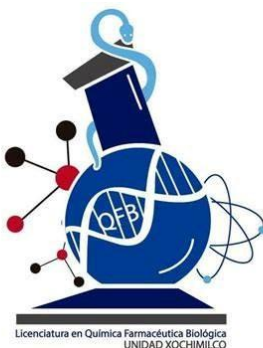


Departamento de Sistemas Biológicos
División de Ciencias Biológicas y de la Salud



Licenciatura en Química Farmacéutica Biológica

INFORME DE CONCLUSIÓN PARA SERVICIO SOCIAL

**“GENERACIÓN DE DERIVADOS DE METRONIDAZOL VÍA
ELECTROQUÍMICA PARA EVALUAR SU INTERACCIÓN CON
ADN”**

PRESENTADO POR:

Silva Manzanero Evelyn del Carmen

MATRÍCULA:

2213020978

Realizado en el laboratorio de **Bio-Analítica N-102**
Unidad Interdisciplinaria de Docencia, Investigación y Servicios
(UIDIS), UAM Xochimilco

Duración: 15 de junio del 2025 - 15 de diciembre del 2025

ASESORES

Dra. Georgina Alarcón Ángeles **No. Económico: 34432**

Georgina Alarcón Ángeles

Dr. Martín Gómez Hernández **No. Económico: 30641**



Agradecimientos

A mi mamá, por dar siempre lo mejor de sí, por ser madre y padre para mí y mis hermanos, por procurar que, a lo largo de toda mi carrera, nunca me faltara nada. Gracias por cada sacrificio, por sostenerme en los momentos difíciles y por confiar en mí incluso cuando yo misma dudaba. Su amor, fortaleza y apoyo incondicional me permitieron seguir adelante hasta concluir esta etapa de mi vida. Ninguna palabra sería suficiente para agradecerle todo lo que ha hecho por mí; por eso, este logro no es solamente mío, también es suyo.

A mi papá, Gilberto Silva Ceballos, quien no pudo estar presente para ver este logro, pero cuya memoria me ha acompañado a lo largo del camino. Sé que habría estado muy feliz y orgulloso de todo lo que he alcanzado y de la persona en quien se ha convertido su “güereja patas de coneja”.

A la doctora Georgina Alarcón Ángeles y al doctor Martín Gómez Hernández, por abrirme las puertas de su laboratorio y permitirme formar parte de él durante casi dos años, en los que tuve la oportunidad de conocer este mundo de la electroquímica y lo interesante que es, adquirí grandes aprendizajes que marcaron mi formación. Gracias por el tiempo que dedicaron a orientarme, por compartir conmigo sus conocimientos y experiencia.

Al doctor Abraham Faustino Vega y al doctor Carlos Tomás Quirino Barrera, por confiar en mí y por mostrarme una perspectiva distinta sobre mi carrera. Gracias por enseñarme a no quedarme en lo superficial, a cuestionar cada resultado y a comprender que, cuando algo no sale como se esperaba, también existe una oportunidad para preguntarse por qué, reconocer qué puede mejorarse y seguir aprendiendo. Agradezco profundamente su exigencia, sus consejos y cada una de sus retroalimentaciones, pues me impulsaron a pensar con mayor sentido crítico y a crecer no solo como profesionista, sino también como persona. Gracias, además, por abrirme las puertas de su laboratorio y hacerme partícipe de proyectos tan valiosos como un artículo de divulgación, dos artículos de revisión y un capítulo de libro. Cada oportunidad y enseñanza dejó una huella invaluable en mi formación. En especial, agradezco al doctor Faustino por acompañarme más allá del ámbito académico y convertirse para mí en un gran mentor, cuya orientación llevaré siempre conmigo.

A Quimiciencie, mi proyecto basado en la creación de contenido científico, porque, aunque nació de mí, también terminó por sostenerme. Incluso en los días en que me faltaban los ánimos, se convirtió en un espacio donde siempre encontraba motivación e inspiración. Me ha permitido descubrir que, por medio de la comunicación de la ciencia, puedo impactar positivamente en personas a quienes quizá no tengo la dicha de conocer personalmente, pero que reciben con gratitud lo que comparto. También me ha dado la oportunidad de abordar muchos temas de una manera amena y me ha abierto las puertas al mundo de la comunicación pública de la ciencia, donde he conocido a personas con la misma pasión, quienes me inspiran día con día a seguir aprendiendo, creciendo y mejorando en este camino <https://www.youtube.com/watch?v=wn4Hmy3rzQ4&t=443s>.

A Eduardo Zúñiga, por su cariño, apoyo incondicional y compañía. Gracias por estar presente a lo largo de este proceso, por permanecer a mi lado, por escucharme, por alentarme cuando el camino se volvía difícil y por celebrar conmigo cada pequeño avance. Tu presencia hizo que los días complicados fueran más llevaderos y que los momentos felices se volvieran aún más especiales. Gracias por caminar conmigo durante esta etapa y por recordarme, cuando más lo necesitaba, que no estaba sola. Te amo.

A Paulina mi mejor amiga de la infancia, porque a pesar de tomar rumbos distintos en la vida, me ha demostrado el significado de una verdadera amistad.

Resumen

El metronidazol es un profármaco cuya actividad biológica depende de la reducción de su grupo nitro y de la formación de especies reactivas capaces de interactuar con componentes celulares. Sin embargo, la naturaleza de los productos generados y su posible interacción con el ADN aún no se comprende por completo. Por ello, el objetivo de este trabajo fue evaluar el comportamiento electroquímico del metronidazol, generar productos de reducción mediante microelectrólisis y estudiar su posible interacción con ADN de testículo de salmón y con las bases nitrogenadas adenina y guanina.

La caracterización se realizó mediante voltamperometría cíclica (VC) y voltamperometría diferencial de pulso (VDP), utilizando electrodos de pasta de carbono y grafito. Se estudió el efecto de la velocidad de barrido y del pH, y se evaluaron parámetros analíticos básicos de linealidad, repetibilidad y sensibilidad. Además, se comparó la respuesta del ADN nativo, desnaturalizado, y se analizaron los cambios de corriente y potencial producidos al mezclar el ADN y las nucleobases con los productos obtenidos por microelectrólisis.

La respuesta electroquímica de adenina, guanina, ADN y metronidazol mostró una dependencia entre la corriente de pico y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido, compatible con procesos controlados principalmente por difusión. La reducción del metronidazol dependió del pH y presentó un desplazamiento del potencial hacia valores más negativos al aumentar este parámetro. Las curvas de calibración mostraron comportamiento lineal en los intervalos estudiados, con coeficientes de determinación superiores ($r^2 \geq 0.99$) y coeficientes de variación menores de 5 %. Los límites de detección fueron 0.000685 mM para adenina, 0.000921 mM para guanina y 0.01737 mM para metronidazol.

La microelectrólisis del metronidazol a -1.0 V vs Ag/AgCl durante 2 h produjo nuevas señales electroactivas y una disminución de su corriente de reducción, a partir de la cual se estimó una conversión electroquímica de 29.22 %. Los cambios observados en las corrientes y los potenciales de pico al mezclar los productos electroquímicos con adenina, guanina y ADN aportan evidencia indirecta de una posible interacción. No obstante, la voltamperometría por sí sola no permite identificar estructuralmente los productos generados ni establecer el mecanismo molecular de interacción, por lo que se requieren técnicas analíticas complementarias para confirmarlo.

Índice general

Agradecimientos.....	1
Resumen	2
Índice general.....	3
Índice de figuras	5
Índice de tablas	8
1. Introducción.....	9
1.1 Planteamiento del problema.....	10
1.2 Justificación.....	10
1.3 Objetivo general	12
1.4 Objetivos específicos	12
2. Marco teórico.....	13
2.1 Antecedentes del metronidazol	13
2.2 Metronidazol.....	14
2.2.1 Mecanismo de acción	14
2.2.2 Aplicaciones electroquímicas del metronidazol	16
2.2.3 Reducción electroquímica del metronidazol	17
2.2.4 Evidencia genotóxica y controversias sobre la seguridad del metronidazol.....	18
2.3 Ácido desoxirribonucleico (ADN).....	20
2.3.1 Bases nitrogenadas como biomarcadores electroquímicos de interacción con ADN.....	21
2.3.2 Interacciones entre el ADN y los fármacos.....	23
2.4 Microelectrólisis como estrategia para la generación de derivados del metronidazol.....	25
2.4.1 Interacción de metronidazol y sus derivados con ADN.....	26
2.4.2 Electroquímica como modelo de procesos metabólicos	27
3. Materiales y métodos	28
3.1 Materiales.....	28
3.2 Métodos	29
3.2.1 Preparación de soluciones.....	29
3.2.2 Caracterización electroquímica	30
3.2.3 Estudio de velocidad de barrido	30
3.2.4 Linealidad del método	30

3.2.5 Precisión del método	31
3.3 Estudio de velocidad de barrido de potencial sobre la reducción del metronidazol 32	
3.4 Efecto del pH sobre la reducción del metronidazol.....	32
3.5 Curva de calibración de metronidazol	33
3.6 Sistemas de adenina, guanina y ADN de testículo de salmón	33
3.6.1 Concentración de ADN de testículo de salmón	33
3.6.2 Sistemas de ADN de testículo de salmón: adición acumulativa	34
3.6.3 Sistemas de adenina, guanina y ADN de testículo de salmón.....	34
3.7 Generación electroquímica de productos de reducción del metronidazol mediante microelectrólisis	34
3.8 Interacción de los productos electroquímicos con ADN	35
3.9 Actividades realizadas durante el servicio social	37
4. Resultados y discusión.....	38
4.1 Caracterización electroquímica de las especies mediante voltamperometría cíclica 38	
4.1.1 Adenina	38
4.1.2 Guanina	39
4.1.3 Metronidazol	41
4.1.4 Efecto del pH sobre la reducción del metronidazol.....	44
4.2 ADN de testículo de salmón desnaturalizado	45
4.3 Evaluación de parámetros analíticos básicos.....	47
4.3.1 Linealidad de adenina	47
4.3.2 Precisión de adenina	48
4.3.3 Linealidad de guanina	49
4.3.4 Precisión de guanina	50
4.3.5 Linealidad de metronidazol	52
4.3.6 Precisión de metronidazol.....	52
4.3.7 Comparación entre estudios	54
4.4 Comparación de ADN nativo y desnaturalizado	56
4.4.1 Cuantificación de residuos de adenina y guanina en ADNd mediante VDP	58
4.4.2 Evaluación de las señales de adenina y guanina en ADN de testículo de salmón	59
4.4.2.1 Adiciones de guanina.....	59
4.4.2.2 Adenina	61

4.5 Microelectrólisis de metronidazol	63
4.5.1 VC de microelectrólisis.....	63
4.5.2 VDP de microelectrólisis	64
4.5.3 Balance de la microelectrólisis	65
4.6 Interacción de los productos electroquímicos con el ADN.....	68
4.6.1 Guanina	68
4.6.2 Producto electroquímico–guanina.....	69
4.6.3 Adenina	70
4.6.4 Producto electroquímico–adenina.....	71
4.6.5 Producto electroquímico–ADN	71
5. Conclusiones.....	74
6. Perspectivas y mejoras	75
7. Referencias	76
8. Anexos	84
8.1 Anexo a: Constancias de congresos	84
8.2 Anexo b: Carteles presentados	88
8.3 Anexo c: Publicación	91

Índice de figuras

Figura 1. Estructura del metronidazol ($C_6H_9N_3O_3$), que presenta un grupo nitro ($R-NO_2^{\bullet-}$) responsable de su actividad redox.	14
Figura 2. Representación esquemática del mecanismo de activación intracelular del metronidazol en microorganismos anaerobios, mostrando la reducción del grupo nitro mediada por sistemas redox dependientes de ferredoxina y la generación de especies reactivas capaces de inducir daño al ADN. Reproducido de Metronidazole: An update on metabolism, structure–cytotoxicity and resistance mechanisms, por Dingsdag, S. A., y Hunter, N. (2018), Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 73(2), 265–279. Copyright © 2018 Oxford University Press. Reproducido con permiso. License number: 6186670341126.	16
Figura 3. Esquema del mecanismo de activación reductiva e inactivación del metronidazol. En condiciones anaerobias, la reducción secuencial del grupo nitro conduce a la formación de intermediarios reactivos (nitroso, hidroxilamina) capaces de inducir daño al ADN. En presencia de oxígeno, ocurre un ciclo fútil que limita la activación del fármaco. Reproduced de Metronidazole: An update on metabolism, structure–cytotoxicity and resistance mechanisms, por Dingsdag, S. A., y Hunter, N. (2018), Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 73(2), 265–279. Copyright © 2018 Oxford University Press. Reproducido con permiso. License number: 6186670341126.	18
Figura 4. Representación de la estructura de doble hélice del ADN y de sus principales componentes. Tomada de (National Human Genome Research Institute, (2026).	21

Figura 5. Esquema representativo de una celda electroquímica empleada en procesos de microelectrólisis. A) Configuración convencional de tres electrodos (electrodo de trabajo, referencia y contraelectrodo) en un solo compartimento. B) Celda de microelectrólisis con compartimentos separados, que permite un control más preciso de los procesos redox y evita interferencias entre productos generados en el electrodo de trabajo y el contraelectrodo. Esta configuración es característica de estudios de electrosíntesis y generación controlada de derivados moleculares. Tomado de: ACS Org. Inorg. AU 2024, 4, 2, 141-187.	26
Figura 6. Preparación del electrodo de pasta de carbono y montaje experimental de las celdas electroquímicas. A) Celda electroquímica con un sistema de tres electrodos utilizado para la caracterización, validación y cuantificación electroquímica. B) Preparación y homogeneización de la pasta de carbono a base de grafito. C) Superficie del electrodo acondicionada con la pasta de carbono. D) Montaje de las celdas empleadas durante la microelectrólisis. E) Sistema de microelectrólisis después de dos horas.	36
Figura 7. A) Voltamperogramas cíclicos de adenina 0.0667 mM obtenidos a velocidades de barrido de 0.02 a 0.10 V/s-1, en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M, pH 4.5, con NaCl como electrolito soporte. B) Relación entre la corriente de pico anódico (I_p) y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido $\sqrt{v}$	39
Figura 8. A) Voltamperogramas cíclicos de guanina 0.0596 mM obtenidos a velocidades de barrido de 0.02 a 0.10 V/s-1, en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M, pH 4.5, con NaCl como electrolito soporte. B) Relación entre la corriente de pico anódico (I_p) y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($\sqrt{v}$).	40
Figura 9. A) Voltamperogramas del metronidazol (0.531 mM) obtenidos mediante voltamperometría cíclica en un intervalo de velocidades de barrido de 0.05 a 0.50 V·s ⁻¹ , en presencia de NaCl 0.1 M y buffer fosfato a pH 7.5. B) Se observa un aumento progresivo de la corriente pico hacia la reducción conforme se incrementa la velocidad, así como una relación lineal entre I_p y $\sqrt{v}$, lo que indica que el proceso redox está controlado por difusión en las condiciones experimentales establecidas.	43
Figura 10. A) Voltamperogramas de pulso diferencial del metronidazol (0.292 mM) registrados en soluciones de fosfato a pH 2.10, 4.16, 6.08, 8.00 y 10.00. (B) Variación de la corriente de pico catódico entre I_p y con el pH.	45
Figura 11. A) Voltamperogramas del ADNd (57.14 µg/mL) obtenidos a diferentes velocidades de barrido. B) Relación entre la corriente de pico y la velocidad de barrido para el ADNd, en el intervalo de 0.02 a 0.1 V/s, en presencia de NaCl 0.1 M y solución amortiguadora de acetatos 0.1 M, pH 4.5.	46
Figura 12. A) Voltamperogramas de adenina obtenidos mediante VDP. B) Curva de calibración entre 0.00296 y 0.0148 mM.	48
Figura 13. A) Voltamperogramas representativos de adenina, obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). B) Correlación entre las concentraciones de adenina.	49
Figura 14. A) Voltamperogramas representativos de guanina obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). B) Curva de calibración de guanina en el intervalo de concentración de 0.00265 a 0.0132 mM.	50
Figura 15. A) Voltamperogramas representativos de la precisión de guanina, obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). B) Correlación entre las concentraciones de guanina.	51
Figura 16. A) Voltamperogramas representativos de metronidazol mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP), utilizando concentraciones de 0.0584-0.2921 mM en un potencial abierto de hasta -1.4 V. B) Curva de calibración de metronidazol en el intervalo 0.0584-0.2921 mM.	52

Figura 17. A) Voltamperogramas representativos de la precisión de metronidazol, obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). B) Correlación entre las concentraciones de metronidazol.	53
Figura 18. Comparación de la respuesta voltamperométrica del ADN de testículo de salmón en sus formas nativa y desnaturalizada, ambas evaluadas a una concentración de 57.14 $\mu\text{g/mL}$ en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M, pH 4.5.	57
Figura 19. Voltamperogramas obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso para ADN desnaturalizado (ADNd) a concentraciones finales de 33.33, 57.14 y 75.00 $\mu\text{g/mL}$, preparadas mediante adiciones acumulativas de una solución stock de ADNd de 200 $\mu\text{g/mL}$	58
Figura 20. Voltamperogramas del ADN desnaturalizado de testículo de salmón obtenidos después de adiciones acumulativas de guanina hasta alcanzar concentraciones de 0.00199, 0.00463 y 0.00794 mM, mediante VDP.	60
Figura 21. Voltamperogramas obtenidos mediante VDP para ADNd a una concentración de 57.14 $\mu\text{g/mL}$, en presencia de guanina a una concentración constante de 0.00662 mM y después de adiciones acumulativas de adenina hasta alcanzar concentraciones de 0.00222, 0.00740 y 0.00888 mM.	62
Figura 22. Carga acumulada (Q) en función del tiempo durante la microelectrólisis del metronidazol (1.17 mM) a potencial constante de -1.0 V vs Ag/AgCl durante 7200 s.	63
Figura 23. Voltamperogramas cíclicos del blanco (buffer fosfato pH 7.5) y del metronidazol registrados antes de la microelectrólisis (0 h) y después de 2 h de electrolisis, obtenidos con electrodo de pasta de carbono/grafito. El barrido se realizó en la ventana de potencial de -1.3 a +1.3 V vs Ag/AgCl.	64
Figura 24. Voltamperograma diferencial de pulso del metronidazol registrados sin microelectrólisis y tras 2 h de microelectrólisis, obtenidos con electrodo de grafito en buffer fosfato pH 7.5. Se muestra la región catódica del barrido (-1.3 a 0.0 V vs Ag/AgCl).	65
Figura 25. (A) Voltamperograma diferencial de pulso correspondientes al metronidazol sin tratamiento electroquímico y el producto obtenido tras 2 h de microelectrólisis (metabolito 2 h), incluyendo una réplica experimental. (B) Concentración del producto electroquímico obtenido con el que se trabajó.	66
Figura 26. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos después de adiciones acumulativas del producto de microelectrólisis, correspondientes a proporciones aparentes de producto electroactivo de 3.50, 5.10 y 7.44 %.	67
Figura 27. A) Voltamperogramas diferenciales de pulso del producto de microelectrólisis al 3.50 %, registrados después de aplicar +0.4 V vs. Ag/AgCl durante 0, 5, 10, 15, 20 y 30 s. B) Corriente de pico del producto de microelectrólisis en función del tiempo de acondicionamiento.	68
Figura 28. A) Voltamperogramas de guanina tras aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0, 10, 15, 20 y 30 s en buffer de acetatos 0.1 M, pH 4.5. B) Corriente de pico de guanina en función del tiempo de acondicionamiento.	69
Figura 29. A) Voltamperogramas de la mezcla de producto electroquímico (3.50%) y guanina (0.0611 mM), después de aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0, 10 y 30 s; se incluye el blanco. B) Corriente de pico de las señales del sistema en función del tiempo.	70
Figura 30. Voltamperogramas de adenina registrados después de aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0, 2, 5, 10, 15, 20 y 30 s. B) Corriente de pico de las señales del sistema en función del tiempo.	70
Figura 31. Voltamperogramas de la mezcla de producto electroquímico (3.50 %) y adenina (0.0363 mM), después de aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0, 2, 5, 10 y 30 s.	71

Figura 32. Voltamperogramas de la mezcla de producto electroquímico (3.50 % aparente) y ADN (0.5 mg/mL), después de 0, 300, 600, 900 y 3000 s de interacción, sin aplicación previa de +0.4 V..... 72

Índice de tablas

Tabla 1. Condiciones electroquímicas empleadas en el análisis de adenina y guanina mediante VDP.	31
Tabla 2. Condiciones electroquímicas para el estudio de velocidad de barrido del metronidazol por VC.	32
Tabla 3. Condiciones experimentales para VDP de ADN testículo de salmón.	33
Tabla 4. Precisión de adenina a 0.00592, 0.00888 y 0.0148 mM; se presentan la corriente de pico media, la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación (CV) de seis repeticiones... 49	
Tabla 5. Resultados de precisión para guanina a tres concentraciones (0.00529, 0.00794 y 0.0132 mM), expresados como promedio de corriente pico, desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV) para seis repeticiones independientes.	51
Tabla 6. Resultados de precisión para metronidazol a tres concentraciones (0.1168, 0.1753, 0.2337 mM), expresados como promedio de corriente pico, desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV) para seis repeticiones independientes.	53
Tabla 7. Intervalos de calibración y límites estimados de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de adenina, guanina y metronidazol mediante voltamperometría diferencial de pulso.	54
Tabla 8. Comparación de los límites de detección y cuantificación obtenidos para adenina, guanina y metronidazol mediante métodos electroquímicos.	54
Tabla 9. Corrientes de pico y concentraciones equivalentes de residuos de adenina y guanina electroquímicamente accesibles en ADN desnaturalizado.	59
Tabla 10. Respuesta electroquímica del ADNd después de las adiciones acumulativas de guanina.	61
Tabla 11. Respuesta electroquímica del ADNd en presencia de guanina y después de las adiciones acumulativas de adenina.	62

1. Introducción

El metronidazol (MTZ) es un profármaco, es decir, una sustancia que requiere activación química para ejercer su efecto farmacológico. Pertenece a la familia de los nitroimidazoles y se utiliza ampliamente en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos anaerobios y protozoarios, como *Trichomonas vaginalis*, *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*.

Su mecanismo de acción se basa en la reducción intracelular de su grupo nitro ($-\text{NO}_2$). Este proceso genera intermediarios reactivos capaces de interactuar con el ADN, provocando alteraciones estructurales e inhibiendo la síntesis de ácidos nucleicos, lo que finalmente conduce a la muerte celular (Materón et al., 2021).

Debido a este proceso de activación, el metronidazol puede generar especies reactivas relacionadas con su efecto terapéutico y capaces de interactuar con biomoléculas como el ADN. Esta capacidad de interacción ha despertado interés en el estudio de su posible efecto genotóxico, así como en la caracterización de los productos derivados de su reducción. Sin embargo, el análisis directo de estos procesos en sistemas biológicos es complejo, lo que hace necesario el desarrollo de modelos *in vitro* que permitan simular estas transformaciones en condiciones controladas.

En este sentido, la electroquímica es una herramienta analítica y experimental que permite inducir y estudiar reacciones de oxidación–reducción en condiciones controladas. Mediante técnicas como la voltamperometría cíclica y la voltamperometría diferencial de pulso es posible caracterizar el comportamiento redox del metronidazol y monitorear la formación de productos electroactivos (Göldner et al., 2025; La-Scalea et al., 1999).

Por otra parte, una forma de evaluar la interacción fármaco-ADN es mediante el análisis electroquímico de bases nitrogenadas como adenina y guanina, cuyas señales voltamperométricas son sensibles en presencia de compuestos electroactivos. De esta manera, las variaciones en la corriente y el potencial de estas bases pueden emplearse como indicadores indirectos de interacción molecular entre el ADN y compuestos electroactivos.

Con base en lo anterior, en este trabajo se evaluó el comportamiento electroquímico del metronidazol, se generaron sus derivados mediante microelectrólisis y se estudió su interacción con ADN de testículo de salmón, utilizando técnicas voltamperométricas. Este enfoque permitió analizar la reactividad redox del sistema y aportar evidencia sobre la posible interacción de los productos de reducción del metronidazol con el material genético.

1.1 Planteamiento del problema

En el organismo, el metronidazol (MTZ) actúa como un profármaco, ya que requiere ser reducido para ejercer su acción terapéutica. El ambiente intracelular, particularmente en microorganismos anaerobios, presenta condiciones redox reductoras que favorecen la activación del metronidazol y la formación de metabolitos derivados. Este proceso de activación conduce a la generación de intermediarios reactivos responsables de su actividad antimicrobiana (Weir & Le, 2023).

Se ha señalado que algunos de los productos formados durante su reducción pueden interactuar con el ADN, lo que genera interés en relación con su posible efecto genotóxico y carcinogénico (Topal et al., 2025).

A pesar del uso clínico amplio y sostenido del metronidazol, el conocimiento sobre la naturaleza electroquímica de sus metabolitos, así como sobre los mecanismos mediante los cuales estos pueden interactuar con biomoléculas como el ADN, continúa siendo incompleto. En particular, existe una comprensión limitada de las propiedades redox de los derivados generados durante procesos de reducción y oxidación, y de cómo estas propiedades influyen en su capacidad de interacción con las bases nitrogenadas del ADN (Dingsdag & Hunter, 2018)

La activación del metronidazol es, en esencia, un proceso de transferencia electrónica mediado por sistemas redox intracelulares en condiciones anaerobias. Sin embargo, la mayoría de los estudios disponibles se han desarrollado en contextos biológicos o celulares complejos, donde la generación de metabolitos ocurre de manera simultánea con múltiples procesos metabólicos y electrodos modificados. Esta complejidad dificulta aislar y analizar de forma directa el comportamiento redox de los productos formados y su interacción específica con el ADN, lo que limita una comprensión detallada de los mecanismos moleculares involucrados (Dingsdag & Hunter, 2018)

1.2 Justificación

La relevancia global del metronidazol se refleja en su inclusión sostenida en la Lista Modelo de Medicamentos Esenciales de la Organización Mundial de la Salud (OMS), así como en su clasificación dentro del grupo Access del sistema AWaRe, lo que indica que se trata de un antibiótico de primera línea que debe estar ampliamente disponible y accesible en los sistemas de salud como estrategia para el control de infecciones comunes y prevenibles.

A pesar de su amplio uso clínico, los procesos de activación redox del metronidazol conducen a la formación de especies reactivas capaces de interactuar con biomoléculas esenciales, particularmente el ADN. Desde hace varias décadas se

reconoce que el ADN constituye un blanco celular para diferentes agentes citotóxicos y genotóxicos, por lo que el estudio de las interacciones fármaco–ADN representa un área de interés.

En este sentido, los métodos electroquímicos ofrecen una alternativa experimental particularmente adecuada, ya que permiten inducir procesos de reducción y oxidación en condiciones controladas de potencial, pH y tiempo, reproduciendo de manera dirigida la activación redox del metronidazol. No obstante, el uso de enfoques electroquímicos para generar, caracterizar y evaluar la interacción de los derivados del metronidazol con el ADN ha sido poco explorado. Esta falta de información limita una evaluación integral de su perfil farmacológico y toxicológico. Por ello, resulta necesario estudiar de manera *in vitro*, la generación de derivados del metronidazol y su interacción con el ADN.

1.3 Objetivo general

Evaluar electroquímicamente la interacción de los productos derivados de la reducción del metronidazol con el ADN.

1.4 Objetivos específicos

- Caracterizar los procesos redox de adenina y guanina mediante voltamperometría cíclica, identificando los potenciales de oxidación y sus características electroquímicas.
- Cuantificar las bases nitrogenadas de adenina y guanina por voltamperometría diferencial de pulso (VDP), construyendo curvas de calibración.
- Estimar electroquímicamente la contribución de los residuos de adenina y guanina accesibles en ADN de testículo de salmón mediante curvas de calibración individuales.
- Caracterizar los procesos electroquímicos del metronidazol a través de voltamperometría cíclica, evaluando los potenciales de reducción y oxidación.
- Cuantificar la reducción de metronidazol y monitorear la formación de productos electroactivos.
- Obtener derivados del metronidazol por microelectrólisis aplicando potenciales controlados para inducir reacciones de reducción.
- Evaluar los cambios voltamperométricos producidos al mezclar los productos electroquímicos derivados del metronidazol con ADN, adenina y guanina, mediante la comparación de las corrientes y los potenciales de pico.

2. Marco teórico

2.1 Antecedentes del metronidazol

El metronidazol es un fármaco sintético perteneciente a la familia de los 5-nitroimidazoles. Fue desarrollado a finales de la década de 1950 e incorporado a la práctica clínica durante los primeros años de la década de 1960. Inicialmente se empleó para el tratamiento de la tricomoniasis; posteriormente, su uso se amplió a otras infecciones causadas por protozoarios y bacterias anaerobias (Dingsdag & Hunter, 2018).

Desde su introducción clínica, el metronidazol se ha consolidado como uno de los tratamientos de primera línea para el tratamiento de *la tricomoniasis*, *la giardiasis* y *la amebiasis*, así como de diversas infecciones ocasionadas por bacterias anaerobias. Su eficacia se relaciona con la presencia del grupo nitro en su estructura, el cual debe reducirse dentro de los microorganismos susceptibles para generar especies reactivas asociadas con su actividad antimicrobiana (Dingsdag & Hunter, 2018; Schneidereit et al., 2025).

El reconocimiento de este mecanismo motivó posteriormente el estudio de las propiedades redox del metronidazol y de los productos formados durante su reducción. Desde la década de 1970 se ha investigado la posible interacción del metronidazol reducido con los ácidos nucleicos. Edwards (1977), estudió sus efectos sobre el ADN, mientras que Knight et al., (1978) analizaron la interacción entre el ADN y los productos obtenidos después de su reducción.

Además investigaciones posteriores emplearon métodos electroquímicos para examinar el comportamiento redox del fármaco y su interacción con componentes del ADN. J. Tocher & Edwards, (1992-1994) estudiaron la interacción de productos reducidos del metronidazol con bases y nucleósidos, mientras que Brett, (1999) utilizaron un biosensor electroquímico de ADN para evaluar productos de reducción de nitroimidazoles generados *in situ*. Mostrando la evolución del estudio del metronidazol desde su aplicación clínica hasta el análisis electroquímico de sus productos de reducción y su posible interacción con el material genético.

2.2 Metronidazol

Los nitroimidazoles conforman una familia de compuestos heterocíclicos nitrogenados de relevancia farmacológica, estudiados por sus propiedades antimicrobianas. Dentro de este grupo, el metronidazol 2-(2-metil-5-nitro-1H-imidazol-1-il)etanol, es un fármaco sintético con actividad antibacteriana y antiprotozoaria, utilizado principalmente en el tratamiento de infecciones causadas por microorganismos anaerobios y protozoarios (Dingsdag & Hunter, 2018; Löfmark et al., 2010). Este fármaco se muestra de manera ilustrada en la Figura 1.

El metronidazol se presenta como un polvo cristalino de color blanco a amarillo pálido, inodoro, con una masa molar de 171.15 g/mol y fórmula molecular $C_6H_9N_3O_3$. Tiene un punto de fusión aproximado de 160 °C y un valor de pKa cercano a 2.38, lo que influye en su comportamiento ácido-base y en su solubilidad en medios acuosos (Centro Nacional de Información Biotecnológica, 2026).

Además de su uso clínico consolidado como agente antimicrobiano, se han descrito otras actividades biológicas del metronidazol y de los nitroimidazoles estructuralmente relacionados, incluyendo efectos antivirales, antiinflamatorios y antineoplásicos, principalmente en estudios experimentales. Estas observaciones han motivado el análisis de sus mecanismos de acción, metabolismo y posibles efectos tóxicos, particularmente aquellos asociados a la reducción del grupo nitro y a la generación de intermediarios reactivos (Ang et al., 2017).

