

V.8- CUANTIFICACIÓN Y CARACTERIZACIÓN ELECTROQUÍMICA DE DICLOFENACO EN ELECTRODO COMPOSITE DE PASTA DE CARBONO Y NANOTUBOS DE CARBONO

Andrés Zamora Suárez^a, G. A. Álvarez Romero^{a*}, G.Y Aguilar Lira^a

^a Universidad Autónoma del Estado de Hidalgo, Área Académica de Química, Carretera Pachuca-Tulancingo km. 4.5, 42076 Mineral de la Reforma, Hidalgo.

RESUMEN

Los analgésicos, antiinflamatorios no esteroideos (NSAID's por sus siglas en inglés), son un grupo de medicamentos que comparten acciones farmacológicas y efectos indeseables semejantes. Dentro de los fármacos ampliamente prescritos y reconocidos se encuentra el diclofenaco exhibiendo propiedades antiinflamatorias, analgésicas y antipiréticas. El uso con y sin prescripción médica, ha traído como resultado que este tipo de fármacos se cuantifique principalmente en muestras farmacéuticas. En el presente trabajo se propone una metodología para detectar y cuantificar diclofenaco.

La cuantificación se hace de manera directa en medio acuoso, utilizando un electrodo de pasta con nanotubos de carbono como electrodo de trabajo. Se analiza el proceso electroquímico del diclofenaco a través de una voltamperometría cíclica. La metodología propuesta se usa para la cuantificación de diclofenaco, tomando el pico de oxidación a un potencial de 0.61 V. Los parámetros analíticos obtenidos se realizaron a pH 8, teniendo como resultado una sensibilidad de $0.194 \pm 0.09 \mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$, límites de detección de $0.74 \mu\text{molL}^{-1}$ y límites de cuantificación de $2.49 \mu\text{molL}^{-1}$, lo que podría ser una alternativa para cuantificar diclofenaco en muestras farmacéuticas ya que se obtienen parámetros analíticos muy similares o más bajos a los reportados en la literatura.

Palabras Clave: Diclofenaco, Voltamperometría, Muestras Farmacéuticas, Nanotubos de carbono, Cuantificación.

ABSTRACT

Nonsteroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) share similar pharmacological actions and undesirable effects. Within the widely prescribed and known drugs, diclofenac exhibits anti-inflammatory, analgesic and antipyretic properties. High consume of this drug has made necessary its control and regulation in pharmaceutical samples. In the present work we propose a methodology to detect and quantify diclofenac.

Quantitation is directly made in aqueous medium, using a carbon paste electrode with carbon nanotubes as working electrode. Diclofenac electrochemistry is analyzed by cyclic voltammetry, with an oxidation peak at a potential of 0.61 V. pH 8 resulted to be the best resulting in a sensitivity of $0.194 \pm 0.09 \mu\text{A} / \mu\text{molL}^{-1}$, detection limit of $0.74 \mu\text{molL}^{-1}$ and quantitation limit of $2.49 \mu\text{molL}^{-1}$, indicating that this could be an alternative to quantify diclofenac in pharmaceutical samples, with better analytical parameters than those reported in literature.

Keywords: Diclofenac, Voltammetry, Pharmaceutical samples, Carbon Nanotubes, Composites.

1. 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)

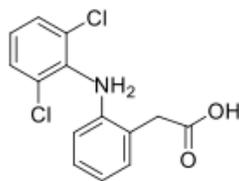


Figura 1. Estructura química del diclofenaco.

El diclofenaco se utiliza generalmente para el tratamiento de condiciones 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 (Garcia et al., 1998) y la electroforesis capilar de zona (Jin et al., 2000).

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). En la industria farmacéutica se han usado de manera confiable y rápida.

Nanomateriales y, especialmente, los nanotubos de carbono (CNT) tienen convertido en el tema de intensas investigaciones en las últimas décadas debido a sus propiedades únicas y las aplicaciones prometedoras en cualquier aspecto de la nanociencia y la nanotecnología (Karimi-Maleh et al., 2014). Debido a sus nanoestructuras unidimensionales únicas, los nanotubos de carbono presentan fascinantes propiedades electrónicas y ópticas que son distintos de otros materiales carbonosos y nanopartículas de otros tipos. CNTs son ampliamente utilizados en electrónicos y optoelectrónicos, biomédica, farmacéutica, energía, catalítica, ana- analí-, y los campos de materiales (Ensafi et al., 2011).

