

58
29



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

PROPUESTA INICIAL PARA LA DOSIFICA-
CION ELECTROANALITICA DE METRONI-
DAZOL EN MEDICAMENTO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

Q U I M I C O

P R E S E N T A ;

JAVIER VELAZQUEZ CORTES



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

MEXICO, D. F.

1991



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CONTENIDO.	Página.
1.0. <u>INTRODUCCION.</u>	1
1.1. Planteamiento del problema.	1
1.2. Propuesta y objetivo del trabajo.	2
2.0. <u>ANTECEDENTES.</u>	3
2.1. Principios de electroquímica analítica.	3
2.1.1. Las reacciones electroquímicas.	3
2.1.2. Curvas corriente potencial.	4
2.2. Polarografía clásica.	8
2.3. Polarografía diferencial de pulsos.	13
2.4. Química y electroquímica del metronidazol.	14
2.4.1. Propiedades químicas.	14
2.4.1. Técnicas instrumentales de análisis.	16
2.4.3. Electroquímica del metronidazol.	17
2.4.4. Propiedades farmacológicas.	20
3.0. <u>PARTE EXPERIMENTAL.</u>	23
3.1. Diseño experimental.	23
3.2. Material, reactivos y equipo.	24
3.3. Metodología.	26
4.0. <u>RESULTADOS Y DISCUSIONES.</u>	30
4.1. La solubilidad del metronidazol.	30
4.2. Los dominios de electroactividad.	30
4.3. Detección de la señal polarográfica.	32
4.4. Influencia del pH.	32
4.5. Respuesta polarográfica del metronidazol en los diferentes medios reaccionales.	34

4.6. Cuantificación del metronidazol en las diferentes presentaciones farmacéuticas.	57
4.7. Influencia del excipiente.	72
5.0. <u>CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.</u>	79
6.0. <u>BIBLIOGRAFIA.</u>	81

1.0. INTRODUCCION.

1.1. Planteamiento de problema.

La electroquímica ofrece variadas técnicas de estudio para enfrentar la necesidad que tiene el químico de conocer la mayor información acerca de las propiedades químicas y físicas de los compuestos ya sea para caracterizarlos, cuantificarlos ó sintetizarlos. Con dicha información se pueden plantear técnicas electroanalíticas de análisis más rápidas, eficientes y económicas.

Los métodos electroquímicos de análisis han sido de gran utilidad en las diferentes áreas científicas, siendo la polarografía una de las técnicas que más estudios se le han reportado, abarcando las siguientes áreas: química inorgánica y orgánica, metalurgia y mineralogía, química ambiental, bioquímica, medicina, agronomía, química de los materiales superconductores y materiales farmacéuticos. Lo anterior pone en evidencia a la polarografía como técnica instrumental de análisis de gran utilidad.

(1,2)

El estudio polarográfico de productos farmacéuticos es posible gracias al desarrollo efectuado de esta técnica en la década de los años cincuenta. Anteriormente el estudio estaba limitado a compuestos solubles en agua, pero con los perfeccionamientos electrónicos y el uso de nuevos sistemas de electrolitos soporte, se ha hecho posible el utilizar disolventes apróticos. Esto permite ampliar la gama de compuestos factibles de ser estudiados, como son las sustancias orgánicas insolubles en agua. (3)

Se tiene una larga lista de estudios polarográficos en los que se emplean disolventes orgánicos con alta resistencia al paso de corriente eléctrica, algunos de los disolventes más representativos son: benzonitrilo, dimetil formamida, dimetilsulfóxido, nitrometano, piridina y acetronitrilo. Los electrolitos soporte más comunmente utilizados son las sales cuaternarias de amonio; por ejemplo, el perclorato de tetrabutyl-amonio (TBAP). Algunos de los farmacos estudiados por este método son : el ácido acetil

salicílico, la atropina, colchicina, estradiol, estrona, hidrocortisona, fenobarbital, progesterona, sulfadiazina y testosterona.(3-16)

El desarrollo de esta área permite conocer más acerca de los procesos mecanísticos de las reacciones electroódicas y del diseño de nuevos sistemas reaccionales, teniendo como resultado alternativas eficientes y confiables para la síntesis, el análisis cualitativo y cuantitativo de compuestos químicos.

1.2. Propuesta y objetivo del trabajo.

En el desarrollo de este trabajo se realiza un análisis sistemático de la información que proporciona el efectuar un estudio electroanalítico del metronidazol (1-Etanol-2-metil-5 nitroimidazol), un fármaco del cuadro básico de medicamentos de gran demanda nacional, empleado por tener un amplio espectro de actividad antiprotozoaria y antibacteriana. (17)

Los puntos a seguir en el desarrollo del trabajo se indican a continuación:

1.0. Estudios de los medios reaccionales.

Selección del amortiguador adecuado.

2.0. Determinación del intervalo de concentraciones en el cual se cumple la relación lineal de $\ln i = F(C)$. En el medio reaccional elegido.

3.0. Análisis sobre la factibilidad de cuantificar metronidazol en medicamentos, materias primas y patrones primarios mediante polarografía y discusión sobre las ventajas del método.

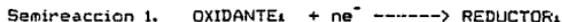
2. ANTECEDENTES.

2.1. Principios de electroquímica analítica.

La electroquímica analítica es el estudio de fenómenos fisicoquímicos aplicados al análisis químico, los fenómenos que interesan son los que suceden en la interfase de un sistema electrodo solución iónica y la respuesta que se tiene acerca del equilibrio en el sistema o si este está alterado.

2.1.1. Las reacciones electroquímicas.

Las reacciones químicas de oxido-reducción son en las que existe un intercambio de electrones entre dos especies reaccionantes que se encuentran en una solución; es decir, se encuentran en un sistema homogéneo. Las cuales se esquematizan en dos semi reacciones: una de reducción y otra de oxidación.



Reacción global:



Cuando en las reacciones de oxidoreduccion el intercambio de electrones se efectua entre un conductor (generalmente metálico) sumergido en una solución que contenga especies factibles de reaccionar, las reacciones se producen en un sistema heterogéneo y se les denominan reacciones electroquímicas o electrolíticas, y a los sistemas físicos donde estas se llevan acabo se les conoce como celdas

Considere se la celda de electrolisis en la figura 2.1., y que en solución se tienen presentes las dos especies químicas de un par redox (OX_1 más RED_1). Si el potencióstato esta apagado, al sumergir los electrodos, se produce un intercambio electrónico en las interfases entre los electrodos y los componentes oxidoreducibles de la solución. Cuando la velocidad de la reacción de reducción se iguala a la de oxidación, se establece un equilibrio, provocando que la corriente sea nula y se obtiene un potencial de equilibrio que se expresa por la ecuación de Nernst:

$$E_{eq} = E'_{ox/red} + 0.059/n \log [\text{OX}]/[\text{RED}]$$

Por otro lado, si el equilibrio del sistema es alterado a través del potencióstato imponiendo un potencial diferente al de equilibrio, se provocan dos eventos importantes: la reacción electroquímica y la generación de una corriente eléctrica de electrólisis.

Dependiendo del potencial impuesto se provocará la reducción u oxidación de las especies presentes.



Si el potencial impuesto es menor al potencial de equilibrio (E_1) se lleva a cabo una reacción de reducción ($\text{OX} + n\text{e}^- \rightarrow \text{RED}$); por el contrario se obtiene una reacción de oxidación si el potencial impuesto es mayor ($\text{RED} \rightarrow \text{OX} + n\text{e}^-$). (18)

3.1.3. Curvas corriente potencial.

Las reacciones electroquímicas se efectúan a velocidades finitas y se producen en la medida en que las sustancias electroactivas se acercan a los electrodos, son electrolizadas y son reemplazadas de la superficie del electrodo por algún fenómeno de transporte. Además, dependen de variables tales como el potencial, intensidad de corriente, concentración de la especie electroactiva y del tiempo, las cuales están relacionadas y cumplen la siguiente función:

$$F(E, i, C, t) = 0$$

Al procurar que la concentración de la especie electroactiva no cambie sensiblemente a lo largo de la electrólisis, lo cual se logra empleando microelectrodos, y que el proceso sea independiente del tiempo, la electrólisis se hace dependiente de solo dos variables, siempre y cuando el transporte de materia sea finitamente controlado, siendo las variables el potencial y la intensidad de corriente, queda la siguiente función:

$$F(E, i) = 0, \text{ o bien } E = F(i)$$

En la electrólisis el transporte de materia es de gran importancia y se efectúa de tres maneras: por convección, migración iónica y por difusión.

La convección es el movimiento de materia contenida dentro de un elemento de volumen hidrodinámico de la solución y es provocado por la agitación.

Migración iónica, este tipo de transporte se debe a la atracción electrostática entre los iones en solución y los electrodos.

La difusión es el transporte que resulta del movimiento espontáneo de la materia desde zonas de alta concentración hacia zonas de baja concentración.

Los tres tipos de transporte están relacionados en la ecuación de Nernst-Planck:

$$J(x,t) = -D \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} - zFC(x,t)\phi(x,t)/RT + C(x,t)V_x(x,t)$$

Donde J es el flujo ($\text{mol cm}^{-2}\text{s}^{-1}$), D es el coeficiente de difusión (cm^2s^{-1}), C es la concentración (mol cm^{-3}), ϕ es el potencial electrostático y V_x la velocidad hidrodinámica. En esta ecuación el primer término corresponde al aporte de la difusión, el segundo al de la migración y el tercero al de la convección en el flujo total de la materia. (18-19)

Para efectuar una electrólisis se parte de un sistema en equilibrio que se altera al imponer un potencial eléctrico, para lo cual se tienen dos electrodos conectados a una fuente de poder. En el ánodo, uno de los electrodos, algunas de las sustancias disueltas tienden a transportarse hacia este, donde se efectúa una reacción electroquímica de oxidación siempre y cuando el potencial impuesto sea el necesario. En el cátodo, el segundo electrodo, se efectúa la reacción de reducción. En ambas reacciones se producen corrientes de electrólisis y mediante dispositivos electrónicos como son los voltímetros y amperímetros, se puede detectar como varían dichas corrientes al modificar el potencial impuesto.

Los resultados de la variación de la corriente se relacionan mediante una gráfica de I contra E (intensidad de corriente contra potencial eléctrico impuesto) denominada curva de intensidad-potencial ó voltamperograma (fig.2.2). En estas curvas

se puede observar lo siguiente:

Existe un potencial dado tal que si el potencial impuesto lo sobrepasa se genera la corriente faradéica (de electrólisis).

Arbitrariamente, a la corriente resultante de la reducción se le considera negativa y a la corriente de la oxidación positiva.

En los métodos voltamperométricos empleados para el análisis cuantitativo, tiene gran importancia el transporte de materia y la condición principal es que se alcance un estado estacionario del proceso electrolítico. Primero, si en el proceso no se efectuara transporte de materia ó si este fuera lento no se generaría corriente alguna por lo que el proceso estaría en condiciones de equilibrio, pero si la reacción al efectuarse instantáneamente establece el transporte de materia hacia el electrodo y del electrodo a la solución y éste además se hace finitamente, provoca que la corriente generada también sea finita. Segundo, para que la corriente sea finita, la velocidad de intercambio de electrones debe ser también finita. Cuando se cumplen ambas condiciones se indica que se alcanza el estado estacionario.

Es de gran importancia que el transporte de materia sea finito y hay varias formas de lograrlo:

Que el transporte sea únicamente por difusión eliminando cualquier tipo de convección y de migración iónica

Que sea con difusión y convección constante, anulando la migración.

La manera de lograr que la migración iónica sea mínima es mediante el uso de electrolitos indiferentes, llamados también de soporte. Su función es la de conducir electrones por migración y no intervienen en la reacción electroquímica.

Cuando hay transporte de materia por difusión y el régimen convectivo es constante, la corriente electrolítica queda regida por la ecuación:

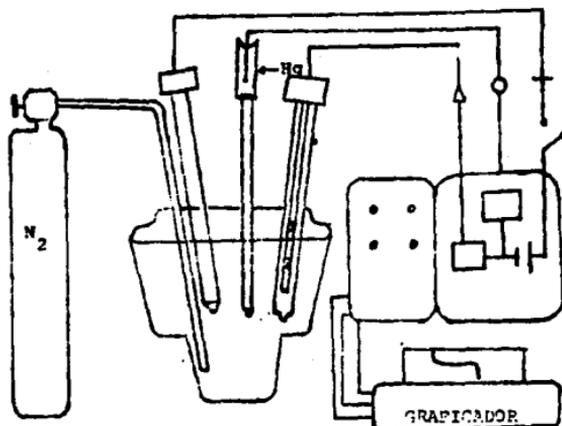
$$i = k_0(C_s - C_e)$$

donde: i es la corriente de difusión, k_0 es la constante de transporte de masa, C_s concentración en la solución y C_e la concentración al electrodo. Ahora, si se efectúa una microelectrólisis empleando electrodos con superficie de contacto muy pequeña, la concentración al electrodo será muy pequeña y

despreciable con respecto a la concentración en solución; entonces la ecuación se reduce a:

$$i = k_0(C_0)$$

Esta ecuación indica que la corriente generada de la electrólisis es proporcional a la concentración de la sustancia electroactiva en solución, esto justifica las condiciones que se deben cumplir para que un método voltamperométrico sirva para efectuar cuantificaciones.(1,2,18,19)



CELDA POLAROGRAFICA DE ELECTROLISIS. Fig.2.1.
ELECTRODOS: \diamond TRABAJO, \blacklozenge REFERENCIA; $+$ AUXILIAR

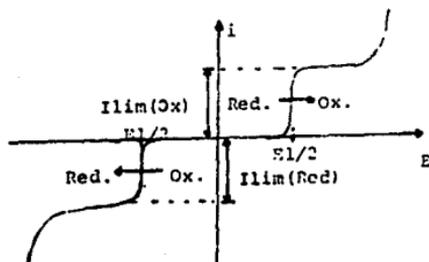


Fig. 2.2. CURVAS INTENSIDAD-POTENCIAL.

2.2. Polarografía clásica

A la polarografía se le puede definir como un método electroquímico, donde se estudia la relación de potencial impuesto con la intensidad de corriente resultante de la oxidación ó reducción de una sustancia en un microelectrodo goteante de mercurio, en un régimen de difusión y convección constante.

Este método fué descubierto alrededor de 1920 en la universidad de Praga en Checoslovaquia por Jeroslav Heyrovsky, ganador del premio Nobel en 1959. El método es útil para efectuar:

Estudios de la velocidad de las reacciones electroquímicas.

Determinaciones de coeficientes de difusión.

Estudios de cinética de las reacciones químicas.

Métodos de análisis cualitativo y cuantitativo.

En polarografía los dispositivos eléctricos se limitan a una fuente de poder (potencióstato) que sirve para imponer el potencial eléctrico que promueve a la reacción electroquímica, un galvanómetro para determinar las corrientes que se generan y los electrodos, donde se efectúan las reacciones. Se emplean generalmente tres electrodos: el de trabajo, de referencia y el auxiliar.

El electrodo de trabajo ó electrodo indicador. Es aquel donde electroreacciona la sustancia de interés y se registra la corriente de electrólisis resultante. Es clásico el microelectrodo goteante de mercurio (EGM), lo que caracteriza al método, para lo cual se utilizan tubos capilares de 0.02 y 0.05 mm. de diámetro por donde fluye el mercurio dando gotas muy pequeñas.

Estos electrodos tienen las siguientes características:

Al ser microelectrodos la densidad de corriente es grande ($J = \text{corriente} / \text{área}$) y en consecuencia más fácil de detectar.

La gota se renueva continuamente y en cada gota se tiene la superficie limpia. Se puede controlar fácilmente el tamaño de la gota y el tiempo de goteo. Con lo anterior se logra que el flujo de corriente sea independiente del tiempo y se evita la pasividad ó envenenamiento del electrodo. El mercurio es un buen conductor de la electricidad y se limpia fácilmente.

El EGM permite tener un intervalo grande de potencial para efectuar estudios de reducciones, ya que la barrera catódica de la

reducción del H^+ está lo suficientemente desplazada a potenciales negativos.

Los inconvenientes del EGM son: el capilar se puede tapan fácilmente, el mercurio y sus compuestos son tóxicos, se generan pequeñas intensidades de corriente capacitiva aunque no haya reacción de la sustancia de interés y se debe a la formación de una doble capa en la superficie del electrodo. Además intervalo de potencial para el de oxidaciones es muy corto por la fácil reducción del mercurio.

Electrodos auxiliares ó contraelectrodos. En ellos se efectúa la reacción contraria a la de interés, es decir, si en el electrodo de trabajo se realiza una reducción, en el auxiliar se produce una oxidación al mismo tiempo. Estos electrodos pueden ser de platino, plata ó grafito. Sus propiedades principales son las de ser inertes y tener una superficie mayor que la correspondiente al electrodo de trabajo, de este modo la densidad de corriente es pequeña y no modifica al potencial impuesto.

Electrodos de referencia. Estos electrodos tienen la función de medir la diferencia de potencial que se aplica entre el electrodo de trabajo y el electrodo auxiliar. Para efectuar esta función su principal característica es que debe tener un potencial constante (20). Entre los electrodos más empleados se encuentran:

Electrodo de Calomel saturado. (ECS) ($Hg/HgCl_2/KCl$).
Con un potencial constante de (2.44 V/ENH).

Electrodo de plata-cloruro de plata. ($Ag/AgCl/KCl$).
Con un potencial de (1.98 V/ENH).

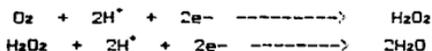
En polarografía es de gran importancia el empleo de electrolitos soportes nombrados también como electrolitos inertes. Su principal función es la de evitar que en la reacción de electrólisis haya transporte de la sustancia de interés por migración. Estos electrolitos son soluciones de sales generalmente en concentración 100 veces mayor en relación con la sustancia de estudio, entonces al haber más iones provenientes de la sal, estos participan en el transporte de electricidad (migrarán) y no

reaccionarán en el potencial de la reacción de estudio.

