



DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

LICENCIATURA EN QUÍMICA FARMACÉUTICA BIOLÓGICA

SERVICIO SOCIAL

**OBTENCIÓN DE METABOLITOS DE
METRONIDAZOL POR VÍA ELECTROQUÍMICA**

DOCENTES:

DRA. GEORGINA ALARCÓN ÁNGELES

DR. MARTÍN GÓMEZ HERNÁNDEZ

INTEGRANTE:

JOSÉ ÁNGEL MARTÍNEZ

MATRICULA: 2163066306



INDICE

Tabla de contenido

I. Introducción.....	1
II. Marco Teórico.....	2
II.1 Metronidazol.....	2
II.3 Farmacocinética del Metronidazol.....	4
II.4 Metabolitos del Metronidazol	6
II.5 Importancia y utilidad de la Electroquímica	8
II.5 Tecnicas de analisis electroquimico para la produccion de metabolitos	10
A) Electrolisis.....	10
B) Electrolisis a potencial controlado en una celda con tres electrodos.....	13
C) Voltametría.....	14
D) Voltamperometría Diferencial de Pulso.....	15
E) Voltamperometría cíclica	17
F) Cronoamperometría de impulso de potencial	18
II.6 Parámetros experimentales que afectan las mediciones electroquímicas	18
II.7 Parámetros experimentales para la electrolisis del metronidazol.....	22
III. Objetivos.....	24
III.1 Objetivo General	24
III.2 Objetivos particulares.....	24
IV. Estrategia para la obtención de metabolitos de metronidazol por reducción electroquímica.....	24
IV.1 Material y Reactivos	24
IV.2 Metodología.....	26
V. Resultados	29
VI. Conclusión	29
VII. BIBLIOGRAFÍA	31

I. Introducción

La obtención de metabolitos de un fármaco mediante procesos de transformación biológica (por ejemplo: hongos, levaduras, células de tejido animal, entre otros) implica una gran cantidad de tiempo y de recursos, además es un proceso que puede conllevar algunas complicaciones, otro asunto impactante es que se utiliza ciertos solventes perjudiciales al medio ambiente y al final del proceso la extracción o purificación del metabolito es un proceso largo, debido a los otros metabolitos no deseados que se pueden secretar por los mismos microorganismos implicados en la transformación biológica del fármaco (Martínez, 2004).

Por las razones mencionadas anteriormente, el objetivo de este proyecto es buscar una alternativa al método biológico mediante técnicas electroquímicas que generarán el metabolito de metronidazol de una manera más rápida y eficiente.

Después del proceso de transformación del metronidazol por electroquímica, se debe proceder a verificar el rendimiento de la reacción y conocer los productos secundarios generados a partir de este método de oxidación-reducción, dichos productos y sus respectivas cantidades se pueden analizar por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).

Con esta perspectiva, en este trabajo se realizará una búsqueda bibliográfica que permite plantear una metodología para la producción de metabolitos de metronidazol vía electroquímica para su posterior identificación y cuantificación de metabolitos por HPLC.

II. Marco Teórico

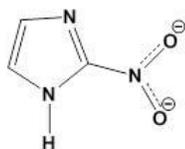
II.1 Metronidazol

Los nitroimidazoles son importantes compuestos heterocíclicos nitrogenados, que han sido reportados con numerosas actividades microbiológicas, tales como: antimicrobianos, anticancerígenos, antiprotozarias, antiviral, antiséptico, anti-gingival, antioxidante, antiinflamatorio, antiplasmodial y antimicobacteriano (Ang, 2017).

Dentro de los compuestos nitrimidazoles, se destaca la azomicina (2-nitroimidazol), producido por los filos Actinobacteria (*Streptomyces eurocidicus* y *Nocardia mesentérica*) y Proteobacteria (*Pseudomonas fluorescences*), considerando que fue el único antibiótico a base de nitroimidazol aprobado (Anderson, 2012).

Posteriormente, la azomicina se utilizó como precursor sintético clave para el desarrollo de muchos principios activos basados en nitroimidazol (donde el hidrogeno de la amina secundaria, como se muestra en la figura 1 es intercambiado por otros grupos funcionales y la adición de un grupo metil en el carbono 5) dentro de los principios activos derivados de la azomicina desarrollados se encuentran metronidazol, tinidazol, ornidazol, satranidazol, benzinidazol, pretomanida, delamanida, megazol, y fexinidazol. Estos agentes son destinados para el tratamiento de infecciones causadas por bacterias resistentes a los medicamentos, tuberculosis, infecciones por y leishmaniasis visceral (Kannigadu, 2020).

Figura 1. Estructura química de la Azomicina. (Lopeztricas, 2013)



AZOMICINA
Nitroimidazol
 $C_3H_3N_3O_2^{2-}$ (113,08g/mol)

El fármaco Metronidazol (2-metil-5-nitroimidazol) es un derivado sintético de la azomicina (en el cual el hidrógeno del grupo amina es sustituido por un etanol, como

es mostrado en la figura 2), con potentes actividades bactericidas y antiparasitarias (Maeda, 1953). Este principio activo también se ha utilizado en el tratamiento contra infecciones protozoarias y bacterias microaerófilas (Vasseghian, 2021). Ha sido sobresaliente de los otros derivados de la azomicina por sus ventajas como su disponibilidad en formas farmacéuticas orales e intravenosas, su rápida actuación bactericida, su buena penetración en los tejidos, poseer un porcentaje considerablemente menor de inducir colitis y su bajo costo de producción (Freeman, 1997).

El Metronidazol es un principio activo lipofílico, es un fármaco básico débil con propiedades básicas débiles, teniendo un pKa igual 2.62 (Jewell, 2007). Se exhibe como polvo cristalino blanco o amarillo, tiene un punto de fusión entre 159° a 163° C, es soluble en varios solventes a 25° C, (Wearley, 1984).

Tabla 1. Solubilidad de Metronidazol en diferentes solventes en mg/ml.

SOLVENTES	SOLUBILIDAD
Agua	10.5 mg/ml
Metanol	32.5 mg/ml
Etanol	15.4 mg/ml
Cloroformo	3.8 mg/ml
Heptano	<0.01 mg/ml

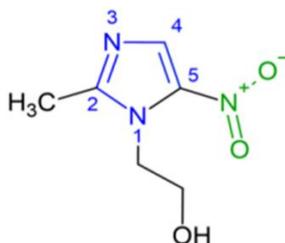
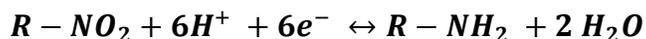


Figura 2. Estructura química del Metronidazol (Camarero, 2020)

II.2 Farmacodinamia del Metronidazol

El Metronidazol (MTZ) es un profármaco, es decir, se encuentra inactivo dentro del organismo hasta que se metaboliza dentro de los organismos susceptibles (bacterias, parásitos, entre otros) su mecanismo de acción como antibiótico y antiparasitario se activa cuando se reduce el grupo nitro (-NO₂), postulándose que su mecanismo de acción es a través de la eliminación del potencial reductor en los organelos de los microorganismos susceptibles (Müller, 1983). En este caso el potencial redox se refiere a la factibilidad de los procesos de oxidación y reducción mediante la transferencia de electrones.

La reducción del grupo nitro del metronidazol ocurre por dos vías. La activación reductora del grupo nitro puede provocar la activación del metronidazol, lo que da como resultado la fragmentación y la citotoxicidad del imidazol (reducción parcial del grupo nitro). Alternativamente, puede ocurrir la reducción del grupo nitro al derivado amino no tóxico ("inactivación reductora", con transferencia de 6 electrones). La inactivación reductora de metronidazol al derivado amino estable y no tóxico es insensible al oxígeno, esta vía de reducción del Metronidazol resulta en un mecanismo de resistencia (Roldan, 2008). Se ha propuesto que la vía de activación reductora es citotóxica, debido a que el Metronidazol actúa como un aceptor de electrones alternativo, inhibiendo la fuerza motriz del protón y disminuyendo la producción de ATP (Church, 1988).



II.3 Farmacocinética del Metronidazol

El MTZ puede ser introducido al cuerpo humano por diversas vías: oral, intravenosa, tópica, vaginal y rectal, la primera opción siendo la más empleada clínicamente. El principio activo se absorbe rápidamente y es distribuido ampliamente por todo el cuerpo cuando es administrado en dosis orales de 250 o 500 mg, exhibiendo una biodisponibilidad excepcional del 90% (Bergan, 1980).

El Metronidazol se absorbe rápidamente en los seres humanos, principalmente ingresando al tracto gastrointestinal a través de la mucosa, en lugar de a través de la circulación entero hepática. Las mayores concentraciones de Metronidazol se encuentran en el hígado, la vejiga, los riñones, la vagina, y el tracto gastrointestinal (Ings, 1975).

