

Voltamperometría cíclica para metronidazol usando electrodo de pasta de carbono modificado con 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina

Cyclic voltammetry for metronidazole using carbon paste electrode with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin

N. M. González-Solís ^a, D. S. Guzmán-Hernández ^{b,*}, M. T. Ramírez-Silva ^a, J. Juárez-Gómez ^a,
A. Rojas-Hernández ^a

^a Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, Av. Ferrocarril San Rafael Atlixco 186, Leyes de Reforma 1era Sección, Alcaldía Iztapalapa, 09310, Ciudad de México, México.

^b CONACYT-Departamento de Química, Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa, 09310, Ciudad de México, México.

Resumen

Con la finalidad de estudiar y mejorar los parámetros analíticos para la determinación de metronidazol (MTZ) en medio acuoso, en este trabajo se lleva a cabo un estudio de la interacción de MTZ por voltamperometría cíclica (VC) sobre un electrodo de trabajo de pasta de carbono (EPC) modificado por una ciclación periódica con 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (2-Hp- β -CD) a pH 1. Se determinaron el límite de detección (4.47 ± 1.72) μM , el límite de cuantificación (14.91 ± 1.65) μM y la sensibilidad (0.721 ± 0.013) $\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$. Además, se llevó a cabo un estudio utilizando como interferente otro medicamento en el mismo sistema acuoso, la tetraciclina (Tc), demostrando que es posible determinar MTZ en presencia de Tc.

Palabras Clave: metronidazol, 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina, cuantificación, voltamperometría cíclica.

Abstract

In order to study and improve the analytical parameters for the determination of MTZ in aqueous medium, in this work a study of the interaction of MTZ is carried out by cyclic voltammetry on a carbon paste working electrode (EPC) modified by a periodic cyclization with 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin (2-Hp- β -CD) a pH 1. The detection limit was determined (4.47 ± 1.72) μM , limit of quantification (14.91 ± 1.65) μM and sensitivity (0.721 ± 0.013) $\mu\text{A } \mu\text{M}^{-1}$. In addition, a study was carried out using tetracycline (Tc) as an interferent in another drug in the same aqueous system, showing that it is possible to determine MTZ in the presence of Tc.

Keywords: metronidazole, 2-hydroxypropyl- β -cyclodextrin, quantification, cyclic voltammetry.

1. Introducción

El metronidazol también nombrado como 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)-etanol por la IUPAC (ver Figura 1), es un fármaco perteneciente a la familia de los nitroimidazoles reconocido por tener un efecto antibacteriano y antiinflamatorio, utilizado principalmente en el tratamiento para la eliminación de bacterias anaerobias y protozoos (Aboudalle *et al.*, 2021). Así mismo, el MTZ se ha detectado en aguas residuales (0.011 a 0.055 μM) (Johnson y Mehrvar, 2008) sin embargo, la fotosensibilidad de su grupo nitro, su

alta solubilidad en agua, su baja biodegradabilidad y su capacidad mutagénica y cancerígena (Albini y Fasani, 1998), (Vasseghian *et al.*, 2022), (Aboudalle *et al.*, 2021) lo vuelven uno de los contaminantes emergentes más preocupantes.

La 2-hidroxiopropil- β -ciclodextrina (2-Hp- β -CD), ver Figura 2, es un derivado de la β -ciclodextrina, que es más soluble y ampliamente utilizada en el área farmacológica por su capacidad para aumentar la solubilidad de compuestos hidrófobos, dar un mejor sabor y olor a los productos, mayor estabilidad a los fármacos y contar con una toxicidad menor a otras CD (Espinosa y Hernández, 2005).

*Autor para la correspondencia: dsguzman@conacyt.mx

Correo electrónico: maytegs1197@gmail.com (Nancy Mayté González-Solís), dsguzman@conacyt.mx (Dafhe Sarahia Guzmán-Hernández), mtrs218@xanum.uam.mx (María Teresa Ramírez-Silva), el_inge85@gmail.com (Jorge Juárez-Gómez), suemi918@xanum.uam.mx (Alberto Rojas-Hernández).

