



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE SISTEMAS BIOLÓGICOS

LABORATORIO: FARMACOCINÉTICA Y FARMACODINÁMICA

LICENCIATURA EN QUÍMICO FARMACÉUTICO BIOLÓGO

SERVICIO SOCIAL POR PROYECTO

**Biosensores enzimáticos para la detección de fármacos inhibidores de
enzimas convertidoras de angiotensina (IECA): Fármacos antihipertensivos.**

QUE PRESENTA LA ALUMNA:

Alejandra Donmarcos Quintanar

Matrícula: 2163081483

Asesores:

Georgina Alarcón Angeles

Interno:

Dra. Georgina Alarcón Angeles
No. Económico 34432

Interno:

Dr. Martín Gómez Hernández
No. Económico 30641

Contenido

Portada

.....	1
Resumen	4
1.- OBJETIVOS	5
General.....	5
Específicos.....	5
2.- ANTECEDENTES	6
3.- Fármacos inhibidores de enzimas convertidoras de angiotensinas (IECA's)	8
4.- Métodos analíticos convencionales para la detección de fármacos IECA	10
4.1 MGA 0241 CROMATOGRAFIA (CLAR).....	10
4.2 MGA 0299 UNIFORMIDAD DE DOSIS	10
4.3 MGA 0351 ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJA (IR).....	10
4.4 MGA 0991 VOLUMETRÍA	11
5.- Metodos analíticos para la detección y/o cuantificación de fármacos IECA's	11
5.1 Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC por sus siglas en ingles).....	11
5.2 Espectrometría de masas (MS por sus siglas en inglés).....	11
5.3 Espectrofotometría UV-VIS (Ultravioleta- Visible).....	12
5.4 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN).....	12
5.5 Electroforesis capilar (EC)	12
6.- Biosensor	13
7.- Elementos para su fabricación	14
7.1 materiales de electrodos y sustratos de soporte.....	14
7.2 materiales de inmovilización de elementos de bioreconocimiento.....	14
7.3 materiales de fabricación de membranas externas	15
7.4 elementos biológicos (enzimas, anticuerpos, antígenos, mediadores y cofactores).....	15
8.- Biosensores amperométricos	16
9.- Actividad enzimática	18
10.- Biosensores en el análisis farmacéutico	20
11.- El desarrollo de transductores y electrodos electroquímicos	22

Bibliografía 37

Resumen

La hipertensión arterial (HTA) es uno de los principales factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares. El diagnóstico de esta enfermedad y su tratamiento se basa en la medición de la presión arterial y para controlar la presión arterial se utilizan los fármacos inhibidores de la enzima angiotensina convertasa (IECA). Por otra parte, el uso de dispositivos como los biosensores, que son utilizados en el análisis de sustancias, al ser baratos, portátiles y de fácil manejo, con la ayuda de los transductores convierten la señal analítica en una señal eléctrica medible, anudado a esto, la muestra no requiere de un pretratamiento que en ocasiones pueden llegar a ser costosos y laboriosos. Un punto clave en el funcionamiento y el desarrollo de un biosensor está relacionado con el método de inmovilización del sistema de reconocimiento biológico sobre la superficie del electrodo y la modificación de la superficie del electrodo. Se considera que el avance en la ciencia de los materiales y la nanotecnología han llevado a un importante desarrollo de muchos transductores electroquímicos y electrodos. En el presente informa se realizó la compilación de la información actualizada respecto a los biosensores enzimáticos para la detección de fármacos inhibidores de enzima convertidora de angiotensina (IECA), que son utilizados para la realización de un análisis o determinación de los fármacos. De la revisión de la literatura científica para la detección de fármacos IECAs mediante biosensores amperométricos, se resalta los tipos materiales utilizados, ya sea en el diseño, construcción y fabricación, que sean adecuados por su bajo costo, facilidad en la construcción, durabilidad, simplicidad y respuesta rápida. Así también, es muy importante el amplio margen de pH óptimo para la determinación de fármacos IECA's. Es así, que los biosensores como herramientas para el análisis de fármacos, han teniendo un auge por su potencial aplicación, por las características cada vez más exigentes en el análisis químico y de acuerdo con los estándares de calidad para a la salud pública.

1.- OBJETIVOS

General

- Compilar y analizar el conocimiento metodológico de la aplicación de biosensores enzimáticos para la detección y determinación de fármacos inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA).

Específicos

- Destacar la importancia farmacológica de los fármacos IECA.
- Evaluar los métodos analíticos convencionales para la detección de fármacos IECA.
- Construir una descripción de los fundamentos de los biosensores enzimáticos para el análisis de fármacos IECA.
- Identificar los biosensores que presenten más ventaja en el análisis de fármacos IECA.
- Analizar y esquematizar los fundamentos del biosensor enzimático para el análisis de fármacos IECA.
- Enlistar elementos para la fabricación del biosensor enzimático para la detección de fármacos IECA, que originen un método analítico robusto.
- Identificar y enlistar los materiales innovadores para la fabricación de biosensores enzimáticos útiles para la detección de fármacos IECA.
- Establecer las nuevas tendencias en el desarrollo e investigación de biosensores enzimáticos para la detección de fármacos IECA.

2.- ANTECEDENTES

En México, la hipertensión arterial afecta entre el 20 y 40% de la población adulta, lo que significa que alrededor de 250 millones de personas la padecen (INSP, 2020) y por cada 100 mil habitantes 5.14 fallecen por insuficiencia cardiaca (NOVARTIS, 2020). Debido a estos los fármacos inhibidores de la enzima angiotensina convertasa (IECA) han supuesto un gran avance en el tratamiento de la hipertensión arterial y en la insuficiencia cardiaca (García Barreto & Toruncha Chuckram, 1997). La historia de los IECAs comenzó con Ferreira y colaboradores en la década de 1960, cuando encontraron que, en el veneno de algunas serpientes, inhiben la enzima que degrada la bradicinina (causante de la vasodilatación), por medio de péptidos que inhiben a la enzima convertidora de angiotensina, que cataliza la síntesis de angiotensina II (ANG II) que es la sustancia precursora, e inactiva a la bradicinina (Reyes-Moreno, 2010) .

Para garantizar la calidad de un medicamento, este debe aprobar diversas pruebas o análisis con base en sus características, con el fin de comprobar su calidad, para esto, se establecen criterios de calidad estipulados en las farmacopeas, compendios de países con más desarrollo en la producción de medicamentos (Marchante, *et al.*, 2008).

Actualmente se hace más demandante el uso de dispositivos para el análisis de sustancias que sean baratos, portátiles y de fácil manejo, donde los biosensores cumplen con estas características y convierten la señal analítica en una señal eléctrica medible, esto con la ayuda de los transductores, asimismo, la muestra no requiere de un pretratamiento que en ocasiones pueden ser costosos y laboriosos, además, se requiere de un método de inmovilización del sistema de reconocimiento biológico (enzima, tejido, etc) sobre la superficie del electrodo, el cual es clave importante para las características de su funcionamiento y desarrollo (Reviejo & Pingarrón, 2000).

Estos biosensores electroquímicos utilizan gran variedad de enzimas y dianas farmacológicas, que pueden actuar como inhibidores enzimáticos, midiendo un pequeño volumen de muestra, donde la actividad enzimática puede medirse a partir del producto de la reacción entre la enzima y el sustrato, en el cual, bajo condiciones de reacción específica como pH y temperatura puede afectar la respuesta. También puede verse afectada por moléculas como inhibidores y activadores (El Harrad, Bourais, & Aminez, 2018).

Con la combinación de la tecnología y de química analítica, en las últimas dos décadas se han desarrollado y elaborado transductores con nanomateriales, como los nanotubos de carbono, electrodos serigrafados y nanopartículas

metálicas para distintos fines como la detección de fármacos antihipertensivos, así como su monitoreo y análisis.

Con base en lo anterior, en la presente investigación se compila la información actualizada respecto a los biosensores enzimáticos para la detección de fármacos inhibidores de enzima convertidora de angiotensina, para un análisis del posible uso de dichos dispositivos en beneficio de la salud pública y debido a la situación que se presenta actualmente y ante la contingencia sanitaria, el trabajo consistió en una revisión bibliográfica.

3.- Fármacos inhibidores de enzimas convertidoras de angiotensinas (IECA's).

La hipertensión arterial (HTA) es uno de los principales factores de riesgo de las enfermedades cardiovasculares, así como insuficiencia cardíaca, su incidencia aumenta en la población de mayor edad, donde más de dos tercios de los adultos mayores padecen de esta enfermedad. El diagnóstico de esta enfermedad y su tratamiento se basa en la medición de la presión arterial, se considera a un paciente como hipertenso cuando presenta repetidamente cifras mayores o iguales a 140/90mmHg (Tagle, 2017).

Los fármacos antihipertensivos disminuyen la presión arterial a través de diversos mecanismos. Las principales clases de fármacos antihipertensivos incluyen diuréticos tiazidas, betabloqueantes, fármacos que inhiben el sistema renina-angiotensina, bloqueantes de los canales del calcio, vasodilatadores directos, fármacos centralmente activos y otros (Taverny, y otros, 2018).

Los fármacos inhibidores de la enzima angiotensina convertasa (IECA) han demostrado un gran avance en el tratamiento de la hipertensión arterial y en la insuficiencia cardíaca congestiva, ya que su mecanismo de acción presenta una serie de ventajas respecto a otros fármacos antihipertensivos (Díaz-Maroto, 2000). Además, se ha registrado un aumento en niveles circulantes de enzima angiotensina convertasa (ECA 2) en pacientes con diabetes tratados con IECA, por otra parte, se ha observado que presentan una baja toxicidad (Fernández Oropesa & Gallego Fernández, 1995). Actualmente se ha observado las afectaciones que tiene este tratamiento a pacientes con COVID-19, debido a que el Síndrome Respiratorio Agudo Severo por coronavirus 2 (SARD-coV-2) también utilizan receptores ECA 2, los cuales pueden ejercer distintas funciones fisiológicas, entre ellas la activación de la angiotensina II por la ECA (Amat, *et al.*, 2020).

La clasificación de fármacos IECAs se realiza con base en la estructura química, formando tres grupos (Reyes-Moreno, 2010):

a. Fármacos que contienen sulfhidrilo, relacionados desde el punto estructural con el captopril (p. ej., fentiapril, pivalotril, zofenopril, alecepril)

b. Compuestos que contienen carboxilo relacionados con el aspecto estructural de enalapril (p.ej., lisinopril, benazepril, quinalapril, moexipril, ramipril, espirapril, peridonpril, cilzapril)

c. Medicamentos que tienen fósforo y que muestran relación estructural con el fosinopril.

En México existe una dependencia encargada de autorizar la venta de medicamentos, la Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios

(COFEPRIS), a continuación, se presentará un listado indicando los distintos fármacos antihipertensivos o inhibidores de enzima convertidora de angiotensina autorizados para su comercialización en México (Tabla 1) (COFEPRIS, 2021).

Tabla 1. Fármacos antihipertensivos/IECA autorizados por COFEPRIS en México.

Fármaco	Forma farmacéutica	Concentración (Dosis)
Captopril	Tableta	50 mg/25 mg, 40 mg/25 mg.
Enalaprilato	Tableta	10 mg / 25mg, 20 mg /12.5 mg
Ramipril	Tableta (Liberación prolongada)	5 mg / 2.5 mg / 10 mg
Lisinopril	Tableta	10 mg, 20 mg
Moexipril	Tableta	7.5 mg / 15 mg
Perindopril	Tableta	2 mg
Quinapril	Tableta	10 mg, 20 mg /40 mg
Zofenopril	Comprimido	7.5 mg / 15 mg / 30 mg

Captopril se considera el agente antihipertensivo e insuficiencia cardíaca congestiva de primera línea, después se comercializó el Enalapril, que es un profármaco, el Enalaprilato, que es más potente que el Captopril, tiene una deficiencia en su absorción, además su eliminación es lenta y por vía renal; Lisinopril es fármaco activo, con las características del anterior, pero con una biodisponibilidad oral aceptable (Kelly & O'Malley, 1990).

El Zofenopril es un profármaco con mayor potencia y duración de acción que el Captopril y con una eliminación parcial en el hígado; Quinapril tiene una semivida corta (Salveti, 1990).

Para comprender el mecanismo por medio del cual actúan los IECA, es necesario entender el funcionamiento de dos sistemas hormonales: el de la renina-angiotensina y el de la calicrenina-cinina, el primero se encarga de la regulación hemodinámica, líquido y electrolitos donde la renina interactúa con el angiotensinógeno, para dar lugar a la angiotensina I y posteriormente a angiotensina II con la ayuda de la enzima convertidora de angiotensina I, que interactúa con receptores específicos. El sistema calicreína-cinina donde el hígado secreta una sustancia proteica (cininogéno) que, en unión de la calicreína presente en el plasma o tejidos, especialmente en el páncreas, forma la bradisinina, que interacciona con receptores específicos (Tabla 2) (García Barreto & Toruncha Chuckram, 1997).

