



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
UNIDAD XOCHIMILCO

División de Ciencias Biológicas y de la Salud
Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

Informe final de servicio social

**“Nuevas técnicas analíticas basadas en sensores para la monitorización
terapéutica de fármacos”**

PROYECTO GENÉRICO CORRESPONDIENTE

**DESARROLLO DE MÉTODOS Y TÉCNICAS ANALÍTICAS PARA EL
CONTROL FÍSICO, QUÍMICO, BIOLÓGICO Y/O MICROBIOLÓGICO DE
PRODUCTOS RELACIONADOS CON LA SALUD.**

ETAPA DEL PROYECTO GENÉRICO

Presenta:

Bernal Villeda Atenea Roxana

Matricula:

2152026850

Directoras del proyecto:

Dra. Georgina Alarcón Angeles

M en C. Marcela Hurtado Y de la Peña



Resumen:

La monitorización terapéutica de fármacos (MTF) es una técnica que se está explorando con avidez, pues bien podría facilitar la individualización de los tratamientos farmacológicos, mejorando su eficacia y reduciendo su toxicidad. Esto gracias a los avances tecnológicos que han permitido evaluar la dosis-respuesta de los fármacos con estrecho margen terapéutico en tiempo real y mediante técnicas cada vez más rápidas y menos invasivas. La monitorización está basada en estudios farmacocinéticos y farmacodinámicos que, a su vez, toman en cuenta diversos factores como los genéticos, ambientales, apego al tratamiento, costo-beneficio, entre otros.

En el presente trabajo, se llevó a cabo una investigación documental en diversas bases de datos para abordar las características de la MTF y las técnicas analíticas basadas en sensores utilizados para la monitorización de algunos fármacos con estrecho margen terapéutico.

Se encontró que los fármacos monitorizados son aquellos que tienen buena relación entre concentración y efecto farmacológico, además de que, haciendo uso de sensores electroquímicos y ópticos como elementos de lectura y reconocimiento en el seguimiento de las concentraciones plasmáticas de fármacos, se pueden obtener resultados automatizados en tiempo real, ya que cuentan con mejor especificidad en comparación con las técnicas convencionales de HPLC e inmunoensayos, sin embargo estas nuevas técnicas aún se encuentran en fase de desarrollo, por lo que aún no están establecidos como métodos de análisis rutinarios.

Contenido

| | |
|---|----|
| Resumen: | 2 |
| 1. Introducción | 4 |
| 2. Objetivo General..... | 5 |
| 2.1 Objetivos Particulares..... | 5 |
| 3. Marco teórico..... | 6 |
| 3.1. La farmacocinética y la farmacodinamia como bases del estudio de fármacos en el organismo..... | 6 |
| 3.2. Monitorización terapéutica de fármacos | 8 |
| 1.3 Aspectos a considerar en la monitorización terapéutica de los fármacos..... | 9 |
| 3.3 Técnicas analíticas usadas en la monitorización terapéutica de los fármacos..... | 11 |
| 3.3.1 Técnicas analíticas basadas en cromatografía | 11 |
| 3.3.2 Técnicas basadas en inmunoensayos..... | 12 |
| 3.3.3 Nuevas técnicas analíticas basadas en sensores..... | 12 |
| 3.3.3.1 Técnicas analíticas basadas en biosensores. | 14 |
| 3.3.3.1.1 Biosensores ópticos..... | 15 |
| 3.3.3.1.2. Biosensores electroquímicos | 16 |
| 3.3.3.2 Los fármacos monitorizados | 18 |
| 3.3.3.3 Nanosensores | 22 |
| 3.4 Monitoreo de la actividad terapéutica de vancomicina..... | 25 |
| 3.5 Monitoreo de la actividad terapéutica de Rifampicina | 26 |
| 3.6 Monitoreo de la actividad terapéutica de Cefiderocol..... | 26 |
| 3.7 Monitoreo de la actividad terapéutica de Carbamazepina..... | 28 |
| 3.8. Problemas actuales..... | 29 |
| 4. Conclusiones | 30 |
| 5. Referencias | 31 |

1. Introducción

La variabilidad en la eficacia y la seguridad de los medicamentos entre individuos o grupos de individuos es un problema inherente al tratamiento farmacológico de diversos padecimientos. Este problema cobra mayor importancia en algunas circunstancias, entre ellas, fármacos con márgenes terapéuticos muy estrechos.

Actualmente, existen metodologías que se encargan del estudio farmacocinético individualizado de diferentes tratamientos farmacológicos que presentan problemas de eficacia y/o alta toxicidad. Dicho estudio, denominado como MTF, se lleva a cabo de manera convencional por medio de análisis de laboratorio que pueden llegar a ser costosos y, en la mayoría de los casos, demora días en obtenerse resultados. Por lo anterior se tiene la necesidad de desarrollar técnicas vanguardistas que hagan posible la detección de fármacos en muestras biológicas de manera más rápida y menos invasiva, lo que permitiría mejoras en los tratamientos que podrían dar solución a diversas morbilidades. Este análisis se puede lograr en tiempo real con el uso de sensores que puedan proporcionar mediciones confiables y eficientes, permitiendo así, conocer el comportamiento del fármaco dentro del organismo y entender el proceso intrínseco de este sobre los factores farmacocinéticos (ADME) específicos de cada paciente.

Para el diseño de estos sensores ha sido necesario incluir, entre otros, avances en nanotecnología, ya que, con ellos es posible alcanzar el desarrollo de sensores altamente sensibles que pueden generar una respuesta mejorada en tiempos y límites de detección bajos en diferentes matrices, además de mejorar también la relación señal / ruido^[1].

En la presente revisión se describen algunos ejemplos recientes sobre las tecnologías usadas para la MTF, capaces de detectar productos farmacéuticos en muestras biológicas a través de nuevos dispositivos basados en sensores electroquímicos, biosensores, biomarcadores y nanomateriales que emplean elementos de reconocimiento clásicos, como ácidos nucleicos, enzimas, anticuerpos, células y elementos de reconocimiento recientes, como fagos y aptámeros.

2. Objetivo General.

- Realizar una revisión bibliográfica sobre las nuevas técnicas analíticas basadas en sensores para la monitorización terapéutica de los fármacos con estrecho margen terapéutico.

2.1 Objetivos Particulares.

- Discutir los fundamentos de la monitorización terapéutica de los fármacos
- Analizar las características de los fármacos idóneos para la monitorización terapéutica de los fármacos.
- Revisar las técnicas analíticas convencionales en la monitorización terapéutica de los fármacos.
- Investigar las nuevas técnicas analíticas basadas en sensores electroquímicos y ópticos para la monitorización terapéutica de los fármacos.
- Analizar los retos actuales en la monitorización terapéutica de los fármacos.

3. Marco teórico

3.1. La farmacocinética y la farmacodinamia como bases del estudio de fármacos en el organismo

El estudio e interpretación del comportamiento de los fármacos en el organismo se lleva a cabo mediante dos ramas de la farmacología: la farmacodinamia y la farmacocinética. La primera se enfoca en el estudio del mecanismo de acción por el cual el fármaco realiza su actividad biológica y los factores que influyen en esta, mientras tanto, la farmacocinética se dedica al estudio de las variables cuantitativas responsables de los efectos biológicos a través del tiempo, que comprenden las etapas de absorción, distribución, metabolismo y excreción (ADME) del fármaco después de que se libera de su forma farmacéutica de manera interna en el individuo.^[2,3] Las concentraciones del fármaco en sangre, que se generan mediante las etapas de ADME, son cuantificadas y se expresan en el área bajo la curva (ABC), obteniéndose un perfil de las variaciones en la concentración plasmática del mismo en función del tiempo, tal como muestra la gráfica de la figura 1, donde se observa el cambio en la concentración desde la liberación del fármaco, la absorción en el torrente sanguíneo hasta alcanzar una concentración máxima (C_{max}) en un tiempo determinado ($T_{máx}$) y su posterior eliminación ^[4,5].

