



## DETERMINACIÓN VOLTAMÉTRICA DE AMOXICILINA EN PRODUCTOS FARMACÉUTICOS.

Emily Fonseca<sup>1</sup>, Reynaldo Ortíz\*<sup>1</sup>, Elkis Weinhold<sup>1</sup> y Frank Silva Mocizo<sup>2</sup>.

1. Grupo de Electroquímica, Departamento de Química, Facultad de Ciencias, Universidad de Los Andes. Mérida – Venezuela
2. Departamento de Análisis y Control, Facultad de Farmacia y Bioanálisis Universidad de Los Andes. Mérida – Venezuela.

EMAIL: [reynaldoluis@gmail.com](mailto:reynaldoluis@gmail.com)

**CORRESPONDENCIA:** Av. Alberto Carnevalli, La Hechicera, Núcleo Universitario Pedro Rincón Gutiérrez, Edificio A., Av. Alberto Carnevali, Mérida 5101, Mérida, Venezuela

### RESUMEN

En este trabajo se realizó un estudio comparativo para la determinación del antibiótico amoxicilina en tres formulaciones farmacéuticas diferentes: comprimidos, suspensión oral de amoxicilina y suspensión oral de amoxicilina que contiene ácido clavulánico. El estudio se realizó mediante voltametría de barrido lineal en soluciones de amoxicilina previamente oxidadas por reacción con  $MnO_2$  y se empleó espectroscopia de transmisión UV-visible como técnica de referencia. Los estudios voltamétricos mostraron una respuesta reproducible y adecuada para la determinación electroquímica de amoxicilina, mediante la reducción de la forma quinónica del antibiótico sobre un electrodo de carbón vítreo, a un potencial de pico de 0,48 V vs Ag/AgCl a 50 mV.s<sup>-1</sup> usando soluciones de  $H_3PO_4$  1 M como electrolito de soporte, encontrándose un límite de detección de  $3,21 \times 10^{-4}$  M con un porcentaje de recuperación promedio para el comprimido de 101,4 % y en las suspensiones amoxicilina sola de 94,23% y en las suspensiones de amoxicilina más ácido clavulánico, de 98,35 %. Los valores obtenidos



no mostraron diferencias estadísticamente significativas, con los valores obtenidos por la técnica de espectroscopia de UV-visible usada como referencia para la validación del método voltamétrico.

**PALABRAS CLAVE:** Amoxicilina, voltametría, antibióticos, formulaciones farmacéuticas, espectroscopia UV-visible, reducción electroquímica.

## VOLTAMMETRIC DETERMINATION OF AMOXICILLIN IN PHARMACEUTICAL PRODUCTS.

### ABSTRACT

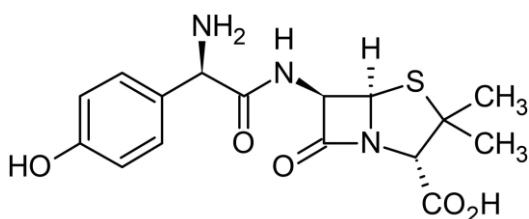
In this work, a comparative study was carried out for the determination of the antibiotic amoxicillin in three different pharmaceutical formulations: tablets, amoxicillin oral suspension and amoxicillin oral suspension containing clavulanic acid. The study was performed by linear scanning voltammetry on amoxicillin solutions previously oxidised by reaction with MnO<sub>2</sub>. UV-visible transmission spectroscopy was used as a reference technique. Voltammetric studies showed a reproducible and adequate response for the electrochemical determination of amoxicillin, by reduction of the quinonic form of the antibiotic on a glassy carbon electrode, at a peak potential of 0.48 V vs Ag/AgCl at 50 mV.s<sup>-1</sup> using H<sub>3</sub>P0<sub>4</sub> 1 M solutions as supporting electrolyte, finding a detection limit of 94.23 M with an average recovery percentage for the tablet of 101.4 % and in the amoxicillin alone suspensions of xxx and in the amoxicillin plus clavulanic acid suspensions, of 98.35 %. The values obtained did not show statistically significant differences, with those values obtained by the UV-visible spectroscopy technique used as a reference for the validation of the voltammetric method.

**KEY WORDS:** Amoxicillin, voltammetry, antibiotics, pharmaceutical formulations, UV-visible spectroscopy, electrochemical reduction.

## INTRODUCCION

La amoxicilina es una penicilina semisintética en uso desde la década de 1970. Sola y en combinación con el inhibidor de betalactamasa ácido clavulánico, es la penicilina más utilizada en Europa y en otros lugares, y es un "antibiótico de acceso básico" designado por la OMS. (1)

La amoxicilina según la IUPAC (2S, 5R, 6R) -6 - [ [(2R) - 2-Amino-2-(4hidroxifenil) Acetil]amino]-3,3-dimetil-7-Oxo-4-tia-1-azabicyclo [3.2.0] heptano-2- ácido carboxílico (1) (figura 1).



