la humedad

La humedad de las microcápsulas obtenidas a escala industrial se mantuvo bajo el límite establecido para productos secos, al igual que las obtenidas a escala de laboratorio, mostrando un ligero incremento en función del tiempo. Se realizó la evaluación a las 0, 4 y 6 semanas (figura 7).

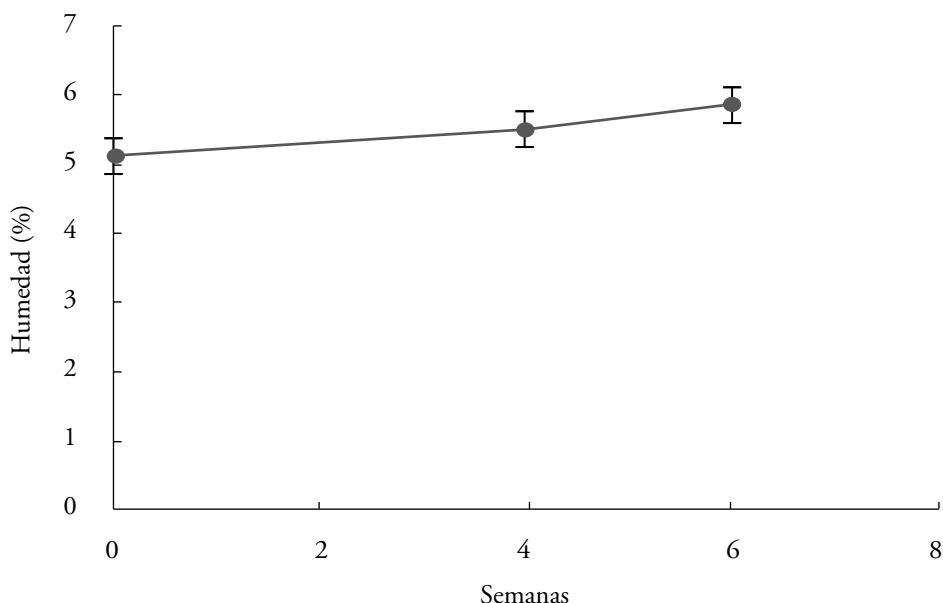


Figura 7. Evaluación del contenido de humedad.

Análisis estadístico

Mediante la aplicación de un diseño 2^2 , se determinó que el proceso de microencapsulación se ve optimizado en cuanto a rendimiento y eficiencia de microencapsulación aplicando el tratamiento M1 (temperatura de entrada $150\text{ }^{\circ}\text{C}$, temperatura de salida $90\text{ }^{\circ}\text{C}$, y carga de aceite 33%).

CONCLUSIONES

Las mejores condiciones de trabajo del proceso de microencapsulación (temperatura de entrada de $150\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una carga de aceite del 33%), generaron una eficiencia de microencapsulación de $93,90 \pm 0,56\%$, y un rendimiento de $82,10 \pm 0,99\%$. La caracterización del aceite de sachá inchi microencapsulado evidenció que el contenido de humedad a las 26 semanas es inferior al límite permisible, mientras que el perfil de ácidos grasos del aceite microencapsulado no mostró diferencia significativa en comparación con el contenido de ácidos grasos del aceite sin microencapsular. Por espectroscopía infrarroja se determinó que el aceite es enmascarado de forma eficiente, y mediante microscopía electrónica de barrido se fue posible observar que se obtienen partículas esféricas de superficie lisa y libre de poros.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. R. Follegatti, C. Piantino, R. Grimaldi, Supercritical CO₂ extraction of omega-3 rich oil from Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) seeds, *Journal of Supercritical Fluids*, **49**, 323 (2009).
2. B. Krivankova, Z. Polesny, B. Lojka, J. Lojkova, J. Banout, D. Preininger, Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*, Euphorbiaceae): a promising oilseed crop from Peruvian Amazon. En: Conference on International Agricultural Research and Development, University of Kassel, Alemania, 2008.
3. L. Gutiérrez, L. Rosada, A. Jiménez, Composición química de las semillas de "Sacha Inchi" (*Plukenetia volubilis* L.) y características de su fracción lipídica, *Grasas y aceites*, **62**, 76 (2011).
4. Pulevasalud, Contenido de ácidos grasos de alimentos [Internet], Granada, URL: <http://www.pulevasalud.com>, consultado en enero de 2016.
5. M. Guillén, A. Ruiz, N. Cabo, R. Chirinos, G. Pascual, Characterization of Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil by FTIR spectroscopy and 1H NMR. Comparison with linseed oil, *Journal of the American Oil Chemists Society*, **80**, 755 (2003).
6. F. Garmendia, R. Pando, G. Ronceros, Efecto del aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) sobre el perfil lipídico en pacientes con hiperlipoproteíнемia, *Revista Peruana de Medicina Experimental y Salud Pública*, **28**, 628 (2011).
7. S. Quispe, M. Saldaña, Microencapsulation of sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) oil with zein, iCEF 11, International Congress on Engineering and Food (Full Paper Proceedings), Athens (2011).
8. O. López, T. Márquez, O. Mayo, C. Toledo, E. Sanchez, Características del aceite de semillas de *Cucurbita pepo* L. Microencapsulado mediante secado por aspersión con maltodextrina y goma arábica, *Latin American Journal of Pharmacy*, **28**, 628 (2009).

9. M. Cuaspu, Obtención de aceite de aguacate microencapsulado mediante secado por atomización [Tesis de grado], Facultad de Ingeniería Química y Agroindustrial, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador, 2015.
10. S. Hogan, B. McNamee, E. O’Riordan, M. O’Sullivan, Microencapsulating properties of sodium caseinate, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 1934 (2001).
11. Institute for Nutraceutical Advancement, Method 108.003, Fatty Acid Content in Saw Palmetto by GC [Internet], URL: <http://www.nsf.org/business/ina/fattyacids.asp>, consultado en noviembre de 2015.
12. D. Huntington, The influence of the spray drying process on product properties, *Drying Technology*, **22**, 1261 (2004).
13. D. Castaño, M. Valencia, E. Murillo, J. Méndez, J. Eras, Composición de ácidos grasos de Sachá Inchi (*Plukenetia volubilis* Linneo) y su relación con la bioactividad del vegetal, *Revista Chilena de Nutrición*, **39**, 45 (2012).
14. P. Tamez-Guerra, R. Gómez-Flores, La técnica de secado por aspersión, En: “Procesos Biotecnológicos”, Editado por: J. Galán, M. Wong, P. Santos, R. Tamez, R. Quintero, I. Quintero, Publicaciones UANL (Universidad Autónoma de Nuevo León), San Nicolás de los Garza, México, 2003, p.243.
15. M. Villena, Morales, M. Hernández, L. Gallardo, M. Ruiz, Técnicas de microencapsulación: una propuesta para microencapsular probióticos [Internet], URL: <http://digibug.ugr.es/handle/10481/27475#.Vomy2fl97IV>, consultado en enero de 2016.

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

A. Pastuña-Pullutasig, O. López-Hernández, A. Debut, A. Vaca, E. Rodríguez-Leyes, R. Vicente, V. Gonzalez *et al.*, Microencapsulación de aceite de sachá inchi (*Plukenetia volubilis* L.) mediante secado por aspersión, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(3), 422-437 (2016).

Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico

Andrés Ahumada¹, Andrés Ortega², Diana Chito³, Ricardo Benítez^{1*}

¹ Grupo de Investigación en Química de Productos Naturales, Universidad del Cauca, Edificio de los Laboratorios, Carrera 2ª con calle 15 esquina, Sector Tulcán, 190003 Popayán, Colombia

² Fundación Universitaria de Popayán, Programa de Administración de Empresas Agropecuarias, Popayán, Colombia

³ Departamento de Química, Universidad del Cauca, Edificio de los Laboratorios, Carrera 2ª con calle 15 esquina, Sector Tulcán, 190003 Popayán, Colombia

* Correo electrónico: rbenitez@unicauca.edu.co

Recibido para evaluación: 26 de febrero del 2016

Aceptado para publicación: 25 de noviembre del 2016

RESUMEN

Las saponinas son un tipo de metabolito secundario ampliamente estudiado por sus reconocidas propiedades biológicas. Gran parte de las investigaciones en fitoquímica están dirigidas a encontrar nuevas fuentes naturales de saponinas con aplicación medicinal. La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) es una planta que ha alcanzado un valioso reconocimiento por ser una fuente de alimentos altamente nutritivos, así como una especie rica en saponinas triterpénicas contenidas, principalmente, en la cáscara de las semillas. A la fecha, se han identificado alrededor de 30 saponinas derivadas de la hederagenina y de los ácidos oleanólico, fitolacagénico y serjanico en la planta. El consumo del grano de quinua implica la remoción de la cáscara a fin de reducir su sabor amargo, la ingesta de niveles residuales de saponinas y la obtención de un subproducto rico en las mismas. Esta revisión, inicialmente, ofrece una contextualización general de las saponinas; posteriormente, recopila las características estructurales de las saponinas identificadas en la quinua, describe el efecto del procesamiento del grano en su contenido de saponinas y, finalmente, expone los efectos biológicos explorados con extractos de saponinas de quinua, los cuales pueden ser considerados como punto de partida en investigaciones futuras dirigidas al fortalecimiento de su uso en el campo farmacéutico y/o nutracéutico.

Palabras claves: Saponinas, *Chenopodium quinoa*, actividad biológica, glucósidos triterpénicos.

SUMMARY

Saponins of Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): a by-product with high biological potential

Saponins are a type of secondary metabolite that have been widely studied due to their recognized biological properties. Most research into phytochemical has focused on finding new natural sources of saponins with medicinal interest. Quinoa (*Chenopodium quinoa*) is a plant that has attained importance as a valuable source of food highly nutritious and rich in triterpenes saponins which are mainly in the outer husks of the seeds. Up to date, about 30 saponins derived from hederagenin, oleanolic acid, phytolaccagenic acid, and serjanic acid have been identified in the plant. Quinoa consumption involves removal of the husk to reduce its bitter taste, the ingestion of residual levels of saponins and obtaining a product rich in saponins. This revision, initially, offers a general contextualization of saponins, then, gathers the structural features of identified saponins in quinoa, describes the effect of the processing of the grain on its saponins content, and finally, exposes the biological properties explored with quinoa saponins extracts which might be considered as a starting point for future investigations aimed at strengthening of their use in the pharmaceutical and/or nutraceutical field.

Keywords: Saponins, *Chenopodium quinoa*, biological activity, triterpene glycosides.

INTRODUCCIÓN

La quinua es una planta del género *Chenopodium*, originaria de América del Sur y distribuida en los países que pertenecían al antiguo Imperio inca, especialmente en aquellos ubicados sobre la cordillera de los andes, desde la parte sur de Colombia pasando por el Ecuador, Perú, Bolivia y la parte norte de Chile [1, 2]. Su favorable adaptabilidad edafológica y climática ha permitido ampliar las zonas de cultivo en estas geografías (por ejemplo, en Colombia), promoviendo la diversificación de la explotación de sus propiedades nutricionales y farmacológicas. Es un cultivo anual cuyas panojas en promedio tienen una altura de entre 1,0 y 2,0 m con una llamativa flor, y producen semillas cilíndricas y lisas con un largo de 2,5 mm y 1,0 mm de diámetro [2].

La semilla de quinua se clasifica como un pseudocereal perteneciente a la familia de las amarantáceas y sus usos típicos se asemejan a los de cereales comunes (trigo y arroz) [3].

Es un grano muy reconocido por su alto contenido de proteínas (~14%), y en especial por su excelente digestibilidad (92%) y contenido balanceado de los aminoácidos esenciales, tales como lisina y metionina [4, 5]. Igualmente, la literatura reporta valiosas cualidades composicionales para la nutrición humana [6]. Se destacan sus aportes hasta de un 6%, 40% y 15% del requerimiento diario de hierro, calcio y zinc respectivamente [7], y su importante contenido de isoflavonas, daidzeína g (2,05-0,78 mg/10 g) y genisteína (0,04-0,41 mg/100 g), que tienen la capacidad de actuar como fitoestrógenos [8]. Los reportes también describen el contenido de algunos compuestos que potencialmente reducen el valor nutritivo del grano, tales como las saponinas, los fitatos, los taninos y los inhibidores de tripsina [9, 10].

Las saponinas son el principal factor antinutricional de las semillas de quinua. Están contenidas en la cáscara y son las responsables del sabor amargo. Su contenido permite distinguir las variedades de quinua como dulces (<0,11%) o amargas (>0,11%) [11]. Sin embargo, su presencia no se restringe a las semillas, también se han detectado en las hojas de la planta (9 g/1000 g) [12] y en menor proporción en las flores y frutos [13], de manera análoga a lo reportado en plantas como la *Allium nigrum* L. [14], *Leguminous species* [15] y *Agave Offoyama* [16]. En estos casos, las saponinas actúan como barreras protectoras contra el ataque de patógenos y herbívoros [17], por lo que se justifica que las partes más vulnerables de la planta tales como hojas, tallos, frutos y raíces, sean los reservorios de este tipo de compuestos [18, 19].

Existe un abanico de propiedades biológicas reportadas y asociadas a estos compuestos, entre las que se resaltan su capacidad antitumoral, fungicida, molusquicida, su actividad hemolítica y antiinflamatoria [18, 20, 21]; su funcionalidad depende de la diversidad estructural y conformacional que adoptan las saponinas [17]. Químicamente, las saponinas de quinua son una mezcla compleja de glucósidos triterpénicos que consisten de un oligosacárido hidrofílico enlazado a una aglicona hidrofóbica que se deriva del ácido oleanólico, hederagenina, ácido fitolacagénico, ácido serjanico o ácido 3β,23,30-trihidroxi olean-12-en-28-oico [13].

A nivel industrial, las semillas de quinua se procesan con el propósito de reducir su sabor amargo y ser empleadas en la fabricación de diversos productos alimenticios. Los agricultores de quinua, por tradición, han realizado la remoción de este grupo de compuestos por medio de lavados sucesivos con agua o a través de abrasión mecánica, dando lugar a la generación de volúmenes considerables de residuos sólidos y a la contaminación de las aguas naturales. Sin embargo, el creciente interés por las propiedades farmacológicas de las saponinas, la evolución tecnológica que ha tenido lugar en el análisis de metabolitos secundarios y el auge que ha alcanzado el consumo de alimentos

ancestrales a nivel mundial, posicionan a la quinua como una fuente de un subproducto rico en saponinas, pero poco explorado.

En este sentido, esta revisión inicialmente describe las características químicas generales de las saponinas; posteriormente, presenta las saponinas identificadas en la planta de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.), los métodos de procesamiento del grano empleados para remover las saponinas y, finalmente, expone los efectos biológicos evaluados y asociados con las saponinas ya identificadas. Asimismo, se ofrece un punto de referencia a investigadores que planean ampliar el panorama funcional de las saponinas procedentes de quinua.

GENERALIDADES DE LAS SAPONINAS

Las saponinas son metabolitos secundarios que constituyen una gran familia de compuestos estructuralmente constituidos por un anillo terpenoide o esteroidal, conocidos como aglicona o sapogenina, sustituidos por oligosacáridos a través de enlaces glucosídicos que les confieren un carácter anfifílico [22] (véase la figura 1). De acuerdo con el número de sustituciones, se pueden encontrar agliconas mono, di o triglicosiladas (véase las figuras 2-4) [1], también denominadas mono, di o tridesmosídicas. Las monodesmosídicas tienen un oligosacárido unido al C-3; las bidesmosídicas tienen dos cadenas de carbohidratos, uno de ellos unido mediante un enlace éter al C-3, y el otro

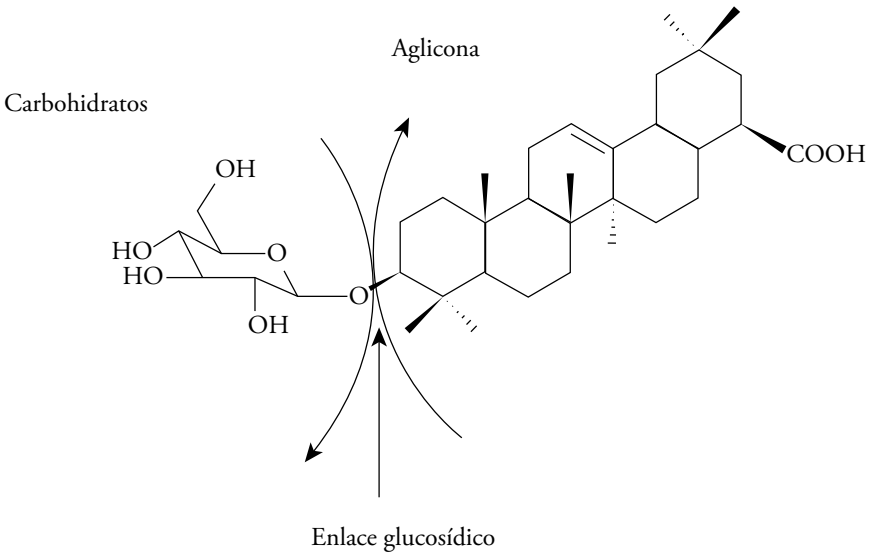


Figura 1. Estructura general de una saponina. Se indica el enlace glucosídico entre la aglicona y un glucósido.

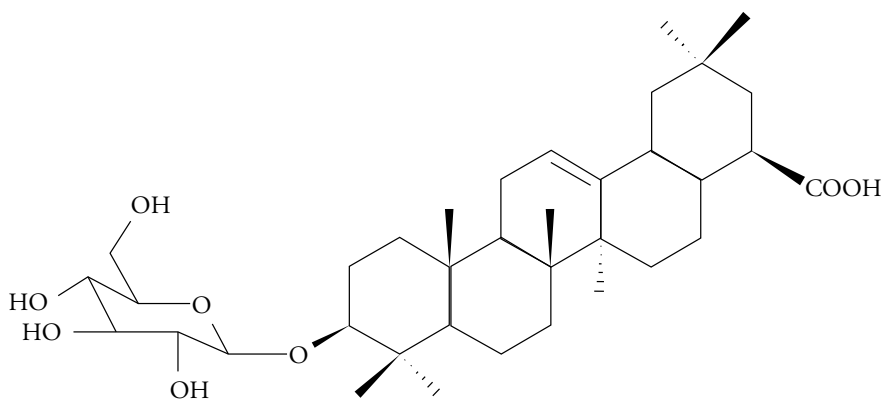


Figura 2. Estructura de una saponina monoglicosilada: ácido 3-O- β -D-glucopiranosil oleanólico [1].

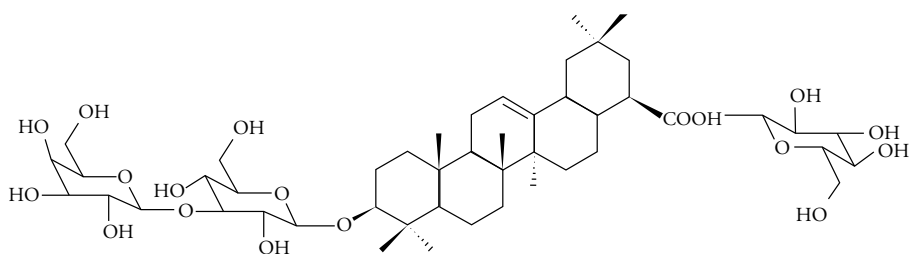


Figura 3. Estructura de una saponina diglicosilada: 3-O- β -D-Glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- α -L-galactopiranosil-hederagenina 28-O- β -D-glucopiranosil éster [1].

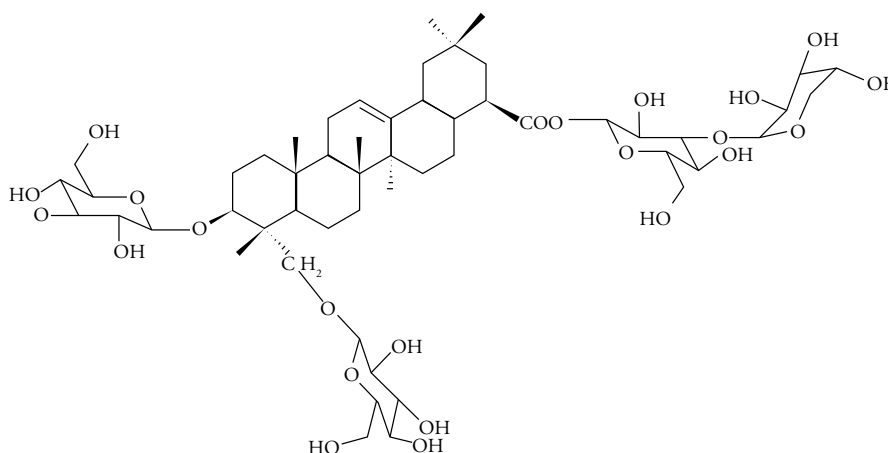


Figura 4. Estructura de una saponina triglicosilada: ácido 3,23-bis[(O- β -D-glucopiranosil)oxi]olean-12-en-28-oico-28-O- α -L-arabinopiranosil-(1 \rightarrow 3)- β -D-glucopiranosiléster [1].

unido a través de un enlace éster al C-28, en el caso de las saponinas triterpénicas; y las tridesmosídicas que contienen tres cadenas de azúcares. Los oligosacáridos enlazados principalmente son pentosas, hexosas o ácidos urónicos [23].

Las saponinas no resisten cambios bruscos de pH, valores muy ácidos o básicos generan la ruptura de los enlaces *O*-glucosídicos (véase figura 1). Esta característica es útil y empleada en metodologías para su cuantificación y elucidación estructural [24].

Con respecto a su estabilidad térmica, las saponinas resisten temperaturas superiores a 150 °C e inferiores a 400 °C, temperatura a la cual se inicia el proceso de carbonización de la molécula, posibilitando la implementación de procesos de extracción convencionales que usualmente son favorecidos por el uso de calor.

Las saponinas ofrecen también una alta actividad superficial debido a la combinación estructural de un grupo polar (azúcar) y uno no polar (esteroide o triterpeno), propiedad que permite su uso como un detergente natural, agente estabilizante y emulsificante en productos de limpieza y cosméticos [25].

SAPONINAS EN LA PLANTA DE QUINUA

La literatura reporta la presencia de al menos 30 saponinas triterpénicas distribuidas en todas las partes de la planta, tales como hojas, flores, frutos, semillas y la cáscara de las semillas [1, 26, 27]. Estructuralmente, son compuestos derivados de la β -amirina (véase figura 5). Consisten en una mezcla compleja de glucósidos triterpénicos derivados del ácido oleanólico, hederagenina, ácido fitolacagénico, ácido deoxifitolacagénico, ácido serjanico, y ácido $3\beta,23,30$ -trihidroxi olean-12-eno-28-oico, con los grupos hidroxilo y carboxilato en el C-3 y C-28, respectivamente [13, 28]. Los enlaces glucosídicos se forman con la arabinosa, la glucosa, la galactosa, la xilosa, el ácido glucurónico y la ramosa (excepto de metilpentosa) [29, 30].

La tabla 1 recopila las saponinas aisladas e identificadas en *Chenopodium quinoa* y reportadas en la literatura desde 1988 en las diferentes partes de la planta. Por su parte, la figura 6 ilustra la estructura de las agliconas elucidadas. Su aislamiento e identificación implicó llevar a cabo procesos de extracción a través de técnicas convencionales como percolación, maceración, reflujo y Soxhlet; separación con técnicas cromatográficas tales como cromatografía líquida de baja, media y alta resolución (CLBR, CLMR, CLAR), a través de distintas modalidades: filtración en gel, intercambio iónico, adsorción en fase normal y reversa, así como elucidación estructural con métodos analíticos como espectrometría de masas por impacto electrónico (EI-MS), y resonancia magnética nuclear (RMN ^{13}C , ^1H , ^{13}C DEPT, uni y bidimensional).

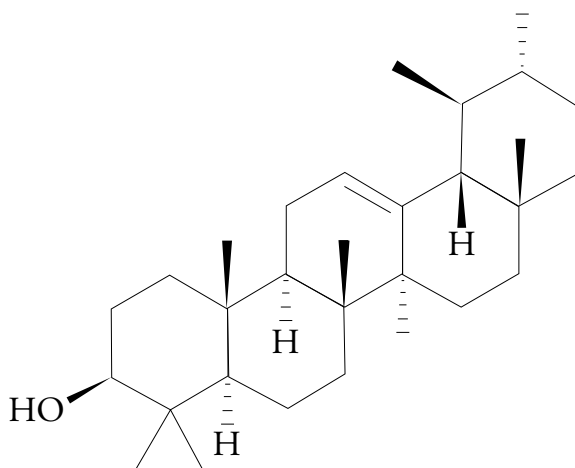


Figura 5. Estructura de la β -amirina, esqueleto base de las saponinas identificadas en la *Chenopodium quinoa*.

Tabla 1. Estructuras de saponinas identificadas en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.).