Otras propiedades de los electrolitos soporte es que deben ser de alta pureza, sirven para imponer el valor de pH del medio reaccional y su reacción electrolytica debe ser en las barreras.

Al trazar polarogramas es frecuente observar dos fenomenos.

Primero: cuando solo se contiene al electrolito soporte y aparentemente sin haber alguna sustancia que reaccione se observan dos curvas de reducción, resultantes de la generación de intensidades de corriente. Se ha demostrado que lo anterior depende de el oxígeno disuelto en la solución y que se reduce en dos etapas:



La intensidad de corriente generada de estas reacciones puede interferir con la generada por el compuesto de interés, por lo que el oxígeno se elimina desplazandolo mediante el burbujeo de nitrógeno.

Segundo: En los polarogramas es posible encontrar picos de corriente eléctrica, éstos picos dificultan la medición de la corriente límite de difusión, para eliminarlos se emplean agentes tensoactivos. Los tensoactivos más utilizados son: Tritón X en solución al 0.002%, gelatina al 0.005% y rojo de metilo al 0.00004% (1,2,18)

Los datos de mayor interés obtenibles de las curvas polarográficas, son: la corriente límite de difusión y el potencial de media onda.

Corriente límite de difusión. Anteriormente se definió la corriente límite como la que se obtiene de la reducción ó de la oxidación de un compuesto en el electrodo de trabajo, cuando se alcanza el estado estacionario del proceso electrolytico.

Para un sistema puramente convectivo, se establece que la corriente de difusión es directamente proporcional al número de electrones intercambiados en la reacción (n), al área del electrodo (A) y al coeficiente de difusión (D), las cuales se relacionan mediante la ecuación:

$$I_d = nFADC / h$$

F = Número de Faradios (electrones/ equivalentes)

h = Distancia desde el electrodo hasta donde C = Co.

En la polarografía intervienen la difusión y la convección. La ecuación de Ilkovic considera a éstas y a los demás parámetros que influyen en la corriente límite:

$$I_d = 607 n D^{1/2} m^{3/2} t^{1/2} / C$$

m = velocidad del flujo de mercurio.

t = tiempo de vida de la gota de mercurio.

Además de los factores anteriores, la corriente límite polarográfica también depende del potencial aplicado, de la altura de la columna del mercurio, del radio del capilar y de la viscosidad del medio.

Potencial de media onda ($E_{1/2}$). Este dato es de gran importancia para el análisis cualitativo por ser una propiedad característica de cada compuesto.

Para entenderlo considerese la reducción de un metal en electrodo de mercurio.



Esta reacción se efectúa a un potencial característico, tomándolo con respecto al electrodo de Calomel saturado, la respectiva ecuación de Nernst queda de la siguiente forma si el sistema es rápido:

$$E_{\text{soln}/\text{KCS}} = E_{M^{n+}/M(Hg)/\text{KCS}}^0 + 0.06/n \log [M^{n+}]_x / [M(Hg)]$$

Donde $[M^{n+}]_x$ es la concentración en la superficie del electrodo.

La corriente de electrólisis depende de la velocidad con que se transporte M^{n+} .

$$I = K_{ox} ([M^{n+}]_0 - [M^{n+}]_x)$$

En el estado estacionario se establece que la corriente límite de difusión depende de la concentración de la especie activa en solución.

$$I_d = K_{ox} ([M^{n+}]_0)$$

La concentración en la superficie del electrodo se calcula al combinar las dos últimas ecuaciones:

$$[M^{n+}]_{el} = I_d - I / K_{ox}$$

Por el otro lado la especie reducida también se difunde.

$$I = K_{red} [M(Hg)]$$

$$[M(Hg)] = I / K_{red}$$

Sustituyendo la concentración de M^{n+} al electrodo y la concentración de la amalgama $m(Hg)$, en la ecuación de Nernst:

$$E_{com} = E_{M^{n+}/M(Hg)/ECS}^0 + 0.06/n \log(K_{red}/K_{ox}) + 0.06/n \log(I_d - I/I)$$

Por definición el potencial de media onda es aquel donde la corriente de electrólisis vale la mitad del valor de la corriente límite de difusión. Es decir, $I = I_d / 2$, sustituyendo en la última ecuación:

$$E_{1/2} = E_{M^{n+}/M(Hg)/ECS}^0 + 0.06/n \log(K_{red}/K_{ox})$$

Y por último se puede escribir el potencial de la gota de mercurio en función del potencial de media onda:

$$E_{com,ECS} = E_{1/2} + 0.06/n \log(I / I_d - I)$$

En este caso el potencial de media onda es independiente de la concentración y se obtiene cuando la corriente de electrólisis es la mitad de la corriente límite de difusión. Es característico para cada sustancia en un medio reaccional dado.

En práctica la polarografía clásica da muy buenos resultados para el análisis de compuestos en el rango de concentraciones de 0.01 a 0.00001 M. con un error no mayor al 5 %. (1,2,18,21)

2.3. Polarografía diferencial de pulsos.

La polarografía diferencial de pulsos es otra técnica voltamperométrica; las ventajas que tiene sobre la polarografía

clásica son: mayor sensibilidad, mayor resolución para ondas donde los potenciales de media onda difieran hasta 200 mV. Este método fue iniciado por Jaroslav Heyrovsky, el cual de un polarograma clásico tomaba los valores de potencial y de corriente, determinaba las diferencias dI/dE y las graficaba con respecto al potencial, obteniendo picos en vez de ondas polarográficas.

Para obtener polarogramas diferenciales de pulsos primero se emplearon polarógrafos con dos electrodos goteantes de mercurio, pero se tenía el problema de sincronizar el goteo de ambos electrodos. Actualmente los polarógrafos efectúan la PDP trabajando con un solo electrodo y circuitos electrónicos más sofisticados. (1.2)

Los polarógrafos diferenciales de pulsos trabajan con el siguiente mecanismo:

Primero: Imponen una velocidad de barrido donde el potencial aumenta linealmente, cada gota del electrodo adquiere un potencial cada vez mayor.

Segundo: Además a la gota se le aplica un potencial extra muy pequeño durante un tiempo muy corto (un pulso de 3.5 a 10 mV durante un tiempo de 60 milisegundos).

Tercero: Después de aplicar el pulso se mide la corriente por un periodo de tiempo de 20 milisegundos.

Al aplicar el pulso se promueve la circulación corriente capacitiva y la corriente faradaica, pero la primera decrece rápidamente con el tiempo. Cuando se mide la corriente se efectúa en el intervalo de tiempo donde la corriente capacitiva es mínima. Resultando que la medición de la corriente sea más eficiente.

$$I_t = I_d + I_c = KC$$

En PDP I_c es despreciable:

$$I_t = I_d = KC$$

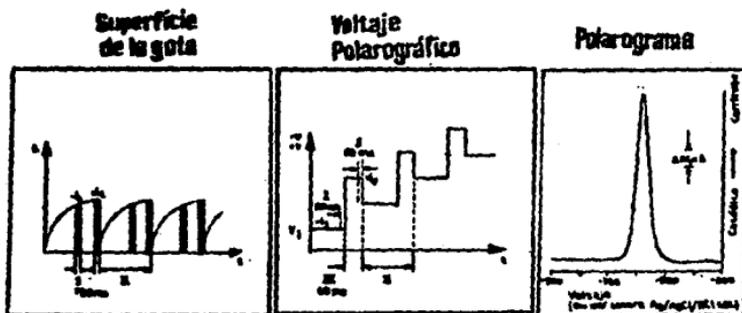


Fig. 2.3. Explicación esquemática de la P.D.P.

2.4. Química y electroquímica del metronidazol

Entre los años de 1955 y 1956 se logra sintetizar al 2-Nitroimidazol y mediante estudios farmacológicos se determinaron sus propiedades antiprotozoarias. Este fármaco motivó la investigación de otros compuestos semejantes. Los compuestos de este tipo se han agrupado por tener comportamientos semejantes:

Son anillos heterocíclicos de cinco miembros y nitrados. Los heteroátomos pueden ser el oxígeno, nitrógeno y azufre.

Poseen actividad antiprotozoaria y antibacteriana.

El metronidazol (1-Etanol,2-nitro,5-metilimidazol) es el más importante y empleado de los nitroimidazoles, por su gran actividad farmacológica.

2.4.1. Propiedades químicas.

El metronidazol tiene la estructura de un anillo imidazol con sustituciones de un grupo hidróxi-étil, un metilo y un nitro en las posiciones 1,2 y 5 respectivamente. Su fórmula condensada es $C_6H_9N_3O_3$, con un peso molecular de 171.16 gramos por mol. Su estabilidad en el aire es buena, pero se oscurece al estar expuesto a la luz.

Sus propiedades físicas son: cristales blancos con una ligera coloración amarilla, funde entre 159 y 162°C. Su solubilidad en mg/ml a 25°C es de : 10.5 en agua, 32,5 en metanol, 15.4 en etanol, 3.8 en cloroformo, menor de 0.01 en heptano y muy soluble en acetona. (23)

Sus propiedades químicas están determinadas por el anillo imidazol y el grupo nitro, pues sus principales reacciones de caracterización y de análisis están basadas en las reacciones que sufren estos grupos. El anillo imidazol le confiere propiedades ácido-base y el nitro propiedades de oxidación-reducción.

Reacciones de caracterización Estas reacciones son las que se emplean en el análisis cualitativo y son las que recomienda la Farmacopea Nacional de los Estados Unidos Mexicanos. Quinta Edición (24)

Método 1. En un mililitro de agua se disuelven 10 mg. de metronidazol, se agregan 0.25 ml. de una solución 1:100 de ácido clorhídrico y 10 mg de zinc metálico en polvo; se calienta durante 5 minutos, se filtra y se enfría. A la solución se le agrega 1 ml. de una solución 1:100 de nitrito de sodio y 1 ml de ácido sulfámico 1:20. A un mililitro de la última solución se le agrega un mililitro de solución reactiva de β -naftol, la solución toma una coloración roja, confirmando la presencia del metronidazol.

El método se basa en reducir el grupo nitro del metronidazol a un grupo amino, después se forma la sal de diazonio, y finalmente se efectúa una reacción de copulación con el β -naftol para obtener un compuesto colorido.

Método 2. Este se basa en las propiedades ácido-base del metronidazol. Se disuelven 30 mg. de metronidazol en 2ml. de solución reactiva de hidróxido de sodio, se calienta suavemente y se produce una coloración roja-violeta intensa, la coloración se transforma a amarillenta al agregar un exceso de ácido clorhídrico diluido. Al agregar nuevamente solución reactiva de hidróxido de sodio el color retorna a rojo-violeta.

Metronidazol en ácido fuerte -----> Metronidazol en base fuerte
(color amarillo) (color rojo-violeta)

Método 3. Obtención del picrato de metronidazol. 150 mg. de metronidazol se disuelven en 10 ml de solución de ácido sulfúrico 1:250, se agrega 10 ml de una solución reactiva de ácido picrico y

se deja reposar 30 minutos. Se obtiene un precipitado, se lava con agua fría y se seca a 105°C; después se la determina el punto de fusión que debe ser de 148 a 152°C.

Titulación del metronidazol. La cuantificación se efectúa pesando una muestra de medicamento que contenga el equivalente de 100 mg. de metronidazol. Extraer con cuatro porciones de acetona tibia, reunir los extractos y agregar 40 ml. de anhídrido acético. Titular con solución 0.1 N. de ácido perclórico, se monitorea el punto de equivalencia por potenciometría.

2.4.2. Técnicas instrumentales de análisis para el metronidazol.

Espectroscopía de infrarrojo. La muestra estándar de metronidazol se comprime en una pastilla de KBr. Al correr la muestra, en el espectro se observan las siguientes señales. (25)

Señal (cm^{-1})	Interacción
3230	O-H
3105	C=O y C-H
1538 y 1375	N-O
1078	C-O
830	C-N

Espectroscopía de resonancia magnética nuclear. El espectro de RMN de protones del metronidazol se realiza con ácido acético deuterado y con trimetil silano como estándar interno para referencia de las posiciones de las bandas de absorción. (25)

Posición de la banda (hz)	Asignación
155 (singulete)	-CH ₃
241 (triplete)	-CH ₂ -OH
274 (triplete)	Ar-CH ₂ -
481 (singulete)	Ar-

Espectrofotometría de ultravioleta. El espectro de ultravioleta del metronidazol trazado en una solución 0.1 N. de ácido sulfurico, muestra un máximo de absorción a la longitud de onda de 274 nm. La absorptividad molar es de 6333 l mol⁻¹cm⁻¹. (25)

Espectrometría de masas. El espectro de masas del metronidazol registra las siguientes señales. (25)

M/e	Asignación	% Intensidad relativa
171	M ⁺	12.5
154	M-OH	4.0
125	M-NO ₂	22.1
125	M-NO ₂ -H	25.7
41	M-CH ₃ CN	100

Espectrofotometría visible. Para que el metronidazol pueda ser cuantificado por espectrofotometría visible debe ser transformado a un derivado colorido. Se reduce el grupo nitro a amino, luego se forma la sal de diazonio y finalmente se forma el compuesto colorido mediante una reacción de copulación con β -naftol.

Cromatografía de gases. Para la cuantificación el metronidazol es transformado en su derivado trimetil silado. Este derivado se obtiene disolviendo al fármaco en una mezcla 1:1 de dimetilformamida y bis-(trimetilsilil)-trifluoroacetamida. La reacción se lleva a cabo durante 30 minutos a temperatura ambiente. La muestra se analiza bajo las siguientes condiciones instrumentales. (25)

Columna de vidrio de 6 pies de longitud, empacada al 3% con OV-1.

Temperatura de columna : 160°C.

Flujo de gas acarreador: Nitrógeno 70 ml/min.

Detector: Ionización de flama.

Tiempo de detección: 4.1 minutos.

2.4.3 Electroquímica del metronidazol.

Los compuestos orgánicos también sufren reacciones de oxidoreducción. Entre las reacciones de oxidación más comunes se encuentran oxidaciones de alcoholes, de aldehídos, acetonas, aminas y alquilbencenos. De las reacciones de reducción más significativas son las hidrógenaciones de: alquenos, alquinos, alqueniobencenos, anillos aromáticos, compuestos carbonílicos,

grupos nitro, alcoholes y amidas (26).

El modelo más general para una reacción redox, tomando el equilibrio de reducción como ejemplo, se plantea en la siguiente expresión:



donde C es el compuesto orgánico en su forma oxidada y CH_n es la forma reducida. Para este equilibrio la ecuación de Nernst se escribe:

$$E = E_0 + 0.06/n \log [H^+]^n [C] / [CH_n]$$

Actualmente es de gran importancia el estudio de los parámetros involucrados en los procesos electroquímicos de los compuestos orgánicos, los de mayor importancia son: tipo de moléculas factibles de reaccionar, tipos de disolventes y de electrolitos de soporte, tipos de electrodos y la forma en que se efectúa la transferencia de electrones.(1,2)

Para las reacciones electroquímicas de las moléculas orgánicas se requieren electrodos específicos, entre los más empleados se encuentran:

Anodos: Pt, PtO₂, Carbón de grafito y titanio rutenizado; en medios alcalinos son útiles los electrodos de oro, plata, hierro, y níquel.

Cátodos: Hg, Pb, Al, Ag, Ni, Fe, Cu, Sn, Cd, C, Au, Pd. grafito.

El producto de electrólisis depende principalmente del tipo de electrodo empleado y se tiene la ventaja de que las reacciones electroquímicas son selectivas por ocurrir en un potencial característico y prácticamente no se obtienen subproductos. (27)

MATERIA PRIMA	ELECTRODOS	PRODUCTO DE ELECTROLISIS
CH ₃ -CO-CH ₃	Pt, Ni ----->	CH ₃ -CH(OH)-CH ₃
	Hg, Pb, C ----->	CH ₃ -COH(CH ₃)-CCH(CH ₃)-CH ₃
	Cd ----->	CH ₃ -CH ₂ -CH ₃
	Hg(Acido fuerte)----->	CH(CH ₃) ₂ -Hg-CH(CH ₃) ₂

Los sistemas disolvente-electrolito soporte son de gran importancia pues determinan el intervalo de potencial en el que se pueden efectuar las reacciones electroquímicas de los compuestos en estudio. En la siguiente tabla se muestran algunos sistemas de disolvente no acuoso y electrolito soporte indicando, las barreras electrolíticas de reducción y oxidación.

DISOLVENTE	ELECTROLITO SOPORTE	BARREERAS: CATODICA	ANODICA
Acido acético	NaOAc	-1.0	+2.0
Acetonitrilo	LiClO ₄	-3.0	+2.5
Amonio (liq)	(nBu) ₄ NI	-2.8(Hg)	+0.3
Dimetilformamida	(nBu) ₄ NClO ₄	-2.8	+1.9
Dimetil sulfóxido	LiClO ₄	-3.4	+1.3
fluorhídrico	NaF	-1.0	+3.5
Etanol	KOH	-1.0	+0.6
Metanol	NaCN	-1.0	+1.7
Cloruro de acetileno	(nBu) ₄ NClO ₄	-1.7	+1.8
Carbonato de propileno	(Et) ₄ NClO ₄	-1.9	+1.7
Piridina	(Et) ₄ NClO ₄	-2.2	+3.3
Dioxido de azufre (liq)	(nBu) ₄ NSF ₆	---	+3.0
Tetrahidrofurano	LiClO ₄	-3.2	+1.5
Acido trifluoroacético	NaO ₂ CCF ₃	-0.6	+2.4

Nota. Las reacciones se efectuaron sobre platino y el potencial esta tomado con respecto al electrodo de calomel saturado.(27)

La información de los compuestos orgánicos que proporciona la polarografía es de gran utilidad, por ejemplo, en la reducción de un sustrato orgánico se tiene el potencial característico de media onda que es de gran importancia para el electroanálisis, ya que existe una relación muy notable entre la constitución de la sustancia y el potencial de media onda. Los compuestos orgánicos se reducen mas facilmente en función de que tengan grupos electronegativos jaladores de electrones. El orden de reducción de algunos grupos funcionales se ordena de la siguiente manera:



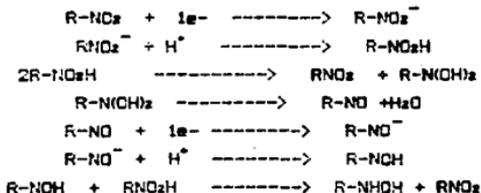
Para los dinitrobenzenos el orden de la reducción es:



Para compuestos nitrados semejantes al metronidazol se han reportado los potenciales de media celda y la forma de las curvas polarográfica de reducción, indicando las reacciones involucradas. Se indica que dependiendo del pH del medio y del tipo de electrolito soporte se reduce el grupo nitro en una o dos etapas, pasando por un intermediario hidroxilamino y finalmente obteniéndose la amina. (29)



Estudios más recientes indican que la primera etapa de la reducción del grupo nitro se efectúa en varios pasos. El mecanismo consiste en que el grupo nitro primeramente acepta un electrón obteniéndose un intermediario nitroso. Mediante reacciones subsiguientes en las cuales se aceptan tres electrones más, obteniéndose finalmente el grupo hidroxilamino(29). Se muestran a continuación el orden en que se efectúan dichas reacciones:



2.4.4. Propiedades farmacológicas del metronidazol.

A lo largo de numerosos estudios se ha demostrado plenamente la actividad antiprotozoaria y antibacteriana del metronidazol, considerándolo como un fármaco de amplio espectro.