La principal ruta de biotransformación del Metronidazol dentro de la anatomía humana es el metabolismo oxidativo, donde se efectúa en el hígado, el cual se encarga de la mayoría de las reacciones de la biotransformación. Las transformaciones principales que se dan en la estructura del principio activo son sobre sus cadenas alifáticas, implicando reacciones de la fase I (oxidaciones e hidroxilaciones) y de la fase II (conjugaciones) del metabolismo, que finalmente dan origen a las formas metabólicas hidroxilada, acetilada y metabolitos conjugados con glucurónidos (Heisterberg, 1983).

Cabe señalar que uno de los productos de la biotransformación del Metronidazol, el metabolito hidroxilado, presenta una actividad antimicrobiana destacable, aunque menor al del Metronidazol, este metabolito presenta entre un 30%-65% de la actividad reportada (Pavicic, 1992).

El Metronidazol es eliminado principalmente por vía renal, su mayoría en forma de productos metabólicos y en menor grado como su forma parental. El metabolito hidroxilado (1-(2-hidroxietil)-hidroximetil-5-nitroimidazol) y metabolito acetilado o metabolito de ácido acético (1-(2-hidroxietil)-2-carboxil-5-nitroimidazol); son los más manifestados en la orina, representando entre el 80%-90% de los metabolitos totales detectados en la orina, mientras que un 6%-18% le pertenece al Metronidazol sin modificación alguna (Heisterberg, 1983).

El Metronidazol puede también ser encontrado en otros fluidos corporales incluyendo fluidos seminales y vaginales, bilis, saliva y en leche materna donde la vida media es de 9 horas aproximadamente (Bendesky, 2002).

II.4 Metabolitos del Metronidazol

Metabolismo Oxidativo. El citocromo P450, a través de la oxidación y glucuronidación (es decir, por metabolismo), genera 5 metabolitos principales del Metronidazol, entre ellos el señalado metabolito hidroxilado y el metabolito acetilado del Metronidazol (Bennett, 2020). La excreción de estos metabolitos 2-hidroximetilo (metabolito V de la figura 3) y 2- carboxilo (metabolito V de la figura 3) como principales productos urinario del Metronidazol indica que el grupo 2-metilo del Metronidazol está fácilmente disponible para la oxidación dentro del citocromo. El siguiente grupo que aparentemente se oxida fácilmente es el grupo hidroxietilo, dando lugar al metabolito 1-ácido acético-2-metil-5-nitroimidazol (metabolito III de la figura 3). Los 2 metabolitos restantes resultan de una hidrólisis del Metronidazol y del metabolito hidroxilado del Metronidazol dando origen a sus formas glucurónidos de ambos (metabolitos I y II de la figura 3), se evidencia en la figura 3 los 5 metabolitos generados cuando el Metronidazol sufre de un metabolismo oxidativo (Stambaugh, 1968).

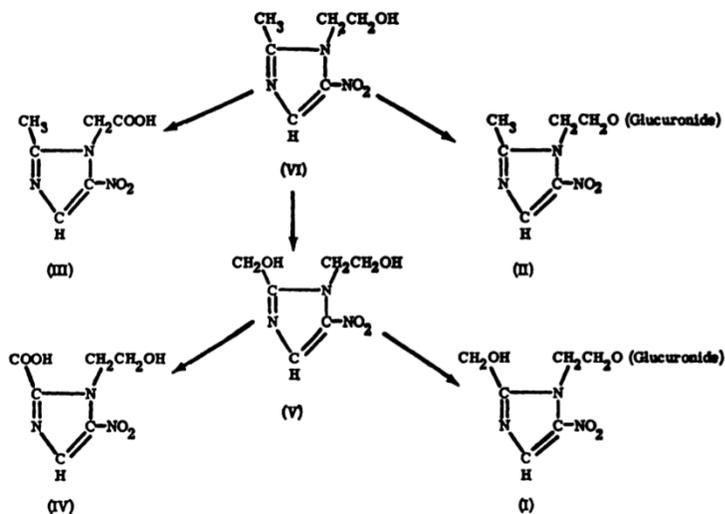


Figura 3. Vías propuestas para el metabolismo del Metronidazol en el hombre. VI, Metronidazol; V, 1-(2-hidroxietil)-hidroximetil-5-nitroimidazol; IV, 1-(2-hidroxietil)-2-carboxil-5-nitroimidazol; III, 1-ácido acético-2-metil-5-nitroimidazol; II, Glucurónido del Metronidazol y I, Glucurónido del metabolito hidroxilado (1-(2-hidroxietil)-hidroximetil-5-nitroimidazol) (Stambaugh, 1968).

El metabolismo biorreductivo del Metronidazol le brinda la oportunidad de actuar como profármaco. La reducción metabólica del Metronidazol se produce a través de dos vías: 1. inactivación reductora (6 electrones), lo que da lugar al derivado 5-amino inactivo y 2. activación reductora, que da lugar a la reducción del grupo nitro, que da lugar a la escisión del anillo de imidazol dando lugar a la acetamida y un derivado del ácido oxámico, las 2 rutas biorreductoras se muestran en la figura 4 (Dingsdag, 2018). La inactivación reductora procede a través de la reducción del grupo nitro al derivado amino no tóxico, un proceso insensible al oxígeno que ocurre en pasos de dos electrones con un total de seis electrones consumidos (Roldan, 2008). La alternativa más esencial es la activación reductora del grupo nitro que conduce a la activación del Metronidazol a través de la fragmentación del imidazol que media la citotoxicidad. Este proceso comienza con la formación de un anión radical nitro, capaz de conducir a la generación de especies reactivas de oxígeno y daño oxidativo a la célula. Se propone que ocurre en una serie de pasos de uno y dos electrones que conducen a la fisión del anillo, formando derivados citotóxicos (acetamida y un ácido oxámico)(Church, 1988).

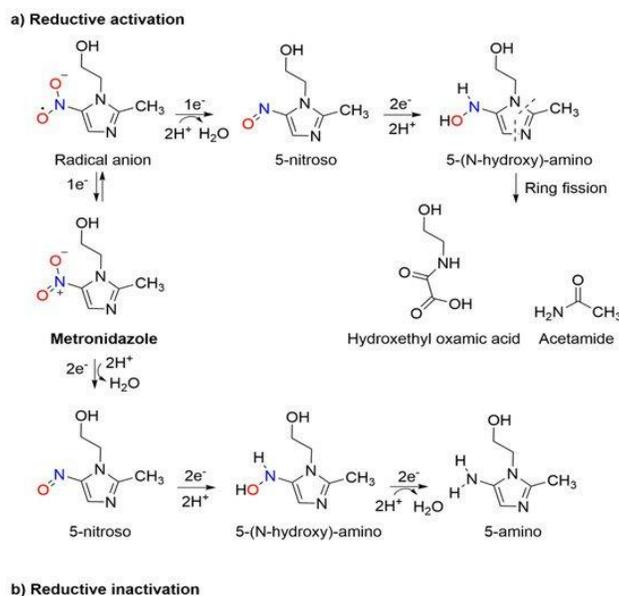


Figura 4. Dos rutas del metabolismo reductivo del Metronidazol: (a) activación reductora y (b) inactivación reductora (Dingsdag, 2018).

II.5 Importancia y utilidad de la Electroquímica

Una rama importante de la Química analítica es la electroquímica, que utiliza medidas eléctricas de corriente y/o potencial eléctrico controlado con fines analíticos, por ejemplo, se puede medir los neurotransmisores de una sola célula (Harris, 2016). La electroquímica analiza las alteraciones químicas inducidas por la corriente directa (reacción de oxidación y/o reducción), e inversamente, estudia la producción de corriente directa como consecuencia de una reacción química (pilas) (Robbins, 1978). Otra aplicación de la electroquímica es el estudio de los fenómenos físicos y químicos que ocurren durante la transferencia de carga en la interfase electrodo-solución (Menosalina, 2004). Actualmente la electroquímica es una alternativa para la síntesis química orgánica tradicional, se pueden reemplazar los reactivos químicos convencionales por la corriente eléctrica, que resulta como un reactivo más eficiente y ecológico (Rafiee, 2007). Un propósito de los profesionales químicos es utilizar la menor cantidad posible de reactivos con capacidad contaminante y por ello, el uso de fuentes renovables de reactivos ha cobrado cada vez más importancia (Mohle, 2018).

Al medir la corriente y el voltaje en un circuito eléctrico donde los electrones están en movimiento debido a una reacción química se puede recopilar información sobre la transferencia de electrones en la reacción, así como energía liberada o consumida. La corriente eléctrica en una celda electroquímica es proporcional a la velocidad de la reacción. El voltaje es proporcional a la variación de la energía libre de la reacción electroquímica. Existen técnicas para medir el voltaje de la celda (potenciometría), técnicas para medir la corriente (voltamperometría) y de ese modo identificar y cuantificar las sustancias que reaccionan (Harris, 2016).

