

## Cuantificación y caracterización electroquímica de diclofenaco en electrodo de grafito

Zamora Suárez Andrés<sup>1</sup>, Aguilar Lira Guadalupe Yoselin<sup>1</sup>, Rojas Hernández Alberto<sup>2</sup>,  
Rodríguez Ávila José Antonio<sup>1</sup>, Páez Hernández María Elena<sup>1</sup>,  
Álvarez Romero Giaan Arturo<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Carretera Pachuca-Tulancingo km. 4.5, Mineral de la Reforma, Hidalgo, México, CP 42076.

<sup>2</sup>Universidad Autónoma Metropolitana-Iztapalapa. Departamento de Química, Área de Química Analítica. Av. Michoacán y Purísima s/n Col. Vicentina, México D.F., CP 09340.

giaan@uaeh.edu.mx

Fecha de aceptación: 26 de junio de 2015

Fecha de publicación: 23 de septiembre de 2015

### RESUMEN

En el presente trabajo se propone una METODOLOGÍA nueva para detectar y cuantificar diclofenaco. La cuantificación se hace de manera indirecta se realiza en medio acuoso con una barra de grafito como electrodo de trabajo. Se analiza el proceso electroquímico del diclofenaco a través de una voltamperometría cíclica encontrando dos picos anódicas a un potencial de 0.60 V y 0.92 V; en sentido catódico dos pico a 0.057 V y 0.343 V. Para generar la señal analítica se usan dos tratamientos diferentes: un tratamiento potenciométrico y otro potencioestático. La METODOLOGÍA propuesta se usa para la cuantificación de diclofenaco en muestras farmacéuticas comerciales, resultando un método correlativo.

**Palabras Clave:** diclofenaco, voltamperometría, muestras farmacéuticas.

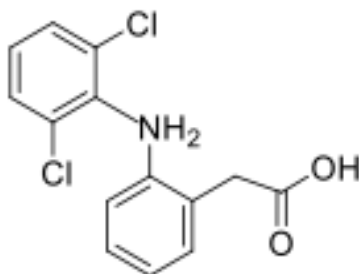
### ABSTRACT

In this work, a new method is proposed for sensing diclofenac. Indirect quantification is performed in aqueous media with a graphite bar as working electrode. The electrochemical process is analyzed using cyclic voltammetry and two anodic peaks are found at 0.60 V and 0.92 V, also two cathodic peaks at 0.057 V and 0.343 V. To generate the analytic signal, two different treatments are studied: potentiodynamic and potentiostatic to the working electrode. The proposed methodology is used for diclofenac quantification in commercial pharmaceutical samples, resulting a competitive method.

**Key words:** diclofenac, voltammetry, pharmaceutical simple.

## INTRODUCCIÓN

El diclofenaco (DFC) es un derivado fenilacético cuyo nombre químico es ácido 2-{2-[(2,6-diclorofenil) amino] fenil} acético y cuya fórmula molecular es  $C_{14}H_{11}Cl_2NO_2$  (Figura 1), pertenece al grupo de NSAIDs con propiedades antipiréticas, analgésicas y antiinflamatorias (Kormosh *et al.*, 2009)



**Figura 1.** Estructura química del diclofenaco

El diclofenaco se utiliza generalmente para el tratamiento de enfermedades agudas o crónicas en las que están presentes el dolor y la inflamación, como es la artritis reumatoide, espondilitis anquilosante, osteoartritis, lesiones deportivas, espondilitis anquilosante (Yang *et al.*, 2008).

Las técnicas para cuantificar el diclofenaco se basan en los métodos tradicionales como: HPLC pero existen otras técnicas que son para la cuantificación de este fármaco por ejemplo: cromatografía de gases (Degen PH. 1988), espectrofotometría, cromatografía en capa delgada (Bhushan *et al.*, 2007), cromatografía líquida (Roskar, 2003), fluorometría (Daminai, 1999), espectrofotometría de inyección de flujo (García *et al.*, 1998) y la electroforesis capilar de zona (Jin *et al.*, 200).