Sin embargo, existen otros parámetros que deben conocerse para el estudio de la farmacocinética en un paciente (figura 1), ya que con ellos es posible estimar qué variables se pueden modificar mediante el ajuste de la dosis o la forma de administración para alcanzar la concentración deseada. Por lo tanto, el conocimiento del proceso farmacocinético de un medicamento orienta en la toma de decisiones en cuanto a la forma de administración más indicada ^[6]

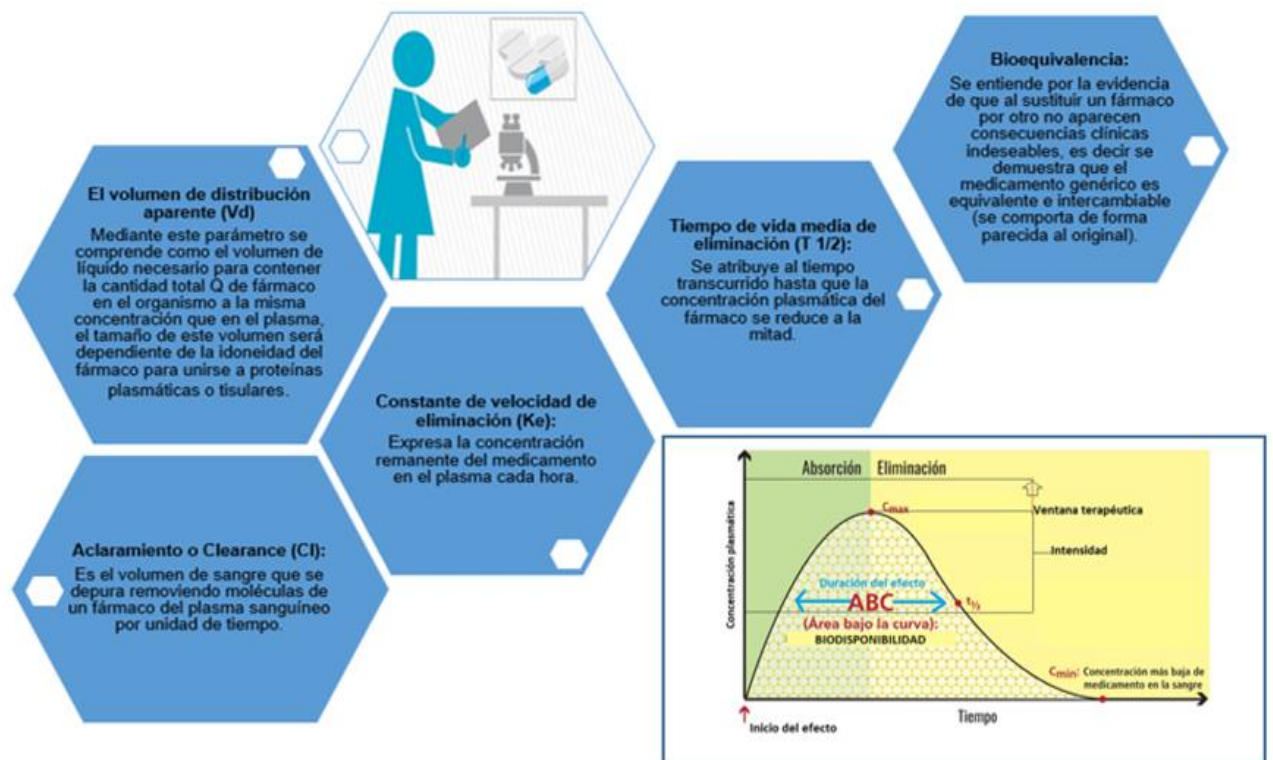


Figura 1. Modelo de los parámetros farmacocinéticos [6]

3.1.1. Factores que influyen en la farmacocinética de un fármaco

Existen diversos factores que pueden influir en la farmacocinética de los fármacos en un individuo o grupo de individuos, entre ellos se encuentran las morbilidades y los cambios fisiopatológicos provocados por la edad, el género, la carga genética, los hábitos alimentarios y la ingesta de sustancias tóxicas (alcohol, cigarro etc.), que pueden modificar la distribución y el nivel de absorción de un fármaco. Por ejemplo, en personas con obesidad, lo cual es una problemática actual a nivel mundial, según estudios de la Organización Mundial de la Salud de 2016 [7], se dificulta un abordaje terapéutico eficaz debido a que se presenta una amplia variabilidad de la respuesta farmacoterapéutica, ya que, en el organismo de los individuos que la padecen, usualmente se presentan cambios bioquímicos debidos al síndrome metabólico ocasionado por la inflamación crónica en el cuerpo y al mismo tiempo, alteraciones en los triglicéridos, glicemia, hipertensión arterial, etc. Todos estos trastornos en los órganos y sistemas en el paciente con obesidad resultan en cambios relacionados

con la distribución, unión a proteínas, transporte y eliminación, es por ello que requieren de atención médica más precisa. [8]

Lo anterior es de mayor relevancia cuando se administran compuestos activos que tienen un margen terapéutico muy reducido. En farmacología, el concepto de rango terapéutico o margen terapéutico se relaciona con aquellos fármacos que tienen parámetros muy limitados entre la dosis efectiva 50 (DE50) y la dosis letal (50) admisible, esto es que con mínimas variaciones en las concentraciones séricas de un fármaco o plasmáticas se pueden ocasionar reacciones adversas o en el peor de los casos graves fallas terapéuticas, por ello se requiere de un control más preciso en las concentraciones de los fármacos que se emplean en pacientes con características farmacocinéticas diferenciales.[9]

Además, estas variaciones en la actividad de los fármacos hacen que sea de importancia analizar no únicamente la concentración plasmática del fármaco, sino también los metabolitos como un indicador de la efectividad y seguridad de los tratamientos administrados [10]

3.2. Monitorización terapéutica de fármacos

La monitorización terapéutica de fármacos (MTF) es una técnica que consiste en conocer los valores séricos del fármaco en el paciente y con esto personalizar de forma adecuada y óptima el abordaje los tratamientos farmacológicos, haciéndolos más seguros y eficaces para cada padecimiento [11,12].

Mediante la MTF se logra reducir la toxicidad que se produce por un inadecuado diagnóstico o dosificación; además, se puede minimizar y dar seguimiento a la resistencia a los fármacos, un problema actual de salud mundial que incrementa la mortalidad y los costos médicos [13]. Los casos en los que es necesario implementar la MTF en un tratamiento farmacológico incluyen la ausencia de respuesta clínica en el rango de dosis terapéuticas, la evaluación de la adherencia farmacológica, problemas de tolerancia e interacciones medicamentosas, no obstante, a pesar de que todos los fármacos son susceptibles de monitorizarse, en la práctica no todos ellos se analizan[14].

1.3 Aspectos a considerar en la monitorización terapéutica de los fármacos

Como ya se mencionó, todos los fármacos son candidatos a evaluarse en un tratamiento, ya que de todos pueden medirse las concentraciones plasmáticas en los pacientes, sin embargo, las principales características de los fármacos que realmente se monitorizan son el estrecho margen terapéutico y la buena correlación entre el efecto farmacológico y su concentración.

Aunado a lo anterior, también es conveniente tomar en cuenta otras características con las que se podrá determinar si es necesario llevar a cabo una MTF, como son las siguientes: ^[15.16]

- Los fármacos, como los que se presentan en la tabla 1, mantienen una amplia variabilidad entre los individuos que reciben el tratamiento, es decir, que en cada paciente se presentan diferencias significativas en la biodisponibilidad del fármaco debido a su metabolismo, masa muscular, tejido adiposo, volemia, funcionamiento hepático, entre otros.
- Los pacientes son más vulnerables debido a cambios fisiopatológicos (alteración hepática, insuficiencia renal, patologías geriátricas).
- Existencia de metodología que permita obtener resultados rápidos y precisos.

En la actualidad, mediante la práctica clínica, se monitoriza la resistencia a diversos fármacos con estrecho margen terapéutico que pertenecen a las familias de los antimicrobianos, inmunosupresores, anticonvulsivantes y anticancerosos (*Tabla 1*).

Tabla 1. Categoría de fármacos que son frecuentemente monitorizados en la actualidad. ^[17]

| Familia de fármacos/ clasificación farmacológica | Fármacos |
|--|------------------------------|
| <u>Antimicrobianos/ aminoglucósidos</u> | Amikacina |
| | Gentamicina |
| | Vancomicina |
| | Voriconazol |
| | Cloranfenicol |
| Inmunosupresores | Ácido micofenólico |
| | Ciclosporina |
| | Metotrexato (antineoplásico) |
| | Irinotecan (antineoplásico) |
| | Sirolimus |
| Anticancerosos | Metotrexato |
| Anticonvulsionantes | Ácido valproico |
| | Carbamazepina |
| | Fenitoína |
| Antiarrítmicos | Amiodarona |
| | Disopiramida |
| | Flecainida |
| | Lidocaína |
| | Procainamida |

| | |
|----------------|---------------|
| | Quinidina |
| Antidepresivos | Amitriptilina |
| | Clomipramina |
| | Fluoxetina |
| | Fluvoxamina |
| | Imipramina |
| | Nortriptilina |

3.3 Técnicas analíticas usadas en la monitorización terapéutica de los fármacos

Las técnicas analíticas de MTF se basan en la cuantificación de la concentración plasmática del fármaco. A pesar de su complejidad, el HPLC junto con los métodos de inmunoensayos siguen siendo las técnicas de referencia. ^[18]

3.3.1 Técnicas analíticas basadas en cromatografía

Es la técnica de mayor uso para este tipo de análisis donde por afinidad se extrae el fármaco de las muestras biológicas y este se cuantifica por medio de detectores UV. La extracción y microextracción de fase sólida, son métodos en los que la muestra líquida pasa por una matriz sólida con una alta afinidad al fármaco, en el caso de la microextracción no se utilizan solventes, mientras que en la extracción se utiliza muy poco. Los valores de recobro del fármaco son muy buenos con una alta efectividad y bajo uso de solventes, pero las matrices que existen en la actualidad son limitadas y costosas de fabricar. Otro problema es que dependiendo del fármaco se pueden requerir múltiples extracciones, o en el caso de la microextracción, se puede modificar la eficacia del proceso para obtener los datos de las concentraciones plasmáticas, ya que se suelen utilizar extracciones por precipitación de proteínas y el sobrenadante es el que ingresa al equipo, poniendo en riesgo de tapar el equipo, por lo que usualmente se requiere una filtración adicional. ^[19]

3.3.2 Técnicas basadas en inmunoensayos

Se trata de técnicas en las cuales anticuerpos altamente específicos se unen a los fármacos en cuestión, conjugándose y de esta forma siendo detectados, requiriendo una concentración mínima para dar una respuesta. Son métodos, rápidos y económicos, capaces de utilizar distintos tipos de muestras, tales como suero, sangre completa, y orina, de esta forma se puede detectar tanto la concentración plasmática como el aclaramiento renal [20].