Tabla 2. Interacción de la angiotensina II y bradisinina con sus respectivos receptores.

Sistema hormonal	Tejido o célula	Respuesta (receptor)
Angiotensina II	Arteriolas y capilares	Constricción de arteriolas y vénulas (AT1) Hiperplasia del musculo liso arterial (AT1) Vasodilatación (AT2)
	Corazón	Disminución ligera del gasto (AT1) Disminución del flujo coronario (AT1) Hipertrofia (AT1)
Bradicinina	Arterias	Constricción (B1)
	Arteriolas	Relajación (B2)
	Vénulas y Venas	Constricción (B2)
	Mastocitos	Constricción (B3)

4.- Métodos analíticos convencionales para la detección de fármacos IECA.

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) establece los requisitos mínimos de calidad que deben cumplir los medicamentos nacionales e internacionales para así permitir su comercialización. Las especificaciones y los métodos son los oficiales y de acción normativa. Para evaluar el cumplimiento de las especificaciones, la FEUM propone métodos analíticos oficiales denominados Métodos Generales de Análisis (MGA) (Mexicanos, 2014).

Por lo tanto, hay métodos oficiales para la detección de fármacos IECA's:

4.1 MGA 0241 CROMATOGRAFIA (CLAR)

Este método permite la separación de sustancias que se encuentran en una mezcla en un proceso de migración diferencial en el cual los componentes de una mezcla son transportados por una fase móvil (gas o liquido) y retenidos selectivamente por una fase estacionaria (liquido o solido) pero lleva tiempo la preparación de la muestra y costoso por las herramientas a utilizar.

4.2 MGA 0299 UNIFORMIDAD DE DOSIS

Este método es específico ya que se necesita que la muestra contenga un principio, si no es el caso y tiene dos, se aplicara a cada uno de ellos (si no se indica en la monografía) resultando así laborioso y lento.

4.3 MGA 0351 ESPECTROFOTOMETRÍA INFRARROJA (IR)

En este método es preciso, selectivo y específico para la cuantificación, análisis y determinación de analitos, pero con un pretratamiento de acuerdo al tipo de muestra.

4.4 MGA 0991 VOLUMETRÍA

El uso de este método es directo y preciso, con un procedimiento sencillo, eficiente y rápido.

En algunos casos, los parámetros de estos métodos analíticos oficiales complican encontrar un equilibrio adecuado para las especificaciones, por lo que se hace uso de otros métodos no indicados en la FEUM, siempre y cuando se encuentren debidamente validados, y se demuestre ante la autoridad sanitaria, con fundamentos técnicos y científicos, que con estos métodos alternativos se obtienen resultados igualmente confiables y precisos.

Para esto, el Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos- México (Perez, 2014) denomina que un método analítico es un “procedimiento o grupo de procedimientos para determinar si un producto o materia prima cumple con las especificaciones establecidas”. Por lo tanto, se debe tomar en cuenta la actualización de las técnicas y métodos, así como sus propias características que dependen del producto o materia prima, en este caso fármacos, las metodologías convencionales de análisis requieren la preparación de la muestra, lo que llega a tomar tiempo y recursos notables.

5.- Metodos analíticos para la detección y/o cuantificación de fármacos IECA's.

Los siguientes métodos analíticos son utilizados para la detección y/o cuantificación de fármacos ECA:

5.1 Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia (HPLC por sus siglas en inglés)

Es una herramienta para la identificación y el análisis cuantitativo, esto por su gran sensibilidad, especificidad y eficiencia, pero se necesita de un previo tratamiento a la muestra antes y durante el proceso, por lo que resulta ser un método laborioso y en ocasiones costoso. Un ejemplo de la aplicación este método es la investigación de Lidia Martínez Pérez (2014) donde cuantificó captopril en plasma humano.

5.2 Espectrometría de masas (MS por sus siglas en inglés)

Es un método que permite la detección a niveles de nanogramo, pero requieren extracciones laboriosas, procedimientos de derivatización (los cuales son costoso) y con baja sensibilidad, como lo demuestra Zhimeng, Andre, & Len (2002) en su investigación para determinar y cuantificar ramipril en plasma humano

5.3 Espectrofotometría UV-VIS (Ultravioleta- Visible)

Es un método analítico para la cuantificación de un analito, pero es laborioso y costoso, un ejemplo de ello, es la investigación de Nureña Flores & Romero Merino (2012), donde realizó la validación del método para cuantificar enalapril maleato (10 mg) en tabletas recubiertas, basándose en una relación lineal entre la concentración del analito y la transmitancia (T) o absorbancia (A) (Skoog, Holler, & Crouch, 2008).

5.4 Espectroscopia de resonancia magnética nuclear (RMN)

Es una herramienta para la identidad e integridad de principios activos, detección y composición en una mezcla esto por su rapidez, por el poco pretratamiento a la muestra, especificidad, versatilidad y la determinación de estructuras, pero tiene una sensibilidad relativamente baja porque requiere de más de 1 mg de muestra, como lo demuestra Cardona S, y otros, (2003) en su investigación para establecer la identidad e integridad del principio activo como captopril.

5.5 Electroforesis capilar (EC)

Es una técnica que permite la separación y análisis de los analitos en relación carga-mesa, debido a su simplicidad (facilidad de aplicación) y versatilidad (columnas capilares), pero las moléculas neutras no se separan sin el uso de un agente complejante o derivatización (costoso), no es adecuado para compuestos volátiles y no polares, de igual manera, se realiza un pretratamiento a matrices complejas, y necesita un sistema de detección muy sensibles Cardoso Marra(2018), un ejemplo de ello es Chopin Doroteo (2012), en su investigación para determinar analitos como captopril (CAP) + hidroclorotiazida (HCT); HCT + enalapril (ENA); HCT + lisinopril (LIS); HCT + ramipril (RAM)

Con lo anterior se puede observar que tanto los métodos oficiales como los alternativos son laboriosos y costosos, pero con una seguridad confiable en sus resultados.

El avance de la tecnología en los últimos años ha permitido el desarrollo de nuevos métodos de diagnóstico clínico y pautas terapéuticas, en donde, los ensayos analíticos han ayudado a verificar la eficiencia e inocuidad de los medicamentos, por lo que, la química analítica en combinación con diversas técnicas han sido una herramienta para el descubrimiento de biomarcadores como

lo son los biosensores, no solo por su uso en química, biología o ingeniería, sino también en los campos farmacéuticos, de alimentos, medioambiente y clínicos (Ortega Ortiz De Apodaca, 2006).

6.- Biosensor

Un biosensor es un dispositivo analítico para el análisis de una muestra con un analito específico. Por lo general se construye a partir de un componente biológico o elemento de reconocimiento molecular, y un componente detector fisicoquímico o transductor. Los elementos de reconocimiento están inmovilizados en la superficie de los transductores, y son capaces de interactuar con las moléculas objetivo sin la necesidad de añadir reactivos. Las interacciones específicas entre el analito y el elemento de reconocimiento generan cambios fisicoquímicos en la superficie del transductor (Hiep Nguyen, *et al.*, 2019).

Estos cambios son reconocidos por el transductor y convertidos en señales medibles que puede ser electroquímico, térmico, óptico o basado en variación de masa para determinar la cantidad de analito presente en la muestra (J. Blum & R. Coulet, 2019).

Generalmente, los biosensores se clasifican en función del componente biológico utilizado o por el tipo de transductor. Existe otro método de clasificación que se basa en el modo de interacción entre los analitos y los materiales biológicos en un biosensor, los cuales son de dos tipos: biosensor catalítico, en el que las interacciones dan lugar a la formación de un nuevo producto de reacción bioquímica; y biosensor de afinidad, en el que las interacciones dan lugar a la unión del analito a la superficie del transductor (Jiménez C. & León P., 2009) (Figura 1).

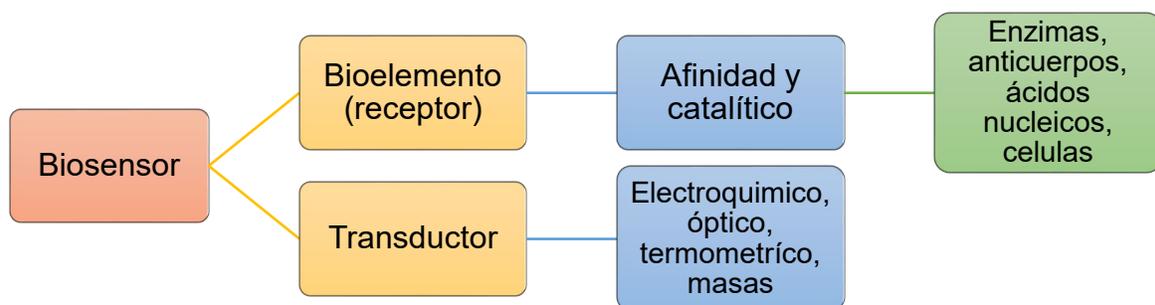


Figura 1. Clasificación de biosensores

Las ventajas sobresalientes de un biosensor son la alta selectividad y sensibilidad, la facilidad de manejo y el bajo costo, permitiendo así, su uso personal no especializado, rapidez en el análisis, posibilidad de miniaturización, elisión de procesos del método analítico como la toma y el tratamiento de la muestra, donde no es necesaria la separación del analito y la adición de reactivos, permitiendo realizar mediciones continuas, distribuidas, multidimensionales, remotas, y en condiciones de trabajo comunes que son difíciles para otras técnicas (Camacho Campos, s.f.).

7.- Elementos para su fabricación.

Una descripción del sistema de un biosensor debe incluir cinco características: (1) los parámetros detectados o medidos, (2) el principio de funcionamiento del sensor, (3) los modelos físicos y químicos: bioquímica, (4) la aplicación y (5) la tecnología y los materiales para fabricar el transductor, el sensor. Se han propuesto muchos parámetros para caracterizar los biosensores. Algunos se usan comúnmente para evaluar las características funcionales y la calidad del sensor, como la sensibilidad, la estabilidad y el tiempo de respuesta, mientras que otros parámetros están relacionados con la aplicación y no con la funcionalidad del sensor, como la biocompatibilidad de los sensores para el monitoreo clínico (Zhang, Wright, & Yang, 2000).

Los materiales utilizados en biosensores electroquímicos se dividen en:

7.1 materiales de electrodos y sustratos de soporte.

Los metales y los carbones se usan comúnmente para preparar sistemas de electrodos sólidos y sustratos de soporte. Los metales como el platino, el oro, la plata y el acero inoxidable se han utilizado durante mucho tiempo en electrodos electroquímicos debido a sus excelentes propiedades eléctricas y mecánicas. Los materiales basados en el carbono, como el grafito, el negro de humo y la fibra de carbono, se utilizan para construir la fase conductora por tener una gran inercia química, bajas corrientes residuales y una elevada relación señal-ruido.

7.2 materiales de inmovilización de elementos de bioreconocimiento.

Los materiales tradicionalmente utilizados para la inmovilización de elementos son agentes multifuncionales como el glutaraldehído y el diisocianato de hexametileno, que forman enlaces cruzados entre especies biocatalíticas o proteínas, este proceso se conoce como reticulación, ya que crea matrices complejas que hacen posible la inmovilización multienzimática. Por otra parte, los polímeros no

conductores como la poliacrilamida y el polifenol, pueden utilizarse para atrapar físicamente los elementos. Un ejemplo de ello es la investigación de Kurbanoglu, Rivas, Ozkan, & Merkoci en 2016 donde se inmoviliza la tirosinasa en un electrodo serigrafiado mediante el uso de reactivos de acoplamiento 1-etil-3-(3 dimetilaminopropil)-carbodiimida y N-hidroxisuccinimida, en una matriz de óxido de grafeno reducido electroquímicamente y nanopartículas de óxido de iridio; otro ejemplo sería del autor Husain en 2017 donde las oxidoreductasas e hidrolasas fueron inmovilizadas mediante nanocompuestos de grafeno, ambos ejemplos para la detección de captopril.

Los polímeros orgánicos conductores tienen ventajas como crear un ambiente adecuado para la inmovilización de enzimas en electrodos y su interacción con metales y conductores de carbono. Por tanto, la comunicación eléctrica entre el centro redox y la superficie del electrodo es más eficiente. Estos polímeros pueden depositarse electrolíticamente desde la solución sobre soportes conductores, proporcionando una matriz tridimensional para las enzimas inmovilizadas en las que los reactivos se convierten en productos.

