

Ecofarmacovigilancia y la determinación del diclofenaco sódico mediante electroanálisis

Yaritzza, Pizarro-Aguilar^{1*}; Jaime, Ordoñez-Santander²;
Carolina, Mackliff- Jaramillo³; Andrés, Medina-Preciado⁴; Marisela, Segura- Osorio⁵

Resumen

El Diclofenaco se ha convertido en un medicamento muy consumido por los pacientes debido a su acción farmacológica antiinflamatoria, que disminuye el efecto de las prostaglandinas, causantes de la inflamación y dolor. Por su disposición final inadecuada, ocasiona alrededor del mundo problemas a nivel ecológico, específicamente en la fauna. Siendo parte del grupo de contaminantes emergentes, que no están regulados, a pesar del efecto tóxico capaz de alterar la biósfera, por ejemplo, extinción de buitres asiáticos, 100% mortalidad de embriones pez cebra a concentraciones (100mg/L) con 70% de similitud al genoma humano. Esta investigación planteó la determinación de diclofenaco sódico en soluciones acuosas mediante técnica electroanalítica de escaneo lineal (LSV). Se utilizó un electrodo serigrafado de carbón vítreo modificado con nanotubo de carbono (WMCNT/SGCE) que contiene un sistema integrado de electrodos auxiliar (electrodo de platino) y de referencia (electrodo de plata-cloruro de plata Ag/AgCl). El estudio de pH abarcó un abanico de potencial desde 0.25 V hasta 0.95 V, obteniéndose un mejor desarrollo electroquímico en medios ácidos. Se construyeron curvas de calibrado a partir de comprimidos comerciales y un patrón de DCF (USP). La linealidad, exactitud, precisión del método fueron significativas.

Palabras claves: Ecofarmacovigilancia; sensor electroquímico; nanotubo de carbono multiparedes; (ASV/LSV).

Ecofarmacovigilancia and the determination of diclofenac sodium by electroanalysis

Abstract

Diclofenac has become a drug widely consumed by patients due to its anti-inflammatory pharmacological action, which decreases the effect of prostaglandins, which cause inflammation and pain. Due to its inadequate final disposition, it causes ecological problems around the world, specifically in wildlife. Being part of the group of emerging pollutants, which are not regulated, despite the toxic effect capable of altering the biosphere, for example, the extinction of Asian vultures, the 100% mortality of zebrafish embryos at concentrations (100mg / L) with 70% of similarity to the human genome. This research raised the determination of diclofenac sodium in aqueous solutions using electroanalytic linear scanning (LSV). A vitreous carbon-screen modified carbon nanotube (WMCNT / SGCE) electrode containing an integrated auxiliary (platinum electrode) and a reference electrode (silver-silver chloride Ag / AgCl electrode) electrode were used. The pH study covered a range of potential from 0.25 V to 0.95 V, obtaining a better electrochemical development in acidic media. Calibration curves were constructed from commercial tablets and a DCF standard (USP). The linearity, accuracy, precision of the method were significant.

Key words: Ecofarmacovigilancia; electrochemical sensor; multi-walled carbon nanotubes; (ASV/LSV).

Recibido: 15 de junio de 2019

Aceptado: 14 de agosto de 2019

¹ Bioquímica farmacéutica; Laboratorista; Universidad Técnica de Machala; ypizarro_est@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0003-2598-8206>

² Ingeniero Químico; DianaFood Ecuador; santingeniero1292@gmail.com; <https://orcid.org/0000-0003-4491-2207>

³ Dra. En Bioquímica y Farmacia; Docente de la Universidad Técnica de Machala; cmackliff@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0001-7096-1980>

⁴ Ingeniero Acuicultor; Jefe del Departamento de investigación y desarrollo; Empagram S.A.; andresmedina2121@yahoo.com; <https://orcid.org/0000-0002-5925-4588>

⁵ Bioquímica Farmacéutica; Docente de la Universidad Técnica de Machala; msegura@utmachala.edu.ec; <https://orcid.org/0000-0002-1431-2529>

* Autor para correspondencia: ypizarro_est@utmachala.edu.ec

I. INTRODUCCIÓN

La Ecofarmacovigilancia ha revolucionado en los últimos años por el estudio del consumo de fármacos para mantener a salvo el medio ambiente de éstos. La OMS la define como la encargada en detectar, evaluar, prevenir las causas y efectos que se producen por la presencia de principios activos farmacéuticos en el ecosistema que afectan a los seres vivos (Loera et al., 2016).