**Figura 1. Estructura de amoxicilina.**

Obtenida en 1970(2), con formula molecular de  $C_{16}H_{19}N_3O_5S$ , es uno de los antibióticos b-lactámicos de uso frecuenten en el mundo, es la única penicilina de espectro moderado, utilizadas en seres humanos y animales para el tratamiento de enfermedades infecciosa (3).

La amoxicilina es una aminopenicilina o penicilina sintética de amplio espectro, derivado p- hidroxil de la ampicilina con similar patrón de actividad in vitro.

Debido a su importancia y uso extendido para este fármaco, se han empleado una variedad de métodos para estudiar su comportamiento químico y desarrollado metodologías para su determinación de amoxicilina, como estudios farmacocinéticos, cromatográficos, espectrofotométricos (4) y electroquímicos.

Desde el punto de vista electroquímico, se han realizado una gran cantidad de estudios para

desarrollar métodos para determinación de amoxicilina en diferentes matices, entre los más recientes, en el 2009 Mei-Hsin Chiu y colaboradores [5] desarrollaron una metodología para mejorar la detección electroquímica de amoxicilina basado en la conocida conversión química de los catecoles en o-quinonas mediante oxidación con  $MnO_2$ , la cual posteriormente se determinó por reducción electroquímica en electrodos de carbono serigrafiados (SPCE). Emplearon un reactor de  $MnO_2$  acoplado con un sensor amperométrico para lograr mayor selectividad y mejor detección. Bajo las condiciones optimizadas, con un potencial aplicado de 0,0 V frente a Ag/AgCl obtuvieron un límite de detección de 17 nM.

En 2016 Fatma Ağın, <sup>(6)</sup> describe como el comportamiento electro-oxidativo de la amoxicilina se investigó en un electrodo de carbón vítreo modificado con poli(naranja de acridina) de pH 5,0 a 8,0 mediante voltamperometría cíclica, de pulso

diferencial y onda cuadrada. Se demostró que la electroquímica de la amoxicilina es irreversible y la difusión se controla utilizando el electrodo modificado con poli(naranja de acridina). La amoxicilina se determinó por pulso diferencial y voltamperometría de onda cuadrada en tampón Britton-Robinson 0,04 M a pH 5,0. Las curvas de calibración fueron lineales entre 0,4 y 20  $\mu M$  con límites de detección de  $1,87 \times 10^{-3} \mu M$  y  $1,55 \times 10^{-2} \mu M$  para voltamperometría de pulso diferencial y voltamperometría de onda cuadrada, respectivamente. Los métodos desarrollados proporcionaron alta selectividad, precisión y exactitud y se emplearon para la determinación de amoxicilina en productos farmacéuticos y suero humano.

En 2019 A. Hrioua y colaboradores, <sup>(7)</sup> realizaron estudios de detección voltamétrica de amoxicilina en el electrodo de grafito utilizando el efecto quelato de los iones de cobre (II) para la aplicación en sangre humana y tabletas farmacéuticas. Hrioua et al, sugiere un nuevo método electroquímico para la



determinación voltamétrica indirecta de amoxicilina (AMX) en presencia de iones de cobre Cu (II) en el electrodo de pasta de carbón (CPE), este método se basa en la interacción entre el antibiótico  $\beta$ -lactámico y los iones de cobre. Dicha interacción se estudió en primer lugar mediante voltamperometría de onda cuadrada (SWV), donde el pico correspondiente a la oxidación de AMX a 0,7 V disminuye significativamente en presencia de iones de cobre. Al seleccionar una concentración apropiada de cobre (II), la curva de calibración para amoxicilina se estableció en el rango de concentración de  $1,95 \times 10^{-7}$  a  $1,46 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>. Se encontró que el límite de detección era  $8,84 \times 10^{-8}$  mol L<sup>-1</sup>. Se estudió la influencia de diferentes compuestos orgánicos en la determinación de AMX y el efecto de la coexistencia de otros iones metálicos en la solución electrolítica. La aplicabilidad del método propuesto se probó en sangre humana y tabletas farmacéuticas.