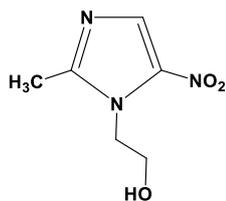


Figura 1: Fórmula desarrollada del metronidazol (MTZ).

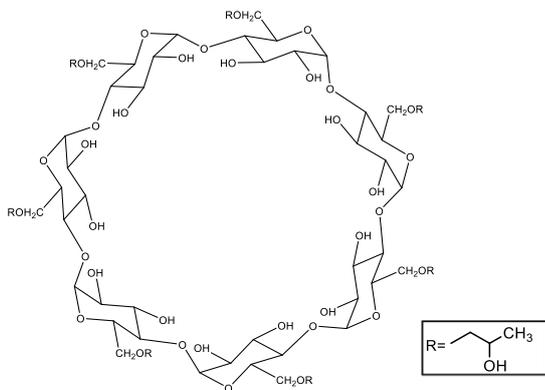


Figura 2: Fórmula desarrollada de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina.

Con la finalidad de estudiar y mejorar los parámetros analíticos para la determinación de MTZ en medio acuoso, en este trabajo se lleva a cabo un estudio de la interacción de MTZ por voltamperometría cíclica sobre un electrodo de trabajo de pasta de carbono modificado con una membrana polimérica de 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina, además, se llevó a cabo un estudio de interferencia utilizando como interferente un antibiótico en el mismo sistema acuoso, la tetraciclina (Tc), demostrando que es posible determinar MTZ en presencia de Tc.

2. Experimental

Todas las soluciones se prepararon con reactivos de grado analítico y agua desionizada. Metronidazol (Sigma Aldrich), 2-hidroxipropil-β-ciclodextrina (Sigma Aldrich), ácido perclórico (J.T.Baker). Las soluciones se mantuvieron en una atmósfera inerte de N₂ a una temperatura constante de 25 °C, asimismo, se evitó que las soluciones tuvieran incidencia de luz.

El análisis por voltamperometría cíclica (VC) se llevó a cabo en un potenciostato Ivium Bassi en una celda típica de tres electrodos. Como electrodo de trabajo se utilizó un electrodo de pasta de carbono con un área geométrica de 0.071 cm². (Ramírez *et al.*, 1995), (Martínez *et al.*, 1998), un electrodo de referencia de Ag/AgCl saturado (solución de KCl) y como electrodo auxiliar un alambre de platino. Se utilizó agua desionizada de un equipo Milli-Q (Millipore) con resistividad de 18.0 MΩ·cm.

3. Resultados y discusión

En la literatura se encuentra reportado por Vöölgy *et al.* (2007) que el MTZ tiene un pKa de 2.50 en una mezcla de

metanol-agua 15:65 en volumen. A pesar de que no determinan del pKa en solución acuosa, en la figura 3, se presenta el diagrama lineal de zonas de predominio para las distintas especies de MTZ construido a partir del pKa reportado en ese trabajo siguiendo la metodología de Rojas y González (1986).

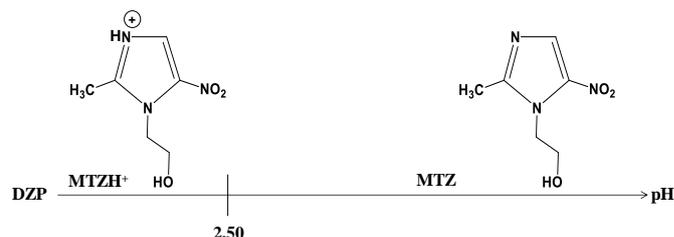
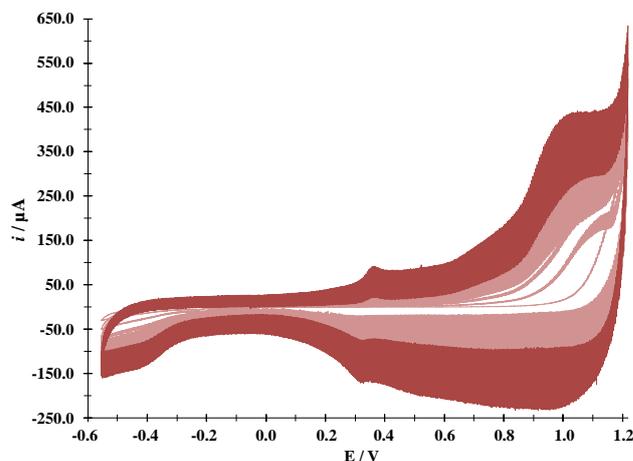


Figura 3: Diagrama de zonas de predominio lineal en función del pH para el metronidazol.