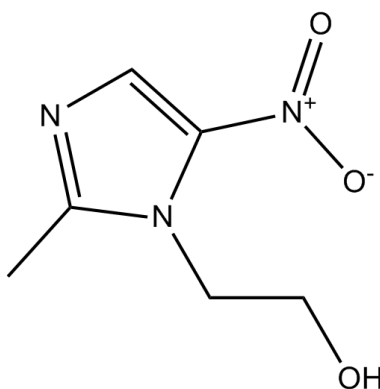


Figura 1. Estructura del metronidazol ($C_6H_9N_3O_3$), que presenta un grupo nitro ($R-NO_2^{\bullet-}$) responsable de su actividad redox.

2.2.1 Mecanismo de acción

El metronidazol actúa principalmente contra bacterias anaerobias y protozoos, y su mecanismo de acción depende de la reducción intracelular de su grupo nitro. En

estos microorganismos, el fármaco funciona como un profármaco y es activado por enzimas oxidorreductasas de bajo potencial redox, como las ferredoxinas y nitroreductasas, que transfieren electrones al grupo nitro e inician su activación metabólica (Dingsdag & Hunter, 2018).

La reducción del grupo nitro conduce a la formación de intermediarios reactivos, entre ellos el radical anión nitro y otras especies parcialmente reducidas. En presencia de oxígeno, algunas de estas especies pueden reoxidarse rápidamente, lo que disminuye la eficiencia de la activación del fármaco. Por esta razón, el proceso se favorece en condiciones anaerobias o con baja disponibilidad de oxígeno, lo que contribuye a la selectividad del metronidazol frente a microorganismos anaerobios y microaerófilos (Dingsdag & Hunter, 2018).

Los intermediarios reactivos generados interactúan con el ADN celular mediante procesos de transferencia electrónica y ataque químico directo, provocando daño estructural que incluye rupturas de cadena simple y doble, modificaciones en las bases nitrogenadas e inhibición de la síntesis de ácidos nucleicos. Como consecuencia, se compromete la integridad del material genético y se induce la muerte celular. Este mecanismo ha sido ampliamente asociado con la actividad antiprotozoaria del metronidazol frente a patógenos como *Trichomonas vaginalis*, *Giardia lamblia* y *Entamoeba histolytica*, así como con su actividad antibacteriana frente a bacterias anaerobias estrictas (Schneidereit et al., 2025). El proceso de activación intracelular del metronidazol y la generación de especies reactivas capaces de inducir daño al ADN se resumen esquemáticamente en la Figura 2.

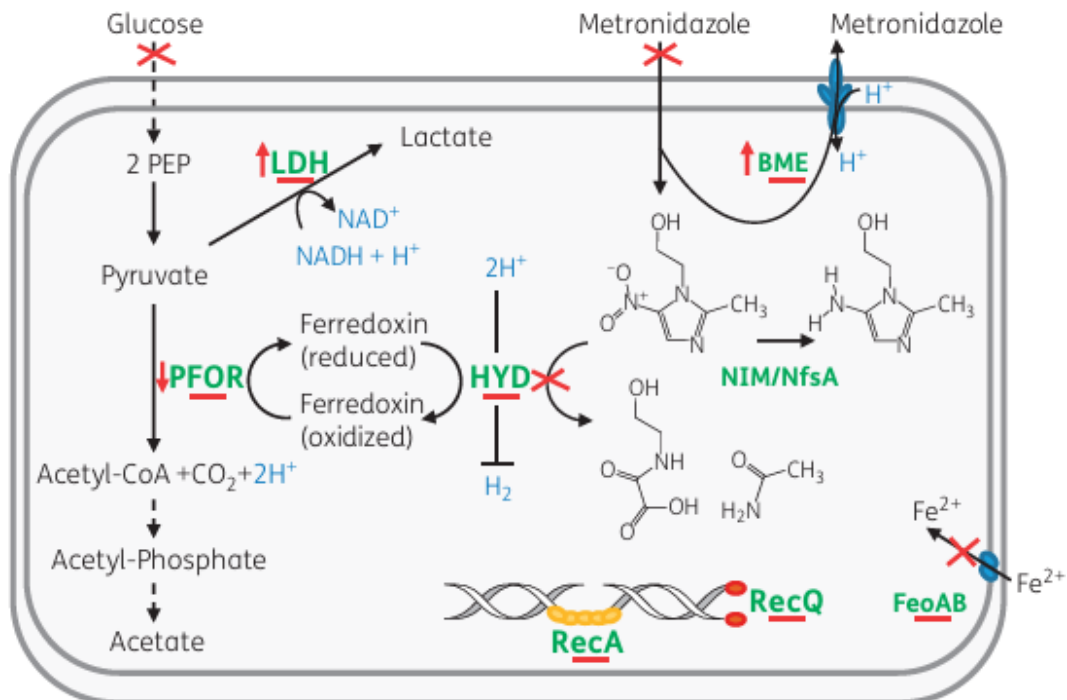


Figura 2. Representación esquemática del mecanismo de activación intracelular del metronidazol en microorganismos anaerobios, mostrando la reducción del grupo nitro mediada por sistemas redox dependientes de ferredoxina y la generación de especies reactivas capaces de inducir daño al ADN. Reproducido de Metronidazole: An update on metabolism, structure–cytotoxicity and resistance mechanisms, por Dingsdag, S. A., y Hunter, N. (2018), *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(2), 265–279. Copyright © 2018 Oxford University Press. Reproducido con permiso. License number: 6186670341126.

2.2.2 Aplicaciones electroquímicas del metronidazol

El metronidazol es un compuesto de gran interés en estudios electroquímicos debido a la naturaleza electroactiva de su grupo nitro, lo que permite inducir procesos de reducción de manera controlada mediante la aplicación de potenciales definidos. Esta característica ha favorecido el uso de técnicas electroanalíticas, como la voltamperometría cíclica y la voltamperometría diferencial de pulso, para estudiar su comportamiento redox en condiciones experimentales reproducibles (Dingsdag & Hunter, 2018).

La electroquímica ofrece la posibilidad de simular procesos de activación del metronidazol análogos a los que ocurren en sistemas biológicos anaerobios, permitiendo controlar variables como el potencial aplicado, el pH y el medio electrolítico. En este contexto, los enfoques electroquímicos han sido utilizados no solo con fines analíticos, sino también como herramientas experimentales para

investigar la generación de especies reactivas y evaluar su posible interacción con biomoléculas, particularmente con el ADN, proporcionando un modelo controlado para el estudio de los efectos farmacológicos y genotóxicos del fármaco y de sus productos de reducción (Bushra Rafique et al., 2022)

2.2.3 Reducción electroquímica del metronidazol

La reducción electroquímica del metronidazol ocurre mediante una secuencia de transferencias electrónicas y protonaciones que involucra directamente al grupo nitro ($-\text{NO}_2$). En condiciones electroquímicas controladas, la reducción inicial puede involucrar una transferencia monoelectrónica que conduce a la formación del radical anión nitro ($\text{R}-\text{NO}_2\cdot^-$), considerado uno de los intermediarios característicos de la reducción de los nitroimidazoles y de las rutas redox asociadas con su actividad biológica (Dingsdag & Hunter, 2018).

En medios con disponibilidad de protones, las etapas posteriores de reducción y protonación pueden conducir a especies más reducidas. En particular, se ha propuesto una ruta en la que el grupo nitro se transforma primero en un derivado nitroso ($\text{R}-\text{NO}$) y posteriormente en una hidroxilamina ($\text{R}-\text{NHOH}$). Esta ruta se representa en la Figura 3.

El control de variables como el pH, potenciales, concentraciones, permite modular la generación de productos electroactivos y estudiar de manera reproducible su posible reactividad frente a biomoléculas. Por ello, la reducción electroquímica del metronidazol se ha empleado como modelo experimental para investigar productos reducidos capaces de modificar las señales electroquímicas del ADN o de sus bases nitrogenadas, tanto mediante métodos electroquímicos como a través de técnicas espectroscópicas complementarias.

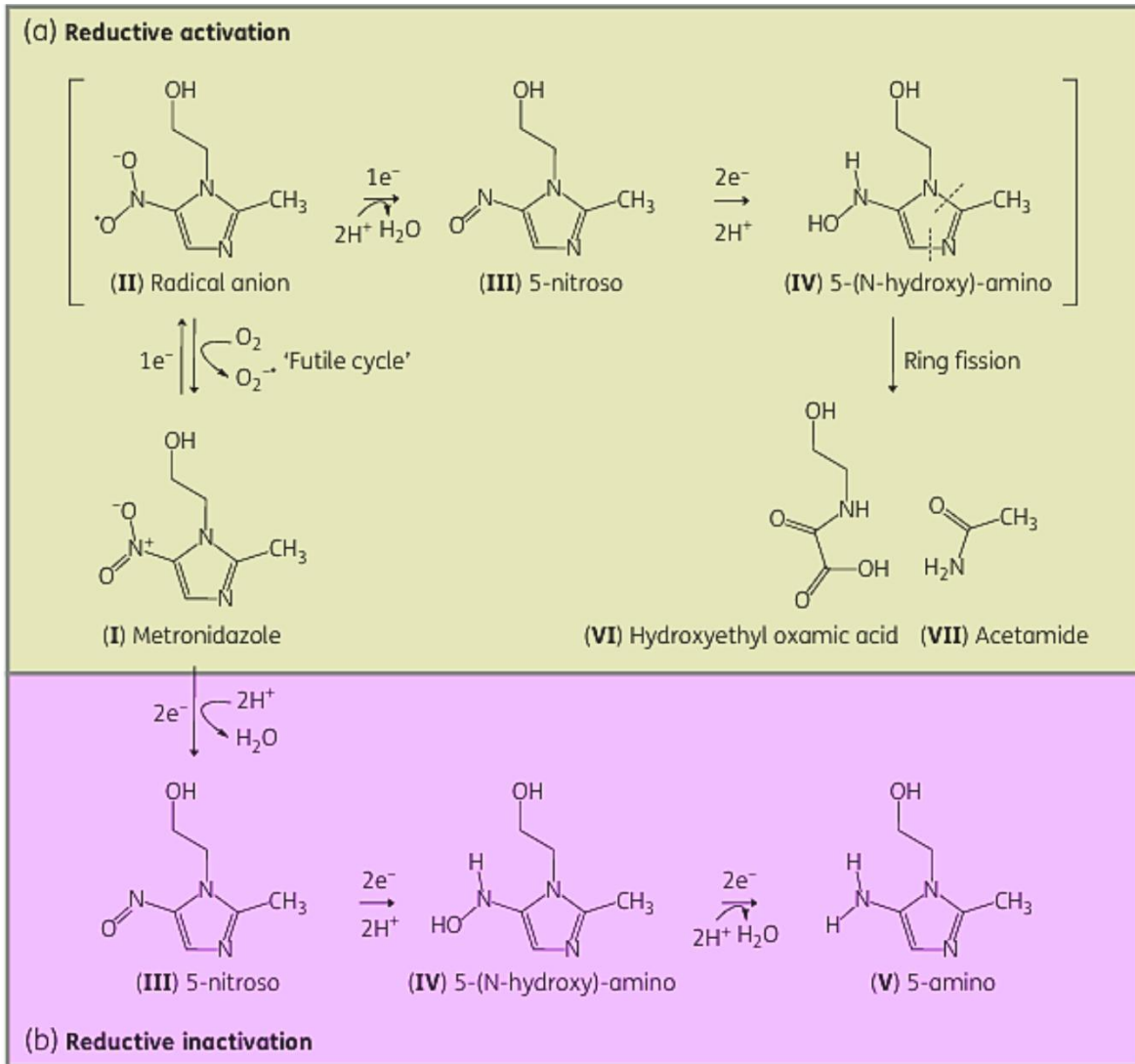


Figura 3. Esquema del mecanismo de activación reductiva e inactivación del metronidazol. En condiciones anaerobias, la reducción secuencial del grupo nitro conduce a la formación de intermediarios reactivos (nitroso, hidroxilamina) capaces de inducir daño al ADN. En presencia de oxígeno, ocurre un ciclo fútil que limita la activación del fármaco. Reproduced de Metronidazole: An update on metabolism, structure–cytotoxicity and resistance mechanisms, por Dingsdag, S. A., y Hunter, N. (2018), Journal of Antimicrobial Chemotherapy, 73(2), 265–279. Copyright © 2018 Oxford University Press. Reproducido con permiso. License number: 6186670341126.

2.2.4 Evidencia genotóxica y controversias sobre la seguridad del metronidazol

El metronidazol se considera un medicamento seguro y eficaz cuando se utiliza en las dosis y condiciones terapéuticas recomendadas. No obstante, su capacidad

para experimentar activación reductora ha motivado la evaluación de sus posibles efectos genotóxicos y carcinogénicos en distintos modelos experimentales (Schneidereit et al., 2025).

La evidencia disponible no es uniforme. En bacterias y en algunos sistemas *in vitro*, el metronidazol activado ha producido respuestas compatibles con daño genético, como mutaciones, modificaciones estructurales del ADN y rupturas de cadena. También se han descrito alteraciones en la renaturalización y en las propiedades fisicoquímicas del ADN después de la exposición a productos reducidos del metronidazol. Sin embargo, estos resultados dependen de las condiciones empleadas para activar el fármaco y no se reproducen con la misma intensidad en todos los sistemas biológicos (Dingsdag & Hunter, 2018).

De acuerdo con la International Agency for Research on Cancer, (2010), el metronidazol fue clasificado en el Grupo 2B, correspondiente a los agentes posiblemente carcinógenos para los seres humanos. Esta clasificación se basó en la evidencia obtenida en animales de experimentación, mientras que la evidencia de carcinogenicidad en seres humanos fue considerada insuficiente. Entre los estudios epidemiológicos posteriores se encuentra el de Falagas et al., (1998), quienes compararon 5,222 usuarios de metronidazol con igual número de no usuarios durante una mediana de seguimiento de 12.6 años. La incidencia tardía de cáncer fue semejante en ambos grupos; no obstante, la exposición fue principalmente de corta duración, por lo que los resultados no permitieron descartar efectos asociados con tratamientos prolongados. Asimismo, Thapa et al., (1998), analizaron una cohorte retrospectiva de 328,846 niños y no identificaron un aumento estadísticamente significativo del riesgo general de cáncer después de la exposición prenatal al metronidazol. En conjunto, estos estudios no aportaron evidencia concluyente de carcinogenicidad en seres humanos, pero sus características y limitaciones tampoco permiten excluir completamente una posible asociación.

Las diferencias entre los resultados experimentales pueden relacionarse con la concentración del fármaco, el tiempo de exposición, la disponibilidad de oxígeno, la velocidad de reducción y la capacidad metabólica del sistema estudiado. En ambientes con bajo contenido de oxígeno, los productos parcialmente reducidos pueden presentar mayor estabilidad y participar en reacciones con componentes celulares. En condiciones aerobias, algunas de estas especies pueden reoxidarse, lo que limita su acumulación y modifica su reactividad (Dingsdag & Hunter, 2018; Schneidereit et al., 2025).

Asimismo, no todos los efectos atribuidos al metronidazol deben interpretarse como consecuencia de una interacción directa con el ADN. Se ha propuesto que algunas

respuestas celulares pueden derivarse de alteraciones del equilibrio redox, interacción con proteínas o inhibición indirecta de procesos relacionados con la síntesis y reparación de los ácidos nucleicos. En modelos celulares y microbianos también se han observado respuestas asociadas con estrés celular y activación de mecanismos de reparación del ADN (Caradec et al., 2024).

En consecuencia, la genotoxicidad del metronidazol debe analizarse considerando el modelo experimental y las condiciones de activación. La detección de cambios en el ADN mediante un ensayo *in vitro* no permite extrapolar directamente el mismo efecto al uso clínico. Esta distinción resulta importante para el presente trabajo, ya que la microelectrólisis genera productos electroactivos en un sistema controlado, pero no reproduce por completo el metabolismo celular ni permite establecer, sin técnicas complementarias, la identidad de los productos o su capacidad para producir daño genético.

2.3 Ácido desoxirribonucleico (ADN)

El ácido desoxirribonucleico (ADN) es la biomolécula responsable del almacenamiento y la transmisión de la información genética. Su estructura está formada generalmente por dos cadenas de polinucleótidos dispuestas de manera antiparalela y organizadas en una doble hélice. Cada nucleótido está constituido por una base nitrogenada adenina (A), guanina (G), citosina (C) o timina (T), una molécula de desoxirribosa y un grupo fosfato (Obara et al., 2024; Singh et al., 2022).

Dentro de cada hebra, los nucleótidos se encuentran unidos mediante enlaces covalentes fosfodiéster, formados entre el grupo fosfato asociado con el carbono 5' de un nucleótido y el grupo hidroxilo del carbono 3' de la desoxirribosa del nucleótido adyacente. Esta organización confiere una orientación definida a cada cadena, de 5' a 3'. Las dos hebras se mantienen asociadas mediante el apareamiento complementario de las bases adenina con timina (A–T) y guanina con citosina (G–C). Estos pares se estabilizan mediante enlaces de hidrógeno y por las interacciones de apilamiento entre bases adyacentes (Javornik et al., 2024; Singh et al., 2022).

La disposición helicoidal del ADN origina dos regiones estructuralmente diferenciadas: el surco mayor y el surco menor. En estas regiones quedan expuestos diferentes grupos funcionales de las bases nitrogenadas, entre ellos grupos amino ($-\text{NH}_2$), que pueden actuar como donadores de enlaces de hidrógeno; átomos de oxígeno de grupos carbonilo ($\text{C}=\text{O}$), que funcionan como aceptores; átomos de nitrógeno de los anillos de purinas y pirimidinas, como N7 y N3; y el grupo

metilo ($-\text{CH}_3$) de la timina, que forma una región hidrofóbica. La distribución de estos grupos genera patrones químicos que favorecen el reconocimiento y la interacción del ADN con proteínas, moléculas bioactivas y fármacos (Neidle, 2021).

La estructura general de la doble hélice y sus componentes se presenta en la Figura 4.

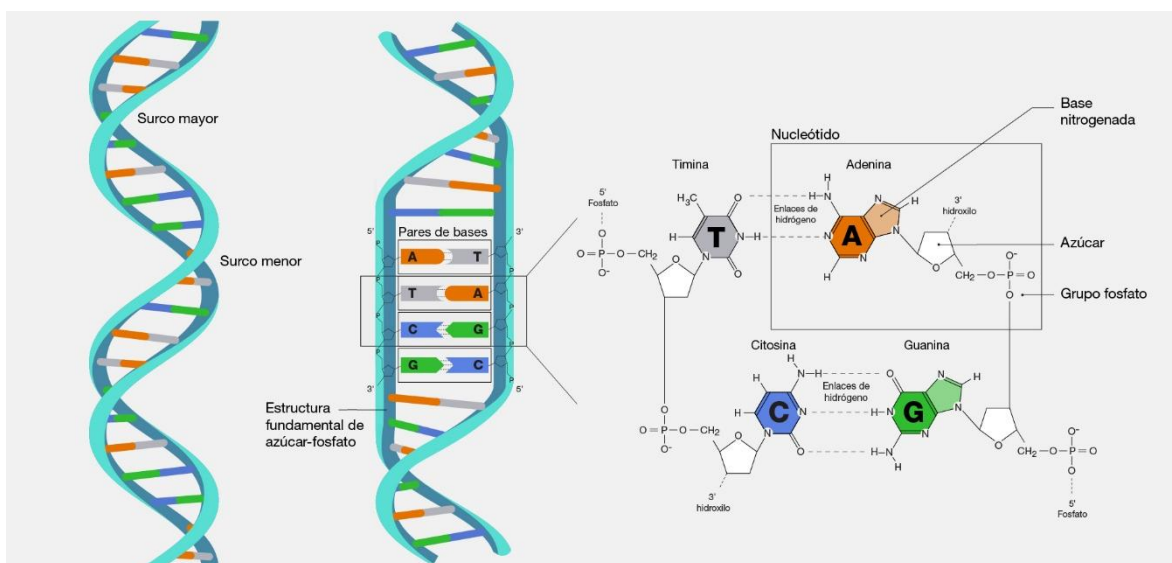


Figura 4. Representación de la estructura de doble hélice del ADN y de sus principales componentes. Tomada de (National Human Genome Research Institute, (2026).

2.3.1 Bases nitrogenadas como biomarcadores electroquímicos de interacción con ADN

Las bases nitrogenadas del ADN presentan propiedades electroactivas que permiten estudiarlas mediante técnicas electroanalíticas basadas en procesos de transferencia de electrones. Entre ellas, las purinas guanina (G) y adenina (A) pueden oxidarse directamente sobre diferentes superficies electródicas y producir señales detectables mediante voltamperometría cíclica (VC) y voltamperometría diferencial de pulso (VDP). La guanina generalmente se oxida a potenciales menos positivos que la adenina, mientras que ambas purinas presentan mayor facilidad de oxidación que las bases pirimidínicas. Por ello, sus señales resultan útiles para monitorear procesos que modifican la respuesta electroquímica del ADN (Chiorcea-Paquim & Oliveira-Brett, 2021).

Los potenciales y las corrientes de oxidación de adenina y guanina dependen de las condiciones experimentales, entre ellas el pH, la composición del electrolito, el material del electrodo y el estado estructural del ADN. En las condiciones

adecuadas, la separación entre sus potenciales permite reconocer y monitorear las señales asociadas con ambas purinas, incluso en sistemas que contienen más de una especie electroactiva (Zhao et al., 2024).

Cuando un fármaco o una molécula bioactiva interactúa con el ADN, puede modificar la accesibilidad de las bases nitrogenadas a la superficie del electrodo, su grado de exposición dentro de la doble hélice o la transferencia electrónica involucrada en su oxidación. Estos cambios pueden manifestarse en la respuesta voltamperométrica como disminuciones o incrementos de la corriente de pico, desplazamientos del potencial y modificaciones en la forma o el área de las señales (Aleksić & Kapetanović, 2014; Chiorcea-Paquim & Oliveira-Brett, 2021; Erdem et al., 2023; Oliveira-Brett et al., 2002; Sirajuddin et al., 2013).

En biosensores electroquímicos de ADN sin marcaje se han observado modificaciones en las señales de oxidación de las bases nitrogenadas después de la interacción con fármacos y complejos metálicos, como daunorrubicina, cisplatino y determinados complejos de platino. Dependiendo del compuesto y del mecanismo de interacción, pueden disminuir las señales de guanina, adenina o ambas bases (Erdem et al., 2023)

Este comportamiento puede ser compatible con una menor disponibilidad de las bases electroactivas o con cambios estructurales producidos en el ADN. Sin embargo, una variación de corriente o potencial no demuestra por sí sola la formación de un complejo, la intercalación del compuesto o la existencia de daño molecular, ya que también se relaciona con fenómenos de adsorción, competencia por la superficie del electrodo o modificaciones en la transferencia electrónica (Chiorcea-Paquim & Oliveira-Brett, 2021).

En este contexto, la adenina y la guanina pueden considerarse indicadores electroquímicos de posibles interacciones con el ADN. El parámetro medido no corresponde directamente a una lesión molecular, sino a una variación reproducible de la corriente, el potencial o el área del pico de oxidación. Por tanto, estos parámetros proponen interpretarse como evidencia indirecta y, cuando se busca establecer un mecanismo de unión o confirmar daño estructural, deben complementarse con técnicas espectroscópicas o estructurales (Chiorcea-Paquim & Oliveira-Brett, 2021).

En el caso del metronidazol, se ha reportado que su interacción con el ADN puede estudiarse mediante el seguimiento de la señal electroquímica de la guanina. Se

han observado variaciones en la corriente y en el área del pico conforme cambia la concentración del fármaco, así como modificaciones en el potencial de oxidación del ADN inmovilizado durante el tiempo de interacción (Bushra Rafique et al., 2022).

2.3.2 Interacciones entre el ADN y los fármacos

El ADN constituye un blanco molecular de interés farmacológico y toxicológico, debido a que su interacción con fármacos y otras moléculas bioactivas puede modificar su estructura y afectar procesos celulares como la replicación, la transcripción y la reparación del material genético. Estas interacciones consiguen formar parte del mecanismo terapéutico de algunos compuestos, pero también se relacionan con efectos adversos cuando generan modificaciones persistentes o lesiones en el ADN (Poole et al., 2025).

Desde una perspectiva farmacológica y regulatoria, el ADN es un blanco de alta relevancia porque muchas estrategias terapéuticas dependen, directa o indirectamente, de inducir o explotar lesiones en el material genético o de interferir con su procesamiento. Esto es particularmente evidente en oncología, donde agentes antitumorales actúan mediante daño al ADN o inhibición de rutas asociadas a la respuesta al daño (ADN damage response, DDR), lo que convierte a estas interacciones en un determinante tanto de eficacia como de toxicidad (Q. Li et al., 2023; R. Wang et al., 2023).

De forma complementaria, la relevancia genotóxica del ADN como blanco también se manifiesta en el desarrollo y evaluación de compuestos con potencial de generar aductos, roturas o modificaciones oxidativas; por ello, la caracterización de interacciones fármaco–ADN es un componente crítico para comprender riesgos y mecanismos en diferentes escenarios terapéuticos y toxicológicos (Poole et al., 2025).

Las interacciones entre fármacos y ADN se clasifican principalmente en covalentes y no covalentes. Las interacciones covalentes implican la formación de enlaces químicos entre el compuesto y determinados sitios nucleofílicos de las bases nitrogenadas, lo que puede originar aductos o entrecruzamientos entre las hebras. Debido a la estabilidad de estos enlaces, las modificaciones pueden persistir e interferir con la replicación y la transcripción cuando no son eliminadas por los mecanismos celulares de reparación (Andrezálová & Országhová, 2021; Sirajuddin et al., 2013).

De manera general, las interacciones no covalentes son generalmente reversibles e incluyen la intercalación entre pares de bases, la unión a los surcos mayor o menor y las interacciones electrostáticas con el esqueleto fosfato. La intercalación suele involucrar moléculas aromáticas planas que se insertan entre pares de bases adyacentes. La unión a los surcos depende del reconocimiento de los grupos funcionales expuestos en estas regiones, mientras que las interacciones electrostáticas ocurren principalmente entre grupos con carga positiva del ligando y los grupos fosfato con carga negativa del ADN. Estos modos de unión pueden modificar la conformación, flexibilidad y estabilidad de la doble hélice sin implicar necesariamente la formación de enlaces covalentes o daño estructural (Andrezálová & Országhová, 2021; Sirajuddin et al., 2013).

Además de los mecanismos de unión directa, algunos fármacos pueden producir daño en el ADN mediante la generación de especies reactivas, la oxidación de bases nitrogenadas o la escisión de una o ambas cadenas. La formación de aductos, entrecruzamientos, lesiones oxidativas y rupturas de cadena puede interferir con el procesamiento del material genético y activar mecanismos celulares de respuesta y reparación. Si estas lesiones no se reparan correctamente, pueden contribuir a la inestabilidad genómica o a la muerte celular (Q. Li et al., 2023; Poole et al., 2025; R. Wang et al., 2023).

Las interacciones fármaco–ADN pueden estudiarse mediante métodos ópticos, espectroscópicos y electroquímicos. En los métodos electroquímicos se analizan principalmente las variaciones en la corriente, el potencial y el área de los picos asociados con el fármaco o con las bases nitrogenadas. Estos cambios son compatibles con modificaciones en la accesibilidad de las bases, asociaciones moleculares, cambios conformacionales o competencia por la superficie del electrodo (Aleksić & Kapetanović, 2014; Erdem et al., 2023).

En términos de consecuencias estructurales y funcionales, estas interacciones pueden: (i) bloquear o ralentizar la replicación al interferir con la progresión de polimerasas; (ii) alterar la transcripción al obstaculizar complejos de ARN polimerasa o factores de transcripción; (iii) inducir daño genómico (aductos, roturas de cadena, entrecruzamientos o lesiones oxidativas) y (iv) activar rutas celulares de respuesta al daño del ADN (DDR) y reparación, cuya falla o saturación puede conducir a inestabilidad genómica, arresto del ciclo celular o muerte celular. Estas rutas son también objetivos terapéuticos importantes en cáncer, lo que subraya la

relevancia biológica de caracterizar el tipo de lesión y el modo de interacción fármaco–ADN (Li et al., 2023; Wang et al., 2023).

Debido a que algunos mecanismos farmacológicos implican transferencia de electrones o formación de especies reactivas, los sistemas electroquímicos permiten estudiar determinadas transformaciones redox en condiciones controladas. Además, pueden emplearse para simular etapas de biotransformación, generar productos electroactivos y evaluar posteriormente sus posibles efectos sobre biomoléculas (Nikzad & Rafiee, 2024; Potęga et al., 2021).

En el caso del metronidazol, su comportamiento redox permite generar productos electroactivos que pueden presentar una reactividad diferente de la del compuesto sin reducir. Se han empleado métodos electroquímicos y espectroscópicos para estudiar su interacción con el ADN, registrándose cambios en las señales asociadas con el fármaco y con las bases nitrogenadas. Asimismo, se ha reportado interacción entre productos reducidos del metronidazol y componentes del ADN (Bushra Rafique et al., 2022; Jiang & Lin, 2006; J. H. Tocher & Edwards, 1994).

2.4 Microelectrólisis como estrategia para la generación de derivados del metronidazol

La microelectrólisis puede definirse como una estrategia de electrólisis a escala micro o semipreparativa, basada en principios de electrosíntesis con control electroquímico, en la cual se aplica un potencial o corriente definidos para inducir transformaciones redox específicas sobre una molécula objetivo. En este enfoque, el flujo de electrones suministrado por el electrodo actúa como el principal agente reactivo, permitiendo modular la reactividad del sistema mediante variables electroquímicas, como la ventana de potencial y la composición del medio, sin recurrir al uso de reactivos redox estequiométricos (Brachi et al., 2024).

A diferencia de la electrólisis convencional, que suele emplearse a mayor escala con fines de degradación, electrodeposición o síntesis poco selectiva, la microelectrólisis se orienta al control fino de la ruta de reacción, priorizando la selectividad mecanística sobre el rendimiento global. Este enfoque es consistente con la electrosíntesis orgánica moderna, en la que el potencial aplicado funciona como una herramienta para dirigir transformaciones químicas específicas y minimizar la formación de subproductos (Lodh et al., 2023).

Frente a la síntesis química clásica, donde la selectividad suele lograrse mediante agentes reductores, catalizadores o reactivos adicionales, la microelectrólisis

suministra los electrones directamente desde el electrodo. El potencial aplicado, el tiempo de electrólisis y la carga transferida permiten regular el avance de la reacción y disminuir la incorporación de reactivos externos al sistema (Brachi et al., 2024; Lodh et al., 2023). En configuraciones de flujo, el control del tiempo de residencia y del transporte de masa proporciona variables adicionales para mejorar la reproducibilidad de la conversión electroquímica (Regnier et al., 2024).

En el contexto farmacéutico, la microelectrólisis es relevante por su capacidad para simular transformaciones tipo biotransformación, en procesos reductivos, generando productos electroquímicos que pueden asemejarse a metabolitos o intermediarios plausibles. Este principio sustenta el desarrollo del campo conocido como *electrochemical drug metabolism*, en el cual los productos generados en potencial controlado se caracterizan posteriormente mediante técnicas analíticas complementarias, como acoplamientos electroquímica–espectrometría de masas (Szultka-Młyńska, 2025). El esquema representativo se encuentra en la Figura 5.