Para cuantificar el diclofenaco electroquímicamente destacan los métodos voltamperométricos donde se utilizan diferentes tipos de electrodos de trabajo para seguir la oxidación del diclofenaco como señal analítica: electrodos de carbono modificados con impresión molecular (López *et al.*, 2003), electrodo de grafito pirolítico con nanotubos de carbono de pared simple (Yang *et al.*, 2008), electrodo de grafito pirolítico (Goyal *et al.*, 2010), dopado con Cu-dopado zeolita-expandida grafito -epoxi (Manea *et al.*, 2010).

Se propone una METODOLOGÍA electroquímica optimizada para la cuantificación de diclofenaco en muestras farmacéuticas mediante el uso de voltamperometría diferencial de pulsos. El electrodo de trabajo es de grafito el cual es de bajo costo y no se encontraron diferencias significativas con la eficacia a comparación otros métodos ya reportados o los oficiales.

## METODOLOGÍA

### Construcción del electrodo de trabajo

Para la construcción del electrodo de trabajo se usan barras de grafito ultrapuro. Ya que se necesita tener una superficie constante en los experimentos con el electrodo, se usa una barra de teflón perforandola lo necesario para sostener dentro de ella un trozo de la mencionada barra de grafito (Figura 2). Posteriormente se rellena con resina epóxica Araldit-HY y se deja curar por 12 h. Ya solidificada la resina, se lija de forma que se expone la base de la barra de grafito. Todos los potenciales están referidos al electrodo de referencia plata-cloruro de plata y usando como electrodo auxiliar una barra de grafito ultrapuro.



**Figura 2.** Construcción del electrodo de trabajo

### **Análisis electroquímico de diclofenaco en el electrodo de trabajo propuesto**

Se realiza una voltamperometría cíclica (CV), utilizando un potenciostato metrohm AUTOLAB PGSTAT302n, iniciando en el potencial de corriente nula, en sentido anódico, ciclando en una ventana de potencial de -1300 a 1300 mV y con una velocidad de barrido de 50 mV/s primero para el blanco que consiste en un buffer de fosfatos 0.1 M a pH 7 sin diclofenaco. Después se realizan otras CV's para el sistema diclofenaco-fosfatos ( $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ ), se analizan las ondas anódicas y catódicas encontradas a diferentes ventanas de potencial. Se realiza también el análisis de los cambios en la intensidad de la máxima corriente anódica vs la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ya que esto dará luz sobre el mecanismo que controla el proceso oxidativo.

### **Optimización de la voltamperometría de pulso diferencial (DPV) para la cuantificación de diclofenaco**

Se realiza la optimización de los parámetros de análisis propios de la voltamperometría diferencial de pulsos de forma consecutiva en una ventana de potencial de 0.15 V a 0.7 V tomando en cuenta como señal analítica la máxima intensidad de corriente anódica, a una concentración de diclofenaco de  $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ , y a 25 °C. La optimización de la DPV se lleva a cabo mediante el método Simplex modificado con la ayuda del software MultiSimplex ® versión 2.1.

### **Caracterización analítica**

Mediante el análisis de las curvas de calibración obtenidas con el sistema optimizado, se establecen los límites de detección, cuantificación y la sensibilidad del método propuesto. Utilizando una ventana de potencial de 0.15 V a 0.7 V tomando en cuenta como señal analítica la máxima intensidad de corriente anódica a un potencial de 0.060 V.

El efecto de interferentes en la respuesta se evalúa teniendo en cuenta algunas especies químicas importantes que normalmente se encuentran como excipientes en las muestras. La interferencia se representa como el porcentaje de error de la máxima intensidad de corriente del diclofenaco respecto a la máxima intensidad de corriente del naproxeno con el interferente. El estudio se realiza a diferentes concentraciones de los interferentes mayores a la concentración usada de diclofenaco.