7.3 materiales de fabricación de membranas externas

Los biosensores a menudo están cubiertos por películas delgadas con múltiples funciones, incluido el control de difusión, la reducción de interferencias y la protección mecánica de las sondas de detección. Los polímeros disponibles comercialmente, como el cloruro de polivinilo (PVC), el polietileno, el polimetacrilato y el poliuretano, se usan comúnmente para preparar estas películas debido a sus propiedades físicas y químicas adecuadas.

Pero, la estabilidad funcional se ve afectada por la biocompatibilidad de los materiales del biosensor que están en contacto con el medio biológico.

7.4 elementos biológicos (enzimas, anticuerpos, antígenos, mediadores y cofactores).

Las mejoras en el diseño de la interfaz se han orientado a la incorporación de moléculas activas incluyendo enzimas como la glucosa oxidasa y lactato oxidasa, mediadores, como el ferroceno y sus derivados, cofactores basados en la nicotinamida adenina dinucleótido (NADH y NADP), catalizadores, anticuerpos y antígenos.

También existen propiedades físicas básicas que debe tener el sistema de medición. Algunas características y propiedades importantes de un biosensor ideal son las siguientes (Kurbanoglu, Uslu, & Ozkan, 2018):

- Calibración
- Alta sensibilidad
- Amplio rango de detección
- Estabilidad
- Tiempo de vida útil
- Tiempo de respuesta
- Selectividad

Uno de los retos en el estudio de biocatalizadores, se trata del mantenimiento de la estabilidad estructural de la enzima durante las reacciones bioquímicas, lo que ha llevado al desarrollado de varias técnicas de inmovilización, donde se limita o retarda su movimiento. La enzima inmovilizada está confinada en un espacio definido, que retiene su actividad catalítica y puede ser reutilizada de forma continua. Los componentes principales de un sistema de inmovilización enzimático son la enzima, la matriz o soporte y el método de fijación. Existen cinco métodos principales para inmovilización de enzimas o células: adsorción, unión covalente, atrapamiento, entrecruzamiento y encapsulamiento, siendo los tres primeros los más comunes (Romero Cedillo, L *et al.*, 2014; Figura 2).

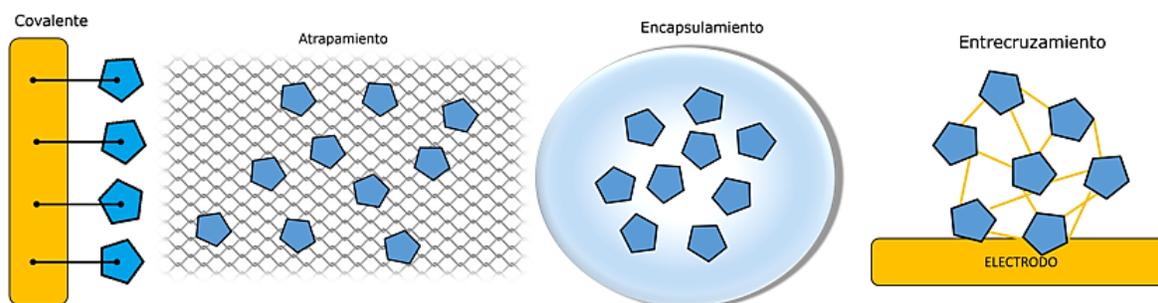


Figura 2. Métodos de inmovilización de enzimas o células más utilizadas.

La inmovilización ideal para una enzima dada es aquella que le permite conservar una alta actividad catalítica con el paso del tiempo para ser utilizada continuamente (Singh, Tiwari, Singh, & Lee, 2013). Dependiendo de la estructura de la proteína y del material, así como de las condiciones de la reacción, será el método de inmovilización a utilizar (Romero Cedillo, L *et al.*, 2014).

En electroquímica se implica la transferencia de carga de un electrodo a una fase, que puede ser una muestra sólida o líquida. En este proceso, ocurren cambios químicos en los electrodos y la carga se conduce a través de la fase. Las reacciones de los electrodos como el transporte de carga se pueden modular químicamente y sirven como base del proceso de detección (Wang Y. , Xu, Zhang, & Li, 2008).

8.- Biosensores amperométricos

Los biosensores enzimáticos electroquímicos tienen algunas ventajas como su alta selectividad y sensibilidad, respuesta rápida, diseño simple, bajo costo y miniaturización. Pero con algunos inconvenientes como el uso de técnicas de inmovilización del material biológico para aumentar su estabilidad, utilidad y selectividad (Boix Cayuela & Sánchez-Paniagua López, 2016).

Por otra parte, los biosensores amperométricos enzimáticos son los más utilizados y reportados. Por que proporcionan respuestas más rápidas, poseen mayor selectividad, usan enzimas específicas para el analito deseado y la especificidad para reconocer moléculas particulares por una transducción directa de la velocidad de reacción en una corriente (Camacho Campos, s.f.).

Estos biosensores (Figura 3) se basan en la medición de una corriente de oxidación o reducción de una especie electroactiva que es consumida o producida por un elemento biológico o un trazador redox en la superficie del electrodo a un potencial aplicado constante (Ozkan, Kauffmann, & Zuman, 2015).

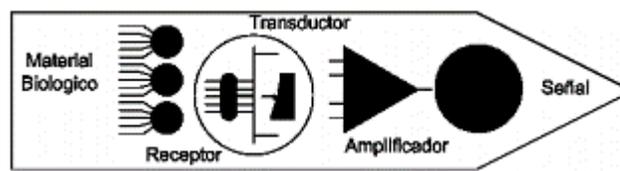


Figura 3. Concepto de sensor amperométrico (Pezzotti & Luperini, 2013)

Un sensor amperométrico hace uso de tres electrodos (Figura 4): trabajo (biosensor), referencia y auxiliar o contraelectrodo (Torres Gámez, 2019).

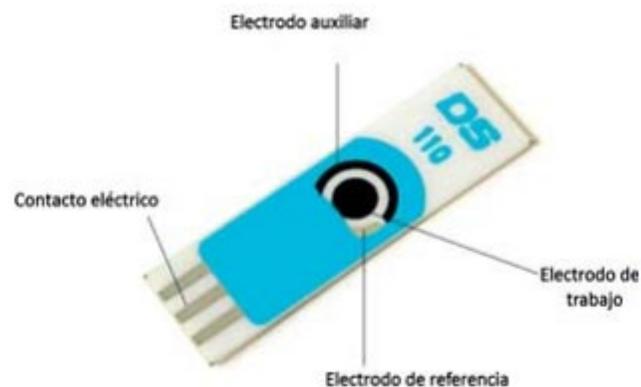


Figura 4. Diseño clásico de tres electrodos (Costa García, Gonzalez , & Begoña, 2010).

Los biosensores amperométricos se dividen en tres grupos (Figura 5): biosensores enzimáticos de primera, segunda y de tercera generación a causa de la transferencia de electrones (Kurbanoglu, Erkmen, & Uslu, 2020):

- a. En los electrodos enzimáticos de primera generación existe una reducción del oxígeno (O_2) a peróxido de hidrógeno (H_2O_2), es la transformación del sustrato en producto, es decir, la oxidación del peróxido de hidrógeno.
- b. Los electrodos enzimáticos de segunda generación, el transporte de electrones es proporcionado por los mediadores redox en lugar de oxígeno.
- c. En los electrodos enzimáticos de tercera generación, se genera una interacción directa entre el centro de la enzima y la superficie del electrodo.

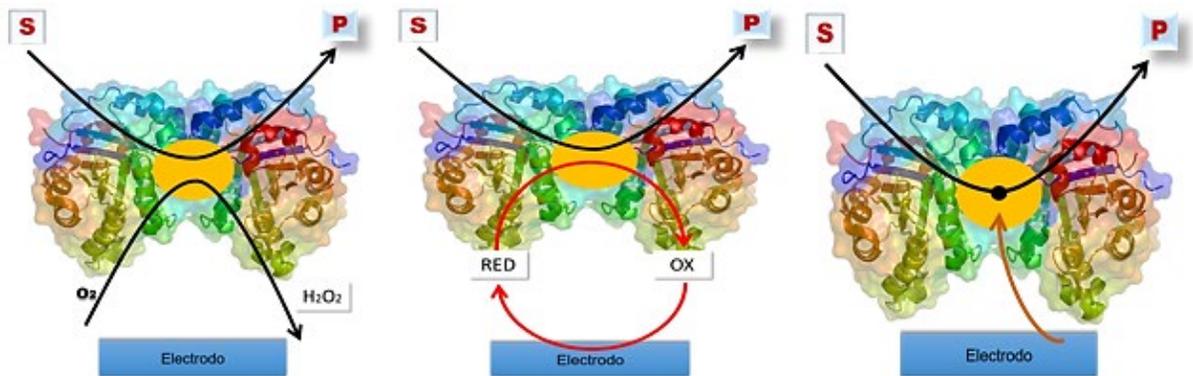


Figura 5. Formas de funcionamiento de los biosensores amperométricos (izquierda de primera generación, centro segunda generación y derecha corresponde a la tercera generación).

9.- Actividad enzimática

La actividad enzimática se expresa como la cantidad de sustrato convertida en producto por unidad de tiempo en condiciones de reacción específicas de pH y temperatura. Estos últimos parámetros pueden afectar a la respuesta del biosensor (Ozkan, Kauffmann, & Zuman, 2015). Sin embargo, estos factores no solo influyen en la actividad de la enzima, sino que afectan también la interacción entre las especies electroactivas y la superficie del electrodo de trabajo, sobre la cual, se lleva a cabo la reducción electroquímica de los productos generados por la acción de la enzima (Ibarra Escutia, *et al.*, 2010).

La relación entre el pH y la actividad enzimática depende de las propiedades ácido-base de las enzimas y los sustratos, especialmente del tipo de residuos de aminoácidos en el centro catalítico. Los valores de pH elevados suelen provocar una

pérdida total de actividad en la mayoría de las enzimas. A la hora de determinar el valor de pH óptimo para una enzima, también es muy importante la composición del entorno en el que tiene lugar la reacción y, en particular, la composición de la mezcla tampón utilizada en ella (Herenda, y otros, 2019).

Por consiguiente, se observó el efecto del pH en la respuesta del biosensor, por lo que, se calculó la actividad utilizando la siguiente ecuación (Manoj, *et al.*, 2020):

$$\text{Actividad (\%)} = \frac{\text{corriente observada en un pH específico}}{\text{corriente máxima entre todos los probadores de rango de pH}} \times 100$$

También la actividad enzimática puede verse afectada por moléculas como inhibidores y activadores. La monitorización indirecta de tales analitos puede lograrse midiendo el cambio en el producto enzimático y/o la electroactividad de la enzima antes y después de la interacción con el analito (Ozkan, Kauffmann, & Zuman, 2015).

El mecanismo de inhibición enzimática por parte de los fármacos puede ser reversible o irreversible (Figura 7). La inhibición reversible es el mecanismo más comúnmente observado. Por lo tanto, es necesario el estudio de la inhibición enzimática inducida por los fármacos, el cribado de los inhibidores y el seguimiento de su toxicidad (El Harrad, Bourais, & Aminez, 2018).

La cinética de una reacción enzimática se controla mediante la velocidad del producto o la velocidad de disminución de la cantidad de reactivo (Figura 6). Si el producto de los sensores enzimáticos es electroactivo, la reacción entre ellos se puede examinar con técnicas amperométricas (Kurbanoglu, Uslu, & Ozkan, 2018).

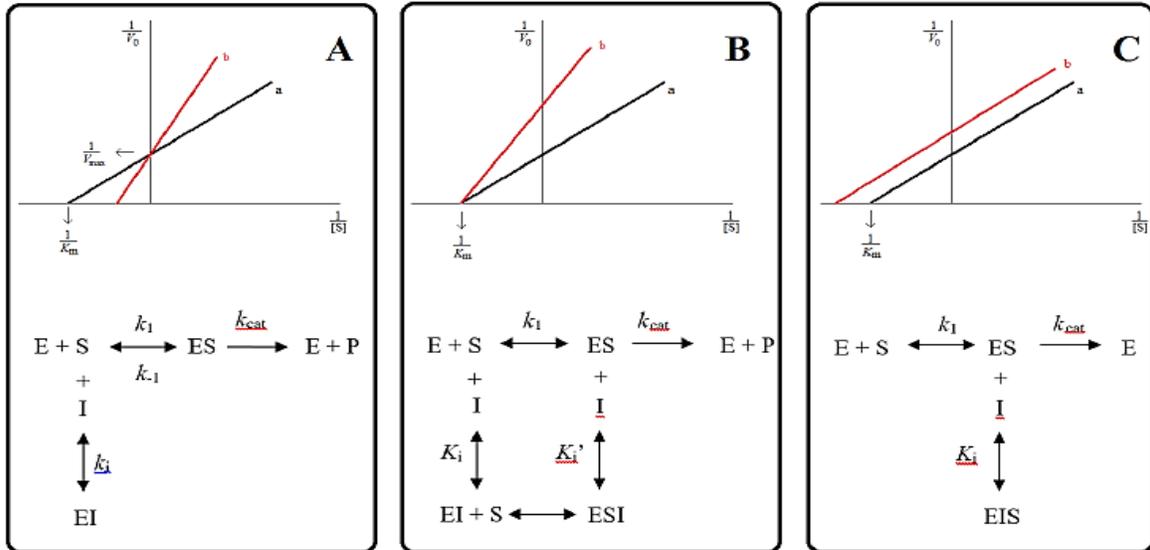


Figura 6. Cinética de la reacción enzimática (A) competitiva, (B) no competitiva y (C) a competitivo (Kurbanoglu, Ozkanb, & Merkoci, 2017).