Cabe indicar que la ecofarmacovigilancia es una ciencia en desarrollo que no está regulada en la mayoría de países (Castro et al., 2015); por lo que el alto consumo de antiinflamatorios no esteroideos en la población humana, ha producido a través del mecanismo de excreción, la contaminación en aguas residuales; y algunos desperdicios de medicamentos elaborados en empresas farmacéuticas han contribuido a la contaminación del medio ambiente (Medhi y Sewal, 2012).

Estos fármacos llamados “contaminantes emergentes” tienen la posibilidad de causar daño al medio ambiente en bajas concentraciones, esto aborda que organismos de protección ambiental exija ensayos ecotoxicológicos en microorganismos acuáticos como en algas y en algunos peces que presenten niveles tróficos (Holm y Snape, 2013) como por ejemplo, el masivo consumo de diclofenaco en la medicina veterinaria ha reaccionado con preocupación por el descenso sustancial de reserva de algunas especies de buitres de Europa provocándoles insuficiencia renal aguda (Lindon, 2017) y en el continente asiático la pérdida del 97% de tres especies de buitres (*Gyps bangalensis*), (*Gyps indicus*) y (*Gyps tenuirostris*), fueron declarados en peligro de extinción (Medhi y Sewal, 2012; He et al., 2017); el etinil estradiol desechado en el medio acuático ha provocado la feminización de algunos peces machos (Quijano et al., 2016).

Gran parte de estudios y pruebas ecotoxicológicas del Diclofenaco sódico realizadas en Fitoplancton y Zooplancton, mostraron una mayor sensibilidad del Fitoplancton ($CE_{50}(96h) = 14,5mgL^{-1}$ y $CE_{50}(96h) = 22,43mgL^{-1}$), medida que afectaría al 50% de la población expuesta al cabo de 96 horas, perjudicando la supervivencia, crecimiento, reproducción y

fisiología de los invertebrados acuáticos (Restrepo, 2015).

Se reportaron estudios del efecto del diclofenaco en la fecundación del erizo negro de mar (*Tetrapygus niger*) a través del recuento de óvulos en la membrana de fertilización expuestos a 30 minutos, evidenciándose que a mayor concentración del diclofenaco a 100 ppm disminuye el porcentaje de fecundación hasta un 36%, desestabilizando la membrana plasmática del espermatozoide, interrumpiendo el proceso de fecundación (Zavaleta et al., 2018).

Algunos experimentos con diclofenaco sobre hepatocitos humanos en ratas y especies acuáticas de *Oryzias latipes* y *Oncorhynchus mukiss* indicaron que este medicamento produce daño celular en sí, apoptosis e incremento en la expresión del gen para la producción de vitelogenina, proteína que puede ser un potencial agente estrogénico (Martínez et al., 2009).

Debido al uso generalizado de AINEs, se asociaron algunos efectos adversos tales como complicaciones gastrointestinales (GI) y cardiovasculares (CV) (Marcén et al., 2016), el Ministerio de Salud Pública (MSP), la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios (AEMPS) ha manifestado advertencias sobre el efecto potencial dañino de los AINEs; específicamente el diclofenaco e ibuprofeno, aunque estos están todavía disponibles de venta libre, sin ningún tipo de atención farmacéutica relacionada con su uso y efectos potenciales (Alcántara y Sánchez, 2016).

Los AINEs se encuentran en el grupo que pueden causar alteraciones hepáticas específicamente idiosincrásicas (Lanas et al., 2014), indicándose que la tasa de efectos adversos hepáticos graves fue de 21/100.000 para diclofenaco siendo este fármaco con más riesgo de toxicidad. Entre los factores más identificados están la edad, género femenino, consumo crónico de alcohol, fármacos concomitantes, obesidad, DM2 y resistencia a la insulina. siendo como agentes causantes el diclofenaco, lumiracoxib y nimesulida. (Cano et al., 2017).

Para la determinación de diclofenaco existen varios métodos como son cromatografía de gases, cromatografía líquida, espectrofotometría, colorimetría, espectrofluorometría y voltametría. Señalando que la mayoría de estos métodos son de alto costo (Ensafti et al., 2013), a diferencia de la técnica de Voltametría que tiene la característica de ser una técnica accesible.

Por lo cual hemos implementado una técnica electroquímica que sea de gran eficacia, confiable, rápida y precisa, ya que estos métodos electroquímicos ofrecen ventajas como sensibilidad, costo de operación bajos y relativamente rápidos debido al tiempo de análisis comparado con otras técnicas mencionadas anteriormente (Goyal et al., 2010; Xia et al., 2016).