La reproducibilidad del método propuesto se determina construyendo cinco electrodos de barra de grafito y se evalúa la desviación estándar relativa de las respuestas obtenidas al medir varias veces y consecutivamente la corriente anódica máxima en una misma concentración de diclofenaco con los diferentes electrodos. Para el caso de la repetibilidad se mide cinco veces con un mismo electrodo la

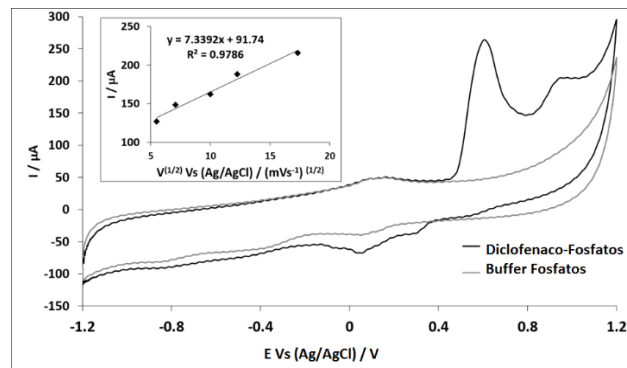
corriente anódica máxima en una solución de diclofenaco y se obtienen también las desviaciones estándar relativas.

### Cuantificación de diclofenaco en muestras farmacéuticas

La muestra farmacéutica se trata como lo menciona la farmacopea mexicana 2011. Mediante adición patrón y los cálculos correspondientes se realiza la cuantificación del fármaco en la muestra, el porcentaje de recuperación se evalúa calculando la concentración del fármaco encontrada entre la concentración del fármaco esperada.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

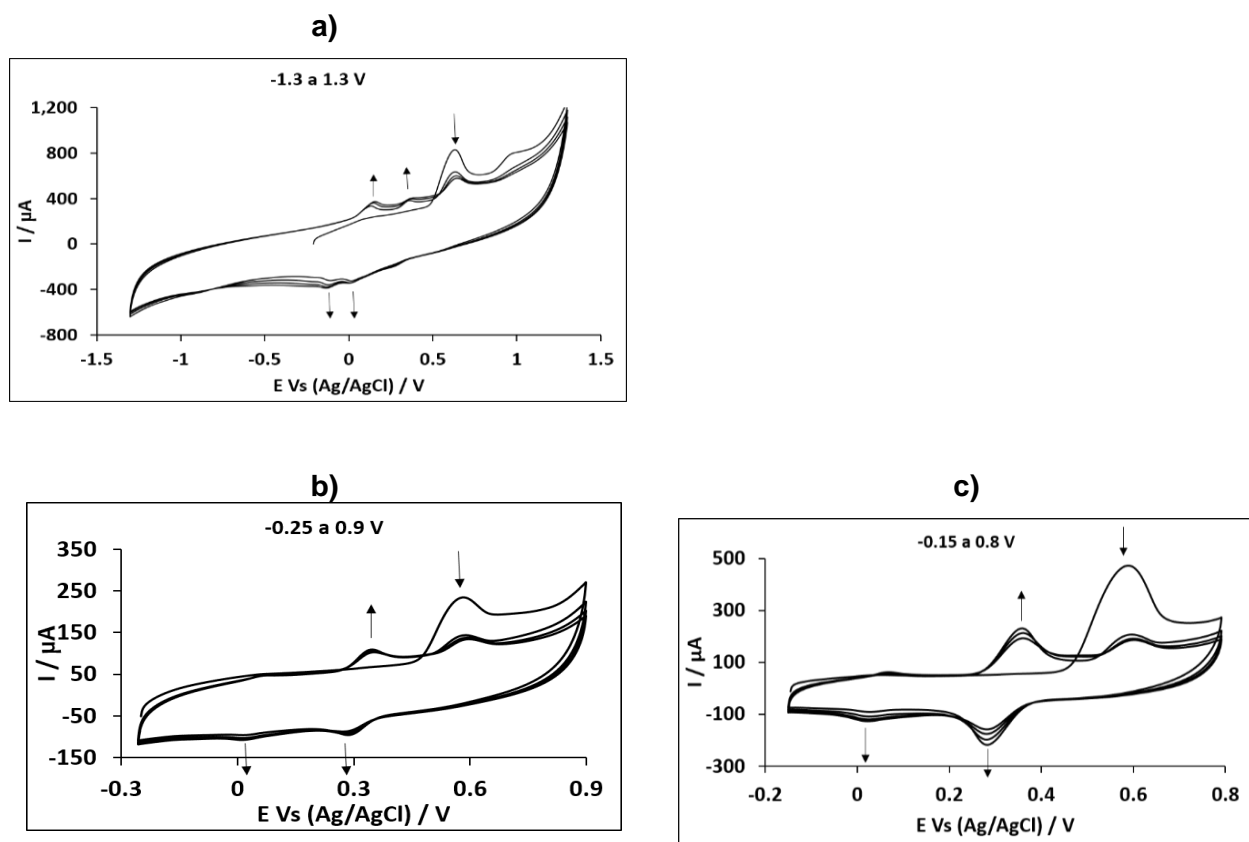
Se estudió del comportamiento electroquímico del diclofenaco sobre el electrodo de trabajo propuesto. En la Figura 3 se muestran las voltamperometría ciclicas del sistema buffer-fosfatos y el sistema diclofenaco-fosfatos. En el voltamperograma del sistema diclofenaco-fosfatos se observan tres ondas anódicas, la primera onda se asocia a un proceso diferente a la oxidación del diclofenaco, la segunda onda corresponde a la oxidación del diclofenaco a un potencial de 0.60 V, y la tercera onda anódica a un potencial de 0.92 V puede corresponder al 2,6-diclorobencenoamina que es un subproducto de la oxidación del diclofenaco (Goyal *et al.*, 2010). En sentido catódico se observan tres picos de reducción a los potenciales -0.05 V, 0.28V y 0.57V; el primer pico catódico se asocia a un proceso diferente a la oxidación del diclofenaco los dos restantes se atribuyen a procesos relacionados al diclofenaco y los productos obtenidos en la oxidación del mismo. En el recuadro muestra la máxima intensidad de corriente anódica asociada a la oxidación del diclofenaco contra la raíz cuadrada de la velocidad de barrido a una concentración  $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ , tomando el pico de oxidación de mayor intensidad al potencial de 0.060 V. Se puede observar que el proceso de oxidación está controlado por la difusión