Compuesto	Localización	Aglicona	Sustituyente	Referencia
1	Fl, F, S, C	i	3-Glc-(1→2)-Ara, 28-Glc	[13]
2	S	i	3-GlcA	[30]
3	Fl, F, S, C	i	3-GlcA, 28-Glc	[13]
4	Fl, F, S, C	i	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[30]
5	Fl, F, S, C	i	3-Xyl-(1→3)-GlcA, 28-Glc	[31]
6	S	ii	3-Xyl-(1→3)-GlcA, 28-Glc	[32]
7	Fl, F, S, C	ii	3-Ara	[13]
8	Fl, F, S, C	ii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[30, 31, 33]
9	S	ii	3-Glc-(1→4)-Glc-(1→4)-Glc, 28-Glc	[34]
10	Fl, F, S, C	ii	3-GlcA, 28-Glc	[32]
11	S	ii	3-Gal-(1→3)-Glc, 28-Glc	[30]
12	Fl, F, S, C	ii	3-Glc-(1→3)-Gal, 28-Glc	[13, 33]
13	Fl, F, S, C	iii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[32]
14	Fl, F, S, C	iv	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[13]

(Continúa)

Tabla 1. Estructuras de saponinas identificadas en quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) (Continuación)

Compuesto	Localización	Aglicona	Sustituyente	Referencia
15	Fl, F, S, C	v	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[13]
16	S	vi	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[34]
17	S	vi	3-Ara-(1→3)-GlcA, 28-Glc	[34]
18	S	vii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[34]
19	Fl, F, S, C	vii	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[30]
20	S	vii	3-Ara-(1→3)-GlcA, 28-Glc	[32]
21	Fl, F, S, C	vii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[32]
22	Fl, F, S, C	vii	3-Ara, 28-Glc	[13]
23	Fl, F, S, C	vii	3-GlcA, 28-Glc	[13]
24	Fl, F, S, C	viii	3-Glc-(1→3)-Gal, 28-Glc	[32]
25	Fl, F, S, C	viii	3-Ara, 28-Glc	[31]
26	S	viii	3-Ara-(1→3)-GlcA, 28-Glc	[34]
27	Fl, F, S, C	viii	3-Glc-(1→4)-Glc-(1→4)-Glc, 28-Glc	[34]
28	Fl, F, S, C	viii	3-Glc-(1→2)-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[32, 33]
29	Fl, F, S, C	viii	3-Glc-(1→3)-Ara, 28-Glc	[31]
30	S	viii	3-Glc-(1→3)-Ara	[30, 31]
31	S	viii	3-Gal-(1→3)-Glc, 28-Glc	[30]

Fl: Flor; F: fruto; S: semilla; C: cáscara.

La presencia de saponinas no se restringe a las semillas tal como lo muestra la tabla 1. Particularmente, estudios previos evidencian una marcada diferencia de su contenido en las hojas y en las semillas [12, 28, 35], en función del análisis de sapogeninas. Mastebroek y colaboradores [12] determinaron el contenido de sapogeninas en hojas y semillas de genotipos dulces y amargos durante distintas etapas del desarrollo de la planta, encontrando que el contenido de sapogeninas en las hojas de genotipos dulces incrementó significativamente hasta 125 días después de la siembra, involucrando la etapa de floración. En las semillas amargas determinaron en promedio 8,1 g/kg de sapogeninas expresadas en materia seca, el cual fue nueve veces mayor a lo cuantificado en las hojas, y 32 veces mayor al determinado en las semillas de genotipo dulce. También identificaron a la hederagenina como la sapogenina predominante en las hojas, y a los ácidos oleanólico y serjanico en las semillas coincidiendo con lo encontrado por Mizui y colaboradores [33], [36], Ng y colaboradores [37], Ridout y colaboradores [38], y

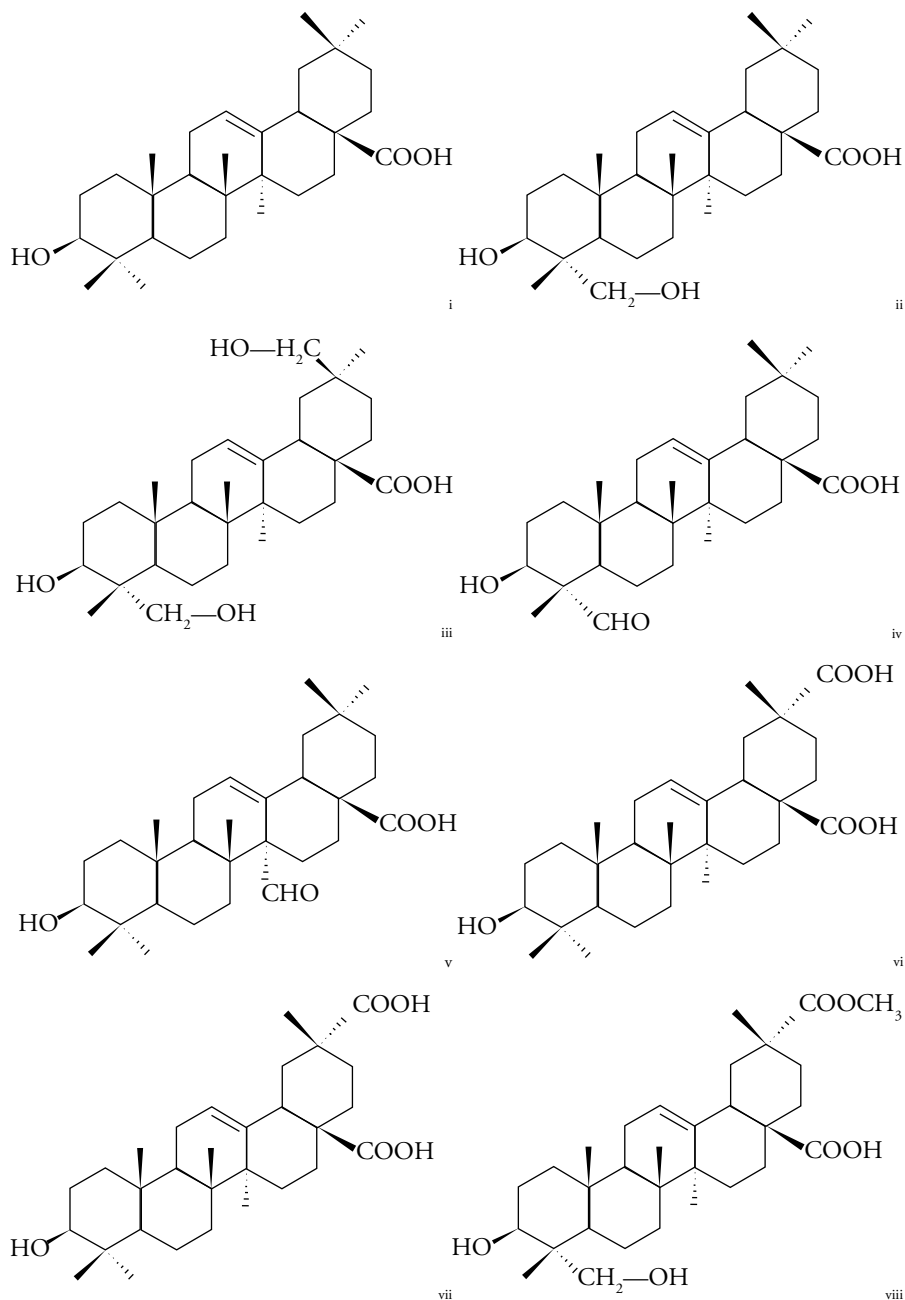


Figura 6. Estructuras de agliconas de saponinas elucidadas en quinua. Agliconas: i- ácido oleanólico; ii- hederagenina; iii- ácido 3β,23,30-trihidroxi olean-12-eno-28-oico; iv- gipsogenina; v- ácido 3β-hidroxi-27-oxoolean-12-eno-28-oico; vi- ácido espergulagénico; vii- ácido serjanico; viii- ácido fitolacagénico.

Zhu y colaboradores [30]. Kuljanabhadgavad y colaboradores [13] reportan cantidades mayoritarias de los compuestos 25 y 29 (véase tabla 1) en las flores, frutos, semillas y cáscara; adicionalmente, encontraron cantidades moderadas de las saponinas 8 y 13.

Por otro lado, es importante tener en cuenta que existen diferentes variedades de quinua a las cuales se asocian distintos niveles de saponinas. La tabla 2 muestra el contenido de saponinas en función de la variedad y de su origen. Se observa que su procedencia es principalmente la región de los Andes, pero también se han iniciado ensayos en otras regiones (Dinamarca y China). Dado el contenido de saponinas reportado, la mayoría se clasifican como amargas (saponinas >0,11%), siendo este un aspecto valioso para el aprovechamiento de la cáscara como subproducto rico en saponinas.

Tabla 2. Contenido de saponinas en variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) de diferente origen.

Origen	Variedad	Contenido (%)	Genotipo ^ε	Referencia
Argentina	Sajama	0,8	Amarga	[20]
	N.R.	2,9	Amarga	[39]
Bolivia	Real (cáscara)	33	Amarga	[40]
	Real	2,6	Amarga	[20]
	Real	N.R.	Amarga	[41]
	Real (cáscara)	7,0	Amarga	[42]
	Real	Alto	-	[43]
	Camacani	Alto	-	
	Chupaca	N.R.	-	
	Sajama	-	Dulce	
		Kurmi	N.R.	Dulce
Brasil	BRS-Piabiru	3,3	Amarga	[45]
Chile	Amarilla Ancovinto (Línea elite)	Medio	-	[43]
	Roja Ancovinto (línea elite)	Alto	-	
	Regalona Baer	Medio	-	

(Continúa)

Tabla 2. Contenido de saponinas en variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) de diferente origen (*continuación*).

Origen	Variedad	Contenido (%)	Genotipo [£]	Referencia
Chile	N.R.	10,7 (cáscara)	Amarga	[13]
		8,0 (semillas)		
		4,0 (flores)		
		4,0 (frutos)		
	Villarrica	0,002	Dulce	[46]
	Regalona	0,003	Dulce	
	Ancovinto	1,3-1,7	Amarga	[47]
	Cancosa	1,5-2,4	Amarga	
	Cáhuil	2,7-5,0	Amarga	
	Faro	1,9-3,9	Amarga	
Regalona	1,9-3,9	Amarga		
Villarrica	0,8-0,9	Amarga		
China	N.R.	1,2	Amarga	[48]
Colombia	Blanca de Nariño	bajo	N.R.	[43]
Dinamarca	Olav	1,8 (semilla)	Amarga	[49]
		0,3 (Sin cáscara)	Amarga	
		1,8 (germen)	Amarga	
	Q52	6,1	Amarga	[3]
Ecuador	INIAP Tunkahuan	Bajo	-	[44]
	INIAP Pata de venado	Bajo	-	
Perú	Hualhuas	Bajo	-	[43]
	Amarilla de Marangani	Alto	-	
	Witulla	Medio/Alto	-	

(Continúa)

Tabla 2. Contenido de saponinas en variedades de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) de diferente origen (*continuación*).

Origen	Variedad	Contenido (%)	Genotipo [£]	Referencia
Perú	Tahuaco	Alto	-	[43]
	Blanca de Juli	Medio	-	
	Blanca y rosada de Junin	Bajo	-	
	Chewecka	Bajo	-	
	Kancolla	Alto	-	
	Kancolla	5,6-7,5	Amarga	[32]
Rosada de Junín (Perú) × Real Púrpura (Bolivia)	Huancayo	Bajo	-	[43]
Huancayo (Perú-Bolivia) × Sajama (Bolivia)	Mantaro	Alto	-	

£: criterio de clasificación del genotipo: Amarga si el porcentaje de saponinas es > 0,11% o dulce si es <0,11% [10, 11].

N.R.: no reportado.

PROCESAMIENTO DE LA QUINUA PARA LA OBTENCIÓN DE LAS SAPONINAS

La semilla se constituye la parte de la planta más consumida. En el grano de quinua las saponinas contenidas en la parte externa de los tejidos son las responsables del sabor amargo, por lo que su remoción previa al consumo es indispensable. Sin embargo, este proceso se ha venido realizando por muchos años de una manera artesanal que es poco eficiente y muy contaminante. Consiste en realizar lavados sucesivos con agua hasta que en las aguas del lavado no se observe espuma [2]. Teniendo en cuenta el carácter anfílico previamente mencionado que caracteriza a este tipo de compuestos, es de esperar que el porcentaje de extracción con un solvente tan polar no sea el más alto y, por lo tanto, no sea una alternativa óptima para una completa extracción de saponinas. Adicionalmente, este procedimiento implica la utilización de un gran volumen de agua y un alto costo energético para pre-concentrar las saponinas. Nickel y colaboradores [45], por su parte, evaluaron el efecto de los procesos de lavado, lavado seguido por hidratación, cocción (con y sin presión) y tostado de granos de quinua amargos, sobre su contenido de saponinas. Los resultados muestran la ineficiencia de la remoción de saponinas por lavado, ya que lograron solo la remoción de un 17,42%, con lo cual la

semilla mantuvo su clasificación como amarga. Los tratamientos de cocción a presión atmosférica, bajo presión y de tostado mejoraron la remoción de las saponinas a un 25,53%, un 23,72% y un 19,22%, respectivamente. No obstante, en definitiva ningún método permitió la disminución de los niveles a valores menores de 0,11% para clasificar las semillas como dulces. En contraste, el proceso de lavado seguido de hidratación a 60 °C incrementó el contenido de saponinas en un 9%, debido probablemente a que se permitió una mejor penetración del agua y una mayor liberación de las saponinas por difusión para la cuantificación. Vega-Gálvez y colaboradores [50] redujeron el contenido de las saponinas de quinua desde 6,34% a 0,25%, a través de lavado con agua a 60 °C por un tiempo de 120 min. Igualmente, la implementación de modelos matemáticos para describir la cinética del proceso de lixiviación de las saponinas desde las semillas de quinua con una proporción de quinua: agua (1:10), agitación constante entre 15 y 120 minutos y a temperaturas entre 20 y 60 °C, han mostrado que la mayoría de las saponinas se remueven en la primera media hora y su concentración tiende a un valor asintótico, sin importar la temperatura del agua, siendo la velocidad de lixiviación significativamente mayor a 60 °C, y después de 120 minutos a 20 °C [51].

Por su parte, Gianna y colaboradores [52] evaluaron el método de extracción asistida con microondas modificando variables como la temperatura, el tiempo de aplicación de la radiación de microondas, la composición del solvente y la proporción de solvente: masa semilla. Después de determinar la eficiencia de cada ensayo encontraron que la eficiencia de extracción con la mezcla isopropanol-agua fue del 98,1%, mientras que con una mezcla de etanol-agua fue de 57,1%.

Un procedimiento muy utilizado en cereales como el trigo, el arroz y la cebada es el perlado. Su propósito es remover entre un 20% y 30% de las saponinas del pericarpio de la semilla, o incluso hasta solo un 15% [53]. Este método mejora las condiciones de remoción de saponinas en la *Chenopodium quinoa*. Ensayos con un 20% de abrasión sobre granos de quinua mostraron una remoción de saponinas de un 50% en muestras con una concentración del 0,24%, superando el límite máximo permitido para el consumo; mientras que un 30% de abrasión, permitió una disminución del 79% en la concentración de las saponinas en el grano (0,05%) [11]. Ruales y colaboradores [54] reportan una remoción del 56% de la β -D-glucopiranosil- $[\beta$ -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabino-piranosil-(1 \rightarrow 3)]-3- β -23-dihidroxil-12-eno-28-oato-30-metiléster, y prácticamente el 100% de la saponina a la cual atribuyen una alta probabilidad de provocar el sabor amargo, β -D-glucopiranosil- $[\beta$ -D-glucopiranosil-(1 \rightarrow 3)- α -L-arabino-piranosil-(1 \rightarrow 3)]-3- β -23-dihidroxilolean-12-eno-28-oato, en semillas sometidas a lavado y perlado mecánico.

Estos procesos, junto con los requeridos para incorporar el grano como alimento en la dieta resultan en modificaciones del contenido de saponinas final en la semilla, y consecuentemente definen el efecto biológico de este tipo de compuestos en el organismo y/o su rendimiento de extracción para otros usos.

Estos resultados indican que se requieren procesos extras u optimización de las condiciones ya ensayadas en la extracción de las saponinas con los procedimientos rutinarios, de tal manera que se logre obtener una semilla de quinua dulce apta para la industria alimentaria, y al mismo tiempo se genere una biomasa rica en saponinas con un alto porcentaje de rendimiento que permita su posterior valoración.

Por otra parte, la disminución en la incidencia de la contaminación por hongos en la semilla de quinua asociada a la reducción de saponinas es un hecho que también favorece el aprovechamiento de las saponinas como subproductos. Pappier y colaboradores [20] enfocaron su trabajo a la identificación de hongos en variedades de quinua obtenidas de diferentes regiones, y al análisis de la susceptibilidad al crecimiento de hongos y contaminación por micotoxinas en semillas sometidas o no a la remoción de saponinas a través del método húmedo. *Penicillium* y *Aspergillus* fueron los contaminantes prevalentes y esporádicamente se manifestaron otros géneros como *Eurotium*, *Fusarium*, *Phoma*, *Ulocladium*, *Mucor* y *Rhizopus*, *Absidia*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Dreschlera*, *Epicoccum* y *Monascus*. El procesamiento de las semillas generó una disminución de la incidencia de *Aspergillus* (*A. flavus* y *A. niger*), así como un incremento de la proporción de *Penicillium*, *Eurotium*, *Mucor* y *Rhizopus*. En muestras enteras y tratadas se detectaron hongos toxigénicos indicando que, probablemente, estos hacen parte de la micota interna y podrían ser capaces de producir micotoxinas en las distintas etapas poscosecha de las semillas. Además, los investigadores encontraron que después del proceso de remoción de saponinas la proporción de aislados toxigénicos aumentó, principalmente los productores de aflatoxinas; por lo anterior, postulan que las saponinas pueden tener un efecto inhibitorio sobre el potencial toxigénico de los aislados.

Otros procedimientos propuestos a fin de disminuir el contenido de saponinas debido a su carácter antinutricional para la industria alimentaria, y lo cuales indirectamente reducirían sustancialmente la producción de biomasa rica en saponinas, son las modificaciones genéticas. Ward [55] probó la inserción de un alelo recesivo designado como *sp1* en las líneas de día neutro de la madurez temprana mediante técnicas convencionales de retrocruzamiento, encontrando que las plantas homocigotas para *sp1* producirían descendientes con cero saponinas, fácilmente identificables, así como eliminarían la necesidad del procesamiento poscosecha del grano. Sin embargo, estas líneas tendrían que crecer completamente aisladas a fin de evitar mínimos niveles de polinización cruzada,

lo cual resultaría en la pérdida del genotipo dulce en las siguientes generaciones y en posibles ataques de insectos o pájaros.

EFFECTOS BIOLÓGICOS DE LAS SAPONINAS DE QUINUA

Dado que la implementación de los métodos convencionales de procesamiento del grano de quinua implica una remoción de saponinas menor a un 100%, es necesario revisar los efectos biológicos que promueven esos niveles residuales en los organismos tras el consumo de las semillas de quinua. En los últimos 20 años se han realizado estudios sobre la química y las propiedades farmacológicas de las saponinas. De esta manera, la literatura documenta muchas de sus propiedades, entre las que se destacan sus actividades hemolítica, antiadipogénica, inmunoadyuvante, citotóxica, antifúngica, antiinflamatoria, hipocolesterolémica, surfactante, antioxidante y molusquicida.

Actividad membranolítica, hipocolesterolémica, antiadipogénica y antinutricional

Investigaciones *in vitro* e *in vivo* en ratas han evidenciado la propiedad membranolítica de las saponinas de quinua sobre células del intestino delgado, además de causar un incremento en la permeabilidad de la mucosa [56]. La literatura describe que estos hechos provocarían un aumento en la tasa de exfoliación de las células intestinales, asociado a un incremento en la pérdida de colesterol por secreción fecal de ácidos biliares y esteroides neutros, dada la capacidad de las saponinas de unirse al colesterol de la bilis en el intestino causando lisis celular e impidiendo su reabsorción; además, ayudarían en la absorción de medicamentos específicos [57]. Pasko y colaboradores [58] determinaron que las semillas de quinua favorecieron considerablemente la disminución del colesterol total (26%), LDL (57%), los triglicéridos (11%), así como los niveles de glucosa (10%), e inhibieron la disminución del HDL en ratas wistar machos alimentados con altas cantidades de fructosa para inducir la oxidación, demostrando que las semillas son capaces de reducir gran parte de los efectos adversos ejercidos por la fructosa sobre el perfil lipídico y el nivel de glucosa.

En contraste al cambio en la concentración de HDL, Takao y colaboradores [59] indican una disminución no significativa con respecto al control. La literatura también expone que este efecto hipocolesterolémico de la quinua puede ser explicado por una combinación de las saponinas con la fibra y el escualeno contenidos en las semillas.

Por un lado, la fibra puede inhibir la absorción del colesterol dietario [59] y unirse a los ácidos biliares que favorecerían el catabolismo del colesterol o la fermentación de la fibra en el colón, y producir así ácidos grasos de cadena corta contribuyendo a la reducción de la síntesis de colesterol en el hígado [60]. De otra parte, el escualeno se

reporta como un inhibidor de la expresión del ARNm de la 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A, una enzima reductasa clave en la biosíntesis del colesterol [59]. De aquí que la disminución de los niveles de colesterol plasmático y en el hígado se entiendan a partir de la regulación que ejerce la quinua en la síntesis y el metabolismo del colesterol.

La obesidad es un estado nutricional que ocasiona preocupación a nivel mundial [61], no solo por sus altos niveles, sino también por todas las condiciones médicas asociadas. En este contexto, las saponinas de quinua han sido objeto de estudio durante el proceso de adipogénesis con el fin de evaluar su efecto en la diferenciación de los pre-adipocitos, en la formación de adipocitos maduros y en la expresión de los genes involucrados en la inducción del fenotipo de los adipocitos que están relacionados con la acumulación de grasa visceral intraabdominal [62] y directamente con la obesidad [63]. Yao y colaboradores [64] monitorearon el efecto de las saponinas de quinua a concentraciones de 50 y 25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ durante ocho días, sobre la acumulación lipídica intracelular en células 3T3-L1, y por medio de tinción con aceite rojo demostraron que las fracciones ensayadas disminuyeron la acumulación lipídica e inhibieron la diferenciación adipogénica. Adicionalmente, una disminución en el contenido de triglicéridos de las células tratadas (25,01% y 18,38 % con concentraciones de 25,0 mg/mL y 12,5 mg/mL de saponinas, respectivamente), respaldan los resultados. Asimismo, en estos experimentos los autores monitorearon los niveles del ARNm de PPAR γ , C/EBP α , C/EBP β , C/EBP δ y SREBP1c después de la inducción del proceso de diferenciación, es decir, después del día 8, determinando que las saponinas de quinua suprimieron significativamente la expresión de PPAR γ , C/EBP α y SREBP1c, los cuales actúan como los factores de transcripción determinantes durante la diferenciación de los adipocitos. Sin embargo, no lo hicieron de manera significativa en la expresión de C/EBP β y C/EBP δ . Los niveles de expresión del ARNm de la lipoproteína lipasa (LPL), la proteína adipocito 2 (aP2) (que corresponden a genes comprometidos en el metabolismo de ácidos grasos), y el transportador de glucosa 4 (Glut4), crean y mantienen el fenotipo del adipocito y son reguladores claves de la homeostasis de la glucosa en todo el organismo, también fueron evaluados; en este caso, el método de Western blot confirmó el efecto inhibitorio en su expresión que ocasionaron las dos concentraciones de saponinas.

Los niveles de saponinas de las semillas de quinua también se han implicado en la reducción de la ganancia de peso y consumo de alimento en animales. Improta y colaboradores [53] realizaron ensayos incluyendo semillas enteras de quinua en la alimentación de pollos de engorde. La incorporación de niveles de entre 100 y 400 g de semilla/kg peso del animal resultó en una significativa disminución en su crecimiento. Bajo condiciones similares de experimentación Jacobsen y colaboradores [49] detectaron que la remoción de aproximadamente un 80% de saponinas por descascarillado de la semilla, mejoró la ganancia de peso solo entre los días 6 y 13. Por otra parte, estudios realizados

con cochinitos mostraron que diferentes dosis de quinua (100- 300 mg/kg durante un período de cuatro días, o inclusión de un 5% y 10% de quinua por 5 semanas) no afectaron su desarrollo [65, 66].

En estos casos, los autores justifican los resultados por los niveles de saponina presentes en la dieta, entre 2,0% y 28,7%. Estos hallazgos se correlacionarían con lo expuesto previamente, puesto que si la presencia de saponinas induce un incremento en la conductancia del yeyuno, se promovería una disminución en la capacidad de absorber los nutrientes para el crecimiento y desarrollo normal del animal [63]. Adicionalmente, la disminución de la palatabilidad del grano debida a las saponinas explicaría la incidencia de la disminución de la ganancia de peso.