Las técnicas electroquímicas tienen ventajas que les hacen una opción atractiva para el análisis farmacéutico, a partir de técnicas analíticas con características de la simplicidad instrumental, el costo moderado y la portabilidad (Nigovic, 2003). Las técnicas generan métodos prometedores para aplicaciones específicas, debido a la semejanza que existe entre las reacciones electroquímicas y las reacciones biológicas, se puede suponer que los mecanismos de oxidación / reducción que

tienen lugar en el electrodo y en el cuerpo comparten principios similares (Jain, 2006).

Las técnicas electroquímicas se pueden clasificar dependiendo de la variable que se aplica al electrodo de trabajo, concentración, tiempo, corriente y potencial. Cuando un potencial es aplicado al electrodo, la corriente eléctrica resultante es la señal analítica, esta técnica se conoce como método voltamperometría a potencial controlado (método potencioestático); y a la inversa, es decir, cuando se aplican modificaciones a la corriente eléctrica la variable respuesta es el potencial del electrodo (potenciometría).

Las moléculas biológicamente importantes, que pueden experimentar procesos de oxidación o reducción se pueden analizar de manera electroanalítica por voltamperometría para determinar la molécula a partir de los valores de la corriente y de los potenciales. Otra aplicación de la electroquímica incluye la determinación de reacción en la interfase del electrodo. Las reacciones reducción-oxidación de los medicamentos generan productos que permiten proponer una idea de su destino metabólico en procesos redox in vivo o de su actividad farmacológica (Wang, 1988).

En la interfase electroquímica, la corriente eléctrica suministra la fuerza electromotriz necesaria para desencadenar una serie de reacciones químicas, destacando entre ellas:

1. Reacciones de ruptura molecular
2. Reacciones de oxidación – reducción
3. Adsorción química y electroquímica
4. Separación y ruptura de emulsiones y aceites

Además, las técnicas electroanalíticas han demostrado ser excelentes para la determinación de compuestos farmacéuticos. Muchos de los componentes activos de las formulaciones, en contraste con los excipientes, se pueden oxidar fácilmente. La selectividad de un método electroquímico es normalmente excelente porque el análisis se puede identificar fácilmente por su potencial de pico voltamétrico (Lvovich,

2006). Al seleccionar con precisión una corriente o potencial, los químicos pueden elegir que ocurra una reacción de transferencia de electrones específica en presencia de varios grupos funcionales reactivos y hacerlo con control sobre la velocidad de reacción. Estas características hacen de la electroquímica una estrategia atractiva para descubrir transformaciones químicas fundamentalmente nuevas y promover una síntesis ecológica y eficiente (Song, 2020).

El uso de las técnicas electroquímicas experimentales en el campo del análisis de medicamentos se debe a su simplicidad, bajo costo y tiempo de análisis relativamente corto en comparación con otras técnicas. El uso de varios electrodos: mercurio (Ambrosi, 2005), sólidos (Lencraste, 2006) y electrodos modificados, para observaciones electroanalíticas han aumentado en los últimos años debido a su aplicabilidad a la determinación de compuestos activos que sufren reacciones de oxidación, lo cual es de gran importancia en el campo del análisis clínico y farmacéutico (Jain, 2010).

II.5 TECNICAS DE ANALISIS ELECTROQUIMICO PARA LA PRODUCCION DE METABOLITOS

A) Electrolisis

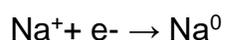
La electrolisis es un procedimiento electroquímico en el cual el voltaje aplicado en un electrodo impulsa la ocurrencia de una reacción química en su superficie (Harris, 2016). Una ventaja destacada del método electrolítico es que no requiere un aumento de la temperatura para que la reacción se genera, y se disminuye la pérdida energética, recursos, tiempo y reacciones secundarias (Ayala, 2015).

Existen dos tipos de electrolitos:

- **Electrolitos fuertes:** en una solución, una parte del soluto se separa en iones libres mediante la disociación.
- **Electrolitos débiles:** aquellas soluciones en las que la mayor parte del soluto permanece unido y no se separa iones.

El proceso electrolítico implica la aplicación de corriente eléctrica a través de un electrolito, en el cual se sitúan 2 electrodos conductores (el ánodo y el cátodo) donde tendrán lugar las transformaciones químicas. Al conectar los electrodos a una fuente de energía (como un generador de corriente directa), el electrodo conectado al polo positivo del generador se denomina ánodo, mientras que el electrodo conectado al polo negativo del generador se conoce como cátodo. Una reacción de electrólisis se puede entender como la suma de 2 semireacciones, una oxidación en el ánodo y una reducción en el cátodo (Díaz, 2008).

Un ejemplo simple para explicarlo es mediante el uso de cloruro de sodio utilizando electrodos inertes. Los iones de sodio (+) (cationes), son atraídos hacia el electrodo con carga negativa (cátodo). El cátodo adquiere una carga negativa debido a la acción de la fuente que le suministra electrones, dichos electrones se encuentran en un estado con alta energía potencial. El ion sodio, al tener una carga positiva, atrae electrones, lo que significa que en un átomo de sodio tendría una menor energía potencial que un electrón en el cátodo. En consecuencia, los electrones del cátodo se desplazan hacia el catión, debido a la diferencia de energía potencial. En el cátodo los iones de sodio se transforman en átomos de sodio al adquirir un electrón. Así, el sodio experimenta una reducción, confirmando que el cambio químico predominante el cátodo es la reducción. Esta semi-reacción química se simboliza de la siguiente forma:

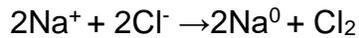


El ánodo cuenta con una carga positiva debido a que la fuente le provee electrones, los cuales abandonan el ánodo, mientras atrae a los iones cloruro (-) (aniones). Los electrones del ánodo poseen una energía potencial baja, mientras que los electrones del ion cloruro, se encuentran en un estado de potencial mayor. Cuando los iones cloruro llegan al ánodo, transfieren sus electrones a este, lo que provoca que los electrones de los iones disminuyan su energía potencial de un estado elevado a uno más bajo. Los iones cloruro pierden electrones experimentando una oxidación y transformándose en átomos de cloro. Estos átomos de cloro, a su vez, se combinan para formar moléculas de cloro gaseoso. Por lo tanto, la reacción

anódica siempre implica una oxidación. Esta segunda semi-reacción se representa de la siguiente forma:



La reacción global del ejemplo de la electrólisis del cloruro de sodio sería:



Durante la electrólisis, las reacciones de oxidación y reducción tienen lugar simultáneamente, pero en ubicaciones aisladas. La fuente no genera electrones, simplemente los dirige de un lugar a otro. Por lo tanto, los electrones que la fuente proporciona al cátodo son los mismos que se desplazan desde del ánodo. La fuente de energía tiene la tarea de aumentar la energía potencial de los electrones ubicados en el cátodo (Díaz, 2008).

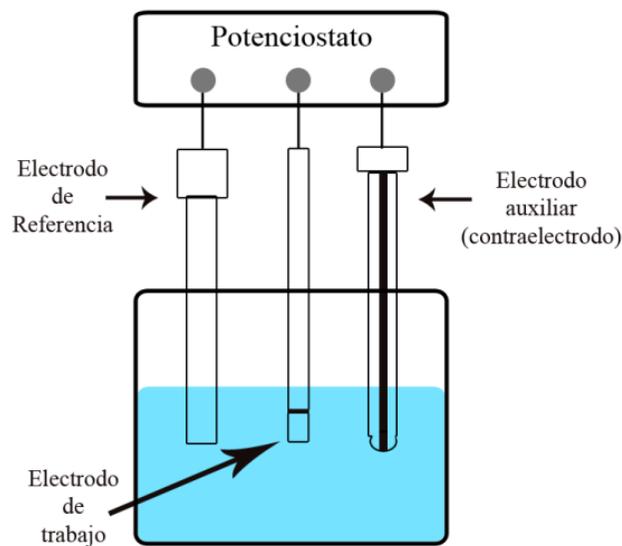


Figura 5. Celda electroquímica para el uso de técnicas de análisis (Settle, 1997).

En una celda de electrólisis simple se ocupan 2 electrodos, ánodo y cátodo, al mismo tiempo estos dos ocupan otra función, electrodo de trabajo y contraelectrodo: el electrodo donde ocurre la reacción de interés se denomina electrodo de trabajo. El electrodo adicional se conoce como contraelectrodo, un ejemplo más evidente de una celda electroquímica se ilustra en la figura 5. Generalmente se utiliza la convención de que la corriente es positiva cuando la reducción se produce en el

electrodo de trabajo, otra manera de expresarlo es, cuando la reacción de interés se encuentra en el cátodo.

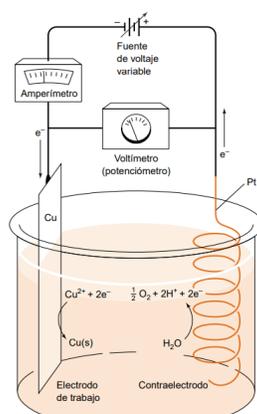


Figura 6. Experimento de electrólisis (Harris, 2016).