La celda electroquímica es un sistema que consta de un electrolito y tres electrodos que son separadas por diferentes soluciones electrolíticas, en sí, el más considerado para el uso es el carbón vítreo según (Gómez et al., 2002; Chamjangali et al., 2015). Los electrodos convencionales han presentado dificultades en la reproducibilidad, por ello se ha implementado la fabricación de electrodos desechables llamados electrodos serigrafados (SPEs), que contienen una plataforma impresa integrada a una placa de cerámica que produce mayor flexibilidad haciendo un análisis en cantidades menores, aprovechando esta característica se implementa para el sistema una biocompatibilidad con nanotubos de carbono (Andrade et al., 2012; Kalambate y Srivastava., 2016).

Los SPEs son susceptibles a variadas modificaciones y de menos costo por ello la aplicación de los biosensores que trabajan a escalas nanométricas, tienen una gran ventaja de ser transformadas con nanotubos de carbono (CNT), éstos se han presentado en varias aplicaciones en el área de la ciencia e ingeniería (Garay y Camargo., 2017); (Bujes, 2013).

En esta investigación se utilizó electrodos serigrafados o de plataforma impresa, se realizaron varias lecturas con promedios para elaborar la curva de calibrado y obtener el coeficiente de determinación $r > 0,9999$ y regresión lineal $R^2 > 0,9998$. Además,

se obtuvieron valores de precisión superiores al 98% con una desviación estándar de blanco RSD 0,0089, obteniendo un límite de detección (LOD) 0,096 $\mu\text{g/ml}$ y un límite de cuantificación (LQ) 0,248 $\mu\text{g/ml}$, precisión, exactitud que cumplieron con los parámetros establecidos para la normalización y validación de métodos analíticos.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

Tipo de investigación: Estudio experimental/explicativo fundamentado en la determinación de diclofenaco sódico mediante electroanálisis, con picos de intensidad de corriente a diferentes concentraciones de solución patrón.

Ubicación geográfica: El estudio se realizó en laboratorio de investigación área de electroquímica de la Universidad Técnica de Machala y un laboratorio particular de la ciudad de Machala.

Equipos: Se utilizó un potencióstato/galvanostato μstat 400 marca DROPSSENS con software de interfaz humana Drop View 8400, tres electrodos: carbón vítreo como electrodo indicador, electrodo de Ag/AgCl como electrodo de referencia y un electrodo de platino como contra electrodo y una balanza analítica.

Reactivos y materiales: Se utilizó reactivos (NaH_2PO_4 , Na_2HPO_4 , HNO_3 , H_2O desionizada) preparados en recipientes color ámbar. Los materiales empleados fueron espátula, morteros, embudos, papel filtro, vasos de precipitación, balones volumétricos y pipetas volumétricas.

Solución madre de DCF USP: se pesó 0,03 g de diclofenaco puro, se disolvió con agua caliente en un tubo hermético agitándolo por 30 minutos, luego se filtró con papel filtro en un embudo de vidrio directo al balón volumétrico de 25 ml aforándole con agua desionizada.

Electrolito de soporte: Se realizaron Buffer de fosfatos

PBS 0,1 M pH 7. Se pesa la cantidad de 14,196 g de HNa_2PO_4 para un litro de solución en 0,1 M disolviéndose en agua caliente en un vaso de

precipitación de 250 ml, este se disolvió agitándose con una varilla de vidrio, se transvaso a un balón volumétrico de un litro, después se pesó 13,79 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ agregándole esta sustancia en el balón volumétrico y se enraza con agua desionizada.

PBS 0,1 M pH 4,01. Se pesó la cantidad de 3,4498 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, y se disolvió en 100 ml de agua desionizada en un balón volumétrico de 250 ml, aforándose y agitándose. Se realiza nuevamente el PBS 0,1 M pH 7. Luego con una pipeta se toma 224 ml de $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ llenando un balón volumétrico de 1000 ml, hasta su aforo y colocado en un frasco ámbar.

Muestra: se realizaron diluciones en un rango de concentraciones desde 2 mg/l hasta 10 mg/l, en un abanico de potencial entre 0.25 V y 0.95 V a 50 mV/s de velocidad de escaneo, con un paso de potencial de 2 mV. Se realizaron por triplicado.

Modificación del electrodo con Nanotubos de Carbono: utilizando un electrodo serigrafiado desnudo se le agrega una deposición química como nanopartículas que catalizan al electrodo favoreciendo el crecimiento de nanotubos, se eliminan fácilmente con agua, favoreciendo un considerable aumento en sensibilidad y selectividad de la respuesta voltamétrica (Garay y Camargo., 2017).