ACTIVIDAD HEMOLÍTICA, EFECTO ADYUVANTE, ACTIVIDAD CITOTÓXICA Y ANTIPROLIFERATIVA

La aglicona de las saponinas presenta afinidad con la región lipídica de la membrana celular, mientras los carbohidratos la presentan con los glucolípidos y glicoproteínas presentes en la periferia de la membrana, generando perturbación en la fluidez y permeabilidad de la membrana celular. De hecho, si existe una alta concentración de saponinas monoglicosiladas, la membrana celular puede sufrir rompimiento, por tanto, las saponinas di y triglicosiladas pueden provocar un menor impacto, debido principalmente a un impedimento estérico [1]. Este efecto se ha detectado en eritrocitos y otras células de animales, hongos e incluso bacterias [1, 31, 67]. La característica diferenciadora radica en la facilidad que tienen las saponinas monoglicosiladas para formar micelas y producir la lisis celular. Sin embargo, se ha encontrado que el número y tipo de monosacáridos, así como la presencia de los grupos hidroxilo o carboxilo sobre el anillo E esteroideal son determinantes en el aumento o disminución de la capacidad hemolítica, dado el arreglo tridimensional que sufre, favoreciendo la interacción entre la aglicona de las saponinas y el colesterol de la membrana celular del organismo, lo cual origina la ruptura de la membrana y la liberación de la hemoglobina al medio circundante [31, 68].

El mecanismo exacto responsable de la actividad hemolítica de las saponinas es aún desconocido. Sin embargo, reiteradamente se asocia el carácter anfílico de las estructuras de las saponinas con este efecto [69]. Woldemichael y colaboradores [31] determinaron que la saponina bidesmosídica identificada como ácido 3-O- β -glucuronopiranosil oleanólico 28-O- β -glucopiranosil éster fue la única especie activa en un test hemolítico, a una concentración de 260 μ g/mL, por lo que catalogan su actividad hemolítica como débil.

La búsqueda de vacunas más seguras y efectivas para animales y humanos ha motivado el estudio de metabolitos secundarios derivados de especies vegetales en la detección de nuevos inmunoadyuvantes. Las saponinas triterpénicas de la quinua se han evaluado como adyuvantes inmunológicos o agentes que realzan las respuestas inmunes específicas [69]. Particularmente, fracciones complejas de saponinas de quinua (compuestas por derivados de 2 o 6 saponogeninas) se han evaluado sobre la respuesta inmune celular y humoral de ratones inmunizados subcutáneamente con ovoalbúmina, encontrando que este tipo de saponinas poseen un efecto adyuvante, incluso con una baja actividad hemolítica (HD_{50} : $820,0 \pm 2,9$ y $61,5 \pm 3,9$ $\mu\text{g}/\text{mL}$), lo que las hace interesantes para ser utilizadas como adyuvantes en vacunas [69]. Actualmente, el reto en investigación es detectar esta propiedad para cada una de las saponinas de la quinua por separado.

En el desarrollo de nuevos inmunoadyuvantes un aspecto crítico es la toxicidad. Ensayos de toxicidad con preparaciones de saponinas extraídas de quinua han mostrado que los compuestos fisiológicamente activos permanecen en fracciones menos hidrofílicas, en las cuáles predominan saponinas derivadas de la hederagenina y del ácido oleanólico. Yao y colaboradores [48] utilizando el método estándar MTT (4,5 dimetil-2-tiazoil)-2,5-difeniltetrazólico) encontraron que la incubación de cultivos de macrófagos murinos RAW264.7, en presencia de varias concentraciones de saponinas de quinua (50, 100 y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$) durante 24 h no afectó la viabilidad celular. Por su parte, Yao y colaboradores [64] determinaron por este mismo método que la viabilidad de las células de preadipocitos 3T3-L1 disminuyó significativamente bajo incubación por 48 h con concentraciones de saponinas de 50, 100 y 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$; mientras que las concentraciones de saponinas de quinua que no generaron toxicidad en este tipo de células fueron de 12,5 y 25,0 $\mu\text{g}/\text{mL}$ [64]. Otro estudio demostró que la administración subcutánea de hasta 300 μg de saponinas de quinua a ratones no ocasionó su letalidad, ni signos de toxicidad local (hinchazón local, pérdida de cabello y piloerección) [69]. Sin embargo, una dosis de 266 μg ejerció un estímulo en la proliferación de esplenocitos en los ratones inmunizados con ovoalbúmina. Se observó un aumento significativo en la activación de las células T y B en los ratones inmunizados, demostrando que las saponinas de quinua pueden potenciar la respuesta inmune celular. No obstante, se detectó una modulación selectiva en función de la composición de las fracciones de saponinas evaluadas, es decir, la fracción constituida por glucósidos triterpénicos menos polares fue capaz de estimular ambas —la respuesta de inmunización celular (Th1) y la humoral (Th2) en menor proporción—, mientras que la fracción más polar ejerció su efecto adyuvante únicamente sobre la respuesta humoral [69].

La identificación de las saponogeninas presentes en las fracciones ensayadas permite a los autores plantear que derivados del ácido oleanólico podrían estar involucrados en las

respuestas Th1, lo cual se respalda además en la actividad inmunoadyuvante que se ha detectado en saponinas de este mismo tipo, contenidas en otras especies vegetales [70, 71].

Los extractos acuosos de la cáscara de quinua también se han estudiado por su capacidad para actuar como adyuvantes de la mucosa, a través de su administración intragástrica o intranasal a ratones, junto con la toxina del cólera o la ovoalbúmina, detectando que potenciaron las respuestas de los anticuerpos IgG e IgA a los antígenos en suero y en secreciones intestinales o pulmonares. [72]. Se presume que este efecto se debe a un incremento de la permeabilidad de la mucosa que, a su vez, permitiría una mayor captación del antígeno y, por ende, su potencial uso como adyuvantes para vacunas administradas vía mucosas.

De otra parte, la actividad citotóxica de las saponinas ha sido explorada y discutida en un sinnúmero de artículos científicos sobre distintas especies vegetales. Varios autores coinciden en que la estructura de la cadena del oligosacárido, los sitios de enlace interglucosídicos —más que el esqueleto de la sapogenina o la línea celular—, son los factores que definen las actividades citotóxicas de las saponinas [1, 13, 69, 73]; además, en que la presencia del ácido carboxílico libre en C-28 es esencial para la citotoxicidad [1, 31]. Kuljanabagavad y colaboradores [13] evaluaron la actividad citotóxica de cuatro saponinas (dos monodesmosídicas y dos bidesmosídicas) previamente identificadas, así como de sus respectivas sapogeninas en células HeLa por medio del ensayo MTT. El efecto citotóxico de las saponinas monodesmosídicas con el mismo peso molecular y con el enlace 1→3 en el C-3, y una molécula de glucosa unida en el C-28 fue similar ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$), mientras que sus respectivas agliconas presentaron un IC_{50} de 25,4 $\mu\text{g/mL}$, a pesar de que estructuralmente eran diferentes. Esto indica que los oligosacáridos posicionados en C-23 y C-27 en las saponinas se asocian con el incremento en la citotoxicidad. El efecto citotóxico de saponinas bidesmosídicas ($IC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$) fue también mayor que el determinado para sus sapogeninas, las cuales estructuralmente presentaron coincidencia excepto en el tipo de azúcar unido al C-3.

Otra actividad investigada con las saponinas de quinua ha sido la actividad antiproliferativa de líneas celulares de cáncer humano. Balsevich y colaboradores [74] midieron la actividad inhibitoria de las saponinas de quinua sobre las líneas celulares de cáncer de colon (WiDr), corazón (MDA-MB-231) y pulmón (NCI-417). Sin embargo, sus resultados no mostraron actividad ($IC_{50} > 50 \mu\text{g/mL}$). Kuljanabagavad y colaboradores [13] evaluaron los niveles de apoptosis inducidos por saponinas bidesmosídicas derivadas del ácido oleanólico y serjanico, y sus respectivas agliconas sobre la línea celular Caco-2, adenocarcinoma de cáncer de colon, mostrando un efecto apoptótico menor por las saponinas (~13-26%) que por las agliconas (~50%). Estos resultados

son comparables a los reportados para silibinin, el cual ha demostrado su capacidad de inhibición *in vivo* con incluso mayores valores de IC₅₀.

Actividad antiinflamatoria

Los medicamentos antiinflamatorios usualmente empleados pueden ser esteroidales y no esteroidales, sin embargo, su utilización durante largos períodos de tiempo ha mostrado efectos secundarios o toxicidad, tales como riesgos cardiovasculares o desórdenes gastrointestinales [72]. Dado lo anterior, la industria farmacéutica tiene un constante interés en encontrar nuevos agentes antiinflamatorios y menos tóxicos. La saponina denominada ácido 3-O-β-D-glucopiranosil oleanólico aislada de las semillas de *Randia dumetorum* Lam. [75], y de otras plantas [76-78], ha mostrado una importante actividad antiinflamatoria en las fases exudativa y de proliferación de la inflamación con dosis entre 25 y 100 mg/kg. Puesto que este mismo tipo de saponina ha sido previamente identificado en las semillas de quinua (véase tabla 1), se podría esperar la manifestación de esta misma actividad por la fracción de saponinas de quinua.

Los macrófagos tienen un rol clave en los procesos de inflamación. Una vez ellos son estimulados producen una serie de mediadores inflamatorios tales como el óxido nítrico (NO) (una molécula reactiva originada enzimáticamente a partir del nitrógeno guanidino de la L-arginina), el factor de necrosis tumoral (TNF-α) y la interleucina-6 (IL-6) (son citoquinas asociadas a la producción de NO), promoviendo procesos inflamatorios implicados en el proceso de inflamación [79]. Es por esto que la generación de estos intermediarios se monitorea con el fin de estudiar el efecto antiinflamatorio de nuevas especies. Yao y colaboradores [48] evaluaron el efecto antiinflamatorio de cuatro fracciones alcohólicas de saponinas de semillas de quinua cultivadas en China a diferentes concentraciones ([Q50] > [Q70] > [Q90] > [Q30]), sobre la línea celular de macrófagos murinos RAW264.7 estimulados con lipopolisacáridos (LPS). Los resultados probaron la capacidad de las saponinas de disminuir la producción de NO e inhibir la liberación de citoquinas inflamatorias TNF-α y la IL-6. El efecto supresor de la producción de NO con una tasa inhibitoria >25% se observó a una concentración de saponinas de 100 μg/mL; la producción de TNF-α y IL-6 fue inhibida a partir de una concentración de 100 μg/mL, y dicho efecto incrementó proporcionalmente con la dosis. Concentraciones de 200 μg/mL de las cuatro fracciones de saponinas inhibieron significativamente la producción de TNF-α en un 80%, 66%, 49% y 33%, en función del nivel de saponinas presentes en cada fracción, siendo mayor el efecto ocasionado por la fracción Q50. La producción de IL-6 se disminuyó en un 90%, 72%, 67% y 71% por acción de Q50, Q70, Q90 y Q30, respectivamente. Esta actividad fue atribuida principalmente a saponinas triterpénicas derivadas de la hederagenina y a los ácidos

oleanólico y serjanico; sin embargo, los autores plantean la necesidad de estudios con saponinas purificadas que permitan elucidar la o las saponinas activas.

Actividad antifúngica

La actividad fúngica de las saponinas es usualmente menor que la de las agliconas, es decir, hay una influencia por el grupo funcional de los esqueletos de aglicona. El oligosacárido en C-3 juega un papel crítico, tanto en la permeabilización, como en la propiedad antifúngica de las saponinas [1]. La fracción cruda del extracto metanólico de saponinas de quinua, conteniendo estructuras bi- y monodesmosídicas derivadas de la hederagenina y de los ácidos oleanólico y fitolacagénico, inhibieron el crecimiento de *Candida albicans* (hongo de interés médico) con una concentración de 50 µg/mL. No obstante, ensayos similares con las fracciones de saponinas individuales mostraron mayores concentraciones mínimas inhibitorias ($500 \mu\text{g/mL} < \text{MIC} \leq 100 \mu\text{g/mL}$), evidenciando un sinergismo entre los compuestos ensayados [31]. Esta pérdida de actividad antifúngica coincide con lo reportado para glucósidos del ácido oleanólico y hederagenina con carbohidratos de cadenas cortas extraídos de las raíces de los guisantes y de las hojas de la remolacha [80].

Stuardo y colaboradores [81] probaron la actividad antifúngica de seis extractos de saponinas de quinua crudos, puros y tratados con álcali con y sin incubación térmica en contra de *Botrytis cinerea*. Los extractos no tratados con álcali mostraron una actividad mínima en contra del crecimiento micelial de *B. cinerea* y no evidenciaron efectos en la germinación conidial, incluso a una concentración de 7 mg de saponinas/mL. En contraste, el tratamiento alcalino favoreció la actividad. Dosis de 5 mg de saponinas/mL inhibieron el 100% de la germinación conidial hasta después de 96 h de incubación a 20 °C. Ensayos con tinción demostraron que la integridad de la membrana fúngica sufrió ruptura, en los casos en que las saponinas fueron tratadas con álcali; mientras que las membranas tratadas con saponinas sin tratamiento alcalino permanecieron intactas. Con estas observaciones los autores infieren que probablemente se promueve la formación de derivados de saponinas con mayor carácter hidrofóbico, lo cual posibilitaría una mayor afinidad con los esteroides presentes en las membranas celulares y, por lo tanto, una mayor actividad.

La literatura también reporta varias patentes que describen el uso de las saponinas de quinua como una base para la protección de las plantas (tomate o papa) en contra de enfermedades causadas por bacterias y hongos (por ejemplo, hongos pertenecientes a las familias *Taphrinaceae*, *Taphrina*, *T. deformans*, *Venturiaceae*, entre otras), entendida principalmente por la presencia de saponinas derivadas del ácido oleanólico y que repercuten en el mejoramiento del rendimiento y la calidad de la producción de la planta [82-84].

Actividad surfactante y antioxidante

El extracto hidroalcohólico de la cáscara de las semillas de quinua fue examinado para la actividad surfactante, en términos de la liberación de hemoglobina por los glóbulos rojos de ratas macho adultas sprague dawley por Letelier y colaboradores [68]. El extracto de quinua promovió la liberación de la hemoglobina con un comportamiento dependiente de la concentración similar al control positivo (Tritón X-100); el 50% del efecto máximo (EC_{50}) se alcanzó con una concentración de 26,3 μ L de extracto de quinua / 10^7 glóbulos rojos. En esta investigación, los autores también evaluaron la actividad antioxidante del extracto de quinua usando microsomas del hígado de rata como sistema biológico y Cu^{2+} /ascorbato como un sistema generador de especies reactivas de oxígeno (ERO). El extracto de quinua inhibió la peroxidación lipídica y la pérdida del contenido de tiol microsomal, resultando un mejor protector de los grupos tiol que de los lípidos microsomales (EC_{50} : 16,85 y 10 μ L, respectivamente). Estos grupos tiol (glutación, GSH, en el hígado) se constituyen en las principales moléculas antioxidantes no enzimáticas. La mayoría de las enfermedades asociadas con estrés oxidativo, además de los desórdenes degenerativos, cáncer y enfermedades cardiovasculares, se caracterizan por una disminución de GSH o de la relación GSH/GSSG. El extracto de quinua inhibió la formación del dímero GSSG y favoreció la forma GSH a través de la activación de la glutación-S-transferasa (GST) por acción del H_2O_2 ; en otras palabras, se podría pensar que el extracto de quinua actúa como agente reductor de los puentes disulfuro [68].

Revisando lo reportado para glucósidos triterpénicos similares a los identificados en quinua, se destacan los resultados descritos por Gulcin y colaboradores [85] para el compuesto [3-O-(β -D-glucopiranosil)-hederagenina] (OGH). A una concentración de 30 μ g/mL, los efectos inhibidores de OGH sobre la peroxidación de la emulsión de ácido linoleico fue del 95,3%, mientras que el α -tocoferol y Trolox exhibieron un 88,8% y 86,2% de inhibición de la peroxidación en el sistema, respectivamente. Además, OGH mostró efectividad de otras actividades antioxidantes (eliminación de especies reactivas, poder reductor y quelación de metales), comparables a las del α -tocoferol y Trolox.

Actividad molusquicida

El uso de saponinas de quinua como molusquicida en contra de los caracoles *Pomacea canaliculata* (o comúnmente conocido como caracol manzana o GAS por su sigla en inglés) que afectan dramáticamente los cultivos de arroz, ha sido valorado bajo condiciones de laboratorio simulando las condiciones del cultivo de arroz de Filipinas, y de manera preliminar bajo condiciones de campo en Argentina [40, 42]. Los ensayos en contra de GAS con las cáscaras de quinua no mostraron actividad hasta una

concentración de 35 ppm de saponinas (121 ppm de producto) [42]. Sin embargo, el pre-tratamiento alcalino de las cáscaras ocasionó la muerte completa de los GAS con una concentración de 33 ppm del producto (estos resultados fueron reproducibles en campo). En este caso, el tratamiento alcalino favorece el contenido de saponinas monodesmosídicas que son más activas que las bidesmosídicas, así como la formación de complejos hidrofóbicos entre las saponinas y otros metabolitos que tendrían una mayor afinidad con el colesterol presente en las branquias de los GAS.

Adicionalmente, los autores encontraron ventajoso que el uso de este producto a la concentración más alta (54 ppm) no generó toxicidad para el pez dorado y la tilapia. Joshi y colaboradores [40] determinaron que el grado de protección de las semillas germinadas de arroz era directamente proporcional a la concentración de saponinas en el agua de arroz. A concentraciones de 9 y 11 ppm de saponinas, la protección de las plántulas contra GAS de diferentes tamaños después de 48 h fue de 93% y 95%, respectivamente, y la recuperación de las plántulas después de cinco días con una concentración de saponinas de 11 ppm fue del 93%, siendo entonces más ventajoso que los molusquicidas sintéticos como la niclosamida que disminuyen drásticamente este proceso (4%). El 55% de la mortalidad de los GAS se presentó entre 24 y 48 h, por lo que se presume que el efecto protector es debido a un cierre casi inmediato de los opérculos del caracol cuando se expone a soluciones de saponina y lo preceden las tasas de mortalidad significativas dentro de 24 y 48 h. A pesar de que el producto afectó ligeramente el crecimiento de los brotes, este desapareció con el tiempo y las plantas se desarrollaron de manera normal.

CONCLUSIONES

La quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.) se reconoce como una fuente promisoría de saponinas de interés por sus propiedades biológicas. Estos metabolitos se han detectado en las flores, los tallos, los frutos y los granos, con mayor prevalencia en la cáscara. La literatura reporta la identificación de más de 30 saponinas triterpénicas cuyas diferencias estructurales están asociadas a diferentes propiedades biológicas, tales como actividad hemolítica, citotóxica, antioxidante, surfactante, molusquicida, antiadipogénica, hipocolesterolemica, adyuvante y antiinflamatoria.

Las saponinas se consideran las responsables del sabor amargo de las semillas, por lo que para la industria alimentaria se constituyen en un residuo derivado del procesamiento de las semillas requerido para su consumo, el cual se puede valorizar. A pesar de que es una especie procedente de los Andes suramericanos, su cultivo ha traspasado fronteras gracias a su bondadosa adaptación edafológica, por lo que esta revisión se

convierte en un documento que muestra las ventajosas propiedades biológicas que han sido poco exploradas hasta el momento y son aún retos de investigación para su futuro uso en el campo farmacéutico y nutracéutico.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad del Cauca, Colombia, y su Vicerrectoría de Investigaciones por financiar los proyectos VRI-4346 y VRI-4378, en los cuales se enmarca este artículo.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. T. Kuljanabhadgavad, M. Wink, Biological activities and chemistry of saponins from *Chenopodium quinoa* Willd., *Phytochemistry Reviews*, **8**, 473 (2009).
2. C. Wahli, "Quinoa: hacia su cultivo comercial", Latinreco S.A. Eds., Quito, 1990, 10 p.
3. A.M. Gómez-Caravaca, G. Iafelice, A. Lavini, C. Pulvento, M.F. Caboni, E. Marconi, Phenolic compounds and saponins in quinoa samples (*Chenopodium quinoa* Willd.) grown under different saline and nonsaline irrigation regimens, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60**, 4620 (2012).
4. C. Mota, M. Santos, R. Mauro, N. Samman, A.S. Matos, D. Torres, I. Castanheira, Protein content and amino acids profile of pseudocereals, *Food Chemistry*, **193**, 55 (2016).
5. V. Nowak, J. Du, U.R. Charrondièrre, Assessment of the nutritional composition of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), *Food Chemistry*, **193**, 47 (2016).
6. D. Chito, A. Ortega, A. Ahumada, B. Rosero, Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) versus soja (*Glycine Max.*) en la nutrición humana: revisión sobre las características agroecológicas, composicionales y tecnológicas, *Revista Española de Nutrición y Dietética*, Aceptado para publicación (2016).

7. M.J. Koziol, Chemical composition and nutritional evaluation of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), *Journal of Food Composition and Analysis*, **5**, 35 (1992).
8. M. Lutz, A. Martínez, E.A. Martínez, Daidzein and Genistein contents in seeds of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) from local ecotypes grown in arid Chile, *Industrial Crops and Products*, **49**, 117 (2013).
9. N.T. Ahamed, R.S. Singhal, P.R. Kulkarni, M. Pal, A lesser-known grain, *Chenopodium Quinoa*: Review of the chemical composition of its edible parts, *Food and Nutrition Bulletin*, **19**, 61 (1998).
10. A. Vega-Galvez, M. Miranda, J. Vergara, E. Uribe, L. Puente, E.A. Martínez, Nutrition facts and functional potential of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), an ancient Andean grain: a review, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **90**, 2541 (2010).
11. A.M. Gómez-Caravaca, G. Iafelice, V. Verardo, E. Marconi, M.F. Caboni, Influence of pearling process on phenolic and saponin content in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), *Food Chemistry*, **157**, 174 (2014).
12. H.D. Mastebroek, H. Limburg, T. Gilles, H.J.P. Marvin, Occurrence of saponins in leaves and seeds of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd), *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **80**, 152 (2000).
13. T. Kuljanabagavad, P. Thongphasuk, W. Chamulitrat, M. Wink, Triterpene saponins from *Chenopodium quinoa* Willd, *Phytochemistry*, **69**, 1919 (2008).
14. A. Mostafa, J. Sudisha, M. El-Sayed, S.-I. Ito, T. Ikeda, N. Yamauchi, M. Shigyo, Aginoside saponin, a potent antifungal compound, and secondary metabolite analyses from *Allium nigrum* L, *Phytochemistry Letters*, **6**, 274 (2013).
15. T.J. Ha, B.W. Lee, K.H. Park, S.H. Jeong, H.-T. Kim, J.-M. Ko, I.-Y. Baek, J.H. Lee, Rapid characterisation and comparison of saponin profiles in the seeds of Korean Leguminous species using ultra performance liquid chromatography with photodiode array detector and electrospray ionisation/mass spectrometry (UPLC–PDA–ESI/MS) analysis, *Food Chemistry*, **146**, 270 (2014).
16. A.J. Pérez, J.M. Calle, A.M. Simonet, J.O. Guerra, A. Stochmal, F.A. Macías, Bioactive steroidal saponins from *Agave offoyana* flowers, *Phytochemistry*, **95**, 298 (2013).
17. J.M. Augustin, V. Kuzina, S.B. Andersen, S. Bak, Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins, *Phytochemistry*, **72**, 435 (2011).

18. C.Y. Cheok, H.A.K. Salman, R. Sulaiman, Extraction and quantification of saponins: A review, *Food Research International*, **59**, 16 (2014).
19. E. Wina, S. Muetzel, K. Becker, The impact of saponins or saponin-containing plant materials on ruminant production-a review, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **53**, 8093 (2005).
20. U. Pappier, V. Fernández Pinto, G. Larumbe, G. Vaamonde, Effect of processing for saponin removal on fungal contamination of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa* Willd.), *International Journal of Food Microbiology*, **125**, 153 (2008).
21. A. Sun, X. Xu, J. Lin, X. Cui, R. Xu, Neuroprotection by saponins, *Phytotherapy Research*, **29**, 187 (2015).
22. L. Heng, J.P. Vincken, K. Hoppe, G.A. van Koningsveld, K. Decroos, H. Gruppen, M.A.J.S. van Boekel, A.G.J. Voragen, Stability of pea DDMP saponin and the mechanism of its decomposition, *Food Chemistry*, **99**, 326 (2006).
23. O. Guclu-Ustundag, G. Mazza, Saponins: properties, applications and processing, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, **47**, 231 (2007).
24. Y. Diab, E. Ioannou, A. Emam, C. Vagias, V. Roussis, Desmettianosides A and B, bisdesmosidic furostanol saponins with molluscicidal activity from *Yucca desmettiana*, *Steroids*, **77**, 686 (2012).
25. C.-H. Yang, Y.-C. Huang, Y.-F. Chen, M.-H. Chang, Foam properties, detergent abilities and long-term preservative efficacy of the saponins from *Camellia oleifera*, *Journal of Food and Drug Analysis*, **18**, 4417 (2010).
26. A. Mroczek, Phytochemistry and bioactivity of triterpene saponins from Amaranthaceae family, *Phytochemistry Reviews*, **14**, 577 (2015).
27. K. Gupta, G.K. Barat, D.S. Wagle, H.K.L. Chawla, Nutrient contents and anti-nutritional factors in conventional and non-conventional leafy vegetables, *Food Chemistry*, **31**, 105 (1989).
28. C. Cuadrado, G. Ayet, C. Burbano, M. Muzquiz, L. Camacho, E. Cavieres, Occurrence of saponins and sapogenols in Andean crops, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **67**, 169 (1995).
29. T. Madl, H. Sterk, M. Mittelbach, G.N. Rechberger, Tandem mass spectrometric analysis of a complex triterpene saponin mixture of *Chenopodium quinoa*, *Journal of the American Society For Mass Spectrometry*, **17**, 795 (2006).