El análisis de drogas y la administración de fármacos juegan un papel importante en el control de calidad de los medicamentos, y tienen un gran impacto en la salud pública (Raouf et al., 2009). Por lo tanto, un método simple, sensible y preciso para la determinación de ingrediente activo es muy importante la industria farmacéutica.

2. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

2.1 Construcción del electrodo de pasta de carbono

Se construyen la pastas para el electrodo de trabajo, mezclando 47.5% de polvo de grafito, 2.5% de nanotubos de carbono sin activar (MWCNTs-sin activar) y 50% de aceite mineral.

La pasta obtenida se coloca con una microespátula en un tubo de jeringa de 1mL (30 mm de largo por 5mm de ancho) y se compacta. Al final, en un extremo se coloca el contacto eléctrico. Todos los potenciales están referidos al electrodo de referencia plata-cloruro de plata y usando como electrodo auxiliar una barra de grafito ultra puro.

2.2 Estudio electroquímico

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.

2.3 Optimización de la voltamperometría diferencial de pulsos (DPV) para la cuantificación de los fármacos en el electrodo de trabajo propuesto

Se realiza la optimización de los parámetros de análisis propios de la DPV: el ancho del pulso (ms), la amplitud del pulso (mV), el paso del potencial (mV) y el periodo del pulso (ms), de forma que se obtenga la mayor corriente anódica. La optimización de la DPV se lleva a cabo mediante el método Simplex modificado con la ayuda del software MultiSimplex ® versión 2.1

2.4 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.

El efecto de interferentes en la respuesta se evalúa teniendo en cuenta algunas especies iónicas importantes que normalmente se encuentran como excipientes en las muestras farmacéuticas y que pueden interferir en la respuesta del electrodo, como nitratos, acetatos, cloruros, benzoatos, glicina, ácido ascórbico, lactosa, glucosa, manitol. 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 diclofenaco con el interferente. El estudio se realiza a diferentes concentraciones de los interferentes que van desde una concentración igual, 10 y 100 veces mayor 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 ($1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$) 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 de $1 \times 10^{-3} \text{ molL}^{-1}$ y se obtienen también las desviaciones estándar relativas.

2.5 Cuantificación de diclofenaco en muestras farmacéuticas

Diez tabletas del fármaco de interés se trituran hasta llegar a polvo fino y se pesa el equivalente a 275 mg del mismo. Se diluye esta masa en una solución buffer de fosfatos 0.1 molL^{-1} a pH 7 y se transfiere a un matraz aforado de 250 mL. La disolución se agita en un baño de ultrasonido durante 5 min aproximadamente, después se filtra para eliminar el excipiente con un papel filtro de $42 \mu\text{m}$ de tamaño de poro, se transfiere el filtrado a un matraz aforado de 250 mL y se afora. A continuación se toman $121 \mu\text{L}$ y se aforan a su vez en un matraz volumétrico de 25 mL con el mismo buffer de fosfatos (Farmacopea Mexicana, 2011). Mediante adición patrón y los cálculos correspondientes se realiza la cuantificación del fármaco en la muestra.

Mediante un estadístico t se evalúa si existe evidencia significativa entre el valor obtenido con la metodología propuesta y lo reportado en el marbete de la muestra farmacéutica o con el reportado por un método oficial como lo marca la farmacopea mexicana 2011.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se realiza el estudio electroquímico del diclofenaco mediante voltamperometría cíclica en el electrodo de pasta que contiene a los CNT, se llevan a cabo barridos a diferentes ventanas de potencial a una disolución de diclofenaco 1×10^{-3} M, en buffer de fosfatos pH 7. En la Figura 2 se presentan los resultados. En el primer segmento en sentido anódico se observa el pico de oxidación correspondiente al diclofenaco seguido de un segundo proceso anódico, conforme se va acortando la ventana catódica no se observan ningún cambio en el perfil electroquímico, por lo cual se escoge -0.4 V como el potencial catódico para la ventana en estudio. Por otro lado, se hace el corte del límite de potencial anódico a 0.8 V, sin embargo se pierde información importante para la onda de oxidación de diclofenaco lo que afectaría el seguimiento cuantitativo de la molécula, por lo que se decide mantener el límite en 1.3 V.