Se han realizado pruebas in vitro para demostrar su actividad antiprotozoaria, estas han mostrado que en cultivos de *T.vaginalis* y de *E.histolytica* en el transcurso de 24 horas destruyen el 90 % de los microorganismos a una concentración de 25 µg/ml, también se han reportado resultados similares para los trofozoitos de *G.lambia*. Además se ha observado in vitro actividad antibacteriana

contra otros anaerobios y especies bacteroides. Las bacterias bacilos gram positivos, aerobias y anaerobias facultativas son resistentes a la droga.

En pruebas clínicas está establecida la efectividad del metronidazol en el tratamiento de la tricomoniasis, amibiasis y giardiasis. Contra bacterias se aplica en infecciones de bacterias anaerobias obligadas y bacteroides fragilis.

El metronidazol mezclado con otros medicamentos muestra mayor actividad, combinandolo con benzidiazol es mucho más eficaz en el tratamiento de la leishmaniasis y de la enfermedad de chaqas.(20)

El mecanismo de acción de los nitroimidazoles está basada en el grupo nitro, el cual se considera como un aceptor de electrones y es capaz de oxidar a las proteína involucradas en la cadena transportadora de electrones de la oxidación anaerobia. En células protozoarias oxida a las flavoproteínas y en células bacterianas oxida a las ferredoxinas. En mamíferos oxida a la nicotinamida-adenin dinucleótido de fosfato (NADPH), la reacción es catalizada por la enzima denominada nitroreductasa. (31)



Se cree que esta alteración provoca lesiones bioquímicas produciendo muerte celular, algunos trabajos han determinado que el fármaco inhibe la síntesis del DNA y en su forma reducida provoca la pérdida de la estructura helicoidal del DNA.

Metabolismo. En administraciones orales el fármaco es absorbido rápidamente. Con dosis de 50 mg después de una hora de ser administradas, se detectan concentraciones de 10 µg/ml en el plasma, siendo la concentración media efectiva de 8 µg/ml. La disponibilidad es de un 100%, puesto que su vida media en el plasma es de 8 a 10 horas y su volumen de distribución es de 1 l/kg.

El metronidazol penetra fácilmente por tejidos y fluidos corporales como la orina, el semen, la saliva, leche materna y al rededor de un 10 % permanece fijado a la proteína plasmática.

El metabolismo se efectúa principalmente en el hígado obteniéndose como metabolitos principales glucuronidos e intermediarios oxidados de la cadena etílica. La principal vía de excreción es por la orina.

Los medicamentos contenedores de metronidazol se encuentran disponibles en varias formas farmacéuticas: tabletas, capsulas, soluciones inyectables, supositorios y suspensiones.

La dosificación varía para cada tratamiento, por ejemplo:

INFECCION	DO SIS
Tricomoniasis	250mg. tres veces al día
Ambiasis	750mg. tres veces al día
Lambliasis	250mg. tres veces al día
Leishmaniasis	250mg. dos veces al día
Uretritis	250mg. tres veces al día
Absceso hepático amibiano	1.5g. al día.

Contraindicaciones. Se recomiendan tratamientos máximos de 15 días, si se requiere prolongarlos es necesario un descanso de cuatro semanas. No es apto para mujeres embarazadas, personas con males hepáticos, con enfermedades del sistema nervioso central y discrasias sanguíneas. No se debe ingerir alcohol.

Efectos secundarios. El metronidazol no provoca efectos secundarios severos, pero pueden ser muy diversos: náuseas, anorexia, diarrea, cólicos, cefalea, vómito y efectos neurotóxicos. Cuando se observa hipostesia o parestesia de una extremidad se debe suspender el tratamiento, también al detectar convulsiones.

Otro efecto del metronidazol es el de provocar una disminución en la concentración de lípidos en el plasma y se ha comprobado que en ratones es carcinógeno y mutágeno en bacterias.(50)

III. PARTE EXPERIMENTAL.

3.1. Diseño experimental.

El planteamiento experimental se orienta principalmente en detectar la señal polarográfica del metronidazol y establecer las condiciones óptimas donde la corriente límite sea proporcional a la concentración del fármaco. Para lograrlo se establecen los parámetros a seguir, bajo los siguientes puntos:

1. Elegir el disolvente apropiado donde el metronidazol sea soluble y su extracción sea fácil.

2. Determinar los dominios de electroactividad de los medios reaccionales elegidos.

3. Detectar la señal polarográfica del fármaco en el disolvente elegido ya sea directa o indirectamente.

4. Caracterizar el potencial de media onda de reducción, si se trabaja en medio acuoso caracterizar la variación del potencial conforme a la variación del pH del medio.

5. Monitorar la posible influencia del excipiente de los medicamentos sobre la corriente límite y el potencial de media onda.

6. Cuantificar el metronidazol presente en los medicamentos.

Para desarrollar los puntos anteriores se cuentan con dos técnicas polarográficas: la clásica y la diferencial de pulsos, por lo que se pueden comparar los resultados que se obtienen por ambas técnicas.

3.2. Material, reactivos y equipo.

Material.

Fipetas volumétricas de 10 ml.
Micropipeta Eppendorf de 100 μ l.
Matrazes volumétricos de 10, 50 y 100 ml.
Embudo de filtración de vidrio sinterizado.
Vasos de precipitado de 100 y 200 ml.
Frascos color ambar para guardar reactivos 50, 100 ml.
Pizetas.

Reactivos.

Solución buffer de fosfatos 0.01M. pH=2.0
Solución buffer de glicina 0.01M. pH=3.0
Solución buffer de acetatos 0.01M. pH=4.0
Solución buffer de acetatos 0.01M. pH=5.0
Solución buffer de fosfatos 0.01M. pH=7.0
Solución buffer de boratos 0.01M. pH=9.2
Solución con mezcla de ácido acético, analítico, fosfórico
y bórico 0.1F. cada uno.
Solución de Tritón X al 1% v/v. (Sigma)
Metronidazol 99.9 % pureza. (materia prima)
Nitrógeno (g).
Agua destilada.

Medicamentos analizadas.

Flagenase 400. Lote 00644

Flagyl. Lote 093006

Otazol 500. Lote 060216A

Vertisal. Lote 90e15

Zigotyl. Lote 00403

Equipos.

Polarógrafo Metrohm modelo 626 polarecord.

Multi-electrodo Brinkmann Metrohm. Mod.663 VA Stand.

Polarógrafo sin marca. (fabricación nacional)

Graficador lineal (Houston instruments.)

Electrodo de Calomel saturado (ECS) Sargent-Weich.

Electrodo de platino Corning cat.476060.

Electrodo capilar goteante de mercurio.

Celda polarográfica de 10 ml.

3.0. Metodología.

Se propone efectuar el estudio polarográfico del metronidazol en medio acuoso. Para evaluar la factibilidad técnica, económica y la versatilidad de la valoración electroquímica del metronidazol se realizaron los siguientes experimentos.

3.0.1. Solubilidad.

Se reporta una solubilidad del metronidazol de 10.5 mg/ml en agua, equivalente a una concentración $6.1 \times 10^{-2} M$, esta concentración es fácilmente detectable con cualquier tipo de polarografía. Para lo cual se verificó la solubilidad de cantidades mayores de 100 mg en 10 ml. de agua.

3.0.2. Experimentación con los medios reaccionales. Técnica de electroactividad.

Se estudiaron las siguientes soluciones de electroactivo soporte: fosfatos pH=2, glicina pH=3, acetatos pH=4, acetatos pH=5, fosfatos pH=7 y boratos pH=9.2, de concentración $10^{-2} M$ cada uno.

A cada una de las soluciones anteriores se le trazó su curva intensidad potencial (polarograma) de la manera siguiente, ya sea por polarografía clásica ó diferencial de pulsos:

En la celda polarográfica se colocan 10 ml de la solución con el electrolito soporte, se adicionan 100 μl de la solución del tensoactivo Tritón X (TX) y se elimina el oxígeno que contiene la solución burbujearlo por 10 minutos nitrógeno previamente humedecido con agua. Se fijan las condiciones operatorias tal que el potencial de inicio y de final de barrido correspondan a las barreras de oxidación y de reducción respectivamente.

3.0.3. Experimentación con el metronidazol.

Detección de la señal polarográfica. Se preparó una solución estándar de metronidazol, pesando 0.0195g y disolviendolos volumétricamente en 10 ml de agua, la concentración de la solución estándar es 0.0113 M. En la celda que contiene 10 ml de solución buffer pH=9.2 se colocó 0.1 ml de la solución estándar, se

burbujeó nitrógeno, se agregó TX y se trazó el polarograma en las condiciones operatorias óptimas que permitieron detectar la señal de corriente límite.

Las condiciones operatorias a considerar en polarografía son: velocidad de barrido (dE/dt) 10 mV/s, la sensibilidad (dI/dI) $\mu A/cm$, potenciales de inicio y de final (E_i, E_f) mV, tiempo de goteo y velocidad de carta del gráficoador (v/cm/min. Con estos datos se determinan la corriente límite y el potencial de media onda, conforme al anexo 1.

3.3.4. Influencia del pH.

Después de detectar la señal polarográfica el punto a seguir es el de caracterizar el potencial de media onda en función del pH. Se colocó en la celda 10 ml de la solución que contiene la mezcla de ácidos (acético, fosfórico, oxálico y bórico $10^{-4}F$. c/u), se agregó 100 μl del tensactivo, 0.6 ml de solución 0.0113 M de metronidazol y se burbujeó nitrógeno 5 minutos. La solución resultó con un valor de $pH=1.5$; y se trazó el polarograma. Con la adición de un par de gotas de una solución concentrada de NaOH se aumentó 0.5 unidades el valor del pH, se burbujeó nitrógeno por dos minutos y se trazó el polarograma. Para cada modificación del pH se efectuó la misma operación hasta tener un valor de pH aproximado de 11.

3.3.5. Experimentación con el metronidazol en los diferentes medios reaccionales.

Se trabajó con cada una de las soluciones empleadas en el experimento 3.2.2 (que tienen diferentes electrolitos soporte y valores de pH). En cada una de las soluciones se efectuó adiciones sucesivas de 0.1 ml de metronidazol, presente en una disolución estándar 0.0113M, y se trazó el polarograma en cada adición del fármaco en la celda 10 ml, en presencia de TX y burbujeando nitrógeno por dos minutos.

I.C.B. Experimentación con las diferentes presentaciones farmacéuticas.

Son variadas las formas farmacéuticas de los medicamentos que contienen metronidazol. A continuación se enlistan los nombres, laboratorios fabricantes y el tipo de presentación de los medicamentos que se consiguieron para ser analizados:

Flagenase 400. Lote 00644, capsulas con 400 mg de metronidazol y 200 mg de dióxido de hidrógeno quinolaina, Laboratorios Lichont S.A. de C.V.

Flagyl solución inyectable. Lote 093006, 200 mg en 10 ml de solución. Sector salud, clave 1309. Rhone-Poulenc Pharma de México S.A. de C.V.

Flagyl suspensión. Lote 095020. Con benzoilo de metronidazol equivalente a 2.5g de metronidazol en 100 ml. Rhone-Poulenc Pharma de México S.A. de C.V.

Otazol 500. Solución inyectable. Lote 060216A. 500 mg en 100 ml de solución. Sector salud clave 1311. Laboratorios Piza S.A.

Vertical. Lote 90E16. Capsulas con 400mg. Laboratorio Silanes, S.A. de C.V.

Zigotyl. Lote 00403. Tableta con 250 mg. Sector salud. Laboratorios Welfer de México, S.A.

Para la cuantificación se seleccionó la solución del electrolito soporte donde la onda polarográfica está bien definida y la respuesta entre la corriente límite y concentración es lineal: aplica el método de adiciones estándar.

Para preparar la solución problema se extrae el metronidazol del medicamento. La extracción se efectúa en dos maneras: con acetona o agua caliente. Se pesa una muestra del medicamento equivalente a 100mg de metronidazol y se disuelve en 10 ml de agua o acetona, se filtra al vacío y los sólidos se lavan con tres porciones de 10 ml de agua caliente o acetona según corresponda. En un matraz volumétrico de 50 ml. se afora con agua: con acetona esta es evaporada y se recupera el fármaco en un volumen de 50 ml. de agua.

En el trazo de los polarogramas se toma 10 ml de la solución alejada se agrega TX, se toma una muestra de la solución problema y se burbujea nitrógeno por 10 minutos, se traza el

respectivo polarograma. De una solución estándar se efectúan adiciones de metronidazol, se burbujea nitrógeno por dos minutos y se traza el polarograma en cada adición.

3.3.7. Influencia del excipiente.

Se prepararon soluciones de metronidazol con excipiente y se efectúan curvas de adiciones estándar.

PROCEDIMIENTO ESQUEMATICO: ESTUDIO POLAROGRAFICO DEL METRONIDAZOL.

MUESTRA DE METRONIDAZOL

¿ EN QUE ES SOLUBLE ?

EN DISOLVENTES ORGANICOS

EN AGUA

¿ ES ELECTROACTIVO ?

SI

NO

DETERMINAR: $S_{i,z}=F(C)$

BUSCAR UNA REACCION
PRECEDENTE DONDE EL PRODUCTO
SEA ELECTROACTIVO

ESTUDIAR: $I_{lim}=F(C)$
CURVAS DE CALIBRACION

METRONIDAZOL + O ----- F
F ES ELECTROACTIVO
+ne-
P ----- P (RED.)

CUANTIFICAR METRONIDAZOL
DEL MEDICAMENTO POR
ADICIONES ESTANDAR EN:

EXTRACCIONES DEL
FARMACO CON AGUA

EXTRACCIONES DEL
FARMACO CON ACETONA

SOLUCIONES CON
FARMACO Y EXCIPIENTE

IV. RESULTADOS Y DISCUSION.

4.1. La solubilidad del metronidazol.

En el laboratorio se logró disolver con gran facilidad muestras de 100 hasta 150 mg de metronidazol en 10 ml de agua destilada a temperatura ambiente, con agua caliente es posible

disolver hasta 200 mg en el mismo volumen. esto nos lleva a tener concentraciones 0.1 M. de metronidazol y tratar de extraer cuantitativamente muestras de medicamentos que contengan 100 mg del fármaco en un volumen de 50 ml.

4.2. Los dominios de electroactividad.

El dominio de electroactividad es el rango de potencial comprendido entre la barrera de reducción y la de oxidación, estos dependen principalmente del pH del medio y del electrolito soporte.

En los polarogramas trazados (fig.4.1) para cada una de las disolución buffer, se miden los potenciales a los cuales se detectan las barreras polarográficas (se indica en el anexo # 1). La diferencia de potencial entre ellas es el dominio de electroactividad. Los resultados se muestran en la tabla 4.1.

En el intervalo de potencial correspondiente al dominio de electroactividad es donde se puede detectar la señal de reducción polarográfica del metronidazol.

ELECTROLITO SOPORTE	pH	Ereducción mV/ECS	Eoxidación mV/ECS	DOMINIO mV
0.01M				
Fosfatos	2.0	+110	-1630	1790
Glicina	7.0	0.0	-1872	1872
Acetatos	4.0	0.0	-2040	2040
Acetatos	5.0	0.0	-2448	2448
Fosfatos	7.0	+110	-2640	2750
Boratos	7.2	+110	-2928	3038

Tabla 4.1. Dominios de electroactividad. 10 ml de solución
con 100µl de Trisón N. Polarografía clásica.

ELECTROLITO SOPORTE	pH	Reducción	Ex oxidación	DOMINIO
Fosfatos	2.0	0.0	-1470	1470
Glicina	7.0	0.0	-1500	1500
Acetatos	5.0	0.0	-1700	1700
Fosfatos	7.0	0.0	-1880	1880
Boratos	9.2	0.0	-2020	2020

Domino de electroactividad. Polarografía diferencial de pulsos. mV-Ag-AgCl/KCl.