Estos biosensores electroquímicos utilizan muchas enzimas y la vía más estudiada es la de las dianas farmacológicas en la vía metabólica de los organismos vivos. Estas dianas farmacológicas actúan como inhibidores enzimáticos; en consecuencia, se puede medir la concentración del inhibidor que afecta a la velocidad de esta transformación enzimática. Los biosensores electroquímicos realizan mediciones utilizando pequeños volúmenes de muestra, bajas concentraciones de componentes biológicos y, en ocasiones, dispositivos analíticos miniaturizados. La importancia de utilizar las enzimas con fines analíticos se debe a sus numerosas propiedades como la precisión en la medición de las tasas de reacción enzimática, la sensibilidad hacia el sustrato debido a la configuración "llave-cerradura", la adecuación a las necesidades y la gran diversidad de enzimas analíticas disponibles a gran escala (El Harrad, Bourais, & Aminez, 2018).

10.- Biosensores en el análisis farmacéutico.

El uso de biosensores en el análisis farmacéutico ha llamado la atención no solo por la cuantificación de un compuesto activo (Tabla 3), sino también, en el análisis de productos de degradación y metabolitos en fluidos biológicos como lo indica de Souza Gil & Rodrigues de Melo (2010).

Para la determinación confiable de la concentración del analito se traza una función, donde los datos experimentales se ajustan a una ecuación logística de cuatro parámetros (sigmoideal) según la siguiente ecuación:

$$y = i_1 + \frac{i_2 - i_1}{1 + 10^{(\text{Log } IC_{50} - x)p}}$$

Donde i_2 e i_1 son los valores de corriente máxima y mínima en el gráfico de calibración trazado, IC_{50} es la concentración de analito que produce el 50% de la señal amperométrica máxima, y p es la pendiente en el punto de inflexión de la curva sigmoidea (Conzuelo, y otros, 2013). La medición experimental más confiable estará cerca del valor de la IC_{50} .

Tabla 3. Detección de distintos medicamentos mediante biosensores amperométricos

Medicamento	Compuesto a analizar	Biosensor	Actividad
Antinflamatorio y analgésico	Salicilatos (grupos enólicos y fenólicos)	Basado en enzima superóxidos dismutasa	La actividad antioxidante y eliminadora de los radicales de compuestos fenólicos (incluso los derivados del salicilato)
	Acetaminofén (paracetamol)	Basados en la inmovilización directa de la enzima en nanotubos de carbono, partículas nanoporosas, carbón vítreo. Enzimas naturales de vegetales como las peroxidasas, tirosinasa, fenoxidasa, oxidasas, hidrolasa aril-acilamidasa, en electrodos serigrafados	La peroxidasa de rábano, en presencia de peróxido de hidrógeno cataliza la oxidación de acetaminofén en N-acetil- <i>p</i> benzoquinonimina
Antibióticos	β - lactámicos	Basado en la inmovilización de una proteína bacteriana recombinante de unión a la penicilina en electrodos de carbono	Trazador con peroxidasa de rábano picante, tras la adición de peróxido de hidrogeno en presencia de

		serigrafiados modificados con ácido nitrilotriacético (NTA)	hidroquinona como mediador redox.
--	--	---	-----------------------------------

Como se observó en la tabla anterior de algunos ejemplos de fármacos que se han analizado con el uso de biosensores amperométricos, los fármacos de interés son los IECA que no hay muchos registros sobre su análisis con los mismos biosensores.

11.- El desarrollo de transductores y electrodos electroquímicos.

Sin embargo, el avance en la ciencia de los materiales y la nanotecnología han llevado a un importante desarrollo de muchos transductores electroquímicos y electrodos como, por ejemplo:

- En el desarrollo de canales ionóforos biomiméticos que responden selectivamente a fármacos específicos (Stasyuk, y otros, 2021).
- En el desarrollo de nanomateriales con dimensiones moleculares, es decir, partículas porosas y monodispersas como las de arcilla, con alta área superficial, lo que resulta en una alta sensibilidad (Stasyuk, y otros, 2021).
- En el desarrollo de los nanotubos de carbono y nanopartículas metálicas como modificadores de la superficie del electrodo (Figura 7) (El Harrad, Bourais, & Aminez, 2018), generando una mayor superficie para la transducción de señales, así como, para la inmovilización de enzimas, ADN o incluso para la preconcentración de moléculas electroactivas (He, Xu, & Fang, 2006).

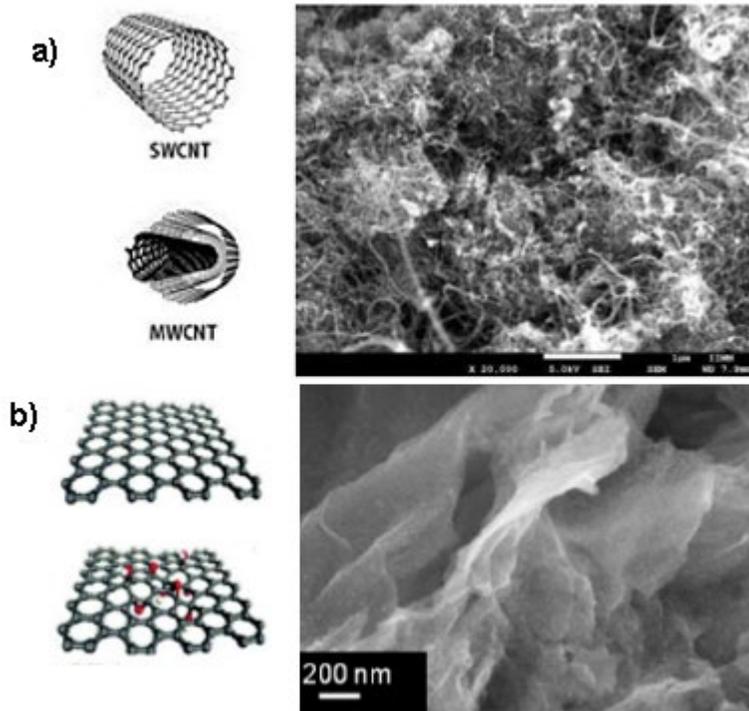


Figura 7. Ilustración de la estructura de materiales nanoestructurados y nanopartículas utilizando microscopio electrónico de barrido (SEM por sus siglas en inglés), a) estructura de nanotubos de carbono; b) óxido de grafeno (Neethirajan, Ragavan, Weng, & Chand, 2018).

- En el desarrollo de polímeros conductores, para los sensores electroquímicos, por ejemplo: películas ultrafinas, baja resistividad eléctrica y grupos funcionales adecuados para la inmovilización del agente reconocedor (Malhotra et al., 2006).
- En nanopartículas metálicas, como el oro (Figura 8), por sus propiedades superficiales, electrónicas y catalíticas, interaccionando con el centro activo de la enzima y facilitando el transporte de electrones hacia la superficie del electrodo (Aguilera, Mena, González-Cortés, & Yañez-Sedeño, 2005), posteriormente de plata, platino y paladio (Sasidharan, Maduraiveeran, & Ganesan, 2017). También en nanopartículas óxido metal como óxido de cerio (CeO_2), óxido de cobre (CuO), óxido de níquel (NiO), etc. (Sasidharan, Maduraiveeran, & Ganesan, 2017).

Biosensor de xantina oxidasa: XOD/nAu-CPE

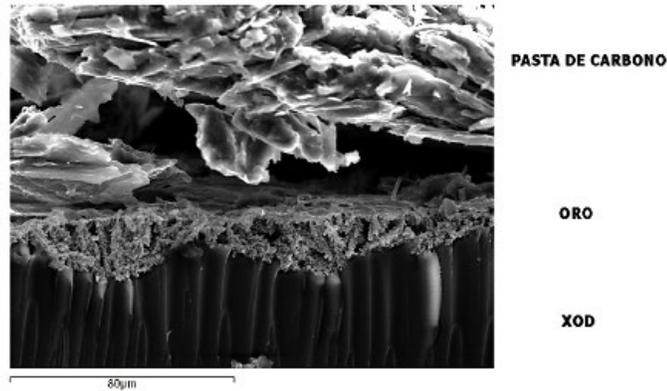


Figura 8. Biosensor de xantina oxidasa (XOD), sobre un electrodo de pasta de carbono modificado con nanopartículas de oro (Aguil, Mena, González-Cortes, & Yañez-Sedeño, 2005).

- En el uso de aptámeros, respondiendo con una afinidad de unión específica a fármacos, proteínas y moléculas pequeñas (Sook Bang, Cho, & Gee Kim, 2005) y en conjunto con el grafeno (GN) (Figura 9), presentan una alta conductividad térmica, propiedades de transporte electrónico y un área superficial alta (Wang L. , y otros, 2012).

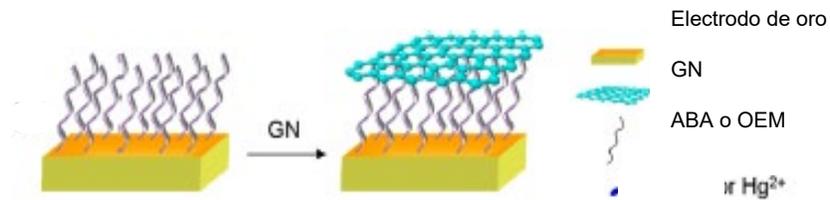


Figura 9. Complejo electrodo de oro- adenosina trifosfato (ABA) o un oligonucleótido específico de mercurio para unir el grafeno dando lugar a un aptámero de unión a adenosina trifosfato (Wang L. , y otros, 2012).

- En la pasta de carbono como transductor, favoreciendo la compactación y la fijación al electrodo (Mihos, y otros, 2013).
- En nanhojas de grafeno donde se incrustaron partículas de óxido de hierro (Fe₃O₄) (Figura 10), con una actividad electrocatalítica alta y una relación señal/ruido significativo (Nga, y otros, 2018).

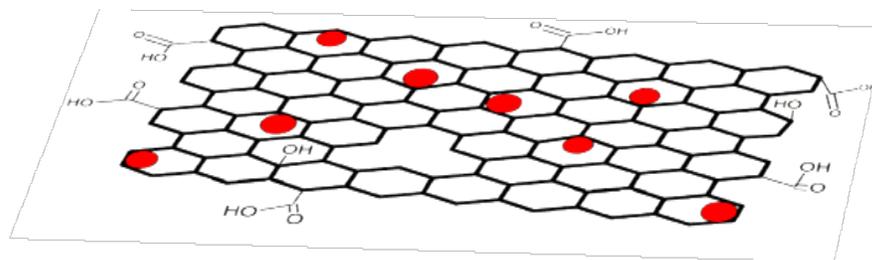


Figura 10. Representación del grafeno con partículas de Fe_3O_4 (puntos rojos) (Nga, y otros, 2018)

- En el uso de diamante dopado con boro como electrodo, con propiedades como una alta estabilidad, dureza, superficie no polar y una buena actividad en analitos redox sin pretratamiento (Tofanello Gimenes, *et al.*, 2015).
- En poros de silicio para la inmovilización de biomoléculas, observando una mayor retención, estabilidad y área superficial y la modificación del tamaño de los poros puede detectar analitos de muy baja concentración (Fopase, y otros, 2020) (Figura 11).

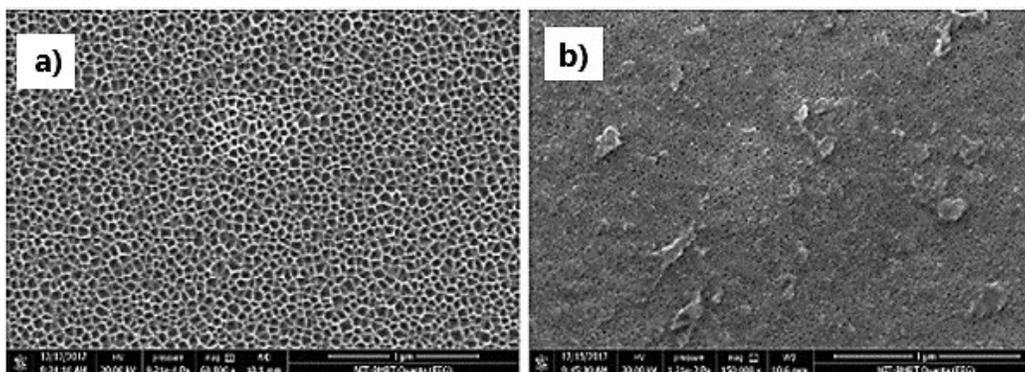


Figura 11. Para observar los cambios morfológicos de los poros de silicio por modificaciones químicas se utilizó el microscopio electrónico de barrido (SEM por sus siglas en inglés), a) poros de silicio con diámetros semejantes, b) poros de silicio oxidados con H_2O_2 generando una reducción en su diámetro con grupos hidroxilos en la superficie (Fopase, y otros, 2020).