30. N. Zhu, S. Sheng, S. Sang, J.-W. Jhoo, N. Bai, M.V. Karwe, R.T. Rosen, C.-T. Ho, Triterpene saponins from debittered quinoa (*Chenopodium quinoa*) seeds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **50**, 865 (2002).
31. G.M. Woldemichael, M. Wink, Identification and biological activities of triterpenoid saponins from *Chenopodium quinoa*, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 2327 (2001).
32. A.M. Gomez-Caravaca, A. Segura-Carretero, A. Fernandez-Gutierrez, M.F. Caboni, Simultaneous determination of phenolic compounds and saponins in quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd) by a liquid chromatography-diode array detection-electrospray ionization-time-of-flight mass spectrometry methodology, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **59**, 10815 (2011).
33. F. Mizui, R. Kasai, K. Ohtani, O. Tanaka, Saponins from brans of Quinoa, *Chenopodium quinoa* Willd. I., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **36**, 1415 (1988).
34. I. Dini, O. Schettino, T. Simioli, A. Dini, Studies on the constituents of *Chenopodium quinoa* seeds: isolation and characterization of new triterpene saponins, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **49**, 741 (2001).
35. J. Fiallos-Jurado, J. Pollier, T. Moses, P. Arendt, N. Barriga-Medina, E. Morillo *et al.*, Saponin determination, expression analysis and functional characterization of saponin biosynthetic genes in *Chenopodium quinoa* leaves, *Plant Science*, **250**, 188 (2016).
36. F. Mizui, R. Kasai, K. Ohtani, O. Tanaka, Saponins from *Bran of Quinoa*, *Chenopodium quinoa* Willd. II., *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, **38**, 375 (1990).
37. K.G. Ng, K.R. Price, G.R. Fenwick, A TLC method for the analysis of quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins, *Food Chemistry*, **49**, 311 (1994).
38. C.L. Ridout, K.R. Price, M.S. Dupont, M.L. Parker, G.R. Fenwick, Quinoa saponins—analysis and preliminary investigations into the effects of reduction by processing, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **54**, 165 (1991).
39. V. Gianna, J.M. Montes, E.L. Calandri, C.A. Guzmán, Impact of several variables on the microwave extraction of *Chenopodium quinoa* Willd saponins, *International Journal of Food Science and Technology*, **47**, 1593 (2012).
40. R.C. Joshi, R. San Martín, C. Saez-Navarrete, J. Alarcon, J. Sainz, M.M. Antolin *et al.*, Efficacy of quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins against golden apple

- snail (*Pomacea canaliculata*) in the Philippines under laboratory conditions, *Crop Protection*, **27**, 553 (2008).
41. S. Valencia-Chamorro, Quinoa, en: "Encyclopedia of Food Science and Nutrition", Editado por B. Cabalero, Academic Press, Amsterdam, 2003, pp. 4895-4902.
 42. R. San Martín, K. Ndjoko, K. Hostettmann, Novel molluscicide against *Pomacea canaliculata* based on quinoa (*Chenopodium quinoa*) saponins, *Crop Protection*, **27**, 3 (2008).
 43. F. Fuentes, Mejoramiento genético de la quinoa, *Agricultura del Desierto*, **4**, 71 (2008).
 44. A. Zurita-Silva, F. Fuentes, P. Zamora, S.-E. Jacobsen, A. Schwember, Breeding quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.): potential and perspectives, *Molecular Breeding*, **34**, 13 (2014).
 45. J. Nickel, L.P. Spanier, F.T. Botelho, M.A. Gularte, E. Helbig, Effect of different types of processing on the total phenolic compound content, antioxidant capacity, and saponin content of *Chenopodium quinoa* Willd grains, *Food Chemistry*, **209**, 139 (2016).
 46. M. Miranda, A. Vega-Gálvez, E.A. Martínez, J. López, R. Marín, M. Aranda, F. Fuentes, Influence of contrasting environments on seed composition of two quinoa genotypes: nutritional and functional properties, *Chilean Journal of Agricultural Research*, **73**, 108 (2013).
 47. M. Miranda, A. Vega-Gálvez, I. Quispe-Fuentes, M.J. Rodríguez, H. Maureira, E.A. Martínez, Nutritional aspects of six quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) ecotypes from three geographical areas of Chile, *Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA)*, **72**, 175 (2012).
 48. Y. Yao, X. Yang, Z. Shi, G. Ren, Anti-Inflammatory activity of saponins from Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages cells, *Journal of Food Science*, **79**, H1018 (2014).
 49. E.E. Jacobsen, B. Skadhauge, S.E. Jacobsen, Effect of dietary inclusion of quinoa on broiler growth performance, *Animal Feed Science and Technology*, **65**, 5 (1997).
 50. A. Vega-Gálvez, R. San Martín, M. Sanders, M. Miranda, E. Lara, Characteristics and mathematical modeling of convective drying of quinoa (*Chenopodium*

- quinoa* Willd.): Influence of temperature on the kinetic parameters, *Journal of Food Processing and Preservation*, **34**, 945 (2010).
51. I. Quispe-Fuentes, A. Vega-Gálvez, M. Miranda, R. Lemus-Mondaca, M. Lozano, K. Ah-Hen, A Kinetic approach to saponin extraction during washing of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds, *Journal of Food Process Engineering*, **36**, 202 (2013).
 52. V. Gianna, J.M. Montes, E.L. Calandri, C.A. Guzmán, Impact of several variables on the microwave extraction of *Chenopodium quinoa* Willd saponins, *International Journal of Food Science and Technology*, **47** (2012).
 53. F. Improta, R.O. Kellems, Comparison of raw, washed and polished quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to wheat, sorghum or maize based diets on growth and survival of broiler chicks, *Livestock Research for Rural Development*, **13**, 1 (2001).
 54. J. Ruales, B.M. Nair, Saponins, phytic acid, tannins and protease inhibitors in quinoa (*Chenopodium quinoa*, Willd) seeds, *Food Chemistry*, **48**, 137 (1993).
 55. S.M. Ward, A recessive allele inhibiting saponin synthesis in two lines of Bolivian quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.), *Journal of Heredity*, **92**, 83 (2001).
 56. J.M. Gee, K.R. Price, C.L. Ridout, G.M. Wortley, R.F. Hurrell, I.T. Johnson, Saponins of quinoa (*Chenopodium quinoa*): Effects of processing on their abundance in quinoa products and their biological effects on intestinal mucosal tissue, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, **63**, 201 (1993).
 57. A.M. Maradini Filho, M.R. Pirozi, J.T. Da Silva Borges, H.M. Pinheiro Sant'Ana, J.B. Paes Chaves, J.S. Dos Reis Coimbra, Quinoa: Nutritional, functional and antinutritional aspects, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* (2016), doi: <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2014.1001811>.
 58. P. Pasko, P. Zagrodzki, H. Barton, J. Chlopicka, S. Gorinstein, Effect of quinoa seeds (*Chenopodium quinoa*) in diet on some biochemical parameters and essential elements in blood of high fructose-fed rats, *Plant Foods for Human Nutrition*, **65**, 333 (2010).
 59. T. Takao, N. Watanabe, K. Yuhara, S. Itoh, S. Suda, Y. Tsuruoka, K. Nakatsugawa, Y. Konishi, Hypocholesterolemic effect of protein isolated from Quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) seeds, *Food Science and Technology Research*, **11**, 161 (2005).

60. N.L. Escudero, F. Zirulnik, N.N. Gomez, S.I. Mucciarelli, M.S. Gimenez, Influence of a protein concentrate from *Amaranthus cruentus* seeds on lipid metabolism, *Experimental Biology and Medicine (Maywood)*, **231**, 50 (2006).
61. R.A. Ortega-Bonilla, D.M. Chito-Trujillo, Prevalence of overweight and obesity in schoolchildren of a rural Colombian community, *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, **19**, 212 (2015).
62. S. Fujioka, Y. Matsuzawa, K. Tokunaga, S. Tarui, Contribution of intra-abdominal fat accumulation to the impairment of glucose and lipid metabolism in human obesity, *Metabolism*, **36**, 54 (1987).
63. T.G. Simnadis, L.C. Tapsell, E.J. Beck, Physiological effects associated with quinoa consumption and implications for research involving humans: A review, *Plant Foods for Human Nutrition*, **70**, 238 (2015).
64. Y. Yao, Y. Zhu, Y. Gao, Z. Shi, Y. Hu, G. Ren, Suppressive effects of saponin-enriched extracts from quinoa on 3T3-L1 adipocyte differentiation, *Food and Function*, **6**, 3282 (2015).
65. D. Carlson, J.A. Fernandez, H.D. Poulsen, B. Nielsen, S.E. Jacobsen, Effects of quinoa hull meal on piglet performance and intestinal epithelial physiology, *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, **96**, 198 (2012).
66. J. Diaz, M. Diaz, S. Cataneda, A note on the use of *Chenopodium Quinoa* forage meal in pre-fattening pigs, *Cuban Journal of Agricultural Science*, **29**, 223 (1995).
67. F. De Costa, A. CA Yendo, J. D Fleck, G. Gosmann, A. G Fett-Neto, Immunoadjuvant and anti-inflammatory plant saponins: Characteristics and biotechnological approaches towards sustainable production, *Minireviews in Medicinal Chemistry*, **11**, 857 (2011).
68. M.E. Letelier, C. Rodríguez-Rojas, S. Sánchez-Jofré, P. Aracena-Parks, Surfactant and antioxidant properties of an extract from *Chenopodium quinoa* Willd seed coats, *Journal of Cereal Science*, **53**, 239 (2011).
69. S.G. Verza, F. Silveira, S. Cibulski, S. Kaiser, F. Ferreira, G. Gosmann *et al.*, Immunoadjuvant activity, toxicity assays, and determination by UPLC/Q-TOF-MS of triterpenic saponins from *Chenopodium quinoa* seeds, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, **60**, 3113 (2012).

70. H.X. Sun, Adjuvant effect of *Achyranthes bidentata* saponins on specific antibody and cellular response to ovalbumin in mice, *Vaccine*, **24**, 3432 (2006).
71. H.-X. Sun, H.-J. Pan, Immunological adjuvant effect of *Glycyrrhiza uralensis* saponins on the immune responses to ovalbumin in mice, *Vaccine*, **24**, 1914 (2006).
72. A. Estrada, B. Li, B. Laarveld, Adjuvant action of *Chenopodium quinoa* saponins on the induction of antibody responses to intragastric and intranasal administered antigens in mice, *Comparative Immunology, Microbiology and Infectious Diseases*, **21**, 225 (1998).
73. G. Timité, A.-C. Mitaine-Offer, T. Miyamoto, C. Tanaka, J.-F. Mirjolet, O. Duchamp, M.-A. Lacaille-Dubois, Structure and cytotoxicity of steroidal glycosides from *Allium schoenoprasum*, *Phytochemistry*, **88**, 61 (2013).
74. J.J. Balsevich, I. Ramirez-Erosa, R.A. Hickie, D.M. Dunlop, G.G. Bishop, L.K. Deibert, Antiproliferative activity of *Saponaria vaccaria* constituents and related compounds, *Fitoterapia*, **83**, 170 (2012).
75. D. Ghosh, P. Thejomoorthy-Veluchamy, Anti-inflammatory and analgesic activities of oleanolic acid 3-/3- Glucoside (RDG-1) from *Randia dumetorum* (Rubiaceae), *Indian Journal of Pharmacology*, **15**, 331 (1983).
76. D. da Silva Ferreira, V.R. Esperandim, M.P.A. Toldo, J. Saraiva, W.R. Cunha, S. De Albuquerque, Trypanocidal activity and acute toxicity assessment of triterpene acids, *Parasitology Research*, **106**, 985 (2010).
77. A. Pandey, M. Rizvi, B.A. Shah, S. Bani, Anti-arthritogenic effect of Saponin-1 by alteration of Th1/Th2 cytokine paradigm in arthritic mice, *Cytokine*, **79**, 103 (2016).
78. J. Pollier, A. Goossens, Oleanolic acid, *Phytochemistry*, **77**, 10 (2012).
79. Y.-Z. Yang, Y.-Z. Tang, Y.-H. Liu, Wogonoside displays anti-inflammatory effects through modulating inflammatory mediator expression using RAW264.7 cells, *Journal of Ethnopharmacology*, **148**, 271 (2013).
80. M. Anisimov, V.J. Chirva, Die biologische Bewertung von Triterpenglykoside, *Pharmazie*, **35**, 731 (1980).

81. M. Stuardo, R. San Martín, Antifungal properties of quinua (*Chenopodium quinoa* Willd) alkali treated saponins against *Botrytis cinerea*, *Industrial Crops and Products*, **27**, 236 (2008).
82. M.V. Bengtsson, J.R. Hockenhull, T. Elgaard, B.K.K. Nielsen, M. Damsø, “A natural product having a fungus inhibiting effect on specific fungal pathogens and a growth promoting effect for improving plant production”, Google Patents, EP 1867230 A3, URL: <http://www.google.co.in/patents/EP1867230A2?cl=en>, 2007, consultado en octubre de 2016.
83. J.M. Dutcheshen, “Method of protecting plants from bacterial diseases”, Google Patents, US 6743752 B2, URL: <https://www.google.ch/patents/US6743752>, 2004, consultado en octubre de 2016.
84. J. Dutcheshen, “Method of protecting plants from bacterial and fungal diseases”, Google Patents, US 20050261129 A1, URL: <https://www.google.ch/patents/US20050261129>, 2005, consultado en octubre de 2016.
85. I. Gulcin, V. Mshvildadze, A. Gepdiremen, R. Elias, The antioxidant activity of a triterpenoid glycoside isolated from the berries of *Hedera colchica*: 3-O-(beta-D-glucopyranosyl)-hederagenin, *Phytotherapy Research*, **20**, 130 (2006).

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

A. Ahumada, A. Ortega, D. Chito, R. Benítez, Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(3), 438-469 (2016).

Validación de una metodología analítica USP por HPLC para la cuantificación de warfarina sódica en tabletas

Fredys Sánchez-Hoyos¹, Argenis Cárdenas¹, Jairo Mercado-Camargo^{1,2}, Gina Domínguez-Moré³, Harold Gómez-Estrada^{1*}

¹ Grupo de Investigación en Química de Medicamentos, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

* Correo electrónico: hgomez@unicartagena.edu.co

² Unidad de Prestación de Servicios Rafael Ruiz Arango, Facultad de Ciencias Farmacéuticas, Universidad de Cartagena, Cartagena, Colombia

³ Facultad de Química y Farmacia, Universidad del Atlántico, Barranquilla, Colombia

Recibido para evaluación: 16 de agosto del 2016

Aceptado para publicación: 5 de diciembre del 2016

RESUMEN

La metodología analítica para la cuantificación de warfarina sódica en tabletas de 5 mg fue estandarizada y validada mediante cromatografía líquida de alta eficiencia acoplada a detector de arreglo de diodo (HPLC-DAD). Se usó como fase móvil una mezcla compuesta por MeOH-AcOH-H₂O (68:1:32), una columna cromatográfica C8e Phenomenex® de 150 x 4,6 mm y tamaño de partícula de 5 µm. Los resultados analíticos muestran que el método es preciso, exacto y selectivo para este fármaco. La curva de calibración se realizó en un intervalo del 80 al 120%, en una concentración nominal de 0,1mg/mL, demostrando ser lineal con un coeficiente de correlación a $r^2 > 0,990$; el porcentaje de recuperación fue de $98,1\% \pm 1,3$, la precisión medida a través de la repetibilidad y la precisión intermedia fue adecuada (%RSD < 2). En la prueba de disolución se encontró un porcentaje de $92,3\% \pm 3,0$. Por lo tanto, la metodología desarrollada cumple con las especificaciones establecida por la USP 38/NF33.

Palabras claves: Validación de métodos analíticos, warfarina sódica, HPLC-DAD.

SUMMARY

Validation of an analytical HPLC method for the quantification of warfarin sodium in tablets

The analytic methodology for the quantification of sodium warfarin tablets of 5 mg was standardized and validated by High Efficiency Liquid Chromatography coupled to Diode Array Detector (HPLC-DAD). A mixture of MeOH-AcOH-H₂O (68:1:32) was used like mobil phase, a chromatographic column C8e Phenomenex® of 150x4.6 mm and a particle size of 5 µm. The analytic results show that the method is precise, accurate and selective for this drug. The calibration curve was performed in the range of 80 to 120% at a nominal concentration of 0.1 mg/mL, demonstrating to be linear with a correlation coefficient at $r^2 > 0.990$; recovery rate was $98.1\% \pm 1.3$ and the precision measured through repeatability and intermediate accuracy was adequate (% RSD <2). A percent of $92.3\% \pm 3.0$ was found in dissolution test, thus, the methodology developed complies with the specifications established by USP 38/NF33.

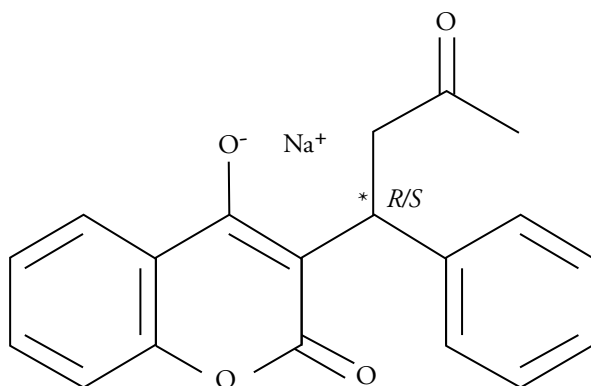
Keywords: Validation of analytical methods, sodium warfarin, HPLC-DAD.

INTRODUCCIÓN

La warfarina (de las siglas “Wisconsin Alumni Research Foundation”, terminado en “arina”, de cumarina) fue descubierta en 1940 por Karl Paul Link, químico de la Universidad de Wisconsin, Estados Unidos [1]. La warfarina es uno de los medicamentos más prescritos en el mundo, usado como anticoagulante oral en profilaxis y el tratamiento de eventos trombóticos: embolismo pulmonar, cardiomiopatías, en complicaciones tromboembólicas asociadas con fibrilación auricular, oclusión vascular retinal y embolismo cerebral, entre otros, así como en el manejo de la terapia antitrombótica, seguida de la intervención coronaria percutánea en pacientes con fibrilación auricular [2].

La warfarina es un derivado sintético de la cumarina, la cual actúa inhibiendo la síntesis por inhibición de la gamma carboxilación de los factores de la coagulación dependientes de la vitamina K, entre los que se encuentran los factores II, VII, IX y X, y las proteínas anticoagulantes C y S.3 [3-6]. En la actualidad se dispone de preparaciones comerciales compuestas por una mezcla racémica de su sal sódica *R* y *S* (1), siendo la *S*-warfarina levorrotatoria cuatro veces más potente en su antagonismo con la vitamina K. Después de su administración oral, la warfarina se absorbe prácticamente en su

totalidad (~90%) con una concentración plasmática máxima observada en las primeras cuatro horas. Este fármaco se elimina casi completamente mediante metabolización por las enzimas microsomales hepáticas (complejo citocromo P-450: por las isoenzimas 2C9, 2C19, 2C8, 2C18, 1A1, 1A2, y 3A4), originando metabolitos hidroxilados inactivos o reducidos, eliminados preferentemente en la orina [5-7]. Aspectos relacionados con la seguridad y con una alta tasa de complicaciones potencialmente mortales han limitado su uso en forma generalizada. El riesgo de sangrado durante el tratamiento con warfarina es probable en personas de más de 65 años, en personas que toman dosis altas de warfarina, o las que toman este medicamento por períodos largos. En algunas ocasiones el tratamiento con warfarina puede causar dolor, hinchazón o incomodidad, sangrado de una cortada que no se detiene en la cantidad de tiempo usual, sangrado de nariz o de las encías, tos, algunas veces acompañada con sangrado, moretones o sangrado inusuales, sangrado vaginal o flujo menstrual más de lo normal, orina de color rosado, rojo o café oscuro, evacuaciones de color rojo o negro alquitranado, dolor de cabeza, mareos y debilidad general [4, 8].



Esquema 1. Estructura molecular de la warfarina sódica.

Adicional a los efectos secundarios y a la necesidad de mantener la vigilancia de la calidad farmacéutica de los preparados que se encuentran en nuestro país, recientemente la Dirección de Medicamentos y Productos Biológicos del INVIMA emitió un reporte de evidencia de resultados no conformes para algunos productos farmacéuticos nacionales que tienen warfarina como principio activo [9]. Es rol fundamental del profesional químico farmacéutico y de las entidades relacionadas con el aseguramiento de la calidad de los medicamentos garantizar y gestionar los sistemas de farmacovigilancia a nivel local y nacional, con el fin de mejorar aspectos que permitan optimizar y mantener la farmacoterapia en los pacientes [10].

El presente trabajo de investigación ofrece el desarrollo de un método analítico validado que permite cuantificar la warfarina sódica como principio activo de formulaciones farmacéuticas tipo tabletas, mediante un método por HPLC-DAD, como herramienta versátil y poderosa para la identificación y la determinación de los componentes químicos en los medicamentos [11-14]. Los resultados analíticos muestran que la validación de la metodología por HPLC es selectiva, lineal, precisa y exacta; por tanto, es confiable para ser utilizada en la cuantificación de warfarina sódica en tabletas. Este resultado permitirá contar con una metodología que permita velar por la buena calidad y las buenas prácticas de manufactura (GMP) de los medicamentos que contienen este principio activo [15-16].

METODOLOGÍA

Instrumentos y equipos

El cromatógrafo líquido utilizado fue un Shimadzu LC LaChrom Elite® System (Shimadzu, Kyoto, Japón), equipado con una bomba cuaternaria modelo L-2130 y un detector de arreglo de diodo (DAD) modelo L-2455. Las pruebas de disolución se realizaron en un equipo disolutor marca VARIANT 705DS, sistema microondas de extracción.

Reactivos

Estándar USP de warfarina (lote: I1G072), metanol (MeOH, Merck®), acetonitrilo (ACN, Merck®), ácido acético glacial (AcOH, Merck®), hidróxido de sodio (NaOH, Merck®), ácido fosfórico (H₃PO₄, Merck®), fosfato monobásico de potasio (KH₂PO₄, Panreac®), todos grados analíticos (GA).

Estandarización de la metodología

En el establecimiento de los parámetros de validación se siguieron las pautas recomendadas por la Farmacopea Americana USP 38, categoría I [17]. Como se mencionó, para cada parámetro de validación las concentraciones empleadas de warfarina sódica guardan relación con las concentraciones etiquetadas en el producto mezcla de los mismos.

Condiciones cromatográficas

La fase móvil consistió en una mezcla de MeOH:AcOH:H₂O (68:1:32), filtrada y desgasificada por membrana de 0,45 µm. La columna utilizada fue C8e, Phenomenex®, 150 x 4,6 mm, tamaño de partícula de 5 µm, la longitud de onda se estableció a 280 nm, flujo 1,4 mL/min, volumen de inyección 20 µL y a una temperatura de trabajo de 30 °C [18,19].

Preparación de la solución buffer fosfato

Se transfirió 1,36 g de KH_2PO_4 a un matraz volumétrico de 200 mL en 50 mL de agua. Se agrega 39,1 mL de NaOH 0,2 N y con agua hasta completar volumen. Se ajusta con solución de NaOH o H_3PO_4 hasta $\text{pH} = 7,4 \pm 0,1$.

Preparación de las soluciones estándar y de calibración de warfarina sódica

A partir del estándar primario de warfarina sódica, se preparó una solución stock de concentración 1,0 mg/L de acuerdo con los criterios establecidos en la USP 38 [17]. A partir de esta solución, se procedió a preparar las diluciones de trabajo para la validación de la metodología utilizada [20,21].