Como se puede observar en la figura 3 a pH 1 predomina la especie protonada de MTZ y a pH 7 predomina la especie neutra de MTZ por lo que para asegurar el predominio de la especie de MTZH⁺ en medio acuoso se trabaja a pH 1.

Se polimeriza una membrana de 2-Hp-β-CD a partir de una solución acuosa de concentración 1×10⁻² M en 2-Hp-β-CD en HClO₄ 1M sobre un electrodo de trabajo de EPC vs Ag/AgCl (ver Figura 4). Se inició el barrido de potencial en dirección anódica en una ventana de potencial de 1.2 V a -0.55 V y a una velocidad de barrido de 0.1 Vs⁻¹ por 30 ciclos.

Figura 4: Treinta ciclos de VC que ponen en evidencia la polimerización de la membrana de 2-Hp-β-CD sobre un EPC vs Ag/AgCl a 0.1 V·s⁻¹ en HClO₄ 1M. El barrido del potencial se inició en sentido anódico.

3.1. Cuantificación de MTZ sobre una membrana de 2-Hp-β-CD

Se caracterizó el metronidazol por VC sobre un EPC modificado con la membrana de 2-Hp-β-CD y se observó que presenta una señal de reducción en aproximadamente -0.34 V (ver fig. 5 (b)), mientras que sobre un EPC sin modificar se presenta un pico catódico en -0.44 V (ver fig. 5 (a)). La señal obtenida sobre el EPC modificado con 2-Hp-β-CD en comparación con la señal obtenida en el EPC sin modificar, incluso comparada con la señal obtenida por Roa *et al.* quienes cuantificaron MTZ por voltamperometría diferencial de pulso sobre un EPC modificado con α-ciclodextrina (α-CD) (Roa *et al.*, 2016), encontramos que la señal del pico de reducción del MTZ se recorre a potenciales más positivos utilizando el EPC

modificado con 2-Hp-β-CD, lo que podría indicar que la membrana de 2-Hp-β-CD sobre el EPC acelera la transferencia de electrones del MTZ hacia el electrodo. Más aún, se puede observar en la figura 5 (a) que la corriente del pico catódico para MTZ 141.23 μM apenas alcanza los -30 μA, mientras que en la figura 5 (b) es posible observar que con el EPC modificado con 2-Hp-β-CD, esta corriente ya se alcanzó con MTZ 73.12 μM, lo que indica que la membrana de 2-Hp-β-CD ayuda a mejorar la detección del fármaco.

Siguiendo el protocolo para validar un método de cuantificación (Oliveri y Allegrini, 2014), se obtuvieron los parámetros de desempeño analítico de cuantificación de MTZ. En la figura 5 (b) se muestra una familia de voltamperogramas cíclicos a diferentes concentraciones de MTZ sobre un EPC modificado con una membrana de 2-Hp-β-CD a pH 1. Se inicia el barrido de potencial en dirección anódica en una ventana de 0.6 V a -0.5 V, en todos los casos el barrido de potencial se inició en 0.2 V en la región de corriente nula y a una velocidad de 0.1 V·s⁻¹.