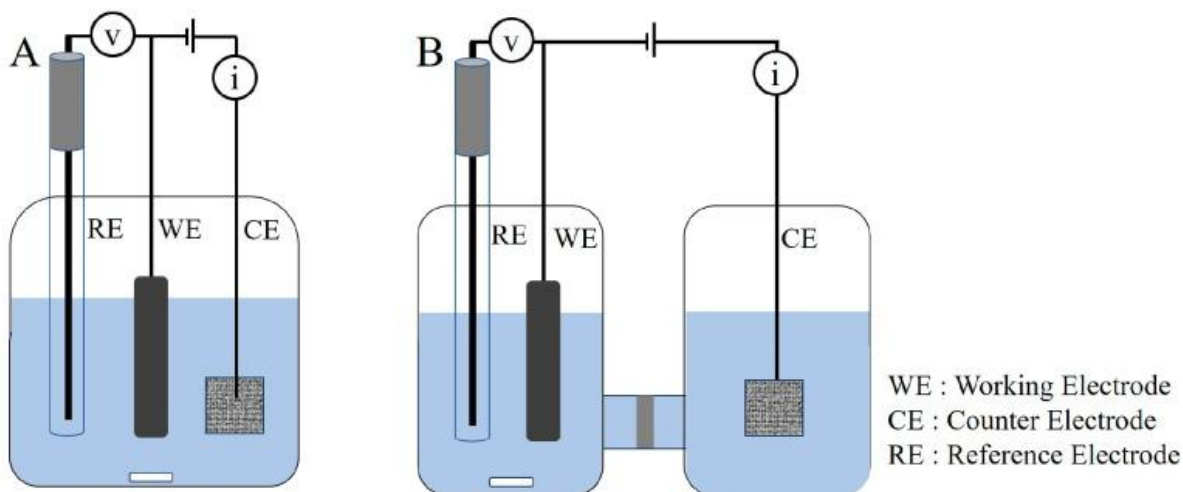


Figura 5. Esquema representativo de una celda electroquímica empleada en procesos de microelectrólisis. A) Configuración convencional de tres electrodos (electrodo de trabajo, referencia y contraelectrodo) en un solo compartimento. B) Celda de microelectrólisis con compartimentos separados, que permite un control más preciso de los procesos redox y evita interferencias entre productos generados en el electrodo de trabajo y el contraelectrodo. Esta configuración es característica de estudios de electrosíntesis y generación controlada de derivados moleculares. Tomado de: ACS Org. Inorg. AU 2024, 4, 2, 141-187.

2.4.1 Interacción de metronidazol y sus derivados con ADN

La interacción del metronidazol con el ADN debe analizarse diferenciando el fármaco intacto de los productos generados durante su reducción. Se ha reportado que el metronidazol sin transformar puede asociarse con el ADN y producir

modificaciones en su respuesta electroquímica y espectroscópica (Bushra Rafique et al., 2022; Jiang & Lin, 2006).

La activación reductiva del grupo nitro genera especies con mayor reactividad química, capaces de interactuar con bases nitrogenadas, nucleósidos y ADN. La naturaleza y persistencia de estos productos dependen de factores como el pH, el potencial aplicado y la disponibilidad de protones y oxígeno (Dingsdag & Hunter, 2018; J. Tocher & Edwards, 1992).

Estas interacciones pueden evaluarse mediante cambios en las señales electroquímicas de guanina y adenina. Las variaciones en la corriente o el potencial de oxidación pueden reflejar modificaciones en la accesibilidad o en la transferencia electrónica de las bases. No obstante, constituyen indicadores indirectos y no permiten identificar por sí solas los productos generados ni establecer un mecanismo específico de daño al ADN (Bushra Rafique et al., 2022; Chiorcea-Paquim & Oliveira-Brett, 2021).

2.4.2 Electroquímica como modelo de procesos metabólicos

Los procesos metabólicos de fármacos involucran reacciones de oxidación y reducción mediadas por sistemas enzimáticos. En particular, gran parte del metabolismo de xenobióticos en el cuerpo depende de enzimas redox (p. ej., citocromos P450 y sus proteínas asociadas), donde los electrones se transfieren desde cofactores reducidos hacia centros catalíticos para activar sustratos y conducir transformaciones químicas. Un ejemplo es la P450 oxidoreductasa, proteína que transfiere electrones a los citocromos P450 y permite que estos participen en la transformación metabólica de diversos fármacos (Jensen et al., 2021; Xia & Hirao, 2025).

En este contexto, la electroquímica se ha propuesto como una herramienta experimental capaz de modelar, en condiciones controladas, etapas importantes de procesos metabólicos en los que la variable determinante es el flujo de electrones. Conceptualmente, puede establecerse una analogía directa entre sistemas biológicos y electroquímicos: la enzima reductasa funciona como el elemento donador/mediador de electrones, mientras que el electrodo actúa como fuente o sumidero electrónico; el cofactor redox (NAD(P)H/FAD/FMN u otros) se operacionaliza como un potencial aplicado que gobierna la dirección y fuerza impulsora de la transferencia electrónica; el microambiente celular se representa mediante el electrolito soporte y el pH; y el control enzimático (selectividad y cinética) se aproxima mediante el control electroquímico de parámetros

experimentales (potencial, tiempo, composición del medio). En conjunto, esta equivalencia sostiene la validez de la electroquímica como plataforma para estudiar biotransformaciones redox sin necesidad de sistemas biológicos completos (Göldner et al., 2025; Nikzad & Rafiee, 2024).

Desde una perspectiva metodológica, la electroquímica ofrece ventajas claras como modelo metabólico: permite control preciso del potencial (y por tanto de la fuerza impulsora de la reacción), alta reproducibilidad, y la generación selectiva de intermediarios al modular condiciones como pH, electrolito, material del electrodo y régimen experimental. Esto facilita el estudio de especies inestables o reactivas que, en sistemas biológicos, pueden formarse de manera transitoria y resultar difíciles de aislar o cuantificar. Además, enfoques contemporáneos como EC-MS/EC-LC-MS han mostrado utilidad para simular biotransformaciones y detectar productos electroquímicos como análogos de metabolitos, reduciendo la dependencia de modelos biológicos complejos y apoyando el análisis de rutas redox (Potęga et al., 2021; Szultka-Młyńska, 2025).

Aplicado al metronidazol, esta aproximación es particularmente pertinente porque su activación en organismos susceptibles es reductiva y depende de enzimas de bajo potencial redox (p. ej., nitroreductasas), que transfieren electrones al grupo nitro para generar intermediarios reactivos asociados a su efecto biológico y a fenómenos de daño molecular. La bioactividad del metronidazol involucra la generación de especies reactivas derivadas de su reducción, así como respuestas celulares consistentes con estrés y daño a nivel de ADN en organismos expuestos (Caradec et al., 2024; Krakovka et al., 2022).

3. Materiales y métodos

3.1 Materiales

Se empleó ADN de doble cadena proveniente de testículo de salmón (ADNts, Sigma-Aldrich, D1626-1G), adenina ($\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, A8626-5G) y guanina ($\geq 98\%$, Sigma-Aldrich, G11950-25G). Para la preparación del electrodo de trabajo se utilizó polvo de grafito microcristalino (tamaño de partícula $> 20\ \mu\text{m}$, $\geq 99\%$, Sigma-Aldrich, 282863-1KG) y aceite mineral (Sigma-Aldrich, M3516-1L).

Los sistemas amortiguadores se prepararon a partir de fosfato de sodio dibásico anhidro (Na_2HPO_4 , 99% , J.T. Baker), fosfato de sodio monobásico monohidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $98\text{--}102\%$, Meyer), acetato de sodio anhidro (CH_3COONa , 99% , Meyer), ácido acético glacial (CH_3COOH , 99.7% , High Purity). Asimismo, se

emplearon cloruro de sodio (NaCl, 99–100.5 %, Merck), hidróxido de sodio (NaOH, 97 %, High Purity), ácido clorhídrico (HCl 37 %, Meyer).

El metronidazol ($C_6H_9N_3O_3$, ≥ 99 %, Sigma-Aldrich, M3761) se utilizó como analito de estudio. Todos los reactivos empleados fueron de grado analítico. El agua utilizada para la preparación de las soluciones fue de grado ultrapuro, con una resistividad de $18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, obtenida mediante un sistema Milli-Q.

3.2 Métodos

Las mediciones electroquímicas se realizaron en una celda convencional de tres electrodos. Se empleó un electrodo de grafito como electrodo de trabajo, un electrodo de platino como electrodo auxiliar y un electrodo de plata/cloruro de plata (Ag/AgCl, KCl 3 M) como electrodo de referencia.

Previo a cada medición, la superficie del electrodo de pasta de carbono, con un diámetro interno de 6 mm y un área geométrica de 0.283 cm^2 , se homogeneizó manualmente sobre papel filtro núm. 100 mediante aproximadamente 20 movimientos circulares uniformes. Este procedimiento permitió nivelar la superficie expuesta y mejorar la reproducibilidad de la respuesta electroquímica.

Todas las mediciones se llevaron a cabo con agitación magnética constante y a temperatura ambiente (25 ± 2 °C).

3.2.1 Preparación de soluciones

Las soluciones de trabajo se prepararon utilizando agua ultrapura ($18.2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$). Los buffers empleados fueron buffer de acetatos (0.1 M, pH 4.5) y buffers de fosfatos (0.1 M, pH 3.0 y 7.5), preparados siguiendo procedimientos estándar y ajustando el pH con HCl o NaOH 1M.

Las soluciones stock de adenina y guanina se prepararon en buffer de acetatos (0.1 M, pH 4.5) a una concentración 7.40 mM y 6.61 mM respectivamente. En el caso de la guanina, se adicionaron pequeñas cantidades de HCl concentrado para favorecer su disolución. A partir de estas soluciones se realizaron las diluciones necesarias para los estudios electroquímicos.

La solución stock de metronidazol se preparó a una concentración de 5.84 mM en buffer fosfato (0.1 M, pH 7.5). Para la preparación de las soluciones de trabajo, se realizaron diluciones apropiadas en el mismo buffer.

El ADN de testículo de salmón se disolvió en buffer de acetatos (0.1 M, pH 4.5) a una concentración de 0.5 mg/mL. Para obtener ADN desnaturalizado, la solución se sometió a calentamiento a 95 °C durante 30 minutos, seguido de un enfriamiento rápido en baño de hielo durante 15 minutos.

3.2.2 Caracterización electroquímica

La caracterización electroquímica de adenina, guanina y metronidazol se llevó a cabo mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP), utilizando un potenciostato controlado por software. Las soluciones se prepararon en los medios amortiguadores especificados para cada analito y se adicionó NaCl como electrolito soporte. Las condiciones instrumentales se indican en la Tabla 1.

Los parámetros instrumentales, tales como amplitud de pulso, potencial inicial y final, paso de potencial y velocidad de barrido, se optimizaron con el objetivo de maximizar la sensibilidad analítica y la resolución de las señales electroquímicas, seleccionándose aquellas condiciones que proporcionaron picos bien definidos y reproducibles. El ejemplo del sistema utilizado en la evaluación de la caracterización se encuentra en la Figura 6.

3.2.3 Estudio de velocidad de barrido

El estudio de velocidad de barrido se realizó con el propósito de evaluar si los procesos electroquímicos de adenina, guanina y ADN estaban controlados por difusión o por adsorción sobre el electrodo de grafito. Para ello, se empleó voltamperometría cíclica (VC), variando la velocidad de barrido en el intervalo de 0.05 a 5 V·s⁻¹.

3.2.4 Linealidad del método

La linealidad se evaluó para adenina y guanina mediante VDP, utilizando soluciones preparadas en buffer de acetatos (0.1 M, pH 4.5). A partir de las soluciones stock se construyeron dos curvas de calibración independientes para cada analito.

La curva de adenina se construyó entre 0.00296 y 0.0148 mM, y la de guanina entre 0.00265 y 0.0132 mM. Las mediciones se realizaron con las condiciones electroquímicas optimizadas durante la caracterización.

La relación entre la corriente pico y la concentración del analito se evaluó mediante regresión lineal, determinándose el coeficiente de correlación (r^2) como criterio de aceptación de la linealidad del método, conforme a los lineamientos establecidos por International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceutical for human use, 2005; International Council For

Harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use, 2023; Secretaría de Salud, 2018.

3.2.5 Precisión del método

La precisión del método se evaluó en términos de repetibilidad para adenina, guanina y metronidazol mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP).

Para adenina y guanina se prepararon soluciones a tres niveles de concentración: 0.00592, 0.00888 y 0.0148 mM y 0.00529, 0.00794 y 0.0132 mM respectivamente y utilizando buffer de acetatos 0.1 M, pH 4.5. Para el metronidazol se evaluaron concentraciones de 0.1168, 0.1753 y 0.2337 mM en buffer de fosfatos 0.1 M, pH 7.5, con cloruro de sodio como electrolito soporte.

Cada nivel de concentración se analizó mediante seis réplicas independientes, en las condiciones experimentales previamente optimizadas para cada analito. La precisión se expresó como el coeficiente de variación (%CV) de las corrientes de pico obtenidas, conforme a los criterios establecidos por la International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceutical for human use, (2005); International Council For Harmonisation of technical requirements for pharmaceuticals for human use, (2023); Secretaría de Salud, (2018).

Las mediciones de adenina y guanina mediante VDP se realizaron, salvo indicación contraria, en las condiciones descritas de la Tabla 1. Estas condiciones se aplicaron en la caracterización electroquímica, la construcción de curvas de calibración y la evaluación de la precisión.

Tabla 1. Condiciones electroquímicas empleadas en el análisis de adenina y guanina mediante VDP.

Parámetro	Valor
Electrodo de trabajo	Pasta de carbono
Electrodo de referencia	Ag/AgCl (KCl 3 M)
Potencial inicial	0 V
Potencial final	+ 1.3 V
Paso de potencial	0.005 V
Amplitud de pulso	0.0072 V
Tiempo de modulación	0.075 s
Tiempo de equilibrio	2 s
pH del medio	4.5

3.3 Estudio de velocidad de barrido de potencial sobre la reducción del metronidazol

El estudio de velocidad de barrido de potencial para la reducción electroquímica del metronidazol se realizó mediante voltamperometría cíclica (VC) en buffer fosfato (0.1 M, pH 7.5), en presencia de cloruro de sodio como electrolito soporte.

Las soluciones de trabajo se prepararon a partir de la solución stock de metronidazol, ajustando la concentración final a 0.0584 mM. Previo a cada medición, las soluciones se desoxigenaron mediante burbujeo con nitrógeno durante 10 minutos, con el fin de eliminar la interferencia del oxígeno disuelto en los procesos de reducción.

Las mediciones se realizaron registrando voltamperogramas a diferentes velocidades de barrido, en el intervalo de 0.05 a 5 V·s⁻¹. La relación entre la corriente pico de reducción y la velocidad de barrido, así como con la raíz cuadrada de la velocidad, se utilizó para evaluar el mecanismo de control del proceso electroquímico del metronidazol. Las condiciones electroquímicas optimizadas se resumen en la Tabla 2.

Tabla 2. Condiciones electroquímicas para el estudio de velocidad de barrido del metronidazol por VC.

Parámetro	Valor
Electrodo de trabajo	Grafito
Electrodo de referencia	Ag/AgCl (KCl 3 M)
Electrodo auxiliar	Platino
Potencial inicial	-1.4 V
Potencial final	+1.0 V
Paso de potencial	0.005 V
Velocidad de barrido	0.05–5 V·s ⁻¹
pH del medio	7.5

3.4 Efecto del pH sobre la reducción del metronidazol

El efecto del pH sobre la reducción electroquímica del metronidazol se evaluó mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). Se prepararon soluciones

de metronidazol a una concentración de 0.292 mM en buffer fosfato (0.1 M) ajustados a valores de pH 2.0, 4.0, 6.0, 8.0 y 10.0.

Las mediciones electroquímicas se realizaron en las mismas condiciones instrumentales que la caracterización del metronidazol (Tabla 2), con el objetivo de analizar la influencia del pH en el potencial y la corriente de reducción del metronidazol.

3.5 Curva de calibración de metronidazol

La curva de calibración del metronidazol se construyó mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP), utilizando soluciones preparadas en solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M, pH 7.5. A partir de una solución stock de metronidazol de 5.843 mM, se prepararon cinco niveles de concentración: 0.0584, 0.1169, 0.1753, 0.2337 y 0.2921 mM. Para cada nivel se registró la corriente de pico de reducción como señal analítica. La relación entre la corriente y la concentración se evaluó mediante regresión lineal, utilizando el coeficiente de determinación (r^2) como criterio de linealidad del método.

3.6 Sistemas de adenina, guanina y ADN de testículo de salmón

Los estudios electroquímicos se realizaron empleando soluciones de ADN de testículo de salmón previamente preparadas, tanto en su forma nativa como desnaturalizada, conforme al procedimiento descrito en el apartado de *Preparación de soluciones*.

3.6.1 Concentración de ADN de testículo de salmón

A partir de estas soluciones, se prepararon alícuotas de trabajo para los estudios electroquímicos. La concentración del ADN se determinó por espectrofotometría UV-Vis a 260 nm, utilizando una celda de 1 cm de trayectoria óptica.

Las mediciones electroquímicas se llevaron a cabo mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP), registrando las señales correspondientes a la oxidación de adenina y guanina. Para cada condición experimental se realizaron tres réplicas independientes bajo las condiciones instrumentales descritas en la Tabla 3.

Tabla 3. Condiciones experimentales para VDP de ADN testículo de salmón.

Parámetro	Valor y unidad	Parámetro	Valor y unidad
Electrodo de referencia	Ag/AgCl (KCl 3 M)	Potencial inicial	0 V
Electrodo de trabajo	pasta C/ grafito	Potencial final (V)	+1.3 V

Electrodo auxiliar	Platino	Paso de potencial	0.0072 V
Potencial de deposición	0.5 V	Amplitud de pulso	0.07995 V
Duración (S)	40	Tiempo de intervalo	0.4
Tiempo equilibrio	2.0 s	Tiempo de modulación	0.005

3.6.2 Sistemas de ADN de testículo de salmón: adición acumulativa

Se preparó un sistema inicial con 10 mL de solución amortiguadora de acetatos 0.1 M, pH 4.5, al cual se realizaron adiciones acumulativas de la solución stock de ADN de testículo de salmón hasta alcanzar una concentración final de 0.057 mg/mL. Después de cada adición, la solución se homogeneizó y se registró la respuesta electroquímica mediante voltamperometría diferencial de pulso, con el propósito de evaluar la variación de las señales asociadas con las bases nitrogenadas del ADN ocupando las condiciones de la tabla 3.

3.6.3 Sistemas de adenina, guanina y ADN de testículo de salmón

Se prepararon sistemas a partir de soluciones estándar de adenina y guanina, ajustando la concentración final del analito a 0.00794 mM en buffer de acetatos (0.1 M, pH 4.5), en presencia de NaCl como electrolito soporte.

Después de cada adición, la solución se homogenizó y se registraron las mediciones electroquímicas correspondientes mediante voltamperometría diferencial de pulso, con el objetivo de evaluar la variación de las señales electroquímicas asociadas a las bases nitrogenadas del ADN.

3.7 Generación electroquímica de productos de reducción del metronidazol mediante microelectrólisis

La generación electroquímica de productos de reducción del metronidazol se realizó mediante microelectrólisis a potencial controlado en una celda de vidrio en forma de H de tres compartimentos comunicados mediante separadores de vidrio sinterizado. Esta configuración permitió mantener la conductividad iónica entre los compartimentos y limitar la mezcla de las especies generadas en los electrodos.

En el compartimento de trabajo se colocaron 25 mL de una solución de metronidazol 1.17 mM preparada en buffer de fosfatos 0.1 M, pH 7.5. En los compartimentos correspondientes al electrodo auxiliar y al electrodo de referencia se colocaron 25 mL del mismo buffer, pero sin metronidazol. El sistema estuvo integrado por un electrodo de grafito como electrodo de trabajo, con un área geométrica de 3.2 cm²;

un electrodo de platino como auxiliar, con un área de 2.4 cm²; y un electrodo de Ag/AgCl (KCl 3 M) como referencia. El ejemplo gráfico del sistema se encuentra en la Figura 6.

Antes de iniciar la microelectrólisis, la solución de metronidazol se desoxigenó mediante burbujeo con nitrógeno durante 15 minutos. Posteriormente, se aplicó un potencial constante de -1.0 V respecto de Ag/AgCl durante 2 h mediante un equipo potenciostato/galvanostato μ AUTOLAB con software NOVA 1.7. La solución del compartimento de trabajo se mantuvo bajo agitación magnética constante y en enfriamiento.

Al finalizar el procedimiento, la solución del compartimento de trabajo se recuperó con un volumen de 25 mL y se protegió de la luz, para los estudios posteriores de interacción con ADN mediante voltamperometría diferencial de pulso.

3.8 Interacción de los productos electroquímicos con ADN

La interacción entre el ADN de testículo de salmón en su forma nativa y los productos electroquímicos del metronidazol obtenidos por microelectrólisis se evaluó mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). Para ello, se trabajó con una solución de ADN 0.5 mg/mL sin desnaturalizar en una celda electroquímica, a la cual se añadió una alícuota del producto electroquímico del metronidazol.

Las mediciones electroquímicas se realizaron a diferentes tiempos de incubación con el fin de evaluar la evolución temporal de la interacción ADN–producto electroquímico. Los registros se obtuvieron a los 0, 300, 600, 900 y 3000 s, manteniendo constantes las condiciones experimentales previamente optimizadas.

Con el objetivo de contar con referencias comparativas, se registraron previamente voltamperogramas de control correspondientes al ADN nativo, ADN desnaturalizado, adenina, guanina, metronidazol sin tratamiento electroquímico y a los productos electroquímicos del metronidazol obtenidos por microelectrólisis, en las mismas condiciones electroquímicas experimentales.

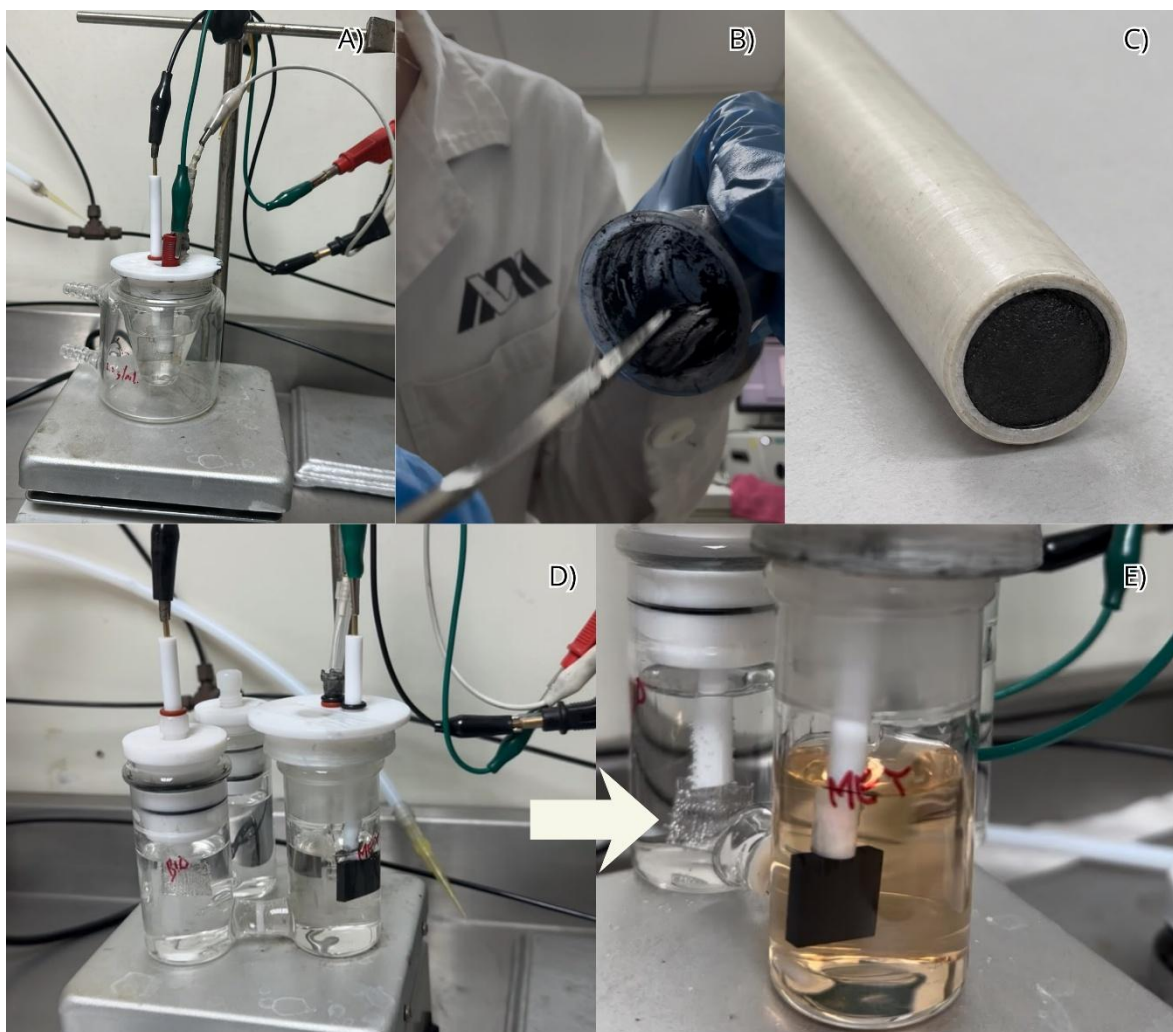


Figura 6. Preparación del electrodo de pasta de carbono y montaje experimental de las celdas electroquímicas. A) Celda electroquímica con un sistema de tres electrodos utilizado para la caracterización, validación y cuantificación electroquímica. B) Preparación y homogeneización de la pasta de carbono a base de grafito. C) Superficie del electrodo acondicionada con la pasta de carbono. D) Montaje de las celdas empleadas durante la microelectrólisis. E) Sistema de microelectrólisis después de dos horas.

3.9 Actividades realizadas durante el servicio social

- Revisión bibliográfica sobre metronidazol, reducción electroquímica, interacción fármaco–ADN y análisis voltamperométrico.
- Preparación de soluciones amortiguadoras y soluciones stock de metronidazol, adenina, guanina y ADN.
- Preparación, acondicionamiento y limpieza del electrodo de trabajo.
- Registro de voltamperogramas cíclicos y diferenciales de pulso.
- Evaluación del efecto de la velocidad de barrido y del pH sobre la reducción del metronidazol.
- Construcción de curvas de calibración y evaluación de linealidad, precisión y límites de detección y cuantificación.
- Generación de productos de reducción mediante microelectrólisis.
- Análisis de la interacción de los productos electroquímicos con adenina, guanina y ADN.
- Procesamiento de datos, elaboración y homogeneización de gráficas, discusión de resultados y participación en productos académicos.

4. Resultados y discusión

4.1 Caracterización electroquímica de las especies mediante voltamperometría cíclica

El comportamiento electroquímico de adenina, guanina y metronidazol se evaluó mediante voltamperometría cíclica a diferentes velocidades de barrido. Este estudio permitió examinar la influencia del transporte de masa sobre la corriente de pico y reconocer posibles cambios cinéticos en los procesos de oxidación o reducción. La adenina y la guanina se analizaron a concentraciones de 0.0667 y 0.0596 mM, respectivamente.

4.1.1 Adenina

En la Figura 7A se observa que la corriente del pico anódico de la adenina aumentó conforme se incrementó la velocidad de barrido entre 0.02 y 0.10 V/s⁻¹. Este comportamiento se debe a que, al aumentar la velocidad, disminuye el tiempo disponible para el crecimiento de la capa de difusión y se genera un gradiente de concentración mayor en la superficie del electrodo.

La relación aproximadamente lineal entre I_p y $\sqrt{v}$ presentada en la Figura 7B, es compatible con un proceso en el que el transporte de adenina desde la solución hacia el electrodo contribuye de manera predominante a la respuesta. Esta tendencia coincide con el comportamiento esperado para especies electroactivas transportadas principalmente por difusión y con lo descrito para bases nitrogenadas en electrodos de carbono y grafito (Jankowska-Śliwińska et al., 2017).

No obstante, esta relación no permite descartar completamente la participación de fenómenos superficiales. Gonçalves et al., (2010), demostraron que la oxidación de adenina en grafito pirolítico de plano de borde puede presentar contribuciones simultáneas de difusión y adsorción, además de cambios en la superficie relacionados con la formación de productos poliméricos. Por ello, en el sistema utilizado en este trabajo, el comportamiento se interpreta como predominantemente difusional dentro del intervalo estudiado.

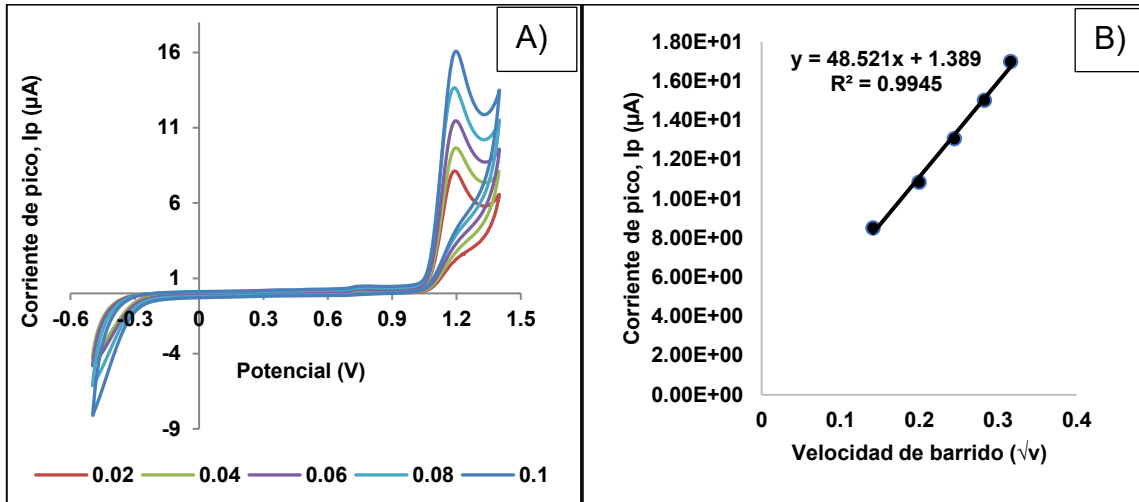


Figura 7. A) Voltamperogramas cíclicos de adenina 0.0667 mM obtenidos a velocidades de barrido de 0.02 a 0.10 V/s-1, en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M, pH 4.5, con NaCl como electrolito soporte. B) Relación entre la corriente de pico anódico (I_p) y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido $\sqrt{v}$.

4.1.2 Guanina

Un comportamiento análogo se observó para la guanina en la Figura 8, evaluada a una concentración de 0.0596 mM en las mismas condiciones experimentales. El aumento proporcional de la corriente pico con la velocidad de barrido, junto con la linealidad en la gráfica de I_p vs $\sqrt{v}$, confirma que la oxidación de la guanina también se encuentra gobernada por difusión.

La guanina presentó un comportamiento semejante al de la adenina. Como se muestra en la Figura 8A, la corriente del pico anódico aumentó al incrementar la velocidad de barrido. La relación aproximadamente lineal entre I_p y $\sqrt{v}$ indica que, en las condiciones utilizadas, el transporte de guanina desde el seno de la solución hasta la superficie del electrodo tuvo una participación predominante en la respuesta voltamperométrica.

Este resultado es congruente con la influencia que ejercen el material del electrodo y el estado de su superficie sobre la oxidación de las purinas. Jankowska-Śliwińska et al., (2017), mostraron que la magnitud de la corriente y el potencial de oxidación de adenina y guanina varían entre electrodos de carbono, grafito y oro. Asimismo, Liska et al., (2019), señalaron que también influye el potencial de oxidación de las condiciones experimentales en las cuales se trabaje a guanina.