Estas técnicas se usan principalmente para la detección de fármacos antimicrobianos y anticancerígenos, los más utilizados incluyen el inmunoensayo multiplicado enzimático (EMIT), que utiliza un proceso simple y práctico en el cual no es necesaria la separación de los anticuerpos conjugados, siendo detectados automáticamente, es especialmente utilizado en la monitorización de vancomicina [23]. Otros inmunoensayos muy comúnmente usados son ensayo de inmunoabsorción ligado a enzimas (ELISA), sistema de hibridación, ensayo de reacción en cadena de la polimerasa (PCR), radioinmunoensayo (RIA), Northern blot, Western blot, espectrometría de masas y citometría de flujo, inmunoensayo de anticuerpos conjugados (ACMIA), inmunoensayo de donante enzimático clonado (CEDIA), inmunoensayo de micropartículas quimioluminiscentes (CMIA) y inmunoensayo de polarización de fluorescencia (FPIA) [21].

3.3.3 Nuevas técnicas analíticas basadas en sensores

Con la instrumentación analítica convencional se puede conocer el efecto del fármaco en sangre y por tal motivo, ajustar la dosificación del fármaco, pero esto no garantiza que las concentraciones estén dentro de la ventana terapéutica por un largo tiempo. Sin embargo, con la utilización de sensores, biosensores, nanosensores electroquímicos, ópticos implantables y portátiles para la MTF, las concentraciones séricas son medidas en tiempo real y la dosificación del fármaco se puede ajustar en el momento, puesto que los resultados son arrojados de forma

automática, reduciendo los tiempos y costos que implicaría el análisis en laboratorios^[22].

Como lo define la International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC) un sensor químico es “aquel dispositivo que transforma la información química en una señal analítica” esto quiere decir que los sensores constan de un receptor y un transductor, que son encargados simultáneamente del reconocimiento molecular y de la codificación de la interacción analito-receptor en una señal. ^[23]

Los de sensores pueden clasificarse en físicos cuando detecta cambios en parámetros físicos (presión, masa, temperatura etc.) y químicos cuando detectan cambios de pH, concentración etc.

En función del tipo de transductor empleado es posible clasificarlos en cuatro (figura 2): electroquímicos, ópticos, térmicos, pizoeléctricos.

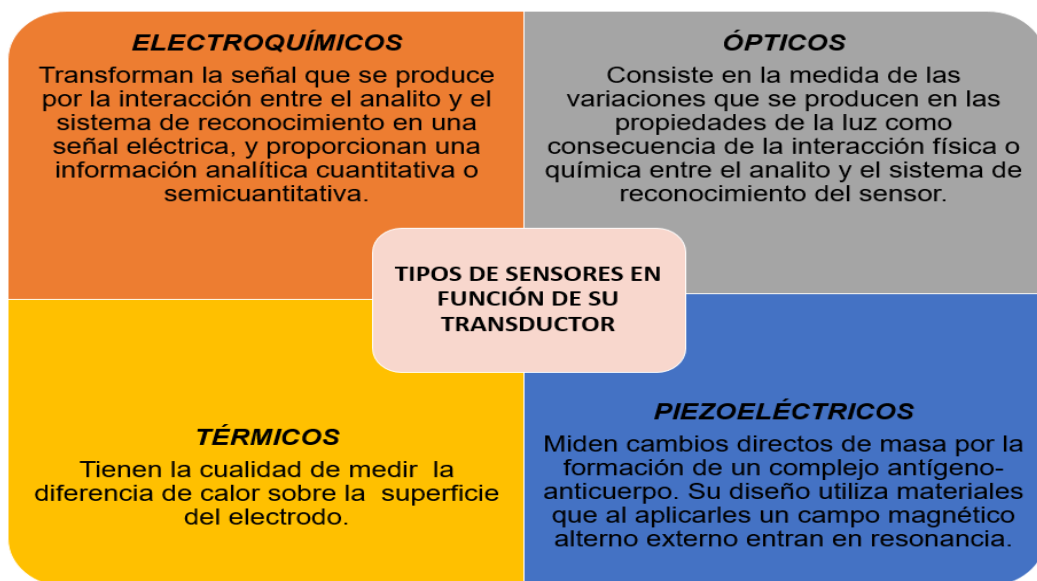


Figura 2. Esquema genérico sobre la clasificación de sensores y biosensores. ^[23]

3.3.3.1 Técnicas analíticas basadas en biosensores.

Para potenciar la selectividad del sensor es también posible emplear elementos bioquímicos, esto es mediante un dominio de reconocimiento biológico asociado a un elemento de transducción integrado funcionalmente. Como se muestra en la figura 3, el dominio biológico es el encargado del reconocimiento específico del analito (enzimas, ácidos nucleicos, anticuerpos, células entre otros) y el transductor convierte la unión del componente biológico (o sensor) al analito en una señal óptica o eléctrica cuantificable. Tienen amplia aplicabilidad, son regenerables, sensibles, específicas, de rápida detección y cribado de alto rendimiento, así como de bajos costos [24,25].

Los biosensores pueden ser clasificados en distintas categorías dependiendo el método de detección, pueden ser ópticos, electroquímicos, termométricos, magnéticos o mecánicos, también depende de si pueden utilizarse varias veces o sólo una.

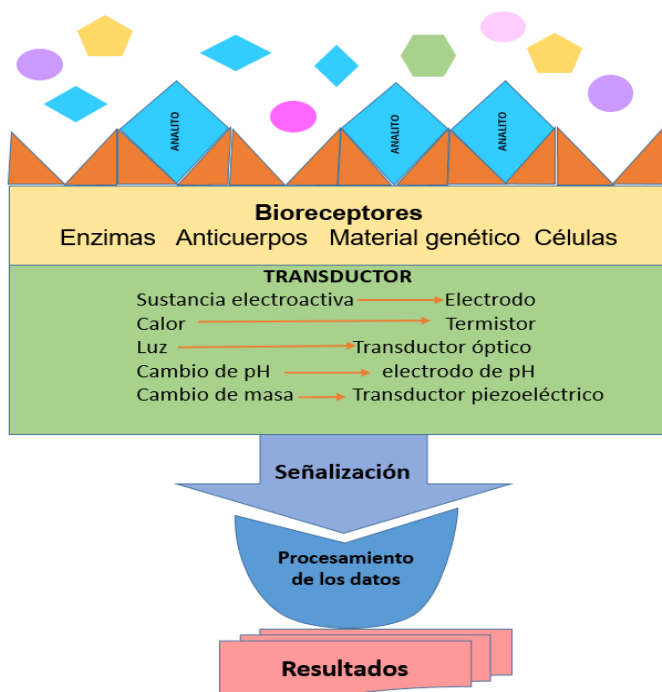


Figura 3. Esquema general de los componentes de un biosensor. [24]

3.3.3.1.1 Biosensores ópticos

Los biosensores ópticos son los más comunes en MTF como métodos indirectos. Las variaciones en las concentraciones del fármaco en cuestión generan un cambio en el índice de refracción, enviando una señal que es decodificada con técnicas de UV e IR cercano según el tamaño de la molécula de estudio. En técnicas más avanzadas se puede usar la espectroscopia de Raman asociada a superficie dk (SERS), (Surface-enhanced Raman spectroscopy) son métodos capaces de detectar señales muy pequeñas, sin embargo, también se ven afectados por señales de fondo, causando algunas lecturas inexactas, debido al enlace no específico que tiene el bioreceptor.