**Figura 3.** CV's resultado del sistema diclofenaco-fosfatos a una concentración de  $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$  y el buffer de fosfatos a pH= 7, velocidad de barrido de  $50 \text{ mVs}^{-1}$ .

Para evaluar el comportamiento electroquímico del diclofenaco en el electrodo de grafito, se realizan cuatro ciclos de la CV's de manera consecutiva a diferentes ventanas de potencial, empezando los barridos en el potencial de corriente nula (Figuras 4a y 4b) y también empezando desde el potencial más catódico de la ventana utilizada para las dos últimas (Figuras 4c).

En la CV de la Figura 4a se utiliza una ventana de potencial mas amplia donde aparecen dos picos anódicos. Los picos de oxidación que aparecen a partir del segundo barrido a potenciales cercanos a cero podrían ser útiles para fines cuantitativos y poder así determinar de forma indirecta al diclofenaco.



**Figura 4.** CV's del diclofenaco =  $[1 \times 10^{-3} \text{ mol L}^{-1}]$  a diferentes ventanas de potencial; a) -1.3 a 1.3 V b) -0.25 a 0.9 V, c) -0.15 a 0.8 V.

Al recortar ambas ventanas, tanto catódica como anódica (Figura 4b) se observa que el pico en 0.06 V está relacionado directamente a la formación del producto de oxidación del diclofenaco. Para el caso de los picos catódicos, aparecen sólo dos picos a 0.05 V y 0.32 V. En la Figura 3c, al recortar más la ventana de barrido, los picos catódicos y anódicos observados tienen mayor intensidad de corriente, esto apunta al perfil de un proceso de adsorción. La diferente intensidad en los picos anódicos y catódicos se debe a que es un proceso de oxidación del diclofenaco es irreversible.

### Optimización de la voltamperometría de pulso diferencial (DPV) para la cuantificación de diclofenaco

Se realiza la optimización de los parámetros de la DPV hacia obtener la máxima corriente anódica con el método Simplex-modificado. Después de 20 experimentos, se lograron encontrar los parámetros óptimos reportados en la Tabla 1.