En la figura 6 se muestra un experimento de electrólisis, aquí la reacción de interés radica en la reducción, del ion cobre, en donde el electrodo de Cu (cátodo), es el electrodo de trabajo. El potenciómetro determina el voltaje proporcionado por la fuente de energía entre los 2 electrodos, mientras que el amperímetro mide la corriente que circula a través del circuito (Harris, 2016).

B) Electrolisis a potencial controlado en una celda con tres electrodos

En experimentos bien controlados se debe imponer un potencial específico al electrodo de trabajo para establecer que compuesto químico reaccionara y cuál no. Los electrodos de trabajo y los contraelectrodos son polarizables, por lo que cuando existe una circulación de corriente pequeña, sus potenciales alteran sencillamente. A diferencia, el electrodo de referencia, no es polarizable, por lo que su potencial es constante aun cuando circule una corriente eléctrica, en la figura 7 se muestra el circuito usado en una celda electroquímica con 3 electrodos.

En una celda de electrólisis a potencial controlado (Figura 7), en el electrodo se da lugar la reacción de interés y en el electrodo auxiliar ocurre una reacción redox opuesta que permite cerrar el circuito de la corriente eléctrica. El electrodo de referencia se emplea para determinar, el potencial del electrodo del trabajo, siendo esencial en la electroquímica para establecer un punto de referencia constante en

una celda electroquímica durante una medición. En la electrolisis, se ajusta la diferencia del voltaje entre el electrodo de trabajo y el electrodo de referencia en una celda de tres electrodos mediante un equipo electrónico conocido un potencióstato, se presenta un ejemplo de este en la figura 6 (Harris, 2016).

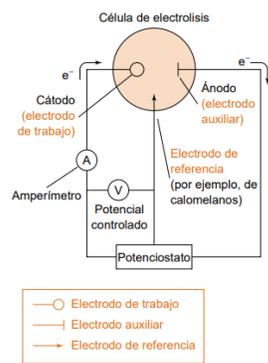


Figura 7. Circuito de 3 electrodos para la electrolisis a potencial controlado (Harris, 2016).

C) Voltametría (Voltamperometría)

La voltamperometría es una técnica electroquímica que, en sus diversas formas, consiste en aplicar un potencial eléctrico y medir la corriente eléctrica entre dos electrodos a través de una disolución conductora en técnicas de electricidad (electrolito). La corriente eléctrica fluye gracias a las reacciones de oxidación-reducción (redox) en la interfaz entre los 2 electrodos y la disolución del electrolito, proceso que tiene lugar en una celda electroquímica.

La forma más esencial de una celda electroquímica implica un sistema de dos electrodos sumergidos en una disolución del electrolito y conectados a un circuito exterior. La función principal del electrolito es proporcionar un medio conductor entre los dos electrodos. En la disolución del electrolito se introduce una especie química (analito) que puede actuar un agente oxidante o reductor. esta adición facilita la conversión entre energía eléctrica en energía química y viceversa, a través de la reacción redox correspondiente. (Harvey, 2002).

Los electrodos son de vital importancia, a través de ellos se produce la diferencia de potencial que se refleja directamente en electrolito de la celda, se clasifican según el proceso físico que se llevara a cabo. El electrodo denominado ánodo es

donde se conduce la oxidación, es decir, recibirá los electrones desprendidos del electrodo contradictorio (cátodo) al cerrar el circuito de la celda. El cátodo es el electrodo donde se ejecuta la reducción, el cátodo ceda los electrones mismos que provocan las reacciones de reducción de las moléculas presentes en la celda a través del electrolito del sistema. El circuito externo se vincula a un dispositivo que incorpora un voltímetro, el cual es capaz de establecer o medir una diferencia de potencial entre los dos electrodos (figura7). De esta manera, al alcanzar una diferencia de potencial adecuada, se desencadena la reacción redox correspondiente en el compuesto químico. Esta reacción ocurre en la interfaz entre el electrodo y la disolución. La reacción implica en la transferencia de electrones a través del circuito externo, produciendo una corriente eléctrica que es detectada por un amperímetro presente (González, 2009).

Las técnicas electroquímicas que se producen en partículas redox no conductoras depositadas en electrodos inertes implican reacciones de superficie que se inician en la zona donde se intersecan de tres fases partícula/electrodo/electrolito. A partir de ese punto, la reacción redox se propaga a lo largo de la superficie y dentro del cuerpo de la partícula mediante reacciones faradaicas, acompañadas del intercambio de iones y protones con el electrolito debido al gradiente del potencial electroquímico en la partícula (Fiedler, 2005).

Las diferentes técnicas voltamétricas se distinguen entre sí por el potencial aplicado al electrodo sólido de trabajo. Dentro de las técnicas voltamétricas se destacan: la cronoamperometría, la voltametría de barrido lineal, la voltametría cíclica, la voltametría de pulso normal, la voltametría de pulso diferencial, la voltametría de onda cuadrada y la voltametría de preconcentración y redisolución (Ordoñez, 2017).

D) Voltamperometría Diferencial de Pulso o Pulso Diferencial

Desde los principios de la década de 1970, la voltamperometría de pulso diferencial (VPD) se ha ganado una gran popularidad como una técnica electroanalítica. En esta técnica, la forma de la onda en la señal de excitación, se caracteriza por una serie de pulsos escalonados, donde el potencial base aumenta progresivamente en pequeños intervalos entre 10 y 100 mV (ancho de pulso = ΔE_s), la amplitud de pulso

ΔE_p se mantiene constante en relación con el potencial de base, tal como se ilustra en la siguiente figura (8):

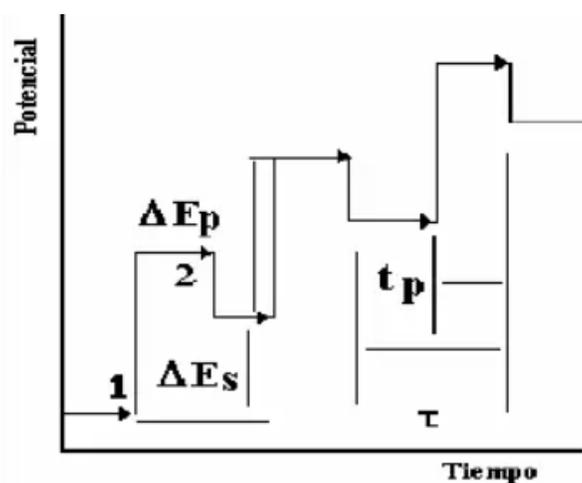


Figura 8. Señal de excitación aplicada en VPD (Ortíz, 2006).

La corriente resultante se registra al inicio y al finalizar de la aplicación del pulso (1). Al graficar la diferencia de corrientes obtenidas ($I_1 - I_2$) en función del potencial aplicado (típicamente el potencial en 1), se consiguen respuestas características como la mostrada en la figura 9, donde la intensidad máxima de corriente (I_p) es correspondiente a la concentración del compuesto reaccionante (Ortíz, 2006).

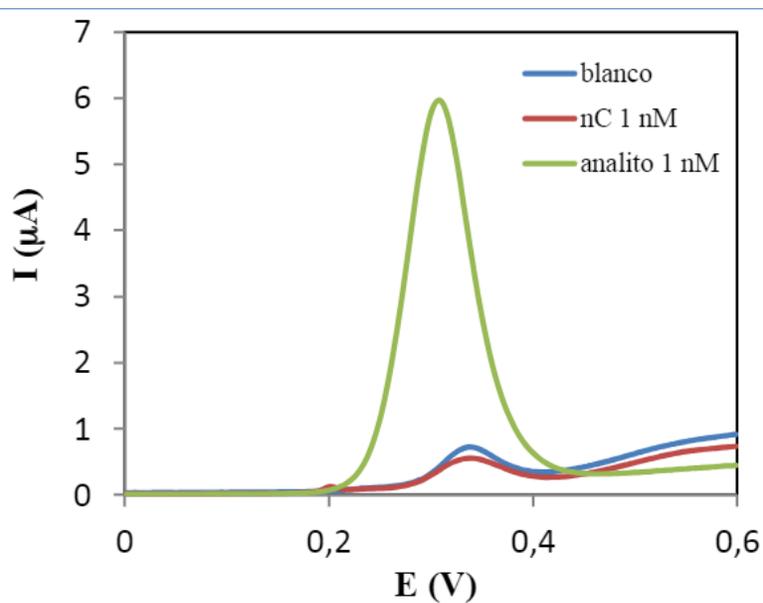


Figura 9. Respuesta típica en VPD (Lopez-Ruiz, 2014).

E) Voltamperometría cíclica

Una ventaja significativa de la electrosíntesis orgánica es la capacidad de adquirir un estudio preliminar de la actividad química de las especies químicas relevantes de manera sencilla y rápida manejando voltamperometría cíclica. Desde estos estudios es bastante sencillo anticipar que grupos funcionales con susceptibles a ser oxidados o reducidos (Fry, 1972).