Método de voltametría cíclica: este método está fundamentado en relación a la respuesta entre la corriente y potencial de un electrodo de carbón vitreo serigrafiado expuesto en tres diversas situaciones, primeramente lecturas con GCSE sin modificar, con modificación de nanopartículas de oro (GCSE/AuNPs), otra modificación con nanotubos de carbono de multi paredes (GCSE/MWCNT) y una combinación entre ambos tratamientos mencionados (GCSE/MWCNT/AuNPs), para que se ejecute la activación del electrodo. Las Voltametrías se realizaron por triplicado en un rango de concentraciones desde 2 mg/l hasta 10 mg/l, en un abanico de potencial entre 0.25 V y 0.95 V a 50 mV/s de velocidad de escaneo, con un paso de potencial de 2 mV, se realizaron varias repeticiones con la finalidad de tener los datos necesarios para el análisis estadístico establecidos por los parámetros de normalización de métodos analíticos.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la figura 1 se muestra el voltamperograma cíclico realizado en GCSE con diferentes modificaciones a partir de una solución de 10 ppm de diclofenaco USP y solución tampón $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ y Na_2HPO_4 a 0,1M. La figura 2 muestra la evaluación de la intensidad de corriente frente a diferentes soluciones buffers, donde se observó la intensidad de pico (IP) más alto y más definido en PBS pH 4.01.

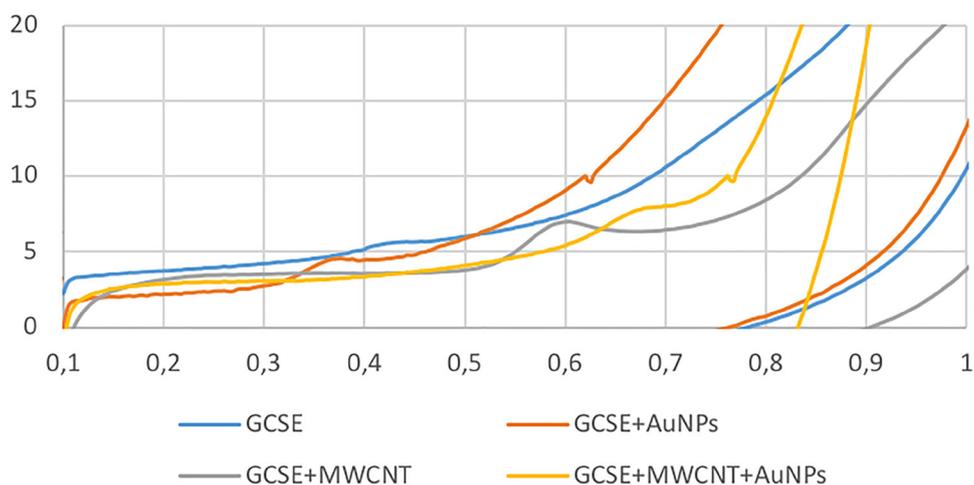


Figura 1. Voltamperograma cíclico a 10 ppm de DCF en GCSE, GCSE+AuNPs, GCSE+MWCNT, GCSE+MWCNT+AuNPs.

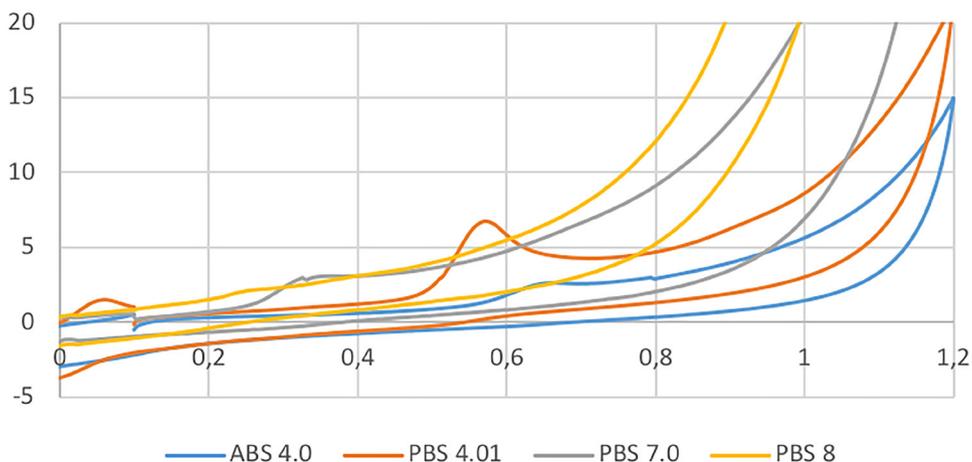


Figura 2. Voltamperograma cíclico de 10 ppm de DCF utilizando diferentes buffers, comprobación de conductividad del sistema en la celda.