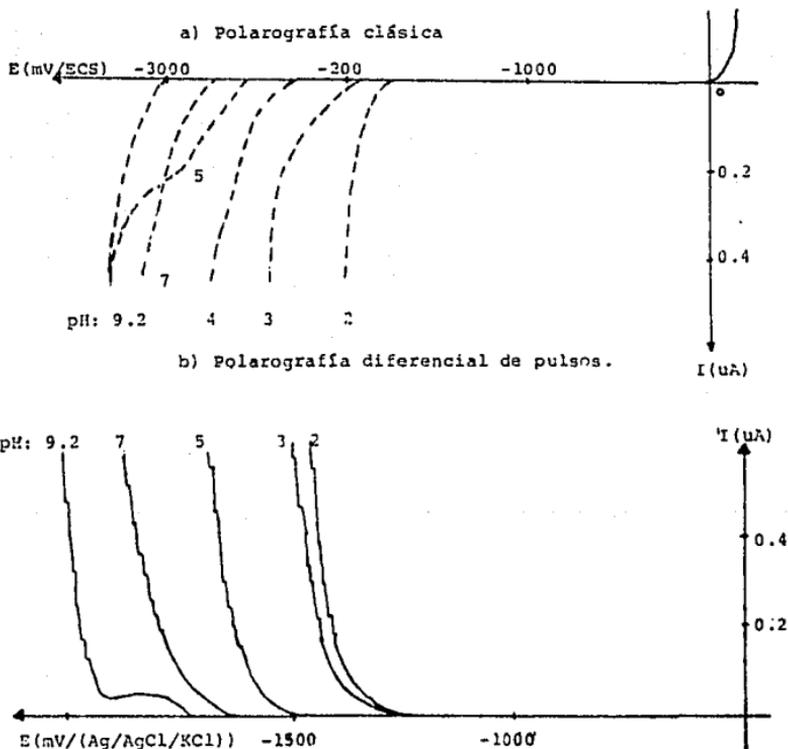


Figura 4.1. Dominios de electroactividad.

4.1. Detección de la señal polarográfica.

En una celda polarográfica con 10 ml de la solución 0.01M de boratos a pH de 9.2 y metronidazol en una concentración 113 μ M se detecta una onda de reducción a -930mV/ECS.

El detectar la reducción en medio acuoso permite proponer que el metronidazol esencialmente puede ser cuantificado en dicho medio y evita la búsqueda de una reacción precedente del metronidazol para detectar lo al empleo de disolventes orgánicos. Obtener directamente la señal polarográfica facilita el estudio.

4.2. Influencia del pH.

El estudio del efecto del pH en los procesos de electrólisis son de gran importancia por brindar información acerca de los intermediarios o etapas en que se reduce el metronidazol, permitiendo caracterizar su reducción a diferentes valores de pH.

Los polarogramas trazados para la solución que contiene ácido acético, oxálico, fosfórico y bórico 0.01F c/L, metronidazol 179 μ M (Fig.4.2), donde el valor del pH es aumentado de 1.5 hasta 11 con NaOH, muestran una reducción. En la tabla 4.2. muestra el potencial de reducción y la corriente límite a cada valor de pH

Tabla 4.2. Valores de corriente límite y potencial de onda en función del pH, para el metronidazol en soluciones oxálicas, fosfóricas y boratas 10⁻¹F. c/L.

pH	E _{1/2} (mV)	Ilim(μ A)
1.5	-276	6.03
2.5	-372	6.25
3.2	-456	6.52
4.0	-564	6.74
5.0	-696	6.41
6.0	-816	6.40
7.5	-936	6.78
8.2	-912	6.55
9.0	-924	6.52
10.0	-956	6.52
11.0	-912	6.59

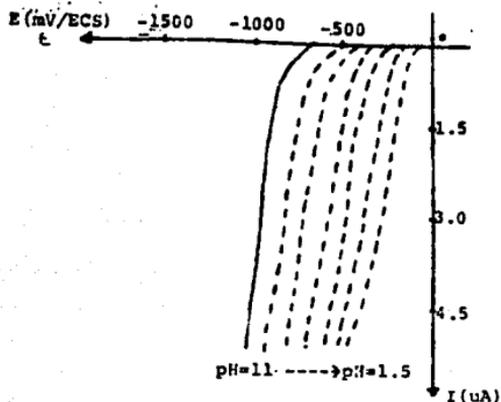
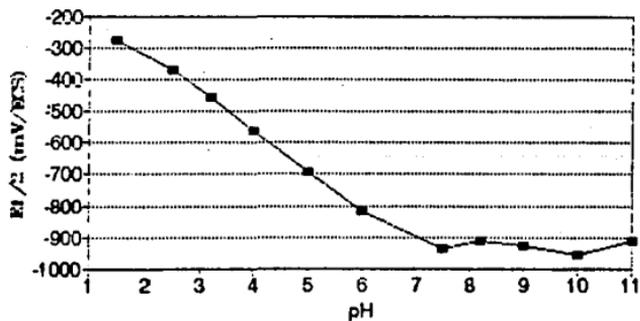


Fig. 4.2. Curvas polarográficas de metronidazol a diferentes valores de pH

VARIACION DEL POTENCIAL DE REDUCCION EN FUNCION DEL pH



POLAROGRAFIA CLASICA

—■— GRAFICA 4.2

Bajo las condiciones experimentales indicadas, los resultados muestran que la corriente límite casi no cambia con el pH, el potencial de media onda varía linealmente con el valor de pH en el intervalo de 1.5 a 7.5, y para valores mayores de 7.5 el potencial queda estable. A éste valor de pH donde se observa el cambio de pendiente de la gráfica $E_{1/2} = f(\text{pH})$ corresponde al valor del pKa del metronidazol (gráfica 4.2).

Es necesario recordar que el potencial de media onda de el metronidazol queda caracterizado a cada valor de pH y es de gran utilidad para el análisis cualitativo, si a un compuesto se le determina su potencial de media onda y tiene un comportamiento semejante al mostrado en la gráfica se puede inferir la posibilidad de que sea metronidazol.

En los siguientes experimentos también se obtiene información del $E_{1/2}$ y de la i_{lim} en relación con el pH en condiciones experimentales diferentes.

4.5. Respuesta polarográfica del metronidazol en los diferentes medios reaccionales.

En éste experimento se analiza la reducción polarográfica del metronidazol en diferentes medios reaccionales, efectuando curvas de calibración empleando soluciones estándar de metronidazol, trabajando con polarografía clásica (PC) y polarografía diferencial de pulsos (PDP) como técnicas electroanalíticas. El objetivo es seleccionar el electrolito soporte en el cual la relación concentración de fármaco corriente generada sea lineal.

Solución de fosfatos 0.01M, pH=2.0.

En este medio los polarogramas de PC y PDP (fig.4.3) muestran una sola reacción de reducción, que se efectúan a -168 mV/ECS y -430 mV/(Ag/AgCl/KCl) respectivamente.

Para trazar las curvas de calibración se obtienen de los polarogramas correspondientes los datos de corriente límite y potencial de media onda en polarografía clásica, y los de corriente de pico y potencial de pico en polarografía diferencial de pulsos. Dichos datos se reportan en la tabla 4.3.

Con estos datos se trazan las curvas de calibración graficando corriente limite o de pico contra la concentración de metronidazol (grafica 4.7), de la recta obtenida con una regresión lineal se determina la pendiente, y la linealidad se evalúa mediante el criterio de R cuadrada; considerando una línea recta aquella que tenga un valor de $R^2 > 0.9$.

Las graficas experimentales de fosfatos a pH=2 muestran una línea recta con R^2 igual a 0.995 para PCy de 0.997 para PDP. Esto indica que la corriente es directamente proporcional a la concentración.

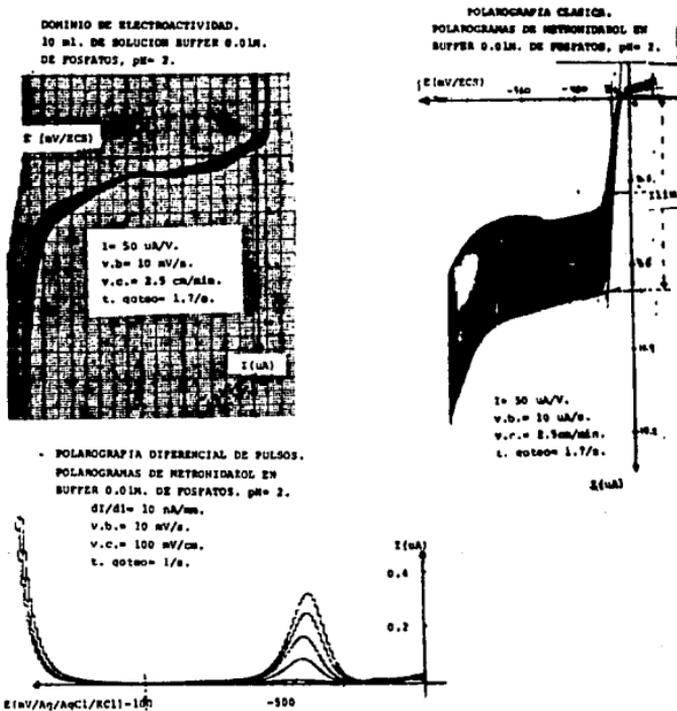


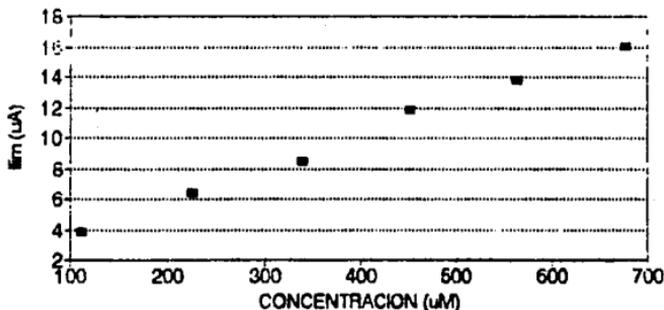
FIGURA 4.7. Polanogramas de metronidazol en fosfatos pH=2.0

TABLE 4.3. RESPONSE POLAROGRAPHICA DEL METRONIDAZOL
En FOSFATO 0.01M, pH = 2.0.

POLAROGRAFIA CLASICA/POLAROGRAFIA DP					
Conc. (µM)		E _d (mV)		E _p (mV)	
115	5.77	-144	29.2	80	-430
225	6.41	-168	58.4	160	-430
335	5.45	-168	87.6	240	-430
450	11.55	-168	116.8	320	-430
565	10.77	-168	146	400	-430
675	16.00	-152			

Regression Output		Regression Output	
Constant	1.5810	Constant	8
Std. Err. of Est.	0.7875	Std. Err. of Est.	1.000
R Squared	0.9950	R Squared	0.9992
No. of Observations	6	No. of Observations	5
Degrees of Freedom	4	Degrees of Freedom	3
Coefficient	0.0219	Coefficient	2.0027
Std. Err. of Coef.	0.0008	Std. Err. of Coef.	0.0011

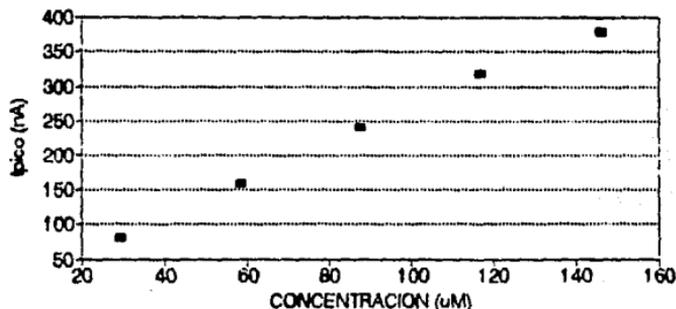
CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=2.0



POLAROGRAFIA CLASICA

■ GRAFICA 4.3

CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=2.0



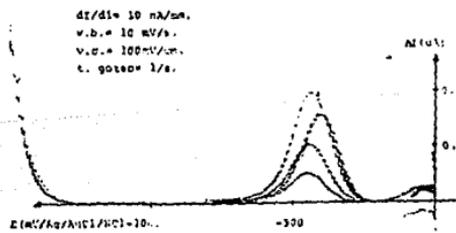
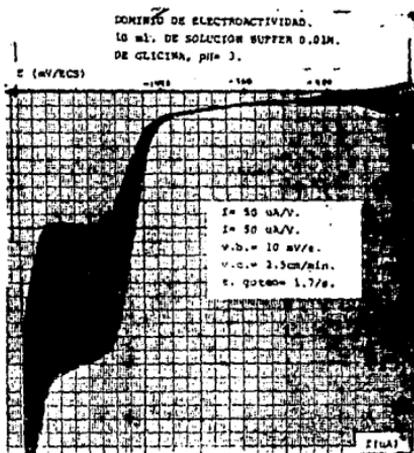
■ POLAROGRAFIA DP.

Solución de glicina 0.01 M, pH= 3.0.

En polarografía clásica, bajo éstas condiciones, se detectan dos reacciones de reducción, a los potenciales de -455 y de -980 mV/ECS. La primera onda aparece desde la primera adición de metronidazol ($C=113\mu\text{M}$) y la segunda onda después de efectuar cuatro adiciones del medicamento ($C=452\mu\text{M}$), provocando que la linealidad entre corriente límite y concentración no sea buena.

La aparición de la segunda onda podría deberse a que la glicina, bajo las condiciones experimentales, es electroactiva y su curva de reducción es cercana a la del metronidazol.

En PDP se detecta un pico de reducción a -460 mV/(Ag/AgCl/KCl). La relación entre corriente de pico y concentración es lineal, $R^2 = 0.994$.



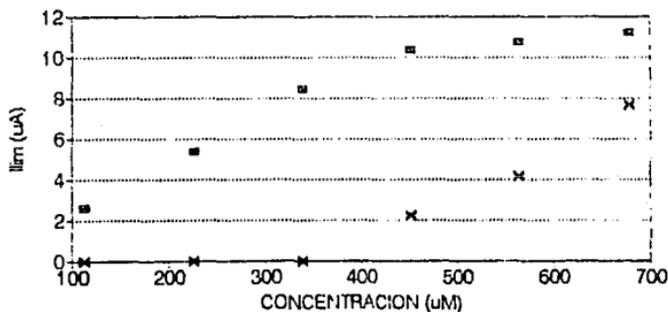
POLAROGRAFIA DIFERENCIAL DE PULSOS.
POLAROGRAMAS DE METRONIDAZOL EN
BUFFER 0.01M. DE GLICINA, pH= 3.

FIGURA 4.4. Polarogramas de metronidazol en glicina pH=3.0.

TABLA 4.4. RESPUESTA POLAROGRAFICA DEL METRONIDAZOL EN GLICINA 0.01M. pH=3.0.

POLAROGRAFIA CLASICA				POLAROGRAFIA DP			
Conc. (uM)	Ilim#1 (uA)	E1/2#1 (mV)	Ilim#2 (uA)	E1/2#2 (mV)	Conc. (uM)	Ilim#1 (nA)	E1/2#1 (mV)
113	2.64	-444	0	0	29.2	100	-460
226	5.26	-456	0	0	38.4	210	-450
339	8.49	-456	0	0	87.6	320	-460
452	10.38	-430	2.26	-448	110.8	400	-460
565	10.75	-456	4.15	-448	140	470	-460
678	11.22	-456	7.72	-	175.2	590	-460
Regression Output:				Regression Output:			
Constant		2.05		Constant		17.333	
Std Err of Y Est		1.2548		Std Err of Y Est		13.553	
R Squared		0.6939		R Squared		0.9939	
No. of Observations		6		No. of Observations		6	
Degrees of Freedom		4		Degrees of Freedom		4	
X Coefficient(s)		0.0154		X Coefficient(s)		0.1267	
Std Err of Coef.		0.0027		Std Err of Coef.		0.0033	

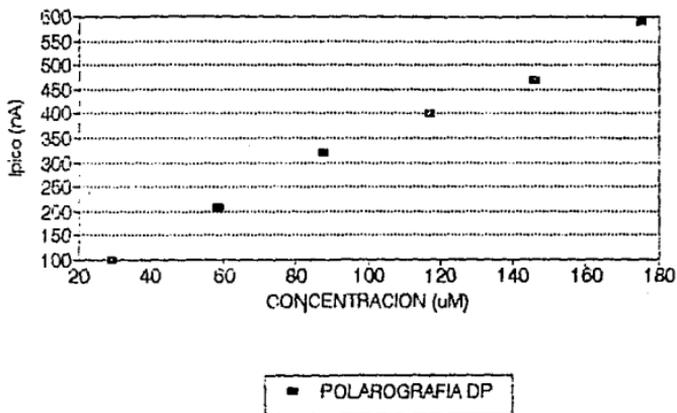
CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=3.0



GRAFICA 4.4. POLAROGRAFIA CLASICA

■ ONDA#1 × ONDA#2

CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=3.0



Solución de acetato 0.01 M, pH= 3.0.

En FC se tienen dos ondas de reducción a -716 y -1776 mV/ECS respectivamente. La primera onda es muy definida por lo que permite medir las corrientes de difusión y potencial de media onda sin interferencia. La segunda onda a concentraciones pequeñas casi no se detecta y dificulta la medida de los datos.

De las dos rectas obtenidas de las curvas de calibración, la correspondiente a -716 mV tiene un mejor comportamiento lineal respecto a la concentración ($R^2=0.99$).

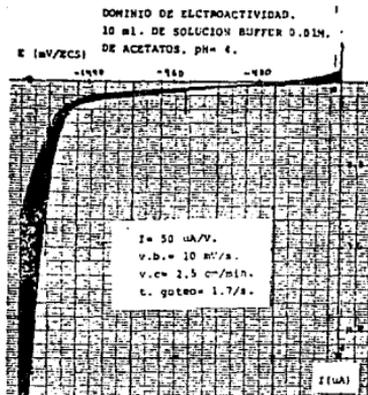
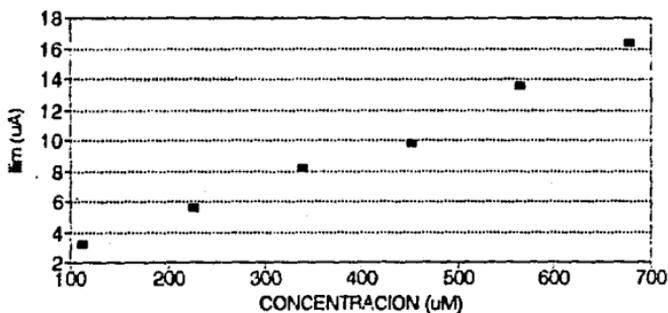


FIGURA 4.5. Polarogramas de metronidazol en acetatos pH=4.

Tabla 4.5. RESPUESTA POLAROGRAFICA DEL METRONIDAZOL EN ACETATOS 0.01M. pH= 4.0.