**Tabla 1.** Parámetros óptimos de la DPV encontrados con el Método Simplex Modificado.

Paso E (mV)	Ancho pulso (ms)	Periodo pulso (ms)	Amplitud pulso (mV)	Altura pico ( $\mu A$ )
13	73	178	123	753

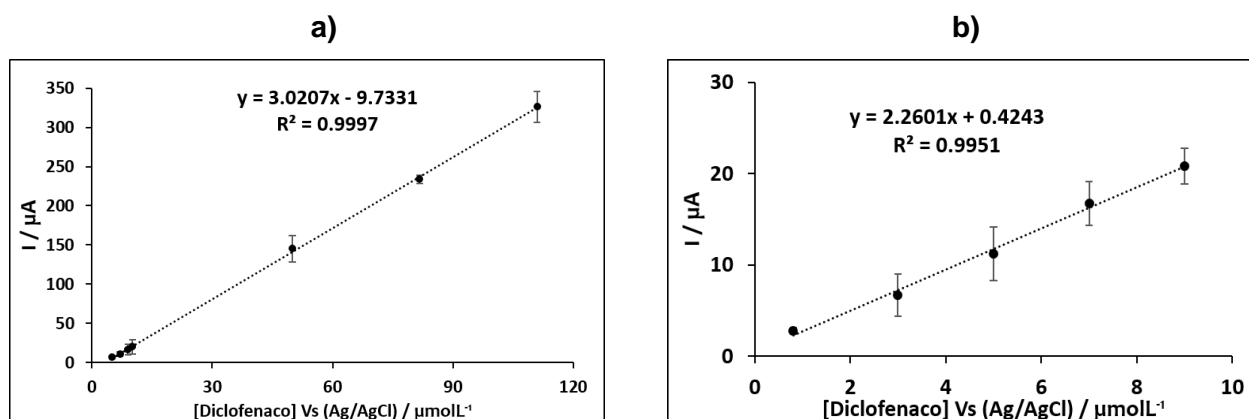
## Caracterización analítica

### Límite de detección y de cuantificación

Se usan dos pretratamientos para aumentar la señal analítica. Primer tratamiento: es potenciodinámico, se efectúan dos DPV de manera consecutiva en una ventana de potencial de 0.15 V a 0.7 V, la primera para oxidar al diclofenaco y la segunda para obtener la señal analítica que sirve para la cuantificación indirecta (Figura 4).

Segundo tratamiento: es potencioestático, se impone un potencial de 0.610 V durante 50s, seguido de una DPV con los parámetros óptimos mostrados en la Tabla 1 (Figura 3b).

Mediante ajuste por mínimos cuadrados se obtienen los parámetros analíticos correspondientes al método propuesto (Tabla 2).



**Figura 4.** Curva de calibración para el diclofenaco a diferentes concentraciones en un buffer de fosfatos 0.1 molL<sup>-1</sup> a pH 7.

**Tabla 2.** Parámetros analíticos para el diclofenaco.

Parámetros analíticos	Tratamiento potenciodinámico	Tratamiento potencioestático
Sensibilidad ( $\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$ )	$3.02 \pm 2.47$	$2.26 \pm 0.53$
$R^2$	0.999	0.995
[LOD] ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	2.45	0.76
[LOQ] ( $\mu\text{mol L}^{-1}$ )	8.19	2.56

En la Tabla 3 se comparan los parámetros analíticos para la cuantificación del diclofenaco con los reportados con otras METODOLOGÍAS electroquímicas reportadas en la literatura.

**Tabla 3.** Parámetros analíticos del diclofenaco con el electrodo de grafito comparados con los electrodos reportados en la literatura.