Linealidad

Se preparó una curva de calibración con cinco concentraciones correspondientes a 80%, 90%, 100%, 110% y 120 % de la concentración teórica (0,1 mg/mL). Con los resultados arrojados se realizó el análisis de regresión lineal.

Precisión y exactitud

La precisión fue calculada con el coeficiente de variación a partir de la repetibilidad y la precisión intermedia [21]. Para ello se preparó por triplicado a partir de la solución stock de trabajo la disolución correspondiente al 100% de la concentración, inyectándose tres replicas en el cromatógrafo para el caso de la repetibilidad. En cuanto a la precisión intermedia, se preparó una solución de 100% por dos analistas diferentes en dos días diferentes. La exactitud se determinó con el porcentaje de recuperación a partir de la preparación de tres niveles de concentración de 90%, 100% y 110%.

Selectividad

En la evaluación de la selectividad se preparó una solución al 100% de la concentración de trabajo. De esta última solución se tomaron tres alícuotas de 3 mL que se llevaron a las siguientes condiciones extremas: ácido clorhídrico 0,1 N, hidróxido de sodio 0,1 N y peróxido de hidrogeno al 30%, a reflujo durante una hora a 80 °C. Esto con su respectivo blanco y estándar.

Preparación de las muestras comerciales de warfarina sódica

Para la preparación de las muestras se tuvieron en cuenta los criterios establecidos en la USP 38 [17]. Se pesaron 20 tabletas del producto comercial y se redujeron a polvo fino, transfiriendo una porción de polvo equivalente a 25 mg de warfarina sódica a un balón de 25 mL. Luego se disolvió y diluyó con una solución de buffer fosfato pH 7,4, a partir de esta solución se preparó una solución de trabajo de concentración 0,1 mg/mL,

la cual se filtró a través de un filtro de 0,45 μm , para luego ser inyectada en el cromatógrafo. Este análisis se realizó por triplicado.

Prueba de disolución

El procedimiento analítico tuvo en cuenta la preparación del estándar (warfarina) y la preparación de la muestra. Para la preparación del estándar se pesaron exactamente 25 mg de warfarina, se llevó a un balón volumétrico de 25 mL, se disolvió y completó volumen con medio de disolución. Las muestras comerciales de warfarina se sometieron a pruebas de disolución en un equipo disolutor, para lo cual cada tableta se colocó en un vaso de 900 mL, con medio de disolución (Agua Mili-Q) utilizando el aparato N.º 2 (paletas) a 50 rpm, durante 30 min, a temperatura de $37^\circ\text{C} \pm 0,5$; la cuantificación del analito se realizó en el cromatógrafo líquido [22].

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Validación de valoración

De acuerdo con la metodología descrita en la USP 38 [17] y usando las condiciones cromatográficas descritas anteriormente, se inyectó en el cromatógrafo por quintuplicado la solución estándar de warfarina a fin de verificar la idoneidad del sistema, obteniéndose un número de platos teóricos igual a 5282, y una asimetría de 1,18, donde lo especificado por la USP acepta un mínimo de 1200 platos teóricos y una asimetría < 2 . Se puede afirmar que se cumple con lo esperado y que el sistema es idóneo.

Linealidad

La curva de calibración resultó ser lineal en el intervalo de concentración comprendido entre 0,08 y 0,12 mg/mL (tabla 1). Al aplicar la regresión lineal a los resultados registrados, se obtuvo la ecuación de la recta que se expresó según $Y = 1,2 \times 10^7 + 0,7C - 19.926$. El coeficiente de correlación lineal fue de 0,9955 (figura 1), y un RSD de 0,9990%. El análisis de varianza para la pendiente y el intercepto arrojó que estos son diferentes de cero. Como el valor p de la prueba en la tabla ANOVA es menor de 0,5, hay una relación estadísticamente significativa entre la relación de área y la concentración de warfarina sódica a un nivel de confianza de 95%.

Tabla 1. Resultados estadísticos para la prueba de linealidad del sistema y el método.

Estadísticos	Sistema	Método
Coefficiente de correlación (r)	0,9977	0,9958
Coefficiente de determinación (r ²)	0,9955	0,9917
Intercepto (a)	-19.9263,8667	-1.168.399,533
Pendiente (b)	120.267.596,7	127.682.403,3
Varianza (S ² y,x)	15.179.841.962	31.540.307.568
Test de Cochran	Gexp: 0,49 Gtab: 0,87 Gexp<Gtab	Gexp: 0,66 Gtab: 0,87 Gexp<Gtab
Desviación estándar de la pendiente (Sb)	2.249.432,666	3.242.442,884
Desviación estándar del intercepto (Sa)	871.201,5255	1.255.792,729
Test de hipótesis para la pendiente	T calculado: 53,47 T tabulado: 2,16 T calculado > T tabulado	T calculado: 39,38 T tabulado: 2,16 T calculado > T tabulado
Test de hipótesis para el intercepto	T calculado: 53,47 T tabulado: 2,16 T calculado > T tabulado	T calculado: 39,38 T tabulado: 2,16 T calculado > T tabulado
Análisis de varianza para la regresión lineal	F calculado: 2858,5860 F tabulado: 2,51 Si F calculado > F tabulado	F calculado: 1550,6630 F tabulado: 2,51 Si F calculado > F tabulado

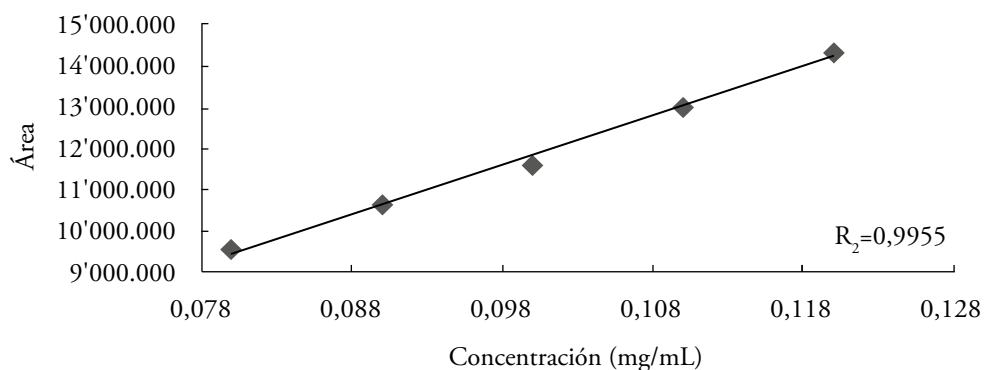


Figura 1. Curva de linealidad del sistema en validación de valoración.

Precisión

En la tabla 2 se exponen los resultados correspondientes a este estudio. Para el caso específico de la repetibilidad, se utilizó una concentración nominal de 0,1 mg/L por triplicado, y se determinó la concentración a cada replica por inyección de tres veces cada una, arrojando un valor promedio ($n = 9$) de $97,0\% \pm 1,9$ con un % RSD menor de 2%.

En cuanto a la precisión intermedia, los resultados de recuperación no se presentan diferencias estadísticamente significativas, en razón a que se realizó el análisis en días diferentes o con analistas diferentes (tabla 2).

Tabla 2. Resultados y análisis estadísticos de la precisión intermedia.

Analista	Días	
	1	2
1	98,99	98,88
	98,86	99,01
	98,95	98,91
Promedio	98,9	98,9
SD	0,06	0,06
% RSD	0,06	0,06
2	97,41	98,42
	97,31	98,11
	97,35	98,76
Promedio	97,4	98,4
SD	0,05	0,3
% RSD	0,05	0,3

Exactitud

Para la determinación de la exactitud se empleó el método de porcentaje de recuperación, el cual se realizó a tres niveles de concentración por triplicado de 90%, 100% y 110% de concentración (tabla 3). El alto porcentaje de recuperación para la warfarina sódica fue de $98,1\% \pm 1,3$, con un valor de % RSD de 1,4%, muy por debajo del criterio establecido ($\% \text{RSD} < 2$).

Tabla 3. Resultado y análisis para el porcentaje de recuperación en la exactitud.

Concentración (%)	% Recuperación			Media	SD	%RSD
	Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3			
90	97,51	97,31	97,7	97,5	0,20	0,20
100	99,61	99,7	99,62	99,6	0,05	0,05
110	97,15	97,31	96,9	97,12	0,21	0,21

Selectividad

En esta prueba las soluciones estándares y las muestras fueron sometidas a condiciones extremas en medio ácido, básico y de oxidación, con el fin de observar si el analito de interés presenta interferencia con sus productos de degradación generados.

En los cromatogramas se pudo observar un único pico característico de la warfarina en un tiempo de retención de 1,2 min en los medios ácidos y básicos, mientras que en condiciones de oxidación se presenta un pico producto de degradación del analito en estudio, eluyendo a un tiempo de retención de 3,0 min, sin presentar interferencia alguna con la señal de la warfarina sódica. Por lo tanto, la metodología utilizada es selectiva para la cuantificación del fármaco de interés.

VALORACIÓN PRUEBA DE DISOLUCIÓN

Linealidad del sistema

El valor del coeficiente de determinación (r^2) entre la cantidad de principio activo adicionado y la cantidad recuperada es de 0,9986. El coeficiente de variación de los factores de respuesta fue de 2. En la figura 2 se muestran la curva de la linealidad dentro del intervalo de trabajo (60%-100%). De acuerdo con el test estadístico indicado en la tabla 4, la linealidad cumple con los criterios de aceptación.

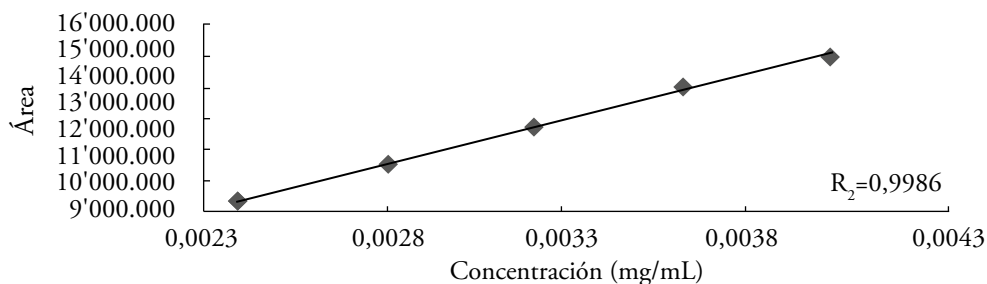


Figura 2. Curva de linealidad del sistema prueba de disolución.

Tabla 4. Resultados estadísticos de la prueba de linealidad del sistema.

Estadística	Sistema
Coefficiente de correlación (r)	0,9978
Coefficiente de determinación (r ²)	0,9957
Intercepto (a)	186870,4917
Pendiente (b)	244077070,1
Varianza (S _{2 y,x})	187829604,8
Test de Cochran	G _{exp} : 0,38 G _{tab} : 0,87 G _{exp} <G _{tab}
Desviación estándar de la pendiente (S _b)	24755516,06
Desviación estándar del intercepto (S _a)	165427,5256
Test de hipótesis para la pendiente	T calculado: 49,15 T tabulado: 2,16 T calculado > T tabulado
Test de hipótesis para el intercepto	T calculado: 49,15 T tabulado: 2,16 T calculado > T tabulado
Análisis de varianza para la regresión lineal	F calculado: 2415,9360 F tabulado: 2,51 Si F calculado > F tabulado

Prueba de disolución

En la tabla se presentan los resultados para la prueba de disolución de la warfarina sódica comercial, en los que se puede constatar que el Q promedio hallado fue de $92,3\% \pm 3,7$, que es mayor al criterio establecido por la USP ($Q > 80 + 5\%$), y un RSD de 4,0% (figura 3).

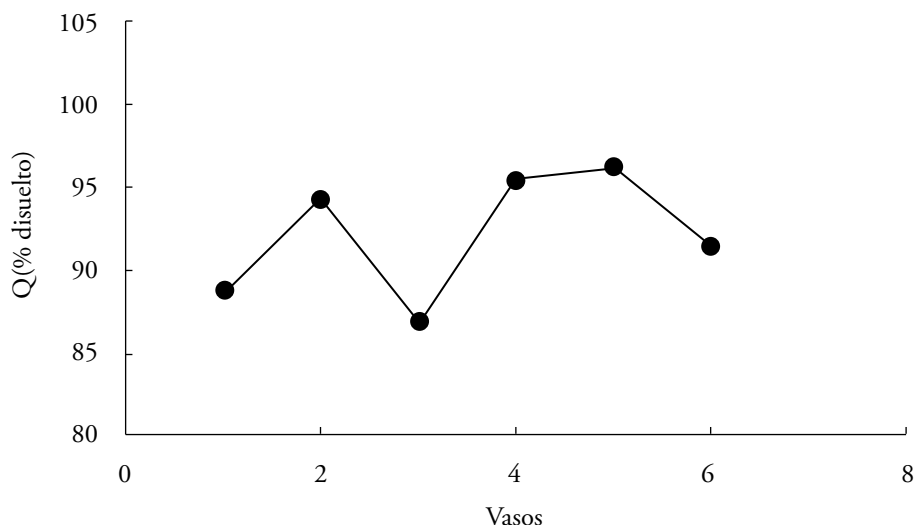


Figura 3. Disolución de las tabletas de warfarina sódica.

CONCLUSIONES

Los resultados indican que el método para la cuantificación e identificación de warfarina sódica en tabletas, en las condiciones del Laboratorio de Análisis de Medicamentos (LAM), cumple con los parámetros establecidos por la USP 38 para este principio activo y son confiables. Esta metodología podrá ser implementada como apoyo al Centro de Investigación de Servicio Farmacéutico y Monitoreo de Fármaco que se gesta en la región Caribe Colombiana, así como a las entidades regulatorias y al sector farmacéutico a nivel regional y nacional, garantizando de esta manera que los resultados obtenidos puedan ser aplicados en el análisis del producto terminado y en los resultados de estabilidad de la forma farmacéutica sólida de warfarina sódica. El método USP validado en el laboratorio LAM es selectivo, ya que no se detecta interferencia con la matriz, ni con los productos de degradación en diferentes condiciones de pH y oxidación. El método es lineal en el intervalo de concentración del 80 al 120%, en la validación de la valoración. El método es preciso, ya que el grado de concordancia que existe entre las pruebas realizadas al 100% de concentración nos permite obtener resultados repetitivos, obteniéndose un RSD menos al 2% en cada replica; adicionalmente, no hubo diferencias estadísticas significativas entre los ensayos realizados con analistas y en días diferentes.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Cartagena, la Universidad del Atlántico, la Clínica de la Costa y la Gobernación del Atlántico por la financiación del proyecto “Desarrollo de Condiciones de Operaciones para el Centro de Servicios Farmacéuticos y Monitoreo de Fármacos”, BPIN N.º 2013000100105, Convenio N.º 0103*2015*000001. También agradecemos los aportes de la profesora Lucía Álvarez Álvarez, y del profesor Roberto Fernández de la Universidad de Cartagena.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. M. Ikawa, M.A. Stahmann, K.P. Link, 4-Hydroxycoumarins. V. Condensation of α,β -unsaturated ketones with 4-hydroxycoumarin, *J. Am. Chem. Soc.*, **66**, 902-906 (1944).
2. B.F. Gage, L.J. Lesko, Pharmacogenetics of warfarin: Regulatory, scientific and clinical issues, *J. Thromb. Thrombolys.*, **25**, 45-51 (2008).
3. J. Yurgakya, F. Rodríguez, Warfarina: Uso contemporáneo, *Rev. Fac. Med.*, **17**(1), 107-115 (2009).
4. A.C. Montenegro, A.F. Buitrago, Nueva era de la anticoagulación: Resurgimiento de las clínicas de anticoagulación, *Acta Méd. Colomb.*, **41**(1), 19-20 (2016).
5. L.S. Kaminsky, Z.Y. Zhang, Human P450 metabolism of warfarin, *Pharmacol. Ther.*, **73**(1), 67-74 (1997).
6. L.G. Jacobs, Warfarin pharmacology, clinical management, and evaluation of hemorrhagic risk for the elderly, *Cardiol Clin.*, **26**(2), 157-167 (2008).
7. H. Yamazaki, T. Shimada, Human liver cytochrome P450 enzymes involved in the 7- hydroxylation of R and S warfarin enantiomers, *Biochem. Pharmacol.*, **54**, 1195-1203 (1997).

8. D.K. Wysowski, P. Nourjah, L. Swartz, Bleeding complications with warfarin use: A prevalent adverse effect resulting in regulatory action, *Arch. Intern. Med.*, **167**, 1414-1419 (2007).
9. Dirección de Medicamentos y Productos Biológicos, Información de seguridad relacionada con el producto: Warfarina tableta de 5 mg/titular: Europack System Ltda./Fabricante Química Patrick, Bogotá, 2016, URL: https://www.invima.gov.co/images/pdf/alertas_portada/ALERTASANITARIAWARFARINAINVIMA.pdf, Consultado en agosto de 2016.
10. K.K. Reynolds, R. Valdes, B.R. Hartung, M.W. Linder, Individualizing warfarin therapy personalized, *Medicine*, **4**, 11-31 (2007).
11. A. Osman, K. Arbring, T.L. Lindahl, A new high-performance liquid chromatographic method for determination of warfarin enantiomers, *J. Chromatogr. B, Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, **826**, 75-80 (2005).
12. L. Hu, Y. Liu, S. Cheng, Simultaneous determination of six analytes by HPLC-UV for high throughput analysis in permeability assessment, *J. Chromatogr. Sci.*, **49**(2), 124-128 (2011).
13. P. Ravisankar, Ch.N. Navya, D. Pravallika, D.N. Navya, A review on step-by-step analytical method validation, *IOSR J. Pharmacy*, **5**(10), 7-19 (2015).
14. C.S.P. Sastry, T.N.V. Prasad, E.V. Rao, Recent applications of high performance liquid chromatography in pharmaceutical analysis, *Indian J. Pharm. Educ.*, **21**, 37 (1997).
15. A. Mohamed, M. Mokhtar, R. Mabrouk, Spectrofluorimetric determination of warfarin sodium by using N¹-Methylnicotinamide chloride as a fluorogenic agent, *J. AOAC Intern.*, **88**(2), 455-461 (2005).
16. G.A. Shab, Validation of high-performance liquid chromatography methods for pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between validation requirements of the US Food and Drug Administration, the US Pharmacopeia and the International Conference on Harmonization, *J. Chromatogr. A*, **987**(1-2), 57-66 (2003).
17. The United States Pharmacopeia, USP 38, Official Monographs, Baltimore, Maryland, USA, 2015, p. 6236-6237.

18. Y.A. Chua, W.Z. Abdullah, S.H. Gan, Development of a high-performance liquid chromatography method for warfarin detection in human plasma, *Turk. J. Med. Sci.*, **42**(5), 930-941 (2012).
19. J.W. Dolan, The hazards of adjusting gradients, *LC-GC Chromatogr.*, **20**, 940-947 (2002).
20. J.M. Green, Peer reviewed: a practical guide to analytical method validation, *Anal. Chem.*, **68**, 305A-309A (1996).
21. J.N. Miller, J.C. Miller, "Estadística y quimiometría para química analítica", Prentice Hall, Madrid, 2002, pp. 97-98.
22. W. Naidong, P.R. Ring, C. Midtlien, X. Jiang, Development and validation of a sensitive and robust LC-tandem MS method for the analysis of warfarin enantiomers in human plasma, *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **25**, 219-226 (2001).

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

F. Sánchez-Hoyos, A. Cárdenas, J. Mercado-Camargo, G. Domínguez-Moré, H. Gómez-Estrada, Validación de una metodología analítica USP por HPLC para la cuantificación de warfarina sódica en tabletas, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(3), 470-483 (2016).

Antecedentes del estudio metabólico de MDPV y metilona. Propuesta de un modelo de biotransformación a través de hongos del género *Cunninghamella*

Eliana A. Silva^{1,2}, Jorge A. Martínez^{1*}

¹ Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Av. Carrera 30 # 45-03, Bogotá D. C., Colombia

* Correo electrónico: jmartinezra@unal.edu.co

² Laboratorio de Estupefacientes, Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, Regional Bogotá, Colombia.

Recibido para evaluación: 23 de agosto del 2016

Aceptado para publicación: 5 de diciembre del 2016

RESUMEN

La (\pm)-3,4-metilendioxipirovalerona (MDPV) y la (\pm)-3,4-metilenedioximetilcatinona (metilona) son algunos de los derivados sintéticos de catinonas más frecuentemente encontrados en productos que se comercializan como “sales de baño”, los cuales hoy en día se emplean como drogas de abuso. Los reportes de casos fatales por consumo de estas sustancias aumentan cada día, y aunque existen algunos estudios farmacológicos y toxicológicos, no son claros los mecanismos de acción y los efectos causados por su consumo recreativo. La implementación de sistemas que permitan conocer el metabolismo de estas drogas en humanos y el diseño de métodos analíticos para su detección son ahora objeto de investigación. Este artículo presenta una revisión bibliográfica acerca de los estudios de biotransformación para MDPV y metilona empleando modelos *in vitro* con microsomas hepáticos humanos, fracciones celulares S9 y modelos *in vivo* con animales de experimentación, así como un posterior análisis de los metabolitos que hay hasta la fecha. Las técnicas analíticas utilizadas para el análisis de metabolitos incluyen cromatografía líquida acoplada a detector selectivo de masas (LC-MS o LC-MS/MS), o la formación de derivados acetilados o sililados para su posterior análisis por cromatografía de gases acoplada a detector selectivo de masas (GC-MS). Además, se incluye una propuesta para el estudio del metabolismo para metilona y MDPV a través de hongos del género *Cunninghamella*.

Palabras clave: MDPV, metilona, biotransformación, *Cunninghamella*.

SUMMARY

History of the metabolic study of MDPV and methylone. Proposal of a biotransformation model through fungi of the genus *Cunninghamella*

(±)-3,4-methylenedioxypropylamphetamine (MDPV) and 3,4-methylenedioxyamphetamine (methylone) are some of the most frequent synthetic derivatives of cathinones found in commercial products known as “Bath salts” and which today are used as drugs of abuse. Reports on fatal cases involving the consumption of these substances are raising and although there are some pharmacological and toxicological studies, their action mechanisms and effects due recreational consumption are not very well understood. The implementation of systems that allows the understanding of the metabolism of these drugs in humans and the design of analytical methods for their detection is now the subject of research. This paper shows a bibliographical review of the studies conducted on the biotransformation of methylone and MDPV using *in vitro* models with human hepatic microsomes, cell fractions S9 and *in vivo* models in animals with posterior analysis of the obtained metabolites. The analytical techniques used for the analysis of the metabolites include liquid chromatography coupled with mass spectrometry (LC-MS or LC-MS/MS) or the formation of acetylated or dimethyl silylated derivatives for their posterior analysis by gas chromatography (GC-MS). A proposal for the study of the metabolisms of methylone and MDPV through the fungus of the genera *Cunninghamella* is also included.

Keywords: MDPV, methylone, biotransformations, *Cunninghamella*.

INTRODUCCIÓN

Según el informe mundial sobre drogas llevado a cabo en el 2015 y publicado por la Oficina de las Naciones Unidas contra la Droga y el Delito (UNODC), hay un número creciente de países que ha notificado la aparición de una mayor variedad de nuevas sustancias psicoactivas (NPS). El término “nuevas” no se refiere forzosamente a nuevas invenciones, sino a sustancias que han empezado a circular recientemente

en mercados concretos y no están fiscalizadas a nivel mundial. Los datos disponibles acerca de su consumo son inciertos debido al enorme número y diversidad. En el 2014, 95 países habían informado sobre un total de 541 NPS al sistema de alerta temprana de la UNODC. La mayoría de NPS siguieron siendo cannabinoides sintéticos (39%), seguidos por derivados de fenetilaminas y catinonas sintéticas (33%) [1]. De acuerdo con la UNODC, las NPS comprenden varios tipos de sustancias y se pueden clasificar en nueve grupos:

- Aminoindanos: análogos cíclicos de anfetamina, como 2-aminoindano (2-AI) [2].
- Cannabinoides sintéticos: agonistas de receptores de cannabinoides que se venden como mezclas vegetales, e. g. tetrahidrocannabinol (THC), análogos sintéticos como HU-210, y otros como aminoalquilindoles (JWH-018, JWH-073) [3].
- Catinonas sintéticas: β -cetofenetilaminas, químicamente similares a las anfetaminas, con efectos parecidos a la cocaína y anfetaminas como mefedrona, MDPV y metilona [4].
- Sustancias tipo fenciclidina (PCP): Actúan como antagonista de receptores *N*-metil *D*-aspartato (NMDA), como la ketamina.
- Fenetilaminas: anfetamina, MDMA, DOC, 2CB, Bromo-*Dragonfly* y metoximetanfetamina (PMMA), las cuales gracias a su acción sobre el sistema nervioso simpático actúan como agentes adrenérgicos.
- Piperazinas: agonistas del neurotransmisor GABA (ácido γ -aminobutírico), como benzilpiperazina (BZP) y mCPP (1-(3-clorofenil)piperazina).
- Sustancias de origen vegetal: Khat (*Catha edulis*), *Mitragyna speciosa* Korth (Kratom) y *Salvia divinorum*.
- Triptaminas: derivados sintéticos de dimetiltriptamina (DMT), y otras triptaminas de origen natural.
- Finalmente, otros como la 1,3-dimetilamilamina (DMAA) que no se pueden clasificar en ninguno de los grupos anteriores [2-4].