POLAROGRAFIA CLASICA		Regression Output:	
Conc. : 111	E1/2 : -744	Constant	0.2637
Conc. : 226	E1/2 : -756	Std Err of Est	0.5486
339	-768	R Squared	0.9901
452	-792	No. of Observations	6
565	-860	Degrees of Freedom	4
678	-878	Coefficient(s)	0.0232
		Std Err of Coef.	0.0012

CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=4.0



POLAROGRAFIA CLASICA

■ .GRAFICA 4.5

Solución de acetatos 0.01 M. pH=5.0.

En PC, al contener en la celda una concentración 113 M de μ metronidazol, correspondiente de la primera adición de 0.1 ml de la solución estandar, se detecta una sola reducción a -634mV . A concentraciones mayores se detectan dos ondas con la particularidad de que la de -634 mV la corriente límite no aumenta con la concentración; y la -1053 mV solo aparece desde la segunda adición y la corriente límite si aumenta con la concentración.

En PDP se tiene una sola onda a -670 mV y la linealidad entre la Ipico y la concentración tiene un coeficiente de 0.99.

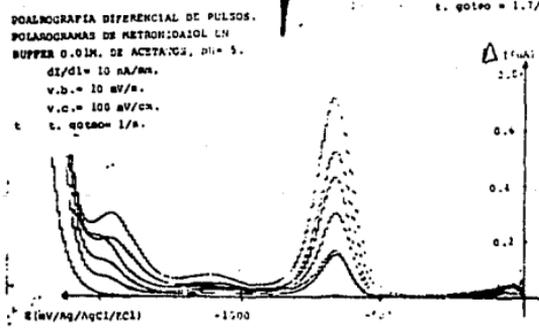
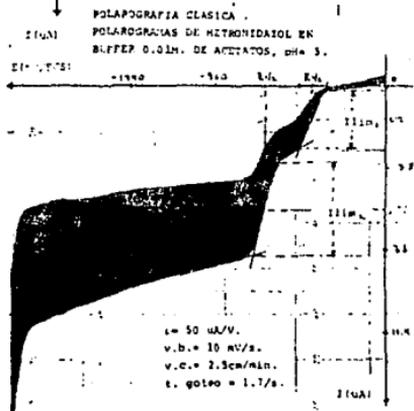
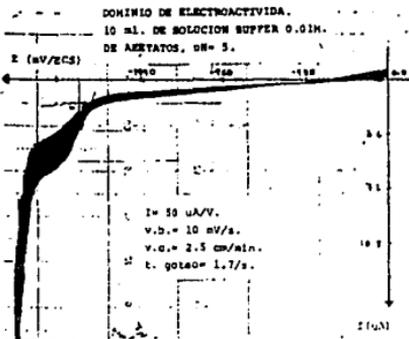


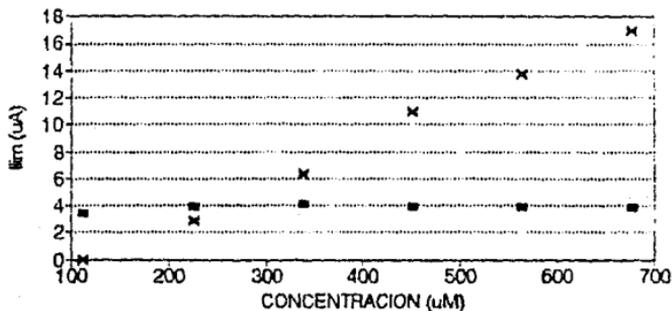
FIGURA 4.6. Polarogramas de metronidazol en acetatos pH=5.0

TABLA 4.6. RESPUESTA POLAROGRAFICA DEL METRONIDAZOL EN ACATATOSO 0.01M. pH= 5.0.

POLAROGRAFIA CLASICA					POLAROGRAFIA DP		
Conc. (uM)	Ilim#1/E1/2#1 (uA)	Ilim#1/E1/2#1 (mV)	Ilim#2/E1/2#2 (uA)	Ilim#2/E1/2#2 (mV)	Conc. (uM)	Ilim#1 (nA)	Ilim#2 (mV)
115	3.49	-648	0	-	29.2	150	-670
226	3.96	-648	2.83	-1008	58.4	300	-670
337	4.15	-636	6.72	-1032	87.6	420	-670
452	3.96	-624	10.94	-1044	115.8	520	-670
565	3.96	-624	13.77	-1050	146	710	-670
678	3.96	-624	16.78	-1104			

Regression Output:		Regression Output:	
Constant	-3.761	Constant	18
Std Err of Y Est	0.492	Std Err of Y Est	24.786
R Squared	0.9755	R Squared	0.9699
No. of Observations	5	No. of Observations	5
Degrees of Freedom	4	Degrees of Freedom	3
X Coefficient(s)	0.0209	X Coefficient(s)	4.589
Std Err of Coef.	0.001	Std Err of Coef.	0.2562

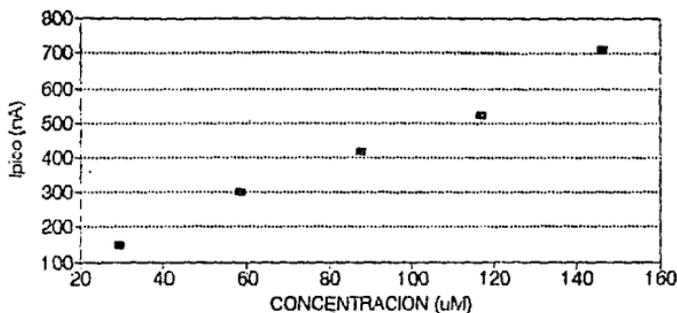
CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=5.0



GRAFICA 4.5. POLAROGRAFIA CLASICA

■ ONDA#1 × ONDA#2

CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=5.0



■ POLAROGRAFIA DP

Solución de fosfatos 0.01 M. pH= 7.0.

En esta solución se detecta una sola onda de reducción a -772 mV/ECS y la respuesta de la corriente límite en función de la concentración es lineal ($R^2 = 0.99$) para la polarografía clásica.

Por la polarografía diferencial de pulsos se obtienen tres picos, los dos primeros si son dependientes de la concentración de metronidazol. Epicos: -770, -1140 y -1580 mV/Ag/AgCl/KCl, R cuadrada: 0.990 y 0.962.

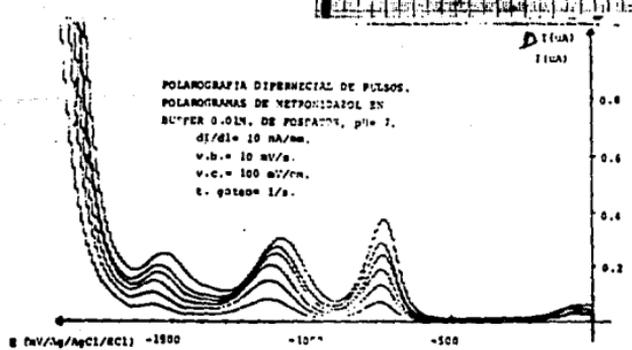
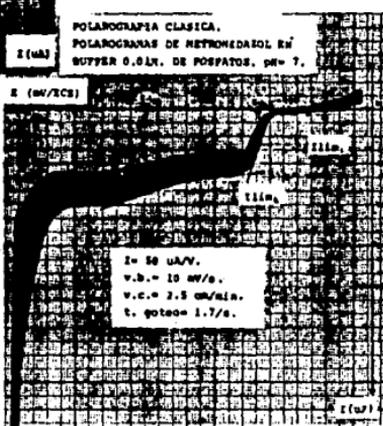
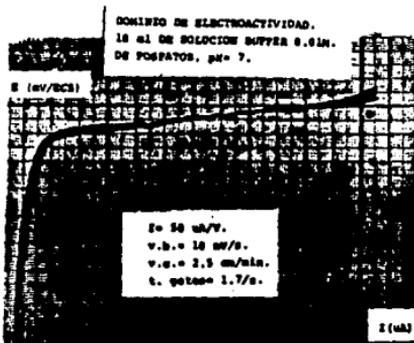


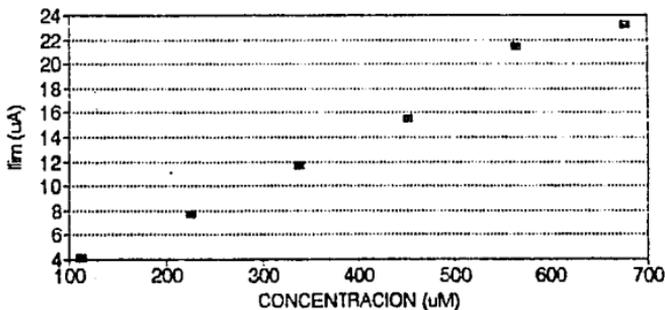
FIGURA 4.7. Polarogramas de Nitrofenol en solución buffer de fosfatos a pH 7.

TABLA 4.7. RESPUESTA POLAROGRAFICA DEL METRONIDAZOL
EN FOSFATOS 0.01M, pH= 7.0.

POLAROGRAFIA CLASICA			POLAROGRAFIA CP				
Conc. (µM)	Ilim (µA)	E1/2 (mV)	Conc. (µM)	I _{pico1} (nA)	E _{pico1} (mV)	I _{pico2} (nA)	E _{pico2} (mV)
113	4.15	-984	29.2	60	-770	60	-1580
226	7.73	-988	58.4	130	-770	130	-1580
339	11.7	-972	87.6	190	-770	190	-1580
452	15.46	-1008	116.8	250	-770	250	-1580
565	21.5	-1032	146	320	-770	320	-1580
678	23.19	-1056	175.2	360	-770	290	-1580

Regression Outputs:		Regression Out Pico1		Pico2	
Constant	-0.072	Constant	0.0333	136.67	
Std Err of Y Est	0.9179	Std Err of Y Est	12.15	116.45	
R Squared	0.9892	R Squared	0.9898	10.962	
No. of Observations	6	No. of Observations	6	6	
Degrees of Freedom	4	Degrees of Freedom	4	4	
X Coefficient(s)	0.0355	X Coefficient(s)	1.9569	11.517	
Std Err of Coef.	0.0019	Std Err of Coef.	0.0955	10.151	

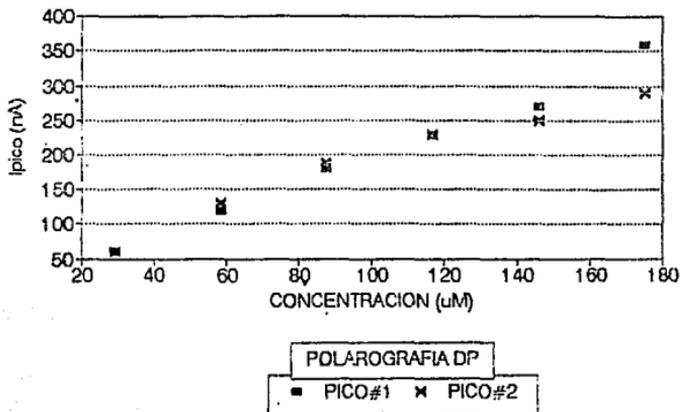
CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=7.0



POLAROGRAFIA CLASICA

■ GRAFICA 4.7

CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=7.0



Relacion de corrientes PICO#1 y PICO#2

En polarografía clásica, se detecta una sola reducción a -921 mV/ECS donde la corriente límite se mide con facilidad por que forma una meseta larga (fig. 4.8) que termina hasta la barrera catódica. la linealidad entre la corriente límite y la concentración es perfecta (gráfica 4.8) con un valor de R cuadrada de 1.0.

En polarografía diferencial de pulsos se observa una sola reducción, se detectan señales de corriente que no interfieren con el ciclo. El potencial del pico se detecta a -790 mV y el valor de R^2 es ca 1.0.

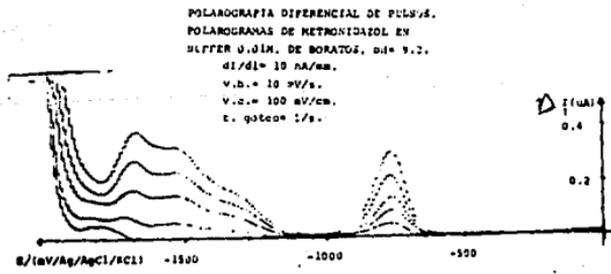
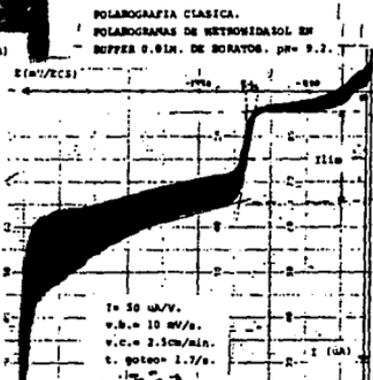
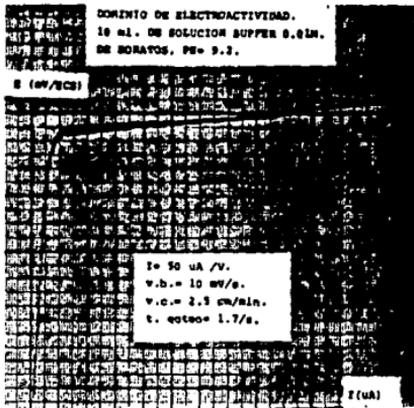


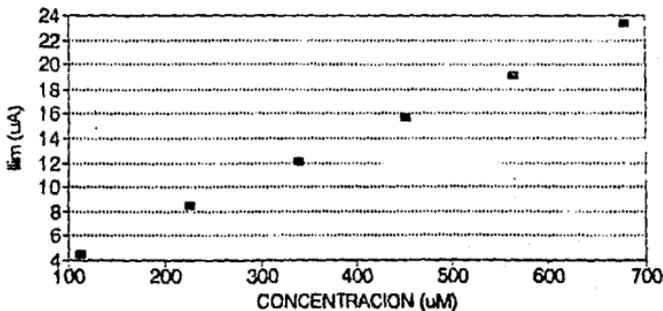
FIGURA.4.3. Polarogramas de Nitronidazol en condiciones dadas.

TABLA 4.8. RESPUESTA POLAROGRAFICA DEL METRONIDAZOL EN BORATOS 0.01M. pH=9.2.

POLAROGRAFIA CLASICA			POLAROGRAFIA DP		
Conc. (uM)	I _{lim} (uA)	E _{1/2} (V)	Conc. (uM)	I _{lim} (uA)	E _{1/2} (V)
113	4.43	-926	29.2	50	-780
226	8.48	-912	58.4	100	-780
339	12.07	-912	87.6	140	-780
452	15.65	-996	115.8	180	-780
565	19.14	-912	146	230	-780
678	23.38	-926	175.2	270	-780

Regression Output:		Regression Output:	
Constant	0.0273	Constant	8.6567
Std Err of Y Est	0.2263	Std Err of Y Est	3.2367
R Squared	0.9992	R Squared	0.9987
No. of Observations	6	No. of Observations	6
Degrees of Freedom	4	Degrees of Freedom	4
IX Coefficient	0.0329	IX Coefficient	1.4971
Std Err of Co	0.0005	Std Err of Co	0.0265

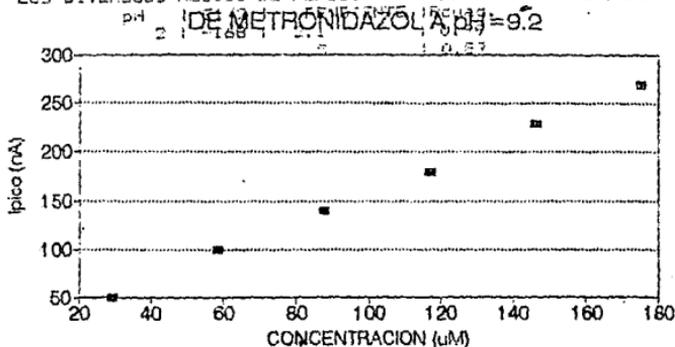
CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL A pH=9.2



POLAROGRAFIA CLASICA

■ GRAFICA 4.8

CURVA ESTANDAR DE CALIBRACION



■ POLAROGRAFIA DP

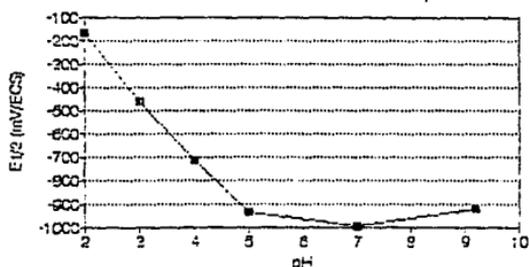
Los resultados globales se basan en la cooperación de los resultados obtenidos del potencial de media onda, los valores de las pendientes, de R cuadrada y en los diferentes medios de reactor. Dichos valores se resumen en la tabla 4.7.

En estos experimentos se proporcionan datos de la variación del potencial con el pH, la grafica 4.9 muestra que el potencial de pico o de media onda se vuelve más negativo al aumentar el pH.

RESULTADOS GLOBALES DE LA REDUCCION DE METRONIDAZOL EN LOS DIVERSOS MEDIOS DE REACCION. POLAROGRAFIA CLASICA.

pH	E1/2	PENDIENTE	Rcuad.
2	-168	2.1	0.99
3	-458	1.5	0.89
4	-716	2.3	0.99
5	-934	3	0.99
7	-990	5	0.95
9.2	-921	3.2	0.99

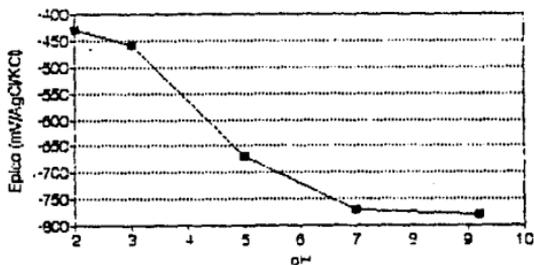
VARIACION DEL POTENCIAL DE MEDIA ONDA EN FUNCION DEL pH



RESULTADOS GLOBALES DE LA REDUCCION DE METFORMINAZOL EN
LOS DIVERSOS MEDIOS DE REACCION. POLAROGRAFIA DP.

pH	E _{1/2}	PENDIENTE	INCLAD.
2	-430	2.6	0.97
3	-460	3.2	0.99
5	-670	4.6	0.98
7	-770	1.9	0.98
9.5	-780	1.5	0.99

VARIACION DEL POTENCIAL DE POCO EN FUNCION DEL pH

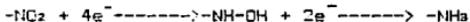


—●— POLAROGRAFIA CLASICA

Estimación del número de electrones involucrados en la reacción metronidazol electrodo.