En 2020 Ademar Wong y colaboradores, (8) presentaron una

nueva plataforma electroquímica basada en nanomateriales de bajo costo para la detección sensible del antibiótico amoxicilina en diferentes matrices, desarrollaron un nuevo dispositivo electroquímico basado en una combinación de nanomateriales como puntos cuánticos de telururo de cadmio y carbono Printex 6L dentro de una película de poli (3,4-etilendioxitiofeno) poliestireno sulfonato para la determinación sensible de amoxicilina. Las características morfológicas, estructurales y electroquímicas del material nanoestructurado se evaluaron mediante difracción de rayos X, microscopía confocal, microscopía electrónica de transmisión y técnicas voltamétricas. La sinergia entre estos materiales aumentó la actividad electroquímica, la tasa de transferencia de electrones y el área de la superficie del electrodo, lo que condujo a una alta magnitud del corriente pico anódico para la determinación de amoxicilina. Se realizó la determinación electroquímica del antibiótico utilizando voltamperometría de onda cuadrada. En las condiciones experimentales



optimizadas, el sensor propuesto mostró alta sensibilidad, repetibilidad y estabilidad a la determinación de amoxicilina, con una curva analítica en el rango de concentración de amoxicilina de 0,90 a 69  $\mu\text{mol.L}^{-1}$ , y un límite de detección bajo de 50  $\text{nmol.L}^{-1}$ . Sin interferencia significativa en la señal electroquímica de amoxicilina se observó a partir de posibles interferencias biológicas y fármacos de amplio uso, como ácido úrico, paracetamol, urea, ácido ascórbico y cafeína. Se demostró que sin ningún tratamiento previo de la muestra y utilizando un dispositivo de medición simple, el sensor podría ser un método alternativo no solo para el análisis de productos farmacéuticos (tabletas comerciales) y muestras clínicas (orina), sino también para examinar la calidad de los alimentos (muestras de leche).

En este sentido, considerando estos resultados, el método SWV se puede aplicar con éxito en el análisis de AMX en fármacos, leche y muestras de orina, ya que no hubo interferencias significativas de la matriz.

En 2021 A.Hrioua y colaboradores, <sup>(9)</sup> presentan una revisión de avances recientes en sensores electroquímicos para la detección de amoxicilina en muestras biológicas y ambientales, con respecto a estudios de voltametría recopilaron lo siguiente: El comportamiento electroquímico de la amoxicilina se ha estudiado utilizando electrodos no modificados como carbono vítreo, grafito, fieltro de carbono, nanotubos de carbono, acero inoxidable, oro, rutenio,  $\text{PbO}_2$ , electrodo de diamante dopado con boro, platino y pantalla. electrodos impresos. En la mayoría de estos estudios, la amoxicilina no presentó ninguna señal voltamétrica de los electrodos sin modificar, pero solo algunos de ellos (carbono vítreo (GC), pasta de carbono (CP), pasta de nanotubos de carbono (CNP), carbono-grafito (CG).), carbón Toray (CT), fieltro de carbón (CF) y electrodos serigrafados (SP)) pudieron mostrarlo, a menudo con un pico no bien definido, lo que refleja su baja sensibilidad, por lo tanto, no eran lo suficientemente buenos para fines



analíticos. En este contexto, se utilizaron medidas voltamétricas cíclicas (CV) para estudiar la electrooxidación de amoxicilina en electrodos no modificados. La respuesta electroquímica mostró un pico de oxidación, que se debe a la reacción de oxidación del sustituyente fenólico ( $\Phi - OH$ ) al respectivo grupo carbonilo ( $\Phi = O$ ) en la cadena lateral de la molécula. (9)

El uso de antibióticos  $\beta$ -lactámicos se ha incrementado durante los últimos años debido a su capacidad para erradicar a microorganismos bacteriales implicados en distintos procesos infecciosos, que en cantidades elevadas de ingestas pueden causar daños al organismo humano. En el área de electroquímica, se han desarrollado numerosos métodos voltamétricos que han permitido estudiar el comportamiento electroquímico de la amoxicilina y proponer posibles mecanismos de oxidación, en medio acuoso y en medio orgánico. Es de especial interés implementar técnicas de análisis complementarias que permitan tener una visión más completa del proceso. El

objetivo de este trabajo es desarrollar una metodología para la determinación de amoxicilina en productos farmacéuticos basada en el uso de la voltametría, optimizar los parámetros inherentes al método de análisis propuesto y aplicar la metodología propuesta en diversas presentaciones comerciales de productos farmacéuticos y realizar la validación del método, mediante una técnica de referencia como es la espectroscopia UV-Visible.

### Procedimiento experimental

#### Celdas y electrodos

Se utilizó una celda de un compartimiento de tres electrodos. Un electrodo de trabajo de carbón vítreo el cual fue pulido con alúmina de entre 0,3 y 0,05  $\mu m$ , sometido a ultrasonido por 10 minutos y lavado con agua 18  $M\Omega \cdot cm^{-1}$  de pureza, El contra-electrodo un alambre de platino en forma de espiral y como referencia un electrodo de Ag/AgCl (KCl Saturado).

#### Instrumentación





Los estudios electroquímicos se realizarán en un potenciostato/galvanostato

**Radiometer** modelo *Voltalab PSTO50* controlado mediante el software *VoltaMaster versión* de Radiometer. Los experimentos de espectroscopia UV-visible se realizarán en un espectrofotómetro Perkin Elmer Lambda 25.