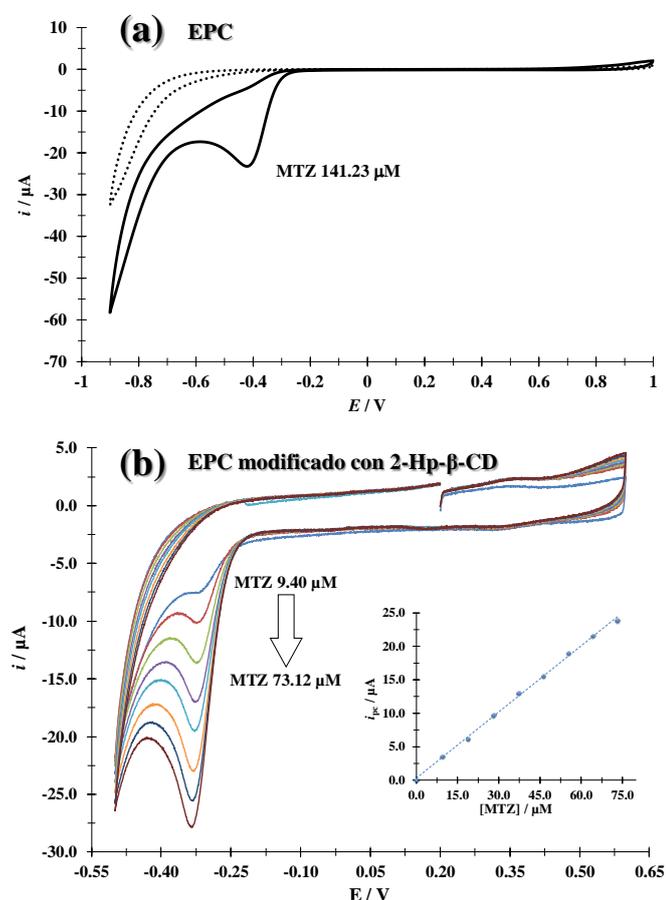


Figura 5: (a) Línea negra continua VC de MTZ 141.23 μM sobre un EPC vs Ag/AgCl a pH 1 y línea punteada VC sobre un EPC vs Ag/AgCl de HClO₄ pH1. (b) Familia de VC's de MTZ a diferentes concentraciones mostradas en la figura sobre un EPC modificado con 2-Hp-β-CD vs Ag/AgCl a pH 1. El inserto presenta $i_{pc} = f [MTZ]$. Todos VC's iniciaron el barrido de potencial en sentido anódico a 0.1 V·s⁻¹.

Siguiendo la corriente de pico catódico de la Figura 5 (b), se obtuvo la curva de calibración para MTZ a pH 1. En el inserto de la figura 5 (b) se muestra la curva de calibración con ecuación $i_{pc} = (0.3301 \pm 0.0052) \mu A \mu M^{-1} [MTZ] + (0.29 \pm 0.23) \mu A$ y con un coeficiente de correlación de $R^2=0.997$.

Se determinaron los parámetros de desempeño analítico de cuantificación, asociados a la curva de calibración (Oliveri y Allegrini, 2014), los cuales se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1: Parámetros de desempeño analítico de cuantificación de MTZ sobre el EPC modificado con una membrana de 2-Hp-β-CD.

Sensibilidad	$(0.3301 \pm 0.0052) \mu A \mu M^{-1}$
Límite de detección (LD)	$(3.38 \pm 1.30) \mu M$
Límite de cuantificación (LC)	$(11.27 \pm 1.25) \mu M$

3.2. Estudio de interferencia de MTZ con tetraciclina sobre un EPC modificado con 2-Hp-β-CD

Se llevó a cabo un estudio de interferencia, utilizando como interferente un antibiótico, tetraciclina (Tc). Se obtuvo el voltamperograma cíclico a pH 1 de MTZ con EPC modificado con 2-Hp-β-CD en presencia de la Tc; se inició el barrido de potencial en un potencial de corriente nula de 0.2 V en dirección catódica en una ventana de potencial de 0.6 V a 0.8 V a una velocidad de barrido de 0.1 V·s⁻¹. En la Figura 6 se observa el voltamperograma de MTZ 46.65 μM sobre el EPC modificado (en línea punteada negra) y el voltamperograma de MTZ en presencia de Tc 43.79 μM, es posible observar que la presencia de Tc en el sistema no presenta interferencia con la señal del MTZ.