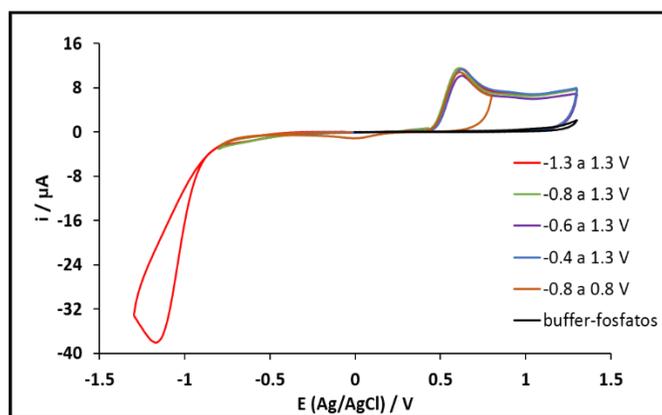


Figura 2. VC's para el diclofenaco para el electrodo de pasta grafito-CNT y aceite mineral.

La señal analítica para el seguimiento de los cambios de concentración del diclofenaco es el pico de oxidación del mismo, que se presenta a un potencial de corriente máxima de 0.61 V en el electrodo de trabajo basado en CNTs.

Se realiza un estudio a diferentes pH's, en un buffer de Britton-Robison 0.1 M, a una concentración fija de diclofenaco. Como se muestra en la Figura 3, a pH 9 se obtiene la mayor intensidad de corriente, sin embargo, hay una fuerte interferencia de la onda del segundo proceso de oxidación. Considerando esto, a pH 8 se define mejor el pico anódico asociado con la oxidación del fármaco y la segunda onda anódica interfiere menos en esta señal, por lo que se escoge este pH para realizar el análisis cuantitativo.

Se realiza el estudio a diferentes velocidades de barrido. En la Figura 4 se muestra la relación de la máxima intensidad de corriente del pico anódico con la raíz cuadrada de la velocidad de barrido del diclofenaco donde se observa una tendencia lineal, lo que sugiere que el proceso de oxidación está controlado por la difusión de la especie electroactiva hacia la superficie del electrodo.

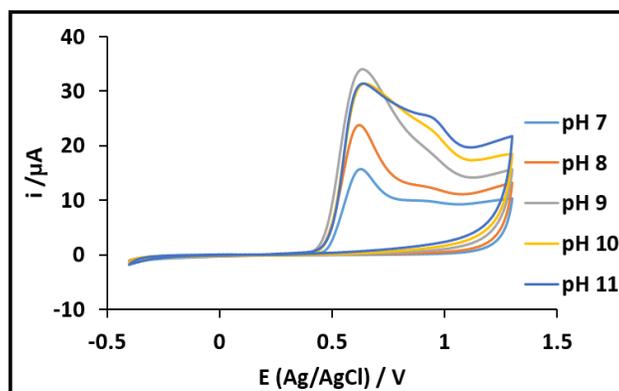


Figura 3. Estudio de pH en un buffer Britton-Robison 0.1 M, en un rango de 6-10, con una [diclofenaco]= 1×10^{-3} M.