#### Método de referencia UV-visible

El método propuesto se basa en la formación de un complejo de pares de iones de amoxicilina con verde de bromocresol(VDB)<sup>(11)</sup> en un solvente orgánico. Una característica importante del método es que no se requiere extracción y es factible a temperatura ambiente.

#### PROCEDIMIENTO

**Solvente:** Dimetilsulfóxido

**Soluciones:** Patrón: 50 ml de una solución de Amoxicilina de  $1 \times 10^{-4}$  M.

**Muestras:** Pesar el equivalente a 5 pastillas de Amoxicilina, pulverizar y

tomar 0,05 g del Fármaco, agitarlo por aproximadamente 30 min hasta disolverlo en (DMSO)

**Solución de Verde de Bromocresol :** preparar 25 ml con una concentración de 0,001M en DMSO.

Se determina la concentración de la muestra de amoxicilina mediante curvas de calibración sencilla midiendo la absorbancia a una longitud de onda de 630 nm, de una serie de soluciones de amoxicilina en el intervalo de 1-13 mg/L contentivas de VDB a una concentración constante de 9,6  $\mu$ M.

#### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo a los reportes bibliográficos (5), se eligió como medio electrolítico para los estudios voltamétricos, una solución 0,1 M de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>.

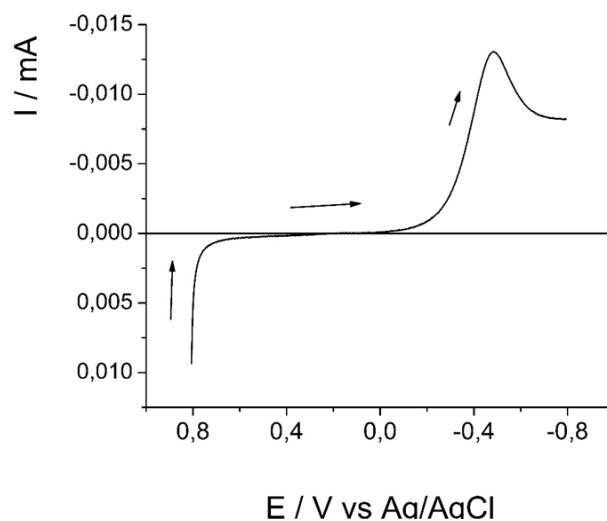
Para los estudios voltamétricos, se aplicó una metodología similar a la reportada por Mei-Hsin Chiu y colaboradores (5), se preparó una solución patrón de amoxicilina 0,1 M, 100 ml de esta solución, fue mezclada con aproximadamente 2 g de MnO<sub>2</sub> en polvo y sometida a baño ultrasónico



durante 2 horas para oxidar cuantitativamente toda la amoxicilina a su respectiva forma quinónica (AMOX) y luego fue centrifugada para separar cuantitativamente el  $MnO_2$  sobrante. A partir de esta solución se prepararon las demás soluciones para los diferentes estudios.

### VOLTAMETRÍA DE LAS SOLUCIONES DE AMOXICILINA OXIDADA (AMOX)

En la figura 2, se muestra la respuesta obtenida por Voltametría de barrido lineal, de una solución de AMOX 1 mM en  $H_3PO_4$  0,1 M, sobre el electrodo de CV a una velocidad de barrido de 50 mV/s; partiendo desde un potencial de 0,8 V hasta -0,8 V vs Ag/AgCl, en la figura 2 se puede observar la ausencia de ondas de oxidación anódica y una onda pronunciada de reducción catódica, atribuible a la reducción del grupo quinona de la AMOX a hidroquinona, tal como lo reportan Mei-Hsin Chiu y colaboradores<sup>(5)</sup>.

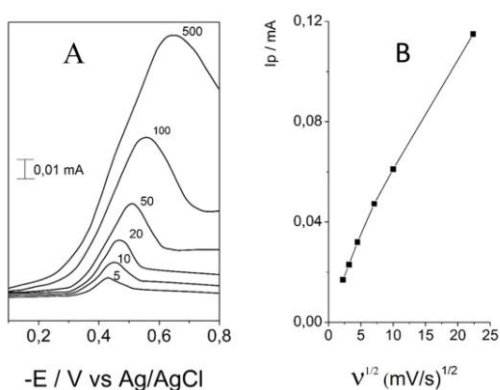


E / V vs Ag/AgCl  
**Figura 2.- Voltametría de barrido lineal para la reducción de AMOX 1mM en  $H_3PO_4$ .**

Bajo estas condiciones de trabajo, el  $E_p$  de reducción de la AMOX se observa a -0,49 V vs Ag/AgCl ( $E_p = -0,49$  V).