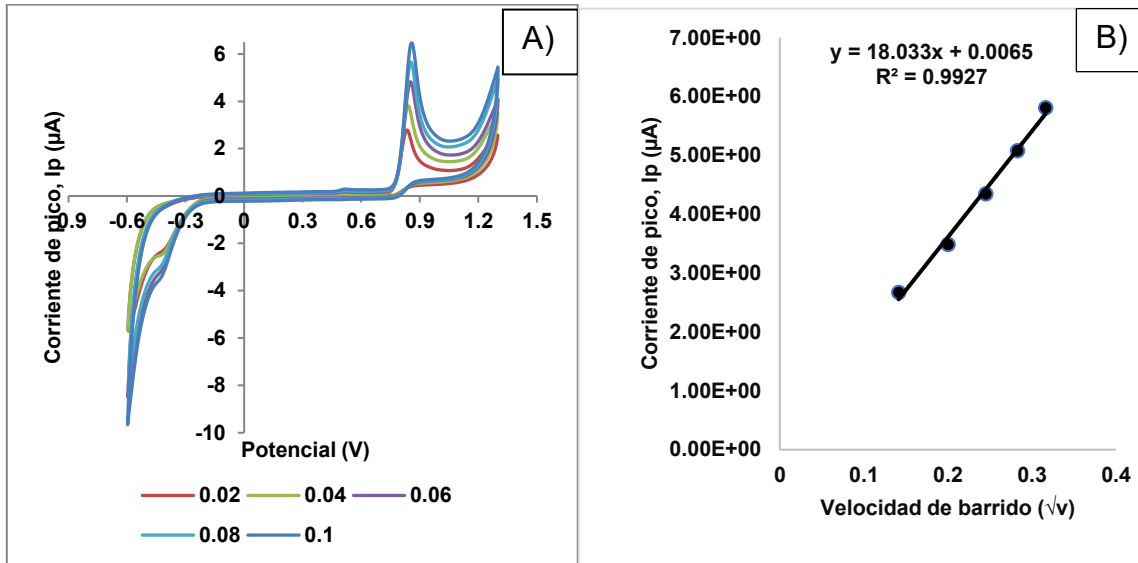


Figura 8. A) Voltamperogramas cíclicos de guanina 0.0596 mM obtenidos a velocidades de barrido de 0.02 a 0.10 V/s-1, en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M, pH 4.5, con NaCl como electrolito soporte. B) Relación entre la corriente de pico anódico (I_p) y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($\sqrt{v}$).

Las diferencias observadas pueden atribuirse a factores experimentales como la naturaleza del electrodo y las condiciones del medio. En particular, el pH desempeña un papel importante en el comportamiento electroquímico de las purinas, debido a que la transferencia electrónica está acoplada a procesos de protonación. Estudios realizados en condiciones cercanas al pH fisiológico (7.0–7.4) han mostrado que la menor protonación de las bases favorece interacciones π – π y procesos de adsorción sobre superficies carbonosas o nanomodificadas (Ensafi et al., 2013). En contraste, el medio ácido empleado en este estudio (pH 4.5) modifica el estado de protonación de las purinas, lo que podría disminuir su afinidad por la superficie del electrodo y favorecer un mecanismo gobernado por difusión (He et al., 2018).

En el electrodo de pasta de carbono se registraron picos anódicos alrededor de +0.80 V para guanina y +1.20 V para adenina. La oxidación de la guanina a un potencial menos positivo indica que requiere una menor energía electroquímica que la adenina en las condiciones evaluadas. Este orden de oxidación concuerda con el comportamiento general de las bases púricas sobre superficies carbonosas (Jankowska-Śliwińska et al., 2017; Liska et al., 2019).

Los potenciales obtenidos son cercanos a los intervalos de 0.67–0.88 V para guanina y 0.98–1.00 V para adenina reportados por Jankowska-Śliwińska et al., (2017). La diferencia más evidente se encontró en la adenina, cuyo pico apareció desplazado hacia valores más positivos. Esta variación se relaciona con diferencias en la composición de la pasta, el área y estado de la superficie, el electrodo de referencia, el pH y el electrolito empleado. En consecuencia, la comparación de potenciales entre estudios debe realizarse considerando el conjunto de condiciones experimentales y no únicamente el material del electrodo.

La influencia del material y de la modificación superficial del electrodo sobre los potenciales de oxidación ha sido un campo de estudio. Pruneanu et al., (2014), demostraron que la oxidación de adenina puede desplazarse aproximadamente 100 mV al emplear electrodos de oro modificados con grafeno, favoreciendo la transferencia electrónica. Asimismo, Gonçalves et al., (2010), señalaron que, en electrodos de grafito pirolítico de borde, la formación de películas poliméricas adsorbidas afecta tanto la resolución como la intensidad del pico de oxidación de adenina.

Los electrodos modificados disminuyen el sobrepotencial y aumentan la corriente mediante una mayor área electroactiva, sitios de adsorción o una transferencia electrónica más favorable. D. Li et al., (2017), por su parte, obtuvieron señales definidas con un electrodo de carbón vítreo modificado con óxido de grafeno reducido aminado. Otros materiales, como nanotubos de carbono con NiFe_2O_4 y óxido de grafeno reducido con nanoclústeres de AuPt, también han permitido incrementar la sensibilidad para la determinación simultánea de las purinas (Ensafi et al., 2013; Mao et al., 2021).

No obstante, a pesar de no emplear un electrodo modificado, el sistema desarrollado en este estudio permitió obtener señales bien definidas y reproducibles, evidenciando que un electrodo de pasta carbono-grafito puede constituir una plataforma analítica adecuada para la caracterización electroquímica de adenina y guanina, en el apartado 4.3 se retoma el tema.

4.1.3 Metronidazol

En la Figura 9A, se presenta el comportamiento voltamperométrico del metronidazol (0.531 mM) en un intervalo de velocidades de barrido de 0.05 a $0.50 \text{ V} \cdot \text{s}^{-1}$, utilizando buffer fosfato a pH 7.5 y NaCl 0.1 M como electrolito soporte. Se observa un potencial de pico catódico de -1.39 V , correspondiente a la reducción del metronidazol, cuya intensidad aumenta sistemáticamente al incrementar la

velocidad de barrido. Este comportamiento es característico de la reducción electroquímica del grupo nitro ($-\text{NO}_2$) presente en los nitroimidazoles, proceso que en medios acuosos neutros o ligeramente básicos suele ser mayormente irreversible y acoplado a reacciones químicas posteriores (Nikodimos & Amare, 2016).

La Figura 9A presenta los voltamperogramas cíclicos del metronidazol (0.531 mM) obtenidos con un electrodo de pasta de carbono sin modificar en solución amortiguadora de fosfatos a pH 7.5 y NaCl como electrolito soporte. Al incrementar la velocidad de barrido, aumenta la magnitud de la corriente catódica, lo que evidencia una dependencia de la respuesta electroquímica con la escala del experimento. La señal de reducción puede atribuirse al grupo nitro del metronidazol, de acuerdo con antecedentes electroquímicos de este compuesto. En medio acuoso se ha descrito su transformación global hacia un derivado hidroxilamina mediante la participación de cuatro electrones y cuatro protones (Tocher & Edwards, 1992).

La Figura 9B muestra una relación lineal entre la corriente pico y la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($I_p \propto \sqrt{v}$). $I_p = 47.805v^{1/2} - 1.2238$ $R^2 = 0.9937$.

donde I_p se expresa en μA y $v = V_s - 1 \text{ V s}^{-1}$. El signo negativo de la pendiente refleja la convención utilizada para las corrientes de reducción; por tanto, el incremento de la respuesta debe describirse como un aumento de I_p . Esta dependencia es compatible con una contribución predominante del transporte difusional en el intervalo estudiado: a velocidades de barrido mayores, el menor tiempo disponible para la difusión favorece gradientes de concentración más pronunciados en las proximidades del electrodo y, en consecuencia, corrientes de mayor magnitud.

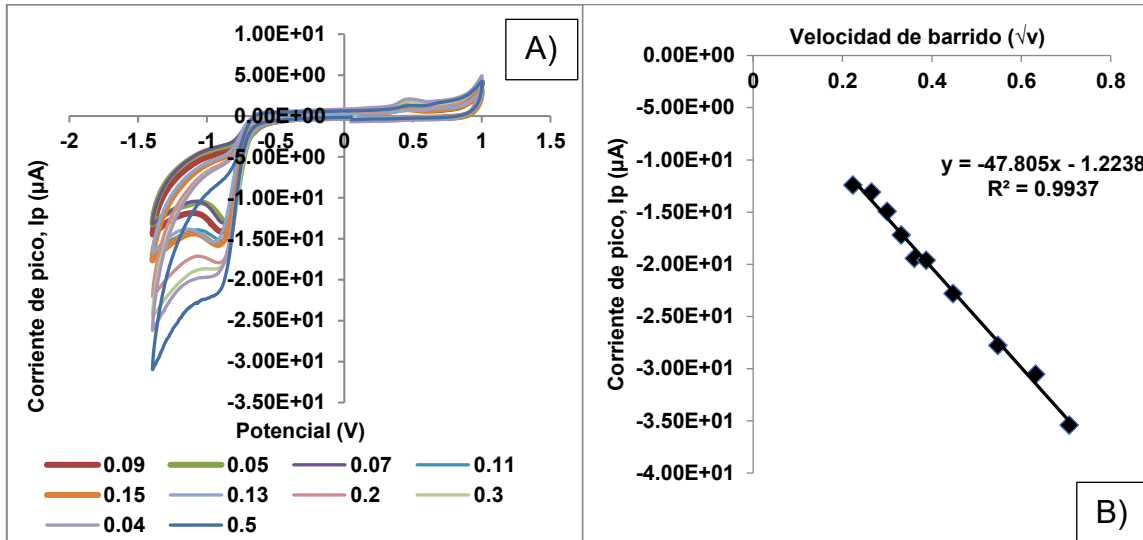


Figura 9. A) Voltamperogramas del metronidazol (0.531 mM) obtenidos mediante voltamperometría cíclica en un intervalo de velocidades de barrido de 0.05 a 0.50 V·s⁻¹, en presencia de NaCl 0.1 M y buffer fosfato a pH 7.5. B) Se observa un aumento progresivo de la corriente pico hacia la reducción conforme se incrementa la velocidad, así como una relación lineal entre Ip y $\sqrt{v}$, lo que indica que el proceso redox está controlado por difusión en las condiciones experimentales establecidas.

La ausencia de un pico anódico se atribuye a la reoxidación del producto de reducción, junto con el desplazamiento descrito del potencial de pico hacia valores más negativos al aumentar la velocidad de barrido, es compatible con una respuesta aparentemente irreversible en la escala de la Figura 9.

El predominio difusional sugerido por los presentes resultados tampoco debe atribuirse únicamente a la ausencia de modificadores en el electrodo Nikodimos & Amare, (2016) encontraron una respuesta predominantemente adsorptiva sobre pasta de carbono, mientras que Anju et al., (2025) describieron contribuciones tanto de difusión como de adsorción en un electrodo modificado con quitosano y nanopartículas de plata. Estas diferencias indican que el comportamiento depende de la combinación de superficie, composición del medio y condiciones de medición.

Desde una perspectiva farmacológica, la reducción electroquímica observada reproduce in vitro la etapa inicial de activación anaerobia del metronidazol, en la que el grupo nitro es reducido a especies radicalarias reactivas capaces de

interactuar con biomoléculas como el ADN (J. Tocher & Edwards, 1992; J. H. Tocher & Edwards, 1994).

4.1.4 Efecto del pH sobre la reducción del metronidazol

La Figura 10A presenta los voltamperogramas de pulso diferencial del metronidazol (0.292 mM) registrados en soluciones de fosfato 0.1 M a diferentes valores de pH. La respuesta muestra cambios tanto en el potencial como en la magnitud de la corriente del pico catódico principal. El desplazamiento hacia potenciales más negativos es evidente al pasar de pH 2.10 a 6.08, mientras que a pH 6.08, 8.00 y 10.00 los potenciales de pico se encuentran relativamente próximos. Esta observación sugiere que la dependencia del potencial con el pH no es uniforme en todo el intervalo estudiado.

El desplazamiento catódico observado es compatible con la participación de protones en la reducción del grupo nitro del metronidazol. Para una reducción que consume protones, la disminución de su actividad puede desplazar la respuesta hacia potenciales más negativos. Nikodimos & Amare, (2016) describieron un comportamiento semejante sobre un electrodo de pasta de carbono: el potencial presentó una dependencia marcada con el pH en medios ácidos y próximos a la neutralidad, mientras que en medio alcalino la dependencia disminuyó. Este antecedente respalda cualitativamente la tendencia de la Figura 10A, aunque las diferencias de técnica y electrolito impiden trasladar directamente sus parámetros al presente sistema.

La Figura 10B muestra un aumento de la magnitud de la corriente de pico catódico al incrementar el pH, con valores aproximados de $-9\ \mu\text{A}$ a pH 2.10 y $-22\ \mu\text{A}$ a pH 10.00 aproximadamente. El incremento es pequeño entre pH 4.16 y 6.08 y más pronunciado hacia condiciones alcalinas. Por tanto, dentro del intervalo evaluado, pH 10.00 proporciona la mayor respuesta de corriente. La-Scalea et al., (1999) observaron un incremento no lineal de la corriente de pico del metronidazol al aumentar el pH mediante polarografía de pulso diferencial. Por su parte, Materón et al., (2021), utilizando electrodos serigrafiados modificados con C_{60} , óxido de grafeno reducido y Nafion, encontraron un aumento de la respuesta hasta aproximadamente pH 7, seguido de una estabilización.

Entonces, ¿por qué se decidió trabajar con pH 7.5 y no con pH 10? Aunque la mayor magnitud de corriente se obtuvo a pH 10.00, se seleccionó pH 7.5 para los experimentos posteriores con el propósito de estudiar el comportamiento del metronidazol y su interacción con ADN en un medio neutro. La elección priorizó las

condiciones del estudio de interacción sobre la maximización de la respuesta voltamperométrica. Asimismo, este pH resulta adecuado para el empleo del sistema amortiguador de fosfatos.

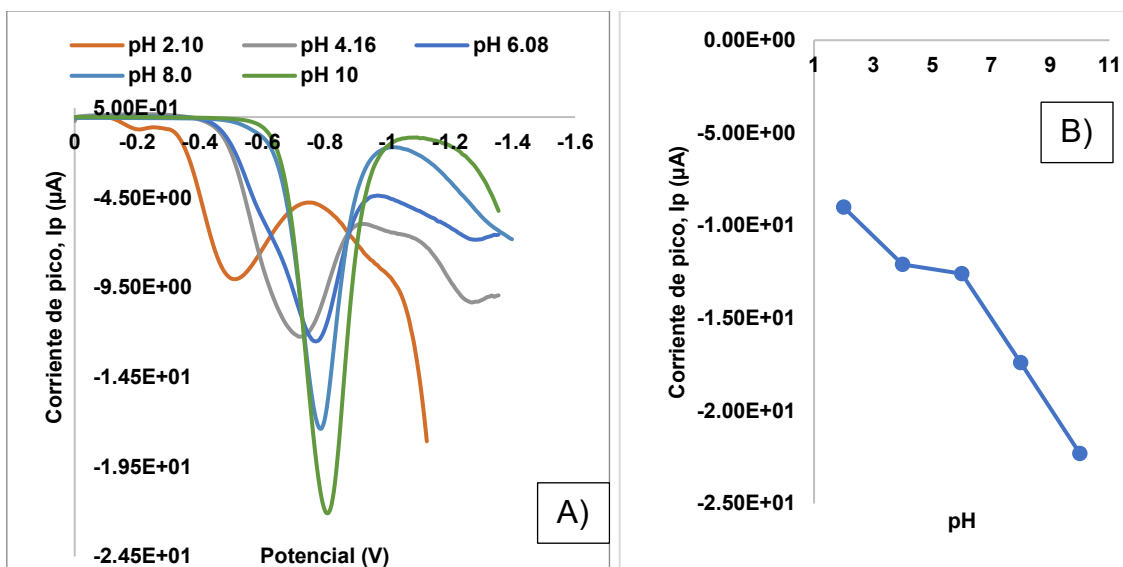


Figura 10. A) Voltamperogramas de pulso diferencial del metronidazol (0.292 mM) registrados en soluciones de fosfato a pH 2.10, 4.16, 6.08, 8.00 y 10.00. (B) Variación de la corriente de pico catódico entre Ip y con el pH.

En todos los casos se observó una señal de reducción, con una variación tanto en la intensidad de la corriente de pico como en el potencial de pico. A medida que el pH aumentó, el potencial de reducción se desplazó hacia valores más negativos, lo que es característico de procesos electroquímicos que involucran transferencia de protones. Esto sugiere que la reducción del grupo nitro del metronidazol está acoplada a la protonación, y por tanto es sensible al pH del medio. Este comportamiento coincide con lo reportado por Bushra Rafique et al., (2022), quienes destacaron que el desplazamiento del potencial de pico del metronidazol en función del pH refleja una participación de protones en el proceso de reducción, especialmente en medios neutros y ligeramente ácidos. En su estudio, se enfatizó que la elección del tampón y su concentración son factores de importancia para lograr una señal voltamperométrica estable y reproducible.

4.2 ADN de testículo de salmón desnaturalizado

En la Figura 11A se presenta el comportamiento voltamperométrico del ADN (57.14 μg/mL), en solución, evaluado a distintas velocidades de barrido. Se observa una única señal anódica bien definida cuya intensidad aumenta progresivamente con el

incremento de la velocidad. Esta señal puede atribuirse principalmente a la oxidación de guanina, ya que es la base nitrogenada con menor potencial de oxidación dentro de las purinas, lo que la convierte en el sitio electroquímicamente más activo del ADN en electrodos de pasta de carbono, en matrices de ADN, la señal de guanina suele dominar la respuesta voltamperométrica debido a su mayor facilidad de oxidación en comparación con adenina (Liska et al., 2019).

En cuanto al estudio de velocidad (Figura 11B), la gráfica de la corriente pico (I_p) en función de la raíz cuadrada de la velocidad de barrido ($\sqrt{v}$) muestra una relación lineal con $R^2 = 0.9925$. Esta dependencia ($I_p \propto \sqrt{v}$) es característica de procesos controlados por difusión, en concordancia con el modelo descrito por la ecuación de Randles–Ševčík para sistemas irreversibles. En las condiciones empleadas (0.1 M NaCl y solución amortiguadora a pH 4.5), el transporte de masa desde la solución hacia la superficie del electrodo constituye la etapa limitante del proceso, lo que demuestra que la adsorción del ADN no domina la respuesta electroquímica en el intervalo de velocidades evaluado (Asrat et al., 2021).

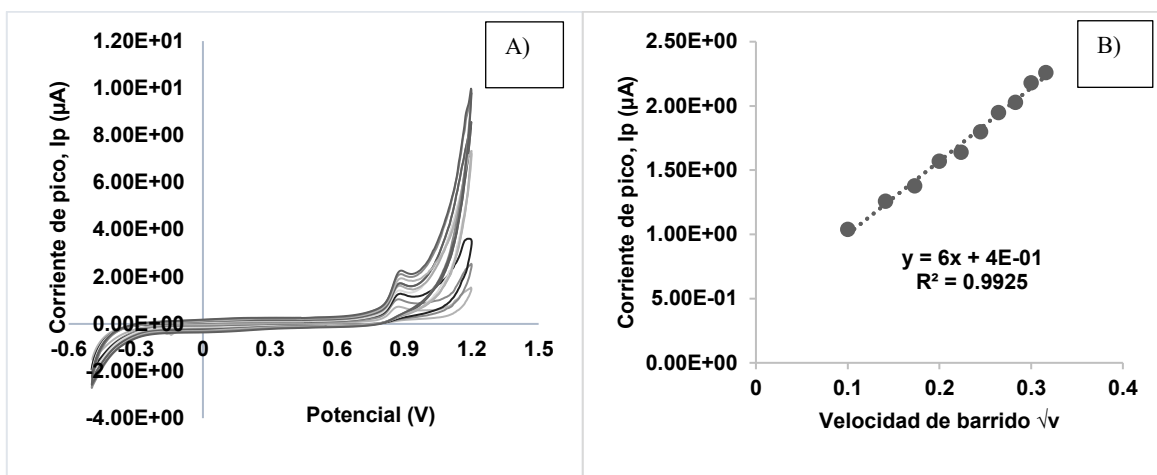


Figura 11. A) Voltamperogramas del ADNd (57.14 µg/mL) obtenidos a diferentes velocidades de barrido. B) Relación entre la corriente de pico y la velocidad de barrido para el ADNd, en el intervalo de 0.02 a 0.1 V/s, en presencia de NaCl 0.1 M y solución amortiguadora de acetatos 0.1 M, pH 4.5.

Cabe destacar que la limitada diferenciación de señales entre adenina y guanina en el ADN evaluado por voltamperometría cíclica no solo responde a la concentración del analito, sino también a las limitaciones de la técnica. Aunque la voltamperometría cíclica permite obtener información semicuantitativa basada en la relación entre la corriente de pico y la concentración, su capacidad de resolución es inferior en comparación con técnicas de pulso, en sistemas como el ADN. En este

contexto, la superposición de señales, el incremento de la corriente capacitiva a potenciales elevados y la menor sensibilidad contribuyen a que la señal de adenina quede parcialmente enmascarada, dificultando su identificación individual. Por esta razón, técnicas como la voltamperometría diferencial de pulso o de onda cuadrada han sido preferidas para la cuantificación y detección simultánea de bases nitrogenadas en matrices biológicas, debido a su mayor sensibilidad y capacidad de discriminación de picos (Szczepaniak & Ligaj, 2024).

4.3 Evaluación de parámetros analíticos básicos

Para caracterizar el desempeño analítico del procedimiento se evaluaron la linealidad, la repetibilidad y los límites de detección y cuantificación.

No se evaluaron parámetros como exactitud, especificidad, robustez o precisión intermedia; por tanto, los resultados se limitan a describir el desempeño del procedimiento en las condiciones estudiadas.

4.3.1 Linealidad de adenina

En la Figura 12A se muestran los voltamperogramas representativos de adenina obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP), mientras que en la Figura 12B se presenta la curva de calibración construida en el intervalo de 0.00296 a 0.0148 mM. Se observó una relación lineal entre la corriente de pico y la concentración, con un coeficiente de determinación de 0.9985, que cumple con el criterio de aceptación establecido por la FEUM ($r^2 \geq 0.98$). El modelo de regresión lineal fue ($y = 136.55x + 0.133$) donde y representa la corriente de pico en μA y x la concentración de adenina en mM. El límite de detección (LOD) fue de 0.000685 mM y el límite de cuantificación (LOQ) de 0.00208 mM, calculados mediante las expresiones respectivamente $LOD = 3.3\sigma/m$ y $LOQ = 10\sigma/m$ (International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceutical for human use, 2005; International Council For Harmonisation of technical requeriments for pharmaceuticals for human use, 2023; Secretaría de Salud, 2018).

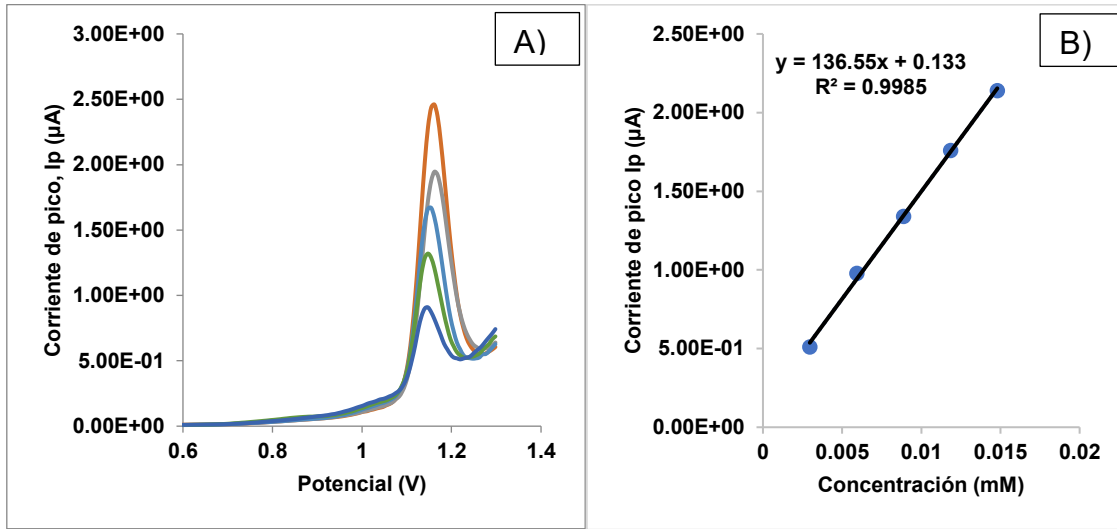


Figura 12. A) Voltamperogramas de adenina obtenidos mediante VDP. B) Curva de calibración entre 0.00296 y 0.0148 mM.

4.3.2 Precisión de adenina

En la Figura 13, se muestra la respuesta voltamperométrica de adenina a 0.00592, 0.00888 y 0.0148 mM. La Tabla 4 presenta la corriente de pico media, la desviación estándar y el coeficiente de variación (CV) de cada nivel. Se observa repetibilidad en las señales de corriente pico, lo que confirma la precisión del método.

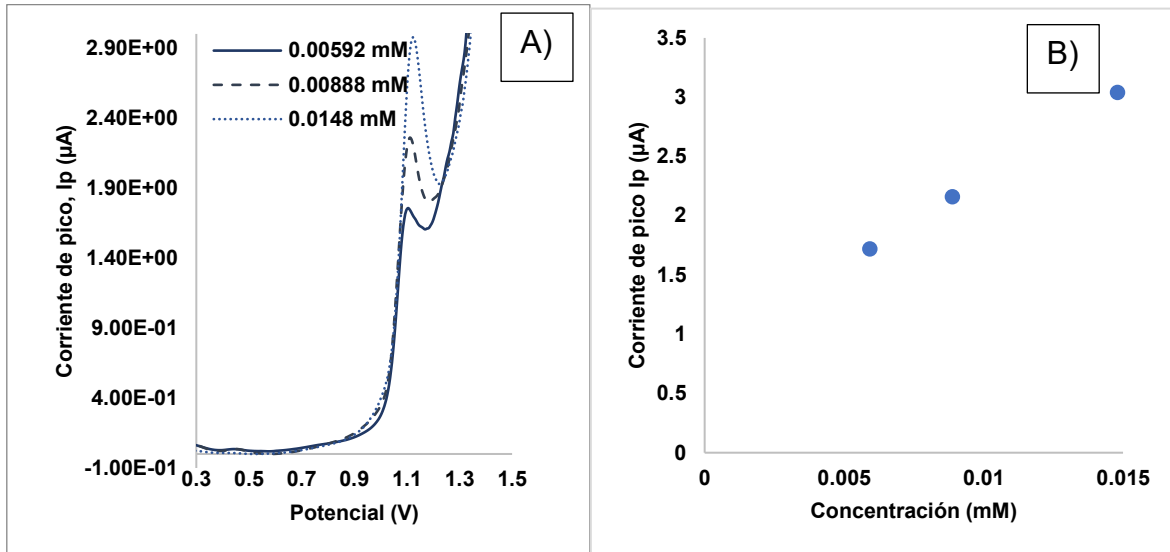


Figura 13. A) Voltamperogramas representativos de adenina, obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). B) Correlación entre las concentraciones de adenina.

Tabla 4. Precisión de adenina a 0.00592, 0.00888 y 0.0148 mM; se presentan la corriente de pico media, la desviación estándar (SD) y el coeficiente de variación (CV) de seis repeticiones.

Analito	Concentración (mM)	Media Ip (µA)	SD	%CV
Adenina	0.00592	1.72	0.0511	2.97
Adenina	0.00888	2.16	0.0583	2.70
Adenina	0.0148	3.04	7.05e-2	2.32

En las condiciones evaluadas, la adenina presentó coeficientes de variación menores de 5 %, lo que evidencia repetibilidad adecuada.

4.3.3 Linealidad de guanina

En la Figura 14A se muestran los voltamperogramas representativos de guanina obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP), mientras que en la Figura 14B se presenta la curva de calibración construida en el intervalo de

0.00265 a 0.0132 mM. Se observó una relación lineal entre la corriente de pico y la concentración, con un coeficiente de determinación de r^2 0.9968. El modelo de regresión lineal fue ($y = 129.24x - 6 \times 10^{-5}$), donde y representa la corriente de pico en μA y x la concentración de guanina en mM. El límite de detección (LOD) fue de 0.000921 mM y el límite de cuantificación (LOQ) de 0.00279 mM, calculados como $3.3\sigma/m$ y $10\sigma/m$, respectivamente.

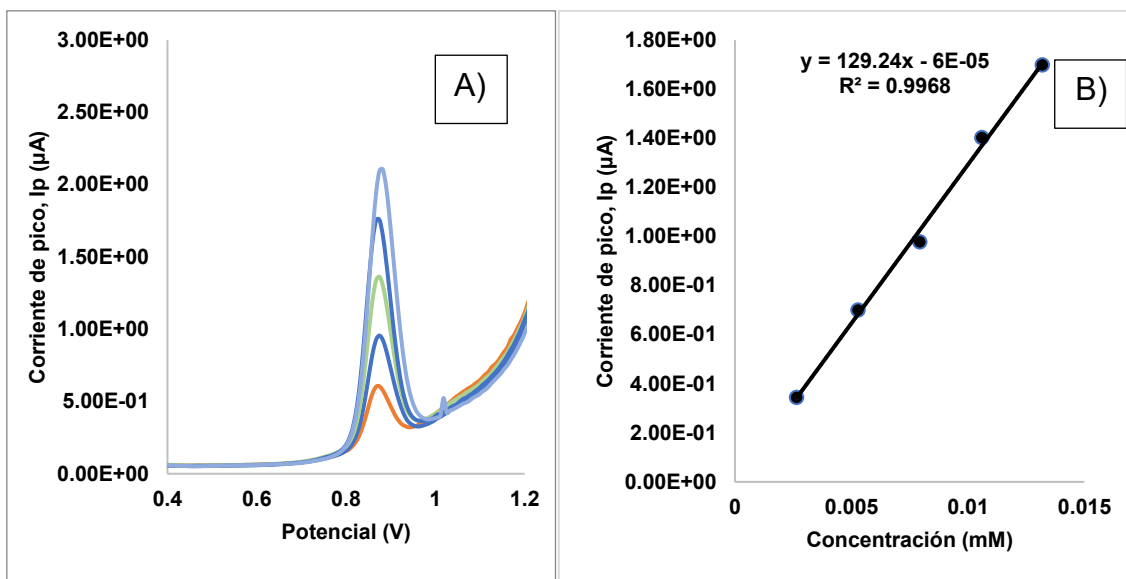


Figura 14. A) Voltamperogramas representativos de guanina obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). B) Curva de calibración de guanina en el intervalo de concentración de 0.00265 a 0.0132 mM.

4.3.4 Precisión de guanina

En la Figura 15A se muestra la respuesta voltamperométrica de la guanina en tres niveles de concentración: 0.00529, 0.00794 y 0.0132 mM. 15B se muestran las 3 concentraciones en correlación. La Tabla 5 presenta la media de la corriente de pico, la desviación estándar y el coeficiente de variación (CV) correspondiente a cada nivel.

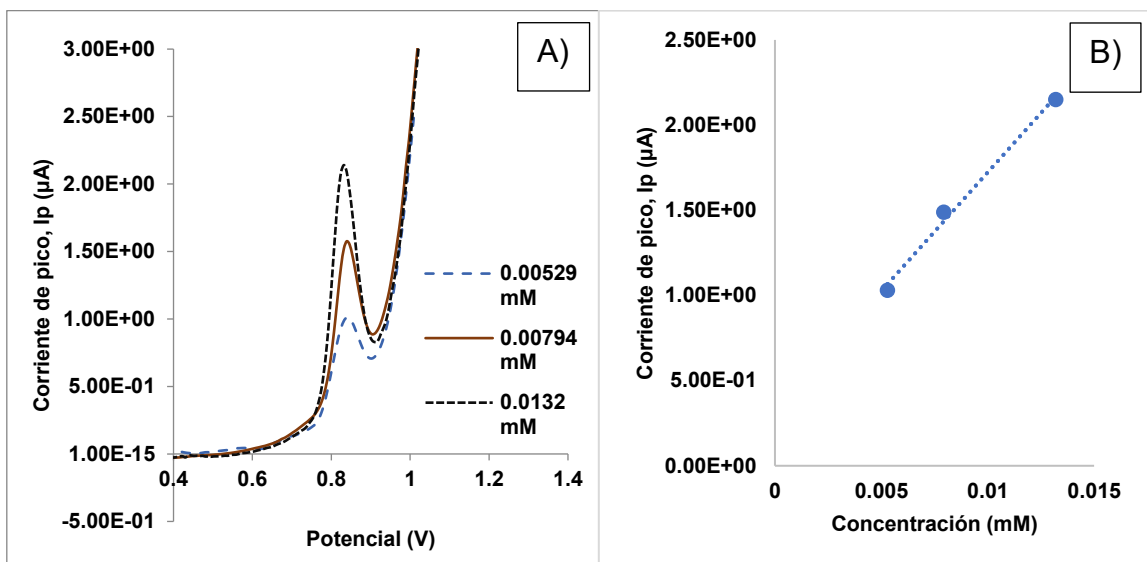


Figura 15. A) Voltamperogramas representativos de la precisión de guanina, obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). B) Correlación entre las concentraciones de guanina.