En 1977 se detectó que moléculas de piridina son adsorbidas en superficies de plata generando un espectro de Raman más intensas de lo esperado, tomando como principio que al unirse a superficies de plata la intensidad de la señal aumenta se utilizaron originalmente electrodos de plata, en la actualidad es posible generar esta reacción con plata, oro, cobre, y en menor medida metales alcalino térreos. En ocasiones es posible diluir la muestra sérica o sanguínea con soluciones electrolíticas para potenciar la reacción y de esta forma aumentar la sensibilidad de los electrodos, se deben calibrar los aparatos utilizando muestra sanguínea o sérica sin fármaco como blanco para así descartar la lectura de unión con algún metabolito presente en la sangre ^[26].

En la publicación de Dagoberto Soto. et al. (2015) ^[27], emplearon una nueva metodología basada en una investigación previa de Wong et al., en donde desarrollaron un biosensor óptico para detectar antibióticos betalactámicos fundamentada en el principio de fluorescencia, con base en este procedimiento se lograron obtener resultados positivos demostrando que para un tiempo dado, el cambio neto de fluorescencia del biosensor se correlaciona con la concentración del antibiótico, recolectando los datos en tan solo 40 min, al mismo tiempo, destacan que este análisis realizado con otro tipo de técnicas (HPLC) demoraría hasta 7 veces más que el realizado, concluyendo que este método es idóneo debido a la alta sensibilidad, menor tiempo de respuesta y costo. ^[28]

3.3.3.1.2. Biosensores electroquímicos

El biosensor electroquímico, está constituido de un electrodo, este es un dispositivo pequeño que se utiliza para realizar la medida directa de un analito, que funciona como el transductor, y como elemento inmovilizador y de reconocimiento, es el sitio donde la interacción produce una respuesta química o biológica medible. Los biosensores electroquímicos se clasifican según el tipo de biomolécula que es inmovilizada, habiendo sensores de proteínas, ADN, enzimas, anticuerpos y células, lo que puede permitir la lectura de distintos fármacos que se acoplan a estos elementos, produciendo un cambio en el estado de oxidación y enviando al sensor una señal electroquímica (figura 4). Se pueden utilizar múltiples sustratos, tales como el plasma u orina, sin necesidad de separar el analito de interés, esto proporciona múltiples ventajas sobre otros métodos como el bajo costo, velocidad y alta sensibilidad.^[29, 30]

Entre los biosensores el sitio más importante es el sensor electroquímico, tienen bajo costo, alta sensibilidad y son capaces de trabajar con muestras pequeñas.

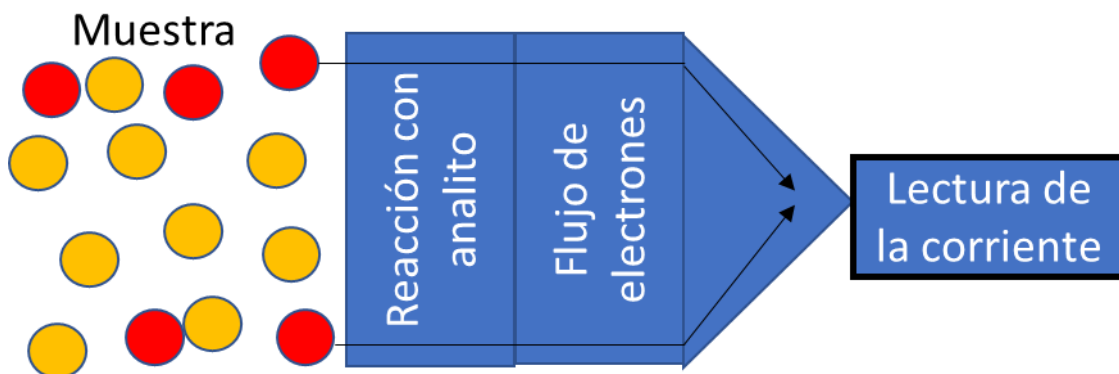


Figura 4. Representación gráfica de un sensor electroquímico

En la figura 4 se presenta el funcionamiento de un sensor electroquímico, donde los analitos en rojo son detectados directamente de la muestra biológica generando un flujo de electrones por medio de una reacción tipo redox con el sensor, esta señal es interpretada como corriente eléctrica para uso cuantitativo.

Los sensores electroquímicos se clasifican de la siguiente manera:

- Los sensores potenciométricos: obtienen su información útil de una relación explícita entre el potencial de un electrodo indicador o contador y la concentración de la especie de interés (que puede ser vapor o líquido). Debido a que no se puede medir el potencial de una sola fase se introduce un segundo electrodo, también conocido como electrodo de referencia, con el cual se medirá una diferencia de potencial entre el electrodo indicador y el de referencia.
- Sensores voltamétricos: se basan en la medición de la relación corriente-voltaje, donde se aplica un potencial al sensor y se mide una corriente proporcional a la especie electroactiva de interés. Está comúnmente limitado por los materiales disponibles para su elaboración, como el electrodo de gota de mercurio o el basado en carbono, actualmente una gran cantidad de investigaciones en la generación de electrodos modificados químicamente para potenciar la afinidad y ampliar los fármacos capaces de ser detectados con base en modificar la superficie electrónica que funciona como un intermediario entre la muestra biológica y el electrodo en cuestión, capaz de mediar las reacciones que serán detectadas por electrodo, utilizando membranas de permeabilidad selectiva, electrocatálisis y dispositivos de almacenamiento de carga.
- Sensores conductimétricos: están relacionados con la medición de la conductividad a una serie de frecuencias. Dependen de los cambios de la conductividad eléctrica de una capa o la mayor parte de un material, ocasionados por la presencia del compuesto de interés.^[31]
- Se utilizan electrodos de nanotubulos de carbono que generan una gran área de superficie, reduciendo las distancias de difusión. Dependiendo las características de los nanotubulos de carbono -grafeno- utilizados la sensibilidad puede aumentarse significativamente cuando se generan arreglos con forma de colmena en las cuales los electrodos se encuentran intercalados.

- Sensores amperométricos de célula de capa, es una capa en la cual, la muestra atraviesa un líquido y sus componentes por afinidad se separan antes de llegar al electrodo dando un rápido pretratamiento a la muestra; El uso de múltiple electrodos permite no sólo determinar la concentración sino, tambien la identificación del compuesto por elucidación de la estructura, para esto se requieren celdas en las cuales se pueda identificar en varias direcciones el compuesto, preferentemente tras la purificación por capa fina [32].

3.3.3.2 Los fármacos monitorizados

A continuación, se presenta una variedad de fármacos que son monitorizados con sensores electroquímicos.

| Fármaco | Descripción | Tipo de electrodo | Concentración detectada* |
|---------------------------------|---|--|--------------------------|
| Gabapentina ^[33] . | Anticonvulsante capaz de atravesar la barrera hematoencefálica con efectos secundarios asociados a la concentración. | Ánodo modificado por COO(OH) que produce la oxidación en tres etapas de la amina. | _____ |
| Cloranfenicol ^[34] . | Antibiótico de amplio espectro de distribuido uso por efectividad y bajo costo con severos efectos secundarios como anemia aplastica, leucemia y supresión de la medula, dependientes de dosis. | Nanotubulos de grafeno que utiliza ZnO como semiconductor y potenciador de sensibilidad, causando una reacción de oxidación con el hidroxílo de la molécula asociado a espectofotómetro. | 0.2 - 7.2 μ M |
| Flutamida ^[35] . | Anti-testosterona utilizado en el tratamiento de cáncer | Nanotibulos de grafeno con plata como agente | 10–1000 μ M |

| | | | |
|--|--|--|---|
| | próstata evitando la progresión de la enfermedad, tiene una amplia dificultad de monitorización por HPLC. | estabilizador formando un contenedor nanométrico previo para la oxidación. | |
| Cloropromazina y tioridazina ^[36] . | Fármacos antipsicóticos regularmente administrados en conjunto con efectos secundarios como narcolepsia | Electrodos de carbono en forma de diamante endosado con boro (BDD) Permite el análisis simultaneo en orina de formulaciones farmacéuticas. | $1.0 \times 10^{-7} - 4.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ y $2 \times 10^{-7} - 4.0 \times 10^{-5} \text{ M}$ |
| Amikacina ^[37] | Antibiótico aminoglucósido que se usa para muchas infecciones bacterianas gramnegativas | Electrodo de nanopartículas de oro en la superficie de un electrodo de carbono vítreo en potencial constante, para lectura voltaperométrica. | $10^{-8} - 10^{-3} \text{ M}$ |
| Gentamicina ^[38] | Aminoglucósido de amplio espectro antibiótico que ha demostrado ser eficaz en el tratamiento de infecciones bacterianas, en su mayoría bacterias gramnegativas | sensores desechables basados en compuestos de nanotubos de carbono de paredes múltiples-cloruro de polivinilo (MWNTs-PVC) en presencia de calixareno como elemento de reconocimiento molecular | $10^{-7} \text{ a } 10^{-2} \text{ M}$ |
| Vancomicina ^[39] | Antibiótico glucopéptido más importante y | Electrodo compuesto de nanoestructura de grafeno-oro híbrido, | $1 - 100 \mu\text{M}$ |