- Los electrodos serigrafados (por sus siglas en inglés Screen-Printed Electrodes (SPE)) se han empleado para la detección *in situ* de una gran variedad de analitos de matrices complejas de muestras de compuestos farmacéuticos, observando una simplicidad, reproducibilidad, estabilidad, desechabilidad y rapidez en la respuesta (Couto, Lima, & Quinaz, 2015).

- El uso de la impresión por inyección de tinta (Figura 12) para la elaboración de biosensores proporcionando una alta resolución, flexibilidad, sencillez, rapidez, eficientes, bajo costo y su capacidad para la producción en masa (Li, Rossignol, & Macdonald, 2015).

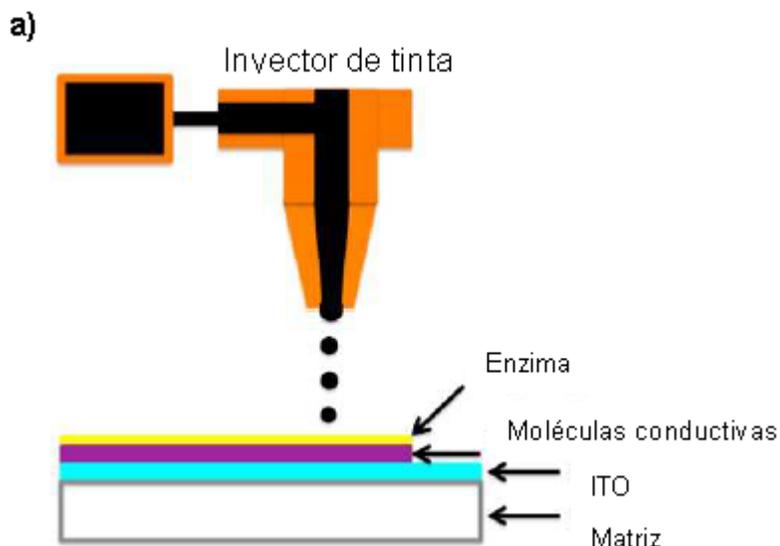


Figura 12. Representación de un biosensor de inyector de tinta, donde las moléculas conductoras pueden ser nanopartículas, compuestos organometálicos y polímeros conductores junto con óxido de indio y estaño (ITO por sus siglas en inglés) (Li, Rossignol, & Macdonald, 2015).

Dado que estos dispositivos desempeñan un papel cada vez más importante en la vida cotidiana, surgen rápidamente nuevos desarrollos en el diseño de biosensores. Es importante resaltar los avances recientes en materiales y técnicas para el diseño y construcción de biosensores amperométricos electroquímicos. El rápido crecimiento de los biomateriales ha dado lugar a innovaciones significativas, en la funcionalidad de los sensores y en la aparición de nuevos biosensores. Sin embargo, las aplicaciones *in vivo* todavía están limitadas por el deterioro funcional a causa de la contaminación de la superficie con los componentes biológicos. No obstante, los nuevos materiales y técnicas que se han estudiado ampliamente en las últimas dos décadas, es prometedor para disminuir los problemas relacionados con la interacción entre las superficies extrañas, los fluidos y tejidos biológicos (Zhang, Wright, & Yang, 2000).

Tabla 4. Condiciones para la detección de fármacos IECAs mediante biosensores amperométricos.

	Muestra	Sensor/electrodo	pH	Sistema de complemento	Límite de detección	Fuente
Captopril						
	Comprimidos	Electrodo de pasta de carbono	3,6	FIA	1.4×10^{-5} M	Marcolino-Junior, <i>et al.</i> , 2009
	Orina Río Comprimidos	Biomimético Electrodo de pasta de carbono + complejo de hierro + ftalocianina [(FePc(dipy))]	2,5 – 8,0	FIA*	1.4×10^{-8} M 5.0×10^{-4} a 2.5×10^{-2} mol L ⁻¹	Wong, Lanza, & Sotomayor, 2010
	Orina Comprimidos	Electrodo de carbono vítreo + grafeno + hexacianoferrato de cobre	7,0		0.09 μM	(Gholivand, Khodadadian, & Omidi, 2012)
	Comprimidos	Electrodo de pasta de carbono + compuesto de hexacianoferrato de cobalto/grafeno	7,4		0.331 μM	(Sattarahmady, Heli, & Moradi, 2012)
	Tabletas Orina	Electrodo ITO/laponite/CoHCFE	<6		0.29 μM	(Cai, Zhang, Song, Zhang, & Shan, 2016)
	Orina Tabletas	Electrodo de carbono vítreo + PDPP + Cds-QDs + MWCNT	2,0-10,0		15 nM	(Paimard, y otros, 2014)
Enalapril						
	Comprimidos	Electrodo serigrafiado	2,0-6,0		0.9 μM	(Mehmeti, Stankovic, & Kalcher, 2017)
Lisinopril						

	Muestra	Sensor/electrodo	pH	Sistema de complemento	Límite de detección	Fuente
	Plasma	Electrodo de oro frente a electrodo de referencia Ag/AgCl	NaOH	IPAD	0.12 ng/mL	(Xiu Liu, y otros, 2012)
	Plasma	Electrodo de carbono vítreo/ β -CD/GO-SO ₃ H	6,0		0.11 μ M	(Hasanzadeh, Pournaghi-Azar, & Abolghasem Jouyban, 2014)
Perindopril						
	Soluciones mixtas	Electrodo de pasta de grafito- aceite de parafina	6,0-8,0	FIA SIA		(Stefan, van Standen, Vusimuzi Mulaudzi, & Aboul-Enein, 2002)

*Análisis de Inyección por Flujo

**Análisis de Inyección por Lotes- Amperometría de Pulsos Múltiple

11.1 Como ejemplo, Marcolino-Junior, *et al.* en 2009, utilizaron un sistema amperométrico para la determinación de tabletas de captopril (CAP), mediante un análisis de inyección de flujo (FIA), lo proponen para su uso en el control de calidad, las ventajas son el bajo consumo de reactivos y muestras, la mejor repetibilidad, alto rendimiento de la muestra, intercambio más fácil de medios después de la acumulación de analitos, reducción del riesgo de contaminación durante la etapa de análisis, junto con una buena precisión y una alta sensibilidad. Así también, un coste relativamente bajo de la instrumentación. Se hace uso de un electrodo de pasta de carbono (CPE), debido a su bajo coste y una fácil construcción mediante una mezcla de polvo de grafito y aceite mineral, que permiten resultados de cuantificación en el intervalo de concentración de $5,0 \times 10^{-5}$ a $1,0 \times 10^{-2}$ mol L⁻¹ y un límite de detección de $1,4 \times 10^{-5}$ mol L⁻¹. En la etapa de desarrollo del biosensor se propuso como pH óptimo para realizar la investigación, un valor de pH=3.6, debido a que obtuvo un mejor perfil para los resultados experimentales .

11.2 De acuerdo con Wong, Lanza, & Sotomayor en 2010, quienes investigaron sensores electroquímicos contruidos con pastas de carbono modificadas, ellos encontraron que los sensores tienen una estabilidad química y una actividad electrocatalítica notable, anudado a esto, permiten el uso de una variedad de muestras: una ventaja es la flexibilidad en el método de preparación de la pasta. Todas estas características observadas en el sensor lo convierten en un candidato apto para la construcción, aplicación y acoplamiento a un sistema de análisis de inyección de flujo (FIA), aplicación de un sensor amperométrico modificado con el complejo de hierro (II) ftalocianina bis(piridina), que ha sido identificado como un potencial catalizador biomimético de la enzima P450 en la cuantificación de captopril en muestras como orina, agua de río y tabletas, se han obtenido valores excelentes para los límites de detección en las distintas muestras utilizadas.

También se debe destacar que pusieron a prueba al sensor a distintos niveles de pH observando que el pH ácido o básico no tiene influencia en la cuantificación de captopril.

11.3 Los investigadores Gholivand, Khodadadian , & Omidí en 2012, construyeron un electrodo de carbono vítreo (GCE) modificado con dos capas: una de grafeno (GR) en la superficie del GCE, seguido de la electrodeposición de nanopartículas de hexacianoferrato de cobre (CuHCF) sobre la capa de grafeno, para la determinación de captopril en orina y tabletas. La respuesta más favorable de este electrodo modificado se lograba dentro del pH neutro logrando un límite de detección de 0.09 µM. La elección de estos materiales se determinó a partir de las

características que presentaban los componentes como: el hexacianoferrato de cobre (CuHCF), por su capacidad de presentar reacciones redox reversibles en diferentes electrolitos de soporte, las películas de CuHCF pueden depositarse electroquímicamente sobre diferentes sustratos como GCE, Pt, Au, SnO₂ y grafito. El GCE cubierto de grafeno se utilizó como sustrato para la electrodeposición de la película de CuHCF que actúa como mediador de electrones para la electrooxidación del captopril. El grafeno tiene una conductividad eléctrica excelente, una superficie mayor en comparación con el grafito y una distribución más uniforme de los sitios electroquímicamente activos.

11.4 Por otra parte, los autores Sattarahmady, Heli, & Moradi en 2012, sintetizaron un nanocompuesto de hexacianoferrato de cobalto y hojas de óxido de grafeno y fabricaron un electrodo de pasta de carbono modificando la superficie con este nanocompuesto para la determinación de captopril en tabletas. La elección del nanocompuesto es por sus aplicaciones en imanes moleculares, optomagnetos, sensores de humedad, dispositivos electrocrómicos, termocrómicos y electrocatálisis. En el compuesto, tanto la especie de cobalto como la de hierro tienen dos estados de oxidación (II) y (III), lo que da lugar a una multitud de estequiometrías y estados redox del compuesto. El electrodo modificado mostró una eficiente actividad electrocatalítica hacia la electrooxidación del captopril, se estudió la difusión del contra catión en el nanocompuesto y la cinética de transferencia de carga a través de la interfaz electrodo/electrolito y en presencia de captopril, la corriente de pico anódica de la transición Fe(II)/Fe(III) aumentó y la catódica disminuyó, mientras que las corrientes de pico de la transición Co(II)/Co(III) permanecieron casi constantes. Indicando que el captopril se oxidó en la superficie del electrodo modificado mediante una transferencia de electrones mediada por la superficie (una reacción electrocatalítica), obteniendo excelentes resultados para el límite de detección de 0,331 M del captopril en comprimidos.

11.5 En otro estudio, Cai, Zhang, Song, Zhang, & Shan (2016) intercalaron iones de Co²⁺ en las capas de laponita y luego electrogeneraron hexacianoferratos de cobalto (CoHCFe) en la superficie del ITO modificado con laponita-Co²⁺. La laponita se utilizó como material huésped para la intercalación de Co²⁺ debido a su capacidad de intercambio de cationes, por sus propiedades coloidales de laponita, laponita-Co²⁺ puede ser inmovilizada en la superficie de ITO fácilmente y ser fuente de Co para la posterior electrogeneración de CoHCFe en una solución acuosa que contiene hexacianoferrato. El electrodo modificado (ITO/laponita/CoHCFe) fue altamente electrocatalítico para la oxidación del captopril, mostrando un límite de detección de 0.29 mM, un rango lineal amplio, alta sensibilidad y buena reproducibilidad en la determinación electrocatalítica de captopril en muestras reales,

como orina y tabletas, en general los resultados fueron satisfactorios. Sin embargo, el efecto del pH en la oxidación electrocatalítica del captopril, indica que cuando el $\text{pH} < 6,0$, la corriente anódica cambió poco y cuando el $\text{pH} > 6$, la corriente anódica disminuyó significativamente. Este comportamiento se atribuye a la formación de $\text{Fe}(\text{OH})_3$ y a la inestabilidad de la película. Por lo tanto, este electrodo es relativamente estable en condiciones ácidas.