Tabla 5. Resultados de precisión para guanina a tres concentraciones (0.00529, 0.00794 y 0.0132 mM), expresados como promedio de corriente pico, desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV) para seis repeticiones independientes.

Analito	Concentración (mM)	Media Ip (μA)	SD (μA)	CV (%)
Guanina	0.00529	1.02	0.00816	0.80
Guanina	0.00794	1.53	0.0372	2.44
Guanina	0.0132	2.15	0.0524	2.44

En las condiciones evaluadas, la guanina presentó coeficientes de variación menores de 5%, lo que evidencia repetibilidad adecuada.

4.3.5 Linealidad de metronidazol

En la Figura 16A se presentan los resultados de linealidad del metronidazol. 16B La curva de calibración se construyó en el intervalo de 0.0584 a 0.2921 mM y mostró una relación lineal entre la corriente de pico de reducción y la concentración, con un coeficiente de determinación de ($r^2 = 0.9976$). El modelo de regresión lineal fue $y = -45.893x - 2.57$, donde y representa la corriente de pico en μA y x la concentración del metronidazol en mM. La corriente de pico de reducción presentó una relación lineal con la concentración con un coeficiente de determinación. El límite de detección (LOD) fue de 0.01737 mM y el límite de cuantificación (LOQ) fue de 0.05264 mM. calculados como $3.3\sigma/m$ y $10\sigma/m$, respectivamente.

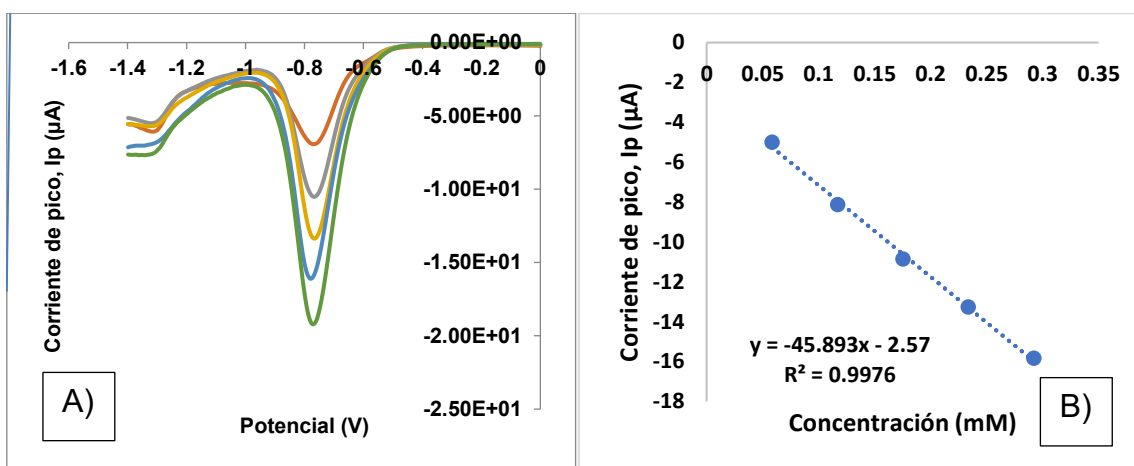


Figura 16. A) Voltamperogramas representativos de metronidazol mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP), utilizando concentraciones de 0.0584-0.2921 mM en un potencial abierto de hasta -1.4 V. B) Curva de calibración de metronidazol en el intervalo 0.0584-0.2921 mM.

4.3.6 Precisión de metronidazol

En la Figura 17, se muestra la respuesta voltamperométrica de metronidazol a tres concentraciones distintas: 0.1168 mM, 0.1753 mM y 0.2337 mM. En la Tabla 6, se presentan los valores promedio de corriente pico, desviación estándar y coeficiente de variación (CV) para cada concentración de metronidazol.

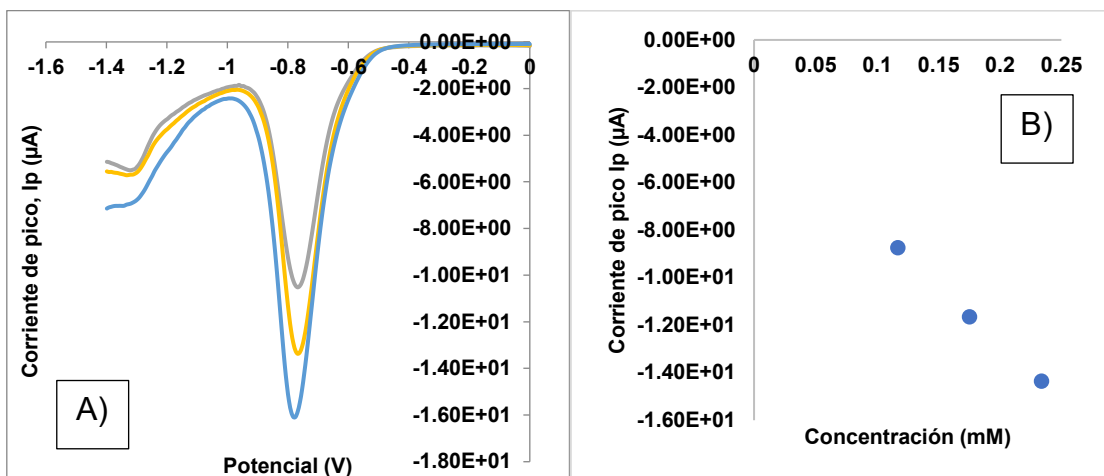


Figura 17. A) Voltamperogramas representativos de la precisión de metronidazol, obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso (VDP). B) Correlación entre las concentraciones de metronidazol.

Tabla 6. Resultados de precisión para metronidazol a tres concentraciones (0.1168, 0.1753, 0.2337 mM), expresados como promedio de corriente pico, desviación estándar (SD) y coeficiente de variación (CV) para seis repeticiones independientes.

Analito	Concentración (mM)	Media Ip (μA)	SD (μA)	CV (%)
Metronidazol	0.1168	-10.5	0.2	1.90
Metronidazol	0.1753	-13.5	0.3	2.22
Metronidazol	0.2337	-16.2	0.3	1.85

Con esto, se confirma que metronidazol cumple con los criterios de aceptación de la FEUM y la ICH, obteniendo un coeficiente de variación menor al 5 %.

Ahora bien, ¿para qué sirve evaluar parámetros básicos analíticos? La evaluación de la respuesta de calibración, la repetibilidad y los límites de detección y cuantificación se realizó para caracterizar el desempeño del procedimiento voltamperométrico en las condiciones experimentales seleccionadas. Estos parámetros permiten examinar la dependencia de la corriente de pico con la concentración, estimar la dispersión de las mediciones repetidas y establecer límites

inferiores preliminares de detección y cuantificación. Su evaluación aporta evidencia sobre el alcance de los resultados, aunque no constituye una validación completa. De acuerdo con ICH Q2(R2), la validación debe demostrar la aptitud del procedimiento para su finalidad prevista mediante características de desempeño y criterios previamente establecidos. En la tabla 7, se observa el resumen de los parámetros evaluados omitiendo los datos de precisión.

Tabla 7. Intervalos de calibración y límites estimados de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) de adenina, guanina y metronidazol mediante voltamperometría diferencial de pulso.

Analito	Intervalo de calibración (μM)	LOD estimado (μM)	LOQ estimado (μM)
Adenina	2.96–14.8	0.685	2.08
Guanina	2.65–13.2	0.921	2.79
Metronidazol	58.4–292.1	17.37	52.64

4.3.7 Comparación entre estudios

Tabla 8. Comparación de los límites de detección y cuantificación obtenidos para adenina, guanina y metronidazol mediante métodos electroquímicos.

Analito	Estudio	Técnica y electrodo	Intervalo lineal	LOD	LOQ
Adenina	Este estudio	VDP; pasta de carbono-grafito sin modificar	2.96–14.8 μM	0.6845 μM	2.0758 μM
Adenina	Jankowska-Śliwińska et al., 2017	Electrodo de pasta de oro	NR	0.74 μM	2.24 μM
Adenina	Li et al., 2017	VDP; NF/CHT-ARG/GCE	0.2–110 μM	0.20 μM	0.71 μM
Adenina	He et al., 2018	VDP; poli(glicina)/GO/GCE	0.090–103 μM	0.030 μM	0.091 μM
Adenina	Mao et al., 2021	VOQ; AuPtNC-rGO	1–200 μM	0.100 μM	0.303 μM
Guanina	Este estudio	VDP; pasta de carbono-grafito sin modificar	2.65–13.2 μM	0.9211 μM	2.7923 μM

Guanina	Jankowska-Śliwińska et al., 2017	Electrodo de pasta de oro	NR	1.3 y 2.6 μM para dos picos	3.94 y 7.88 μM
Guanina	Li et al., 2017	VDP; NF/CHT-ARG/GCE	0.1–120 μM	0.10 μM	0.33 μM
Guanina	He et al., 2018	VDP; poli(glicina)/GO/GCE	0.15–48 μM	0.026 μM	0.079 μM
Guanina	Mao et al., 2021	VOQ; AuPtNC-rGO	1–200 μM	0.060 μM	0.198 μM
Metronidazol	Este estudio	VDP; pasta de carbono-grafito sin modificar	292–1460 μM	86.8548 μM	263.1966 μM
Metronidazol	Nikodimos y Amare, 2016	VOQ; pasta de carbono sin modificar y acumulación de 25 s	1–500 μM	0.297 μM	0.991 μM
Metronidazol	Materón et al., 2021	VOQ; C ₆₀ -rGO-Nafion/SPE	0.25–34 μM	0.21 μM	2.112 μM

Nota y abreviaturas: VDP: voltamperometría diferencial de pulso; VOQ: voltamperometría de onda cuadrada; GCE: electrodo de carbón vítreo; SPE: electrodo serigrafado; GO: óxido de grafeno; rGO: óxido de grafeno reducido; NR: no reportado. Los valores en $\mu\text{g mL}^{-1}$ de la literatura fueron convertidos empleando masas molares de 135.13, 151.13 y 171.15 g mol^{-1} para adenina, guanina y metronidazol, respectivamente.

Los límites de detección obtenidos para adenina y guanina fueron del mismo orden de magnitud que los reportados por Jankowska-Śliwińska et al. (2017) con electrodos de pasta de oro. En particular, el procedimiento desarrollado presentó un LOD ligeramente menor para adenina y guanina, pese a utilizar una pasta de carbono-grafito sin modificar. En contraste, los sensores nanomodificados mostraron límites inferiores debido a la mayor área electroactiva, la presencia de sitios de adsorción y el mejoramiento de la transferencia electrónica proporcionado por materiales como óxido de grafeno, polímeros conductores y nanoclústeres de AuPt (Li et al., 2017; He et al., 2018; Mao et al., 2021).

Para el metronidazol, los valores obtenidos fueron superiores a los reportados por Nikodimos y Amare (2016) y Materón et al. (2021). Esta diferencia puede relacionarse con la técnica empleada, la etapa de acumulación, el intervalo de concentración y la modificación de la superficie electródica. Por tanto, el procedimiento desarrollado resulta apropiado para caracterizar y monitorear el MTZ dentro del intervalo estudiado, pero presenta menor sensibilidad para su determinación a concentraciones traza.

4.4 Comparación de ADN nativo y desnaturalizado

Con el propósito de evaluar el efecto del estado estructural del ADN sobre su respuesta electroquímica, se comparó el comportamiento voltamperométrico del ADN nativo (ADNs) y del ADN desnaturalizado (ADNd) a una misma concentración de 57.14 µg/mL. La desnaturalización produce la separación de las hebras mediante la ruptura de los enlaces de hidrógeno, lo que incrementa la exposición de las bases nitrogenadas (Ensafi et al., 2013). Esta modificación estructural puede aumentar la accesibilidad de los residuos electroactivos a la superficie del electrodo y modificar la intensidad de la respuesta voltamperométrica (Hasoñ et al., 2026; Hassan et al., 2023; Mao et al., 2021).

Las diferencias de respuesta descritas en la Figura 18 son compatibles con cambios en la fracción de residuos electroquímicamente accesibles. La corriente de oxidación depende de que estos residuos puedan aproximarse e interactuar con la superficie del electrodo, de manera que una misma concentración de ADN no necesariamente produce una misma intensidad de señal cuando cambia su organización estructural. En consecuencia, la comparación entre ADNs y ADNd informa sobre su respuesta interfacial. Este planteamiento encuentra respaldo en Hasoñ et al., (2026), quienes observaron diferencias en la intensidad y forma de las señales de oxidación de oligodesoxinucleótidos con el mismo número de residuos de guanina o adenina. Los autores relacionaron esas diferencias con la composición de las secuencias y con la accesibilidad de los centros electroactivos en las moléculas adsorbidas sobre grafito. Aunque ese sistema no reproduce exactamente las condiciones del presente trabajo, demuestra que la corriente de las purinas incorporadas en ADN no depende exclusivamente de su abundancia (Hason).

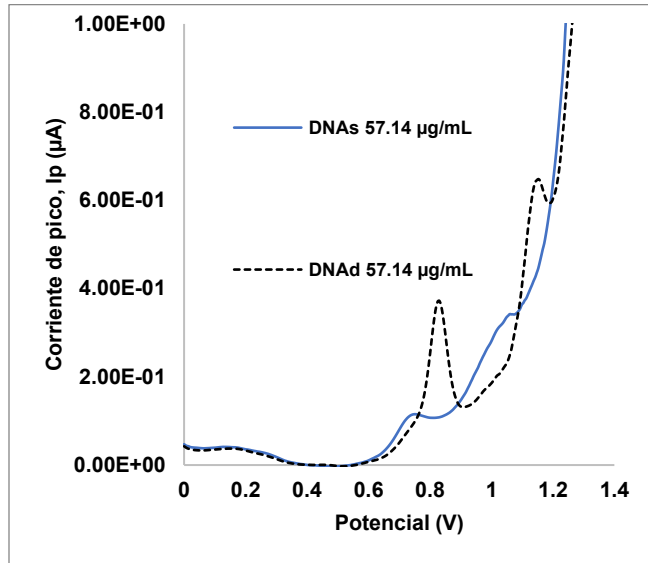


Figura 18. Comparación de la respuesta voltamperométrica del ADN de testículo de salmón en sus formas nativa y desnaturalizada, ambas evaluadas a una concentración de 57.14 $\mu\text{g/mL}$ en solución amortiguadora de acetatos 0.1 M, pH 4.5.

Desde esta perspectiva, una mayor corriente del ADNd, sería compatible con una mayor exposición de las bases y con una disposición interfacial más favorable para su oxidación. Sin embargo, la intensidad también puede estar condicionada por la adsorción, la orientación y la cobertura superficial del ADN.

También debe considerarse el procedimiento utilizado para obtener el ADNd. (Szczepaniak & Ligaj, 2024) mostraron que el tratamiento térmico del ADN puede modificar las señales de guanina y adenina y, en determinadas condiciones de pH, producir señales asociadas con daño oxidativo. En ADN bicatenario nativo, las bases suelen estar poco accesibles al electrodo, y por eso a veces los picos son débiles o incluso no aparecen (Brabec, 1979; Suprun et al., 2021).

Cuando el ADN se desnaturaliza, se adsorbe mejor o se reorganiza sobre la superficie, las señales de guanina y adenina aumentan porque las purinas quedan más expuestas (Brabec, 1979; Önem et al., 2023; H. S. Wang et al., 2001)

La Figura 19 permite examinar la respuesta del ADNd al aumentar su concentración final de 33.33 a 75.00 $\mu\text{g/mL}$ mediante adiciones acumulativas. En este diseño, las corrientes pueden reflejar tanto el incremento de material en solución como la evolución de su interacción con la superficie durante la secuencia de medición. Si se utiliza el mismo electrodo sin renovación entre adiciones, la acumulación superficial o los cambios ocasionados por barridos previos pueden contribuir a la

respuesta. Por tanto, una tendencia creciente debe interpretarse considerando el historial de exposición del electrodo y no únicamente la concentración final de ADN.

Para cada concentración de ADNd se midieron las corrientes de pico (I_p) correspondientes a las señales de oxidación atribuidas a guanina y adenina. Mediante las ecuaciones de sus respectivas curvas de calibración, estas corrientes se transformaron en concentraciones equivalentes de cada nucleobase, cuyos resultados se presentan en la Tabla 9. Estas concentraciones representan estimaciones electroquímicas y no concentraciones de adenina o guanina libres.

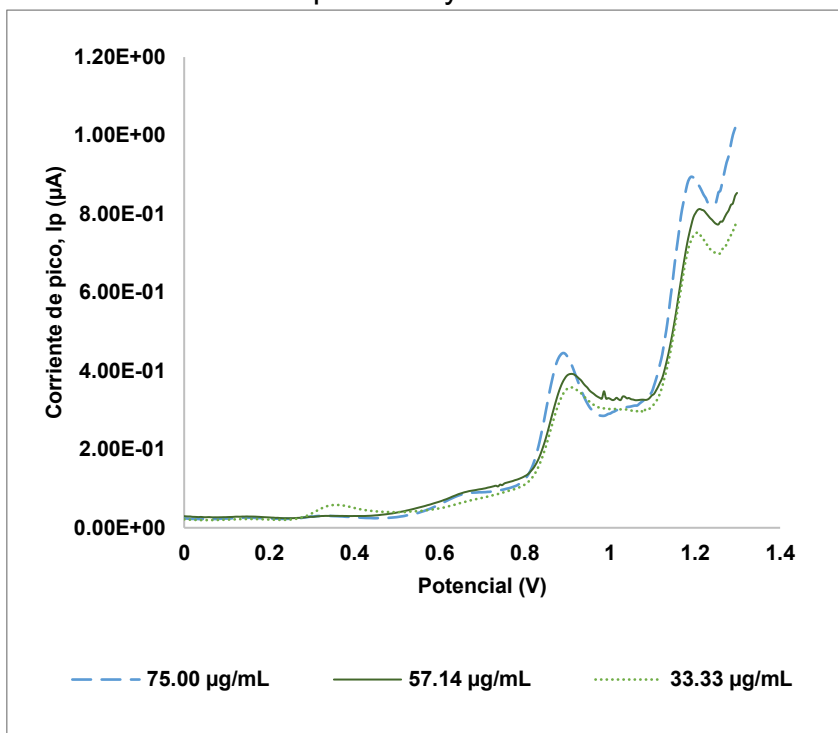


Figura 19. Voltamperogramas obtenidos mediante voltamperometría diferencial de pulso para ADN desnaturalizado (ADNd) a concentraciones finales de 33.33, 57.14 y 75.00 $\mu\text{g/mL}$, preparadas mediante adiciones acumulativas de una solución stock de ADNd de 200 $\mu\text{g/mL}$.

4.4.1 Cuantificación de residuos de adenina y guanina en ADNd mediante VDP

La Tabla 9 presenta las corrientes de pico atribuidas a guanina y adenina durante las adiciones acumulativas de ADNd. Al incrementar la concentración de ADN de 33.33 a 75.00 $\mu\text{g/mL}$, la corriente de guanina aumentó de 0.261 a 0.470 μA , mientras que la de adenina pasó de 0.598 a 0.7621 μA . Estos cambios corresponden a incrementos aproximados de 80.1 % y 27.4 %, respectivamente. Por tanto, ambas señales aumentaron con la concentración de ADNd, aunque con una respuesta

relativa diferente.

Tabla 9. Corrientes de pico y concentraciones equivalentes de residuos de adenina y guanina electroquímicamente accesibles en ADN desnaturalizado.

	Concentración de ADNd (µg/mL)	Ip de guanina (µA)	Concentración equivalente de guanina (mM)	Ip de adenina (µA)	Concentración equivalente de adenina (mM)
ADNd	33.33	0.261	0.00202	0.598	0.00341
	57.14	0.366	0.00283	0.638	0.00370
	75	0.47	0.00364	0.7621	0.00461

4.4.2 Evaluación de las señales de adenina y guanina en ADN de testículo de salmón

La comparación entre ADN nativo y desnaturalizado mostró que el estado del ADN influye en la definición de sus señales anódicas. A partir de este resultado, se realizaron adiciones de guanina y adenina al ADNd para examinar las contribuciones observadas alrededor de +0.89 y +1.20 V, respectivamente, mediante VDP en solución amortiguadora de acetatos a pH 4.5. Estos ensayos permitieron evaluar cómo cambia la respuesta al incorporar nucleobases libres a una matriz que contiene residuos púricos unidos al esqueleto del ADN. Las corrientes resultantes reflejan, por tanto, la contribución de las especies añadidas y la respuesta de los residuos electroquímicamente accesibles del polímero.

4.4.2.1 Adiciones de guanina

En la Figura 20, el ADNd presenta una contribución de baja intensidad alrededor de +0.65 V y dos señales principales próximas a +0.89 y +1.19 V, atribuidas a las regiones de oxidación de guanina y adenina, respectivamente.

Después de añadir guanina, la contribución de menor potencial deja de distinguirse claramente, ambas señales principales aumentan y aparece un hombro alrededor de +1.03 V. Con base en la Tabla 10, la corriente de guanina aumenta de 0.445 a 1.050 µA, mientras que la región de adenina pasa de 0.801 a 1.64 µA, aunque no se incorporó esta última base.

El crecimiento simultáneo de ambas regiones sugiere que la respuesta incluye, además de la guanina añadida, cambios en la accesibilidad electroquímica o en la superposición de las contribuciones del sistema. Hasoñ et al., (2026) observaron diferencias en las señales de oligodesoxinucleótidos con igual contenido de purinas, relacionadas con su secuencia y accesibilidad sobre grafito. Este antecedente

respalda la influencia del entorno molecular y de la disposición interfacial sobre la corriente. La limpieza del electrodo entre mediciones limita, además, la contribución de productos superficiales conservados de barridos anteriores.

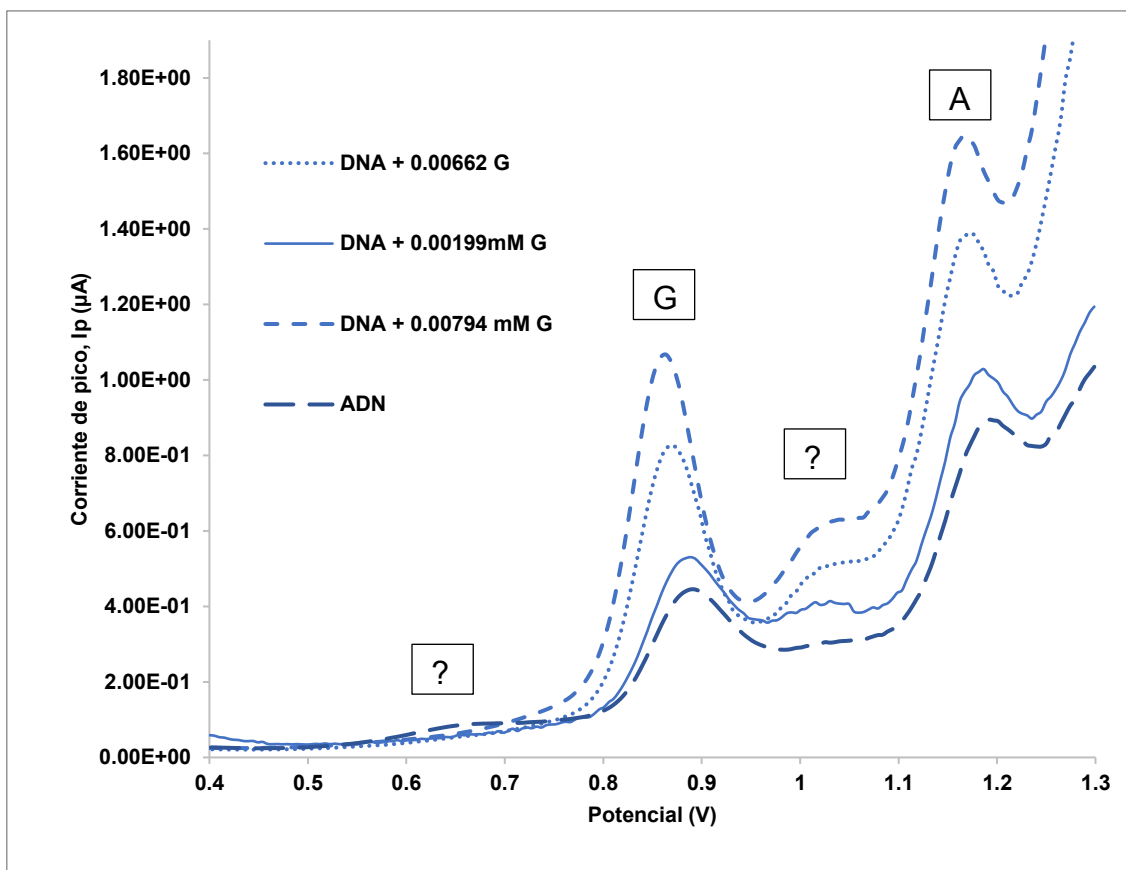


Figura 20. Voltamperogramas del ADN desnaturalizado de testículo de salmón obtenidos después de adiciones acumulativas de guanina hasta alcanzar concentraciones de 0.00199, 0.00463 y 0.00794 mM, mediante VDP.

El hombro alrededor de +1.03 V se encuentra próximo al potencial de oxidación de guanosina descrito por Oliveira-Brett et al., (2002) quienes registraron picos a aproximadamente +0.85 V para guanina y +1.10 V para guanosina, mediante VDP sobre carbono vítreo, en acetatos 0.2 M a pH 4.5, frente a Ag/AgCl (KCl 3 M). Sin embargo, el valor de +1.10 V corresponde a guanosina, que contiene ribosa, y no constituye una referencia específica de 2'-desoxiguanosina. Por ello, la proximidad de potenciales no permite asignar el hombro a desoxiguanosina libre ni demostrar su liberación del ADNd.

La asignación a 8-oxoguanina tampoco está respaldada por esta comparación. (Szczepaniak & Ligaj, (2024) observaron una señal entre +0.60 y +0.80 V, con

máximo próximo a +0.67 V, en un oligonucleótido que contenía 8-oxoguanina, mediante voltamperometría de onda cuadrada sobre pasta de carbono en fosfatos a pH 7.0, frente a Ag/AgCl (KCl 3 M). Esta respuesta aparece a potenciales menos positivos que la guanina no modificada, mientras que el hombro del presente estudio se encuentra después de su señal principal, situada a +0.89 V. Aunque las condiciones experimentales difieren, este orden desfavorece la asignación del hombro a 8-oxoguanina; por tanto, se mantiene como una contribución anódica no identificada.

Tabla 10. Respuesta electroquímica del ADNd después de las adiciones acumulativas de guanina.

Adición	Guanina añadida acumulada (mM)	Ip de guanina a +0.89 V (μ A)	Guanina equivalente (mM)	Ip de la señal adicional a +1.05 V (μ A)	Ip de adenina a +1.20 V (μ A)
Sin adición	0.0000	0.445	0.00344	-	0.801
1	0.00199	0.522	0.00404	1.06	1.01
2	0.00463	0.821	0.00635	1.36	1.38
3	0.00794	1.050	0.00812	1.64	1.64

4.4.2.2 Adenina

En la Figura 21, las adiciones de adenina al sistema ADNd–guanina incrementan la corriente de la señal próxima a +1.20 V de 1.36 a 2.41 μ A, aproximadamente 77 %, respaldando la participación de la adenina añadida en esta región. Paralelamente, entre la primera y la última adición, la corriente atribuida a guanina aumenta de 0.786 a 0.895 μ A con base en la Tabla 11, pese a mantenerse nominalmente constante su concentración. Este comportamiento complementa lo observado en las adiciones de guanina y sugiere que las respuestas de ambas purinas dependen de la composición de la mezcla, posiblemente por cambios en su accesibilidad interfacial o por contribuciones parcialmente superpuestas. Esta interpretación es compatible con las observaciones de Hasoñ et al. (2026) sobre la influencia del entorno molecular en la oxidación de residuos púricos, sin demostrar por sí misma liberación de bases del ADN.

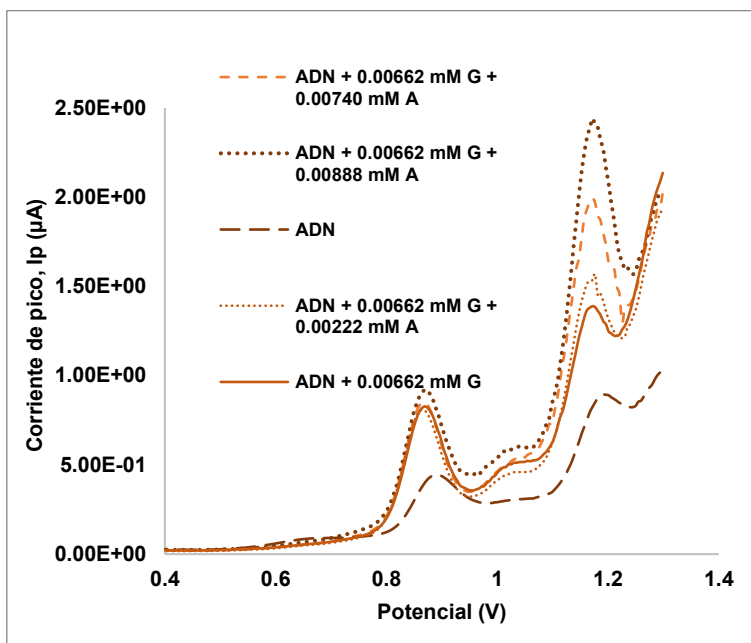


Figura 21. Voltamperogramas obtenidos mediante VDP para ADNd a una concentración de 57.14 $\mu\text{g/mL}$, en presencia de guanina a una concentración constante de 0.00662 mM y después de adiciones acumulativas de adenina hasta alcanzar concentraciones de 0.00222, 0.00740 y 0.00888 mM.

Tabla 11. Respuesta electroquímica del ADNd en presencia de guanina y después de las adiciones acumulativas de adenina.

Condición	Adenina añadida acumulada (mM)	Ip de Adenina a +1.20 V (μA)	Adenina equivalente (mM)	Ip de la señal adicional a +1.05 V (μA)	Ip de Guanina a +0.89 V (μA)
ADN sin adiciones	0.0000	0.891	0.00555	-	0.445
ADNd + 0.00662 mM G	0.000000	1.36	0.00899	-	-
1	0.00222	1.56	0.01045	0.0455	0.786
2	0.00740	2.0	0.01367	0.0592	0.805
3	0.00888	2.41	0.01668	0.0601	0.895

4.5 Microelectrólisis de metronidazol

A partir de la carga total transferida (-5.46 C), se estimó la cantidad de electrones involucrados en el proceso mediante la relación $n = Q/F$, donde F es la constante de Faraday ($96485\text{ C}\cdot\text{mol}^{-1}$). Se observa un incremento progresivo en la magnitud de la carga negativa conforme avanza el tiempo de electrólisis, alcanzando un valor total de -5.46 C al finalizar el experimento.

El cálculo arrojó un valor de $5.66 \times 10^{-5}\text{ mol}$ de electrones, equivalente a $56.6\text{ }\mu\text{mol}$ transferidos durante la microelectrólisis, como se muestra en la Figura 22.