En los sistemas electroquímicos de cinética rápida los métodos polarográficos pueden dar información del número de electrones que participan en la interfase sustancia electroactiva-electrodo.

Para poder indicar con certeza el número de electrones involucrados en la reacción del fármaco en cuestión, es necesario emplear otras técnicas electroquímicas más versátiles que brinden información acerca del comportamiento cinético y de reversibilidad de la reacción. Pero mediante la información obtenida se puede estimar el número de electrones involucrados, a pesar de no saber exactamente el comportamiento del sistema. El mecanismo posible de la reducción es:



De la curva polarográfica obtenida por polarografía clásica se determina el valor de la corriente a cada potencial y el de la corriente límite, con los datos para cada potencial se calcula la relación $\log(I/I_{\text{lim}}-I)$ y se traza la gráfica $\log(I/I_{\text{lim}}-I)$ vs. E (potencial). De la gráfica se obtiene una línea recta con pendiente igual a $0.059/n$, donde n corresponde al número de electrones involucrados en la reacción.

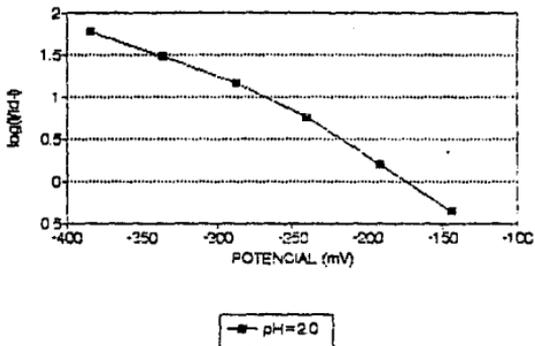
A continuación se reportan los resultados del número de electrones involucrados en la reducción del metronidazol a varios valores de pH. En los cuales se observa que a pH 2, 3 y 7 se intercambian aproximadamente 6 electrones, lo que indica que la reducción del grupo nitro se efectúa en un solo paso hasta el grupo aminor. A pH 4 se obtienen 8 electrones que participan en la reducción y 5 electrones a pH igual a 9.2. Estos dos resultados no concuerdan con ninguna de las reacciones propuestas.

pH=2.0 Id=11.34uA			Regression Output:	
E(mV)	I(uA)	log(I/Id-I)	Constant	-1.508
-96	0.36	-1.48	Std Err of Y Est	0.128
-144	3.42	-0.36	R Squared	0.9799
-192	7.02	0.21	No. of Observations	6
-240	9.72	0.77	Degrees of Freedom	4
-288	10.62	1.17		
-336	10.98	1.48	X Coefficient(s)	-0.009
-384	11.18	1.79	Std Err of Coef.	0.0006
			ne=(0.059/Coef)	-6.626

ph4

GRAFICA: POTENCIAL vs log(I/Id-I)

ESTIMACION DEL NUMERO DE ELECTRONES



pH=4.0 Id=5.4 uA			Regression Output:	
E(mV)	I(uA)	log(I/Id-I)	Constant	-6.242
-552	0.18	-1.46	Std Err of Y Est	0.00955
-600	0.36	-1.14	R Squared	0.9874
-648	0.72	-0.81	No. of Observations	6
-696	1.44	-0.43	Degrees of Freedom	4
-744	2.88	0.06		
-792	4.32	0.6	X Coefficient(s)	-0.008
-840	5.4	-	Std Err of Coef.	0.0005
			ne=(0.059/Coef)	-6.941

pH=7.0 Id=11.16uA			Regression Output:	
E(mV)	I(uA)	lo(1/Id-1)	Constant	
-768	0.18	-1.78	Std Err of Y Est	-9.18
-816	0.36	-1.47	R Squared	0.173
-864	0.9	-1.06	No. of Observations	0.9794
-912	1.62	-0.77	Degrees of Freedom	8
-960	3.6	-0.32		6
-1008	6.84	0.19	X Coefficient(s)	-0.009
-1056	9.36	0.71	Std Err of Coef.	0.0006
-1104	10.8	1.48	ne: (0.059/Coef.)	-6.273

Otro criterio para determinar el número de electrones es el de efectuar un cociente entre la corriente límite de la primera onda y la segunda onda, para encontrar la proporción de electrones entre ambas ondas.

En polarografía clásica si se obtienen dos ondas de reducción, por lo regular no se pueden distinguir con claridad, pero en polarografía diferencial de pulsos si se distinguen y se pueden medir las corrientes de pico por lo que se muestran los resultados obtenidos por este criterio.

Cuando se tienen dos ondas de reducción se espera, conforme al mecanismo propuesto, que la corriente del primer pico sea el doble de la corriente correspondiente al segundo pico, puesto que la primera reducción necesita el doble de electrones que la segunda reducción.

A pH=7 se tienen tres onda de reducción y solo se esperan dos. La primera reducción involucra el mismo número de electrones que la segunda, pues el cociente es uno. A la vez la primera reducción necesita tres veces más electrones que la tercera reducción, pues el cociente tiende a tres.

A pH=9.2 se detectan dos reducciones, la primera necesita tres veces mas electrones que la segunda. El cociente tiende a tres.

Al no encontrar el número de electrones esperados por el mecanismo propuesto, es un indicador de la presencia de otras reacciones que es necesario estudiar con otro tipo de experimentación. Por ejemplo, a pH=7 se tienen tres ondas de reducción y quizá la onda tres sea resultado de la reducción de un producto de degradación del metronidazol. Esto sería de gran importancia pues demostraría que en realidad la polarografía es un método selectivo para cuantificar metronidazol.

Conclusión del experimento.

El comportamiento electroquímico del metronidazol varía en cada una de las soluciones. En soluciones con electrolito en concentración 0.1 M. se obtiene una sola reducción sin importar el valor de pH. En soluciones con electrolito en concentración 0.01 M se pueden obtener más de una onda polarográfica dependiendo del pH y del tipo de electrolito.

Otra evidencia de importancia es el hecho de que el potencial de media onda varía en función del pH en el intervalo de 2.0 a 7.0 aproximadamente. A valores de pH mayores de 7 el potencial de media onda permanece estable.

La respuesta que presenta la corriente límite ó la corriente de pico conforme a la concentración del fármaco es lineal en varias de las soluciones de trabajo. En polarografía clásica las soluciones que brindan buenos resultados son las de pH 2,4,7 y 9.2. Para polarografía diferencial de pulsos brindan buena linealidad las soluciones con valores de pH de 2,3,5 y 9.2.

En lo referente al número de electrones mediante las técnicas polarográficas no es posible indicar con veracidad el número exacto de electrones involucrados, para lograr este objetivo se tienen que emplear otras técnicas electroquímicas de análisis.

4.6. Cuantificación del metronidazol en las diferentes presentaciones farmacéuticas.

Para cuantificar el metronidazol se selecciona una solución donde el fármaco tenga un buen comportamiento, es decir:

a). La corriente límite sea directamente proporcional a la concentración y la relación sea

b). Las ondas de reducción deben estar suficientemente separadas si hay varias reducciones, para que no se interfieran. Ni debe interferir la corrientes de reducción del electrolito soporte.

De las soluciones estudiadas, las soluciones de fosfatos pH=2 y la de boratos pH=9.2, cumplen con estas condiciones.

La cuantificación se efectúa por polarografía clásica y diferencial de pulsos, empleando el método de adiciones estándar y trabajando con 10 ml. de solución de boratos 10 M. pH=9.2.

A continuación se reportan los datos obtenidos para cada uno de los medicamentos y el tipo de polarografía utilizada para la cuantificación y se describe, detalladamente, para un medicamento el procedimiento seguido en la técnica de adiciones estándar.

EXTRACCIONES CON AGUA.

POLAROGRAFIA CLASICA.

FLAGENASE 400. Capsulas con 400 mg. de metronidazol y 200 mg. de diyodohidróxiquinoleina.

Peso promedio del polvo contenido en las capsulas:

$$(0.6235g.+0.6275g.+0.6335g.+0.6180g.+0.6450g)/5 = 0.6295g.$$

Fración de metronidazol en el polvo:

$$F = 0.4000g. \text{ de metronidazol} / 6295g. \text{ de polvo} = 0.6373$$

Solución problema: 0.2130g. de polvo/ 50 mL. de agua.

Solución estándar: 0.1320g de metronidazol p.p./50 ml de agua.

$C_s = 0.0154 \text{ M}$

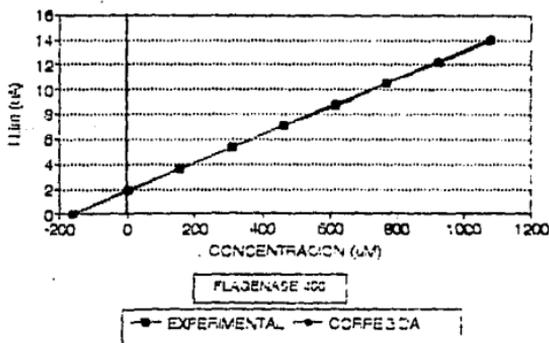
Volumen de la solución problema a cuantificar: 0.1 mL.

Número de adiciones de 0.1 mL. la solución estándar: 7

CONC (µM)	PRIMERA Ilim(µA)	SEGUNDA Ilim(µA)	TERCERA Ilim(µA)	PROMEDIO Ilim(µA)	CORFESCA Ilim(µA)
0	1.61	1.96	1.66	1.81	1.82
154.2	3.54	3.54	3.38	3.49	3.57
308.4	5.26	5.21	5.12	5.26	5.31
462.6	7.31	7.11	7.05	7.16	7.03
616.8	9.12	8.67	9.01	8.93	8.8
771	10.86	10.48	10.56	10.63	10.53
925.2	12.33	12.21	12.21	12.25	12.23
1079.4	14.02	13.67	13.94	13.88	14.03

Se grafican los datos de corriente límite promedio contra concentración obteniéndose una recta, a la cual por regresión lineal se determina su expresión matemática y se le nombra recta corregida. Los datos de corriente límite corregidos se obtienen de dicha recta: $I_{lim} = b + mC$

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR DE METRONIDAZOL



Regression Output:

Constant	1.82
Std Err of Y Est	0.0007
R Squared	0.999999
No. of Observations	8
Degrees of Freedom	6
X Coefficient(s)	0.011319
Std Err of Coef.	5.7E-06

$b = 1.8263 \mu A$; $m = \text{pendiente} = 0.0113 \mu A / \mu M$; $C = \text{concentración } (\mu M)$
 y se traza la recta corregida.

Cuando en la recta corregida se extrapola la corriente límite hasta que tenga el valor de $0.00 \mu A$, de la expresión se obtiene la siguiente igualdad:

$$b = mC$$

donde C es la concentración del metronidazol en la celda de 10 ml. provenientes de la solución problema.

$$C = b/m = 1.8263/0.0113 = 161.35 \mu M.$$

Considerando las diluciones y el peso molecular, la cantidad de metronidazol que contiene la muestra pesada es de :

$$X_g = C * (10 \text{ ml} / 0.1 \text{ ml}) * (1 \text{ M} / 10^6 \mu M) * (171.16 \text{ g/mol}) * 0.051.$$

Sustituyendo a $C = 161.35$:

$$X_g = 0.1380 \text{ g. de metronidazol}$$

Los gramos teóricos de metronidazol que contiene la muestra analizada es:

$$X_g(\text{teóricos}) = F * (\text{gramos de la muestra})$$

$$X_g(\text{teóricos}) = 0.06373 * 0.2130 = 0.1357 \text{ g. de metronidazol.}$$

El porcentaje de metronidazol cuantificado se tiene con la relación :

$$\% \text{Cuantificado} = (X_g / X_g(\text{teóricos})) * 100$$

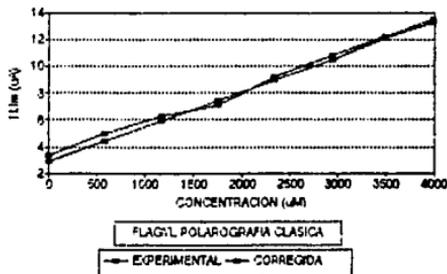
$$\% \text{Cuantificado} = (0.1380 / 0.1357) * 100 = 101.72 \%$$

POLAROGRAFIA CLASICA. ADICIONES ESTANDAR.
 FLAGIL. Solucion inyectable con 0.2g. de metronidazol en 10 ml.
 Solucion estándar: 0.0583 M.
 Volumen de medicamento a cuantificar: 0.1 ml.
 Número de ediciones de 0.1ml. de la solución estándar: 7

CONC (uM)	PRIMERA Ilim(uA)	SEGUNDA Ilim(uA)	TERCERA Ilim(uA)	PROMEDIO Ilim(uA)	CORREGIDO Ilim(uA)
0	3.04	3.13	3.42	3.19	2.93
583	2.27	75	4.94	3.98	4.44
1166	6.08	6.27	6.27	6.2	5.96
1749	7.41	7.6	7.06	7.35	7.47
2332	8.74	9.12	9.12	8.99	8.99
2945	10.07	10.83	10.83	10.57	10.5
3498	12.16	12.16	12.16	12.16	12.05
3981	12.54	13.49	13.49	13.17	13.28

Regression Output:	
Constant	2.924727
Std Err of Y Est	0.035168
R Squared	0.999921
No. of Observations	8
Degrees of Freedom	6
X Coefficient(s)	0.002598
Std Err of Coef.	9.42E-06

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR DE METRONIDAZOL



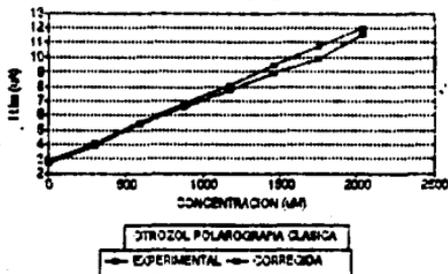
Ecuación de la recta: $Ilim = 2.92 + 0.0026C$
 Concentración de metronidazol en la celda:
 $C = 2.92 / 0.0026 = 1126.92$
 Cantidad de metronidazol en la muestra:
 $Xg = 1126.92 \mu M (1M / 1000000 \mu M) (171.16g / 1mol) (10ml / 0.1ml) * 0.011$
 $Xg = 0.1929g$
 Gramos teóricos de la muestra: 0.2g.
 % de metronidazol cuantificado: $(0.1929g / 0.2g) * 100 = 96.45 \%$

POLAROGRAFIA CLASICA. ADICIONES ESTANDAR
 OTROZOL 500. Solucion inyectable con 0.5g de metronidazol en 10
 ml de medicamento a cuantificar: 0.2ml.
 Numero de adiciones de 0.1ml. de la solucion estandar: 7
 Solucion estandar: 0.0015M.

CONC(UM)	PRIMERA (Ilim(uA))	SEGUNDA (Ilim(uA))	TERCERA (Ilim(uA))	IPROMEDIO (Ilim(uA))	CORREGIDO (Ilim(uA))
0	2.8	2.85	2.98	2.79	2.84
291.5	4.3	4.3	3.92	4.17	4.15
582	5.5	5.55	5.15	5.5	5.45
874.5	6.9	7.05	6.55	6.85	6.77
1166	7.8	8.48	7.73	8	8.09
1457.5	9.4	9.8	8.93	9.38	9.4
1749	10.82	11.15	9.58	10.82	10.71
2040.5	12.25	12.35	11.51	12.07	12.02

Regression Output:	
Constant	2.836320
1Std Err of Y Est	0.002817
R Squared	0.999999
Nb. of Observations	8
Degrees of Freedom	
X Coefficient(s): 0.004501	
1Std Err of Coef.	1.46E-05

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR DE METRONIDAZOL



Ecuacion de la recta: $I_{lim} = 2.84 + 0.0045C$
 Concentracion de metronidazol en la celda:
 $C = 2.84 / 0.0045 = 631.11 \mu M$
 Cantidad de metronidazol en la muestra:
 $631.11 \mu M \times 0.1 \text{ ml} \times 0.2 \text{ ml} = 126.22 \mu g$
 Grados técnicos de la muestra: $0.5000 g$
 % de metronidazol cuantificado: $(0.5401 / 0.5g) \times 100 = 108.02\%$

POLAROGRAFIA CLASICA. ADICIONES ESTANDAR

VERTISAL. Capsulas con 400 mg. de metronidazol.

Peso promedio del polvo contenido en las capsulas:

$$(0.5465g+0.5545g+0.5530g+0.5545g+0.5705g)/5 = 0.5558g.$$

Fracción de metronidazol en el polvo: $F = 0.4g/0.5558g = 0.7197$

Solución problema: 0.5520g. de polvo en 50 ml. de agua.

Volumen de solución problema a cuantificar: 0.1ml.