11.6 Paimard y colaboradores (2014) fabricaron un sensor mediante la inmovilización de 1, 4-fenileno-N, N'-bis (O, Odifenilforamidato) (PDPP) en la superficie del electrodo de carbono vítreo (GCE) que fue modificado por CdSQDs/MWCNTs para la detección nanomolar de captopril (CAP) con el método amperométrico, gracias a su excelente comportamiento electrocatalítico hacia la oxidación de CAP en muestras reales como tabletas y orina. La combinación de CdS-QDs y MWCNTs con PDPP mejoró considerablemente la respuesta de la corriente del GCE hacia la oxidación electrocatalítica del CAP. El sensor propuesto mostró como ventajas un límite de detección bajo, una alta sensibilidad, respuesta rápida, el bajo costo, una reproducibilidad razonable, estabilidad, el límite de detección fue de 15 nM. La preparación del electrodo de carbono vítreo modificado (GCE) con 1, 4-fenileno-N, N'-bis (O, O-difenilforamidato) (PDPP), puntos cuánticos de CdS cubiertos de L-cisteína (CdS-QDs) y nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs), se consideró por las siguientes características: los puntos cuánticos (QDs) son nanocristales semiconductores que poseen propiedades ópticas y electrónicas ajustables en tamaño, que se han utilizado en varias áreas, como la catálisis, los revestimientos, los textiles, el almacenamiento de datos, la biotecnología, la atención sanitaria, la biomedicina, las industrias farmacéuticas y, más recientemente, en la química bioanalítica. La modificación de la superficie de los QDs puede cambiar sus propiedades ópticas, químicas, electroquímicas y fotocatalíticas. Por lo que, los QDs modificados con diferentes grupos funcionales en la superficie podrían proporcionar una nueva química para su aplicación en la química electroanalítica. Uno de estos modificadores es la cisteína, cuyo QD capado se ha utilizado como sonda fluorescente para iones de cobre. Por lo tanto, la cisteína (CdS-QDs) se puede utilizar como un modificador de superficie adecuado en el campo electroquímico. Para una mejor detección a nanoescala, los QDs recubiertos pueden unirse a una nanopartícula adecuada, como los MWCNTs.

11.7 En el estudio de Mehmeti, Stankovic, & Kalcher en el año 2017, se desarrolló un procedimiento electroanalítico simple, sensible y selectivo para la determinación del contenido total de enalapril en comprimidos utilizando un electrodo serigrafiado (SPE) no modificado con detección amperométrica. Las señales de corriente fueron linealmente proporcionales a la concentración de enalapril en un

rango de 2.5 a 90 μM y con un límite de detección de 0.9 μM . El sensor propuesto no requiere ningún procedimiento complejo para su construcción. Se observó que el enalapril proporciona un pico de oxidación bien definido y de forma ovalada a +1.05 V (frente a Ag/AgCl, 3,0 M KCl) en la solución tampón Britton-Robinson (BRBS) a pH 5.0. En medios ácidos, el enalapril proporcionó un pico de oxidación irreversible bien definido en torno a +1.05 V. El aumento del pH de la solución electrolítica de soporte tuvo como consecuencia una pérdida del pico. Al aumentar el valor de pH del electrolito de soporte de 2.0 a 6.0, los picos de potencial se desplazan a un potencial menos positivo y el pico de corriente aumenta hasta el valor de pH de 5.0, se puede concluir que el pH del electrolito de soporte más adecuado para la oxidación del enalapril es el pH 5.0 debido a que no existe participación de protones en la reacción que se produce en el electrodo SPE.

11.8 Un método rápido y práctico para la separación y la detección directa de lisinopril en plasma humano con detección amperométrica pulsada integrada (IPAD) fue desarrollada por Xiu Liu, y colaboradores en 2012. Utilizaron columnas Dionex AS18 (250 mm 2 mm) y AG18 (50 mm 2 mm) y una solución de NaOH de 40 mmol/L para la separación, obteniendo el límite de cuantificación (LOQ) y el límite de detección (LOD) de 0.37, 0.12 ng/mL, respectivamente. La detección electroquímica pulsada se desarrolló para los compuestos alifáticos polares, que contienen aminas, alcoholes o restos de azufre. Dado que el lisinopril es un compuesto polar y está presente como un anión en condiciones alcalinas. Además, contiene grupos aminos primarios y secundarios, que se espera que se oxiden en los electrodos de oro en condiciones alcalinas. Demostrando que este método era rápido y sencillo para la determinación de lisinopril en plasma humano.

11.9 Se desarrolló un método electroquímico para la determinación de Lisinopril con un electrodo de carbono vítreo modificado con un compuesto de β -ciclodextrina-óxido de grafeno-SO₃H (β -CD/GO-SO₃H/GCE). Obteniendo el rango de concentración y límite de detección de 0,21-190,4 y 0,11 IM (S/N = 3), respectivamente (Hasanzadeh, Pournaghi-Azar, & Abolghasem Jouyban, 2014). Las propiedades de β -CD/GO-SO₃H están muy relacionadas con sus microestructuras, su dispersión y la morfología del β -CD. Las ciclodextrinas (CD) son una clase bien conocida de moléculas naturales obtenidas de la degradación enzimática del almidón. Las CD y sus derivados, se han observado que tienen efectos bien conocidos sobre la solubilidad, disolución, la biodisponibilidad, la seguridad, la estabilidad, y administración de fármacos. Sin embargo, el tamaño de la cavidad de la α -CD es insuficiente para muchos fármacos y la ω -CD es cara. Entre los CDs, el β -CD está recibiendo una atención creciente debido a su bajo costo y al tamaño de la cavidad adecuado para la más amplia gama de fármacos en medios acuosos, sus

cavidades ampliamente hidrofóbicas, de tamaño variable y numerosas formas de modificación química son de importancia en la investigación electroquímica que incluye tanto su comportamiento en soluciones homogéneas y en películas delgadas adheridas a las superficies de los electrodos. Proporcionando información útil sobre la naturaleza de las formas reducidas y oxidadas de los compuestos electroactivos, como los fármacos, y sobre los aspectos mecánicos de los procesos de los electrodos. También permiten monitorizar incluso cambios muy sutiles del entorno molecular de los centros redox mediante el seguimiento de sus potenciales redox. Por lo tanto, los CD se emplean en dispositivos de detección electroquímica para la determinación de analitos seleccionados. Una de las características más importantes de los CD es la formación de complejos de inclusión con diversas moléculas orgánicas e inorgánicas. Tras la formación de estos complejos de inclusión, las características de la molécula huésped dentro de las cavidades del CD, como la solubilidad, el redox y el espectro se modifican significativamente. Esta propiedad única ha llevado a la utilización generalizada de los CD en los sectores farmacéutico, químico y otras áreas industriales. La estabilidad de los complejos de inclusión depende del tamaño y la polaridad de las moléculas invitadas, de la naturaleza del medio y de la temperatura. Basándose en las propiedades de complejación selectiva por tamaño de los CD, cuanto mejor sea el ajuste de las moléculas invitadas dentro de la cavidad de la CD, más estable será el complejo que se produzca. La estabilidad del complejo es proporcional a la polaridad de la molécula huésped. El lisinopril es un fármaco polar, por lo que se puede estudiar el atrapamiento de este fármaco en la CD. El lisinopril es una sustancia electroactiva. Sin embargo, su señal electroquímica no puede mejorar notablemente cuando la molécula de lisinopril entra en la película que contiene β -CD en los electrodos modificados con β -CD. Para mejorar la señal puede realizarse mediante materiales secundarios como los nanotubos de carbono multipared (MWCNT), grafeno, etc. En comparación con el electrodo modificado con β -CD/MWCNT modificados, las películas híbridas de β -CD/grafeno mostraron un mejor rendimiento analítico. El efecto del pH de la solución en la respuesta electroquímica se investigó con solución PBS en el rango de pH de 2,0-11,0, observando que los picos de corriente anódica de lisinopril aumentan ligeramente cuando hay un aumento en la solución de pH hasta 6,0. Esto puede atribuirse a la desprotonización del lisinopril, cuando pasa de la forma neutra a la catiónica, aumentó su acumulación electrostática en la superficie del electrodo. Por lo tanto, se eligió una solución PBS de pH 6,0 para los experimentos analíticos posteriores. El potencial de pico dependía estrechamente del pH de la solución. Comprobando que los valores del potencial de pico se desplazaban hacia valores negativos con el aumento del pH. β -CD/GO-SO₃H puede adsorber lisinopril y promover la transferencia de electrones, por lo que proporciona una mayor superficie

electroactiva y una menor resistencia a la transferencia de carga en comparación con la GCE. El proceso electroquímico es irreversible y presenta la característica de un sistema controlado por adsorción. El pico de corriente y la concentración de lisinopril muestran una relación lineal en un amplio rango. El electrodo presentó una buena repetibilidad y estabilidad por lo que se podría aplicar en un futuro la determinación de lisinopril en medicamentos.

11.10 Detección simultánea de la S- y R- perindopril. En 2002, Stefan, van Standen, Vusimuzi Mulaudzi, & Aboul-Enein investigaron sobre sistemas: de inyección de flujo (FIA) y análisis de inyección secuencial (SIA) para el ensayo simultáneo de los dos isómeros de perindopril (pdp). Los sensores electroquímicos utilizados como detectores son ambos biosensores amperométricos. Para la construcción de los biosensores amperométricos basados en pasta de carbono se utilizaron la L- y el D-aminoácido oxidasa (AAOD). La selección de este tipo de sensores se debió a su alta sensibilidad. Los rangos de concentración lineal se encontraron en el rango de nmol l⁻¹, desde 120 pmol l⁻¹ hasta 40 nmol l⁻¹ (3 × S.D.), con límites de detección muy bajos. El sistema de biosensores/flujo puede utilizarse de forma fiable en línea en el control del proceso de síntesis, para el ensayo simultáneo de S- y R-pdp con una frecuencia de más de 30 muestras por hora. El papel de la quiralidad se ha establecido firmemente en la industria farmacéutica. La aplicación de FIA/sensores o SIA/sensores para el ensayo simultáneo de enantiómeros es especialmente necesaria para la industria farmacéutica, debido a la necesidad de discriminar con exactitud y precisión entre los enantiómeros de los fármacos con centro quiral. La razón de tal análisis se debe a la diferencia en la farmacocinética y la farmacodinámica de los fármacos quirales. En consecuencia, para las materias primas de los fármacos quirales, se debe realizar una prueba de enantiopureza. El principio de reconocimiento quiral para este tipo de biosensores es el L- y el D-AAOD catalizan únicamente la reacción del L- o del D-aminoácido, respectivamente, ya que perindopril tiene una fracción de aminoácido. Las principales ventajas de los sistemas propuestos son: la sencillez de construcción y funcionamiento, que implicó su introducción para la monitorización en línea de enantiómeros durante la síntesis de los mismos, alta fiabilidad de la información analítica, rapidez y bajo coste del análisis. Debido a su mayor fiabilidad y versatilidad, así como por su menor consumo de reactivos, el sistema SIA/biosensores es preferible al sistema FIA/biosensores para el ensayo simultáneo de enantiómeros. La superficie de los biosensores se lava continuamente con las corrientes portadoras de cloruro sódico o tampón fosfato. Para el sistema FIA como SIA, los valores óptimos de pH para el ensayo de los enantiómeros S y R fueron 7,0 y entre 6,5 y 7,5 respectivamente. Por lo que se determinó que el pH óptimo es de 7,0. La principal

desventaja observada en la utilización de biosensores como detectores en sistemas de flujo es su corta vida útil. Debido a los bajos niveles de concentración de trabajo, la materia prima debe diluirse en algún momento en línea. Las únicas interferencias posibles de las muestras reales de materia prima son la L- y la D-prolina. Donde se comprobó la enantioselectividad frente a estos compuestos y se demostró que era mejor en un sistema de flujo, en comparación con un método de análisis estático.

12. Analisis de la información bibliográfica asociada a la elaboración y funcionamiento de los biosensores.

De acuerdo con los estudios analizados para la detección de fármacos IECAs mediante el uso de biosensores amperométricos electroquímicos (tabla 4), se utilizaron distintos electrodos fabricados o con modificaciones, en distintas muestras ya sea farmacéuticas (comprimidos), ambiental (agua de río) o clínicas (orina, plasma), donde se observó que los excipientes como cisteína, ácido ascórbico, L y D- prolina, muestran una interferencia cuando se encuentran con una concentración de 5-6 veces más que el fármaco de interés.

Se observó que no hubo alteración alguna o significativa en los resultados en experimentos con muestras como orina, agua de río o plasma demostrando así su uso y manipulación en el campo destacando su versatilidad, selectividad, especificidad y sensibilidad por analitos de interés, constatando que las características del entorno como el pH, polvo, agua y excipientes no generan alguna variación en el resultado con concentraciones similares (excepto los ya mencionados anteriormente) demostrando la capacidad de respuesta del biosensor, una alta sensibilidad, reproducibilidad, precisión, fiabilidad, repetibilidad, estabilidad para la monitorización de fármacos IECAs.