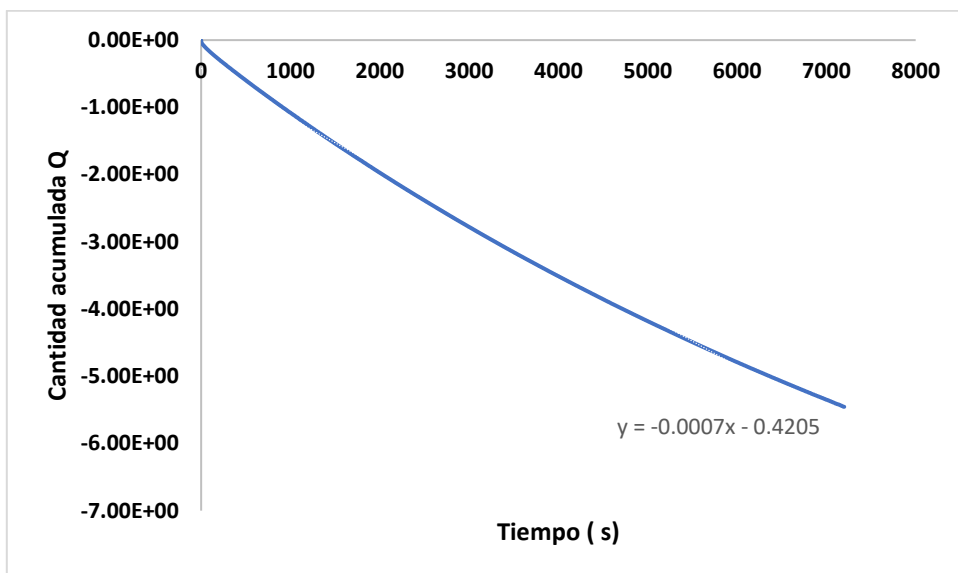


Figura 22. Carga acumulada (Q) en función del tiempo durante la microelectrólisis del metronidazol (1.17 mM) a potencial constante de -1.0 V vs Ag/AgCl durante 7200 s .

4.5.1 VC de microelectrólisis

Con el objetivo de evaluar los cambios electroquímicos inducidos por la microelectrólisis, se registraron los voltamperogramas cíclicos presentados en la Figura 23, correspondientes al metronidazol antes del proceso (0 h) y después de 2 h de electrólisis a potencial constante. También se incluyó el blanco de solución amortiguadora de fosfatos 0.1 M , $\text{pH } 7.5$, para identificar posibles contribuciones del medio.

La disminución del pico catódico después de 2 h de microelectrólisis (Figura 23) es compatible con el consumo parcial del metronidazol durante el tratamiento a -1.0 V . En medio acuoso, J. H. Tocher & Edwards, (1994), describieron la reducción del grupo nitro hacia un derivado hidroxilamina mediante un proceso global de cuatro

electrones. Este antecedente proporciona una explicación para la pérdida de respuesta catódica: la transformación del grupo nitro disminuye la cantidad de metronidazol disponible para experimentar nuevamente esa reducción durante el barrido.

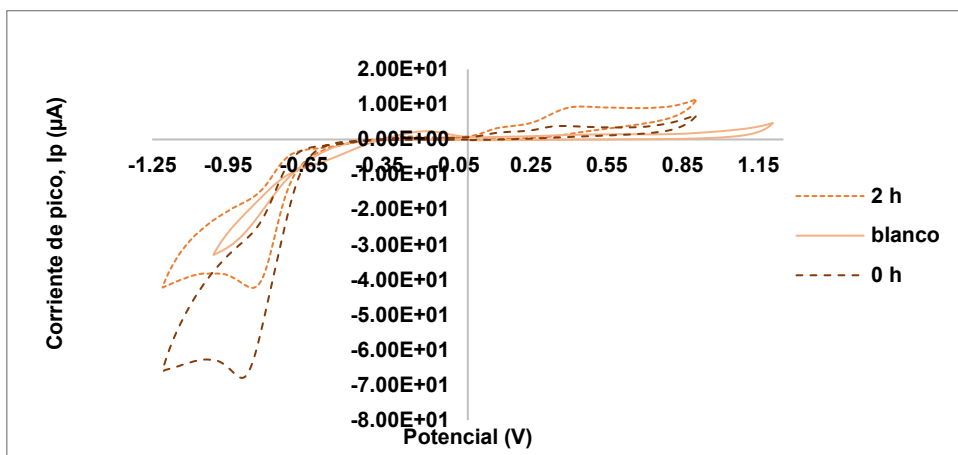


Figura 23. Voltamperogramas cíclicos del blanco (buffer fosfato pH 7.5) y del metronidazol registrados antes de la microelectrólisis (0 h) y después de 2 h de electrólisis, obtenidos con electrodo de pasta de carbono/grafito. El barrido se realizó en la ventana de potencial de -1.3 a $+1.3$ V vs Ag/AgCl.

4.5.2 VDP de microelectrólisis

La Figura 24 presenta los voltamperogramas diferenciales de pulso del metronidazol antes y después de 2 h de microelectrólisis a -1.0 V frente a Ag/AgCl. Después del tratamiento, el pico catódico permanece próximo a -0.74 V, mientras que su corriente disminuye de -37.3 a -26.4 μA . La conservación aproximada del potencial de pico y la disminución de su magnitud son compatibles con la presencia de metronidazol residual y con su transformación parcial durante la microelectrólisis.

La comparación de ambos perfiles permite identificar cambios en la respuesta anódica del sistema y evidenciar la posible formación de nuevas especies electroactivas derivadas del proceso de reducción. Por esto, considerando la corriente pico inicial del metronidazol como el 100% de la señal analítica ($I_{p_0} = -37.3$ μA), después del proceso de reducción electroquímica se observó una disminución de la corriente a $I_{p_f} = -26.4$ μA . A partir de la relación entre ambas señales, se estimó que permaneció aproximadamente el 70.77% del metronidazol inicial, mientras que el 29.22% pudo haberse transformado en productos de reducción.

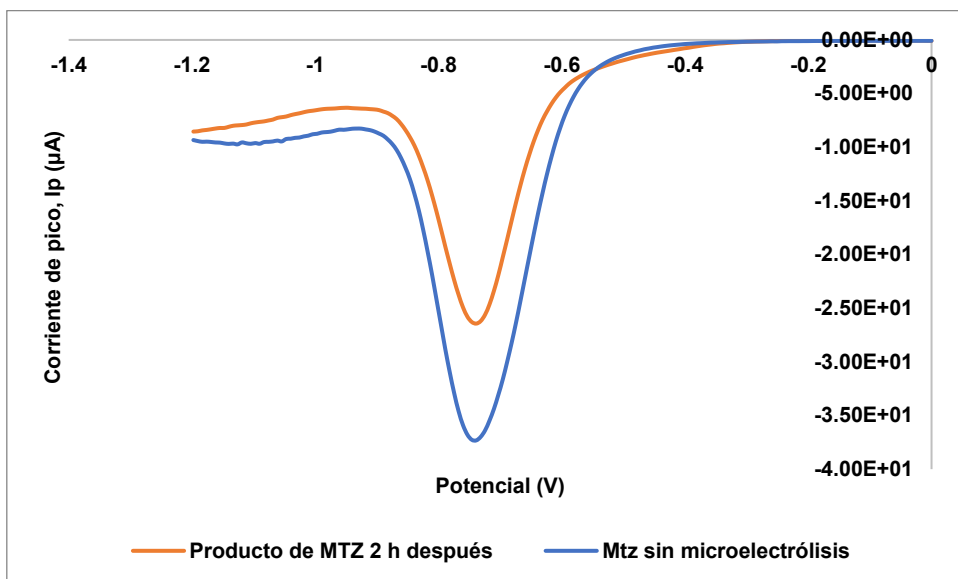


Figura 24. Voltamperograma diferencial de pulso del metronidazol registrados sin microelectrólisis y tras 2 h de microelectrólisis, obtenidos con electrodo de grafito en buffer fosfato pH 7.5. Se muestra la región catódica del barrido (-1.3 a 0.0 V vs Ag/AgCl).

4.5.3 Balance de la microelectrólisis

El balance de la microelectrólisis se evaluó a partir de la respuesta del metronidazol mediante VDP y de la carga total transferida durante el tratamiento. Después de 2 h de electrólisis a -1.0 V frente a Ag/AgCl, la magnitud de la corriente de pico disminuyó de 37.3 a 26.4 μA . Tomando la respuesta inicial como referencia, esta variación corresponde a una señal remanente del 70.78% y a una disminución del 29.22% . A partir de la proporcionalidad entre corriente y concentración, este resultado se interpreta como una estimación de transformación aparente del metronidazol, mientras que la persistencia del pico catódico respalda la presencia de fármaco residual.

La carga total transferida durante el proceso (-5.46 C) correspondió a 56.6 μmol de electrones, lo cual, en relación con la cantidad inicial de metronidazol presente en el sistema (29.3 μmol), sugiere un proceso multielectrónico cercano a dos electrones por molécula. Este comportamiento es consistente con las primeras etapas de reducción del grupo nitro en compuestos nitroimidazólicos, donde la formación de intermediarios como nitroso o hidroxilamina implica transferencias electrónicas múltiples (Bushra Rafique et al., 2022).

En la Figura 25A, el producto obtenido tras 2 h de microelectrólisis presentó tres nuevas señales anódicas ubicadas aproximadamente en 0.10 , 0.35 y 0.90 V vs Ag/AgCl, con corrientes pico de 0.435 μA , 2.22 μA y 2.66 μA , estas señales no se

presentan en el metronidazol sin tratamiento electroquímico, lo que confirma la formación de nuevas especies electroactivas como resultado de la reducción prolongada. En 25B, considerando que una corriente de pico de $2.16 \mu\text{A}$ corresponde al 29.22% de producto de transformación, la señal obtenida para la dilución 1: 11.1, con $I_p = 2.63 \times 10^{-7} \text{ A}$, equivale aproximadamente al 3.56% de producto de transformación.

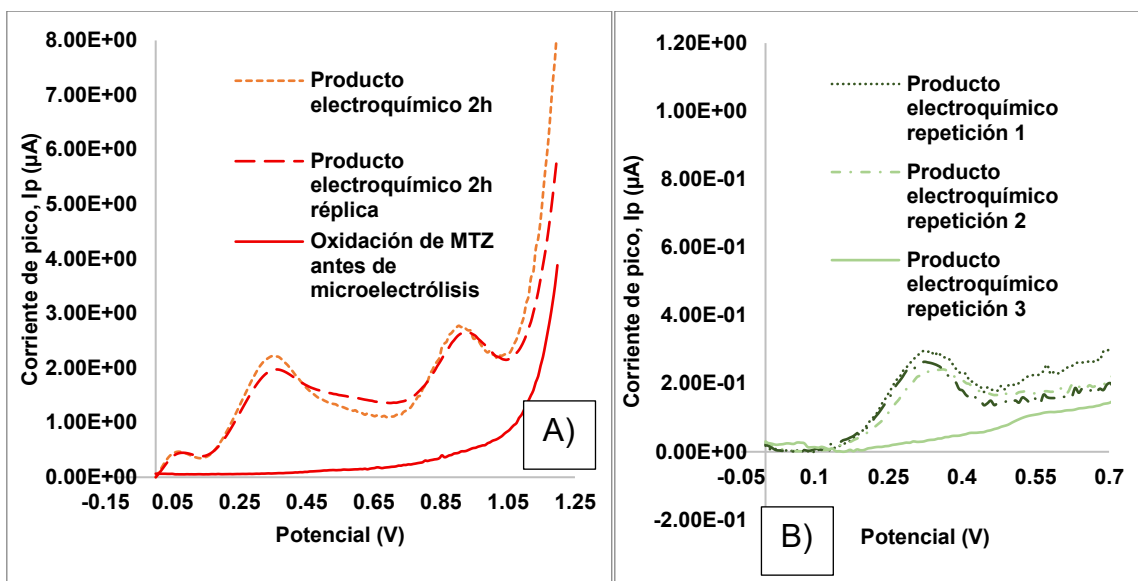


Figura 25. (A) Voltamperograma diferencial de pulso correspondientes al metronidazol sin tratamiento electroquímico y el producto obtenido tras 2 h de microelectrólisis (metabolito 2 h), incluyendo una réplica experimental. (B) Concentración del producto electroquímico obtenido con el que se trabajó.

La aparición de estas señales anódicas puede asociarse con la formación de intermediarios típicos de la reducción del grupo nitro en compuestos nitroimidazólicos. En este sentido, Jiang & Lin, (2006) reportaron que la reducción del metronidazol conduce a la formación de especies como el derivado nitroso (0.2–0.3 V), el anión radical nitro (0.6-0.7) y especies más reducidas como hidroxilamina (0.9V), las cuales pueden presentar señales en regiones más positivas. Aunque los potenciales obtenidos en este estudio no coinciden exactamente con los reportados, la proximidad de las señales sugiere que los picos observados podrían estar relacionados con estos intermediarios de reducción. Las diferencias en los potenciales pueden atribuirse a variaciones en el material del electrodo, el pH del medio y las condiciones experimentales empleadas.

Cabe destacar que, al evaluar el producto electroquímico a menor concentración, se observó únicamente una señal voltamperométrica atribuible a una sola especie electroactiva, la cual presentó mayor consistencia en su respuesta. Por ello, las adiciones se llevaron a cabo considerando esta especie. En la Figura 26, se observa la adición sucesiva del producto electroquímico. Considerando que una corriente de pico de $2.16 \mu\text{A}$ corresponde al 29.22% de producto de transformación, la señal obtenida para la dilución 1: 11.1, 2: 12.1, 3.13.1, con $I_p = 2.59 \times 10^{-7}$, 3.77×10^{-7} , $5.50 \times 10^{-7} \text{A}$, equivale aproximadamente al 3.50%, 5.10% y 7.44% de producto de transformación.

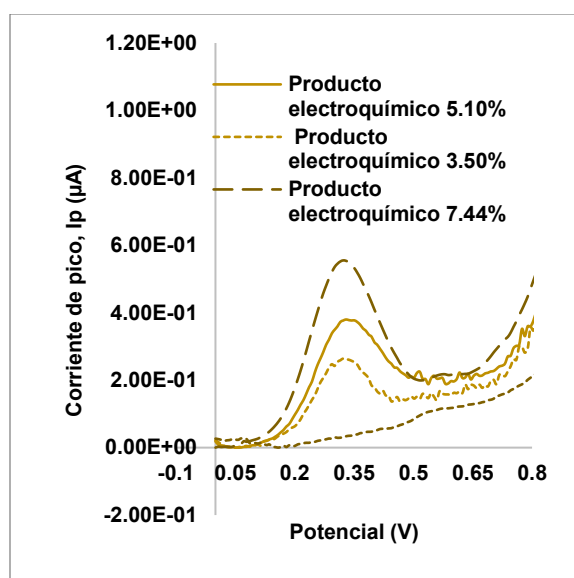


Figura 26. Voltamperogramas diferenciales de pulso obtenidos después de adiciones acumulativas del producto de microelectrólisis, correspondientes a proporciones aparentes de producto electroactivo de 3.50, 5.10 y 7.44 %.

Para evaluar el comportamiento temporal del producto de microelectrólisis, se aplicó +0.4 V vs Ag/AgCl durante periodos de hasta 30 s. La corriente inicial fue de $0.262 \mu\text{A}$ y corresponde a una proporción aparente de producto electroactivo de 3.54 %, congruente con el nivel de 3.50 % de la Figura 27.

La disminución de la corriente después del acondicionamiento a +0.4 V es compatible con la oxidación de la especie responsable de la señal de bajo potencial. Durante este tratamiento, su consumo en las proximidades del electrodo reduce la respuesta registrada posteriormente mediante VDP. De acuerdo con el mecanismo descrito por Brett, (1999), se propone que este comportamiento puede involucrar la reoxidación de un derivado hidroxilamina hacia una especie nitroso. Así, la pérdida

del 69.7 % de la señal evidencia la sensibilidad del producto electroactivo al acondicionamiento.

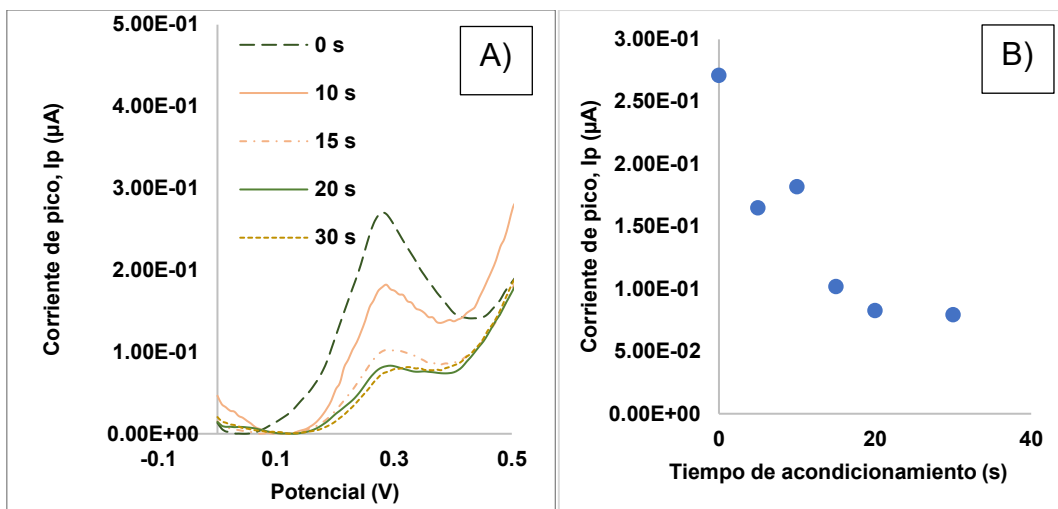


Figura 27. A) Voltamperogramas diferenciales de pulso del producto de microelectrólisis al 3.50 %, registrados después de aplicar +0.4 V vs. Ag/AgCl durante 0, 5, 10, 15, 20 y 30 s. B) Corriente de pico del producto de microelectrólisis en función del tiempo de acondicionamiento.

4.6 Interacción de los productos electroquímicos con el ADN

Para distinguir el efecto del potencial de acondicionamiento de los cambios atribuibles a la mezcla, se registraron voltamperogramas diferenciales de pulso después de aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0–30 s. La estabilidad de guanina y adenina en este tratamiento se empleó como control.

4.6.1 Guanina

La Figura 28 muestra que, después de aplicar +0.4 V vs. Ag/AgCl durante periodos de hasta 30 s, el potencial de pico de la guanina permaneció estable y la corriente de pico presentó una variación aproximada del 2 % respecto del valor inicial. En el intervalo evaluado no se observó una modificación electroquímica relevante de la guanina. Por ello, este experimento se utilizó como control para interpretar los cambios observados posteriormente en la mezcla de guanina con el producto de microelectrólisis.

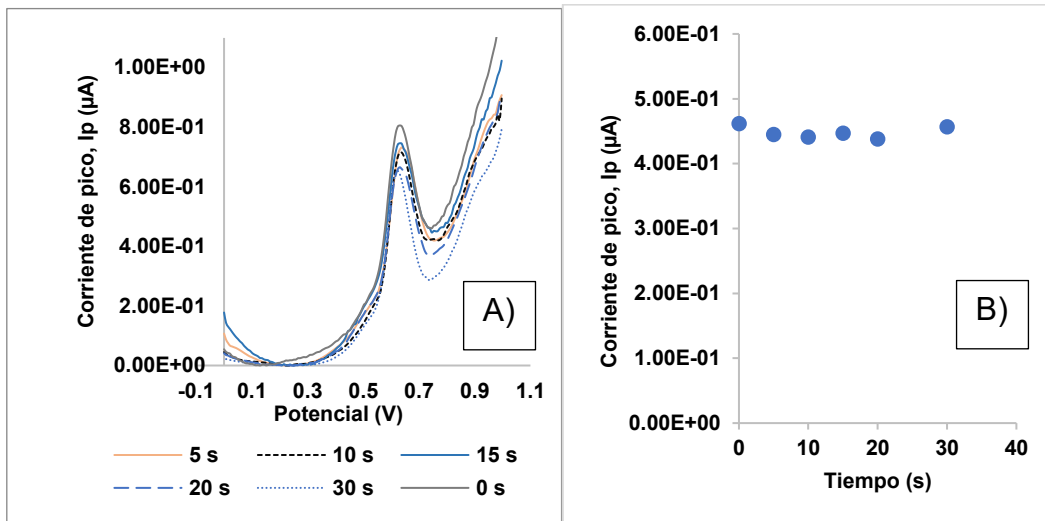


Figura 28. A) Voltamperogramas de guanina tras aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0, 10, 15, 20 y 30 s en buffer de acetatos 0.1 M, pH 4.5. B) Corriente de pico de guanina en función del tiempo de acondicionamiento.

4.6.2 Producto electroquímico–guanina

Al mezclar el producto electroquímico con guanina y aplicar +0.4 V, la señal del producto disminuyó con el tiempo, mientras que el control de guanina permaneció estable durante 30 s. En el ensayo aislado del producto, la señal remanente a los 30 s fue 30.3 % de la inicial, equivalente a una disminución de 69.7 %. La variación aproximada del 2 % en la I_p de guanina no demuestra interacción. Esta representación se muestra en la Figura 29.

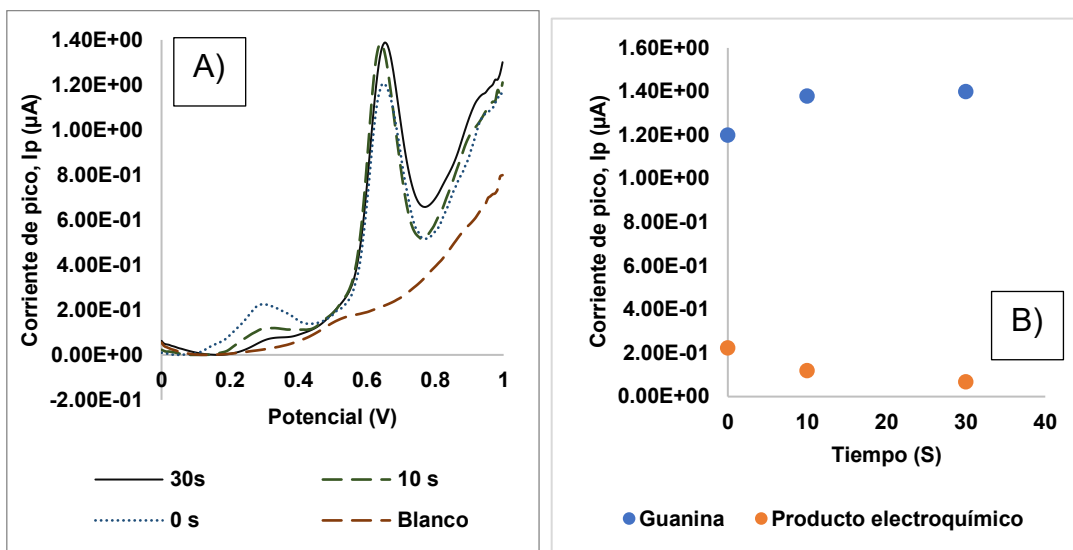


Figura 29. A) Voltamperogramas de la mezcla de producto electroquímico (3.50%) y guanina (0.0611 mM), después de aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0, 10 y 30 s; se incluye el blanco. B) Corriente de pico de las señales del sistema en función del tiempo.

4.6.3 Adenina

La adenina se evaluó como segundo control. Después de aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0–30 s, el potencial de su señal se mantuvo sin desplazamientos notorios y la corriente presentó variaciones pequeñas respecto del tiempo cero. En consecuencia, la adenina no muestra oxidación apreciable a +0.4 V en esta escala temporal, lo que permite atribuir preferentemente al producto electroquímico los cambios observados en la mezcla. En la Figura 30 se observa este proceso.

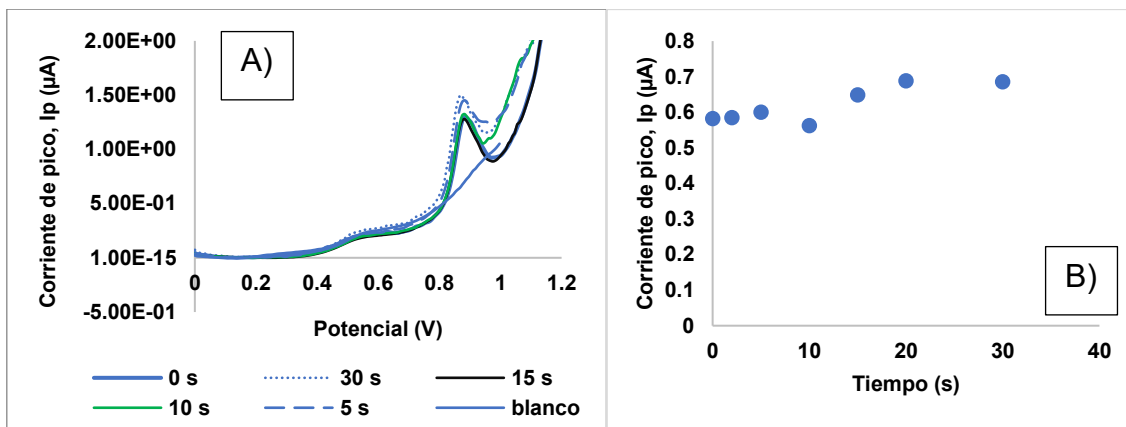


Figura 30. Voltamperogramas de adenina registrados después de aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0, 2, 5, 10, 15, 20 y 30 s. B) Corriente de pico de las señales del sistema en función del tiempo.

4.6.4 Producto electroquímico–adenina

En la Figura 31, se observa la mezcla de producto electroquímico (3.50 %) y adenina (0.0363 mM), acondicionada a +0.4 V, la disminución de la señal del producto con el tiempo contrasta con la estabilidad del control de adenina. Las variaciones de I_p o del potencial de adenina respecto del control sugieren una modificación de su entorno electroquímico en presencia del producto oxidado.

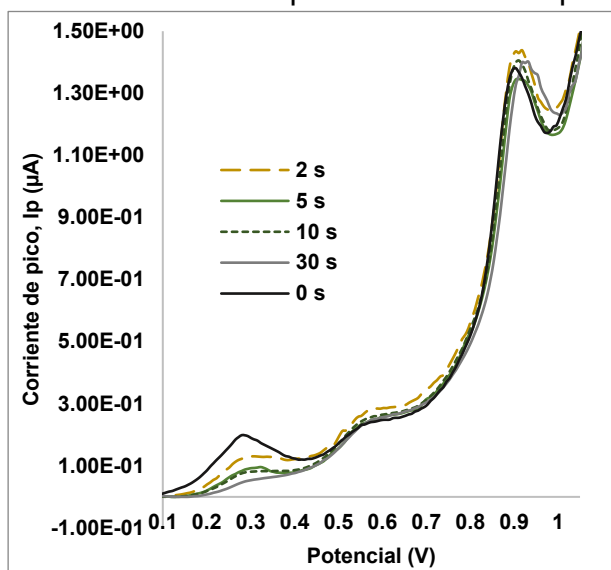


Figura 31. Voltamperogramas de la mezcla de producto electroquímico (3.50 %) y adenina (0.0363 mM), después de aplicar +0.4 V vs Ag/AgCl durante 0, 2, 5, 10 y 30 s.

4.6.5 Producto electroquímico–ADN

La interacción producto electroquímico–ADN se evaluó por tiempo de exposición, sin aplicar un potencial de acondicionamiento de +0.4 V, la representación se

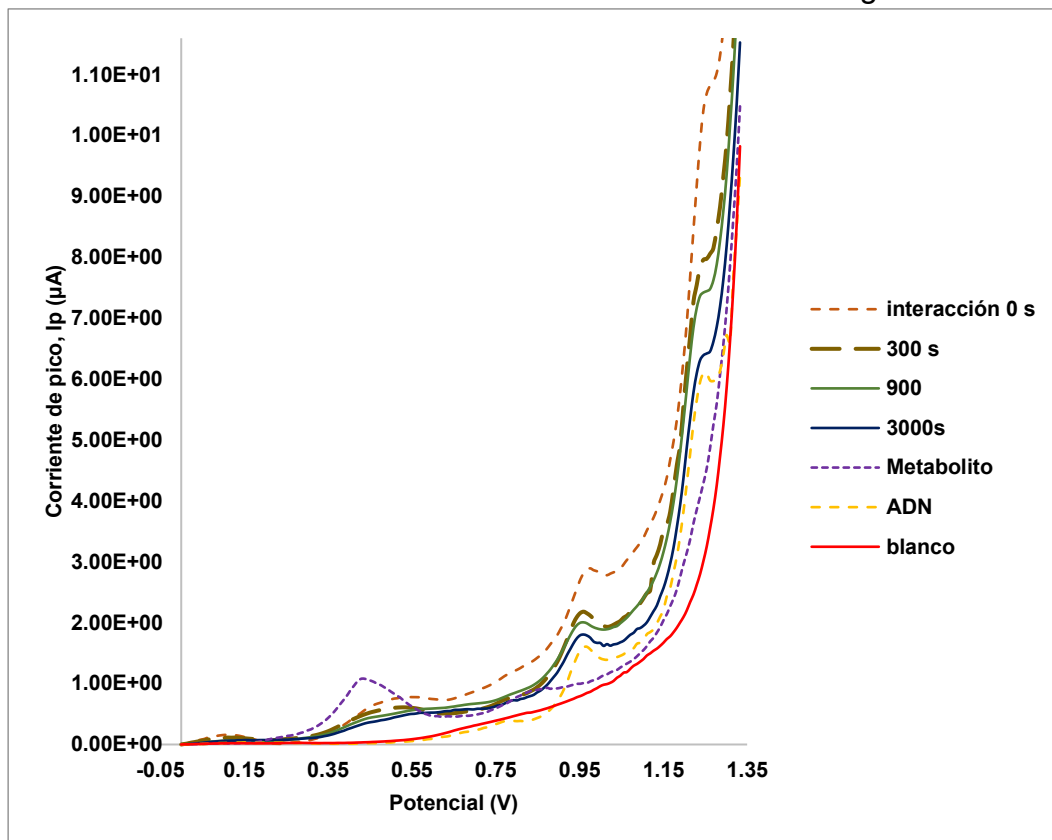


Figura 32. Voltamperogramas de la mezcla de producto electroquímico (3.50 % aparente) y ADN (0.5 mg/mL), después de 0, 300, 600, 900 y 3000 s de interacción, sin aplicación previa de +0.4 V.

Los voltamperogramas diferenciales de pulso mostrados en la Figura 32 muestran cambios progresivos en la respuesta electroquímica del sistema metabolito–ADN conforme aumenta el tiempo de interacción (0 a 3000 s). En particular, se observa una disminución en la corriente de pico de las señales asociadas al metabolito, así como desplazamientos en el potencial y la aparición de nuevas señales electroactivas sin la aplicación de un potencial.

La disminución de la corriente de pico con el tiempo sugiere la formación de un complejo entre el producto electroquímico y el ADN, lo cual reduce la fracción de especie libre electroactiva en solución. Este comportamiento es consistente con interacciones tipo fármaco–ADN, donde la formación de complejos (ya sea por interacciones electrostáticas o covalentes) limita la disponibilidad de los sitios electroactivos, disminuyendo la señal voltamperométrica.

Asimismo, se observó un desplazamiento del potencial del metabolito hacia valores más positivos (de 0.44 V a 0.53 V), lo que indica cambios en el microambiente electrónico de la especie electroactiva. Este tipo de desplazamiento ha sido asociado con interacciones intercalativas o con modificaciones en la transferencia electrónica debido a la inserción o asociación del compuesto dentro de la estructura del ADN (Aleksić & Kapetanović, 2014)

Adicionalmente, la aparición de nuevas señales en regiones de potencial cercanas a 0.8 V y 1.2 V sugiere la formación de nuevas especies electroactivas durante la interacción. Sin embargo, no es posible asignar de manera concluyente estas señales, ya que en sistemas de ADN las señales pueden solaparse o corresponder a productos de oxidación derivados de la interacción del metabolito con las bases nitrogenadas. En este sentido, estas nuevas señales pueden estar relacionadas con procesos de oxidación de bases expuestas o con la formación de aductos metabolito-ADN.