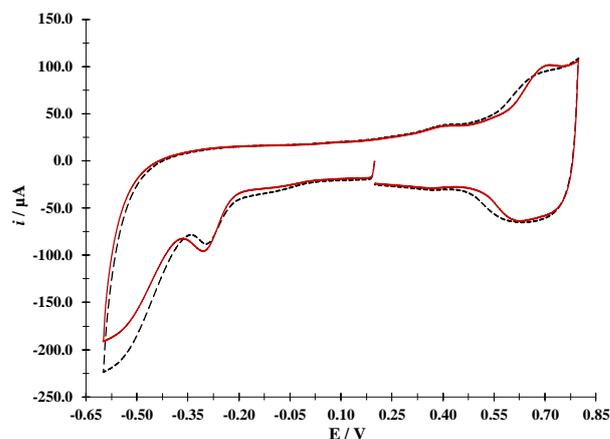


Figura 6: VC en sentido catódico de MTZ 46.65 μM sobre un EPC modificado con 2-Hp-β-CD (línea punteada negra) y VC en sentido catódico de Tc 43.79 μM sobre el sistema de MTZ en interacción con el electrodo modificado (línea continua roja) a pH 1. Todos los VC se tomaron vs Ag/AgCl a 0.1 V·s⁻¹.

3.3. Comparando datos

En la Tabla 2 se presentan los datos de límite de detección (LD) obtenidos en este trabajo junto con datos reportados en la literatura para la determinación de MTZ en diversos medios; al comparar estos datos se aprecia que el análisis realizado por VC presenta un LD más bajo que el que se encuentra reportado por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), sin embargo, el uso de electrodos más sofisticados o con diferentes modificaciones puede suponer una mejoría al límite de detección del MTZ. Así mismo, el LD obtenido en este trabajo presenta un valor más alto que el reportado para desactivación fluorescente y espectrofotometría de movilidad iónica, sin

embrago, los resultados obtenidos por VC muestran que es una técnica viable y de mayor accesibilidad.

Tabla 2: Límites de detección del análisis químico experimental para MTZ.

Método	MTZ en medio:	LD / $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$	Ref.
Voltamperometría Cíclica / EPC modificado con 2-Hp- β -CD	HClO ₄	0.57 ± 0.22	En este trabajo
Voltamperometría de pulso diferencial/ EPC modificado con α -CD	HClO ₄	0.0479 ± 0.0034	(Roa <i>et al.</i> , 2016)
Voltamperometría Cíclica / GCE* modificado con MWNT***	Buffer Britton-Robinson	0.00107 ± NR**	(Lú <i>et al.</i> , 2003)
Espectrofotometría de movilidad iónica	Polímero impreso de ácido metacrílico, dimetacrilato de etilenglicol y 2,2'-azobis(2-isobutironitrilo) y metanol	0.01 ± NR**	(Jafari <i>et al.</i> , 2009)
Desactivación fluorescente	Mezcla Buffer B-R, 3-fenil-N-[4-(10,15,20-trifenil-porfirina-5-il)-fenil]-acrilamida (TPPCA)	0.004 ± NR**	(Wang <i>et al.</i> , 2009)
HPLC	Metanol-agua-ácido fosfórico (30:70:0.20 v/v)	0.9 ± NR**	(Erk <i>et al.</i> , 2009)

* GCE: electrodo de carbón vítreo, por sus siglas en inglés

** NR: no reportado.

*** MWNT: nanotubos de carbono multipared, por sus siglas en inglés

4. Conclusiones

La metodología propuesta por VC para la modificación de un EPC con 2-Hp- β -CD a pH 1 mostró una buena respuesta para el análisis y determinación de MTZ en medio acuoso, con ello se logró obtener los valores de desempeño analítico del mismo, mostrando una linealidad relativamente amplia y un límite de detección y de cuantificación de MTZ competitivos con otras metodologías. Además, se comprobó que la señal del fármaco no se ve afectada por la presencia de otro antibiótico (Tc). La modificación de un EPC con 2-Hp- β -CD en voltamperometría cíclica muestra ser un método viable para la determinación de MTZ con la ventaja de ser más económico y que no representa el uso de agentes dañinos al medio ambiente.

Al no contar con normas oficiales para la determinación y cuantificación de las cantidades permisibles de fármacos en distintos tipos de aguas mexicanas, no es posible determinar si

los parámetros de desempeño analítico obtenidos en este trabajo cumplen con algún estándar establecido; sin embargo, sí cumplen con los parámetros establecidos por la USP 30 (United States Pharmacopeial Convention, 2007) para su determinación en fármacos en medio acuoso.