La voltamperometría cíclica (también conocido como cronoamperometría cíclica) es una técnica electroquímica que implica emplear al electrodo de trabajo una variación continua y repetitiva del potencial eléctrico entre dos potenciales límite E_1 y E_2 , a una velocidad constante v (Vs^{-1}). Durante este procedimiento, se monitorea la evolución de la corriente que atraviesa el sistema en función del potencial aplicado. Los datos generados por esta técnica se representan en un gráfico de voltaje-corriente (como es visible en el gráfico a la derecha de la figura 10), lo que facilita identificar la presencia de diversas especies a diferentes voltajes. Como resultado, la velocidad con la que el voltaje varía revela información sobre la formación de distintas especies químicas, facilitando la evaluación del grado de reversibilidad de las reacciones y, por ende, la alteración de la superficie del electrodo. En la siguiente figura (10) se visualiza la variación del potencial aplicado a lo largo del tiempo para esta técnica, junto con la típica evolución de la intensidad en respecto al potencial observada en polímeros conductores (Padilla, 2006).

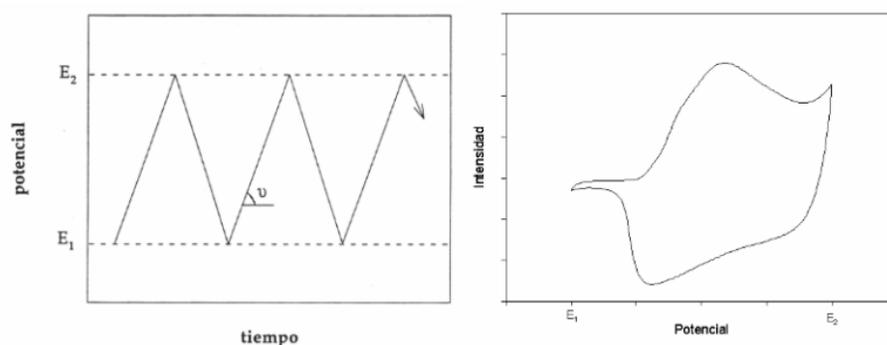


Figura 10. Representación de la evolución del potencial empleado en función del tiempo para el método de voltamperometría cíclica, junto con la respuesta registrada (intensidad frente a potencial) (Padilla, 2006).

F) Cronoamperometría de impulso de potencial (acíclica)

En la cronoamperometría acíclica, se aplica al electrodo de trabajo un cambio repentino de potencial, desde un valor inicial (E_1) hasta uno final (E_2), dentro de un periodo definido se mantiene el potencial final (E_2) con el propósito de oxidar o reducir el compuesto químico en observación, registrándose el progreso de la intensidad frente al tiempo (un ejemplo es la gráfica del lado derecho de la figura 11), obteniendo como resultado un producto reducido u oxidado del mismo. En la siguiente figura (11) se exhibe el perfil del potencial aplicado en relación con el tiempo para esta técnica (Padilla, 2006):

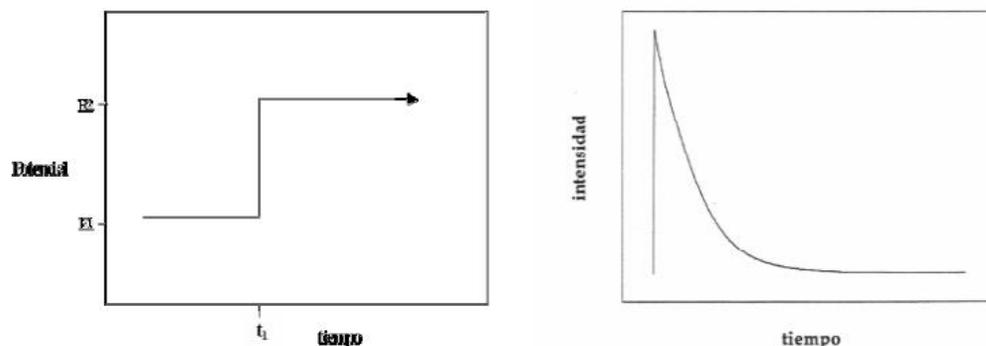


Figura 11. Evolución del potencial aplicado frente al tiempo para la técnica de cronoamperometría, junto con la respuesta registrada (intensidad frente a tiempo) (Padilla, 2006).

II.6 Parámetros experimentales que afectan las mediciones electroquímicas

Tradicionalmente la optimización de las condiciones experimentales generalmente se logra alterando una sola variable mientras que los demás factores se mantienen fijos en un determinado conjunto de condiciones. Este enfoque no tiene en cuenta los factores combinados o interacciones entre variables. Un inconveniente en la optimización es el aumento en el número de repeticiones requeridas para cada condición, que a su vez provocan un aumento de tiempo y gastos.

En varios experimentos se han reportado los efectos de los diferentes parámetros de electrolisis, de los cuales han sido reportado: los tipos de electrodos, la conductividad eléctrica del electrodo, la densidad de corriente de intercambio del electrodo, el tipo de sal utilizado en la solución y su respectiva concentración, la tasa

de flujo, la temperatura, los potenciales eléctricos y el tiempo de electrolisis (Khalid, 2018).

La electrolisis a granel a nivel de un laboratorio es para concentraciones de escalar molar a submolar para el posterior aislamiento/caracterización de los productos y/u otras aplicaciones exploratorias. Además de los parámetros químicos que se exploran durante la optimización de las reacciones de electrolisis que utilizan oxidantes/reductores químicos, el material del electrodo y el diseño de la celda también se pueden optimizar (Heard, 2020). Sin embargo, considerando la corriente y la potencial como parámetros eléctricos, existen 4 variables: electrolisis de potencial constante con 2 o 3 electrodos y electrolisis de corriente constante con 2 o 3 electrodos, además las reacciones electrolíticas pueden realizarse directamente en la superficie del electrodo o indirectamente usando un mediador (Jorissen, 2004).

En una reacción electroquímica, uno de los elementos importantes para que se lleve a cabo el experimento es el potencial, si un electrodo se mantiene a una potencial constante contra una potencial de referencia, una reacción electroquímica específica ocurrirá, y toda la corriente que fluye será debido de dicha reacción (Kennedy, 1970). El potencial de una solución en una celda electroquímica cambia a medida que cambia el corriente; la resistencia de la solución también puede cambiar debido a que la electrolisis altera las condiciones de la solución. Además, el potencial requerido para la reacción del contraelectrodo depende de la naturaleza de la reacción, el electrodo y las condiciones de la solución, estos factores alteran el potencial de la celda electroquímica; sin embargo, el potencióstato aplica los cambios necesarios a la corriente o potencial de la celda en el contraelectrodo para garantizar que el potencial dentro de la celda permanezca constante, evitando también una sobreoxidación o sobrerreducción de los sustratos (Williams, 2004).

La naturaleza del electrodo y la composición del electrolito pueden ser empleados como parámetros de la reacción para controlar la selectividad y la velocidad de la reacción electroquímica (Speiser, 2004). La selectividad de la reacción puede ser controlado con la potencia en el electrodo de trabajo, mientras que la velocidad de

reacción se controla ajustando la densidad de corriente o el potencial aplicado (Pletcher, 1991).

Para la electrolisis varios autores consideraron parámetros típicos como la temperatura o la concentración, pero lo que es más importante, la velocidad de agitación y la distancia entre los electrodos como parámetros significativos en la electrosíntesis orgánica. Por ejemplo, después de varios ciclos de optimización de la distancia de los electrodos, se observó un aumento en el rendimiento de 8-alcoxicafeína del 37 % al 43 %, cuando los electrodos se encontraban a una distancia de 4.5 mm y 17 mm, respectivamente (Figura 12). La influencia de la distancia de los electrodos también fue demostrada por Gieshoff durante la generación anódica de carbonatos orgánicos. Las distancias más pequeñas de 5 mm dieron como resultado rendimientos reducidos, mientras que una distancia de electrodo más notable de 100 mm no condujo en absoluto al producto deseado (Gieshoff, 2018). Las celdas de flujo de espacio estrecho exhiben enormes beneficios sobre las celdas de electrólisis por lotes debido a su procesamiento continuo (Selt, 2020).

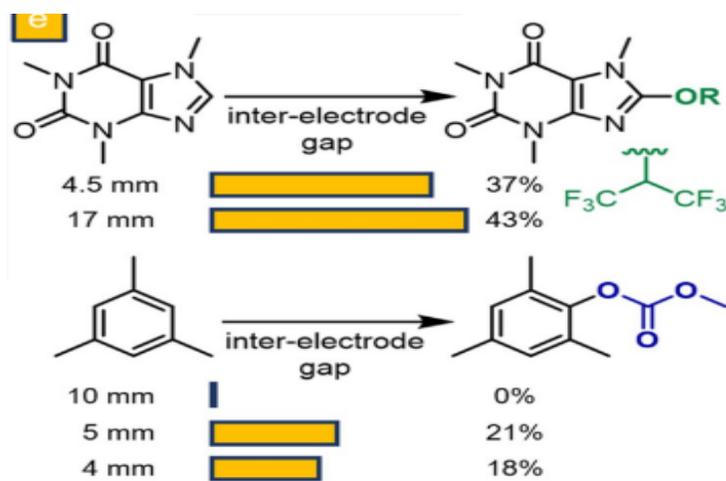


Figura 12. Efectos de la distancia de los electrodos entre sí como parámetro de la electrosíntesis orgánica (Gieshoff, 2018).