Las catinonas sintéticas surgen en el mercado de las drogas en Europa y Estados Unidos a mediados del 2000, como alternativas legales en productos que se comercializan como sales de baño, fertilizantes para plantas y repelentes para insectos. Estas drogas se caracterizan por ser estimulantes simpaticomiméticos, con acción serotoninérgica y propiedades alucinógenas, generando como principales efectos tóxicos taquicardia, diaforesis, hipertensión y agitación, y psicosis y paranoia como efectos neuropsiquiátricos.

Su comercialización, llevada a cabo principalmente a través de Internet, tiendas de barrios y lugares donde se vende tabaco y cigarrillos, ha facilitado su difusión a otros países. Son derivados sintéticos de la catinona (*S*-(-)-2-amino-1-fenil-1-propanona), un alcaloide natural presente como componente activo principal de la hoja de la planta de khat (*Catha edulis*), la cual se consume en el este de África y la península arábiga en forma de té, gracias a sus propiedades estimulantes. Los derivados de catinona están relacionados con la familia de las fenetilaminas a la que pertenece la metilendioxi-metanfetamina (MDMA), y se caracterizan por la presencia de un grupo cetona en la posición β en la cadena lateral. Algunas de las catinonas sintéticas que más frecuentemente se emplean como drogas de abuso son la MDPV, metilona, butilona y mefedrona [5-8]. El aumento en la popularidad y uso de este tipo de drogas en Europa y Estados Unidos se debe, entre otros aspectos, a su fácil adquisición, al desconocimiento de todos sus posibles efectos adversos, sumado a su difícil detección por metodologías clásicas en un laboratorio de toxicología [4].

La determinación de drogas de abuso en toxicología *postmortem* juega un papel importante en la determinación de la causa y la manera de muerte, razón por la cual hoy en día se han desarrollado numerosos modelos, tanto *in vivo*, como *in vitro*, los cuales buscan esclarecer rutas metabólicas, perfiles metabólicos y metabolitos para el mejor entendimiento en la interpretación de los resultados toxicológicos. Este artículo describe los más recientes avances en cuanto a estudios metabólicos de MDPV y metilona, desde el punto de vista de modelos *in vivo* e *in vitro* con el uso de herramientas analíticas modernas, así como sus principales limitaciones.

Los modelos *in vitro* se basan en la utilización de microsomas hepáticos humanos y fracciones celulares S9 (sobrenadante, separado por centrifugación del tejido hepático homogenizado); los modelos *in vivo* se basan en el uso de animales de experimentación. Asimismo, se incluye el análisis de los metabolitos encontrados en muestras de orina de consumidores de este tipo de sustancias [9-11]. Los modelos *in vitro* e *in vivo* tradicionales presentan algunas desventajas, entre las que se encuentran la imposibilidad de evaluar metabolismo de fase II, o el hecho de que al ser homogenizados del contenido celular las enzimas, no constituyen una fuente de cofactores y coenzimas necesarias en la producción de algunos metabolitos, por lo que es necesaria la adición de ellos en las concentraciones adecuadas para el correcto funcionamiento enzimático.

Por otra parte, el mantenimiento del cultivo celular requiere una infraestructura compleja, así como un coste económico elevado, todo lo cual supone inconvenientes añadidos. Los animales de experimentación utilizados en los modelos *in vivo* deben provenir de cepas estandarizadas, y su manejo dentro del laboratorio exige condiciones medioambientales y de nutrición estables que en muchas ocasiones son difíciles de

conseguir [12]. Adicionalmente, la disponibilidad de muestras biológicas de personas consumidoras de este tipo de sustancias es muy limitada. Por esta razón, en esta revisión se incluye una propuesta del estudio del metabolismo para MDPV y metilona con un modelo fúngico *in vitro* alternativo a los mencionados anteriormente. La selección de estas dos moléculas se basa en que son dos de los derivados de catinona más frecuentemente identificados en muestras de sangre y orina de consumidores involucrados en casos fatales o de intoxicación, reportados en Estados Unidos y Europa durante los últimos años [13].

La metilona, una molécula análoga a la de metilendioximetanfetamina ((RS)-1-(1,3-metilenodioxifen-5-il)-N-metilpropan-2-amina), con un grupo cetona en el carbono bencílico, actúa como un inhibidor de la recaptación de monoaminas. Fue sintetizada por primera vez en 1996 como antidepresivo y antiparkinsoniano [14], y a mediados de la década de 2000 se reportó su uso recreativo en Japón, USA y Europa [15]. El metabolismo de metilona ha sido estudiado en orina de rata y orina humana [13].

La MDPV también inhibe la recaptación de monoaminas, y a diferencia de la molécula de metilona contiene un anillo pirrolidínico que incluye un grupo amino terciario, el cual hace la molécula menos polar y, por tanto, capaz de atravesar la barrera hematoencefálica con mayor facilidad. Fue sintetizada por Boehringer Ingelheim y patentada en 1969 [10, 16, 17], pero en el año 2007 fue retirada del mercado alemán y calificada como droga de abuso. Su metabolismo ha sido estudiado usando microsomas hepáticos humanos, fracciones celulares S9, orina humana [9, 18] y muestras de agua residual [19].

El modelo propuesto incluye el estudio del metabolismo a través de hongos del género *Cunninghamella*, un hongo filamentoso que ha sido aislado del suelo y posee un sistema enzimático similar al de los mamíferos [20], por lo que ha demostrado ser adecuado para el estudio del metabolismo de medicamentos como verapamilo [21], metoprolol [22], naproxeno [23] y amoxapina [24], entre otros. La biotransformación a través de microorganismos ha resultado ser una herramienta importante puesto que sus productos estereo y regioselectivos no son fáciles de obtener por síntesis química [25]. Asimismo, se ha usado también con el fin de obtener metabolitos con actividad biológica mejorada [26]. Aunque en Colombia no hay reportes de casos de consumo de catinonas, sí se ha identificado metilona, etilona y α -pirrolidinovalerona (α -PVP) en productos de consumo ilícito [27]. Lo anterior significa que ya entraron al mercado negro de drogas de abuso en Colombia, pero seguramente pasan desapercibidas debido a que hasta el momento actual no se han desarrollado metodologías analíticas apropiadas que permitan la detección de los metabolitos, o a que algunos de ellos no están disponibles en la base de datos de las librerías que hoy en día se emplean en el país.

METODOLOGÍA

La consulta de literatura científica para la elaboración de esta revisión se llevó a cabo empleando los motores de búsqueda PubMed y Science Direct, con los términos de búsqueda: “3,4-methylenedioxypropylone”, “MDPV”, “3,4-methylenedioxypropylone”, “methyline” y “Cunninghamella” de manera individual, o junto con el término “metabolism”. Se revisaron un total de 66 textos completos de artículos originales, cinco específicos para el estudio del metabolismo de MDPV y cinco para metilona. Además, se examinó la sección de referencias de los mismos para identificar los estudios adicionales más relevantes. La investigación solo incluye artículos disponibles en inglés que fueron publicados desde 1992 hasta el 15 de agosto del 2016.

Metabolismo de (±)-3,4-metilendioxi-*propylone* (MDPV)

Usando microsomas hepáticos y fracciones celulares S9 hepáticas humanas para CYP450 de fase I, y las enzimas uridina 5(-difosfoglucuronosiltransferasa) y sulfotransferasa para fase II, Strano *et al.* evaluaron el metabolismo de MDPV *in vitro*. La identificación de los metabolitos se realizó por medio del análisis de sus derivados TMS por GC-MS y análisis de sobrenadantes por cromatografía líquida con analizador de cuadrupolo y tiempo de vuelo (LC-QTOF). Como ruta de biotransformación se propone una vía metabólica similar a la de MDMA, la cual consiste en la apertura del anillo metilendioxi seguido por *O*-desmetilación a fin de producir un grupo catecol, que posteriormente es metilado por acción de la catecol-*O*-metiltransferasa (COMT). El autor presenta dos principales metabolitos de MDPV: 3,4-dihidroxipropylone (3,4-catecol-PV), producto de la *O*-desmetilación del anillo 3,4- metilendioxi, y 4-hidroxi-3-metoxi-*propylone* (4-OH-3-MeO-PV), resultado de la *O*-metilación de 3,4-catecol-PV. En la figura 1 se pueden apreciar los principales metabolitos de MDPV encontrados en la literatura consultada. Los experimentos sobre el metabolismo de fase II demostraron que estos metabolitos se conjugan por sulfatación (50%) y glucuronidación (40%). Asimismo, las muestras sometidas a metabolismo de fase I y fase II mostraron que aproximadamente el 7% se metaboliza a 3,4-catecol-PV, el 10% a 4-OH-3-MeO-PV, y el 80% de MDPV permanece inalterado, aunque mencionan los autores que este porcentaje puede deberse al exceso de MDPV añadido a las muestras [9].

Meyer *et al.* identificaron metabolitos de fase I y II de MDPV en muestras de orina de rata, tomadas 24 horas después de haber sido administrada con de MDPV (20 mg/Kg). En este estudio se describe la formación de diferentes metabolitos (se describen entre paréntesis con el nombre que el autor les asignó) a través de varias rutas metabólicas propuestas: por la pérdida de grupo metileno del anillo 3,4-metilendioxi demetilenil-MDPV, demetilenil-*N,N*-bis-dealquil-MDPV, demetilenil-oxo-MDPV y

demetilenil-alquil-hidroxi-MDPV; por hidroxilación de la cadena lateral de propilo demetilenil-metil-alquil-hidroxi-MDPV y demetilenil-alquil-hidroxi-MDPV, con posterior oxidación a la correspondiente cetona demetilenil-metil-carboxi-oxo-MDPV y carboxi-oxo-MDPV; por hidroxilación de la posición 2 del anillo de pirrolidina seguido de deshidrogenación a la correspondiente lactama demetilenil-metil-oxo-MDPV, oxo-MDPV y demetileniloxo-MDPV; por hidroxilación del anillo fenilo (demetilenil-metil-fenil-hidroxi-MDPV); por hidroxilación de la posición 2 del anillo de pirrolidina y posterior apertura del anillo para formar el respectivo aldehído alifático, seguido por la oxidación a ácido carboxílico carboxi-oxo-MDPV, demetilenil-metil-carboxi-oxo-MDPV; y por degradación de aminas primarias demetilenil-metil-N,N-bisdealquil-MDPV y demetilenil-N,N-bis-dealquil-MDPV). Además, se identifica MDPV sin metabolizar. Meyer *et al.* también identifican metabolitos en orina humana después de la ingesta de una cantidad desconocida de MDPV. Estos metabolitos son: demetilenil-MDPV, demetilenil-metil-MDPV, demetilenil-oxo-MDPV, demetilenil-metil-oxo-MDPV, oxo-MDPV, demetilenil-metil-hidroxi-alquilo-MDPV, demetilenilhidroxi-alquil-MDPV y demetil-metil-N,N-bisdealkil-MDPV. Asimismo, el autor realizó la identificación de metabolitos usando GC-MS para derivados acetilados y trimetilsilano, posteriormente confirmados por cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas de alta resolución (LC-HR-MS) [28].

Sebastien *et al.* describen la validación de un método analítico para la determinación y cuantificación de MDPV y sus metabolitos mayoritarios (3,4-catecol-PV) y (4-OH-3-MeO-PV), por LC-HR-MS en plasma de rata previamente administrada con MDPV, con un límite de cuantificación de 0.25 μL [11]. Bertol *et al.* reportaron la presencia de metabolitos de fase I y fase II en un paciente de 27 años, quien dijo haber consumido MDPV adquirido a través de Internet. El análisis por LC-HR-MS y cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas en tándem (LC-HR-MS/MS), reveló la presencia de MDPV en concentración de 55 ng/mL, y la presencia de siete metabolitos de fase I y de seis metabolitos de fase II previamente identificados por Meyer. *et al.* Este estudio demostró que los metabolitos mayoritarios son demetilenil-metil MDPV (el mismo 4-OH-3-MeO-PV) para fase I, y demetil-enil-MDPV glucurónido para la fase II, según la nomenclatura empleada por Meyer *et al.* [28]. Murray *et al.* identificaron concentraciones de 670 ng/mL en orina y de 82 ng/mL en el suero en un paciente de 40 años que murió 42 horas después de ingresar en el servicio de urgencias con comportamiento agresivo, delirante y signos vitales alterados. Los familiares informaron que se había producido un cambio en su hábito de consumo de cocaína a sales de baño. El análisis de orina por GC-MS reveló la presencia de paracetamol, cafeína, lidocaína, trimetoprim y MDPV. La confirmación de la presencia de catinona fue llevada a cabo por LC-MS/MS empleando el deuterado d8-MDPV como estándar interno, y la extracción se llevó a cabo con ácido trifluoroacético (TFA) [30].

Empleando cromatografía líquida con ionización por electrospray y sistema de detección de masas con trampa iónica (LC-ESI-ITMS), Xueguo identificó los metabolitos mayoritarios de MDPV como metilcatecolpirovalerona y catecolpirovalerona, mediante un análisis simultáneo de metabolitos de metcatinona (MC), 3,4-metilenedioximetcatinona (MDMC), 3,4-metilenedioxi-pirovalerone (MDPV) y 4'-metil- α -pirrolidinopropiofenona (MPPP), usando microsomas hepáticos de rata fracción S9 [31].

Por su parte, en otro estudio realizado por Mardal y Meyer [19] se analiza la biotransformación de MDPV a través de microorganismos presentes en aguas residuales. El propósito de esa investigación fue estudiar las rutas de biotransformación de MDPV. El estudio se llevó a cabo mediante un proceso de incubación con agua residual de una planta local a la cual se adicionó una solución de MDPV. Las muestras se trataron por extracción en fase sólida, y posteriormente se analizaron en un espectrómetro de masas con trampa de iones Orbitrap. Las reacciones de biotransformación observadas fueron: desmetilación seguida por *O*-metilación, hidroxilación en el anillo fenilo, hidroxilación en el anillo pirrolidínico seguida de metilación u oxidación y *N*-desmetilación e hidroxilación en la parte alquílica. En total, se identificaron 12 productos de biotransformación después de 10 días de incubación. Este estudio indicó que demetilenil-metil-MDPV es el metabolito más abundante en orina humana y, por tanto, podría ser empleado como marcador en aguas residuales.

Metabolismo de (\pm)-3,4-metilenedioximetilcatinona (metilona)

Empleando LC-ESI-MS y GC-MS, Kamata *et al.* desarrollaron un método para la determinación simultánea de metilona y sus metabolitos 3,4-metilendioximetilcatinona (MDC) y 4-hidroxi-3-metoximetilcatinona (4-OH-3-MeO-MC), también denominado HMMC, y 3-hidroxi-4-metoximetilcatinona (3-OH-4-MeO-MC) en orina humana y de rata, previa derivatización con TFA. Las muestras fueron hidrolizadas y luego extraídas con una mezcla de cloroformo y 2-propanol. Se explica la formación de MDC por *N*-demetilación de la amina primaria correspondiente, y la formación de HMMC o 3-OH-4-MeO-MC por demetilenación y posterior *O*-metilación de un grupo OH del anillo bencénico. El metabolito de fase I más abundante es HMMC; pero además se describen metabolitos de fase II. Kamata también considera una propuesta hecha por Brenneisen *et al.* [32], en la cual se sugiere que las catinonas que poseen grupo β -ceto sufren ceto reducción para formar el correspondiente aminoalcohol, en este caso, 3,4-metilendioxiefedrina (MDEP); sin embargo, en los estudios llevados a cabo por el autor no se encuentra MDEP [32]. En un estudio similar, Kamata *et al.* detectaron los metabolitos ya mencionados, y agrega que predomina la glucoronidación sobre la sulfatación en los estudios de metabolismo en fase II en orina de rata, mientras la sulfatación predomina sobre la glucuronidación en estudios humanos [14, 36].

Desarrollando un sistema de extracción automatizado en línea para experimentos con microsomas hepáticos humanos, Mueller *et al.* identificaron el normetabolito MDC (figura 2), pero no los productos de desmetilación HMCC y 3-OH-4-Me-O-MC. Sus resultados muestran que utilizando enzimas recombinantes, la metilona se metaboliza principalmente por CYP2D6, con alguna contribución de CYP1A2, CYP2B6, y CYP2C19 [33].

López-Arnau *et al.* confirmaron la presencia de MDC, 4-OH-3-MeO-MC y 3-OH-4-MeO-MC. Mediante LC/MS y LC-MS/MS determinaron las concentraciones de estos metabolitos en plasma de ratas después de la administración oral de metilona. Además, los autores proponen rutas metabólicas como *N*-desmetilación, hidroxilación alifática o la desmetilación de un intermediario que por *O*-metilación en posición 3 ó 4 forma 4-OH-3-MeO-MC ó 3-OH-4-MeO-MC, respectivamente. Tanto Kamata, como López, identifican 4-OH-3-MeO-MC y 3-OH-4-MeO-MC, dos compuestos que tienen la misma fórmula química ($C_{11}H_{15}NO_3$) y espectro de masas, y debido a la posición del grupo hidroxilo presentan diferentes tiempos de retención. López describe otro metabolito que corresponde a 3'-hidroxi-metilendioximetcatinona (3'-OH-MDMC), de fórmula $C_{11}H_{13}NO_4$, resultado de hidroxilación alifática [34].

Metabolismo de drogas de síntesis a través de hongos del género *Cunninghamella*

Esta revisión surge como una propuesta para estudiar el metabolismo de nuevas drogas de abuso, mediante un sistema *in vitro* alternativo a los tradicionales que comprende el uso de hongos del género *Cunninghamella*, el cual ha sido evaluado para estudiar el metabolismo de diversos xenobióticos. El empleo de microorganismos como modelos para el estudio del metabolismo mamífero fue desarrollado hace más de cuatro décadas, con el uso de un grupo de diferentes especies de hongos y bacterias que tienen la capacidad de biotransformar compuestos aromáticos mediante la formación de metabolitos hidroxilados por mecanismos similares al de los mamíferos [39]. Hoy en día existen numerosas investigaciones que documentan el uso de microorganismos como modelos de biotransformación para la evaluación de un sinnúmero de sustancias con relevancia farmacológica. Dependiendo del tipo de biotransformación que se desea estudiar existen una gran variedad de microorganismos, entre los que se encuentran bacterias (algunas especies de los géneros *Actinoplanes*, *Mycobacterium*, *Nocardia*, *Streptomyces*), levaduras (algunas especies de los géneros *Candida*, *Rhodotorula*, *Saccharomices*),

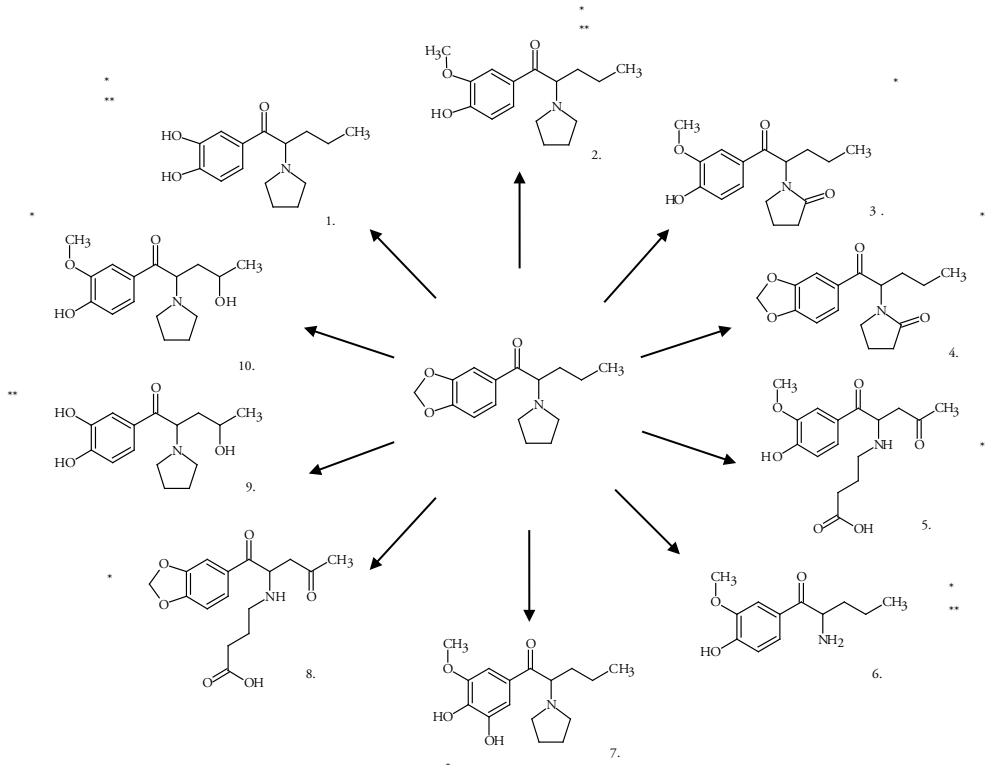


Fig. 1. Metabolitos de MDPV. Metabolitos encontrados en literatura para MDPV empleando cultivos celulares y animales de experimentación. 1. Demetilenil-MDPV(3,4-catecol-PV); 2. Demetilenil-metil-MDPV (4-OH-3-MeO-PV); 3. Demetilenil-metil-oxo-MDPV; 4. oxo-MDPV; 5. Demetilenil-metil-alquil-hidroxi-MDPV; 6. Carboxi-oxo-MDPV; 7. Demetilenil-metil-carboxi-oxo-MDPV; 8. Demetilenil-metil-N,N-bisdealquil-MDPV; 9. Demetilenil-N,N-bisdealquil-MDPV; 10. Demetilenil-oxo-MDPV; 11. Demetilenil-alquil-hidroxi-MDPV; 12. Demetilenil-metil-fenil-hidroxi-MDPV. Nombre dado por Meyer *et al.* [10], entre paréntesis nombre dado por Strano *et al.* [9]. * Adaptado de Meyer *et al.* [10], ** Adaptado de Strano *et al.* [9].

y hongos (*Actinomucor*, *Aspergillus*, *Beauveria*, *Chaetomiun Cunninghamella*, *Curvularia*, *Curvularia*, *Diplodia*, *Fusarium*, *Gliocladium*, *Heminthosporium*, *Mortierella*, *Mucor*, *Penicillium*, *Rhizopus*, *Thamnidium*, *Verticillium*, *Whetzelinia*), que pueden ser empleados como modelos de biotransformación [40]. Debido a la similaridad entre el sistema de monooxigenasa dependiente del citocromo P450 de los microorganismos y el humano, el patrón de metabolización (metabolitos de fase I y de fase II) encontrado en incubaciones con microorganismos —en la mayoría de los casos— es también similar.

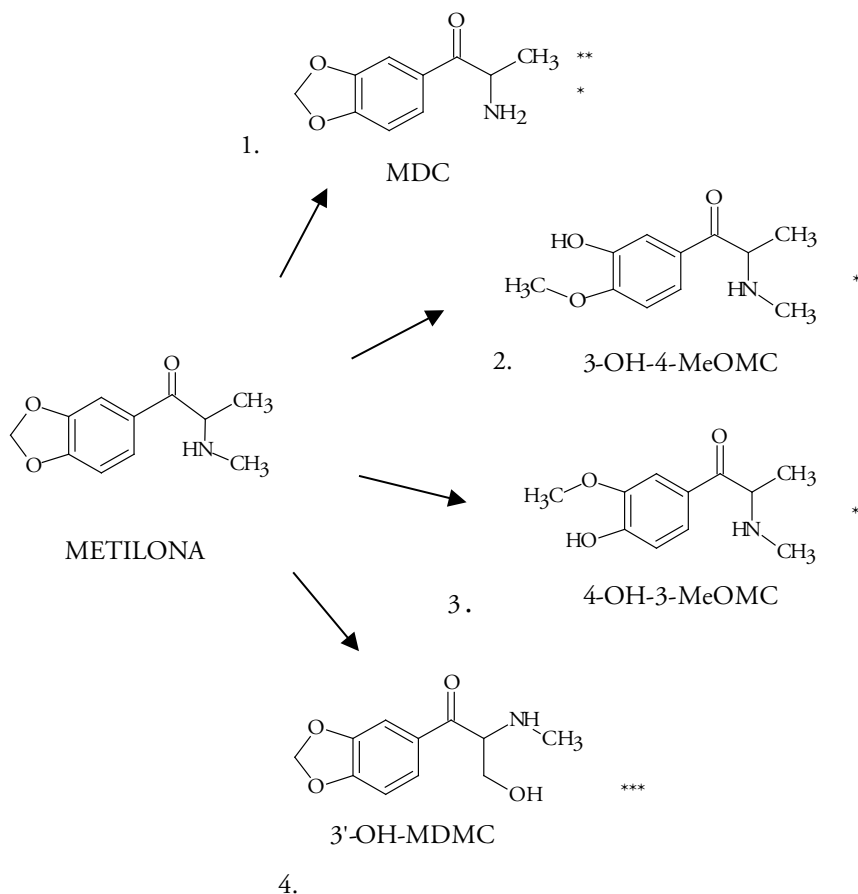


Figura 2. Metabolitos de metilona. Metabolitos encontrados en literatura para metilona empleando cultivos celulares y animales de experimentación. 1. 3,4-metilendioxicatinona (MDC); 2. 3-Hidroxi-4-metoximetcatinona (3-OH-4-MeO-MC); 3. 4-Hidroxi-3-metoximetcatinona (4-OH-3-MeO-MC) o también denominado como HMMC 4. 3'-Hidroxi-metilendioximetcatinona (3'-OH-MDMC). * Adaptado de Kamata *et al.* [14], ** Adaptado de Mueller *et al.* [33], *** Adaptado por López *et al.* [34].