Al realizar esta experiencia a diferentes velocidades de barrido, pero solamente en el intervalo catódico desde 0,0 hasta -0,8 V (Figura 3), se obtiene una respuesta típica para un sistema irreversible en el cual, el  $E_p$  catódico es dependiente de la velocidad de barrido y se infiere un mecanismo de reacción mixto ya que al graficar  $I_p$  catódico en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, no hay comportamiento lineal en todo el intervalo de velocidades (Figura 3 B) y la curva no intercepta en el origen,

como lo exigen los criterios de reversibilidad (34)



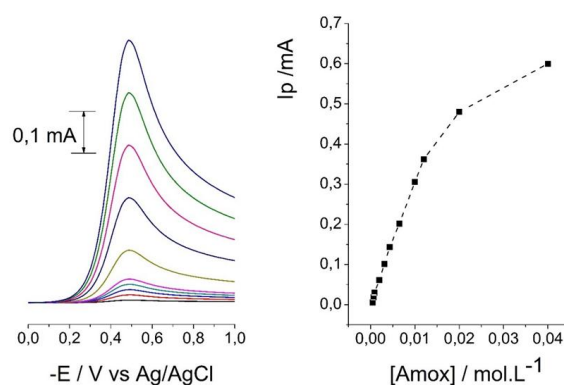
**Figura 3.-** Respuesta voltamétrica de la reducción de AMOX 1mM a diferentes velocidades de barrido: 5, 10, 20, 50, 100 y 500 mV/s.

Por otro lado, en la figura 3 A se puede observar que a partir de la velocidad de barrido de 50 mV/s, las ondas catódicas comienzan a ensancharse, lo cual para fines analíticos va en detrimento de la selectividad del método. Por tal razón, todos los estudios en este trabajo se realizaron a 50 mV/s.

### Influencia de la concentración de AMOX en la intensidad de corriente.

Para estudiar la influencia de la concentración de AMOX sobre la

intensidad de los picos catódicos, se realizaron experimentos de VBL bajo las condiciones ya definidas y se realizaron barridos en soluciones de AMOX desde  $1,0 \times 10^{-4}$  hasta  $1,4 \times 10^{-2}$  M. En la figura 4, se muestran los voltagramas obtenidos y la curva resultante de graficar la Ip del pico a -0,48 V. Donde se puede observar, un aumento creciente de las intensidades de corriente sin embargo a partir de concentraciones cerca de  $1,2 \times 10^{-2}$  M, se produce un cambio en la pendiente de la curva Ip vs [AMOX] obteniéndose una zona lineal, entre  $1,0 \times 10^{-3}$  y  $1,2 \times 10^{-2}$  M; de esta manera las curvas de calibración sencilla y de adición de estándar se realizaron en este intervalo de concentraciones.



**Figura 4.-** Respuesta voltamétrica por VBL obtenida para la reducción de



**AMOX sobre en H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> 0,1 M en un intervalo de concentraciones de entre 1,0×10<sup>-4</sup> y 1,4×10<sup>-3</sup> M**

En la tabla I, se pueden apreciar los parámetros de calidad obtenidos a partir

de la curva de calibración sencilla y la desviación estándar del blanco obtenida experimentalmente.

**Tabla I.** Características analíticas de las curvas de calibrado obtenidas mediante VBL.

Técnica	R	Sensibilidad ( <i>m</i> ) <i>mA/mol.L<sup>-1</sup></i>	Sm <i>mA/mol.L<sup>-1</sup></i>	Intercepto ( <i>b</i> ) <i>mA</i>	Sb <i>mA</i>	LOD ×10 <sup>-4</sup> <i>mol.L<sup>-1</sup></i>	LOQ ×10 <sup>-3</sup> <i>mol.L<sup>-1</sup></i>
VBL	0,9990	32,1	0,45	0,067	0,003	3,21	1,07

Donde Sm es la desviación estándar de la pendiente de la curva de calibrado, Sb la desviación estándar del cote en la abscisa.

**Curva de calibración por adición de estándar (CCAE) y análisis de significancia entre las pendientes de la curva de calibración sencilla, para la determinación de Amoxicilina.**

Para determinar si existen interferencia de matriz en las condiciones estudiadas, se realizó una curva de calibración por adición de estándar para cada uno de los medicamentos estudiados; para lo cual se siguió el protocolo siguiente:

M1 y M2: tomando en cuenta la cantidad de medicamento declarada por el fabricante se pesó la cantidad de polvo necesaria para preparar 50 mL de solución de concentración nominal de 0,1 M.

M3: se pulverizaron y homogeneizaron 5 pastillas y tomando en cuenta la cantidad de medicamento declarada por el fabricante (500 mg / pastilla) se pesó la cantidad necesaria para preparar una solución de concentración nominal de Amoxicilina 0,1 M en el electrolito de soporte.