Electrodo	pH	Epa(V)	Intervalo lineal (mol L <sup>-1</sup> )	Límite detección (mol L <sup>-1</sup> )	Referencia
*Grafito	7	0.295	2.56 x10 <sup>-6</sup> - 9x10 <sup>-6</sup>	0.76x10 <sup>-6</sup>	Este trabajo
**Grafito	7	0.295	8.19x10 <sup>-6</sup> - 115x10 <sup>-6</sup>	2.45 x10 <sup>-6</sup>	Este trabajo
Ni(OH) <sub>2</sub> –Níquel modificado	100mM NaOH	0.490	196 x10 <sup>-6</sup> - 2650 x10 <sup>-6</sup>	3.17 x10 <sup>-6</sup>	[11]
EPPGE	7.2	0.66	10x10 <sup>-9</sup> - 1000x10 <sup>-9</sup>	6.2x10 <sup>-9</sup>	[12]
SWCNTs-EPPGE	7.2	0.439 y 0.854	1.0x10 <sup>-9</sup> - 500x10 <sup>-9</sup> 2.5x10 <sup>-9</sup> - 1500x10 <sup>-9</sup>	0.82x10 <sup>-9</sup> y 22.5x10 <sup>-9</sup>	[13]
ISE	6.0–9.0	----	10x10 <sup>-6</sup> - 1000x10 <sup>-6</sup>	4x10 <sup>-6</sup>	[14]
Película de Bismuto	-----	-----	6x10 <sup>-6</sup> - 50x10 <sup>-6</sup>	4.3x10 <sup>-6</sup>	[15]
Electrodo de pasta de carbono/ CNT's	-----	-----	2x10 <sup>-6</sup> - 100x10 <sup>-6</sup>	0.8x10 <sup>-6</sup>	[16]
Electrodo de boro dopado con diamante	1.0 (HClO <sub>4</sub> )	-----	5x10 <sup>-6</sup> - 50x10 <sup>-6</sup>	0.14x10 <sup>-6</sup>	[20]

\*Grafito: tratamiento potencioestático; \*\*Grafito: tratamiento potenciodinámico

### Reproducibilidad y repetibilidad del electrodo de barra de grafito

Los resultados señalan que la respuesta del electrodo de barra de grafito es reproducible, ya que presenta un porcentaje de desviación estándar menor al 10% (9.6 %) y con el estudio de repetitividad del electrodo se obtiene una desviación estándar relativa de 6.9 %, por lo que se puede decir que la respuesta obtenida es aceptable.

### Estudio de interferentes con el electrodo de barra de grafito

En la Tabla 4 se muestra el porcentaje de error relativo para cada interferente analizado, los principales interferentes son: naproxeno, paracetamol y ácido ascórbico. Estos alteran la respuesta analítica incluso a una concentración igual a la del diclofenaco, se debe a que presentan actividad redox a un potencial cercano a 0.3 V.

**Tabla 4.** Estudio de interferentes a una concentración de diclofenaco  $3 \times 10^{-5}$  mol L<sup>-1</sup>.

Interferente	% error [Inter]= $3 \times 10^{-5}$ mol L <sup>-1</sup>	% error [Inter]= $1 \times 10^{-4}$ mol L <sup>-1</sup>	% error [Inter]= $1 \times 10^{-3}$ mol L <sup>-1</sup>	% error [Inter]= $1 \times 10^{-2}$ mol L <sup>-1</sup>
Acetato	-	-	-	1.53
Nitrato	-	-	2.81	23.13
Cloruro	-	-	3.58	7.17
Benzoato	-	-	-	2.71
Paracetamol	+	+	+	+
Naproxeno	33.3	28.45	31.26	+
Ácido Ascórbico	+	+	+	+
Yoduro	-	0.47	+	+

- [-] El % de error es prácticamente cero.
- [+] El % de error es mayor al 100%

### Cuantificación de diclofenaco en muestras farmacéuticas

Se comparan la METODOLOGÍA propuesta con la METODOLOGÍA aceptada en normas, a un nivel de confianza del 95% (Tabla 5). Se observa que las varianzas son iguales como lo indica el estadístico  $F_{exp}$ . Al realizar el análisis  $t$  se puede concluir que no existe diferencia significativa entre los valores encontrados con la METODOLOGÍA propuesta y el método espectrofotométrico.