El análisis temporal muestra que todos los picos presentan una tendencia decreciente en la corriente de pico, lo cual refuerza la hipótesis de una interacción progresiva dependiente del tiempo, donde el metabolito se asocia gradualmente con el ADN hasta alcanzar un estado más estable. Este comportamiento sugiere un proceso cinético de interacción más que una adsorción instantánea. Un desplazamiento positivo del potencial indica interacción intercalativa, una disminución de la corriente de pico sugiere la formación de complejos y la aparición de nuevas señales está asociada a la generación de nuevas especies electroactivas (Aleksić & Kapetanović, 2014; Willner & Willner, 2005).

Por ello, este trabajo indica que el producto electroquímico generado por microelectrólisis presenta una interacción con el ADN, probablemente mediada por la formación de complejos y/o aductos con las bases nitrogenadas, lo cual modifica tanto la intensidad como la posición de las señales electroquímicas del sistema.

5. Conclusiones

Se caracterizó el comportamiento electroquímico del metronidazol, adenina, guanina y ADN mediante voltamperometría cíclica y diferencial de pulso, estableciendo las respuestas de referencia para evaluar los sistemas individuales y sus mezclas. La reducción del metronidazol presentó dependencia con el pH, consistente con la participación de protones en el proceso. Asimismo, la comparación entre ADN nativo y desnaturalizado mostró la influencia del estado del ADN sobre la respuesta electroquímica de sus residuos púricos.

La microelectrólisis permitió obtener una mezcla con nuevas contribuciones electroactivas y una menor respuesta catódica del metronidazol, compatible con su transformación parcial. El comportamiento posterior de esta mezcla frente al acondicionamiento oxidante proporcionó una referencia para estudiar su respuesta en presencia de guanina, adenina y ADN. Aunque los resultados son compatibles con la formación de derivados reducidos del fármaco, su identidad estructural no se confirmó mediante técnicas complementarias.

La comparación de las mezclas con los controles individuales mostró cambios de corriente y potencial que sugieren interacción entre los productos electroquímicos y los componentes del ADN, así como modificaciones en su disponibilidad electroactiva. Estas observaciones no permiten establecer un mecanismo molecular exclusivo ni distinguir por sí solas entre intercalación, unión al surco, daño oxidativo o formación de aductos.

El trabajo demuestra la utilidad de la electroquímica como modelo *in vitro* preliminar para generar productos de transformación del metronidazol y examinar su comportamiento frente al ADN. La secuencia de caracterización, generación electroquímica y evaluación de mezclas proporciona una base experimental para profundizar en la identificación de los productos y en la naturaleza de sus interacciones con el material genético.

6. Perspectivas y mejoras

Los resultados obtenidos en este estudio demuestran que las técnicas electroquímicas constituyen una herramienta adecuada para la generación de derivados del metronidazol y la evaluación preliminar de su interacción con el ADN. No obstante, el enfoque empleado presenta oportunidades de mejora que permitirían profundizar en la comprensión de los mecanismos involucrados y fortalecer los resultados.

En primer lugar, una de las principales limitaciones del trabajo es la falta de identificación estructural de los metabolitos generados durante la microelectrólisis. Por ello, se propone como perspectiva futura el acoplamiento de técnicas electroquímicas con métodos espectroscópicos y cromatográficos, como HPLC, espectroscopía UV-Vis, FTIR o incluso espectrometría de masas (LC-MS), con el fin de caracterizar de manera precisa las especies formadas y correlacionarlas con su comportamiento electroquímico.

En cuanto a la evaluación de la interacción con el ADN, aunque el uso de adenina y guanina como biomarcadores electroquímicos es una estrategia sensible, se recomienda complementar estos estudios con técnicas adicionales que permitan confirmar el tipo de interacción, tales como espectroscopía UV-Vis (desplazamientos hipocrómicos o batocrómicos), dicroísmo circular o estudios de viscosidad, con el objetivo de distinguir entre mecanismos como intercalación, unión al surco o daño oxidativo.

Por otra parte, el uso de electrodos modificados (por ejemplo, con nanomateriales como grafeno, nanotubos de carbono o nanopartículas metálicas) podría mejorar significativamente la sensibilidad, selectividad y límite de detección del sistema electroquímico, permitiendo detectar interacciones más sutiles entre los productos electroquímicos y el ADN.

Estas mejoras permitirían no solo optimizar la metodología desarrollada, sino también ampliar el alcance del estudio hacia una comprensión más integral del comportamiento del metronidazol y sus derivados en sistemas biológicos.

7. Referencias

- Aleksić, M. M., & Kapetanović, V. (2014). An overview of the optical and electrochemical methods for detection of DNA - drug interactions. *Acta Chimica Slovenica*, 61(3), 555–573. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25286211/>
- Andrezálová, L., & Országhová, Z. (2021). Covalent and noncovalent interactions of coordination compounds with DNA: An overview. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 225, 111624. <https://doi.org/10.1016/J.JINORGBIO.2021.111624>
- Ang, C. W., Jarrad, A. M., Cooper, M. A., & Blaskovich, M. A. T. (2017). Nitroimidazoles: Molecular Fireworks That Combat a Broad Spectrum of Infectious Diseases. *Journal of Medicinal Chemistry*, 60(18), 7636–7657. <https://doi.org/10.1021/acs.jmedchem.7b00143>
- Anju, A. N., Billah, A., Kazi, G. A. S., Hirose, F., & Ahmmad, B. (2025). Electrocatalytic Reduction of Antibiotic Drug Metronidazole by Green-Synthesized Silver Nanoparticle–Doped Chitosan. *ChemistrySelect*, 10(8). <https://doi.org/10.1002/slct.202406181>
- Asrat, T. M., Cho, W., Liu, F. A., Shapiro, S. M., Bracht, J. R., & Zestos, A. G. (2021). Direct Detection of DNA and RNA on Carbon Fiber Microelectrodes Using Fast-Scan Cyclic Voltammetry. *ACS Omega*, 6(10), 6571–6581. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c04845>
- Brabec, V. (1979). Interaction of nucleic acids with electrically charged surfaces: VI. A comparative study on the electrochemical behaviour of native and denatured dnas at graphite electrodes. *Biophysical Chemistry*, 9(4), 289–297. [https://doi.org/10.1016/0301-4622\(75\)80045-7](https://doi.org/10.1016/0301-4622(75)80045-7)
- Brachi, M., El Housseini, W., Beaver, K., Jadhav, R., Dantanarayana, A., Boucher, D. G., & Minter, S. D. (2024). Advanced Electroanalysis for Electrosynthesis. In *ACS Organic and Inorganic Au* (Vol. 4, Number 2, pp. 141–187). American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c00051>
- Brett, A. (1999). Mechanism of interaction of in situ produced nitroimidazole reduction derivatives with DNA using electrochemical DNA biosensor. *Methods in Enzymology*, 300, 314–321. [https://doi.org/10.1016/s0076-6879\(99\)00137-8](https://doi.org/10.1016/s0076-6879(99)00137-8)
- Bushra Rafique, Khalid, A. M., Akhtar, K., & Iqbal, M. (2022). Investigation of Metronidazole–DNA Interactions by Using Electrochemical and Spectroscopic

- Techniques. *Russian Journal of Electrochemistry*, 58(8), 704–715. <https://doi.org/10.1134/S1023193522080109>
- Caradec, T., Plé, C., Sicoli, G., Petrov, R., Pradel, E., Sobieski, C., Antoine, R., Orio, M., Herledan, A., Willand, N., & Hartkoorn, R. C. (2024). Small molecule MarR modulators potentiate metronidazole antibiotic activity in aerobic E. coli by inducing activation by the nitroreductase NfsA. *Journal of Biological Chemistry*, 300(7). <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2024.107431>
- Centro Nacional de Información Biotecnológica. (2026). *Resumen del compuesto de PubChem para CID 4173, Metronidazol*. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Metronidazole>
- Chiorcea-Paquim, A. M., & Oliveira-Brett, A. M. (2021). Dna electrochemical biosensors for in situ probing of pharmaceutical drug oxidative dna damage. In *Sensors (Switzerland)* (Vol. 21, Number 4, pp. 1–26). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/s21041125>
- Dingsdag, S. A., & Hunter, N. (2018). Metronidazole: an update on metabolism, structure–cytotoxicity and resistance mechanisms. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(2), 265–279. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx351>
- Edwards, D. (1977). The action of metronidazole on DNA. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 3 1, 43–48. <https://doi.org/10.1093/jac/3.1.43>
- Ensafi, A. A., Jafari-Asl, M., Rezaei, B., & Allafchian, A. R. (2013). Simultaneous determination of guanine and adenine in DNA based on NiFe 2O₄ magnetic nanoparticles decorated MWCNTs as a novel electrochemical sensor using adsorptive stripping voltammetry. *Sensors and Actuators, B: Chemical*, 177, 634–642. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2012.11.028>
- Erdem, A., Şentürk, H., Yildiz, E., Maral, M., Yildirim, A., Bozoğlu, A., Kivrak, B., & Ay, N. C. (2023). Electrochemical DNA biosensors developed for the monitoring of biointeractions with drugs: a review. *Turkish Journal of Chemistry*, 47(5), 864–887. <https://doi.org/10.55730/1300-0527.3584>
- Falagas, M. E., Walker, A. M., Jick, H., Ruthazer, R., Griffith, J., & Snyderman, D. R. (1998). Late incidence of cancer after metronidazole use: a matched metronidazole user/nonuser study. *Clinical Infectious Diseases*, 26(2), 384–388. <https://doi.org/10.1086/516306>

- Göldner, V., Fangmeyer, J., & Karst, U. (2025). Mass spectrometric methods for the analysis of electrochemical transformation products. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 185, 118178. <https://doi.org/10.1016/J.TRAC.2025.118178>
- Gonçalves, L. M., Batchelor-McAuley, C., Barros, A. A., & Compton, R. G. (2010). Electrochemical Oxidation of Adenine: A Mixed Adsorption and Diffusion Response on an Edge-Plane Pyrolytic Graphite Electrode. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114(33), 14213–14219. <https://doi.org/10.1021/jp1046672>
- Hasoň, S., Hermanová, M., Ostatná, V., Šebest, P., & Fojta, M. (2026). Adsorption and electrochemical oxidation of purine bases in intact and acid-treated oligodeoxynucleotides at graphite-based electrodes. Effects of pyrimidine fraction and electrode surface oxidation. *Electrochimica Acta*, 547, 147841. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2025.147841>
- Hassan, Q., Riley, C., Noroozifar, M., & Kerman, K. (2023). Hybrid Nanomaterial of Graphene Oxide Quantum Dots with Multi-Walled Carbon Nanotubes for Simultaneous Voltammetric Determination of Four DNA Bases. *Nanomaterials*, 13(9). <https://doi.org/10.3390/nano13091509>
- He, S., He, P., Zhang, X., Zhang, X., Liu, K., Jia, L., & Dong, F. (2018). Poly(glycine)/graphene oxide modified glassy carbon electrode: Preparation, characterization and simultaneous electrochemical determination of dopamine, uric acid, guanine and adenine. *Analytica Chimica Acta*, 1031, 75–82. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2018.06.020>
- International Agency for Research on Cancer. (2010). *IARC Monographs on the Identification of Carcinogenic Hazards to Humans*.
- International conference on harmonisation of technical requirements for registration of pharmaceutical for human use. (2005). *Validation of analytical procedures: text and methodology Q2(R1)*.
- International Council For Harmonisation of technical requeriments for pharmaceuticals for human use. (2023). *Validation of analytical procedures Q2(R2)*.
- Jankowska-Śliwińska, J., Dawgul, M., Kruk, J., & Pijanowska, D. G. (2017). Comparison of Electrochemical Determination of Purines and Pyrimidines by means of Carbon, Graphite and Gold Paste Electrodes. *International Journal of Electrochemical Science*, 12(3), 2329–2343. <https://doi.org/10.20964/2017.03.16>

- Javornik, U., Pérez-Romero, A., López-Chamorro, C., Smith, R. M., Dobado, J. A., Palacios, O., Bera, M. K., Nyman, M., Plavec, J., & Galindo, M. A. (2024). Unveiling the solution structure of a DNA duplex with continuous silver-modified Watson-Crick base pairs. *Nature Communications*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-024-51876-8>
- Jensen, S. B., Thodberg, S., Parween, S., Moses, M. E., Hansen, C. C., Thomsen, J., Sletfjerding, M. B., Knudsen, C., Del Giudice, R., Lund, P. M., Castaño, P. R., Bustamante, Y. G., Velazquez, M. N. R., Jørgensen, F. S., Pandey, A. V., Laursen, T., Møller, B. L., & Hatzakis, N. S. (2021). Biased cytochrome P450-mediated metabolism via small-molecule ligands binding P450 oxidoreductase. *Nature Communications*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-021-22562-w>
- Jiang, X., & Lin, X. (2006). Voltammetry of the interaction of metronidazole with DNA and its analytical applications. *Bioelectrochemistry*, 68(2), 206–212. <https://doi.org/10.1016/J.BIOELECTCHEM.2005.08.003>
- Knight, R., Skolimowski, I., & Edwards, D. (1978). The interaction of reduced metronidazole with DNA. *Biochemical Pharmacology*, 27 17, 2089–2093. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(78\)90277-0](https://doi.org/10.1016/0006-2952(78)90277-0)
- Krakovka, S., Ribacke, U., Miyamoto, Y., Eckmann, L., & Svärd, S. (2022). Characterization of Metronidazole-Resistant *Giardia intestinalis* Lines by Comparative Transcriptomics and Proteomics. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.834008>
- La-Scalea, M., Serrano, S., & Gutz, I. (1999). Voltammetric Behaviour of Metronidazole at Mercury Electrodes. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 10, 127–135. <https://doi.org/10.1590/s0103-50531999000200010>
- Li, D., Yang, X. L., Xiao, B. L., Geng, F. Y., Hong, J., Sheibani, N., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2017). Detection of guanine and adenine using an aminated reduced graphene oxide functional membrane-modified glassy carbon electrode. *Sensors (Switzerland)*, 17(7). <https://doi.org/10.3390/s17071652>
- Li, Q., Qian, W., Zhang, Y., Hu, L., Chen, S., & Xia, Y. (2023). A new wave of innovations within the DNA damage response. In *Signal Transduction and Targeted Therapy* (Vol. 8, Number 1). Springer Nature. <https://doi.org/10.1038/s41392-023-01548-8>
- Liska, A., Triskova, I., Ludvik, J., & Trnkova, L. (2019). Oxidation potentials of guanine, guanosine and guanosine-5'-monophosphate: Theory and

- experiment. *Electrochimica Acta*, 318, 108–119.
<https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2019.06.052>
- Lodh, J., Paul, S., Sun, H., Song, L., Schöffberger, W., & Roy, S. (2023). Electrochemical organic reactions: A tutorial review. In *Frontiers in Chemistry* (Vol. 10). Frontiers Media SA. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.956502>
- Löfmark, S., Edlund, C., & Nord, C. E. (2010). Metronidazole Is Still the Drug of Choice for Treatment of Anaerobic Infections. *Clinical Infectious Diseases*, 50(Supplement_1), S16–S23. <https://doi.org/10.1086/647939>
- Mao, B., Qian, L., Govindhan, M., Liu, Z., & Chen, A. (2021). *Simultaneous electrochemical detection of guanine and adenine using reduced graphene oxide decorated with AuPt nanoclusters*. <https://doi.org/10.1007/s00604-021-04926-7/Published>
- Materón, E. M., Wong, A., Freitas, T. A., Faria, R. C., & Oliveira, O. N. (2021). A sensitive electrochemical detection of metronidazole in synthetic serum and urine samples using low-cost screen-printed electrodes modified with reduced graphene oxide and C60. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 11(5), 646–652. <https://doi.org/10.1016/j.jpha.2021.03.004>
- National Human Genome Research Institute. (2026, September 5). *Ácido desoxirribonucleico (ADN)*. <https://www.genome.gov/es/genetics-glossary/%C3%81cido-desoxirribonucleico-ADN>
- Neidle, S. (2021). Beyond the double helix: DNA structural diversity and the PDB. *Journal of Biological Chemistry*, 296, 100553. <https://doi.org/10.1016/J.JBC.2021.100553>
- Nikodimos, Y., & Amare, M. (2016). Electrochemical Determination of Metronidazole in Tablet Samples Using Carbon Paste Electrode. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*, 2016(1), 3612943. <https://doi.org/https://doi.org/10.1155/2016/3612943>
- Nikzad, N., & Rafiee, M. (2024). Electrochemical study of drug metabolism. *Current Opinion in Electrochemistry*, 44, 101446. <https://doi.org/10.1016/J.COEELEC.2024.101446>
- Obara, P., Wolski, P., & Pańczyk, T. (2024). Insights into the Molecular Structure, Stability, and Biological Significance of Non-Canonical DNA Forms, with a Focus on G-Quadruplexes and i-Motifs. In *Molecules* (Vol. 29, Number 19).

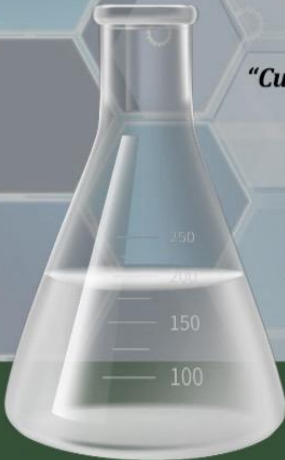
- Oliveira-Brett, A. M., Brett, C. M. A., & Silva, L. A. (2002). An impedance study of the adsorption of nucleic acid bases at glassy carbon electrodes. *Bioelectrochemistry*, 56(1–2), 33–35. [https://doi.org/10.1016/S1567-5394\(02\)00017-8](https://doi.org/10.1016/S1567-5394(02)00017-8)
- Önem, A. N., Sözgen Başkan, K., & Apak, R. (2023). Voltammetric Measurement of Antioxidant Activity by Prevention of Cu(II)-Induced Oxidative Damage on DNA Bases Using a Modified Electrode. *ACS Omega*, 8(5), 5103–5115. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c08055>
- Poole, S., McGorman, B., Cardin, C. J., & Kellett, A. (2025). Recent progress in probing small molecule interactions with DNA. In *Biophysical Reviews* (Vol. 17, Number 4, pp. 1157–1182). Springer Science and Business Media Deutschland GmbH. <https://doi.org/10.1007/s12551-025-01373-z>
- Potęga, A., Paczkowski, S., Paluszkievicz, E., & Mazerska, Z. (2021). Electrochemical simulation of metabolic reduction and conjugation reactions of unsymmetrical bisacridine antitumor agents, C-2028 and C-2053. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 197, 113970. <https://doi.org/10.1016/J.JPBA.2021.113970>
- Pruneanu, S., Biris, A. R., Pogacean, F., Coroş, M., Kannarpady, G. K., Watanabe, F., & Biris, A. S. (2014). The study of adenine and guanine electrochemical oxidation using electrodes modified with graphene-platinum nanoparticles composites. *Electrochimica Acta*, 139, 386–393. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2014.06.163>
- Regnier, M., Vega, C., Ioannou, D. I., & Noël, T. (2024). Enhancing electrochemical reactions in organic synthesis: the impact of flow chemistry. *Chemical Society Reviews*, 53(21), 10741–10760. <https://doi.org/10.1039/d4cs00539b>
- Schneidereit, N. G., Okamoto, A. C., Ranieri, R. V., Jardim, E. C. G., & Gaetti Jardim Júnior, E. (2025). Metronidazol: Mecanismos de ação sobre anaeróbios e fatores envolvidos na resistência adquirida. *Research, Society and Development*, 14(1), e3514148017. <https://doi.org/10.33448/rsd-v14i1.48017>
- Secretaría de Salud. (2018). *Farmacopea de los estados unidos mexicanos*.

- Singh, A., Maity, A., & Singh, N. (2022). Structure and Dynamics of dsDNA in Cell-like Environments. In *Entropy* (Vol. 24, Number 11). MDPI. <https://doi.org/10.3390/e24111587>
- Sirajuddin, M., Ali, S., & Badshah, A. (2013). Drug-DNA interactions and their study by UV-Visible, fluorescence spectroscopies and cyclic voltametry. In *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* (Vol. 124, pp. 1–19). <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2013.03.013>
- Suprun, E. V., Kutdusova, G. R., Khmeleva, S. A., & Radko, S. P. (2021). Towards deeper understanding of DNA electrochemical oxidation on carbon electrodes. *Electrochemistry Communications*, 124, 106947. <https://doi.org/10.1016/J.ELECOM.2021.106947>
- Szczepaniak, O., & Ligaj, M. (2024). May DNA analyses be biased by hidden oxidative damage? Voltammetric study of temperature and oxidation stress effect. *PLoS ONE*, 19(6). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0305590>
- Szultka-Młyńska, M. (2025). Electrochemistry–Mass Spectrometry for Generation and Identification of Metabolites of Selected Drugs from Different Therapeutic Groups in Comparison with In Vitro and In Vivo Approaches. *Separations*, 12(9). <https://doi.org/10.3390/separations12090243>
- Thapa, P. B., Whitlock, J. A., Brockman Worrell, K. G., Gideon, P., Mitchel Jr., E. F., Roberson, P., Pais, R., & Ray, W. A. (1998). Prenatal exposure to metronidazole and risk of childhood cancer: a retrospective cohort study of children younger than 5 years. *Cancer*, 83(7), 1461–1468. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0142\(19981001\)83:7<1461::AID-CNCR25>3.0.CO;2-1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0142(19981001)83:7<1461::AID-CNCR25>3.0.CO;2-1)
- Tocher, J., & Edwards, D. (1992). The interaction of reduced metronidazole with DNA bases and nucleosides. *International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics*, 22 4, 661–663. [https://doi.org/10.1016/0360-3016\(92\)90498-7](https://doi.org/10.1016/0360-3016(92)90498-7)
- Tocher, J. H., & Edwards, D. I. (1994). Evidence for the direct interaction of reduced metronidazole derivatives with DNA bases. *Biochemical Pharmacology*, 48(6), 1089–1094. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(94\)90144-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(94)90144-9)
- Topal, T. R., Karan, M., Çavuşoğlu, K., & Yalçın, E. (2025). Metronidazole induces genotoxicity, hepato- and nephrotoxicity by triggering DNA fragmentation in Swiss albino mice (Balb/c). *Scientific Reports*, 15(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-025-12230-0>

- Wang, H. S., Ju, H. X., & Chen, H. Y. (2001). Voltammetric behavior and detection of DNA at electrochemically pretreated glassy carbon electrode. In *Electroanalysis* (Vol. 13, Number 13, pp. 1105–1109). [https://doi.org/10.1002/1521-4109\(200109\)13:13<1105::AID-ELAN1105>3.0.CO;2-B](https://doi.org/10.1002/1521-4109(200109)13:13<1105::AID-ELAN1105>3.0.CO;2-B)
- Wang, R., Sun, Y., Li, C., Xue, Y., & Ba, X. (2023). Targeting the DNA Damage Response for Cancer Therapy. In *International Journal of Molecular Sciences* (Vol. 24, Number 21). Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI). <https://doi.org/10.3390/ijms242115907>
- Weir, C. B., & Le, J. K. (2023). Metronidazole. In *StatPearls*. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK539728/>
- Willner, B., & Willner, I. (2005). Reconstituted Redox Enzymes on Electrodes: From Fundamental Understanding of Electron Transfer at Functionalized Electrode Interfaces to Biosensor and Biofuel Cell Applications. In *Bioelectronics* (pp. 35–97). <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/352760376X.ch3>
- Xia, S., & Hirao, H. (2025). Recent Advances in Elucidating the Mechanism of the NADPH–Cytochrome P450 Reductase-Mediated Electron Transfer Cycle: Experimental and Computational Perspectives. *Molecules*, 30(18). <https://doi.org/10.3390/molecules30183733>
- Zhao, B., Chen, Z., Han, G. C., Feng, X. Z., & Kraatz, H. B. (2024). Carbon-based electrochemical sensor: Modified electrodes and as-prepared 3D printed electrodes for simultaneous detection of purines and pyrimidines. *Microchemical Journal*, 197, 109894. <https://doi.org/10.1016/J.MICROC.2024.109894>

8. Anexos

8.1 Anexo a: Constancias de congresos



XXXVI Congreso Nacional de Química Analítica
XXVI Simposio Estudiantil

La Asociación Mexicana de Química Analítica y la Universidad Autónoma del Estado de México otorgan la presente:

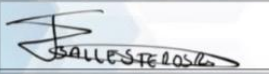
CONSTANCIA

A: Evelyn del Carmen Silva Manzanero, Georgina Alarcón Ángeles*, Marcela Hurtado y de La Peña, Yessica Abigail Galicia Franco

Por la presentación del trabajo en la modalidad cartel:

"Cuantificación de cafeína en nanoformulación mediante UV-VIS"

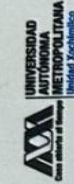
En el marco del XXXVI Congreso Nacional de Química Analítica y XXVI Simposio Estudiantil celebrado del 12 al 16 de agosto de 2024


Dra. María Fernanda Ballesteros Rivas
Directora de la Facultad de Química


Dra. Eugenia Gabriela Carrillo Cedillo
Presidenta del AMQA



F-012434



El Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C.

y la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

Otorgan la presente

CONSTANCIA

a: **QFB Evelyn del Carmen Silva Manzanero**



Por su participación como ASISTENTE en el:
**XXXIII Congreso de Educación Químico Farmacéutica Biológica
y la XXIX Reunión de Estudiantes de Farmacia,**
realizado los días 12 al 14 de marzo de 2025.

Duración: 24 horas

Créditos: 7.2 CRC's/O NACIONAL-DCDMX, Mex., a 14 de marzo de 2025

QUÍMICOS FARMACÉUTICOS BIÓLOGOS
MÉXICO, A.C.

Liliana Schiffer Acosta
Dra. Liliana Schiffer Acosta
Jefa del Departamento Sistemas Biológicos
UAM Unidad Xochimilco

José Díaz Esquivel
DAR Juan José Díaz Esquivel
Presidente Comisión de Educación
del CNQFBM, A.C.

Roberto Díaz Torres
Dr. Roberto Díaz Torres
Presidente Comisión de Reunión
de Estudiantes de Farmacia del CNQFBM, A.C.

Justín Azcañi Romero
QFB Justín Azcañi Romero
Presidente
Colegio Nacional de Químicos
Farmacéuticos Biólogos México, A.C.

CRC's = Créditos para el Refrendo de la Certificación (0.3 por hora de capacitación), avalado por la Subcomisión de Educación Continua del COMECEP. Registro de Idoneidad DGP-SEP: SEP/DGP/CP089/17.
NOTA: Para ser válida en términos de certificación, esta constancia deberá estar impresa, contar con el sello del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C. y cuando menos, una firma autógrafa.

F-012320



El Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A. C.

y la Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco

Otorgan la presente

CONSTANCIA



a: Evelyn del Carmen Silva Manzanero, Dr. Martín Gómez Hernández,
M. en C. Marcela Hurtado Y de la Peña, Dra. Georgina Alarcón Ángeles

Por su participación como PONENTES del trabajo titulado:

"Desarrollo de un método electroquímico simple y rápido para
la detección de guanina y adenina"

en el XXXVIII Congreso de Educación Químico Farmacéutica Biológica
y la XXIX Reunión de Estudiantes de Farmacia,
realizado los días 12 al 14 de marzo de 2025.

CDMX, Mex., a 14 de marzo de 2025

COLEGIO NACIONAL DE
QUÍMICOS FARMACÉUTICOS BIÓLOGOS

MÉXICO, A.C.

Liliana Schiffer Acosta
Dra. Liliana Schiffer Acosta,
Jefa del Departamento Sistemas Biológicos
UAM Unidad Xochimilco

José Díaz Esquivel
DAR Juan José Díaz Esquivel
Presidente Comisión de Educación
del CNQFMB, A.C.

Roberto Díaz Torres
Dr. Roberto Díaz Torres
Presidente Comisión de Reunión
de Estudiantes de Farmacia del CNQFMB, A.C.

Agustín Azcatl Romero
QFB Agustín Azcatl Romero
Presidente
Colegio Nacional de Químicos
Farmacéuticos Biólogos México, A.C.

CRC's = Créditos para el Refrendo de la Certificación (0.6 Crc's por hora de capacitación), avalado por la
Subcomisión de Educación Continua del COMECEP. Registro de Idoneidad DGP-SEP: SEP/DGP/CP089/17.

NOTA: Para ser válida en términos de certificación, esta constancia deberá estar impresa, contar con el sello
del Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos México, A.C. y cuando menos, una firma autógrafa.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

Otorga la presente

CONSTANCIA a

**Evelyn del Carmen Silva Manzanero, Georgina Alarcón Ángeles,
Martín Gómez Hernández, Marcela Hurtado y de la Peña**

Por el cartel titulado:

Detección de adenina y guanina para la cuantificación de DNA

Presentado en la sesión de Ciencias Biológicas en
el 5to Congreso Iberoamericano de Ciencia,
Educación y Tecnología y el 7º Encuentro de
Buenas Prácticas Docentes a través de medios
virtuales en la Facultad de Estudios Superiores
Cuautitlán, UNAM efectuado del 08 al 11 de
diciembre 2025.



Folio: 202500302

Dr. David Quintanar Guerrero
*Director de la Facultad de Estudios
Superiores Cuautitlán*



8.2 Anexo b: Carteles presentados

CUANTIFICACIÓN DE CAFEÍNA EN NANOFORMULACIONES MEDIANTE UV-VIS

Evelyn del Carmen Silva Manzanero, Georgina Alarcón Ángeles, Marcela Hurtado y de La Peña, Yessica Abigail Galicia Franco.



Departamento de sistemas biológicos,
Calzada Del hueno 1100, Col. Villa
Quintal, Delegación Coyoacán, C.F.
04760, CDMX.

E-mail: 2213020978@alumnos.usc.uam.mx



EPRO01

INTRODUCCIÓN

La espectroscopia ultravioleta-visible (UV-VIS) es una técnica analítica utilizada para la cuantificación de compuestos en matrices complejas, destacándose por su alta sensibilidad, simplicidad y costo-efectividad [1, 4]. Esta técnica es fundamental para asegurar la calidad y eficacia de las formulaciones farmacéuticas [3]. La cafeína, un compuesto bioactivo y empleado en la industria farmacéutica, exige métodos analíticos robustos para su cuantificación precisa en distintas matrices, incluidas las nanoformulaciones [2]. Este proyecto se enfoca en la determinación de contenido de nanoformulaciones de cafeína mediante el uso de la técnica espectrofotométrica UV-VIS, resaltando su capacidad para proporcionar resultados rápidos y precisos, esenciales en el desarrollo y control de calidad de productos farmacéuticos avanzados [5].

OBJETIVO GENERAL

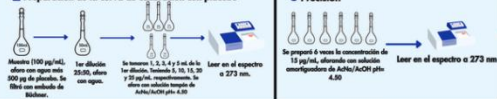
Cuantificar el contenido de cafeína en una nanoformulación mediante la espectroscopia UV-VIS.

METODOLOGÍA

Preparación de la curva de calibración



Preparación de la curva de calibración con placebo



Tratamiento de la muestra



Figura 1. Metodología utilizada durante la sesión experimental.

RESULTADOS

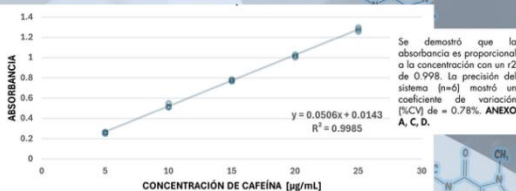


Figura 2. Curva de calibración del estándar de cafeína en el intervalo de concentración 5 a 25 µg/mL obtenida por espectroscopia UV-VIS a una longitud de onda de 273 nm.

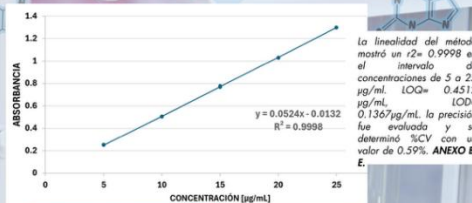


Figura 3. Curva de calibración con placebo y cafeína en el intervalo de concentración de 5 a 25 µg/mL obtenida por espectroscopia UV-VIS a una longitud de onda de 273 nm.