Todas las soluciones fueron sometidas a baño ultrasónico para facilitar la



disolución del medicamento y luego centrifugadas para eliminar el exceso de excipiente insoluble.

Con las soluciones de los medicamentos descritas anteriormente, se prepararon soluciones de concentración nominal de amoxicilina 0,05 M con las cuales a su vez se prepararon una serie de 6 soluciones de cada medicamento, contentivas de 1 ml de solución 0,05 M del respectivo medicamento y volúmenes variables en incremento de una solución patrón 0,1 M de amoxicilina, para así tener una serie de soluciones de muestra más estándar que corresponden a un intervalo de concentraciones desde  $2 \times 10^{-3}$  hasta  $1,2 \times 10^{-2}$  M

En la figura 4 se muestran las CCAE obtenidas para cada medicamento, superpuestas a la CCS, donde se observan excelentes correlaciones lineales, sin embargo, para todos los casos hay una diferencia apreciable en el valor de la pendiente de la recta, respecto a la CCS.

Para determinar si las diferencias entre las pendientes de la CCS (Tabla I) y las curvas de CCAE (Tabla II) son

estadísticamente significativas, se realizó la prueba de hipótesis (*t*-Student) (10)

Para los tres medicamentos los valores de  $t_{exp}$  calculados son:  $t_{M1} = 58,3$ ;  $t_{M2} = 175,6$  y  $t_{M3} = 108,6$ .

El valor crítico estadístico (valor tabulado en función del nivel de confianza y los grados de libertad)(10):

$$t_{crítico} = t(\alpha, \sigma) = t(0,05, 5) = 2,57$$

Mediante el análisis estadístico de significancia de las pendientes de la curva de calibración sencilla y la curva del método de adición estándar, se realiza la comparación entre  $t_{exp}$  y  $t_{crítico}$ .

Para determinar la existencia de interferencias de la matriz en la determinación de amoxicilina, se observa que para todos los casos,  $t_{exp} > t_{crítico}$ , por lo tanto se comprueba la hipótesis nula  $H_0$ , lo que indica que con un nivel de confianza del 95 %, la diferencia entre los valores de pendiente es significativa, ya que el valor de  $t_{exp}$  se encuentra muy por encima del rango establecido; este resultado implica que bajo las condiciones de trabajo, existe interferencias de matriz que afectan las mediciones, por lo tanto se debe aplicar

solo la curva de calibración por adición de estándar para las determinaciones.

**Tabla II.-** Resultados de la regresión lineal para las CCAE:  $I_p = b + m[A_{\text{mox}}]$

Fármaco	m	Sm	B (mA)	Sb (mA)	R
M1	26,44923	0,24871	0,05433	0,00194	0,99956
M2	22,41129	0,13812	0,04526	0,00108	0,99981
M3	19,44965	0,29483	0,04067	0,0023	0,99885

Conocido esto, se procedió a construir curvas de adición de estándar para encontrar la concentración de Amoxicilina en las diversas formulaciones farmacéuticas, obteniéndose los resultados que se muestran en la tabla III.

### Curvas de calibración por adición de estándar (CCAЕ)

Los valores de volumen y concentración empleados para la elaboración de las CCAE fueron los siguientes:

$C_{\text{muestra}}(\text{nominal}) = 6,5 \times 10^{-3} \text{M}$ ;  $V_{\text{muestra}} = 10 \text{ ml}$ ;  $C_{\text{estándar}} = 0,03 \text{M}$ ;  $V_{\text{estándar}} = 0,1, 2, 3, 4, 5, 6 \text{ ml}$

El intervalo de error se expresa para un límite de confianza del 95 %, para lo cual el valor estadístico tabulado es 2,57 para 5 grados de libertad,  $S_{xe}$  es el error estadístico de regresión por extrapolación (10). Cada punto de la curva es el promedio de 5 medidas

**Tabla III.** Concentraciones encontradas por extrapolación de las CCAE.

Fármaco	Ecuación de la CAE	[Amox] Nominal	[Amox] Obtenida	LC ( $S_{xe} \times 2,45$ )	% Recuperación
---------	--------------------	----------------	-----------------	-----------------------------	----------------

		$\text{mol.L}^{-1} \times 10^3$	$\text{mol.L}^{-1} \times 10^3$		
M1	$I_p = 0,20850 + 0.03752[\text{Amox}]$	6,5	6,67	0,11	$102,61 \pm 1,69$
M2	$I_p = 0,13604 + 0.02579[\text{Amox}]$		6,33	0,25	$97,38 \pm 3,85$
M3	$I_p = 0,10001 + 0.01874[\text{Amox}]$		6,40	0,18	$98.46 \pm 2,77$

### Validación por espectroscopia UV-Visible:

Como se ha mencionado anteriormente, la validación por espectroscopia UV-Visible, se realizó mediante un método reportado como estándar en la bibliografía (11).