Además, se han descrito numerosas ventajas con el uso de microorganismos como modelos de biotransformación en relación con modelos animales o cultivos celulares, entre las cuales se pueden destacar su bajo costo, la facilidad para llevar a cabo el ensayo, la facilidad para su reproductibilidad, la disponibilidad de un set amplio de microorganismos, la fácil caracterización e identificación de los metabolitos debido a su elevada producción durante el ensayo, y más sencillo comparado con los cultivos celulares [41, 42].

Como microorganismos eucarióticos, los hongos poseen un sistema citocromo P450 que actúa de manera mecánicamente similar al sistema mamario, razón por la cual estos han sido ampliamente utilizados como modelos de biotransformación de diferentes sustancias. Tal vez, uno de los géneros de hongos más ampliamente empleados corresponde al género *Cunninghamella*, y en especial a la especie *C. elegans*, la cual tiene la habilidad de producir hidroxilaciones aromáticas y no aromáticas, carboxilaciones, *N*-oxidaciones, *N*-desalquilaciones, *N*-acetilaciones, metilhidroxilaciones y epoxidaciones, entre otras reacciones [43-47]. *C. elegans* es un hongo zigomiceto del orden mucoral [47], encontrado en suelo, material vegetal y animal, especialmente en el mar Mediterráneo y zonas subtropicales, extensamente empleado como modelo fúngico de biotransformación sobre una amplia gama de xenobióticos [48]. El género *Cunninghamella* contiene 14 especies, siendo las más comunes las especies *C. elegans*, *C. echinulata*, y la especie patógena en humanos y animales, *C. Bertholletiae* [49]. *C. elegans* posee la habilidad para degradar regio y estereo selectivamente diferentes clases de xenobióticos en metabolitos de fase I y fase II, de manera similar al sistema enzimático mamífero. Entre estos pueden ser mencionados varios fármacos [21-25, 50-57], hidrocarburos poliaromáticos y contaminantes [58-62], drogas de abuso [63] y pesticidas [64-66] en metabolitos de fase I y fase II [36-38]. La mayoría de estos trabajos tienen como objetivo primordial el estudio del metabolismo mamario o la preparación de nuevos metabolitos activos, más que el estudio de detoxificación de los xenobióticos. En la biotransformación de xenobióticos por *C. elegans* se ha evidenciado la presencia de diferentes enzimas, dentro de las cuales se pueden destacar citocromo P450 monooxigenasas, incluyendo la familia CYP51, glutatión S-transferasa, aril PAPS sulfotransferasas, UDP-glucoronil transferasas y glucosil transferasas, detectadas en fracciones citosólicas y microsomales [47]. Teniendo en cuenta que el metabolismo de MDPV y metilona ha sido escasamente estudiado, y hasta la fecha no existe ninguna referencia sobre el uso del género *Cunninghamella* como modelo de biotransformación de dichas drogas, se propone su uso como método alternativo a los modelos *in vitro* e *in vivo* que hasta la fecha se han desarrollado.

CONCLUSIONES

De acuerdo con la escasa bibliografía disponible acerca del metabolismo de MDPV y metilona (cinco artículos para cada sustancia), se determina que los metabolitos principales son 3,4-catecol-PV y 4-OH-3-MeO-PV para MDPV, y 4-OH-3-MeO-MC y 3-OH-4-MeO-MC para metilona. Las técnicas cromatográficas altamente sensibles empleadas para el análisis de metabolitos permiten detectar concentraciones del orden de ng/mL. Los análisis fueron llevados a cabo en modelos *in vivo* e *in vitro*, que incluyen

principalmente microsomas hepáticos, así como animales de experimentación. Hasta el momento de esta revisión no existen referencias sobre el uso especies del hongo *Cunninghamella* para el estudio de metabolismo de MDPV o metilona, constituyendo una alternativa viable, económica y sencilla que podría permitir profundizar en los procesos de biotransformación de estas drogas de abuso.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores no declaran conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. UNODC, Oficina de las Naciones Unidas Contra la Droga y el delito “Informe Mundial sobre las Drogas 2015. Resumen Ejecutivo”, UNODC Research, 2015.
2. UNODC, Afiche: Categorías de nuevas sustancias psicoactivas vendidas en el mercado. Laboratory and Forensic Science, 2014.
3. K.A. Seely, J. Lapoint, J. H. Moran, L. Fattore, Spice drugs are more than harmless herbal blends: A review of the pharmacology and toxicology of synthetic cannabinoids, *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psych.*, **39**, 234-243 (2012).
4. J.M. Prosser, L.S. Nelson, The toxicology of bath salts: A review of synthetic cathinones, *J. Med. Toxicol.*, **8**, 33-42 (2012).
5. K. Miotto, J. Striebel, A.K. Cho, C. Wang, Clinical and pharmacological aspects of bath salt use: A review of the literatura and case reports, *Drug Alcohol Depend.*, **132**, 1-12 (2013).
6. K. Liveri, M.A. Constantinou, M. Afxentiou, P. Kanari, A fatal intoxication related to MDPV and pentedrone combined with antipsychotic and antidepressant substances in Cyprus, *Forensic Sci. Int.*, **265**, 160-165 (2016).
7. UNODC, Early Warning Advisory on New Psychoactive Substances NPS Substance Groups, URL: <https://www.unodc.org/LSS/Substance?testType=NPS>, consultado el 2 de febrero de 2016.
8. S. Gibbons, M. Zloh, An analysis of the ‘legal high’ mephedrone, *Bioorganic Med. Chem. Lett.*, **20**, 4135-4139 (2010).

9. S. Strano-Rossi, A.B. Cadwallader, X. de la Torre, F. Botrè, Toxicological determination and *in vitro* metabolism of the designer drug methylenedioxypropylvalerone (MDPV) by gas chromatography/mass spectrometry and liquid chromatography/quadrupole time-of-flight mass spectrometry, *Rapid Commun. Mass Spectr.*, **24**(18), 2706-2714 (2010).
10. M.R. Meyer, P. Du, F. Schuster, H.H. Maurer, Studies on the metabolism of the α -pyrrolidinophenone designer drug methylenedioxypropylvalerone (MDPV) in rat and human urine and human liver microsomes using GC-MS and LC-high-resolution MS and its detectability in urine by GC-MS, *J. Mass Spectrom.*, **45**(12), 1426-1442 (2010).
11. S. Anizan, K. Ellefsen, M. Concheiro, M. Suzuki, K.C. Rice, M.H. Baumann, M.A. Huestis, 3,4-Methylenedioxypropylvalerone (MDPV) and metabolites quantification in human and rat plasma by liquid chromatography-high resolution mass spectrometry, *Anal. Chim. Acta*, **827**, 54-63 (2014).
12. F.T. Peters, M.R. Meyer, In vitro approaches to studying the metabolism of new psychoactive compounds, *Drug Test. Anal.*, **3**(7-8), 483-495 (2011).
13. S.F. Imam, H. Patel, M. Mahmoud, N. A. Prakash, M.S. King, Bath salts intoxication: A case series, *J. Emerg. Med.*, **45**(3), 361-365 (2013).
14. H.T. Kamata, N. Shima, K. Zaitso, T. Kamata, M. Nishikawa, M. Katagi *et al.*, Simultaneous analysis of new designer drug, methylone, and its metabolites in urine by gas chromatography-mass spectrometry and liquid chromatography-electrospray ionization mass spectrometry, *Japan J. Forensic Sci. Tech.*, **12**(1), 97-106 (2007).
15. Expert Committee on Drug Dependence, Methylone (bk-MDMA), Critical Review Report, World Health Organization, Geneva, 16-20 June, 2014.
16. A. Dines, D. Wood, P. Dargan, Technical Report on 1-(1,3-benzodioxol-5-yl)-2-(pyrrolidin-1-yl)pentan-1-one (3,4-methylenedioxypropylvalerone, MDPV), Lisbon: European Monitoring Centre for Drug and Addiction EMCDDA, 2014.
17. Boehringer Ingelheim, α -Substituted-ketones and processes for their preparation, British patent, 1969, 23.1:149, 366.
18. M. Coppola, R. Mondola, 3,4-Methylenedioxypropylvalerone (MDPV): Chemistry, pharmacology and toxicology of a new designer drug of abuse marketed online, *Toxicol. Lett.*, **208**, 12-15 (2012).

19. M. Mardal, M. Meyer, Studies on the microbial biotransformation of the novel psychoactive substance methylenedioxypropylvalerone (MDPV) in wastewater by means of liquid chromatography-high resolution mass spectrometry/mass spectrometry, *Sci. Total Environ.*, **493**, 588-595 (2014).
20. S. Asha, M. Vidyavathi, Cunninghamella – A microbial model for drug metabolism studies – A review, *Biotechnol. Adv.*, **27**, 16-29 (2009).
21. L. Sun, H. Huang, L. Liu, D. Zhong, Transformation of verapamil by *Cunninghamella blakesleeana*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **70**(5), 2722-2727 (2004).
22. B. Ma, H. Huang, X. Chen, Y. Sun, L. Lin, D. Zhong, Biotransformation of metoprolol by the fungus *Cunninghamella blakesleeana*, *Acta Pharmacol. Sin.*, **28**(7), 1067-1074 (2007).
23. D. Zhong, L. Sun, L Liu, H. Huang, Microbial transformation of naproxen by *Cunninghamella* species, *Acta Pharmacol. Sin.*, **24**(5), 442-447 (2003).
24. J. Moody, D. Zhang, T.M. Heinze, C.E. Cerniglia, Transformation of amoxapine by *Cunninghamella elegans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**(8), 3646-3649 (2000).
25. Y. Toyokazu, M. Kito, M. Tsujii, N. Toru, Microbial synthesis of a proton pump inhibitor by enantioselective oxidation of a sulfide into its corresponding sulfoxide by *Cunninghamella echinulata* MK40, *Biotechnol. Lett.*, **23**, 1217-1222 (2001).
26. E. Baydoun, M. Karam, A. Wahab, M.S. Ahmed, M.S. Ahmad, C. Samreen *et al.*, Microbial transformation of nandrolone with *Cunninghamella echinulata* and *Cunninghamella blakesleeana* and evaluation of leishmaniacidal activity of transformed products, *Steroids*, **88**, 95-100 (2014).
27. Sistema de Alerta tempranas: Detección de nuevas sustancias psicoactivas en Colombia. Bogotá D.C., Observatorio de drogas de Colombia, 2015.
28. M. Meyer, P. Du, F. Schuster, H.H. Maurer, Studies on the metabolism of the α -pyrrolidinophenone designer drug methylenedioxy-propylvalerone (MDPV) in rat and human urine and human liver microsomes using GC-MS and LC-high-resolution MS and its detectability in urine by GC-MS, *J. Mass Spectrom.*, **45**(12), 1426-1442 (2010).

29. E. Bertol, F. Mari, R.B. Berto, G. Mannaioni, F. Vaiano, D. Favretto, A mixed MDPV and benzodiazepine intoxication in a chronic drug abuser: Determination of MDPV metabolites by LC-HRMS and discussion of the case, *Forensic Sci. Internat.*, **243**, 149-155 (2014).
30. B. Murray, C. Murphy, M. Beuhler, Death following recreational use of designer drug “bath salts” containing 3,4-methylenedioxypropylone (MDPV), *J. Med. Toxicol.*, **8**(1), 69-75 (2012).
31. C. Xueguo, Simultaneous determination of four designer drugs and their major-metabolites by liquid chromatography–mass spectrometry, *J. Chromatogr.*, **992**, 1-7 (2015).
32. R. Brenneisen, S. Geissshusler, X. Shorno, Metabolism of cathinone to (-)-norephedrine and (-)-norpseudoephedrine, *J. Pharm. Pharmacol.*, **38**, 298-300 (1986).
33. D. M. Mueller, K. M. Rentsch, Generation of metabolism by an automated online metabolism method using human liver microsomes with subsequent identification by LC-MS(n), and metabolism of 11 cathinones. *Anal. Bioanal. Chem.*, **402**(6), 2141-2151 (2012).
34. R. López-Arnau, J. Martínez-Clemente, M. Carbó, D. Pubill, E. Escubedo, J. Camarasa, An integrated pharmacokinetic and pharmacodynamic study of a new drug of abuse, methylone, a synthetic cathinone sold as “bath salts”, *Prog. Neuro-Psychoph.*, **45**, 64-72 (2013).
35. C.E. Cerniglia, J.B. Sutherland, S.A. Crow, Fungal metabolism of aromatic hydrocarbons. En: “Microbial Degradation of Natural Products”, Editado por: G. Winkelmann G., VCH, Weinheim, 1992, p. 193-217.
36. M. Hezari, P.J. Davis, 9 Models of mammalian metabolism: N-demethylation of furosemide to yield the mammalian metabolite CSA using *Cunninghamella*, *Drug Metab.*, **20**, 882-888 (1992).
37. D. Zhang, Y. Yang, J. Leakey, C. Cerniglia, Phase I and phase II enzymes produced by *Cunninghamella*: *Elegans* for the metabolism of xenobiotics, *FEMS Microbiol. Lett.*, 221-226 (1996).
38. R.V. Smith, J.P. Rosazza, Microbial models of mammalian metabolism. Aromatic hydroxylation, *Arch. Biochem. Biophys.*, **161**(2), 551-558 (1974).

39. R. Azerad, Microbial models for drug metabolism, *Adv. Biochem. Engineer./Biotechnol.*, **63**, 169-218 (1999).
40. C.D. Murphy, Drug metabolism in microorganisms. *Biotechnol. Lett.*, **37** 19-28(2015).
41. S. Asha, M. Vidyavathi, *Cunninghamella*: a microbial model for drug metabolism studies: A review, *Biotechnol. Adv.*, **27**, 16-29 (2009).
42. R.E. Betts, D.E. Walters, J.P. Rosazza, Microbial transformations of antitumor compounds. 1. Conversion of acronycine to 9-hydroxyacronycine by *Cunninghamella echinulata*, *J. Med. Chem.*, **17**, 599-602 (1974).
43. D. Zhang, F.E. Evans, J.P. Freeman, Y. Yang, J. Deck, C.E. Cerniglia, Formation of mammalian metabolites of cyclobenzaprine by the fungus, *Cunninghamella elegans*, *Chem.-Biol. Interact.*, **102**, 79-92 (1996).
44. B.C. Foster, R.T. Coutts, F.M. Pasutto, A. Mozayani, Microbial metabolism of phenelzine and pheniprazine, *Life Sciences*, **42**, 285-292 (1988).
45. D. Zhang, F.E. Evans, J.P. Freeman, B. Duhart, C.E. Cerniglia, Biotransformation of amitriptyline by *Cunninghamella elegans*. Drug metabolism and disposition: the biological fate of chemicals, *Drug Metab. Dispos.*, **23**, 1417-1425 (1995).
46. D. Zhang, Y. Yang, J.E. Leakey, C.E. Cernigli, Phase I and phase II enzymes produced by *Cunninghamella elegans* for the metabolism of xenobiotics, *FEMS Microbiol. Lett.*, **138**, 221-226 (1996).
47. Y.Z. Zhu, Y.S. Keum, L. Yang, H. Lee, H. Park, J.H. Kim, Metabolism of a fungicide mepanipyrim by soil fungus *Cunninghamella elegans* ATCC 36112, *J. Agricult. Food Chem.*, **58**, 12379-12384 (2010).
48. S. Asha, M. Vidyavathi, *Cunninghamella* - A microbial model for drug metabolism studies - A review, *Biotechnol. Adv.*, **27**, 16-29 (2009).
49. D. Zhang, F.E. Evans, J.P. Freeman, Y. Yang, J. Deck, C.E. Cerniglia, Formation of mammalian metabolites of cyclobenzaprine by the fungus, *Cunninghamella elegans*, *Chem.-Biol. Interact.*, **102**, 79-92 (1996).
50. D. Zhang, F.E. Evans, J.P. Freeman, B. Duhart, C.E. Cerniglia, Biotransformation of amitriptyline by *Cunninghamella elegans*, *Drug Metab. Dispos.*, **23**, 1417-1425 (1995).

51. J.D. Moody, J.P. Freeman, P.P. Fu, C.E. Cerniglia, Biotransformation of mirtazapine by *Cunninghamella elegans*, *Drug Metab. Dispos.*, **30**, 1274-1279 (2002).
52. B. Ma, H.H. Huang, X.Y. Chen, Y.M. Sun, L.H. Lin, D.F. Zhong, Biotransformation of metoprolol by the fungus *Cunninghamella blakesleeana*, *Acta Pharmacol. Sin.*, **28** 1067-1074 (2007).
53. J.D. Moody, D. Zhang, T.M. Heinze, C.E. Cerniglia, Transformation of amoxapine by *Cunninghamella elegans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **66**, 3646-3649 (2000).
54. J.D. Moody, J.P. Freeman, C.E. Cerniglia, Biotransformation of doxepin by *Cunninghamella elegans*, *Drug Metab. Dispos.*, **27**, 1157-1164 (1999).
55. D. Zhang, J.P. Freeman, J.B. Sutherland, A.E. Walker, Y. Yang, C.E. Cerniglia, Biotransformation of chlorpromazine and methdilazine by *Cunninghamella elegans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **62**, 798-803 (1996).
56. D. Zhang, E.B. J.R. Hansen, J. Deck, T.M. Heinze, A. Henderson, W.A. Korfmacher, C.E. Cerniglia, Fungal transformations of antihistamines: Metabolism of cyproheptadine hydrochloride by *Cunninghamella elegans*, *Xenobiotica*, **27** 301-315 (1997).
57. C.E. Cerniglia, S.K. Yang, Stereoselective metabolism of anthracene and phenanthrene by the fungus *Cunninghamella elegans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 119-124 (1984).
58. J.V. Pothuluri, J.P. Freeman, F.E. Evans, C.E. Cerniglia, Fungal metabolism of acenaphthene by *Cunninghamella elegans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **58**, 3654-3659 (1992).
59. C.E. Cerniglia, D.T. Gibson, Metabolism of naphthalene by *Cunninghamella elegans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **34**, 363-370 (1977).
60. C.E. Cerniglia, K.J. Lambert, D.W. Miller, J.P. Freeman, Transformation of 1- and 2-methylnaphthalene by *Cunninghamella elegans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **47**, 111-118 (1984).
61. C.E. Cerniglia, P.P. Fu, S.K. Yang, Metabolism of 7-methylbenz[a]anthracene and 7-hydroxymethylbenz[a]anthracene by *Cunninghamella elegans*, *Appl. Environ. Microbiol.*, **44**, 682-689 (1982).

62. S. Watanabe, U. Kuzhiumparambil, Z. Winiarski, S. Fu. Biotransformation of synthetic cannabinoids JWH-018, JWH-073 and AM2201 by *Cunninghamella elegans*, *Forensic Sci. Internat.*, **261**, 33-42 (2016).
63. Y.Z. Zhu, Y.S. Keum, L. Yang, H. Lee, H. Park, J.H. Kim, Metabolism of a fungicide mepanipyrim by soil fungus *Cunninghamella elegans* ATCC36112, *J. Agricult. Food Chem.*, **58**, 12379-12384 (2010).
64. M. Hangler, B. Jensen, S Ronhede, S.R. Sorensen, Inducible hydroxylation and demethylation of the herbicide isoproturon by *Cunninghamella elegans*, *FEMS Microbiol. Lett.*, **268**, 254-260 (2007).
65. J.V. Pothuluri, F.E. Evans, D.R. Doerge, M.I. Churchwell, C.E. Cerniglia, Metabolism of metolachlor by the fungus *Cunninghamella elegans*, *Arch. Environ. Contaminat. Toxicol.*, **32**, 117-125 (1997).
66. D. Zhang, Y. Yang, J.E. Leakey, C.E. Cerniglia, Phase I and phase II enzymes produced by *Cunninghamella elegans* for the metabolism of xenobiotics, *FEMS Microbiol. Lett.*, **138**, 221-226 (1996).

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

E.A. Silva, J.A. Martínez, Antecedentes del estudio metabólico de MDPV y metilona. Propuesta de un modelo de biotransformación a través de hongos del género *Cunninghamella*, *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(3), 484-502 (2016).

REV. COLOMB. CIENC. QUÍM. FARM.,
VOL. 45, NÚMEROS 1 A 3, 2016.

ÍNDICE GENERAL POR TIPO DE ARTÍCULOS

Artículos de investigación científica

- Estudio de la estabilidad de emulsiones con estructuras líquido-cristalinas y su aplicación farmacéutica mediante el agregado de un principio activo liposoluble: Econazol
Gastón Lillini, Ricardo Pasquali, Cristian Pedemonte, Carlos Bregni,
Susana Lavaselli 5-20
- Modelagem matemática do desempenho de sensores fotoeletroquímicos,
baseados no eletrodo Ti/TiO₂
Volodymyr V. Tkach, Reza Ojani, Ebrahim Zarei, Olena I. Aksimentyeva,
Vasyl' V. Nechyporuk, Petró I. Yagodynets' 21-34
- Estudo matemático de estabilidade do desempenho do sistema $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$
como mediador na eletrorredução de nitrito, com fins eletroanalíticos
Volodymyr V. Tkach, André Santos, Reza Ojani, Petró I. Yagodynets' 77-91
- Adaptación y optimización de un método de lectura por fluorometría en el modelo
farmacológico in vitro de cultivo de *Plasmodium falciparum*
María Helena Arias Marciales, Yinneth Victoria Rodríguez Novoa,
Giovanny Garavito Cárdenas 127-146
- Synthesis, characterization and antibacterial screening of some Schiff bases
derived from pyrazole and 4-amino antipyrine
Shipra Baluja, Sumitra Chanda 201-218
- Eletrossíntese de anestésina. Uma descrição matemática
Volodymyr V. Tkach, Sílvio C. de Oliveira, Reza Ojani,
Olena I. Aksimentyeva, Olga Yelenich, Petró I. Yagodynets' 219-233
- O mecanismo do desempenho de poli-2-mercaptopbenzimidazol na detecção
eletroquímica de colesterol e as suas representações eletroquímica e matemática
Volodymyr V. Tkach, Sílvio C. de Oliveira, Mohammad Reza M. Hosseini,
Reza Ojani, Olga V. Yelenich, Petró I. Yagodynets' 234-242

- Solution thermodynamics and preferential solvation of 3-chloro-N-phenyl-phthalimide in acetone + methanol mixtures
Grecia Angeline del Mar Areiza Aldana, Aleida Cuellar Lozano,
Nasly Alexandra Peña Carmona, Diego Ivan Caviedes Rubio,
Abbas Mehrdad, Amir Hossein Miri, Gerson Andrés Rodríguez Rodríguez,
Daniel Ricardo Delgado 256-274
- Efecto del aceite esencial de *Rosmarinus officinalis* sobre *Porphyromonas gingivalis* cultivada *in vitro*
Diego M. Bonilla, Yulitza Mendoza, Campo E. Moncada, Ozkarina Murcia,
Ángela P. Rojas, Jairo Callet†, Roberto Pinzón, Lina Nerio 275-287
- Ultrasonic behavior of various chalcones in some solvents at different temperatures
Shipra Baluja, Divyata Lava 339-361
- A eletrorredução de benzodiazepinas e a sua avaliação matemática
Volodymyr Tkach, Sílvio C. de Oliveira, Reza Ojani, Olga Yelenich,
Petró I. Yagodynets 362-373
- Estudo de estabilidade da eletrossíntese e do desempenho eletroanalítico do compósito poli(l-metionina)-nano-Au na presença de dopamina e de ácido úrico
Volodymyr V. Tkach, Sílvio C. de Oliveira, Yana G. Ivanushko,
Svitlana M. Lukanova, Reza Ojani, Petró I. Yagodynets', Aline M. da Rocha 385-421
- Artículos de investigación tecnológica**
- Diseño de un sistema bioadhesivo de clorhexidina empleando pullulan como matriz para uso en mucosa oral
Jean M. Castro Ruiz, Bibiana M. Vallejo Díaz, Helber Barbosa Barbosa 48-76
- Validación de una metodología analítica para la cuantificación de polifenoles totales en procesos de extracción asistida por microondas sobre frutos de la especie Colombiana *Vaccinium meridionale*
Wilfred E. Espinosa Manrique, Luis C. A. Garzón Salcedo,
Oscar J. Medina Vargas 109-126
- Nanopartículas lipídicas a base de propóleos como transportadores de activos de interés cosmético: Desarrollo, caracterización y evaluación de seguridad
Yuly X. Correa González, Daniela Paillí Jiménez, Alba L. Valenzuela Correa,
Maritza A. Rojas Cardozo, Claudia E. Mora Huertas 147-168

Investigación básica experimental para la definición de los parámetros críticos en el proceso de obtención de soluciones concentradas de propóleos (SCP).