La comparación de las modificaciones electroquímicas expuestas en trabajos previos replicadas en esta investigación resultó más favorable para MWCNTs/GSCE, (Scarpetta et al., 2015) expone esta modificación como idónea para la determinación de compuestos orgánicos.

En el pH de 4,0 utilizando PBS posee una ventaja significativa frente al PBS pH 8,7 y a otros medios electrolíticos tal como lo señala el estudio de (Afkhani et al., 2016), que aplicó un rango de pH de 3 a 8 en PBS, siendo favorable los pH ácidos para la determinación de diclofenaco sódico.

LINEALIDAD

Tabla 1. Resultados del parámetro de Linealidad

Parámetro	Resultados	Criterio de Aceptación
Linealidad	$Y=0,411x+2,978$	$y= bx + a$
	0,99989	$r \geq 0,99$
	0,99979	$R^2 \geq 0,999$
	$T_{cri} < t_{tab} (\alpha=0,05, n=5)$	$T_{cri} < t_{tab} (3,50)$

Según los parámetros establecidos en la (Tabla 1), se obtuvo un coeficiente de regresión lineal y de correlación $R^2= 0,9998$ y un $r= 0,9999$ respectivamente. Con una desviación estándar de

0,01 indicando que el factor de concentración no tiene influencia significativa sobre la variabilidad de los resultados (Miranda et al., 2015).

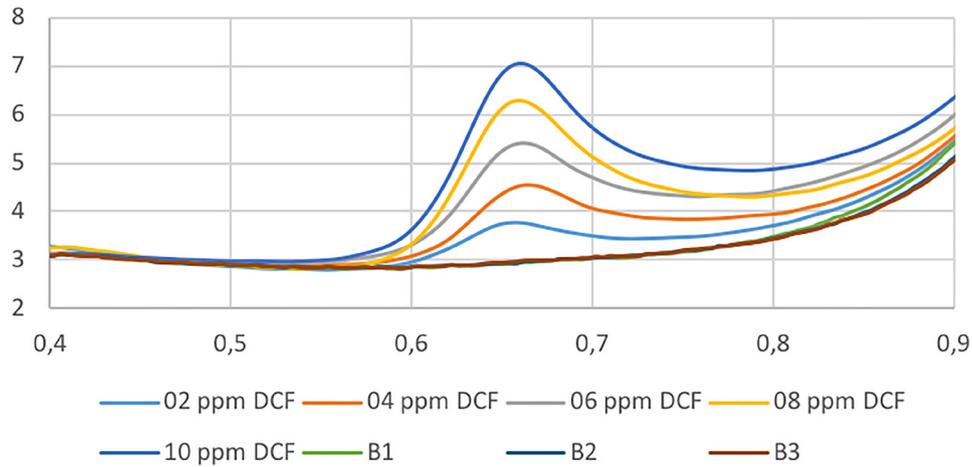


Figura 3. Voltamperograma lineal en el rango de concentración desde 2 µg/mL hasta 10 µg/mL. En PBS 0.1 a pH 4.01, con velocidad de escaneo de 50 mV/s y paso de potencial de 0.002 V. con lectura de blanco analíticos.

La linealidad determina que los IP de señal instrumental y la concentración del producto analizado tengan una relación directa de proporcionalidad. (Sandoval *et al.*, 2015). cuando presenta una $r > 0.99$ cumpliendo este parámetro, podemos afirmar que el método es lineal (Miranda

et al., 2015).

Los resultados experimentales de la linealidad se encuentran en la fig.3 y los resultados del análisis estadístico están en la tabla.1.

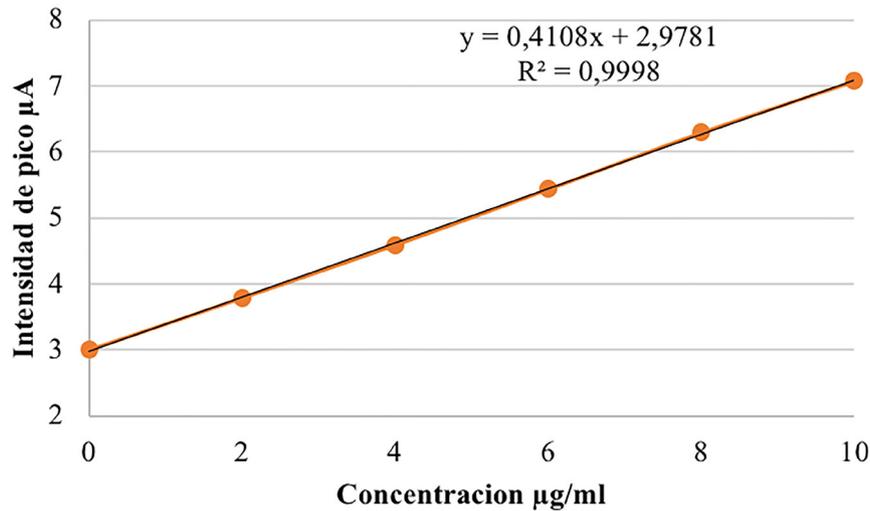


Figura 4. curva de calibración para la determinación de DCF con concentraciones (2, 4, 6, 8, 10 µg/l).