Otro parámetro de electrólisis bastante inesperado es la agitación mecánica. Dado que la reacción heterogénea tiene lugar en la superficie del electrodo, la

transferencia de masa por agitación entra en juego mucho más tarde, si los intermedios son lo suficientemente estables.

Por ejemplo, aunque las reacciones de deshiododimerización entre compuestos activados en un ánodo de molibdeno activo fueron reportadas exitosamente por algunos sustratos dieron baja conversión. Un ejemplo es la unión entre dos moléculas de fluoroveratrol, al excluir la agitación, el rendimiento del sustrato de fluoroveratrol podría triplicarse aproximadamente hasta un 42 % (Figura 13) (Beil, 2021). Más sorprendentemente, en estas condiciones, la reacción de homoacoplamiento requería un electrolito sin agitación, mientras que el acoplamiento cruzado de los nitrilos de bencilo activados solo era posible con agitación, dando como resultado otro producto. Esta fuerte influencia de la agitación mecánica en el resultado de una electrólisis por lotes también fue observada en otro experimento por Broese en el reordenamiento electrocatalítico de Newman-Kwart de O-aril tiocarbamatos.



Figura 13. Efectos de la ausencia y presencia la agitación mecánica en la electrosíntesis orgánica (Gieshoff, 2018).

Los antecedentes científicos heterogéneo de los muchos grupos de investigación que han entrado en el campo de la electrosíntesis orgánica han causado una variedad de inconsistencias en la reproducibilidad de los procedimientos sintéticos, ya que no se ha establecido una base común. Cambios menores de los parámetros pueden influir de manera significativa en el resultado de la electrólisis, los cuales dificultan en la aplicabilidad de las técnicas electroorgánicas (Beil, 2021).

En muchos casos se realiza una discusión por separado de los parámetros de electrólisis individuales, esto no es exacto, debido a que cada parámetro se influye entre sí, principalmente la interacción entre los electrodos y el electrolito. El rendimiento redox de una celda se ajusta con posición mediante la elección del material del electrodo, más la composición del electrolito (Rockl, 2020).

II.7 Parámetros experimentales para la electrólisis del metronidazol

Las soluciones de Metronidazol tendrán diferentes concentraciones del principio activo para conocer la sensibilidad mínima en HPLC y ahorrar recursos del mismo en futuros experimentos. La reducción electroquímica de derivados de nitroimidazol muestra dos ondas de reducción en medios ácidos acuosos, la primera involucra cuatro electrones y corresponde a la reducción del grupo nitro para formar el intermedio hidroaxilamina (-NHOH) y la segunda involucra dos electrones y corresponde a la reducción del hidroaxilamina a amina (-NH₂). Sin embargo, en el caso del ornidazol las segundas ondas desaparecen a valores de pH más altos y para otros nitroimidazoles, solo se produce una onda en medios alcalinos correspondiente a una transferencia de seis electrones (Fonseca, 1973). Se ha verificado que utilizando 3 materiales de electrodos diferentes (electrodo de carbón vítreo desnudo, electrodo de película delgada de mercurio y biosensor de ADN) se produce la formación de hidroaxilamina involucrando 4 electrones y es pH dependiente (Karakis, 1995). Los picos de corriente en el perfil voltamétrico confirman las reacciones de transferencia de electrones; por electroquímica el daño conformacional hacia el ADN de los microorganismos no será fácilmente detectado. Por otro lado, los métodos no electroquímicos dan idea pero no pueden explicar por completo el mecanismo que implica reacciones de transferencia de electrones entre radicales dañinos y el ADN (Edwards, 1990).

El análisis de nuestro interés es el Metronidazol en su forma reducida, el metabolito responsable por sus propiedades bactericidas y antiparasitarios a través del daño al ADN de los microorganismos, es decir, la reducción del grupo funcional -NO₂ (grupo nitro) a -NHOH (hidroxilamina) (Soyfer, 1995). Se han propuesto varios mecanismos para la interacción y todos sugieren que la reducción del grupo nitro

que forma el radical R-NO₂ o hidroxilamina altamente reactiva es responsable del daño al ADN, siendo la hidroxilamina altamente específica para los residuos de citosina expuestos a pH neutro y ácido (Soyfer, 1995). La electrólisis a un potencial inferior al de reducción de MTZ conduce a la preconcentración de los productos de reducción en lugar del compuesto de partida (Oliveira, 1997).

De acuerdo a lo reportado en la literatura, la Tabla 2. muestra el potencial asociado con cada especie generada a partir de la reducción de compuestos farmacéuticos de la familia de los nitroimidazoles.

Tabla 2: Metabolitos detectados durante la interacción entre 5-nitroimidazoles y ADN utilizando diversas técnicas electroquímicas

FÁRMACO	METABOLITO (S)	POSICIÓN (E _p , V)	ELECTRODO	TÉCNICA	MEDIO	REFERENCIA
Tinidazol	Hidroxilamina	-0.6	GCE	VC y VDP	Acuoso pH=4.5	(Oliveira, 1997)
	Compuesto Azoxy	0.0358				
	Derivado nitroso	0.081				
Metronidazol	Hidroxilamina	-0.902	GCE	VC	Acuoso pH=7	(Jiang and Lin, 2006)
	Anión radical nitro-	-0.623				
	Derivado nitroso	0.271				

La reducción ocurre entre -0.7 V y -0.81 V, dependiendo de los electrodos que se emplean, se aplicará una potencial constante (dentro de la técnica de cronoamperometría de impulso de potencial) de -0.7 V por 15 minutos para reducir la mayor cantidad del principio activo contenido en los 100 ml de solución dentro de una celda de 3 electrodos o macro celda (electrodo de referencia, electrodo de trabajo y contraelectrodo).

Con una gota de solución se realiza un escaneo de pulso diferencial de -1.2 V a 1.2 V en un electrodo de carbono serigrafiado (o microcelda) para comprobar que no se produce ninguna reacción electroquímica en la superficie electrodo de trabajo, también se utiliza con el fin de conocer que tanto de la solución con Metronidazol esta reducido al principio y cuanto se redujo después del tratamiento (Oliveira, 1997).

III. Objetivos

Objetivo General

Realizar una búsqueda de información bibliográfica que contenga las técnicas y procedimientos a utilizar en un protocolo experimental para la obtención de los metabolitos del Metronidazol utilizando métodos electroquímicos.

Objetivos particulares

- Obtener información científica actual, relacionada con los procedimientos experimentales para la obtención de metabolitos de Metronidazol utilizando técnicas electroquímicas.
- Establecer los parámetros experimentales importantes para la obtención de los metabolitos de Metronidazol por métodos electroquímicos.
- Plantear una metodología para la obtención experimental de los metabolitos de Metronidazol utilizando técnicas electroquímicas.

IV. Estrategia para la obtención de metabolitos de metronidazol por reducción electroquímica

IV.1 Material y Reactivos

Tabla 3. Condiciones para la Obtención de Metabolitos de Metronidazol

<u>Parámetro experimental</u>	<u>Valor</u>
Potencial para Cronoamperometría de Impulso de Potencial	-0.7 V
pH de la solución	4.5

Potenciales para la Técnica de Voltamperometría Diferencial de Pulsos	-1.2 V a 1.2
Electrodo de trabajo para Cronoamperometría de Impulso de Potencial	Electrodo de carbón vítreo
Contraelectrodo para Cronoamperometría de Impulso de Potencial	Hilo de Platino
Electrodo de Referencia para Cronoamperometría de Impulso de Potencial	Electrodo de Cloro/Cloruro de Plata (Ag/AgCl)
Electrodo para la Voltamperometria Diferencial de Pulsos	Electrodo de Carbono Serigrafiado
Tiempo necesario para la reducción	900 segundos (15 minutos)
Agitación Mecánica	700 rpm durante el proceso de reducción
Reactivos para la solución amortiguador de acetatos	Acetato de sodio ($\text{CH}_3\text{CO}_2\text{Na}$); Ácido clorhídrico (HCl) 0.1 M; Hidróxido de Sodio (NaOH) 0.1 M; Agua destilada
Equipo electroquímico	910 potenciostato/ galvanostato mini con operador

Las condiciones establecidas para la obtención de metabolitos de Metronidazol se obtuvieron de la información publicada de estudios pasados sobre el comportamiento voltamperométrico de nitroimidazoles en un biosensor de ADN realizado por Oliveira en la Universidad de Coimbra (Oliviera, 1997).