| | | | |
|---|--|--|---|
| | <p>conocido, se utiliza para el tratamiento de infecciones bacterianas graves.</p> | <p>que permite una doble detección directamente en el dominio de oxidación y también indirectamente en la reducción, utilizando las nanoestructuras de oro electroactivas como sonda para monitorear el cambio de corriente debido a la interacción entre oro y vancomicina.</p> | |
| <p>Ácido micofenólico ^[40]</p> | <p>agente inmunosupresor antiproliferativo. Usado principalmente después del trasplante de órganos sólidos y para la terapia de varias enfermedades autoinmunes.</p> | <p>Electrodo fabricado con nanotubos de carbono de pared múltiple con carbono vítreo modificado (MWCNTs/GCE). Permite la determinación del fármaco y su metabolito.</p> | <p>5.0×10^{-6} a 1.6×10^{-4} M para el metabolito y 2.5×10^{-6} M a 6.0×10^{-5} M para ácido micofenólico</p> |
| <p>Metotrexato ^[41]</p> | <p>Antagonista del ácido fólico ampliamente utilizado como agente de quimioterapia para el tratamiento de diferentes tipos de cáncer y</p> | <p>Electrodo de magnetita Fe₃O₄ nanopartículas/óxido de indio y estaño (ITO)</p> | <p>10^{-5} a 10^{-14} M</p> |

| | | | |
|---------------------------------|---|--|---|
| | enfermedades autoinmunes. | | |
| Irinitecan ^[42] | Anticancerígeno que se usa actualmente en varios regímenes de quimioterapia | Electrodo de nanopartículas de oro ancladas en nanofibras de carbono grafitadas. | 4.0 nM-1.79 μM y 4.5 nM-1.57 μM |
| Ácido valproico ^[43] | Antiepiléptico | Biosensor potenciométrico basado en membrana de poli (cloruro de vinilo) (PVC) | 1.0×10^{-6} a 1.0×10^{-1} M |
| Carbamazepina ^[44] | Anticonvulsivo y estabilizador del estado de ánimo | Electrodo de carbono vítreo (GCE) con el nanocompuesto ternario sintetizado de grafeno, nanopartículas de ferrita de zinc ($ZnFe_2O_4$) y óxido de cobre (CuO) | 0.01 a 90 μM |
| Fenitoína ^[45] | Anticonvulsivo y antiarrítmico | Electrodo de oro descubierto en $NaHCO_3$ 0.05 M. | $0.5-1.0 \mu\text{mol dm}^{-3}$ y $10-50 \mu\text{mol dm}^{-3}$ |
| Lidocaína ^[46] | Anestésico locales y analgésico periférico. | Electrodo descubierto de pasta de carbón (CPE) | 8.0 - 1000.0 μM |
| Clomipramina ^[47] | Antidepresivo tricíclico usado comúnmente para | Electrodo de material electroactivo para ion selectivo | 1.0×10^{-5} a 1.0×10^{-2} M |

| | | | |
|----------------------------|--|--|---|
| | tratar y aliviar los síntomas del trastorno depresivo y obsesivo-compulsivo. | | |
| Fluoxetina ^[48] | Antidepresivo inhibidor de la recaptación de serotonina. | Electrodo selectivo de iones (ISE) de estado sólido con nanoestructuras de platino (Pt-NR) | $1 \times 10^{-5} - 1 \times 10^{-2} \text{ M}$ |

*Todas las concentraciones detectadas se encuentran dentro de los rangos deseados

3.3.3.3 Nanosensores

Los nanosensores son aquellos sensores que operan en escala nano, gracias a que son mucho más pequeños en tamaño y morfología poseen las mismas o mejores propiedades, por tales características mejoran el área de superficie, son portátiles, implantables, tienen una excelente sensibilidad y selectividad. Actualmente, los dispositivos portátiles son biosensores que otorgan una respuesta cuantitativa en tiempo real y no son invasivos, permitiendo el monitoreo continuo del paciente. La diversidad de dispositivos portátiles se encuentra como: relojes, vendas, anillos, entre otros^[49].

Probablemente, el punto más importante para el uso de nanosensores, es la elección del material del cual estará conformado, dado que estos nanomateriales cumplirán funciones como: la responsabilidad del sinergismo para mejorar la transducción de señales para la actividad catalítica y la biocompatibilidad, amplifican los eventos de reconocimiento, lo que lleva a muchas aplicaciones para dispositivos basados en métodos electroquímicos y proporcionan sitios efectivos para la inmovilización en la superficie de las matrices.

Otro paso importante es la optimización de los catalizadores, ya que permiten el aumento de su selectividad por los reactivos y la formación de productos, por otro lado, en los últimos años se han empleado los metales nobles como: Pt, PtRu, PtSn, Pd, Au, Ru y Ag, estos se pueden utilizar con nanomateriales a base de carbono para preparar nanohíbridos para aplicaciones en biosensores.

Los nanomateriales a base de carbono son ampliamente utilizados debido a que poseen notables propiedades, como la excelente relación superficie-volumen, conductividad eléctrica, biocompatibilidad, resistencia mecánica y estabilidad química. [50]

La introducción de los marcos orgánicos (COF's) y organometálicos (MOF's) abrió una nueva posibilidad de formación de nanotúbulos que no sólo permiten el transporte, sino que, también una afinidad selectiva debido a la alta porosidad que permite aumentar el área de superficie aumentando la sensibilidad de los análisis electroquímicos [51].

En cuanto a los biosensores ópticos con nanopartículas (NP), se han realizado MTF que se han centrado en minimizar los efectos secundarios de los medicamentos contra el cáncer y al mismo tiempo aumentar la eficacia de los medicamentos a través de un enfoque de células cancerosas de biorreconocimiento específico. Un método ha sido desarrollado por Ilkhani et al. al diseñar un nanosensor basado en SERS (Surface-enhanced Raman spectroscopy) para la detección del fármaco quimioterapéutico Doxorubicina (DOX) junto con métodos electroquímicos para el daño o la modificación del ADN del BRCA1 (breast cancer gene 1) del cáncer de mama causado por la intercalación del fármaco. En este sentido, un electrodo de disco de oro modificado por una capa autoensamblada de cisteína decorada con óxido de grafeno reducido fue marcado con diferentes NP de oro plasmónico que fueron incubadas con dsDNA en un tampón de solución salina de fosfato. Este sensor fabricado generó señales altamente específicas y sensibles para DOX, con un límite de detección de $8 \mu\text{g mL}^{-1}$. [52]

En la tabla 2, se describen las características de algunos otros ejemplos de biosensores que incorporan nanopartículas y que se han utilizado exitosamente para la detección de biomoléculas y algunos fármacos residuales en muestras como leche y agua. A pesar de que estos tipos de sensores poco se han usado para la MTF, las investigaciones llevadas a cabo con estos biosensores han abierto las puertas para el desarrollo de nuevas técnicas en las que se pueda implementar su uso en muestras clínicas para la MTF [53].

Tabla 2. Biosensores basados en nanopartículas para la detección de productos farmacéuticos

| Transducción | Principio | Nanopartículas (NP) | Fármaco | Límite de detección | Ventajas |
|--------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------|--------------------------|--|
| Electroquímica ^[54] | Amperometría | Au nanocables | Cortisol | - | Análisis en suero sin pretratamiento de la muestra |
| | | NP de Cds | Cloranfenicol | 45 pg/mL | - |
| | | Au nanoestructurado Transductor | Progesterona | 0.43ng/mL | Transducción electroquímica mejorada de la reacción de afinidad. |
| | Impedancia | AuNPs | 17 β-estradiol | 26pg/mL | - |
| | | AuNPs | Dopamine | 2.4 x 10 ⁻⁷ M | - |
| Óptica ^[54] | Resonancia de superficie de plasmón | AuNPs | Estanozolol | 2.4 nM | Configuración de detección simple |
| | Fluorescencia | AuNPs | Progesterona | 4.9 ng/L | Aumento de sensibilidad de 79 veces |
| | | AuNPs | Testosterona | 3.7 pg/mL | 12.5 veces la sensibilidad aumenta |
| | | AuNPs | Metabolito estriol | 76pg/mL | 1000 ciclos de unión/regeneración |
| | | QD | Cocaína | 1x10 ⁻⁶ M | Enfoque genérico aplicable a otros sustratos |
| | | QD | 7-Aminoclonazepam | 0.021 ng/mL | Ensayo de 5 min |

3.4 Monitoreo de la actividad terapéutica de vancomicina

La vancomicina, antimicrobiano utilizado para el tratamiento de infecciones causadas por *Staphylococcus Aureus*, tiene un gran rango de efectos secundarios asociados a los niveles de concentración plasmática del fármaco, tales como nefrotoxicidad; de igual manera existen muchos reportes en los que el fallo de su actividad es debido a que no alcanza la concentración terapéutica, por lo cual es un fármaco que cuenta con una ventana de efectividad muy corta, y por tanto resulta de interés poder monitorear la concentración plasmática en los pacientes [57].