En la figura 4, se puede apreciar que la pendiente de la recta de la curva patrón fue de 0,411, lo que indica también una buena sensibilidad del método, la cual es entendida como la capacidad de este de

detectar y cuantificar, con determinado nivel de confianza, las concentraciones próximas (Bolaños *et al.*, 2014).

Tabla 2. Resultado del parámetro de exactitud

Concentración %	Promedio porcentaje Recuperado	Desviación estándar (s)	n	t calculado	n-2	alfa	t tabulado
80	98,6	1,03	3	0,45	1		
100	99,8	1,88	3	0,04	1	0,05	2,4
120	99,8	0,98	3	0,07	1		

Analizando el porcentaje recuperación a tres niveles de concentración por triplicado se pudo comprobar que se encuentra dentro del rango de aceptación entre 97 y 103 de porcentaje recuperado logrando un promedio general de recobrado de 99.48%.

Tabla 3. Resultado del parámetro de precisión

Concentración %	%RSD	Criterio de Aceptación
80	1,04	No mayor a 2,0%
100	1,89	No mayor a 2,0%
120	0,98	No mayor a 2,0%

Se procesaron los resultados analizados anteriormente, obteniendo una desviación estándar relativa en los tres niveles de concentración no mayor al 2%, que junto al t-student que es el criterio de aceptación para determinar la exactitud de un método (Andrade et al., 2012), lo que nos permitió determinar la precisión del método.

Tabla 4. Resultado del límite de detección y límite de cuantificación

b1	Y(µA)				Media	Desv.est	LOD	LQ
	2,9739	2,9798	2,9845	2,9925			y LOD 3,012057	y LQ 3,074571
0,41080					2,9852	0,0089		
	2,989997	2,9799	3,001	2,97979			x LOD 0,096	x LQ 0,24792

Sensibilidad

Se aplicó voltamperometría diez veces sobre el blanco analítico (PBS pH4.01), se obtuvo una desviación estándar de las corrientes situadas en el potencial de oxidación del diclofenaco, este valor se lo sumó tres veces al promedio de las corrientes proporcionada por los blancos analíticos para obtener límite de detección (LOD) y para el caso de límite de cuantificación (LQ) se sumará diez veces el valor de la desviación estándar a promedio de los blancos analíticos (Andrade et al., 2012). Los valores de ambos límites son remplazados en y de la ecuación de la recta del método para conocer las cantidades en concentración de DCF detectable y cuantificable.

IV. CONCLUSIONES

Debemos fomentar la conciencia sobre la Ecofarmacovigilancia como nueva preocupación científica con respecto a la detección, evaluación, comprensión y prevención de efectos adversos por la presencia de productos farmacéuticos en el medio ambiente, que afectan a las especies animales y humanas.

Los perjuicios ocasionados por el diclofenaco al ecosistema revelan que en especies acuática de Fitoplancton y Zooplancton causa toxicidad aguda afectando al 50% de la vida de los invertebrados acuáticos. Diferentes especies de buitres en el continente asiático como (Gyps bangalensis), (Gyps indicus) y (Gyps tenuirostris), fueron declarados en

peligro de extinción por el efecto bioacumulable del diclofenaco.

En esta investigación se pudo concluir el potencial de oxidación de diclofenaco sódico en 0,66 V, teniendo una mejor respuesta en pH ácido 4,01. En cuanto al tratamiento de electrodo indicador la mejor interfaz de trabajo en plataforma impresa fueron los nanotubos de carbono multiparedes sobre una superficie de carbón vítreo; modificaciones con partículas metálicas y otras combinaciones no superaron la calidad de respuesta otorgada por GCSE/MWCNT.

La linealidad fue comprobada por el método de mínimos cuadrados y método gráfico obteniendo un coeficiente de regresión lineal $R^2 > 0,9998$ y coeficiente de correlación $r > 0,9999$. En cambio en la exactitud el promedio del porcentaje recuperado para tres niveles de concentración fue de 99,4%. El coeficiente de variación fue de 1,86%, lo que se indica que la precisión se encuentra dentro de los parámetros aceptables.