Tabla 4. Material y reactivos de laboratorio para la Obtención de Metabolitos de Metronidazol

Material	Cantidad
Matraz Erlenmeyer 150 ml	1
Matraz aforada 150 ml	1
Vaso de precipitados 500 ml	1
Matraz aforada 100 ml	5
Varilla de vidrio	1
Pipeta Pasteur	2
Micropipeta de 100 a 1000 ul	2
Agitador magnético	1
Limpiador ultrasónico desgasificador	1
Agua destilada	1 L
Ácido Acético (CH ₂ COOH)	150 g
Acetato de Sodio (CH ₂ COONa)	150 g
Ácido Clorhídrico (HCl)	10 mL
Equipo electroquímico	910 potenciostato/ galvanostato mini con operador
Electrodo de trabajo	Electrodo de carbón vítreo
Contraelectrodo	Hilo de Platino
Electrodo de Referencia	Electrodo de Cloro/Cloruro de Plata (Ag/AgCl)

IV.2 Metodología

1. Solución del Metronidazol.

1.1 Preparar una solución stock de 150 ml de Metronidazol con una concentración igual a 0.1 M con agua destilada y desgasificada.

1.2 Preparar 500 ml de solución amortiguador de acetatos a un pH de 4.5, preparar 0.1 M de NaOH con agua destilada.

- 1.2.1 En caso de que la solución amortiguadora tenga un pH menor a 4.2, agregar gota por gota la solución NaOH 0.1 M y agitar hasta conseguir el pH deseado; si por el contrario el pH de la solución resulta ser mayor a 4.8 agregar gota por gota la solución HCl 0.1M y agitar hasta conseguir el pH deseado.
 - 1.3 Preparar diferentes concentraciones de Metronidazol 0.1 M con la solución buffer de acetatos, teniendo como un volumen final de 100 ml:
 - 1.3.1 Solución A: 100 ml de solución de Metronidazol 0.1 M al 10% (dando una nueva concentración de Metronidazol igual a 0.01 M),
 - 1.3.2 Solución B: 100 ml de solución de Metronidazol 0.1 M al 20% (0.02 M),
 - 1.3.3 Solución C: 100 ml de solución de Metronidazol 0.1 M al 30% (0.03 M),
 - 1.3.4 Solución D: 100 ml de solución de Metronidazol 0.1 M al 40% (0.04 M) y finalmente
 - 1.3.5 Solución E: 100 ml de solución de Metronidazol 0.1 M al 50% (0.05 M de Metronidazol).
2. Transformación del Metronidazol en sus metabolitos por reducción (o electroquímica).
 - 2.1 Agregar una gota (0.5 ml) de solución amortiguador (blanco) a la celda, o a un electrodo de carbono serigrafado.
 - 2.1.1 Oxidar (de -0.4 mV a 1.2 mV) la gota y luego reducirlo (0 a -1.2 mV), esto por el método de diferencia de pulsos.
 - 2.1.2 Para conocer el voltaje para la reducción óptimo de cada solución que contiene Metronidazol (soluciones A, B, C, D Y E) oxidar (de -0.4 mV a 1.2 mV) cada solución, por separado y luego reducirlo (de 0 a -1.2 mV), por el método de diferencia de pulsos.
 - 2.1.2.1 Guardar el voltamperograma para posterior comparación y anotar el voltaje necesario para garantizar la reducción anhelada del Metronidazol de cada solución (dicho voltaje encontrarse entre -0.6 V y -0.75 V).

2.2 Agregar 80 ml de la solución A dentro de la macro celda, luego reducir la solución con su voltaje respectiva obtenida del paso 2.1.2.1 (el voltaje óptimo se encuentra de -0.7 mV) por 900 segundos (un equivalente a 15 minutos) por el método de cronoamperometría, mantener en agitación la solución durante la reducción.

2.2.1 Con la técnica de voltamperometría diferencial de pulsos, añadir una gota de la solución A reducida a un electrodo de carbono serigrafiado, para oxidarlo (-0.4 mV a 1.2 mV) y luego reducirlo (0 a -1.2 mV).

2.2.1.1 Comparar el voltamperograma de la solución A reducido con el voltamperograma de la solución A antes de la reducción y anotar las diferencias.

2.2.1.2 Observar los datos obtenidos para examinar en cual solución hubo mayor reducción.

2.2.1.3 Un detalle importante al observar los resultados de la reducción de Metronidazol de cada solución en el voltamperograma es que el pico generado a -0.7 V es mayor a comparación del pico de la solución antes de la reducción y los otros picos generados antes de la reducción (es decir, los otros metabolitos formados) suelen ser menores o desaparecer después de la reducción.

2.2.2 Repetir los procesos 2.2, 2.2.1 y 2.2.1.1 con las soluciones faltantes (soluciones: B, C, D y E).

2.2.2.1 Si alguna de las soluciones (A, B, C, D y E) no cumple con los resultados idóneos del proceso 2.2.1.3, repetir los pasos 2.1 a 2.2.1.2 para esa solución.

2.2.3 Guardar las soluciones reducidas en un refrigerador para su posterior identificación por HPLC.

2.2.4 Con la ayuda del HPLC elegir la solución con mayor concentración de metabolitos reducidos adquiridos.

V. Resultados

En el presente trabajo se estiman los parámetros y condiciones establecidos y previamente investigados de las técnicas electroquímicas, en resumen, haciendo una reducción a -0.7 V a través de la técnica de voltamperometría de pulso diferencial en un medio de pH igual a 4.5, se anhela obtener un porcentaje alto (mayor al 90%) de los productos biotransformados del metronidazol. A potenciales menores la reducción del metronidazol resulta en otros productos reducidos. En particular al principal metabolito de la biotransformación en el cuerpo humano, el metabolito con mayor presencia en comparación con los productos restantes, en otros términos, es el metabolito hidroxilado (1-(2-hidroxietil)-hidroximetil-5-nitroimidazol), responsable también de cierta actividad antimicrobiana, representando entre un 30% y 65% de la actividad reportada.

El metabolito hidroxilado sufre de una reducción en uno de sus grupos funcionales, el grupo nitro (NO_2) es reducido a una hidroxilamina (NHOH), este último siendo altamente reactiva, ataca específicamente a los residuos de citosina expuestos del ADN de los microorganismos. Se confirmará la reducción del metronidazol con la voltamperometría cíclica, la cantidad del metronidazol será menor después de la reducción con un total de metabolitos mucho mayor al del principio activo. Esto se verá reflejado en las gráficas, antes de la reducción con se observarán varios picos pequeños siendo los metabolitos posibles del metronidazol, después de la reducción se verá mayores las señales de los metabolitos, siendo el metabolito hidroxilado el mayor. La cuantificación y identificación de dicho metabolito transformado por la electrolisis se podrá analizar más adelante con la ayuda de un HPLC.

VI. Conclusión

El mecanismo de reducción de metronidazol, al igual que la oxidación y/o reducción de otros principios activos se puede llevar a cabo con el uso de técnicas electroquímicas, además de los métodos tradicionales, es decir, la obtención de los metabolitos por vía síntesis orgánica, para el estudio de los metabolitos producidos a partir de estos métodos.

En este sentido abre una amplia perspectiva para investigaciones subsiguientes de los mecanismos de interacción y el metabolismo de los fármacos, considerando el uso de la electroquímica, y sus técnicas, una alternativa más rápida y eficiente y eliminando grandes factores como la cantidad de recursos, complicaciones y contaminantes producidos encontrados en los otros procesos de transformación biológica u orgánica.

VII. BIBLIOGRAFÍA

- Ambrosi, A., Antiochia, R., Campanella, L., Dragone, R. and Lavagnini, I. (2005). Electrochemical determination of pharmaceuticals in spiked water samples.
- Anderson, P., Groundwater, A., Todd y A., Worsley (2012). “Antibacterial Agents: Chemistry, Mode of Action, Mechanisms of Resistance and Clinical Applications”. Chichester, West Sussex: John Wiley & Sons.
- Ang, C. W., Jarrad, A. M., Cooper, M. A. y Blaskovich, M. A. T., (2017). Nitroimidazoles: Molecular Fireworks That Combat a Broad Spectrum of Infectious Diseases. *Journal of Medicinal Chemistry* [en línea]. 60(18), 7636–7657. [Consultado el 11 de diciembre de 2021]. Disponible en: doi: 10.1021/acs.jmedchem.7b00143
- Ayala, A. (2015). *Electrolisis*. Hermosillo, México: Departamento de Física, Universidad de Sonora.
- Beil, S., Pollok, D., y Waldvogel, S., (2021). Reproducibility in Electroorganic Synthesis—Myths and Misunderstandings. *Angew. Chem. Int. Ed. Wiley-VCH*.
- Bendesky, A., Menéndez, D., & Ostrosky-Wegman, P. (2002). Is metronidazole carcinogenic? *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 511(2), 133-144.
- Bennett, J., Dolin, R., y Blaser, M. (2020). *Mandell, Douglas y Bennett. Enfermedades infecciosas. Principios y práctica*. Barcelona, España: Elsevier España.
- Bergan T, Arnold E. Pharmacokinetics of metronidazole in healthy volunteers after tablets and suppositories. *Chemotherapy* 1980; 26: 231-41.
- Camarero, M. (2020). *Farmacos que contienen el grupo nitro: Antiparasitarios*. Madrid, España: Facultad de Farmacia Universidad Complutense.
Chem., 14, 1578 – 1582.