En 2016, Ranamukhaarachchi y colaboradores propusieron un biosensor integrado de microagujas optofluídicas huecas para el control de vancomicina en volúmenes de subnanolitros ($<1 \mu\text{L}$) de líquido intersticial para medir las concentraciones del fármaco, que normalmente se detecta utilizando volúmenes que oscilan entre 50 y 100 μL con un límite de detección (LoD) de 1.35 μM . El lumen interno de una microaguja está funcionalizado para usarse como un microrreactor durante la recolección de muestras para atrapar y unir candidatos a fármacos diana durante la extracción, sin requisitos de transferencia de muestras. Se integra un dispositivo optofluídico con esta microaguja para cuantificar rápidamente analitos de fármacos con alta sensibilidad utilizando un esquema de absorbancia sencillo. Con el biosensor optofluídico de microagujas propuesto se pudo detectar vancomicina con un volumen de muestra de 0,6 nL y un LoD de $<100 \text{ nM}$, lo que lo convierte en una alternativa indolora y mínimamente invasiva para la MTF [58].

3.5 Monitoreo de la actividad terapéutica de amikacina

La amikacina es el antibiótico aminoglucósido semisintético más utilizado, que es resistente a la mayoría de las enzimas modificadoras de aminoglucósidos que generan resistencia antimicrobiana ^[59].

Losoya, A., et al (2015), realizaron un trabajo en el que desarrollaron un inmunoensayo competitivo basado en un biosensor de resonancia de plasmón de superficie (SPR) para la detección del antibiótico amikacina, adecuado para MTF tanto en adultos como en neonatos, ya que el lograron utilizar exitosamente un tamaño de muestra de 250 μ L, permitiendo una alta dilución de la muestra, por lo tanto, la simple dilución de suero puede ser suficiente para analizar muestras de bajo volumen de recién nacidos. También obtuvieron altos niveles de especificidad y sensibilidad con un valor de IC50 de 1,3 ng/mL y un límite de detección de 0,1 ng/mL, que cumplen ampliamente con el rango terapéutico del fármaco. En comparación con los métodos convencionales TDM actuales como HPLC, este inmunoensayo basado en SPR puede proporcionar ventajas como la simplicidad, la portabilidad potencial y las mediciones sin marcadores con la posibilidad de un alto rendimiento. Este trabajo es la base para el desarrollo de una plataforma de detección integrada, de uso simple, altamente sensible, rápida y en el punto de atención para el TDM oportuno de antibióticos y otros medicamentos en un entorno clínico ^[60].

3.6 Monitoreo de la actividad terapéutica de piperacilina-tazobactam

La piperacilina-tazobactam es una asociación de un betalactámico de amplio espectro de la familia de las ureidopenicilinas al que se le ha asociado un inhibidor de las betalactamasas, tazobactam, para mejorar su acción frente a enterobacterias productoras de estas betalactamasas. Este compuesto es muy activo frente a microorganismos grampositivos, incluyendo cepas que producen betalactamasas (entre otras *S. aureus* meticilín sensibles, *S. epidermidis*, estreptococos y enterococos). Además, piperacilina-tazobactam muestra una gran actividad frente a los bacilos Gram negativos, incluida *Pseudomonas aeruginosa*. El espectro se completa con su actividad frente a microorganismos anaerobios ^[61]

Ates, H., y colaboradores (2022) fabricaron un biosensor para la monitorización de piperacilina/tazobactam mediante una plataforma desechable de sensores de microfluidos a base de polímeros, en la cual, la estreptavidina-glucosa oxidasa (Str-GOx) se utilizó como enzima de detección, la transducción de la señal se logró a través de la detección del H_2O_2 generado en la celda electroquímica utilizando un contraelectrodo de trabajo de Pt junto con un electrodo de referencia de Ag/AgCl; junto con ello, se utilizó un ensayo de β -lactámicos altamente sensible y libre de anticuerpos para la MTF in situ, que permite la medición de concentraciones de fármaco muy bajas (rango $ng\ ml^{-1}$), lo que no es posible lograr con métodos convencionales basados en cromatografía. La plataforma se evaluó con cerdos Landrace, en un estudio donde se cuantificaron las concentraciones de los antibióticos en diferentes matrices que incluyen sangre completa, plasma, orina, saliva y condensado de aliento exhalado (EBC). El sistema propuesto es versátil con su amplia ventana operativa (rango de medición que va desde $ng\ mL^{-1}$ a $\mu g\ mL^{-1}$ con un LOD de $56\ ng\ mL^{-1}$) y se puede utilizar para la cuantificación de antibióticos β -lactámicos en diferentes tipos de muestras. Compararon este sistema con mediciones de HPLC (estándar de oro) a través del análisis temporal de muestras de plasma de animales que administran la dosis normal de piperacilina/tazobactam, obteniendo resultados con buena concordancia en medidas como el comportamiento de eliminación. Como conclusión de este trabajo se demostró la posibilidad de medir biofluidos complejos y además también la de diferentes analitos en el mismo chip simultáneamente usando un chip multiplexado, Biosensor X ^[62].

3.7 Monitoreo de la actividad terapéutica de Carbamazepina

Otro medicamento distinto a los antibióticos, que también es monitorizado, es la Carbamazepina (CBZ), un fármaco antiepiléptico derivado de la dibenzoazepina iminoestilbena, de estructura química similar a la imipramina.

Los pacientes con epilepsia reciben tratamiento con CBZ durante periodos muy largos de tiempo en ocasiones en combinación con otros medicamentos, lo que potencia las interacciones medicamentosas y efectos secundarios^[63].

Se ha demostrado que el nivel plasmático de CBZ está relacionado con la dosis, efecto terapéutico y efectos secundarios. Un estudio reveló que, con este fármaco, existe una relación no lineal entre la dosis y la concentración plasmática incluso dentro del rango de dosis terapéuticas, además, la eliminación de CBZ está relacionada con polimorfismos genéticos de transportadores y enzimas metabolizadoras de fármacos, por lo que se vuelve de mayor importancia la individualización del tratamiento y la monitorización de las concentraciones plasmáticas, ya que el nivel del fármaco puede volverse impredecible en ellos. Los métodos más usados para detectar CBZ en plasma son HPLC con detector de matriz de diodos, cromatografía de gases y espectrometría de masas, sin embargo, también existen otras técnicas como cromatografía capilar electrocinética micelar y microextracción por método de absorbente empaquetado^[64].

En la investigación realizada por Chung y colaboradores (2022) se desarrolló un biosensor aptámero (aptasensor) de cambio de conformación electroquímica con el cual realizaron dos ensayos: un ensayo de 30 min para monitoreo de rutina y un ensayo de 5 min para pruebas rápidas de emergencia, dichos ensayos se llevaron a cabo con solución buffer, con suero y muestras de sangre diluidas 20 x, además, este aptámero que cambia de conformación proporciona una lectura de "muestra a respuesta" sin etiquetado secundario, como se necesita en muchos otros ensayos de afinidad. El rendimiento del aptasensor, incluida la reproducibilidad, la estabilidad y la interferencia, se caracterizó mediante técnicas de espectroscopia de impedancia electroquímica y voltamperometría. El aptasensor exhibió un amplio rango dinámico en tampón (10 nM a 100 µM) con límites de detección de 1.25 y 1,82 nM para los ensayos de 5 y 30 min, respectivamente y demostró su

aplicabilidad clínica en la detección de CBZ en muestras de sangre obtenidas por punción digital (<50 µL) [65].

3.8. Problemas actuales

Actualmente se pueden determinar tres problemas de importancia, los más comunes son la sensibilidad de las lecturas y el costo de los análisis, problemas a los que se ha buscado dar solución uniendo distintos procedimientos de análisis, tal como utilizar métodos cromatográficos o inmunológicos antes del HPLC. Otro problema es el método invasivo de obtención de la muestra, usualmente el análisis de la concentración del fármaco se realiza por medio de muestras de sangre, proceso invasivo que se debe repetir múltiples ocasiones durante el tratamiento, lo cual no representa únicamente un desgaste físico por parte de los pacientes sino, que también un gasto de importancia en recursos tanto materiales como de personal, lo que dificulta el seguimiento de múltiples pacientes. Por esta razón se encuentran en estudio distintos métodos tales como el uso de biosensores y microagujas para obtener los datos de las concentraciones del fármaco en el organismo de manera menos invasiva.

De manera particular, algunas de las desventajas principales de los métodos por inmuno ensayo son las reacciones cruzadas que existen entre los fármacos y sus metabolitos, lo cual puede dar una concentración mayor a la real. Por otra parte aunque las técnicas son específicas y con alta sensibilidad, existen algunas limitaciones, pues se requiere tratamiento previo de la muestra, se precisa personal calificado debido al proceso que lleva realizar el análisis y tiende a ser costoso, lo que implica una limitación en la parte clínica, Además de la dificultad para poder detectar más de un fármaco simultáneamente, en comparación con las técnicas cromatografías en las cuales se puede dar seguimiento a múltiples fármacos

Los métodos por HPLC requieren personal calificado, son costosos por el equipo los insumos y el desarrollo analítico.