También se obtuvo un valor de límite de detección (LOD) 0,096 µg/ml y un límite de cuantificación (LQ) 0,248 µg/ml siendo una técnica eficaz para la detección y determinación de diclofenaco. Todos los parámetros expuestos fueron analizados por t-student dando por sentado que la técnica posee linealidad, exactitud, precisión y sensibilidad significativas.

V. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Afkhami, A., Bahiraei, A., & Madrakian, T. (2016). Gold nanoparticle/multi-walled carbon nanotube modified glassy carbon electrode as a sensitive voltammetric sensor for the determination of diclofenac sodium. *Materials Science and Engineering: C*, 59, 168-176.

Alcántara Montero, A., & Sánchez Carnerero, C. I. (2016). Antiinflamatorios no esteroideos y riesgo de insuficiencia cardíaca: nuevas aportaciones. *Revista de La Sociedad Española Del Dolor*, 25(5), 306–307. <https://doi.org/10.20986/resed.2016.3518/2016>.

Alshakka, M., Mohamed Ibrahim, M. I., Hassali, M. A., Palaian, S., & Aljadhey, H. (2016). Hazards of Pharmaceuticals in Water as New Area in Eco-Pharmacovigilance Research. *Journal of Pharmacy Practice and Community Medicine*, 2(1), 03–08. <https://doi.org/10.5530/jppcm.2016.1.2>

Andrade Guel, M. L., López López, L. I., & Sáenz Galindo, A. (2012). Nanotubos de carbono: Funcionalización y aplicaciones biológicas. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(3), 9–18.

Bhuyian, M. H. U., Rashid, M. H. A., Islam, A. F. M. A., & Tareque, I. (2015). Development and validation of method for determination of clobetasol propionate and salicylic acid from pharmaceutical dosage form by HPLC. *Br. J. Pharm. Res*, 7, 375-385.

Bujes, J. (2013). "Estudio De Sensores Electroquímicos. *Química Avanzada Especialidad En Nuevos Materiales*.

Bolaños, K. L., Nagles, E., Arancibia, V., Otiniano, M., Leiva, Y., Mariño, A., & Scarpetta, L. (2014). Optimización de la técnica de voltamperometría de adsorción (Adsv) en la determinación de amaranth sobre electrodos serigrafados de carbono: Efecto de surfactantes en la sensibilidad. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 80(2), 115-123.

Cano Paniagua, A., Cifuentes Posada, L. M., & Amariles Muñoz, P. J. (2017). Toxicidad hepática causada por medicamentos: revisión estructurada. *Revista Colombiana de Gastroenterología*, 32(4), 337. <https://doi.org/10.22516/25007440.177>.

Castro-Pastrana, L. I., Baños-Medina, M. I., Argelia López-Luna, M., & Torres-García, B. L. (2015). Ecofarmacovigilancia en México: perspectivas para su implementación Eco-pharmacovigilance in Mexico: prospects of its implementation. *Rev Mex Cienc Farm*, 46(3). Retrieved from <http://www.redalyc.org/pdf/579/57945705003.pdf>

Chamjangali, M. A., Kouhestani, H., Masdarolomoor, F., & Daneshinejad, H. (2015). A voltammetric sensor based on the glassy carbon electrode modified with multi-walled carbon nanotube/poly (pyrocatechol violet)/bismuth film for determination of cadmium