- Church DL, Rabin HR, Laishley EJ. (1988). Role of hydrogenase 1 of *Clostridium pasteurianum* in the reduction of metronidazole. *Biochem Pharmacol.*
combinations. *Antimicrob Agents Chemother.*
- Del Ángel, J., Paramo, U., y Gallardo, N. (2015). “Estudio de la extracción de agua en crudos utilizando un método químico-Electroquímico”. Ciudad Madero, Tamaulipas, México.
- Díaz, F. (2008). *Principios de Electrodisposición*. Cuautitlán Izcalli, México: Departamento de Ingenierías UNAM.
- Dingsdag, S.A. y Hunter, N (2018). Metronidazole: An update on metabolism, structure-cytotoxicity and resistance mechanisms. *J. Antimicrob. Chemother.* 73, 265–279.
- Edwards, D. (1990). *DNA binding and nicking agents*, *Comprehensive Medicinal Chemistry*. Vol. 2, 5th ed. (Ed: C. Hansch), Pergamon Press, New York.
- Fiedler, D. y Scholz, F. (2005). *Electrochemical Studies of Solid Compounds and Materials*. Berlin, Alemania: Springer.
- Fonseca, J., Rivera, M. y Monteaguda, J. (1973). *Anal. Lett.*, 26, 109.
- Freeman, C.D., Klutman, N.E. y Lamp, K.C. (1997). “Metronidazole.” *Drugs* 54, 679–708. <https://doi.org/10.2165/00003495-199754050-00003>
- Fry, A. (1972). *Synthetic Organic Electrochemistry*. Harper & Row, USA.
- Gieshoff, T., Trieu, V., Heijl, J., and Waldvogel, S. (2018). *Beilstein J. Org.*
- González J.A., González S., Souto R.M.S. & Santana J.J. (2009). Protección frente a la corrosión metálica con recubrimientos poliméricos: Estudio electroquímico y microelectroquímico. *Ciencias y Tecnologías*.
- Harris, D. (2016) *Análisis químico cuantitativo*. 3^{ra} edición. California, E.U.A.: Editorial Reverté.
- Harvey T.J., Wood R.J.K., Denuault G. y Powrie H.E.G. (2002). Effect of oil quality on electrostatic charge generation and transport. *Journal of Electrostatics*.

- Ings, J., McFadzean, y W., Ormerod. (1975). "The Fate of Metronidazole and its Implications in Chemotherapy." *Xenobiotica*, 5(4), pp.223–235.
- Jain A., Gupta V., Radi S., Singh L.P. and Raison J. (2006). A comparative study of Pb²⁺ sensors based on derivatized tetrapyrazole and calixarene receptors, *Electrochim. Acta* 51
- Jain, R., Gupta, V., Jadon, N. and Radhapyari, K. (2010). Adsorptive stripping voltammetric determination of pyridostigmine bromide in bulk and pharmaceutical formulations.
- Jewell, R. (2007). *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference // Triprolidine*. Southampton, Reino Unido: Elsevier.
- Jiang, X. and Lin X. (2006). Voltammetry of the interaction of metronidazole with DNA and its analytical applications. *Bioelectrochemistry*, 68 (2), pp. 206-212.
- Kannigadu, C. and N'Da, David.D. (2020). Recent advances in nitroaromatics: The synthesis and development of anti-infective drugs. *Current Pharmaceutical Design*, 26.
- Karakis, C. y Zuman, P. (1995) *J. Electroanalysis Chem.*, 183, 379.
- Khalid, N.I., Sulaiman, S., Ab Aziz, N., Taip, F.S., Sobri, S. y Nor-Khaizura, M.A. (2018) Electrolyzed water as a green cleaner: Chemical and physical characterization at different electrolyzing parameters. *Food Res.* 2, 512–519.
- Lencastre, R., Matos, C., Garrido, J., Borges F., Garrido E. (2006). Voltammetric quantification of fluoxetine: application to quality control and quality assurance processes.
- López-Ruiz, B. (2014). Detección de alérgenos de cacahuete mediante un sensor de ADN. España: Real Academia de Farmacia. 80. 377-392.
- Lopeztricas, J. (2013). TRICHOMONAS VAGINALIS. Zaragoza, España: Info-farmacia.
- Lvovich V.F. & Smiechowski M.F. (2006). Impedance characterization of industrial lubricants. *Electrochim Acta*.

- Maeda, K., Osato, T. y Umezawa, H. (1953). A new antibiotic, azomycin." Tokyo, Japón: J., Antibiot.
- Martínez Y., y Hernández R. (2004). *Electroquímica: Energía y Ambiente*. Venezuela: Universidad de Los Andes, Facultad de Ciencias, Departamento de Química.
- Mohle, S., Zirbes M., Rodrigo, E., Gieshoff, E., Wiebe, A. y Waldvogel, S. (2018). *Modern Electrochemical Aspects for the Synthesis of Value-Added Organic Products*. Germany: Wiley-VCH.
- Müller M. Mode of action of metronidazole on aerobic bacteria and
- Nigovic B. and Simunic B. (2003). Determination of 5-aminosalicylic acid in pharmaceutical formulation by differential pulse voltammetry, J. Pharm. Biomed. Anal.
- Oliveira, A., Serrano, S., Gutz, I., La-Scalea, M. y Cruz, M. (1997). Voltammetric Behavior of Nitroimidazoles at a DNA-Biosensor. *Electroanalysis* 1997, 9, No. 14. Weinheim, Alemania: Wiley-VHC.
- Ordoñez, C. (2017). Análisis Voltamétrico para la cuantificación de Aciclovir. Calí, Colombia: Facultad de Ciencias Naturales, Departamento de Química.
- Ortiz, Y., Martínez, R., & Hernández, R. (2006). Técnicas Electroanalíticas. Parte II Voltamperometría. Bogotá, Colombia: Facultad de Ciencias, Departamento de Química.
- Padilla, D. (2006). Caracterización y Optimización Electroquímica de Dispositivos Electrocrómicos Duales Basados en Polímeros conductores. Cartagena, España.
- Pavicic, M., Van Winkelhoff A., y De Graaff J. (1992) *In vitro* susceptibilities of *Actinobacillus actinomycetem comitans* to a number of antimicrobial
- Pletcher D. (1991). A First Course in Electrode Processes. The Electrochemical Consultancy, U.K.
- protozoa. *Surgery* 1983; 93: 165-71.
- Rafiee, M. (2007). The electron: the simplest chemical reagent. Hamahad, Iran: Faculty of Chemistry, Bu-Ali Sina University.

- Robbins, J. (1978). Iones en solución: Introducción a la electroquímica. México: Editorial El Manual Moderno, S.A.
- Rockl, J., Dorr, M. y Waldvogel, S. (2020). *ChemElectroChem*, 7, 3686 – 3694.
- Roldán MD, Pérez-Reinado E, Castillo F et al. Reduction of polynitroaromatic compounds: the bacterial nitroreductases. *FEMS Microbiol Rev* 2008; 32: 474–500.
- Selt, M., Franke, R. y Waldvogel, S. (2020) *Org. Process Res. Dev.* 24, 2347 – 2355.
- Settle, F. (1997) Handbook of instrumental techniques for analytical chemistry: Prentice Hall PTR.
- Song, L., Fu, N., Ernst, B., Lee, W., Frederick, M., DiStasio, R. y Lin, S. (2020). *Dual electrocatalysis enables enantioselective hydrocyanation of conjugated alkenes*. *Nat. Chem.* 12 (8), 747–754.
- Soyfer, V. y Potaman, V. (1995). *Triple-Helical Nucleic Acids*. Berlin, Alemania: Springer.
- Speiser, B., Bard, J., Stratmann, y Schafer, H. (2004). Encyclopedia of Electrochemistry, vol. 8, chap 1. Wiley-VCH, Germany.
- Stambaugh, J., Feo, L. y Manthei, R. (1968). The isolation and identification of the urinary oxidative metabolites of metronidazole in man. Pennsylvania, USA: The Williams and Wilkins Co.
- Vasseghian, Y., Dragoi, E.-N., Almomani, F. y Le, V. T., (2021). “Graphene-based materials for metronidazole degradation: A comprehensive review.” *Chemosphere* [en línea]. 286, 131727. [Consultado el 10 de diciembre de 2021]. Disponible en: doi: 10.1016/j.chemosphere.2021.131727.
- Wang J. (1988). *Electroanalytical Techniques in Clinical Chemistry and Laboratory Medicine*, VCH, New York.
- Wearley, L.L., Anthony, G.D., (1984). “Analytical Profiles of Drug Substances”, vol. 13. Academic Press, Orlando, pp. 327–344.