Por lo anterior es que, se han buscado métodos alternativos usando tecnología novedosa que posibilite la obtención de resultados de una forma más rápida y sencilla.

4. Conclusiones

La MTF es una técnica que engloba diferentes metodologías que tienen el fin de dar seguimiento y mejora a los tratamientos farmacológicos mediante la determinación de las concentraciones séricas de los medicamentos con estrecho margen terapéutico, tales como antibióticos, anticonvulsionantes e inmunosupresores.

Diversos estudios destacan su demostrable efectividad para mejorar los resultados clínicos en pacientes con diversos padecimientos y fármacos administrados, minimizando la toxicidad y maximizando la efectividad.

Se revisaron las técnicas analíticas convencionales y las basadas en sensores ópticos, nanosensores electroquímicos y biosensores, estos últimos poseen excelentes características, encontrando que los biosensores basados en nanomateriales muestran un amplio rango de linealidad para lograr el nivel requerido de sensibilidad y especificidad, convirtiéndose en una herramienta prometedora que optimiza tiempo y recursos, mientras que los sensores ópticos podrían considerarse los menos invasivos. No obstante, estas nuevas técnicas siguen en fase de desarrollo, por lo que las técnicas convencionales de HPLC e inmunoensayos siguen en continuo uso.

5. Referencias

1. Justino, C. I., Freitas, A. C., Pereira, R., Duarte, A. C., & Santos, T. A. R. (2015). *Recent developments in recognition elements for chemical sensors and biosensors. TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 68, 2-17.
2. Ahmadian, E., Samiei, M., Hasanzadeh, A., Kavetsky, T., Jafari, S., Alipour, M., ... & Hasanzadeh, M. (2020). *Monitoring of drug resistance towards reducing the toxicity of pharmaceutical compounds: Past, present and future. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, 186, 113265.
3. Fernández, E., Serrano, D. & Villamarín, L. (2011). *Monitorización clínica de medicamentos. Generalitat de Catalunya*. 22 (9), 51-55.
4. Bian, S., Zhu, B., Rong, G., & Sawan, M. (2021). *Towards wearable and implantable continuous drug monitoring: A review. Journal of pharmaceutical analysis*, 11(1), 1-14.
5. García, M. E. (2018). *Monitorización terapéutica de fármacos. Una visión general*.
6. H.P. Rang & M. M. Dale. *Farmacología*. (6ta. Ed.) Barcelona España. Elsevier.
7. Organización Mundial de la Salud (2021). *Obesidad y sobrepeso*.
8. Istvan G. Telessy & Harpal S. Buttar. (2017). *Obesity related alterations in pharmacokinetics and pharmacodynamics of drugs: emerging clinical implications in obese patients. Adipobiology*. 9: 21-30.
9. A. Aldaz, R. Ferriols, D. Aumentec, M.V. Calvo, M.R. Farree, B. García, R. Marqués, P. Mas, B. Porta, M. Outeda & D. Soy. (2011). *Monitorización farmacocinética de antiepilépticos. Farmacia Hospitalaria* 35 (6): 326-339.
10. Vermeire, S., Dreesen, E., Papamichael, K., & Dubinsky, M. C. (2020). *How, when, and for whom should we perform therapeutic drug monitoring?. Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 18(6), 1291-1299.
11. Escobar, L. (2016). *Monitorización terapéutica de fármacos y aspectos prácticos de farmacocinética. Elsevier*, 27 (5), 605-614.

12. Zylbersztajn, B., Barraza, M., Torres, J. P. & Morales, J. (2018). *Monitorización terapéutica de antimicrobianos en pediatría. Revisión de la experiencia latinoamericana. SciELO, 35 (1).*
13. Organización Mundial de la Salud (2020). *Resistencia a los antibióticos.*
14. López, C., Díaz, A. M., de Leon, J., Schoretsanitis, G., Paulzen, M., Unterecker, S., ... & Hiemke, C. (2020). *Guía de consenso de expertos para la monitorización terapéutica de drogas en neuropsicofarmacología. Psiquiatría Biológica, 27(3), 83-95.*
15. Ates, H. C., Roberts, J. A., Lipman, J., Cass, A. E., Urban, G. A., & Dincer, C. (2020). *On-site therapeutic drug monitoring. Trends in Biotechnology, 38(11), 1262-1277.*
16. Eliasson, E., Lindh, J. D., Malmström, R. E., Beck, O., & Dahl, M. L. (2013). *Therapeutic drug monitoring for tomorrow. European journal of clinical pharmacology, 69(1), 25-32.*
17. Gómez, V. J., Gómez, A. J., Robledo, J., & Hernández, J. M. (2018). *Resistencia a Medicamentos en Mycobacterium tuberculosis: contribución de mecanismos constitutivos y adquiridos. Revista de Salud Pública, 20, 491-497.*
18. Naraya, R. J. (2017). *Electrochemical medical biosensors for POC applications. Elsevier. 275- 292.*
19. Dural, E., Bolayır, A., & Çiğdem, B. (2021). *Determination of Phenytoin in Human Plasma by a Validated HPLC Method: Application to Therapeutic Drug Monitoring Study. ACTA Pharmaceutica Scientia, 59(1). H.P. Rang & M. M. Dale. Farmacología. (6ta. Ed.) Barcelona España. Elsevier.*
20. Raouf, M., Bettinger, J. J., & Fudin, J. (2018). *A practical guide to urine drug monitoring. Federal practitioner, 35(4), 38.*
21. Freudenberger, K., Hilbig, U., & Gauglitz, G. (2016). *Recent advances in therapeutic drug monitoring of immunosuppressive drugs. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 79, 257-268.*
22. Fernandez, A., Manchanda, R., & McGoron, A. J. (2011). *Theranostic applications of nanomaterials in cancer: drug delivery, image-guided therapy,*

- and multifunctional platforms. *Applied biochemistry and biotechnology*, 165(7), 1628-1651.
23. International Union OF Pure And Applied Chemistry / Bandodkar, A. & Wang, J. (2014). *Non-invasive wearable electrochemical sensors: a review*. Elsevier. 32 (7) 363-371.
24. Merkoçi, A. (2013). *Nanoparticles based electroanalysis in diagnostics applications*. *Electroanalysis*, 25(1), 15-27.
25. Montañez, J. L., Ramos, E. G., Alegret, S., & Delgado, R. J. (2011). *Glucose biosensor based on a graphite-epoxy-platinum-glucose oxidase dispersed biocomposite*. *Informacion Tecnologica*, 22(1), 29-40.
26. Jaworska, A., Fornasaro, S., Sergio, V., & Bonifacio, A. (2016). *Potential of surface enhanced Raman spectroscopy (SERS) in therapeutic drug monitoring (TDM). A critical review*. *Biosensors*, 6(3), 47.
27. Soto, D., Silva, C., Andresen, M., Soto, N., Wong, K. Y., & Andresen, M. (2015). *Monitorización terapéutica de antibióticos: Nuevas metodologías: Biosensores*. *Revista médica de Chile*, 143(8), 1050-1057.
28. Ates, H. C., Roberts, J. A., Lipman, J., Cass, A. E., Urban, G. A., & Dincer, C. (2020). *On-site therapeutic drug monitoring*. *Trends in Biotechnology*, 38(11), 1262-1277.
29. Porcel, M. (2016). *Desarrollo de sensores electroquímicos de afinidad preparados por electrodeposito para la detección de neurotransmisores*. Universidad de Alicante, Instituto Universitario de materiales Departamento de química Física, Facultad de Ciencias.
30. Escalona, L., Manganiello, L., López-Fonseca, M., & Vega, C. (2012). *Los sensores químicos y su utilidad en el control de gases contaminantes*. *Revista Ingeniería UC*, 19(1), 74-88.
31. Zanfognini B., Pigani L, Zanardi C. (2020). *Recent advances in the direct electrochemical detection of drugs of abuse*. Springer-Verlag
32. Guk, K., Han, G., Lim, J., Jeong, K., Kang, T., Lim, E. K., & Jung, J. (2019). *Evolution of wearable devices with real-time disease monitoring for personalized healthcare*. *Nanomaterials*, 9(6), 813.