- and lead as environmental pollutants. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 216, 384-393.
- Ensafi, A. A., Izadi, M., & Karimi-Maleh, H. (2013). Sensitive voltammetric determination of diclofenac using room-temperature ionic liquid-modified carbon nanotubes paste electrode. *Ionics*, 19(1), 137-144. <https://doi.org/10.1007/s11581-012-0705-0>
- Garay Rairán, F. S., & Camargo Casallas, L. H. (2017). Avances en electrodos y biosensores elaborados con nanotubos de carbono Advances in electrodes and biosensors made from carbon nanotubes. *Revista Científica Ingeniería Y Desarrollo*, 36(1), 240-258. <https://doi.org/10.14482/inde.36.1.10950>
- Gómez, S., Biedma, G., Soria, E., & Vivo, M. (2002). Análisis Electroquímico. *Revista de Diagnostico Biologico*, 18-27.
- Goyal, R. N., Chatterjee, S., & Rana, A. R. S. (2010). The effect of modifying an edge-plane pyrolytic graphite electrode with single-wall carbon nanotubes on its use for sensing diclofenac. *Carbon*, 48(14), 4136-4144. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2010.07.024>
- He, B. S., Wang, J., Liu, J., & Hu, X. M. (2017). Eco-pharmacovigilance of non-steroidal anti-inflammatory drugs: Necessity and opportunities. *Chemosphere*, 181, 178-189. Conocimientos y practicas
- Holm, G., & Snape, J. R. (2013). Implementing Ecopharmacovigilance in Practice : Challenges and Potential Opportunities, 533-546. <https://doi.org/10.1007/s40264-013-0049-3>
- Kalambate, P. K., & Srivastava, A. K. (2016). Simultaneous voltammetric determination of paracetamol, cetirizine and phenylephrine using a multiwalled carbon nanotube-platinum nanoparticles nanocomposite modified carbon paste electrode. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 233, 237-248.
- Lanas, A., Benito, P., Alonso, J., Hernández-Cruz, B., Barón-Esquivias, G., Perez-Aísa, Á., ... Gonzalez-Juanatey, J. R. (2014). Recomendaciones para una prescripción segura de antiinflamatorios no esteroideos: Documento de consenso elaborado por expertos nominados por 3 sociedades científicas (SER-SEC-AEG). *Gastroenterología Y Hepatología*, 37(3), 107-127. <https://doi.org/10.1016/j.gastrohep.2013.11.014>.
- Lindon, A. (2017). Diclofenaco En Buitres: ¿Podría Provocar El Declive De La Población Española? *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 11(especial), 253-258. <https://doi.org/10.5209/RCCV.55682>.
- Loera, M. A. De, Hugo, S., Rodríguez, S., Lucila, I., Armando, J., Torre, F., & López-luna, A. (2016). Ecofarmacovigilancia. *Rev.CENIC.Ciencias Biológicas*, 47(1), 12-16.
- Marcén, B., Sostres, C., & Lanás, A. (2016). Atención Primaria EDITORIAL AINE y riesgo digestivo NSAID and gastrointestinal risk. *Atención Primaria*, 48(2), 73-76. <https://doi.org/10.1016/j.aprim.2015.04.008>.
- Martínez, M; Oliván, L; Chávez, A; Estrada, A; Medina, S. (2009). Evaluación de la toxicidad producida por diclofenaco adicionado al agua sobre Daphnia magna (Tesis de pregrado). Escuela Nacional de Ciencias Biologicas, Mexico.
- Medhi, B., & Sewal, R. (2012). Ecopharmacovigilance: An issue urgently to be addressed. *Indian Journal of Pharmacology*, 44(5), 547. <https://doi.org/10.4103/0253-7613.100363>
- Miranda, L., Felsner, M. L., Torres, Y. R., Hoss, I., Galli, A., & Quináia, S. P. (2015). In-House Validation of Methyltestosterone Determination in Natural Waters by Voltammetry Using Hanging Mercury Drop Electrode. *Química Nova*, 38(3), 419-426.
- Quijano-Prieto, D. M., Orozco-Díaz, J. G., & Holguín-Hernández, E. (2016). Patients' knowledge and practices about unconsumed drugs disposal: An approach to ecopharmacovigilance [Conocimientos y prácticas de pacientes sobre disposición de medicamentos no consumidos: Aproximación a la ecofarmacovigilancia]. *Revista de Salud Publica*,

- 18(1), 61–71. <https://doi.org/10.15446/rsap.v18n1.44262>.
- Restrepo Giraldo, C. eduardo. (2015). Efecto del Diclofenaco sodico sobre la fisiología reproductiva de *Daphnia pulex*. *Environmental Toxicology and Chemistry (ENVIRON TOXICOL CHEM)*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3038.7367>
- Sandoval, A. E. L., Colmenares, J. M. G., & Acuña, S. P. C. (2015). Validación del método voltamétrico para la determinación de residuos de paraquat aplicado en cultivos de papa. *Acta Agronómica*, 64(4), 336-341.
- Scarpetta, L., Mariño, A., Bolaños, K., Leiva, Y., Castiblanco, P., & Nagles, É. (2015). Determination of hydroquinone using a glassy carbon electrode modified with chitosan, multi-wall carbon nanotubes and ionic liquid. Possible use as sensor. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 44(3), 311-321.
- Xia, Y., Si, J., & Li, Z. (2016). Fabrication techniques for microfluidic paper-based analytical devices and their applications for biological testing: A review. *Biosensors and Bioelectronics*, 77, 774-789.
- Zavaleta-Espejo, G., Saldaña-Jiménez, J., Blas-Cerdán, W., & Meléndez-Rodríguez, D. (2018). Efecto del Diclofenaco sobre la fecundación de *Tetrapygus niger* “erizo negro de mar.” *Rebiol*, 38(1), 73–83.