Se pudo observar a simple vista una marcada diferencia de color entre una solución de verde de bromocresol 9,6  $\mu\text{M}$  y la misma solución 9,6  $\mu\text{M}$  de VDB pero además contentiva de 10 mg/L de amoxicilina, en DMSO como solvente.

Este cambio se debe como lo establece la bibliografía, a la formación de un par iónico entre la amoxicilina y el VDB, lo produce un máximo de absorbancia a 630 nm; en la figura 6A, se muestran los espectros obtenidos para diversas

soluciones de Amoxicilina en presencia de una concentración fija de 9,6  $\mu\text{M}$  de VB. Por otra parte, en la figura 6B se muestra la curva de calibración sencilla obtenida al graficar la absorbancia a 630 nm en función de las concentraciones en el intervalo de 0 – 14 mg/L. Cada punto corresponde al promedio de 5 mediciones de absorbancia, cuya reproducibilidad en todos los casos fue mayor al 99,9 %.

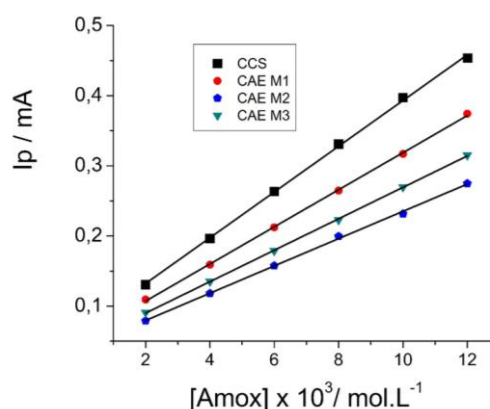


Figura 5.- Curvas de calibración sencilla y curvas de adición de estándar,  $I_p$  vs [AMOX]

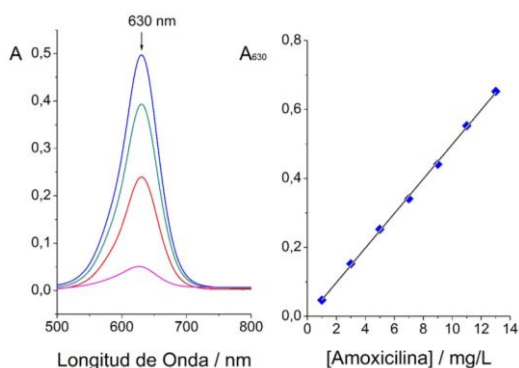


Figura 6.- Espectros de absorción en UV-Visible de soluciones de amoxicilina en DMSO, en presencia de VDB 9,6 µM

Tabla IV. Características analíticas de la curva de calibrado obtenida mediante espectroscopia UV-Visible. Ecuación de la CCS =  $A=0,0501[Amox] -0,00205$

R	Sensibilidad (m) $A/mgL^{-1}$	$S_m$ $\times 10^4$	Intercepto (b) U.A.	$S_b$	LOD $mg.L^{-1}$	LOQ $mg.L^{-1}$
0,9993	0,0501	5,6121	-0,00205	0,0045	0,27	0,90

Tabla V. Concentraciones molares obtenidas por interpolación de las curvas de calibración sencilla.

Fármaco	[Amoxicilina] Nominal mM	[Amoxicilina] Obtenida mM	LC ( $S_{x_0} \times 2,45^*$ )	% Recuperación
M1	8,50	8,71	0,08	102,47
M2		8,01		94,23
M3		8,36		98,35

\* $t_{\text{crítico}}$  para 6 grados de libertad (7-1 medidas) y 95 % de confianza<sup>(10)</sup>.

$S_{x_0}$  es el error de la concentración interpolada<sup>(10)</sup>

**Análisis de significancia entre los resultados obtenidos por VBL y espectroscopia UV-Visible.**



Para decidir si la diferencia entre las medidas muestrales es estadísticamente significativa, se aplicó la prueba de contraste  $F(10,12,13,14)$ , y así verificar si existe diferencia significativa entre las desviaciones estándar obtenidas en ambas técnicas. Los resultados de la aplicación de la prueba F se muestran en la tabla 12; estos fueron calculados para un límite de confianza del 95 % y 11 grados de libertad,

encontrándose que no hay diferencia significativa para el nivel de confianza establecido, por otro lado, al contrastar los resultados de concentración y recuperación por ambas técnicas, se observa que para todos los casos  $t_{exp}$  es menor que  $t_{crítico}$  para todos los casos, por lo cual se establece que ambas técnicas arrojan resultados que estadísticamente no difieren significativamente

Tabla VI. Análisis de significancia para los fármacos de amoxicilina.