Luis E. Rodríguez Rodríguez, Antonio R. Miranda Cruz, Ariel Escalona Arias,
Walter Góngora Amores, Saide Batista Suárez, Dailín Cobos Valdés 179-200

Microencapsulación de aceite de sacha inchi (*Plukenetia volubilis* L.) mediante secado por aspersión

Alex Pastuña-Pullutasig, Orestes López-Hernández, Alexis Debut, Andrea Vaca,
Eduardo Rodríguez-Leyes, Roxana Vicente, Víctor González,
María González-Sanabia, Fausto Tapia-Hernández 422-437

Validación de una metodología analítica USP por HPLC para la cuantificación de warfarina sódica en tabletas

Fredys Sánchez-Hoyos, Argenis Cardenas, Jairo Mercado-Camargo,
Gina Domínguez-Moré, Harold Gómez-Estrada 470-483

Artículos de investigación clínica

Estudio de utilización de antibióticos en el servicio de consulta externa de un hospital público en Bogotá, D.C.

José Julián López, Adriana Marcela Garay 35-47

Principales hábitos de medicación por los propietarios de caninos que acuden a consulta veterinaria en Pasto, Nariño, Colombia

Juan M. Astaiza-Martinez, Carmenza J. Benavides-Melo,
Grace K. Muñoz-García, Melissa F. Mora-Muñoz, Carlos A. Cháves-Velasquez 92-108

Biotipos y susceptibilidad antimicrobiana de *S. mutans* en niños con y sin caries dental

Fredy Gamboa, Dabeiba-Adriana García, Claudia Patricia Lamby,
Ana Lucía Sarralde 288-304

Automedicación en estudiantes de medicina de la Universidad del Rosario en Bogotá D. C., Colombia.

Claudia Alejandra López-Cabra, Jubby Marcela Gálvez-Bermúdez,
Camilo Domínguez-Domínguez, Adriana del Pilar Urbina-Bonilla,
Carlos Alberto Calderón-Ospina 374-384

Artículos de revisión

- Drug information centers: an overview to the concept
Mónica Alexandra Nova Manosalva, José Julián López Gutiérrez,
Martin Cañas 243-255
- Cosmetovigilancia: un estudio de alcance
Paola Natalia Cáceres Guevara, Karen Luise Lang, Marcela Aragón Novoa 305-327
- Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto
con alto potencial biológico
Andrés Ahumada, Andrés Ortega, Diana Chito, Ricardo Benítez 438-469
- Antecedentes del estudio metabólico de MDPV y metilona.
Propuesta de un modelo de biotransformación a través de hongos
del género *Cunninghamella*
Elia A. Silva, Jorge A. Martínez 484-502

Índice general de autores

Ahumada, Andrés	438	González, Víctor	422
Aksimentyeva, Olena I.	21, 219	González-Sanabria, María	422
Aragón-Novoa, Marcela	305	Hosseini, Mohammad Reza M.	234
Areiza-Aldana, Grecia A. M.	256	Ivanushko, Yana G.	385
Arias-Marciales, María Helena	127	Lamby, Claudia Patricia	288
Astaiza-Martínez, Juan M.	92	Lang, Karen Luise	305
Baluja, Shipra 201,	339	Lava, Divyata	339
Barbosa-Barbosa, Helber	48	Lavaselli, Susana	5
Batista-Suárez, Saide	179	Lillini, Gastón	5
Benavides-Melo, Carmenza J.	92	López-Cabra, Claudia Alejandra	374
Benítez, Ricardo	438	López-Gutiérrez, José Julián	35, 243
Bonilla, Diego M.	275	López-Hernández, Orestes	422
Bregni, Carlos	5	Lukanova, Svitlana M.	385
Cáceres-Guevara, Paola Natalia	305	Martínez, Jorge A.	484
Calderón-Ospina, Carlos Alberto	374	Medina-Vargas, Oscar J.	109
Calle, Jairo	275	Mehrdad, Abbas	256
Cañas, Martín	243	Mendoza, Yulitza	275
Cárdenas, Argenis	470	Mercado-Camargo, Jairo	470
Castro-Ruiz, Jean M.	48	Miranda-Cruz, Antonio R.	179
Caviedes-Rubio, Diego Ivan	256	Miri, Amir Hossein	256
Chanda, Sumitra	201	Moncada, Campo E.	275
Cháves-Velasquez, Carlos A.	92	Mora-Huertas, Claudia E.	147
Chito, Diana	438	Mora-Muñoz, Melissa F.	92
Cobos-Valdés, Dailín	179	Muñoz-García, Grace K.	92
Correa-González, Yuly X.	147	Murcia, Ozkarina	275
Cuellar-Lozano, Aleida	256	Nechyporuk, Vasyly' V.	21
Da Rocha, Aline M.	385	Nerio, Lina	275
De Oliveira, Sílvio C.	219, 234, 362, 385	Nova-Manosalva, Mónica Alexandra	243
Debut, Alexis	422	Ojani, Reza	21, 77, 219, 234, 362, 385
Delgado, Daniel Ricardo	256	Ortega, Andrés	438
Domínguez-Domínguez, Camilo	374	Paillió-Jiménez, Daniela	147
Domínguez-Moré, Gina	470	Pasquali, Ricardo	5
Escalona-Arias, Ariel	179	Pastuña-Pullutasig, Alex	422
Espinosa-Manrique, Wilfred E.	109	Pedemonte, Cristian	5
Gálvez-Bermúdez, Jubby Marcela	374	Peña-Carmona, Nasly Alexandra	256
Gamboa, Fredy	288	Pinzón, Roberto	275
Garavito-Cárdenas, Giovanni	127	Rodríguez-Leyes, Eduardo	422
Garay, Adriana Marcela	35	Rodríguez-Novoa, Yinneth Victoria	127
García, Dabeiba-Adriana	288	Rodríguez-Rodríguez, Gerson Andrés	256
Garzón-Salcedo, Luis C. A.	109	Rodríguez-Rodríguez, Luis E.	179
Gómez-Estrada, Harold	470	Rojas, Ángela P.	275
Góngora-Amores, Walter	179	Rojas-Cardozo, Maritza A.	147
		Sánchez-Hoyos, Fredys	470
		Santos, André	77
		Sarralde, Ana Lucía	288

Silva, Eliana A.	484
Tapia-Hernández, Fausto	422
Tkach, Volodymyr V.	21, 77, 219, 234, 362, 385
Urbina-Bonilla, Adriana del Pilar	374
Vaca, Andrea	422
Valenzuela-Correa, Alba L.	147
Vallejo-Díaz, Bibiana M.	48
Vicente, Roxana	5, 422
Yagodynets', Petró I.	21, 77, 219, 234, 362, 385
Yelenich, Olga V.	219, 234, 362
Zarei, Ebrahim	21

Índice analítico de términos

Español

Aceite del árbol de té	148
Aceite esencial	275
Actividad antibacteriana	202
Actividad biológica	438
4-Amino antipirina	202
Antibióticos	35
Antimaláricos	128
Automedicación	374
Bases de Schiff	202
Biotransformación	484
Caries dental	289
Chalconas	339
<i>Chenopodium quinoa</i>	438
3-Cloro-N-fenil-ftalimida	257
Cloroformo	339
Coefficiente de actividad	257
Cosmetovigilancia	305
Cristales líquidos liotrópicos	5
<i>Cunninghamella</i>	484
Dimetil formamida	202
DMF	339
Dueños	93
Econazol	5
Emulsificación-difusión	148
Emulsiones	5
Espectrometría de fluorescencia	128
Estudiantes de Medicina	374
Estudio de utilización de medicamentos	35
Extracción asistida por microondas	109
Extractos vegetales	109
Farmacoepidemiología	35, 374
Fármacos	93
Formulación	93
Glucósidos triterpénicos	438
Gotas secundarias	5
Hábitos de prescripción	35
HLB	5
HPLC-DAD	7, 470
Investigación experimental	180
Legislación de cosméticos	305

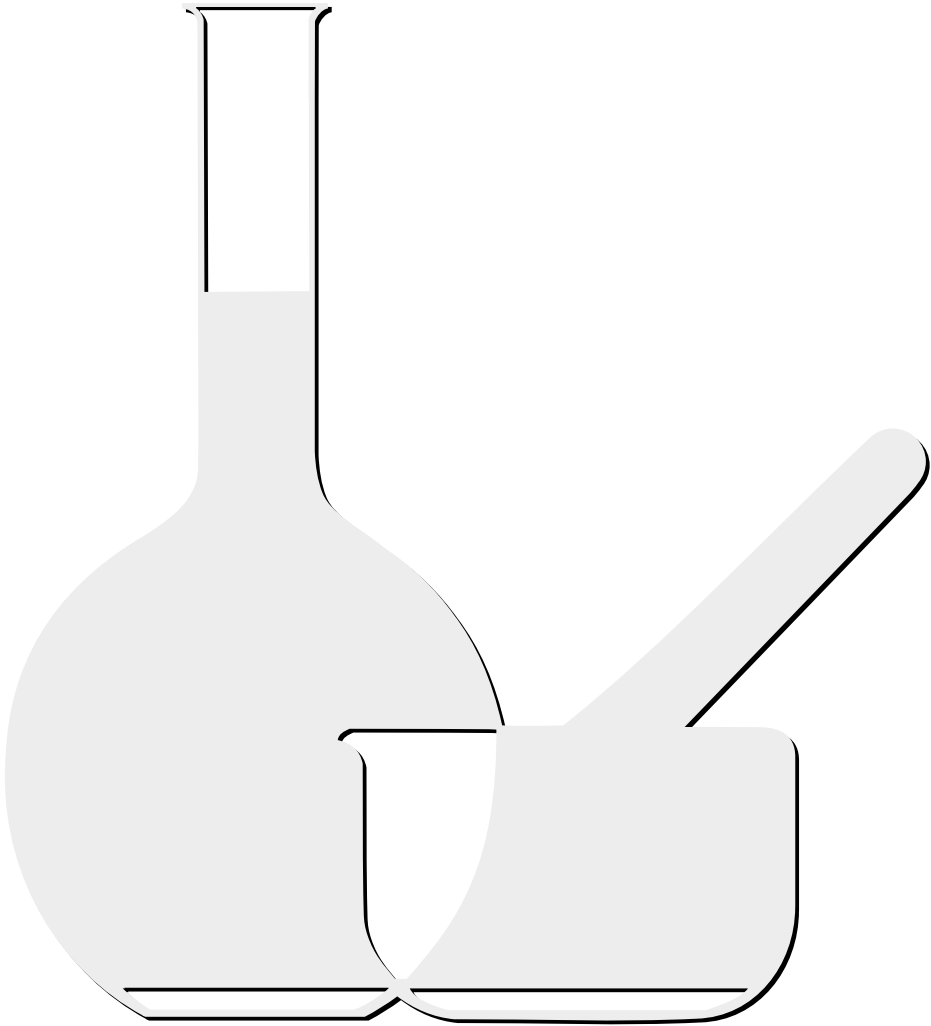
Mascotas	93
MDPV	484
Medicamentos de venta libre	374
Metilona	484
Método de obtención	180
Microencapsulación	422
Mucoadhesión	48
Nanopartículas sólidas lipídicas	148
Parámetros acústicos	339
Parámetros de calidad	180
Películas poliméricas	48
Perfil biotípico	289
Pirazol	202
<i>Plasmodium falciparum</i>	128
Polifenoles	109
<i>Porphyromonas gingivalis</i>	275
Prevalencia	374
Propóleos	148
Pullulan	48
Reactivo de Folin-Ciocalteu	109
Reología	5
<i>Rosmarinus officinalis</i>	275
Sacha inchi	422
Saponinas	438
Secado por aspersión	422
Seguridad de cosméticos	305
Sistema de notificación	305
Solubilidad	257
Soluciones concentradas de propóleos	180
Solvatación preferencial	257
<i>Streptococcus mutans</i>	289
Susceptibilidad antimicrobiana	289
Sybr Green I	128
Tabletas bioadhesivas	48
Termodinámica de soluciones	257
<i>Vaccinium meridionale</i>	109
Validación de métodos analíticos	109, 470
Velocidad ultrasónica	339
Warfarina sódica	470

Inglés

Acoustical parameters	339
Activity coefficients	256
4-Amino antipyrine	201

Anesthesyne	220	Lyotropic liquid crystals	6
Anodic electrosynthesis	220	MDPV	484
Antibacterial activity	201	Medical Student	374
Antibiotics	36	Methionine	385
Antimalarials	128	Methods of obtaining	180
Antimicrobial susceptibility	290	Methylone	484
Anxiolytic drugs	362	Microencapsulation	422
Benzodiazepines	362	Microwave-assisted extraction	110
Bioadhesive tablets	49	Mucoadhesion	49
Biological activity	438	Nanocomposites	385
Biotransformations	484	Nitrite	78
Biotypic profile	290	Non prescription drugs	374
Cathodical electrosynthesis	220	Notification system	306
Chalcones	339	Owners	93
<i>Chenopodium quinoa</i>	438	Parameters of quality	180
3-Chloro-N-phenylphtalimide	256	Pets	93
Chloroform	339	Pharmaceutical electrochemical analysis	362
Cholesterol	235	Pharmaco-epidemiology	36
Conducting polymers	235	Pharmacoepidemiology	374
Cosmetovigilance	306	Plant extracts	110
<i>Cunninghamella</i>	484	<i>Plasmodium falciparum</i>	128
Dental caries	290	Poly-2-mercaptobenzimidazole	235
Dimethyl formamide	01	Polyelectrolytes	385
DMF	339	Polymer films	49
Drug utilization study	36	Polyphenols	10
Drugs	93	<i>Porphyromonas gingivalis</i>	276
Econazole	6	Preferential solvation	256
Electrochemical behavior	22	Prescription patterns	36
Electrochemical oscillations	220	Prevalence	374
Electrochemical sensors	78, 235	Propolis	148
Electropolymerization	385	Pullulan	49
Electroreduction	78	Pyrazole	201
Emulsification-diffusion	148	Rheology	6
Emulsions	6	<i>Rosmarinus officinalis</i>	276
Essential oil	276	Sacha inchi	422
Experimental investigation	180	Safety cosmetics	306
Fluorescence spectrometry	128	Saponins	438
Folin-Ciocalteu reagent	110	Schiff bases	201
Formulation	93	Secondary droplets	6
Fotoelectrocatalysis	22	Self Medication	374
Hexacyanoferrate	78	Sensors	22
HLB	6	Solid lipid nanoparticles	148
HPLC-DAD	470	Solubility	256
Hydrogen potential	362	Solution thermodynamics	256
Legislation cosmetics	306		

Solutions concentrated Propolis	180	Comportamento electroquímico	21
Spray drying	423	Dióxido de titânio	21
Stable steady-state	22, 78, 220, 235, 362, 385	Electrorredução	77
<i>Streptococcus mutans</i>	290	Electrossíntese anódica	219
Sybr Green I	128	Electrossíntese catódica	219
Tea tree oil	148	Eletropolimerização	385
Titanium dioxide	22	Estado estacionário estável	21, 77, 219, 234, 362, 385
Triterpene glycosides	438	Fotoelectrocatalise	
Ultrasonic velocity	339	Hexacianoferrato	77
Vaccinium meridionale	110	Metionina	385
Validation of analytical methods	110	Nanocompósitos	385
Validation of analytical method	470	Nitrito	77
Warfarin sodium	470	Oscilações electroquímicas	219
		Poli-2-mercaptobenzimidazol	234
		Polieletrólitos	385
		Polímeros condutores	234
		Potencial de hidrogênio	362
		Sensores	21
		Sensores electroquímicos	77, 234
Portugués			
Análise eletroquímica farmacêutica	362		
Anestésina	219		
Ansiolíticos	362		
Benzodiazepinas	362		
Colesterol	234		



NORMAS PARA PUBLICACIÓN

La Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas es editada por el Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia (sede Bogotá), con una periodicidad cuatrimestral y tiene como objetivo publicar artículos originales de diversos tópicos relacionados con las ciencias farmacéuticas, tales como recursos naturales, atención farmacéutica, evaluación clínica y preclínica, y los relacionados con la industria farmacéutica, la salud y los medicamentos.

Además de artículos completos, la revista acepta revisiones, comunicaciones breves y cartas al editor. Las contribuciones pueden enviarse en español, portugués o inglés, en letra Times New Roman, tamaño 12, por triplicado (original y dos copias) junto con una copia en medio magnético especificando el procesador de textos utilizado.

Todo el material propuesto para publicación será revisado por el comité editorial, y luego de su aceptación para evaluación, será sometido a revisión por pares académicos. Las evaluaciones recibidas por el comité editorial serán remitidas al autor para que se realicen los ajustes sugeridos. Los autores tendrán un lapso de tres semanas para responder cada una de las observaciones, introducir en el texto las modificaciones del caso y retornar el documento corregido al comité editorial. Después de que los evaluadores o el comité editorial lleven a cabo

una segunda revisión del manuscrito, la revista comunicará a los autores la decisión sobre la publicación o no del mismo. Los originales de los artículos permanecerán en los archivos de la Revista por un año. Los manuscritos deberán acompañarse de una carta firmada por todos los autores en la cual se declare que el trabajo es inédito; es decir, que el artículo ni parte de él ha sido publicado o está en vía de publicación en otra revista, y en la que se responsabilizan por la información publicada. Se entiende claramente que los trabajos enviados no están siendo considerados para su publicación en otros medios. Siempre que se acepte un trabajo para publicación, el autor principal recibirá sin costo tres ejemplares del número de la revista correspondiente.

Los manuscritos deben ir a doble espacio, incluyendo tablas, con un mínimo de 2,5 cm de margen por todos los lados. No se admiten notas a pie de página.

Todos los manuscritos deben incluir:

- Título, centrado y minúscula.
- Autor(es), cursiva, izquierda, incluyendo dirección postal completa, correo electrónico y fax.
- Resumen y Summary. Al principio del manuscrito y con título centrado. Incluye la justificación del estudio y los principales hallazgos y conclusiones, debe tener entre 50 y 200 palabras. Incluir además el título del artículo y el resumen en inglés (Summary) independiente del idioma del manuscrito.

- Palabras clave (debajo del Resumen) y Key words (debajo de Summary). De tres a seis palabras en minúscula, excepto la primera, y separadas por coma y espacio. Preferiblemente tomadas del Index Medicus (<http://www.nlm.nih.gov/mesh/meshhome.htm>).

Los artículos se dividirán en las siguientes secciones: introducción, metodología, resultados y discusión, agradecimientos y referencias. Los títulos deben estar separados por dos espacios en sus partes superior e inferior, centrados y en negrilla. Los detalles acerca de la metodología experimental utilizada deberán ser lo suficientemente claros como para repetir la experimentación.

Las tablas deben llevar numeración arábica de acuerdo con el orden de aparición en el texto. El título debe ir en su parte superior y las notas en la parte inferior. En los encabezamientos de las columnas se deben anotar los símbolos de las unidades utilizadas. Las fotografías, gráficas, dibujos y esquemas se denominan 'figuras' y deben llevar numeración arábica de acuerdo con el orden de aparición en el texto. El título debe ir debajo de la figuras.

Los artículos relacionados con experimentación con animales deben ajustarse plenamente a los lineamientos éticos trazados por la Organización Mundial de la Salud. Los extractos o fracciones evaluados *in vitro* o *in vivo* deben definirse químicamente, cuando menos en cuanto a la clase de constituyente. El material vegetal deberá estar clasificado botánicamente.

Las abreviaturas de pesos y medidas serán las indicadas por la Farmacopea de los Estados Unidos en su edición oficial o unidades SI.

Los datos espectroscópicos se deben presentar de la siguiente manera:

UV λ max (solvente ϵ) nm ($\log \epsilon$). Ej.: UV λ max (MeOH) 275 ($\log \epsilon$ 2.94).

IR ν max (medio) cm^{-1} . Ej.: IR ν max (KBr) 1740, 1720 cm^{-1} .

EM m/z (% intensidad relativa). Ej.: em m/z (%): 340 (M^+ , 100), 295 (10), 134 (26) ...

RMN ^1H (solvente, frecuencia de registro) δ ppm (integración, multiplicidad, J en Hz, asignación). Ej.: RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) 3.84 (1H, *d*, J = 10.3 Hz, H-30).

RMN ^{13}C (solvente, frecuencia de registro) δ ppm (multiplicidad, asignación). Ej.: RMN ^{13}C (CDCl_3 , 600 MHz) 16.60 (*t*, C-12).

Las abreviaturas usadas para describir la multiplicidad de las señales en RMN son: *s* = singlete, *d* = doblete, *t* = triplete, *m* = multiplete, *dd* = doble de dobletes, *ddd* = doble de doble de dobletes.

Las abreviaturas para los solventes y reactivos más comúnmente usados son: EtOH = etanol, MeOH = metanol, CHCl_3 = cloroformo, C_6H_6 = benceno, AcOEt = acetato de etilo, EP = éter de petróleo, Me_2CO = acetona, DMSO = dimetilsulfóxido, AcOH = ácido acético.

Se evitará el uso excesivo de tablas y figuras que estarán numeradas y que se anexarán en hojas separadas con su respectiva descripción.

Las referencias se citarán en el texto con su respectiva numeración. Solo se pueden citar tesis y libros o artículos que hayan sido publicados. Deben incluir: autor(es), título de la publicación, año, volumen y páginas, de la siguiente manera:

Revistas: Iniciales del nombre y apellido completo de todos los autores, título completo del artículo, nombre abreviado o nombre completo de la revista dependiendo si aparece en el Chemical Abstract o en índices equivalentes. La referencia se cita en letra itálica, volumen en negrilla, página inicial y año entre paréntesis. Ej.:

1. H.P. Baden, L.A. Goldsmith, B. Fleming, A comparative study of... keratinized tissues, *Bioch. Biophys. Acta*, **322**, 269 (1973).

Comunicaciones personales: Iniciales del nombre, apellido completo e institución, seguido por las palabras comunicación personal y el año. Ej.:

2. A.J.M. Leeuwenberg, Agricultural University, Wageningen, Holanda, comunicación personal, 1984.

Libros: Iniciales del nombre y apellido completo de los autores, título del libro entre comillas, editorial, ciudad, año, volumen y página. Ej.:

3. D.R. Morris, "The Biochemistry of Disease", Morris et Marton Eds., London, 1981, Vol. 8, p. 223.

Capítulos de libros escritos por varios autores: Iniciales del nombre y apellido completo del autor, título del capítulo, seguido de la palabra En:, título del libro entre comillas, editores, editorial, ciudad, año, volumen, páginas. Ej.:

4. A.D. Elbein, R.J. Molyneux, The chemistry and biochemistry of simple indolizidine and related polyhydroxy alkaloids. En: "Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives", Ed. por S.W. Pelletier, Wiley, New York, 1987, Vol. 5, pp. 1-54.

Tesis: Autores, título seguido de la palabra Tesis de..., institución, año, páginas. Ej.:

5. F. Salcedo, "Contribución al estudio de las Cinchonas colombianas", Tesis de Grado, Universidad del Valle, 1983, pp. 14-16.

Referencias de Internet: Inicial del nombre y apellido completo del autor, título del documento, dirección URL y fecha de revisión. Ej.:

6. Lipidat. Lipid thermotropic phase transition database. Ohio State University. URL: <http://www.lipidat.chemistry.ohio-state.edu>, consultado en septiembre de 2001.

La correspondencia debe enviarse a la siguiente dirección:

Comité Editorial

Revista Colombiana de Ciencias
Químico-Farmacéuticas
Departamento de Farmacia
Facultad de Ciencias
Universidad Nacional de Colombia

Cra. 30 N.º 45-03
Fax: 57-1-3165060
Bogotá – Colombia
Correo electrónico:
rcciquifa_fcbog@unal.edu.co

Dirección WEB:

<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcciquifa>

Igualmente, los manuscritos pueden enviarse al correo electrónico:
rcciquifa_fcbog@unal.edu.co

*Revista Colombiana
de Ciencias Químico-Farmacéuticas, 45(3)*
se terminó de imprimir y encuadernar
en Proceditor, sobre papel bond de 90 gramos
Bogotá, D. C., Colombia.