En algunos estudios se hace uso de otros sistemas para la detección de estos fármacos, con el objetivo de optimizar el rendimiento del sensor, en la determinación del análisis frente al biosensor para observar si se obtendrán resultados similares y determinar si el biosensor es apto en la detección de los mismos. Pero se obtuvo una desventaja en el sistema de flujo (FIA): tiene una corta vida útil.

Con respecto a los materiales utilizados, ya sea en el diseño, construcción y fabricación de estos biosensores son adecuados por su bajo costo, facilidad en la construcción, durabilidad, simplicidad y respuesta rápida.

Se ha observado que, para la determinación de fármacos IECA, el pH óptimo es básico, pero para muestras como orina o plasma, donde el pH varía, no tiene afectación alguna al momento de la determinación de los mismos, destacando que,

en la literatura encontrada, el pH óptimo se encuentra en un margen amplio, que va desde 2,0 a 11,0 demostrando que el entorno no afecta en su análisis.

Se puede resaltar que el límite de detección es bajo al realizar la cuantificación con los biosensores, esto demuestra su uso para el análisis de fármacos IECAs en muestras reales y pequeñas e incluso con el menor pretratamiento es posible.

A todo esto, los biosensores como herramienta para el análisis de fármacos son candidatos aptos por características como su uso en análisis campo fuera de laboratorio, la facilidad de uso, bajo costo, tamaño pequeño, fácil fabricación, alta selectividad y sensibilidad. Como cualquier otro dispositivo necesita más investigación, ensayos, pruebas, etc., esto por las variaciones en la respuesta analítica cuando en la construcción de un biosensor se modifican algunos de sus componentes como podría ser los electrodos, la superficie de los mismos, el uso de nuevos materiales, el uso de otros sistemas o tipos de muestra, el método de inmovilización de las enzimas. Con base a la información de biosensores amperométricos electroquímicos para el análisis de fármacos IECA's, para su construcción y su uso se deben optimizar las condiciones experimentales.

Como se describe en la presente investigación, los biosensores como herramientas para el análisis de fármacos, están en auge por todas sus posibles aplicaciones, para cumplir con las características cada vez más exigentes de los análisis, de acuerdo con los estándares de calidad asignados a ensayos para evaluar o mejorar la salud humana.

Bibliografía

- Aguii, L., Mena, M. L., González-Cortes, A., & Yañez-Sedeño, P. (2005). Biosensores electroquímicos basados en el empleo de nanopartículas de oro. *Anales de la Real Sociedad Española de Química.*, 12-16. Recuperado el 17 de mayo de 2021, de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1289923>
- Amat Aliaga, A., de la Noval García, R., & Hernández Veliz, D. (2020). Enzima convertidora de angiotensina II y el uso de inhibidores del sistema renina angiotensina aldosterona. ¿Podría ser una práctica beneficiosa en pacientes con COVID- 19? *Rev. Cubana Cardiol y Cir Cardio*, 1-3. Recuperado el 09 de abril de 2021, de <http://www.revcardiologia.sld.cu/index.php/revcardiologia/article/view/1001/pdf>
- Boix Cayuela, M., & Sánchez-Paniagua López, M. (2016). Biosensores enzimáticos electroquímicos en la industria alimentaria. *E-Prints Complutense Repositorio Institucional de la UCM*. Recuperado el 16 de julio de 2021, de <http://147.96.70.122/Web/TFG/TFG/Memoria/MARTA%20BOIX%20CAYUELA.pdf>
- Cai, W.-R., Zhang, G.-Y., Song, T., Zhang, X.-J., & Shan, D. (2016). Cobalt hexacyanoferrate electrodeposited on electrode with the assistance of laponite: The enhanced electrochemical sensing of captopril. *Elsevier Electrochemical Acta*, 198, 32-39. Recuperado el 24 de febrero de 2022, de <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S001346861630620X>
- Camacho Campos, C. (s/f). Los biosensores en la química analítica moderna. *CETENZ*. Recuperado el 15 de septiembre de 2021, de <https://es.scribd.com/document/293092061/Los-Biosensores-en-La-Quimica-Analitica-Moderna-16-Pag>
- Cardona S, D. P., Castaño M., E. D., Saldarriaga C., N., Quiñones F., W. W., Torres R., L. F., & Echeverri L., L. F. (2003). Aplicación de la resonancia magnética nuclear (RMN) en el análisis de medicamentos. *VITAE*, 10, 80-88. Recuperado el 04 de febrero de 2022, de <https://www.redalyc.org/pdf/1698/169817981009.pdf>
- Cardoso Marra, M. (2018). “Desenvolvimento de métodos simples e rápidos para determinação de fármacos por eletroforese capilar com detecção condutométrica sem contato (CE-C4D)”. *Programa de Pós-Graduação em*

Química. Universidade Federal de Uberlândia, Brasil.
doi:<http://dx.doi.org/10.14393/ufu.te.2018.806>

- Chopin Doroteo, M. (2012). Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos. *Medigraphic*, 86-89. Recuperado el 13 de septiembre de 2021, de <https://www.medigraphic.com/pdfs/invdiss/ir-2012/ir122g.pdf>
- COFEPRIS. (2021). *COFEPRIS*. Recuperado el 25 de enero de 2022, de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/657152/LMR_2021_01_actualizacion_13_de_julio_de__2021
- Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos - México, S. d. (2002). Guía de validación de métodos analíticos. 4. Mexico, México: Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México. A.C. Recuperado el 21 de enero de 2021
- Conzuelo, F., Gamella, M., Campuzano, S., Martínez Ruiz, P., Esteban Torres, M., de las Rivas, B., Pingarrón, J. (2013). Integrated Amperometric Affinity Biosensors Using Co²⁺-Tetradentate Nitrilotriacetic Acid Modified Disposable Carbon Electrodes: Application to the Determination of B-Lactam Antibiotics. *analytical chemistry*, 85(6), 3246–3254.
doi:<https://doi.org/10.1021/ac303604b>
- Costa García, A., Gonzalez, G., & Begoña, M. (2010). Los biosensores electroquímicos: herramientas de la analítica y del diagnóstico clínico. *Universidad de Oviedo*, 197-222. Recuperado el 12 de mayo de 2021, de <https://digibuo.uniovi.es/dspace/handle/10651/11669>
- Couto, R., Lima, J., & Quinaz, M. (2015). Recent developments, characteristics and potential applications of screen-printed electrodes in pharmaceutical and biological analysis. *Talanta*, 146(1), 801-814.
doi:<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.06.011>
- Díaz-Maroto, S. (2000). Inhibidores de la enzima angiotensina convertasa (IECA). Farmacología e indicaciones terapéuticas. *Farmacología*, 19(3), 80-89. Recuperado el 09 de abril de 2021, de <https://www.elsevier.es/es-revista-offarm-4-articulo-inhibidores-enzima-angiotensina-convertasa-ieca--15466>
- El Harrad, L., Bourais, I., & Aminez, A. (2018). Recent advances in Electrochemical biosensors based on enzyme inhibitors for clinical and pharmaceutical applications. *Sensor*, 18(1), 164. doi:<https://doi.org/10.3390/s18010164>

- Fernández Oropesa, C., & Gallego Fernández, C. (1995). Utilidad terapeutica de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. *Farm Hosp*, 19(1), 3-9. Recuperado el 09 de abril de 2021, de https://www.sefh.es/revistas/vol19/n1/3_9.PDF
- Fopase, R., Paramasivam, S., Kale, P., & Paramasivan, B. (2020). Strategies, challenges and opportunities of enzyme immobilization on porous silicon for biosensing applications. *ELSEVIER*, 8(5), 104266. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104266>
- García Barreto, D., & Toruncha Chuckram, A. (1997). Los inhibidores de la enzima conversora de angiotensina. *Rev. Cubanas Cardiol y Cir Cardio*, 11(1), 29-46. Recuperado el 09 de abril de 2021, de <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/lil-208269>
- Gholivand, M. B., Khodadadian, M., & Omid, M. (2012). Amperometric sensor based on a graphene/copper hexacyanoferrate nano-composite for highly sensitive electrocatalytic determination of captopril. *ELSEVIER Materials Science and Engineering C*, 33(2), 774-781. doi:<https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.11.001>
- Hasanzadeh, M., Pournaghi-Azar, M. H., & Abolghasem Jouyban, N. S. (2014). Determination of lisinopril using B-cyclodextrin/graphene oxide-SO₃H modified glassy carbon electrode. *Springer J Appl Electrochem*, 44(7), 821-830. doi:<https://doi.org/10.1007/s10800-014-0689-8>
- He, P., Xu, Y., & Fang, Y. (2006). Applications of Carbon Nanotubes in Electrochemical DNA Biosensors. *Microchimica Acta volume*, 152(3-4), 175-186. doi:<https://doi.org/10.1007/s00604-005-0445-1>
- Herenda, S., Ostojić, J., Miloš, M., Hasković, E., Hasković, D., & Deljković, E. (2019). The Effect of ACE Inhibitor (perindopril) on Peroxidase Activity in vitro Conditions. *Electrochemical Science*, 14, 10130–10138. Recuperado el 20 de mayo de 2021, de <http://www.electrochemsci.org/papers/vol14/141110130.pdf>
- Hiep Nguyen, H., Hyeok Lee, S., Jin Lee, U., D. Fermin, C., & Kim, M. (2019). Immobilized Enzymes in Biosensor Applications. *MDPI materials*, 12(1), 121. doi: <https://doi.org/10.3390/ma12010121>

- Husain, Q. (2017). Biosensor applications of grafene-nanocomposites bond oxidoreductive and hydrolytic enzymes. *Analytical Methods*, 9(48), 6734–6746. doi:<https://doi.org/10.1039/c7ay02606d>
- Ibarra Escutia, P., Ramírez Silva M. T., Rojas Hernández, A., & Palomar Pardave, M. (2010). Efectos: temératura, el potencial y el pH sobre la respuesta de un biosensor útil para la determinación de polifenoles. (UAM.MX, Ed.) *XX Congreso de la Sociedad Mexicana de Electroquímica*, 1029- 1036. Recuperado el 14 de mayo de 2021, de http://materiales.azc.uam.mx/ing_materiales/area/PDF/2261205/1.13/EA226.pdf
- INSP, I. N. (2020). *Gobierno de México*. Obtenido de <https://www.insp.mx/avisos/5398-hipertension-arterial-problema-salud-publica.html#:~:text=De%20acuerdo%20con%20la%20Encuesta,cuales%20aproximadamente%20el%2040%20por>
- J. Blum, L., & R. Coulet, P. (2019). *Biosensor Principles and Applications*. New York: Prensa CRC. Recuperado el 14 de septiembre de 2021, de <https://books.google.at/books?id=Szj3DwAAQBAJ>
- Jiménez C., C., & León P., D. E. (2009). Biosensores: aplicaciones y perspectivas en el control y calidad de procesos y productos alimenticios. *Vitae*, 144-154. Recuperado el 21 de mayo de 2021, de <http://www.scielo.org.co/pdf/vitae/v16n1/v16n1a17.pdf>
- Kelly, J., & O'Malley, K. (1990). Clinical pharmacokinetics of the newer ACE inhibitors a review. *Clin. Pharmacokinet*, 19(3), 177-196. doi:<https://doi.org/10.2165/00003088-199019030-00003>
- Kurbanoglu, S., Erkmen, C., & Uslu, B. (2020). Frontiers in electrochemical enzyme based biosensors for food and drug analysis. *Trends in Analytical Chemistry TRAC*, 124(115809), 115809. doi:<https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115809>
- Kurbanoglu, S., Ozkanb, S., & Merkoci, A. (2017). Nanomaterials- based enzyme electrochemical biosensors operating through inhibition for drug analysis, safety and security apploations. (Elsevier, Ed.) *Biosens Bioelectron*, 89, 886-898. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.09.102>
- Kurbanoglu, S., Uslu, B., & Ozkan, S. (2018). Nanobiodevice for electrochemical biosensing of pharmaceuticals. En *Nanostructures for the Engineering of cell*.