Formulación	$t_{crítico}$ (Límite de confianza del 95% y 11 grados de libertad)	$t_{experimental}$
M1	2,20	1,03
M2		0,85
M3		0,25

## CONCLUSION

En este trabajo se desarrolló una propuesta metodológica para la determinación de Amoxicilina en formulaciones farmacéuticas (comprimidos y polvo para suspensión oral). La estrategia de trabajo utilizada

para la preparación de estándares y muestras para el caso de los estudios electroquímicos realizados en medio acuoso, así como también las experiencias realizadas por espectroscopia UV-Visible utilizando DMSO como solvente; propiciaron el desarrollo de un método de análisis



simple, rápido y de bajo costo. Bajo las condiciones de trabajo seleccionadas se construyeron curvas de calibración sencilla y de adición de estándar para evaluar el comportamiento lineal de la amoxicilina en el rango de concentraciones seleccionado, para los cuales se observó que las pendientes de las CCAE mostraron diferencias significativas con las correspondientes a la concentración por voltimetría de barrido lineal, indicando estos resultados que el método propuesto si presenta interferencias de tipo físico y químico por parte de la matriz de la muestra. Los porcentajes de recuperación obtenidos tanto como para la técnica de VBL como para la de espectroscopia UV-Visible revelan que la concentración de amoxicilina encontrada en las dos técnicas muestra una buena concordancia con los valores declarados en la etiqueta del producto. Mostrando la prueba de *t-studen*, que estadísticamente las dos técnicas proporcionan resultados que no difieren significativamente para las soluciones estudiadas de amoxicilina. Lo que permite así utilizar como validación la

técnica espectroscópica, de acuerdo con lo reportado en la bibliografía consultada. Las figuras de mérito relacionadas con sensibilidad, precisión y exactitud; confieren a ambas técnicas un perfil adecuado para ser utilizado en el control de calidad de este tipo de productos.

#### REFERENCIAS

1. Huttner A, Bielicki J, Clements MN, Frimodt-Møller N, Muller AE, Paccaud J-P, et al. Oral amoxicillin and amoxicillin-clavulanic acid: properties, indications and usage. *Clin Microbiol Infect.* 2020;26(7):871–9.
2. Koolman J, Rohm K. *Bioquímica. Editorial Médica Panamericana 3a Edición España.* 2004;.
3. Seija V, Vignoli R. Principales grupos de antibióticos. *Temas de bacteriología y virología médica 3ra Ed. Facultad de Medicina. Instituto de higiene, oficina del*



- Libro-Fefmur. Montevideo; 2008.
4. Kiszkiel-Taudul I, Starczewska B, Wierzbowska M. Development of chromatographic techniques connected with corona and tandem mass spectrometry detection systems for determination of amoxicillin in bovine milk. *Food Control*. 2023;144(109342):109342.
  5. Chiu M-H, Chang J-L, Zen J-M. An analyte derivatization approach for improved electrochemical detection of amoxicillin. *Electroanalysis*. 2009;21(14):1562–7.
  6. Ağın F. Electrochemical determination of amoxicillin on a poly (acridine orange) modified glassy carbon electrode. *Analytical Letters*. 2016;49(9):1366–78.
  7. Hrioua A, Farahi A, Lahrich S, Bakasse M, Saqrane S, Mhammedi MA. Chronoamperometric Detection of Amoxicillin at Graphite Electrode using Chelate Effect of Copper (II) Ions: Application in Human Blood and Pharmaceutical Tablets *ChemistrySelect*. 2019;8350–7.
  8. Wong A, Santos AM, Cincotto FH, Moraes FC, Fatibello-Filho O, Sotomayor MDPT. A new electrochemical platform based on low cost nanomaterials for sensitive detection of the amoxicillin antibiotic in different matrices. *Talanta* 2020;206(120252):120252.
  9. Hrioua A, Loudiki A, Farahi A, Bakasse M, Lahrich S, Saqrane S, et al. Recent advances in electrochemical sensors for amoxicillin detection in biological and environmental samples. *Bioelectrochemistry*. 2021;137(107687):107687.
  10. James N, Jane C. *Estadística y quimiometría para química analítica*. 4a Edición. Madrid; 2002.
  11. Mrudul R. Keskar.; Ravin M. Jugade. A new



- 
- spectrophotometric method for determination of amoxicillin using bromocresol green. World Journal of Pharmacy And Pharmaceutical Sciences 2013; 33(2):1340—1348.
12. Escalante M, Ortíz R, Weinhold E, Velazco G, Acta Bioclinica, 2015; 5( 9):17-32
13. Ortiz R, Nava L, Martínez Y, Weinhold E, Paredes A, Revista Facultad de Farmacia 2017;59(1):7-16
14. Vivas R, Ortiz R, Revista de Ingeniería y Tecnología Educativa (RITE), 2019;2(2):16-25