**Tabla 5.** Concentración de diclofenaco en muestras farmacéuticas.

[a] n= 3;  
g<sub>l</sub>=4.30,  
de nivel

Fármaco	A	B
Cantidad en el marbete (mg)	100	100
Cantidad encontrada con la METODOLOGÍA propuesta (mg)	98.68±5.39	91.81±1.74
Estadístico $t_{exp}$ [a]	0.42	8.1
Cantidad encontrada con el método espectrofotométrico (mg)	102.65±3.07	92.83±1.23
Porcentaje de recuperación (Fármaco)	102.6%	92.8%
Estadístico $t_{exp}$ [b]	1.10	0.82
Estadístico $F_{exp}$ [c]	1.75	1.42

$t_{crítico, 2}$   
95 %  
de

confianza  
[b] n<sub>1</sub>= 3, n<sub>2</sub>=3;  $t_{crítico, 4}$  g<sub>l</sub>=2.78, 95 % de nivel de confianza  
[c]  $F_{2, 2}$ =39, 95 % de nivel de confianza

### CONCLUSIONES

El método que se propone es una alternativa para cuantificar diclofenaco en muestras farmacéuticas comerciales en solución acuosa, en donde se cuantifica el analito de forma indirecta siguiendo una onda anódica a un potencial de 0.298 V usando dos pretratamientos para aumentar la señal analítica: un



tratamiento potenciometrico y otro potenciostático. El electrodo de trabajo es de grafito el cual es de bajo costo, al comparar con otros electrodos no se encontraron diferencias significativas con la eficacia con los reportados con otras METODOLOGÍAs electroquímicas reportadas en la literatura. Al realizar la cuantificación de diclofenaco en muestras farmacéuticas se comprovo que el metodo propuesto es muy competitivo con otros metodos reportados o con los metodos oficiales.

## REFERENCIAS

- Bhushan R., D. Gupta, A. Mukherjee (2007). Liquid chromatographic analysis of certain commercial formulations for non-opioid analgesics. *Biomed. Chromatogr.* 21: 1284.
- Daminai PC, Bearzotti M, Cabezón MA, Olivieri C (1999). *J. Pharm. Biomed. Anal.* 20: 587–590.
- Degen PH (1988). *Methodol. Surv. Biochem. Anal. Bioanal. Drugs Metab.* 18: 107–114.
- F. Manea, M. Ihos, A. Remes, G. Burtic, J. Schoonmanc, (2010). *Electroanal.*, 22: 2058–2063.
- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, 10a edición, 1 (2011).
- García M.S., M.I. Albero, C. Sánchez Pedreño, J. Molina, J. Pharm (1998). Flow-injection spectrophotometric determination of diclofenac sodium in pharmaceuticals and urine samples. *Biomed. Anal.* 17. 267.
- Jin W., J. Zhang, J. Chromatogr (2000). Determination of diclofenac sodium by capillary zone electrophoresis with electrochemical detection. 868: 101–107.
- López M.C.B., M.-J.L. Castañón, A.J.M. Ordieres, P.T. Blanco (2003). Voltammetric determination of mefenamic acid at lanthanum hydroxide nanowires modified carbon paste electrodes. *Anal Bioanal Chem* 377 257–261.
- Rajendra N. Goyal, Sanghamitra Chatterjee, Bharati Agrawal (2010). Electrochemical investigations of diclofenac at edge plane pyrolytic graphite electrode and its determination in human urine. *Sensors and Actuators B* 145, 743–748.
- Roskar R, Kmetec V. (2003) Liquid chromatographic determination of diclofenac in human synovial fluid. *Chromatogr B.* 788: 57– 64.
- Roskar R, Kmetec V. Liquid chromatographic determination of diclofenac in human synovial fluid. *Chromatogr B* 2003; 788: 57–64.
- X. Yang, F. Wang, S. Hu, Mater Sci. (2012) Nano TiO<sub>2</sub> -PEDOT Film for the Simultaneous Detection of Ascorbic Acid and Diclofenac. *Int. J. Electrochem. Sci.*, 7: 2109–2122.
- X. Yang, F. Wang, S. Hu, Mater Sci. (2012) Nano TiO<sub>2</sub> -PEDOT Film for the Simultaneous Detection of Ascorbic Acid and Diclofenac. *J. Electrochem. Sci.*, 7: 2109-2122
- Zh. A. Kormosh, I. P. Hunka, and Y. R. Bazel (2009). An ion-selective sensors for assay of diclofenac in medicines. *Pharmaceutical Chemistry Journal*, 43: 428-430.