Solución estándar: 0.02915M. Número de adiciones de 0.1ml= 7

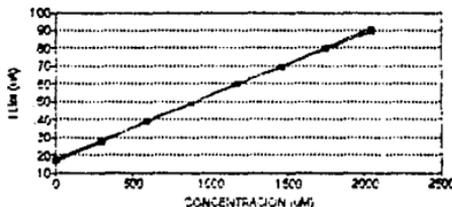
PRIMERA SEGUNDA TERCERA PROMEDIO CORREGIDO

CONC (uM)	Ilim(uA)	Ilim(uA)	Ilim(uA)	Ilim(uA)	Ilim(uA)
0	15.9	16.8	16.8	16.8	17.6
291.5	28.2	27.6	28.8	28.2	28.13
583	38.4	39.6	39.6	39.2	38.67
874.5	49.2	49.2	50.4	49.6	49.2
1166	58.8	60	61.2	60	59.74
1457.5	69.6	69.6	72	70.4	70.27
1749	80.4	79.2	82.8	80.8	80.81
2040.5	91.2	88.8	92.4	90.8	91.34

Regression Output:

Constant	17.59833
Std Err of Y Est	0.002817
R Squared	1
No. of Observations	8
Degrees of Freedom	6
X Coefficient(s)	0.03614
Std Err of Coef.	1.49E-06

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR
DE METRONIDAZOL



VERTISAL POLAROGRAFIA CLASICA

EXPERIMENTAL CORREGIDA

Ecuación de la recta: $I_{lim} = 17.6 + (0.0361)C$

Concentración de metronidazol en la celda:

$$C = 17.6 / 0.0361 = 487.5 \mu M$$

Cantidad de metronidazol en la muestra:

$$X_g = 487.5 \mu M (10ml / 0.1ml) (1M / 1E+6uM) (171.16g / 1mol) = 0.051 = 0.41$$

Gramos teóricos de la muestra: $0.7197 * 0.5520g = 0.3972g$

% de metronidazol cuantificado: $(0.4172g / 0.3975g) * 100 = 105.03\%$

POLAROGRAFIA CLASICA. ADICIONES ESTANDAR

ZIGOTYL. Tabletas con 250 mg. de metronidazol.

Peso promedio de las tabletas:

$$(0.5825g + 0.5970g + 0.5890g + 0.5940g + 0.5850g) = 0.5910g$$

Fracción de metronidazol en la tableta: $F = 0.250g / 0.5910g = 0.4229$

Solución problema: 0.5945g. de medicamento en 50 ml. de agua.

Volumen de solución problema a cuantificar: 0.1ml.

Solución estándar: 0.02915M. Número de adiciones de 0.1ml = 7

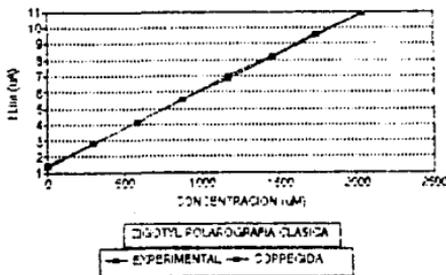
PRIMERA SEGUNDA TERCERA PROMEDIO CORREGIDO

CONC (uM)	Ilim (uA)				
0	1.39	1.43	1.38	1.39	1.45
291.5	2.93	2.75	2.75	2.79	2.79
583	4.22	4.22	4.07	4.17	4.14
874.5	5.58	5.86	5.24	5.49	5.48
1166	6.94	7.05	6.71	6.9	6.82
1457.5	8.22	8.37	7.92	8.17	8.16
1749	9.61	9.73	9.05	9.45	9.5
2040.5	10.86	11.05	10.41	10.77	10.84

Regression Output:

Constant	1.4525
Std Err of Y Est	0.002273
R Squared	0.999999
No. of Observations	8
Degrees of Freedom	5
X Coefficient (a)	0.004602
Std Err of Coef.	1.73E-06

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR DE METRONIDAZOL



Ecuación de la recta: $Ilim = 1.45 + (0.0046)C$

Concentración de metronidazol en la celda:

$$C = 1.45 / 0.0046 = 316.68uM$$

Cantidad de metronidazol en la muestra:

$$Xg = 316.68uM(10ml / 0.1ml) + (M/1E + sum) (171.16g/ml) + 0.051 = 0.270g$$

Gramos teóricos de la muestra: $0.4229 * 0.5945g = 0.2514g$.

% de metronidazol cuantificado: $(0.2716g / 0.2514g) * 100 = 107.7%$

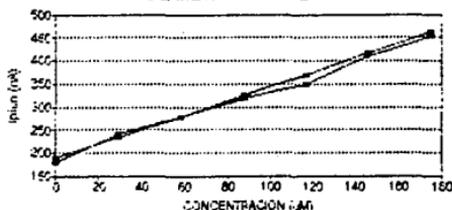
POLAROGRAFIA DIFERENCIAL DE PULSOS.
 FLAGENASE 400. Solucion problema: 0.1590g de medicamento en 50ml
 Volumen de solución problema a cuantificar: 0.1ml.
 Solucion estándar: 0.00292M. 6 adiciones de 0.1ml.

PRIMERA	SEGUNDA	PROMEDIO	CORREGIDO
Conc. (uM)	Ipico (nA)	Ipico (nA)	Ipico (nA)
0	190	180	185
29.2	240	240	240
58.4	290	280	285
87.6	330	320	325
116.8	380	350	365
146	430	410	420
175.2	480	450	465

```

+-----+
|          Regression Output:          |
+-----+
| Constant                               189 |
| Std Err of Y Est                       2.84E-14 |
| R Squared                               1 |
| No. of Observations                     7 |
| Degrees of Freedom                      5 |
+-----+
| Y Coefficient(s)                       1.56 |
| Std Err of Coef. 1.84E-16              |
+-----+
  
```

+ CURVA DE ADICIONES ESTANDAR
 DE METRONIDAZOL +



FLAGENASE POLAROGRAFIA DP
 ← EXPERIMENTAL → CORREGIDA

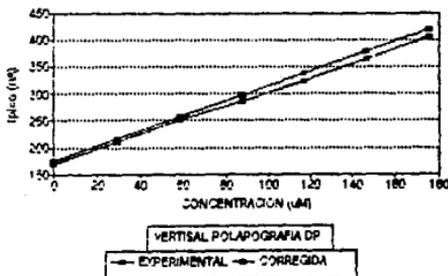
Ecuación del a recta: $Ipico = 189 - 1.56 * C$
 Concentración de metronidazol en la celda: $C = 1.89 / 1.56 = 121.15 \mu M$
 Cantidad de metronidazol en la muestra:
 $X_g = 121.15 \mu M * (10 ml / 0.1 ml) (1 M / 1 E + 6 u M) (171.16 g / mol) * 0.051 = 0.1050 g$
 $X_g (teóricos) = F * Peso de muestra = 0.6073 * 0.1580 g = 0.1007 g$
 % de metronidazol cuantificado: $(0.1050 / 0.1007) * 100 = 104.27\%$

POLAROGRAFIA DIFERENCIAL DE PULSOS.
 VERTUSAL.0.1380g. de medicamento en 50 ml de agua.
 Volumen de solución problema a cuantificar: 0.1ml.
 Solución estándar: 0.0029M. 6 adiciones de 0.1ml.

	PRIMERA	SEGUNDA	PROMEDIO	CORREGIDO
Conc. (uM)	Ipico(nA)	Ipico(nA)	Ipico(nA)	Ipico(nA)
0	170	185	177	176
29.2	210	230	210	216
58.4	250	275	262	257
87.6	285	310	297	298
116.8	325	360	342	338
146	365	395	380	379
175.2	405	430	417	420

Regression Output:	
Constant	175.7143
Std Err of Y Est	4.208834
R Squared	0.998095
No. of Observations	7
Degrees of Freedom	5
X Coefficient(s)	1.394325
Std Err of Coef.	0.02724

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR DE METRONIDAZOL



Ecuación de la recta: $Ipico = 175.71 + 1.39 \cdot C$
 Concentración de metronidazol en la celda: $C = 175.71 / 1.39 = 126.02$
 Cantidad de metronidazol en la muestra:
 $X_g = 126.02 \mu M \cdot (10 \text{ ml} / 0.1 \text{ ml}) \cdot (1 \text{ M} / 1 \text{ E} + 6 \mu \text{ M}) \cdot (171.16 \text{ g/mol}) \cdot 0.051 = 0.1078$
 $X_g(\text{teóricos}) = F \cdot \text{Peso de muestra} = 0.7197 \cdot 0.1380 \text{ g} = 0.0993 \text{ g}$
 % de metronidazol cuantificado: $(0.1078 / 0.0993) \cdot 100 = 107.75\%$

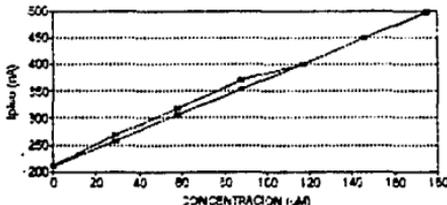
POLAROGRAFIA DIFERENCIAL DE PULSOS.

ZIGOTYL. 0.2365g. de medicamento en 50 ml de agua.
 Volumen de solución problema a cuantificar: 0.1ml.
 Solución estándar: 0.0029M. & adiciones de 0.1ml.

Conc. (uM)	PRIMERA Ipico (nA)	SEGUNDA Ipico (nA)	PROMEDIO Ipico (nA)	CORREGIDO Ipico (nA)
0	200	210	205	210
29.2	250	270	260	258
58.4	290	320	315	306
87.6	340	370	345	354
116.8	400	400	400	401
146	430	450	465	449
175.2	470	500	485	496

Regression Output:	
Constant	210.5357
Std Err of Y Est	10.815
R Squared	0.990896
No. of Observations	7
Degrees of Freedom	5
X Coefficient(s)	1.632828
Std Err of Coef.	0.069975

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR
 DE METRONIDAZOL



ZIGOTYL POLAROGRAFIA DP
 — EXPERIMENTAL — CORREGIDA

Ecuación de la recta: $Ipico = 210.53 + 1.63 \cdot C$
 Concentración de metronidazol en la celda: $C = 210.53 / 1.63 = 128.94$
 Cantidad de metronidazol en la muestra:
 $X_g = 128.94 \mu M \cdot (10 ml / 0.1 ml) \cdot (1 M / 10^6 \mu M) \cdot (171.16 g / mol) \cdot 0.051 = 0.1103$
 $X_g(\text{teóricos}) = F \cdot \text{Peso de muestra} = 0.4229 \cdot 0.2365 g = 0.1001$
 % de metronidazol cuantificado: $(0.1103 / 0.1001) \cdot 100 = 110.3\%$

La siguiente tabla reporta los resultados obtenidos en la cuantificación del metronidazol en los diferentes medicamentos. Se expresa el porcentaje de metronidazol cuantificado con respecto a la cantidad de metronidazol indicada en el marbete.

MEDICAMENTO	POLROGRAFIA CLASICA	DIFERENCIAL DE PULSOS
	%CUANTIFICADO	%CUANTIFICADO
Flagenase 400.	101.72	104.27
Flagyl.	96.45	No determinada
Otrozol.	108.02	No determinada
Vertisal.	105.03	107.75
Zigotyl.	107.70	110.30

Los resultados obtenidos muestran que la cantidad de metronidazol cuantificada es muy parecida a la nominal. La máxima cantidad de metronidazol encontrada es de un 10.3 % de exceso en las tabletas de Zigotyl. En Flagyl (solución inyectable) se encontró la mínima cantidad con un 3.55% por defecto con respecto a la nominal.

La Farmacopea Mexicana, quinta edición, establece que en la cuantificación de metronidazol mediante una titulación ácido-base los medicamentos deben contener no menos de 95.0 por ciento y no más de 105 por ciento respecto al marbete. Este parámetro solo lo cumplen dos medicamentos: el Flagenase 400 y el Flagyl.

El Vertisal, Otrozol y el Zigotyl están fuera de la especificación anterior, pero la cantidad cuantificada está cerca del intervalo estipulado.

Los datos muestran resultados muy importantes: la polarografía si puede cuantificar al metronidazol, ya que los datos obtenidos son muy homogéneo y cercanos al valor nominal, este valor es el único disponible para comparar y no se observan valores absurdos.

Los resultados obtenidos por polarografía clásica son muy semejantes a los obtenidos por polarografía diferencial de pulsos, lo que indica que los resultados obtenidos son más verídicos.

Es necesario recordar que la extracción del principio activo se efectúa con agua, obteniéndose buenos resultados.

EXTRACCION CON ACETONA.

POLAROGRAFIA CLASICA.

En este experimento se extrae al metronidazol con acetona, es evaporado y el medicamento extraido se disuelve en agua para ser analizado. A continuacion se indican los resultados obtenidos al efectuar la cuantificación del fármaco por la técnica de adiciones estándar mediante polarografía clásica.

MEDICAMENTO	%CUANTIFICADO
FLAGENASE 400.	100.89
VERTISAL.	104.13
ZIGOTYL.	87.15

Comparando con los resultados obtenidos cuando la extraccion se efectua con agua se tiene:

MEDICAMENTO	%CUANTIFICADO EXTRACCION CON AGUA	%CUANTIFICADO EXTRACCION CON ACETONA
FLAGENASE 400	101.72	100.89
VERTISAL	105.03	104.13
ZIGOTYL	107.70	87.15

La extracción del principio activo por agua y por acetona dan resultados muy semejantes en la cuantificación, para el Flagenase y el Vertisal; para el Zigotyl al extraer con acetona se cuantifica una menor cantidad de metronidazol y podria deberse a que la técnica de extracción es más eficiente empleado agua.

Los resultados muestran que la extracción con agua es buena y es cuantitativa y ofrece los mismos resultados que la extraccion con acetona.

Como conclusión se puede indicar que la cuantificación del metronidazol por medio de polarografía brinda excelentes resultados efectuando la extracción del principio activo con agua.

Trabajar con agua tiene mayor ventaja que al trabajar con acetona, se tienen menos riesgos al ser inflamable y poco volátil, la técnica es baja de costo, y brinda buenos resultados.

A continuación se muestran los datos y las graficas correspondientes a cada determinación efectuada.

2. RESULTADOS:

EXTRACCION CON ACETONA. POLAROGRAFIA CLASICA.

FLAGENASE 400. 0.1580g del medicamento extraidos con acetona recuperados en 50 ml de agua.

Volumen a cuantificar: 0.1ml.

Solucion estandar: 0.0029M. 7 adiciones de 0.1ml.

	PRIMERA	SEGUNDA	PROMEDIO
Conc. (uM) :	Ilim (uA) :	Ilim (uA) :	Ilim (uA) :
0 :	0.94 :	0.94 :	0.94 :
29.2 :	1.17 :	1.17 :	1.17 :
58.4 :	1.39 :	1.36 :	1.38 :
87.5 :	1.55 :	1.58 :	1.62 :
116.8 :	1.92 :	1.85 :	1.88 :
146 :	2.15 :	2.07 :	2.11 :
175.2 :	2.41 :	2.26 :	2.34 :
204.4 :	2.6 :	2.45 :	2.52 :

Regression Output:

Constant	0.938333
Std Err of Y Est	0.020778
R Squared	0.99884
No. of Observations	8
Degrees of Freedom	6

X Coefficient(s) 0.007893

Std Err of Coef. 0.00011

Ecuación de la recta: $Ilim = 0.93 + 0.0079(C)$

Concentración de metronidazol en la celda: $C = 0.93 / 0.0079 = 118.71 \mu M$

Cantidad de metronidazol en la muestra:

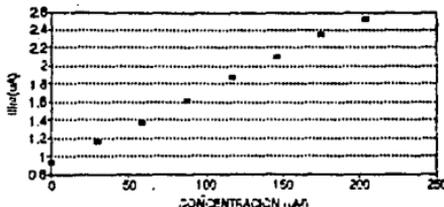
$X_g = 118.71 \mu M * (10 ml / 0.1 ml) (1M / 1E+6 \mu M) (171.16 g/mol) * 0.051 = 0.1016 g$

Gramos teóricos de metronidazol:

Gramos teóricos de = $F * \text{Peso de muestra} = 0.6373 * 0.158 g = 0.1007 g$

% de metronidazol cuantificado: $(0.1016 / 0.1007) * 100 = 100.89\%$

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR DE METRONIDAZOL



FLAGENASE EXTRACCION CON ACETONA

• POLAROGRAF. CLASICA

EXTRACCION CON ACETONA. POLAROGRAFIA CLASICA.

VERTISAL. 0.1380g del medicamento extraidos con acetona recuperados en 50 ml de agua.

Volumen a cuantificar: 0.1ml.

Solución estandar: 0.0029M. 7 adiciones de 0.1ml.

	PRIMERA	SEGUNDA	PROMEDIO
Conc. (uM) :	Ilim(uA) :	Ilim(uA) :	Ilim(uA) :
0 :	0.94 :	0.94 :	0.94 :
29.2 :	1.09 :	1.13 :	1.11 :
58.4 :	1.32 :	1.39 :	1.36 :
87.6 :	1.47 :	1.58 :	1.53 :
116.8 :	1.7 :	1.85 :	1.77 :
146 :	1.88 :	2.07 :	1.98 :
175.2 :	2.14 :	2.3 :	2.22 :
204.4 :	2.41 :	2.56 :	2.49 :

Regression Output:

Constant	0.904167
Std Err of Y Est	0.031085
R Squared	0.997162
No. of Observations	8
Degrees of Freedom	6

X Coefficient(s) 0.007542
Std Err of Coef. 0.000164

Ecuación de la recta: $Ilim = 0.90 + 0.0075(C)$

Concentración de metronidazol en la celda: $C = 0.90 / 0.0075 \mu M = 120.64 \mu M$

Cantidad de metronidazol en la muestra:

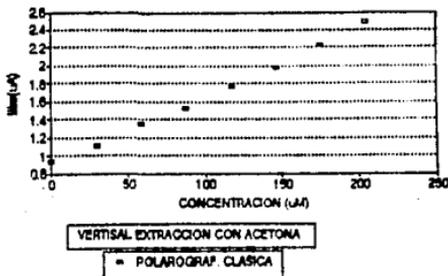
$$X_g = 120.64 \mu M * (10 ml / 0.1 ml) * (1 M / 10^6 \mu M) * (171.16 g/mol) * 0.05 l = 0.1032 g$$

Gramos teóricos de metronidazol:

$$\text{Gramos teóricos} = F * \text{Peso de muestra} = 0.7197 * 0.138 g = 0.0993 g$$

% de metronidazol cuantificado: $(0.1032 / 0.0993) * 100 = 104.13\%$

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR
DE METRONIDAZOL



EXTRACCION CON ACETONA. POLAROGRAFIA CLASICA.

ZIGOTYL. 0.2365g del medicamento extraidos con acetona recuperados en 50 ml de agua.

Volumen a cuantificar: 0.1ml.

Solución estándar: 0.0029M. 7 adiciones de 0.1ml.