33. Tkach, V., Kushnir, M. V., Oliveira, S. C. D., Luganska, O., Gala, H. B., Palamarek, K. V., ... & Yagodynets, P. I. (2019). Descripción teórica de la posibilidad de la detección electroquímica de la gabapentina, asistida por CoO (OH). *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*, 48(3), 547-556.
34. Sebastian, N., Yu, W. C., & Balram, D. (2019). Electrochemical detection of an antibiotic drug chloramphenicol based on a graphene oxide/hierarchical zinc oxide nanocomposite. *Inorganic Chemistry Frontiers*, 6(1), 82-93.
35. Ahmadi, F., Raouf, J. B., Ojani, R., Baghayeri, M., Lakouraj, M. M., & Tashakkorian, H. (2015). Synthesis of Ag nanoparticles for the electrochemical detection of anticancer drug flutamide. *Chinese Journal of Catalysis*, 36(3), 439-445.
36. Petković, B. B., Kuzmanović, D., Dimitrijević, T., Krstić, M. P., & Stanković, D. M. (2017). Novel strategy for electroanalytical detection of antipsychotic drugs chlorpromazine and thioridazine; possibilities for simultaneous determination. *Int. J. Electrochem. Sci*, 12(5), 3709-3720.
37. Alizadeh, M., Amiri, M., & Bezaatpour, A. (2021). Indirect Determination of Amikacin by Gold Nanoparticles as Redox Probe. *Current Drug Delivery*, 18(6), 761-769.
38. Khaled, E., Khalil, M. M., & El Aziz, G. A. (2017). Calixarene/carbon nanotubes based screen printed sensors for potentiometric determination of gentamicin sulphate in pharmaceutical preparations and spiked surface water samples. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 244, 876-884.
39. Blidar, A., Feier, B., Pusta, A., Drăgan, A. M., & Cristea, C. (2019). Graphene-gold nanostructures hybrid composites screen-printed electrode for the sensitive electrochemical detection of vancomycin. *Coatings*, 9(10), 652.
40. Madrakian, T., Soleimani, M., & Afkhami, A. (2014). Simultaneous determination of mycophenolate mofetil and its active metabolite, mycophenolic acid, by differential pulse voltammetry using multi-walled carbon nanotubes modified glassy carbon electrode. *Materials Science and Engineering: C*, 42, 38-45.

41. El-Said, W. A., Abdel-Rahman, M. A., Sayed, E. M., & Abdel-Wahab, A. M. A. (2019). Electrochemical monitoring of methotrexate anticancer drug in human blood serum by using in situ solvothermal synthesized Fe₃O₄/ITO electrode. *Electroanalysis*, 31(5), 829-837.
42. Ibrahim, H., & Temerk, Y. (2020). Gold nanoparticles anchored graphitized carbon nanofibers ionic liquid electrode for ultrasensitive and selective electrochemical sensing of anticancer drug irinotecan. *Microchimica Acta*, 187(10), 1-11.
43. Özbek, O., Isildak, Ö., & Isildak, I. (2021). A potentiometric biosensor for the determination of valproic acid: human blood-based study of an anti-epileptic drug. *Biochemical Engineering Journal*, 176, 108181.
44. Ghalkhani, M., Khosrowshahi, E. M., Sohoul, E., Eskandari, K., Aghaei, M., Rahimi-Nasrabadi, M., ... & Kouchaki, E. (2022). Electrochemical monitoring of carbamazepine in biological fluids by a glassy carbon electrode modified with CuO/ZnFe₂O₄/rGO nanocomposite. *Surfaces and Interfaces*, 30, 101943.
45. Trišović, N. P., Božić, B. D., Lović, J. D., Vitnik, V. D., Vitnik, Ž. J., Petrović, S. D., & Ivić, M. L. A. (2015). Electrochemical characterization of phenytoin and its derivatives on bare gold electrode. *Electrochimica Acta*, 161, 378-387.
46. Rahbar, N., Ramezani, Z., & Babapour, A. (2015). Electro-oxidation mechanism and direct square-wave voltammetric determination of lidocaine with a carbon-paste electrode. *Jundishapur Journal of Natural Pharmaceutical Products*, 10(1).
47. Elashery, S. E., Attia, N. F., Omar, M. M., & Tayea, H. M. (2019). Cost-effective and green synthesized electroactive nanocomposite for high selective potentiometric determination of clomipramine hydrochloride. *Microchemical Journal*, 151, 104222.
48. Hussien, E. M., & Derar, A. R. (2020). Highly-stable miniaturized Pt-nanostructures/Pt coated wire ion selective electrode for fluoxetine HCl. *IEEE Sensors Journal*, 20(12), 6263-6269.

49. Iftikhar, F. J., Shah, A., Akhter, M. S., Kurbanoglu, S., & Ozkan, S. A. (2019). *Introduction to nanosensors. In New Developments in Nanosensors for Pharmaceutical Analysis (pp. 1-46). Academic Press.*
50. Petković, B. B., Kuzmanović, D., Dimitrijević, T., Krstić, M. P., & Stanković, D. M. (2017). *Novel strategy for electroanalytical detection of antipsychotic drugs chlorpromazine and thioridazine; possibilities for simultaneous determination. Int. J. Electrochem. Sci, 12(5), 3709-3720.*
51. Zanfognini, B., Pigani, L., & Zanardi, C. (2020). *Recent advances in the direct electrochemical detection of drugs of abuse. Journal of Solid State Electrochemistry, 24(11), 2603-2616.*
52. Nosheen, E., Shah, A., Iftikhar, F. J., Aftab, S., Bakirhan, N. K., & Ozkan, S. A. (2019). *Optical nanosensors for pharmaceutical detection. In New Developments in Nanosensors for Pharmaceutical Analysis (pp. 119-140). Academic Press.*
53. Sanvicens, N., Mannelli, I., Salvador, J. P., Valera, E., & Marco, M. P. (2011). *Biosensors for pharmaceuticals based on novel technology. TrAC Trends in Analytical Chemistry, 30(3), 541-553.*
54. Roger J. Nayaran. (2017). *Electrochemical medical biosensors for POC applications. Elsevier. 275 – 292.*
55. Amay J. Bandodkar & Joseph Wang. (2014). *Non-invasive wearable electrochemical sensors: a review. Elsevier. 32 (7) 363-371.*
56. Nuria Sanvicens, Ilaria Mannelli, J.Pablo Salvador, Enrique Valera & M. Pilar Marco. (2011) *Biosensors fo pharmaceuticals based on novel technology. Trends in Analytical Chemistry; 30 (3): 541-553.*
57. Chawla, P. K., Udwadia, Z. F., Soman, R., Mahashur, A. A., Amale, R. A., Dherai, A. J., ... & Ashavaid, T. F. (2016). *Importance of therapeutic drug monitoring of rifampicin. J Assoc Physicians India, 64(8), 68-72.*
58. Ranamukhaarachchi, S. A., Padeste, C., Dübner, M., Häfeli, U. O., Stoeber, B., & Cadarso, V. J. (2016). *Integrated hollow microneedle-optofluidic biosensor for therapeutic drug monitoring in sub-nanoliter volumes. Scientific reports, 6(1), 1-10.*

59. Ramirez, M. S., & Tolmasky, M. E. (2017). Amikacin: uses, resistance, and prospects for inhibition. *Molecules*, 22(12), 2267.
60. Losoyal, A., Estevez, M, Martínez-Chapa, S., & Lechuga, L. M. (2015) Therapeutic Drug Monitoring of Amikacin Using a Surface Plasmon Resonance Biosensor. *Talanta*, 141, 253-258.
61. Delgado, M., Herrero, Y., Daura, A., Modelo, A., Fernández, E., Ruiz, J. J., ... & Rodas Ibáñez, J. (2004). Eficacia de la monoterapia con piperacilina-tazobactam en infecciones del área maxilofacial. *Revista Española de Cirugía Oral y Maxilofacial*, 26(2), 97-106.
62. Ates, H. C., Mohsenin, H., Wenzel, C., Glatz, R. T., Wagner, H. J., Bruch, R., ... & Dincer, C. (2022). Biosensor-Enabled Multiplexed On-Site Therapeutic Drug Monitoring of Antibiotics. *Advanced Materials*, 34(2), 2104555.
63. Lorigados PL, Sarria KMA, Pavón FN, et al. Toxicidad hepática y hematológica de la carbamazepina en la epilepsia farmacorresistente y su relación con variables clínicas. *Cuba y Salud*. 2021;16(1):41-49.
64. Panday, D. R., Panday, K. R., Basnet, M., Kafle, S., Shah, B., & Rauniar, G. P. (2017). Therapeutic drug monitoring of carbamazepine. *Int J Neurorehabilitation Eng*, 4(245), 2376-0281.
65. Chung, S., Singh, N. K., Gribkoff, V. K., & Hall, D. A. (2022). Electrochemical Carbamazepine Aptasensor for Therapeutic Drug Monitoring at the Point of Care. *ACS omega*, 7(43), 39097-39106.
66. Tszysrznic, W., Borowiec, A., Pawlowska, E., Jazwiec, R., Zochowska, D., Bartłomiejczyk, I., & Dadlez, M. (2013). Two rapid ultra performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry (UPLC/MS/MS) methods with common sample pretreatment for therapeutic drug monitoring of immunosuppressants compared to immunoassay. *Journal of Chromatography B*, 928, 9-15.