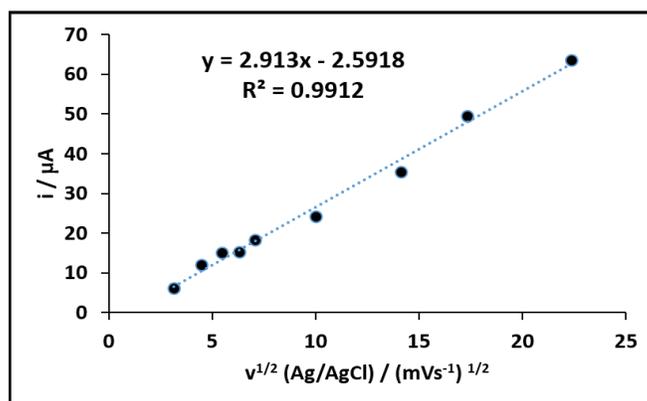


Figura 4. Ajuste lineal entre la intensidad de corriente en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido.

Se realiza la optimización de la señal analítica de forma que se maximice la corriente anódica, a un potencial de 0.6 V, con el método simplex modificado. Se realizaron 23 experimentos para el electrodo de polvo de grafito-CNT, donde se encontraron los parámetros óptimos para la DPV que se muestran en la Tabla 1, usando una ventana de potencial de -0.4 a 1.3 V, a una concentración de diclofenaco de 1×10^{-3} molL⁻¹, y a 25 °C.

Tabla 1. Parámetros óptimos de la PDV encontrados con el software Multi-Simplex.

Paso E (mV)	Ancho pulso (ms)	Periodo pulso (ms)	Amplitud pulso (mV)	Respuesta (μA)
20	19	99	92	79

Se realizaron tres curvas de calibración usando los parámetros óptimos de la DPV de la Tabla 1, en la Figura 5 se muestra el resultado del promedio de las tres repeticiones a diferentes intervalos de concentración, tomando en cuenta la máxima corriente del pico de oxidación para el diclofenaco. Se obtienen dos intervalos lineales uno a concentraciones bajas y otro a concentraciones medias, obteniendo los parámetros analíticos que se reportan en la Tabla 2, donde se observa que en ambas concentraciones, se obtiene límites de cuantificación bajos y una alta sensibilidad.

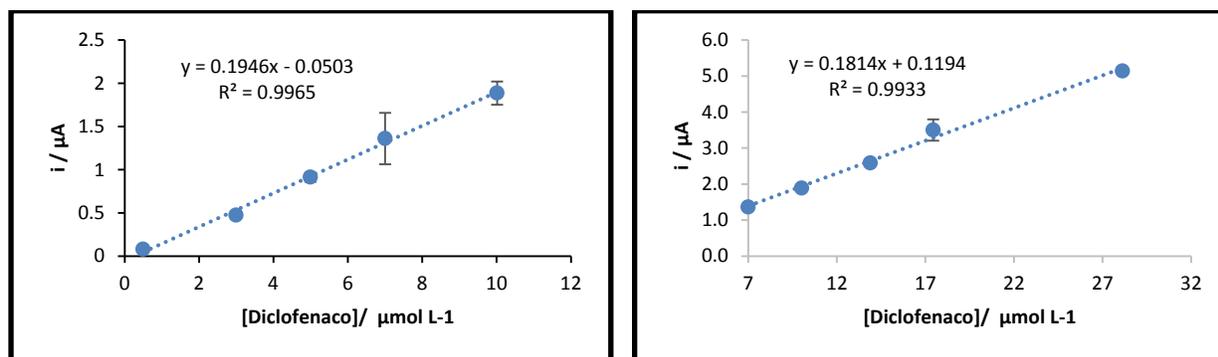


Figura 5. Curva de calibración para el diclofenaco en un buffer Britton-Robison 0.1 molL⁻¹ a pH 8. Usando el electrodo de grafito-NTC a concentraciones bajas y medias.

Tabla 2. Parámetros analíticos para el electrodo propuesto.

Parámetros analíticos	Electrodo Grafito-CNT	
	Bajas	Altas
	Concentraciones	Concentraciones
Sensibilidad($\mu\text{A}/\mu\text{molL}^{-1}$)	0.194 ± 0.09	0.181 ± 0.04
R ²	0.996	0.993
[LOD] ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0.74	2.55
[LOQ] ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	2.49	8.52
IC ($\mu\text{mol L}^{-1}$)	0.5– 10	8.52 – 30

Se analiza la influencia sobre la respuesta analítica de algunas especies químicas que podrían contener los excipientes en la presentación comercial del diclofenaco. En la Tabla 3 se muestra el porcentaje de error relativo para cada interferente analizado, los principales interferentes son el ácido ascórbico ya que presentan una fuerte alteración en la respuesta analítica incluso a una concentración igual a la del diclofenaco, debido a que este fármaco presenta actividad redox a un potencial cercano a 0.610 V.