Agradecimientos

DSGH y MTRS agradecen a CONACYT por la cátedra 2159. NMGS agradece el apoyo brindado por el área de Química Analítica de la UAM-I. MTRS, DSGH, JJG, y ARH agradecen al SNI por la distinción otorgada. MTRS agradece a la DCBI de la UAM-Iztapalapa por el año sabático otorgado.

Referencias

- Aboudalle, A., Djelal, H., Domergue, L., Fourcade, F., Amrane, A., (2021). A novel system coupling an electro-Fenton process and an advanced biological process to remove a pharmaceutical compound, metronidazole. *Journal of Hazardous Materials*, 415, 125705.
- Albini, A., Fasani, E., (1998). *Drugs, Photochemistry and Photostability*. Royal Society of Chemistry, Great Britain, pp. 33.
- Erk, N., Altun, M.L., (2000). Spectrophotometric resolution of metronidazole and miconazole nitrate in ovules using ratio spectra derivative spectrophotometry and RP-LC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 25, 116.
- Espinosa, B., Hernández, G., (2005). Formación, evaluación y caracterización del complejo de inclusión piroxicam/hidroxipropil- β -ciclodextrina. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 36, 19.
- Jafari, M.T., Rezaei, B., Zaker, B., (2009). Ion Mobility Spectrometry as a Detector for Molecular Imprinted Polymer Separation and Metronidazole Determination in Pharmaceutical and Human Serum Samples. *Analytical Chemistry*, 81, 3585.
- Johnson, M. B., Mehrvar, M. (2008). Aqueous Metronidazole Degradation by UV/H₂O₂ Process in Single-and Multi-Lamp Tubular Photoreactors: Kinetics and Reactor Design. *Industrial and Engineering Chemistry Research*, 47, 6525.
- Lú, S., Wu, K., Dang, X., Hu, S. (2003). Electrochemical reduction and voltammetric determination of metronidazole at a nanomaterial thin film coated glassy carbon electrode. *Talanta*, 63, 656.
- Martínez, R., Ramírez, M. T., González, I., (1998). Voltammetric Characterization of Carbon Paste Electrodes with a Nonconducting Binder. Part I: Evidence of the Influence of Electroactive Species Dissolution into the Paste on the Voltammetric Response. *Electroanalysis*, 10, 336.
- Oliveri, A.C., Allegrini, F., (2014). IUPAC-Consistent Approach to the Limit of Detection in Partial Least-Squares Calibration. *Anal. Chem.*, 86, 7858.
- Ramírez, M. T., Palomar, M. E., González, I., Rojas-Hernández, A., (1995). Carbon paste electrodes with electrolytic binder: Influence of the preparation method. *Electroanalysis*, 7, 184.
- Roa, G., Hernández, A., Reyes, H., Balderas, P., Barrera, C., Bernabé, M., (2016). Voltammetric Determination of Metronidazole Using a Sensor Based on Electropolymerization of aCyclodextrin over a Carbon Paste Electrode. *Electroanalysis*, 28, 708.
- Rojas, A., González, I., (1986). Relationship of two-dimensional predominance-zone diagrams with conditional constants for complexation equilibria. *Analytica Chimica Acta*, 187, 279.
- United States Pharmacopeial Convention, (2007). *Farmacopea de los Estados Unidos de América*, Rockville, USA.
- Vasseghian, Y., Dragoi, E.-N., Almomani, F., Le, V.T., (2022). Graphene-based materials for metronidazole degradation: A comprehensive review. *Chemosphere* 286, 131727.
- Völgyi, G., Ruiz, R., Box, K., Comer, J., Bosch, E., Takács-Novák, K., (2007). Potentiometric and spectrophotometric pKa determination of water-insoluble compounds: Validation study in a new cosolvent system. *Analytica Chimica Acta.*, 583, 418.
- Wang, X., Zhang, S., Zhao B., (2020). Determination of ultratrace amounts of metronidazole by 3-phenyl-N-[4-(10,15,20-triphenyl-porphyrin-5-yl)-phenyl]-acrylamide as the fluorescence spectral probe in CTAB microemulsion. *Spectrochimica Acta Part A. Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 227, 117699.