	PRIMERA	SEGUNDA	PROMEDIO
Conc. (uM)	Ilim(uA)	Ilim(uA)	Ilim(uA)
0	1.02	0.9	0.96
29.2	1.2	1.09	1.15
58.4	1.43	1.36	1.4
87.6	1.7	1.58	1.64
116.8	2.03	1.88	1.96
146	2.22	2.11	2.17
175.2	2.49	2.49	2.49
204.4	2.71	2.75	2.73

Regression Output:

Constant	0.9075
Std Err of Y Est	0.036204
R Squared	0.997207
No. of Observations	8
Degrees of Freedom	6

X Coefficient(s) 0.008955
Std Err of Coef. 0.000191

Ecuación de la recta: $Ilim = 0.91 + 0.0088(C)$

Concentración de metronidazol en la celda: $C = 0.90 / 0.0088 = 101.84 \mu M$

Cantidad de metronidazol en la muestra:

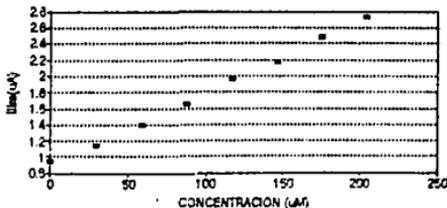
$$X_g = 101.84 \mu M * (10 ml / 0.1 ml) * (1 M / 1E+6 \mu M) * (171.16 g/mol) * 0.051 = 0.0871 g$$

Gramos teóricos de metronidazol:

$$\text{Gramos teóricos} = F * \text{Peso de muestra} = 0.4229 * 0.2365 g = 0.10 g$$

% de metronidazol cuantificado: $(0.0871 / 0.1000) * 100 = 87.15\%$

CURVA DE ADICIONES ESTANDAR
DE METRONIDAZOL



ZIGOTYL EXTRACCION CON ACETONA
■ POLAROGRAF. CLASICA

4.7 influencia del excipiente.

Este experimento tiene el proposito de observar la influencia del excipiente en la polarografia.

Se compara la respuesta las respuestas polarográficas del metronidazol en dos condiciones experimentales. Primero, trabajando con metronidazol puro; segundo, trabajando con una solución del medicamento con metronidazol y excipiente.

Primero. Con una solución estándar de metronidazol de concentración 0.0029M. se trazan curvas de calibración y por regresión lineal se determina la pendiente de la recta.

Segundo. Con la solución del medicamento conteniendo el fármaco y excipiente se trazan los polarogramas y se le efectúan adiciones estándar de la solución patrón. y se obtienen rectas de adiciones estándar y por regresión lineal se obtienen la pendientes.

	PRIMERA	SEGUNDA	PROMEDIO
Conc. (uM)	Ilim(uA)	Ilim(uA)	Ilim(uA)
0	0	0	0
29.2	0.23	0.19	0.21
58.4	0.53	0.53	0.53
87.6	0.79	0.79	0.79
116.8	1.02	1.01	1.05
156	1.36	1.32	1.34
175.2	1.58	1.7	1.64

```
+-----+
|           Regression Output:           |
| Constant                               -0.02167 |
| Std Err of Y Est                       0.044444 |
| R Squared                              0.995343 |
| No. of Observations                    7 |
| Degrees of Freedom                     5 |
|                                           |
| X Coefficient(s) 0.009165 |
| Std Err of Coe*. 0.00029 |
+-----+
```

POLAROGRAFIA CLASICA.

VERTICAL CON EXCIPIENTE.

Solución problema: 0.1000g de medicamento en 50ml. de agua.

Concentración de la solución estándar: 0.0029M.

Volumen de la solución estándar a cuantificar: 0.1ml.

Conc. (uM)	PRIMERA Ilim(uA)	SEGUNDA Ilim(uA)	PROMEDIO Ilim(uA)
0	0.53	0.56	0.545
29.2	0.72	0.79	0.755
58.4	0.9	1.02	0.96
87.6	1.13	1.24	1.185
116.8	1.24	1.39	1.315
146	1.47	1.62	1.545
175.2	1.66	1.88	1.77

```

Regression Output:
Constant                0.5325
Std Err of Y Est
R Squared              0.996884
No. of Observations    7
Degrees of Freedom     5
X Coefficient(s) 0.006397
Std Err of Coef. 0.00016

```

```

-----
Regression Output:
Constant                0.5725
Std Err of Y Est       0.027347
R Squared              0.99709
No. of Observations    7
Degrees of Freedom     5
X Coefficient(s) 0.007325
Std Err of Coef. 0.000177
-----

```

Ecuación de la recta: $I_{lim} = 0.7095uA + (0.0086uA/uM) \cdot C$

Concentración de metronidazol en la celda:

$$C = 0.7095 / 0.0086 = 82.50uM$$

Cantidad de metronidazol en la muestra:

$$X_g = 82.5uM \cdot (10ml / 0.1ml) \cdot (1M / 10^6uM) \cdot (171.16g/mol) \cdot 0.05l = 0.0706g.$$

Gramos teóricos de metronidazol en la muestra:

$$X_g(\text{teóricos}) = 0.7197 \cdot 0.1g = 0.0719g.$$

% metronidazol cuantificado: $67(0.0706g / 0.0719g) \cdot 100 = 98.19\%$

POLAROGRAFIA CLASICA.

ZIGOTYL CON EXCIPIENTE.

Solución problema: 0.2000g $\bar{8}$ medicamento en 50ml. de agua.

Solución estándar: 0.0029M.

Volumen de la solución problema a cuantificar: 0.1ml.

	PRIMERA	SEGUNDA	PROMEDIO
Conc. (μ M)	Ilim (μ A)	Ilim (μ A)	Ilim (μ A)
0	0.79	0.79	0.79
29.2	0.94	0.9	0.92
58.4	1.24	1.13	1.185
87.6	1.51	1.36	1.435
116.8	1.7	1.7	1.7
146	1.92	2.07	1.995
175.2	2.26	2.3	2.28

Regression Output:	
Constant	0.748214
Std Err of Y Est	0.045974
R Squared	0.993697
No. of Observations	7
Degrees of Freedom	5

X Coefficient(s)	0.008354
Std Err of Coef.	0.000298

Regression Output:	
Constant	0.667143
Std Err of Y Est	0.089039
R Squared	0.980334
No. of Observations	7
Degrees of Freedom	5

X Coefficient(s)	0.0091
Std Err of Coef.	0.000576

Ecuación de la reacta: $I_{lim} = 0.83\mu A + (0.0075\mu A/\mu M) \cdot C$

Concentración de metronidazol en la celda:

$$C = 0.83 / 0.0075 = 110.66\mu M.$$

Cantidad de metronidazol en la muestra:

$$X_g = 110.66\mu M \cdot (10ml / 0.1ml) \cdot (1M / 10^6\mu M) \cdot (171.16g/mol) \cdot 0.051 = 0.0861g$$

Gramos teóricos de metronidazol en la muestra:

$$X_g(\text{teóricos}) = 0.4229 \cdot 0.2000g = 0.0845g$$

% metronidazol cuantificado: $(0.0861g / 0.0845) \cdot 100 = 101.90\%$

POLAROGRAFIA CLASICA.
ZIGOTYL CON EXCIPIENTE.

Solución problema: 0.2000g de medicamento en 50ml. de agua.

Solución estándar: 0.0029M.

Volumen de la solución problema a cuantificar: 0.1ml.

Conc. (uM)	1 PRIMERA Ilim(uA)	2 SEGUNDA Ilim(uA)	PROMEDIO Ilim(uA)
0	0.9	0.79	0.845
29.2	1.17	0.94	1.055
58.4	1.39	1.21	1.3
87.6	1.51	1.43	1.47
116.8	1.62	1.66	1.64
146	1.92	1.92	1.92
175.2	2.22	2.22	2.22

```

Regression Output:
|Constant          0.923214 |
|Std Err of Y Est  0.072737 |
|R Squared         0.977634 |
|No. of Observations 7 |
|Degrees of Freedom  5 |
| 116.8 | 1.62 |
|X Coefficient(s)  0.006959 |
|Std Err of Coef.  0.000471 |
  
```

```

-----
Regression Output:
|Constant          0.735 |
|Std Err of Y Est  0.040813 |
|R Squared         0.994832 |
|No. of Observations 7 |
|Degrees of Freedom  5 |
|
|X Coefficient(s)  0.008195 |
|Std Err of Coef.  0.000264 |
  
```

116.8 | 1.62 | 1.66 | 1.64

Ecuacion de la reacta: $Ilim = 0.83uA + (0.0075uA/uM) \cdot C$

Concentración de metronidazol en la celda:

$$C = 0.83 / 0.0075 = 110.66uM.$$

Cantidad de metronidazol en la muestra:

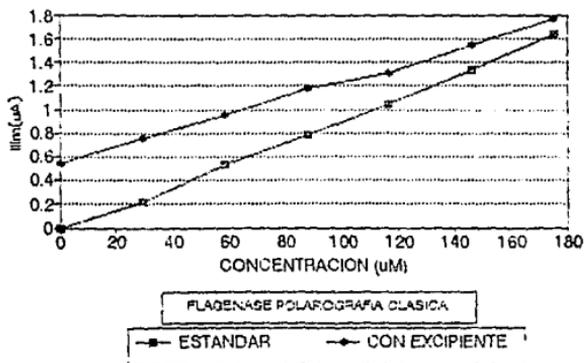
$$Xg = 110.6uM \cdot (10ml / 0.1ml) \cdot (1M / 10^6uM) \cdot (171.16g/mol) \cdot 0.051 = 0.0861g$$

Gramos teóricos de metronidazol en la muestra:

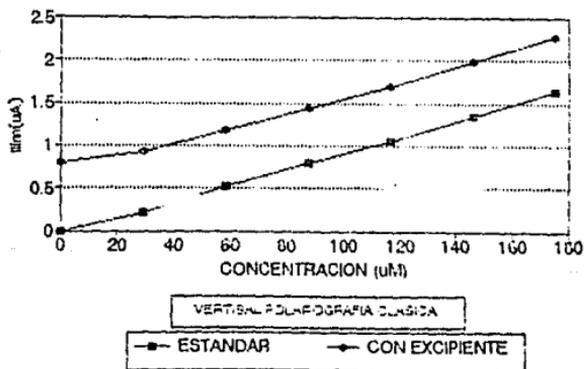
$$Xg(\text{teóricos}) = 0.4229 \cdot 0.2000g = 0.0845g$$

%metronidazol cuantificado: $(0.0861g / 0.0845) \cdot 100 = 101.90\%$

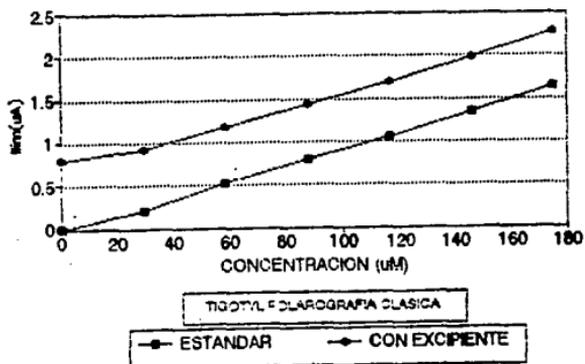
CURVAS DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL



CURVAS DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL



CURVAS DE CALIBRACION DE METRONIDAZOL



Los polarogramas resultantes, muestran las mismas características, para el metronidazol solo y para el metronidazol con excipiente. Se observa que el excipiente no es electroactivo, pues no se detecta alguna reducción u oxidación que no sea la del fármaco. El excipiente no altera el potencial de media onda.

Se procede a verificar si excipiente altera a la corriente límite, para lo cual se comparan las pendientes de las rectas de las curvas de calibración y la de adiciones estándar, es decir, se comparan las pendientes del metronidazol solo y la del metronidazol con excipiente efectuando el cociente (pendiente adiciones estándar/pendiente calibración).

TABLA. RELACION DE LAS PENDIENTES.

MEDICAMENTO	RECTA 1	RECTA 2	PROMEDIO
FLAGENASE 400.	0.7340	0.7765	0.7552
VERTISAL.	0.8829	0.9574	0.9201
ZIGOTYL.	0.7340	0.8723	0.8031

El cociente indica la proporción en que se desvía la curva que contiene excipiente respecto a la que solo contiene metronidazol estándar. Entre más se acerca el valor del cociente a 1.0 menor es la influencia del excipiente.

Los resultados muestran que la presencia del excipiente disminuye la pendiente de la recta para cada medicamento, el porcentaje en que disminuye la pendiente se encuentra en el rango del 8 al 25 % respecto a la pendiente de la recta de calibración.

Del resultado se infiere lo siguiente:

El excipiente provoca una disminución de la corriente límite.

Empleando la técnica de adiciones estándar el excipiente no interfiere en la cuantificación, pues en todas las mediciones se efectúan bajo las mismas condiciones, quedando la influencia del excipiente constante en cada polarograma.

Al poder cuantificar metronidazol en presencia del excipiente mediante polarografía permite que la técnica se simplifique al no tener que efectuar la extracción, implicando un menor tiempo de análisis.

5. CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS.

Los resultados obtenidos en los experimentos apoyan a las siguientes conclusiones.

1. Mediante polarografía es posible reducir al metronidazol en medio acuoso con variados tipos de electrolitos soporte y a varios valores de pH tamponados. Se observa que el potencial de media onda varía en función del pH. También se observa que las reacciones el número de reducciones que sufre el fármaco depende del electrolito soporte y del pH.

2. El mecanismo que siguen las reacciones de reducción es complejo, pero a varios valores de pH se encuentra que hay dependencia proporcional entre la corriente de reducción y la concentración del fármaco.

3. Los medios reaccionales en que hay más linealidad entre la corriente de electrolisis y la concentración, siendo los más indicados para cuantificar al metronidazol, son el buffer de fosfatos $10^{-4} M$, pH=2.0 y el de buffer de boratos $10^{-4} M$ pH=9.2.

4. La extracción con agua del principio activo parece ser mas completa para muestras de medicamento que contengan 100mg. de metronidazol, por lo que podría evitarse el empleo de acetona.

5. Es posible efectuar la cuantificación del metronidazol, en presencia del excipiente mediante la técnica de las adiciones estándar, en los diversos tipos de medicamentos.

6. La polarografía como técnica electroanalítica ofrece ventajas ya mencionadas para cuantificar al metronidazol y es de gran apoyo en el análisis cualitativo para su caracterización.

PERSPECTIVAS.

Este trabajo sirve como punto inicial para efectuar estudios más completos sobre la electroquímica del metronidazol, ya que quedan muchos puntos en blanco sobre este tema, como son: el número de electrones que intracambian y los mecanismos de reacción, de las reacciones electroquímicas.

Caracterizar perfectamente bien si alguna de las pequeñas onda de reducción corresponde a productos de degradación del fármaco y verificar si la polarografía en este caso es un método selectivo de análisis.

Con éste trabajo se establecen los parámetros operacionales para cuantificar al metronidazol, necesarios para que en estudios posteriores se desarrolle una validación del método analítico.

6. BIBLIOGRAFIA.

1. Nuño, M. "Polarografía". Ed. Internacional científica: México, 1979.
2. Almagro Huertas, V. "Polarografía". Ed. Alhambra S.A. Madrid, 1971.
3. Woodson, A.L. "Direct current and alternating current polarographic response of some pharmaceuticals in aprotic organic solvent system." *Analytical chemistry*; 42, (2), (1970), 242-248.
4. Rubin, S.H. "J. pharm. sci." 65:950(1976).
5. Atuma, S.S. "Analyst." (LONDON) 99:683(1974).
6. Cantin, D. "Analysis" 3:241(1975).
7. Patriarche, G. "Anal. Chem." 49:25(1976).
8. O'Feilly, J. "Anal. Chem." 47:1977(1975).
9. Perk, G. "Anal. Lett." 5:887(1972).
10. DeSilva, P. "J. Chromatogr." 99:461(1974).
11. Brooks, M. "Anal. Chim. Acta" 64:165(1973).
12. Guyot-Harman, A. "J. Pharm. Belg." 28(2):507(1973).
13. Pfeiffer, D. "Anal. Lett." 13:1179(1980).
14. Aizawa, M. "Inst. Mater. Sci." 51:105(1980).
15. Van Ort, W. "Anal. Chim. Acta" 149:175(1983).
16. Viré, J. "Electroanal. Chem." 215:275(1986).
17. Cuadro básico de medicamentos del sector salud. Consejo de salubridad general; Mexico 1984. pp.261-262.
18. Charlot, G. "Química analítica general." Tomo II. Toray-Masson S.A.; Barcelona 1975.
19. Baloy, J.T. "J.Chem. Educ." 60(4)(1983), 285-289.
20. Sánchez, B.P. "Química electroanalítica. Fundamentos y aplicaciones." Alhambra; Madrid, 1981. pp.174-182.
21. Arvia, A.J. y Bolzan, J.A. "Polarografía." Programa Regional de Desarrollo Científico y Tecnológico. Organización de los Estados Americanos. Monografía # 13. Washington, 1974.
22. Osteryoung, J. "J.Chem. Educ." 60(4)(1983), 296-298.

23. The Merck Index. 9th Edition. Merck & Co., Inc. Rahway, N.J., 1976. pp. 803.
24. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Quinta edición. Secretaría de Salud. México 1988. 77, 1330-133.
25. Florey, K. (Edit.) "Analytical profiles of drug substances. Vol.5. Academic Press. New York 1973. 328-344.
26. March, J. "Advanced organic chemistry." 3rd Edition. Wiley & Sons. New York, 1985. pp. 1048-1052.
27. Weinberg, N.L. "J.Chem.Educ." 60(4)(1983), 268-271.
28. Vignoli, L. "Chimie Analytique." 45(9)(1963), 439-445.
29. Knox, R.J. "Biochem. Pharm." 32(14)(1983), 2149-2156.
30. Goodman, A.G. y otros. "Las bases farmacológicas de la terapéutica. Séptima edición. Editorial médica panamericana. Buenos Aires 1988. 1006-1009.
31. Recillas, G.S. "Análisis teórico conformacional y estructura electrónica del metronidazol. Tesis de licenciatura. Facultad de química UNAM. 1991.