Tabla 3. Estudio de interferentes a una concentración de diclofenaco 1.5×10^{-5} mol L⁻¹.

Interferente	% error [Inter]= 1.5×10^{-5} mol L ⁻¹	% error [Inter]= 1.5×10^{-4} mol L ⁻¹	% error [Inter]= 1.5×10^{-3} mol L ⁻¹	% error [Inter]= 1.5×10^{-2} mol L ⁻¹
Yoduro	-	5.35	-	+
Nitrato	-	-	9.05	43.42
Cloruro	-	-	-	4.53
Fluoruro	-	-	7.82	52.39
Glucosa	9.06	23.46	91.36	+
Lactosa	-	7.41	37.45	+
Ácido Ascórbico	48.56	+	+	+

[-] El % de error es prácticamente cero.

[+] El % de error es mayor al 100%

Se realiza la cuantificación de diclofenaco en muestras farmacéuticas y se comparan la metodología propuesta con la metodología aceptada en normas, a un nivel de confianza del 95% (Tabla 4). 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 4. Concentración de diclofenaco en muestras farmacéuticas.

Fármaco	A	B
Cantidad en el membrete (mg)	100	100
Cantidad encontrada con la metodología propuesta (mg)	81.5	89.8
Cantidad encontrada con el método espectrofotométrico (mg)	79.9	89.9
Estadístico t_{exp} [a]	0.12	0.02

[a] $n_1=3$, $n_2=3$ $t_{critico, 4 gl}=2.78$, 95% de nivel de confianza

4. 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 siguiendo una onda anódica a un potencial de 0.61 V, utilizando un electrodo de trabajo de pasta con NTC, los parámetros analíticos

obtenidos se realizaron a pH 8, obteniendo una sensibilidad alta, límites de cuantificación y detección bajos. Al realizar la cuantificación de diclofenaco en muestras reales se comprobó que el método propuesto es muy competitivo con el oficial.

AGRADECIMIENTOS

Los autores externan su gratitud al CONACYT por el apoyo financiero otorgado para el desarrollo de esta investigación a través del proyecto 180989.

BIBLIOGRAFÍA

- [1]. PH Degen: *Anal. Bioanal. Drugs Metab*, 1988, vol 18, pp. 107–114.
- [2]. R Roskar, V Kmetec: *Biomed. Chromatogr*, 2003, vol. 5, pp. 57–64.
- [3]. R. Bhushan, D. Gupta, A. Mukherjee: *Biomed. Chromatogr*, 2007, vol. 21, pp. 1284-1290.
- [4]. W. Jin, J. Zhang: *Chromatography A*, 2000, vol. 868, pp. 101–107.
- [5]. M.C.B. López, J.L. Castañón, A.J.M. Ordieres, P.T. Blanco: *Anal Bioanal Chem*, 2003, vol. 377, pp. 257–261.
- [6]. X. Yang, F. Wang, S. Hu: *Mater. Sci. Electrochem.*, 2012, vol. 7, pp. 2109 – 2122.
- [7]. Rajendra N. Goyal, Sanghamitra Chatterjee, Bharati Agrawal: *Sensors and Actuators*, 2010, vol. B145, pp. 743–748.
- [8]. H. Karimi-Maleh, M. Moazampour, H. Ahmar, H. Beitollahi, A.A. Ensafi: *Measurement*, 2014, vol. 51, pp. 91–99.
- [9]. A.A. Ensafi, H. Karimi-Maleh, S. Mallakpour, B. Rezaei: *Colloids Surf.*, 2011, Vol. B 87, pp. 480–488.
- [10]. J.B. Raoof, R. Ojani, H. Karimi-Maleh: 2009, *Appl. Electrochem.*, Vol. 39, 1169–1175.