Tissues and Organs (págs. 291- 330). Elsevier.
doi:<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813665-2.00008-9>

- Li, J., Rossignol, F., & Macdonald, J. (2015). Inkjet printing for biosensor fabrication: combining chemistry and technology for advanced manufacturing. *Lab on a Chip*, 15(12), 2538–2558. doi: <https://doi.org/10.1039/c5lc00235d>
- Manoj, D., Auddy, I., Nimbkar, S., Chittibabu, S., & Shanmugasundaram, S. (2020). Development of co-immobilised enzymes amperometric biosensor for the determination of triglycerides in coconut milk. *International Food Research Journal*, 27(5), 875-882. Recuperado el 02 de diciembre de 2021, de [http://www.ifrj.upm.edu.my/27%20\(05\)%202020/DONE%20-%2011%20-%20IFRJ19508.R1.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/27%20(05)%202020/DONE%20-%2011%20-%20IFRJ19508.R1.pdf)
- Marchante Castellanos, D., Zumbado Fernández, M., González Atá, M., Alvarez Gil, D., & Hernández Mejías, M. (2008). *Análisis Químico Farmacéutico Métodos Clásicos Cuantitativos*. de la Habana: Universitaria. Recuperado el 21 de enero de 2022, de https://www.researchgate.net/profile/Hector-Zumbado/publication/348559959_Analisis_Quimico_Farmacaceutico_Metodos_Clasicos_Cuantitativos/links/6004b5c445851553a0507680/Analisis-Quimico-Farmacaceutico-Metodos-Clasicos-Cuantitativos.pdf
- Marcolino-Junior, L. H., Gomes Bonifacio, V., Campanha Vicentini, F., Campos Janegitz, B., & Fatibello-Filho, O. (2009). Amperometric determination of captopril using a carbon paste electrode in flow analysis. *Canadian Journal of Analytical Sciences and Spectroscopy*, 54(1). Recuperado el 08 de diciembre de 2021, de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/45606506/Amperometric_determination_of_captopril_20160513-10729-fchacj-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1659842242&Signature=Zwjw5Q-kldCkAIXDYL9pjoZty2ed5pkgCmGa2bCRd4IWGKzuAIHgeB9t7FfiBQHhcfDiHyuLeg3cSk6cwk2OM1TQa1gLB1
- Matínez Pérez, L. (2014). Desarrollo y aplicación de estudios de biodisponibilidad de un método analítico para cuantificar captopril en plasma humano por CLAR/EM/EM. *Tesis para título*. MÉXICO, D.F.: Universidad Autónoma de México. Recuperado el 29 de enero de 2022, de https://www.zaragoza.unam.mx/wp-content/Portal2015/Licenciaturas/qfb/tesis/tesis_martinez_perez.pdf

- Mehmeti, E., Stankovic, D. M., & Kalcher, K. (2017). Determination of enalapril in pharmaceuticals using electrochemical sensing with amperometric detection. *Analytical & Bioanalytical Electrochemistry*, 9(8), 1000-1007. Recuperado el 08 de diciembre de 2021, de https://cherry.chem.bg.ac.rs/bitstream/handle/123456789/2576/Determination_of_Enalapril_pub_2017.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Mexicanos, M. (2014). *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos* (11° ed.). México: Secretaría de Salud. Comisión Permanente de la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. Recuperado el 10 de abril de 2021
- Mihos, F., Pinto, B., Bosco, A., dos santos, V., Ribeiro, E., Silva, L., & Salgado, A. (2013). Planteamiento experimental para la producción de electrodo de pasta de carbono. *AAIQ- CSPQ*. Recuperado el 06 de diciembre de 2021, de https://www.aaiq.org.ar/SCongresos/docs/06_029/papers/01a/01a_1833_080.pdf
- Neethirajan, S., Ragavan, V., Weng, X., & Chand, R. (2018). Biosensors for sustainable food engineering: Challenges and perspectives. *Biosensors*, 8(1), 23. doi: <https://doi.org/10.3390/bios8010023>
- Nga, D., Hung, V., Thanh, C., Chuc, N., Thanh, L., Lam, T., Thu, V. (2018). In-situ electrochemically deposited Fe₃O₄ nanoparticles onto graphene nanosheets as amperometric amplifier for electrochemical biosensing applications. *Sensors and actuators: B Chemical*, 283(15), 52-60. doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.11.152>
- NOVARTIS. (08 de Mayo de 2020). NOVARTIS. Obtenido de <https://www.novartis.com.mx/news/media-releases/insuficiencia-cardiaca-dentro-de-los-padecimientos-que-generan-mas-decesos-en#:~:text=M%C3%A9xico%20tiene%20una%20tasa%20de,provocar%20el%20fallecimiento%20de%20estos.>
- Nureña Flores, M., & Romero Merino, S. (2012). *Validación del método analítico por espectrofotometría uv/vis para la cuantificación de enalapril maleato 10 mg tabletas recubiertas*. Universidad Nacional de Trujillo. Recuperado el 04 de febrero de 2022, de <https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1785>
- Ortega Ortiz de Apodaca, F. (2006). *Biosensores y Biochips: Herramientas para el diagnóstico y la terapéutica*. España: Real Academia Nacional de Farmacia. Recuperado el 10 de febrero de 2022, de <https://www.ranf.com/wp-content/uploads/academicos/discursos/numero/fidel.pdf>

- Ozkan, S., Kauffmann, J., & Zuman, P. (2015). Electrochemical Biosensor for Grug Analysis. En *Electroanalysis in Biomedical and Pharmaceutical Scinces*. Berlin, Heidelberg: Springer.
- Paimard, G., Gholivand, M., Shamsipur, M., Gholivand, K., Mohammadi-Behzad, L., Gholami, A., & Barati, A. (2014). Fabrication of a highly sensitive amperometric sensor using 1, 4-phenylene-N,N'-bis (O, O-diphenylphoramidate)/Cds quantum dots/ multi-walled carbon nanotubes for nanomolar of captopril. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 738, 176-183. doi:<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.12.001>
- Perez, J. (2014). *Academia.edu*. Recuperado el 21 de enero de 2022, de https://www.academia.edu/4513278/Guia_de_Validacion_de_metodos_analiticos_editada_por_QFB_de_Mexico
- Pezzotti, I., & Luperini, A. (2013). Construcción de un biosensor amperometrico y su instrumentación usando microelectrodos de 4 pozos. *Rev. Politécnica*, 16, 9-19. Recuperado el 20 de junio de 2021, de <https://biblat.unam.mx/es/revista/revista-politecnica/articulo/construccion-de-un-biosensor-amperometrico-y-su-instrumentacion-usando-microelectrodos-de-4-pozos>
- Reviejo, A. J., & Pingarrón, J. M. (2000). Biosensores electroquimicos. Una herramienta útil para el análisis medioambiental, alientario y clínico. *Anales de la Real Sociedad Española de Química*, 2, 5-15. Recuperado el 20 de mayo de 2021, de <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=867274>
- Reyes-Moreno, E. R. (2010). Evaluacion farmacologica de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. *Rev. Salud, hostoria, sanidad.*, 5(1), 1-15. Recuperado el 09 de abril de 2021, de <http://agenf.org/ojs/index.php/shs/article/view/122>
- Reyes-Moreno, E. R. (2010). Evaluacion farmacologica de los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina. *Rev. Salud, hostoria, sanidad.*, 5(1), 1-15. Recuperado el 09 de abril de 2021, de <http://agenf.org/ojs/index.php/shs/article/view/122>
- Salvetti, A. (1990). Newer ACE inhibitors a look at the future. *Drugs*, 40(6), 800-828. Recuperado el 27 de noviembre de 2021, de <https://sci.bban.top/pdf/10.2165/00003495-199040060-00004.pdf#view=FitH>

- Sasidharan, M., Maduraiveeran, G., & Ganesan, V. (2017). Electrochemical sensor and biosensor platforms based on advanced nanomaterials for biological and biomedical applications. *Biosensors and Bioelectronics*, *103*, 113-129. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.12.031>
- Sattarahmady, N., Heli, H., & Moradi, S. (2012). Cobalto hexacyanoferrate/graphene nanocomposite - Application for the electrocatalytic oxidation and amperometric determination of captopril. *Elsevier Sensors and Actuator B: Chemical*, *177*, 1098-1106. doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.12.035>
- Siangproh, W., Ngamukot, P., & Chailapakul, O. (2003). Electrochemical determination of captopril at boron-doped diamond thin film electrode applied to a flow injection system. *ELSEVIER Sensors and Actuators B*, 60-66.
- Singh, R. K., Tiwari, M. K., Singh, R., & Lee, J. (2013). From Protein Engineering to Immobilization: Promising Strategies for the Upgrade of Industrial Enzymes. *International Journal of Molecular Sciences*, *14*(1), 1232-1277. doi:<https://doi.org/10.3390/ijms14011232>
- Skoog, D., James Holler, F., & Crouch, S. (2008). *Principios de análisis instrumental*. México: CENGAGE Learning.
- Sook Bang, G., Cho, S., & Gee Kim, B. (2005). A novel electrochemical detection method for aptamer biosensors. *Elsevier*, *21*(6), 863-870. doi:<https://doi.org/10.1016/j.bios.2005.02.002>
- Souza Gil, E., & Rodrigues de Melo, G. (2010). Electrochemical biosensors in pharmaceutical analysis. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *46*(3), 375-391. doi:<https://doi.org/10.1590/s1984-82502010000300002>
- Stasyuk, N., Gayda, G., Demkiv, O., Darmohray, L., Gonchar, M., & Nisnevitch, M. (2021). Amperometric biosensor for L-arginine determination based on L-arginine oxidase and peroxidase-like nanozymes. *Applied sciences*, *11*, 7024. doi:<https://doi.org/10.3390/app11157024>
- Stefan, R.-I., van Standen, J. F., Vusimuzi Mulaudzi, L., & Aboul-Enein, H. Y. (2002). On-line simultaneous determination of S- and R-perindopril using amperometric biosensors as detectors in flow systems. *Elsevier analytica chemical acta*, *467*(1-2), 189-195. doi:[https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(02\)00089-2](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(02)00089-2)

- Tagle, R. (2017). Diagnóstico de hipertensión. *Med. Clin. Condes*, 29(1), 12-20. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2017.12.005>
- Taverny, G., Mimouni, Y., TLeDigarcher, A., Chevalier, P., Thijs, L., Wright, J., & Gueyffier, F. (2018). Farmacoterapia anti hipertensiva para la prevencion de la muerte cardíaca súbita en pacientes hipertensos. *Med. Clin. Condes*, 29(1), 103-107. doi:<https://doi.org/10.1016/j.rmclc.2018.02.003>
- Tofanello Gimenes, D., Cardoso Marra, M., Machado de Freitas, J., Abarza Muñoz, R. A., & Mathias Ritcher, E. (2015). Simultaneous determination of captopril and hydrochlorothiazide on boron-doped diamond electrode by batch injection analysis with multiple pulse amperometric detection. *Elsevier sensors and actuators B: Chemical*, 212, 411-418. doi:<https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.01.132>
- Torres Gámez, J. (2019). *Biosensores enzimáticos electroquímicos en la industria alimentaria*. Recuperado el 16 de julio de 2021, de <http://dgsa.uaeh.edu.mx:8080/bibliotecadigital/bitstream/handle/231104/2472/Desarrollo%20de%20un%20biosensor%20amperometrico%20bienzimatico%20para%20la%20cuantificacion%20simultanea.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Wang, L., Xu, M., Han, L., Zhou, M., Zhu, C., & Dong, S. (2012). Graphene enhanced electron transfer at aptamer modified electrode and its application in biosensing. *Analytical Chemistry*, 84(17), 7301-7307. doi:<https://doi.org/10.1021/ac300521d>
- Wang, Y., Xu, H., Zhang, J., & Li, G. (2008). Electrochemical Sensors for Clinic Analysis. *sensors*, 8, 2043-2081. Recuperado el 05 de octubre de 2021, de https://scholar.google.com.mx/scholar_url?url=https://www.mdpi.com/1424-8220/8/4/2043/pdf&hl=es&sa=X&ei=-0z3Yo7_FcKjywSSh4-gBw&scisig=AAGBfm3MrALKQQXqM468Np94D0K2CIhsRw&oi=scholar
- Wong, A., Lanza, M. R., & Sotomayor, M. D. (2010). Development and application of a highly selective biomimetic sensor for detection of Captopril, an important ally in hypertension control. *Combinational Chemistry & High Throughput Screening*, 13(8), 666-674. doi:DOI: 10.2174/138620710791920392
- Xiu Liu, X., Shou, D., Lan Chen, M., Dong Chen, Z., Min Zhang, P., & Zhu, Y. (2012). Determination of lisinopril using anion exchange chromatography

with integrated pulsed amperometric detection. *Elsevier Chinese Chemical Letters*, 23(3), 335-338. doi:<https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2011.11.024>

Zhang, S., Wright, G., & Yang, Y. (2000). Materials and techniques for electrochemical biosensor design and construction. *Elsevier Biosensors Bioelectronics*, 15(5-6), 273- 282. doi:[https://doi.org/10.1016/S0956-5663\(00\)00076-2](https://doi.org/10.1016/S0956-5663(00)00076-2)

Zhimeng, Z., Andre, V., & Len, N. (2002). Liquid chromatography–mass spectrometry method for determination of ramipril and its active metabolite ramiprilat in human plasma. *Journal of Chromatography B Elsevier*, 779(2), 297- 306. doi:[https://doi.org/10.1016/S1570-0232\(02\)00398-7](https://doi.org/10.1016/S1570-0232(02)00398-7)