Tabla 1. Cuantificación de contenido de cafeína encapsulada y libre de la matriz de la nanopartícula. Dando como resultado un porcentaje de recobro de 93.5642% en promedio y con una desviación estándar de 3.84382, indicando una buena recuperación del compuesto en total de la matriz de la nanopartícula. ANEXO F, G, H.

Número de muestra	Masa adicionada	Masa recuperada	% de recobro
Muestra 1	2500 mg	378.48 mg + 2097.59 mg	99.03%
Muestra 2	2500 mg	500.74 mg + 1890.78 mg	95.65%
Muestra 3	2500 mg	315.21 mg + 2081.88 mg	95.88%
Muestra 4	2500 mg	319.73 mg + 1933.46 mg	90.12%
Muestra 5	2500 mg	312.2 mg + 1968.79 mg	91.23%
Muestra 6	2500 mg	406.37 mg + 1967.13 mg	94.94%
Muestra 7	2500 mg	641.77 mg + 1560.88 mg	88.10%

DISCUSIÓN

La espectroscopia UV-VIS es útil en el análisis de productos farmacéuticos avanzados, permitiendo una cuantificación rápida y económica [7]. Se destaca el coeficiente de variación y el porcentaje de recobro del total de las muestras de cafeína, indicando precisión y exactitud. Se observa una pérdida del 10% en la recuperación de cafeína entre las muestras del 1 a la 7 debido a la variabilidad en el proceso de fabricación de nanoformulaciones. La diferencia en el porcentaje de recobro entre muestras se atribuye a la variabilidad en la cantidad de cafeína encapsulada y no al método utilizado. La cafeína por su alta hidrofobicidad (Log: -0.07) proporciona una baja eficiencia de encapsulamiento [8], pero Hernández-Marin et al. [2016] formulando nanoemulsiones con agua y aceite logró la eficiencia de encapsulación > 80%.

CONCLUSIÓN

La espectroscopia ultravioleta - visible se establece como una herramienta analítica que puede ser de gran ayuda para la determinación de principios activos debido a su simplicidad, costo, efectividad y accesibilidad. Esta técnica, que mide el cambio en la absorbancia en función de la longitud de onda, ofrece una manera económica y eficiente de cuantificar cafeína u otros compuestos, facilitando la evaluación de contenido en la industria farmacéutica.

ANEXOS



REFERENCIAS



GAA AGRADECE AL SNII POR EL RECONOCIMIENTO Y EL APOYO OTORGADO.



DESARROLLO DE UN MÉTODO ELECTROQUÍMICO SIMPLE PARA LA DETECCIÓN DE GUANINA Y ADENINA

Evelyn del Carmen Silva Manzanero, Dra. Georgina Alarcón Ángeles, Dr. Martín Gómez Hernández, M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña.



Casa abierta al tiempo
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

Departamento de sistemas biológicos,
Calzada del Bosque 11900, Cal. Villa
Guadalupe, Delegación Coyoacán, C.F.
04960, CDMX.

E-mail: 2213020278@alumnos.xoc.uam.mx

INTRODUCCIÓN

La **guanina** y la **adenina** son bases nitrogenadas purinas presentes en el ADN y ARN. Su cuantificación es importante para evaluar daños en el ADN, mutaciones y enfermedades genéticas, ya que su oxidación se asocia con envejecimiento y carcinogénesis [Zhang et al., 2022; Lee et al., 2023].



Los métodos electroquímicos permiten su **detección** con alta sensibilidad, especificidad y a bajas concentraciones, además de ser rápidos y aplicables en **análisis in situ** [Vu et al., 2021]. Sin embargo, muchos estudios requieren materiales costosos o electrodos modificados, lo que **limita su uso práctico** [Kumar et al., 2020; Chen et al., 2021].

OBJETIVO GENERAL

Desarrollar un método electroquímico sencillo para detectar guanina y adenina con un electrodo de pasta de carbono no modificado, optimizando parámetros como velocidad de barrido y concentración.

METODOLOGÍA

1 Preparación del electrodo

Compuesto por grafito y aceite mineral (1:1), empaquetado en tubo de PVC.

2 Caracterización de adenina y guanina

Para caracterizar los procesos redox. Para cuantificar (curvas de calibración) bases y DNA.

3 Condiciones de análisis

Parámetro	Valor
Tiempo de deposición	120 s
Primer potencial	1.3 V
Segundo potencial	0.5 V
Potencial step	0.005 V
Scan rate	0.005 a 5 V/s

4 Curvas de calibración

Se prepararon soluciones stock tomando 10 mg de adenina y guanina en buffer acetato pH 4.5, con diluciones sucesivas para obtener concentraciones de 0.4 a 2 µg/mL.

5 Precisión

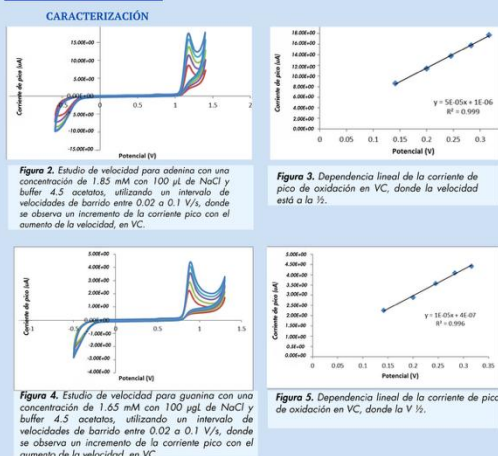
Se realizaron mediciones por sextuplicado en concentraciones de 5.85 µM, 8.88 µM y 14.8 µM de adenina y guanina.

6 Sistemas de ADN

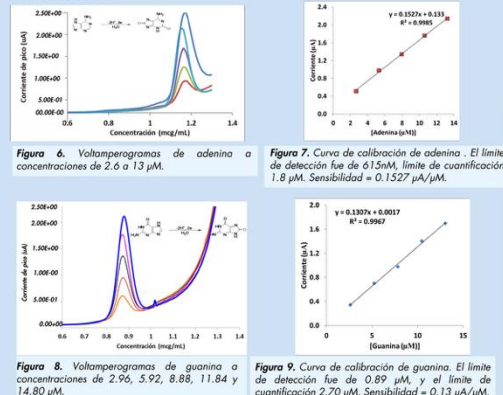
Se preparó un sistema con ADN de salmón en buffer pH 4.5, a una concentración de 151 µM. Se analizó antes y después de la adición de nucleobases con concentraciones de 50 µM, 100 µM y 150 µM.

Figura 1. Metodología utilizada durante la sesión experimental.

RESULTADOS



CUANTIFICACIÓN



PRECISIÓN

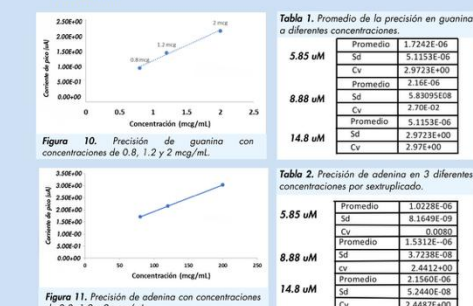


Tabla 1. Promedio de la precisión en guanina a diferentes concentraciones.

5.85 µM	Promedio 1.7242E-06
Sd	5.1153E-06
Cv	2.9731E+00
8.88 µM	Promedio 2.18E-06
Sd	5.83095E-08
Cv	2.70E-02
14.8 µM	Promedio 5.1153E-06
Sd	2.9731E+00
Cv	2.97E+00

Tabla 2. Precisión de adenina en 3 diferentes concentraciones por sextuplicado.

5.85 µM	Promedio 1.0228E-06
Sd	8.1649E-09
Cv	0.0002
8.88 µM	Promedio 1.5312E-06
Sd	3.7238E-08
Cv	2.4412E+00
14.8 µM	Promedio 2.1560E-06
Sd	5.2440E-08
Cv	2.4487E+00

DETECCIÓN DE DNA DE SALMÓN

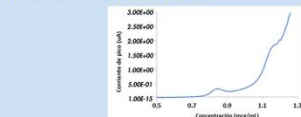


Figura 12. Detección de DNA a una concentración de 151 µM en DNA de salmón. La concentración de guanina y adenina libre fue 0.293 µM y 1.67 µM respectivamente.

DISCUSIÓN

Tabla 3. Comparación de LOD y LOQ con biosensores modificados Electroanalysis (2025) 16:1-14.								
Modificador	Uric acid	Guanine	Adenine	Method Ref				
	Linear range	LOD (µM)	Linear range	LOD (µM)	Linear range	LOD (µM)		
PRG-GO/CE	-	0.50-142	0.30-130	0.025	DPV	[49]		
CMC/INT/PPH/CE	1-130	0.5	0.05-9	0.018	0.19	LSV	[50]	
Fe ₃ O ₄ /PNC	0.1-40	0.036	0.5-30	0.143	0.5-40	0.125	DPV	[51]
NA/Cs	3.6-249	0.59	3.3-103.3	0.48	9.6-215	1.26	DPV	[52]
CE/PPH/ND-GO/MS/CE	0.5-150.0	0.51	1.0-200.0	0.44				
PA/BA/GE	20-200	5.9	10-200	4.3	20-100	11	SWV	[54]
CE/GA/MB/PPH/CE	1-151	0.12	1-78	0.11	2-110	0.43	DPV	[55]
GO/PPH/CE	-	2.0-70	0.51	1.0-40	0.39			
AgNP/MS/ND/CE	6.5-280	0.664	6.5-280	0.878	6.5-280	0.125	SWV	Precise

CONCLUSIÓN

La detección de las nucleobases tiene un tiempo de análisis < 60s por lo que resulta simple, rápido y de bajo costo. El método es lineal y mostró buena precisión y reproducibilidad, con un coeficiente de variación menor al 3%. El límite de detección obtenido es comparable con aquellos métodos electroquímicos que incluyen nanomateriales. Los resultados muestran que las nucleobases pueden ser detectadas y cuantificadas por electroquímica en una muestra de ADN de salmón de cadena doble, lo que deja ver su potencial para el análisis de ADN por este método.

REFERENCIAS



GAA AGRADECE AL SNII POR EL RECONOCIMIENTO Y EL APOYO OTORGADO.



DETECCIÓN DE ADENINA Y GUANINA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ADN



AUTORES

Evelyn del Carmen Silva Manzanero, Dra. Georgina Alarcón Ángeles, Dr. Martín Gómez Hernández, M. en C. Marcela Hurtado y de la Peña.
E-mail: 2213020978@alumnos.xoc.uam.mx, galarcon@correo.xoc.uam.mx

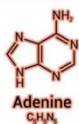
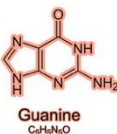
AFILIACIÓN



Departamento de sistemas biológicos, Calzada Del huseo 1100, Col. Villa Quietud, Delegación Coyoacán, C.P. 04960, CDMX

INTRODUCCIÓN

La guanina y la adenina son bases nitrogenadas purinas presentes en el ADN y ARN. Su cuantificación es importante para evaluar daños en el ADN, mutaciones y enfermedades genéticas, ya que su oxidación se asocia con envejecimiento y carcinogénesis (Zhang et al., 2022; Lee et al., 2023).



La oxidación electroquímica de las bases púricas permite su cuantificación en muestras biológicas, destacando por su rapidez, alta sensibilidad y posibilidad de análisis in situ. Sin embargo, el uso práctico de estos métodos se ve limitado por la necesidad de materiales costosos o electrodos modificados.

OBJETIVO

Desarrollar un método electroquímico simple, sensible y reproducible para la detección y cuantificación de adenina y guanina presentes en ADN de testículo de salmón, empleando un electrodo de pasta de carbono (EPC) sin modificar.

METODOLOGÍA



Figura 1. Proceso para la cuantificación de ADN. Todas las mediciones se realizaron por voltametría cíclica (VC) y voltametría de pulso diferencial (DPV) en NaCl 0.1 M y buffer acetato pH 4.5.

RESULTADOS

CARACTERIZACIÓN

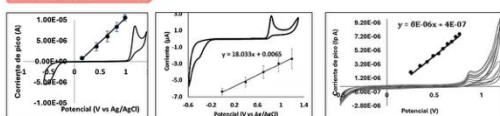


Figura 2. Estudios de velocidad mediante VC de adenina (7.4 mM), guanina (6.62 mM) y ADN (0.088 mM). Se muestran las respuestas voltamperométricas a 20 mV/s y las relaciones lineales entre la corriente de pico (I_p) y la raíz de la velocidad (v), evidenciando procesos de oxidación controlados por difusión.

VALIDACIÓN

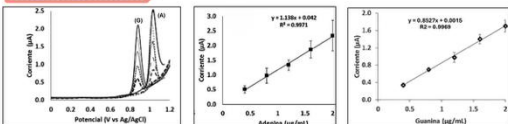


Figura 3. Voltamperograma y curvas de calibración de adenina (1.1 V) y guanina (0.85 V) obtenidos DPV en el intervalo de 0.4–2 μ g/mL. En ambos casos se observa una relación lineal entre la corriente pico y la concentración ($r^2 \geq 0.99$). Los límites de detección fueron de 0.0925 μ g/mL para adenina y 0.1392 μ g/mL para guanina, con límites de cuantificación de 0.2805 y 0.4220 μ g/mL, respectivamente.

REPETIBILIDAD

Tabla 1. Análisis de precisión para adenina y guanina, evaluado en tres concentraciones. Para cada nivel, se realizaron seis repeticiones independientes bajo las mismas condiciones experimentales.

Análito	Concentración μ g/mL	Media (uA)	SD	%CV
ADENINA	0.82	1.72e-6	5.11e-8	2.97
	1.19	2.16e-6	5.83e-8	2.70
	2.00	3.04e-6	7.05e-8	2.32
GUANINA	0.894	1.02e-6	8.16e-8	0.80
	1.34	1.53e-6	3.72e-8	2.44
	2.24	2.15e-6	5.24e-8	2.44

COMPARACIÓN DNA

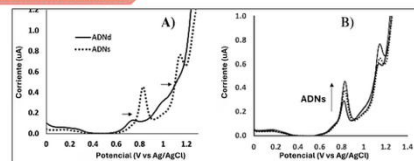


Figura 4. A) Comparación de ADN desnaturalizado (ADNd) y ADN sin desnaturalizar (ADNs) de testículo de salmón. B) ADNd a diferentes concentraciones.

CUANTIFICACIÓN

Tabla 2. Cuantificación de las bases púricas presente en ADN.

ADN	Concentración de ADN μ g/mL	I_p residuo de guanina μ g/mL	Concentración de guanina μ g/mL	I_p residuo de adenina μ g/mL	Concentración de adenina μ g/mL
Desnaturalizado	33.33	0.261	0.304	0.598	0.461
	57.14	0.366	0.427	0.638	0.5
	75	0.47	0.511	0.7621	0.623

DISCUSIÓN

Tabla 3. Comparación de LOD, LOQ y concentración de las bases purinas en el ADN con diferentes sensores electroquímicos.

Tipo de electrodo	Tipo de ADN	Conc. de Guanina (μ M) en ADN	Conc. de Adenina (μ M) en ADN	LOD de G (μ M)	LOD de A (μ M)
GCE modificado con Nf-MIL-53(Fe)/Mxene	ADN de espermatozoos de salmón (salmon sperm DNA)	0.57–3.0 μ M	1.2–4.5 μ M	0.17	0.57
Electrodo de carbono vítreo (GCE)	ADN de ternera (calf sperm DNA)	1.5–4.2 μ M	2.0–5.0 μ M	NA	NA
GCE/Ag-VP@Mn-MOF	ADN presente en sangre, orina y matrices biológicas	1–6 μ M	2–7 μ M	0.00655	0.00972
Electrodo de pasta de carbono-grafito	ADN de salmón desnaturalizado	2.01–3.38	3.41–4.61	0.92 μ M	0.68

CONCLUSIÓN

El método permitió cuantificar adenina y guanina directamente a partir del ADN sin requerir modificación del electrodo. La desnaturalización incrementó la señal electroquímica debido a una mayor accesibilidad de las bases al electrodo. El método presenta sensibilidad comparable a sensores modificados, pero con menor costo y mayor simplicidad, lo que lo hace atractivo para análisis rutinarios y estudios de daño al ADN.



REFERENCIAS



8.3 Anexo c: Publicación



DETECCIÓN DE ADENINA Y GUANINA PARA LA CUANTIFICACIÓN DE ADN

**Evelyn del Carmen Silva Manzanero, Georgina Alarcón
Ángeles*, Martín Gómez Hernández, Marcela
Hurtado y delaPeña**

Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco,
2213020978@alumnos.xoc.uam.mx,
galarcon@correo.xoc.uam.mx, mgomez@correo.xoc.uam.mx,
mhurtado@correo.xoc.uam.mx

Resumen

La guanina y la adenina son nucleobases que forman parte del ADN, por su relevancia biológica pueden emplearse como biomarcadores en el diagnóstico de enfermedades infecciosas, mutaciones genéticas y padecimientos crónicos como cáncer, SIDA y enfermedades hepáticas. Este trabajo presenta un método rápido y accesible para detectar electroquímicamente adenina y guanina, usando un electrodo de pasta de carbono-grafito. Se identificaron señales de oxidación (0.8 V para guanina y 1.15 V para adenina). El método demostró alta precisión y sensibilidad, con límites de detección de 0.31 μM y 0.62 μM , respectivamente. Además, permitió distinguir entre ADN desnaturizado y no desnaturizado, observando mayor intensidad de señal cuando las cadenas se rompen. Esta propuesta ofrece una alternativa eficaz para cuantificar ADN en el laboratorio, con resultados confiables en un tiempo menor.

Palabras clave:
guanina, adenina, voltamperometría, ADN, electrodo de pasta carbono-grafito





Antecedentes

La guanina y la adenina son bases nitrogenadas purinas presentes en los ácidos nucleicos, como el ADN y el ARN. Su cuantificación es de interés para evaluar daños en el ADN, mutaciones y enfermedades genéticas. Por ejemplo, la oxidación de la guanina es un marcador de daño oxidativo en el ADN, asociado con procesos de envejecimiento y carcinogénesis (Lee et al; 2021). La adenina participa en la respiración celular y su alteración se relaciona con trastornos metabólicos, enfermedades neurodegenerativas y ciertos tipos de cáncer, como leucemia, cáncer de pulmón y carcinoma hepatocelular (Brohi, Khuhawar, & Khuhawar, 2016).

Los métodos electroquímicos ofrecen ventajas significativas para la detección y cuantificación de estas nucleobases. Entre ellas se incluyen una alta sensibilidad, especificidad y la capacidad de diferenciar entre especies con potenciales de oxidación similares. Además, permiten la detección de concentraciones en el intervalo de micromolar a nanomolar, lo que es esencial para el análisis de trazas o metabolitos en muestras biológicas. Estas técnicas también destacan por su rapidez, bajo costo y la posibilidad de miniaturización, facilitando su aplicación en dispositivos portátiles para análisis in situ (Li et al., 2017).

Investigaciones previas han empleado técnicas como la voltamperometría cíclica (CV) y la voltamperometría de pulso diferencial (DPV) para estudiar el comportamiento electroquímico de la guanina y la adenina. Por ejemplo, se ha desarrollado un sensor electroquímico basado en nanoclústeres bimetalicos de oro-platino dispersos en óxido de grafeno reducido para la detección simultánea de guanina y adenina mediante voltamperometría de onda cuadrada (Li et al., 2017, Thangaraj & Kumar, 2013, Chen et al; 2019). Otro estudio informó sobre un sensor que utiliza una membrana funcional de Nafion, óxido de grafeno reducido aminado y quitosano para la detección simultánea de estas nucleobases (Tang, Yogeswaran, & Chen, 2009). Sin embargo, muchos de estos estudios se han centrado en el uso de electrodos modificados o materiales costosos, lo que puede limitar su aplicabilidad práctica.



Objetivo

El objetivo de esta investigación fue desarrollar un método electroquímico sencillo y eficiente para la detección y cuantificación de guanina y adenina en ADN de testículo de salmón en solución, utilizando un electrodo de pasta de carbono. Evaluando parámetros como la velocidad de barrido y la concentración de las nucleobases para optimizar las condiciones de detección, buscando una alternativa accesible y efectiva para el análisis de estas moléculas en muestras biológicas.

Metodología

Se empleó una celda electroquímica de tres electrodos: un electrodo de grafito como electrodo de trabajo (pulido antes de cada medición con papel filtro No. 100), un electrodo de platino como auxiliar y un electrodo de referencia Ag/AgCl (KCl 3 M). Todas las mediciones se realizaron en solución de amortiguadora de acetatos 0.1M (SAA), pH 4.5 con electrolito soporte 0.1M de NaCl. Las sales fueron obtenidas de la marca Fermont grado reactivo, el ADN de doble cadena de testículo de salmón (ADNs) comercial fue obtenido de la marca Merck. La desnaturalización del ADN (ADNd) se llevó a cabo por calentamiento a temperatura de 94 °C, durante 30 min (Supriya & Pandurangappa, 2024) en baño María. Se siguió el proceso descrito en la Figura 1.

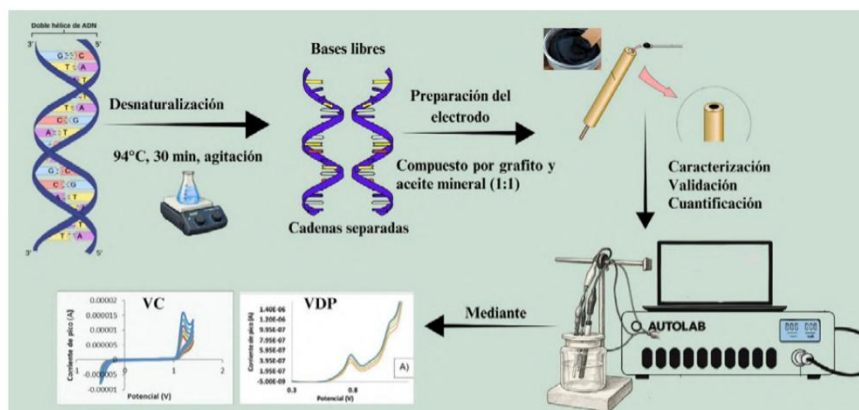


Figura 1. Metodología utilizada para la cuantificación y caracterización de adenina y guanina en ADN testículo de salmón (elaboración propia).



Resultados y discusión

Usualmente la cuantificación de ADN se determina en función de residuos de guanina o adenina, por lo que es importante la caracterización y cuantificación de las bases púricas.

Caracterización electroquímica por voltamperometría cíclica para adenina

En la Figura 2, A) se muestra el comportamiento voltamperométrico de la adenina (7.40 mM), el proceso de oxidación se presenta a 1.2 V, generando un pico bien definido, cuando se estudia el efecto de la velocidad de barrido sobre el proceso de oxidación (Figura 2B), se observa un aumento progresivo de la corriente de pico en función de la raíz cuadrada de la velocidad. ($\sqrt{v}$), indicando que el proceso de oxidación está controlado por difusión, coincidiendo con lo reportado por Jankowska-Śliwińska y autores (2017), lo que favorece a las determinaciones cuantitativas.

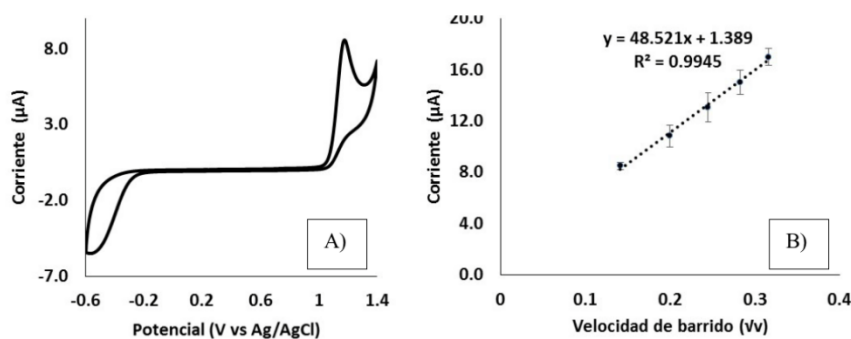


Figura 2. A) VC de Adenina a velocidad de barrido de 20mV/s B) Gráfico de la corriente de pico (I_p) vs. la raíz de la velocidad ($\sqrt{v}$) obtenido del estudio de velocidad para adenina por VC en un intervalo de 0.02 a 0.1 V/s, de la corriente de pico (I_p) vs. la raíz de la velocidad ($\sqrt{v}$). Condiciones; 7.4 mM en 0.1 M de NaCl y SAA pH 4.5.



Caracterización electroquímica por voltamperometría cíclica para guanina

De manera similar a la adenina, la Figura 3A se muestra la respuesta voltamperométrica de la guanina (6.62 mM), la oxidación se presenta en 0.84 V, el pico se observa bien definido y con corriente más baja en comparación con adenina, mientras que el efecto de la velocidad de barrido sobre el proceso de anódico a velocidades de 0.02–0.1 V/s, presenta un aumento proporcional de la corriente pico. En la Figura 3B se observa la relación lineal I_p vs. $\sqrt{v}$, indicando que la oxidación ocurre por difusión, coincidiendo con Jankowska-Śliwińska et al. (2017).

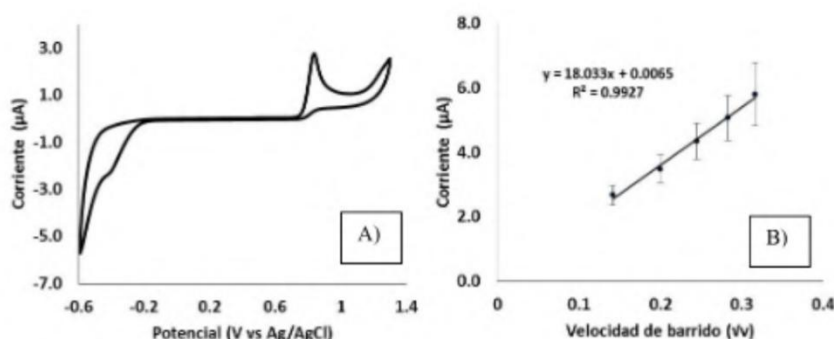


Figura 3. A) VC de Guanina a velocidad de barrido de 20mV/s B) Grafico de la corriente de pico (I_p) vs. la raíz de la velocidad ($\sqrt{v}$) obtenido del estudio de velocidad para guanina por VC en un intervalo de 0.02 a 0.1 V/s, de la corriente de pico (I_p) vs. la raíz de la velocidad ($\sqrt{v}$). Condiciones; 6.62 mM en 0.1 M de NaCl y SAA pH 4.5.

Caracterización electroquímica de ADN

Con el fin de cuantificar el ADN es necesario conocer su comportamiento electroquímico, donde se identificará a partir del potencial de las señales observadas. La caracterización electroquímica de ADN se presenta en la Figura 4 A) el voltamperograma obtenido del ADN (0.088mM) en solución a una velocidad de barrido de 0.02 V/s, bajo condiciones experimentales constantes (0.1 M de NaCl y SAA a pH 4.5), mostró sólo una señal de oxidación asociada con el potencial de guanina. Al realizar el estudio de velocidad se observó un incremento de la corriente de pico (I_p) proporcional a la raíz cuadrada de la



velocidad, lo que sugiere un mayor intervalo de transferencia electrónica en la interfase del electrodo. En la Figura 4B, se observa un incremento progresivo de la corriente pico con el aumento de la velocidad de barrido, así como una dependencia lineal entre I_p y $\sqrt{v}$, lo que indica que el proceso de oxidación está controlado por difusión.

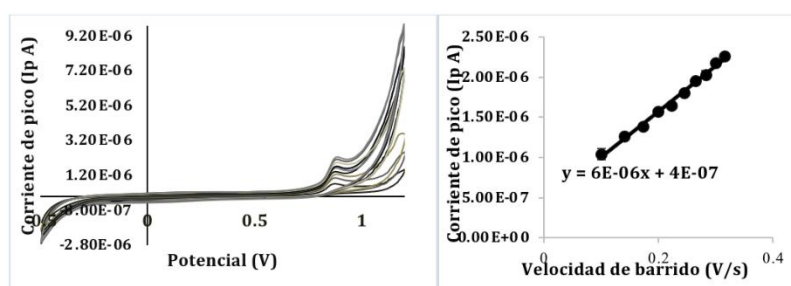


Figura 4. A) Voltamperograma obtenido del ADN (0.088mM) en solución a una velocidad de barrido de 0.02 V/s B) Estudio de velocidad para el ADN (0.088 mM) mediante voltamperometría cíclica en un intervalo de 0.02 a 0.1 V/s, en presencia de 0.1M de NaCl y SAA pH 4.5.

Cuantificación de las bases púricas a partir de residuos de adenina y guanina.

Para la cuantificación se construyó una curva de calibración de adenina, usando VDP. En la Figura 5A se muestran los voltamperogramas asociados con la señal de oxidación típica de adenina en un potencial de 1.2V, esta señal se ve favorecida con el incremento en la concentración (0.4 a 2 $\mu\text{g/mL}$), cabe señalar que el cambio en el potencial es de 0.02V cuando la concentración de adenina se incrementa 5 veces.

Por otra parte, la curva de calibración ($n = 3$) de adenina construida en el intervalo de 0.4 a 2 $\mu\text{g/mL}$ (3–15 mM), evidenció una proporcionalidad directa entre la corriente pico y la concentración, con un coeficiente de determinación (r^2) de 0.9971. El modelo de ajuste lineal fue $y = 1.138x + 0.042$. Con sensibilidad de 1.138 $\mu\text{A}/(\mu\text{g/mL})$. El límite de detección (LOD) fue de 0.0925 $\mu\text{g/mL}$ y el límite de cuantificación (LOQ) de 0.2805 $\mu\text{g/mL}$, calculados como: $\text{LOD} = 3.3\sigma/m$ y $\text{LOQ} = 10\sigma/m$, respectivamente.

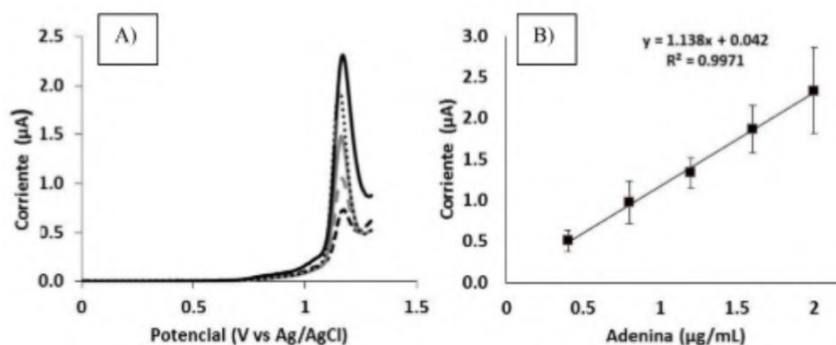


Figura 5. A) VDP de adenina a diferentes concentraciones. B) Curva de calibración correspondiente en el intervalo de 0.4 a 2 μg/mL (0.00296 a 0.0148 mM).

La Figura 6A presenta los resultados correspondientes a la respuesta de la señal de guanina (0.85 V) en función de la concentración, se encontró que el potencial presenta un cambio de 0.03V cuando la concentración aumenta en 5 veces, mientras que el efecto sobre la corriente se puede analizar a partir de la curva de calibración construida ($n=3$) en el intervalo de 0.4 a 2 μg/mL (2.7–13 mM) ver Figura 6B. La curva evidenció una proporcionalidad directa entre la corriente pico y la concentración, con un coeficiente de determinación (r^2) de 0.9969. El modelo de ajuste lineal fue $y = 0.8527x + 0.0015$. El límite de detección (LOD) fue de 0.1392 μg/mL y el límite de cuantificación (LOQ) de 0.4220 μg/mL, calculados mediante las ecuaciones estándar: $LOD = 3.3\sigma/m$ y $LOQ = 10\sigma/m$, respectivamente.

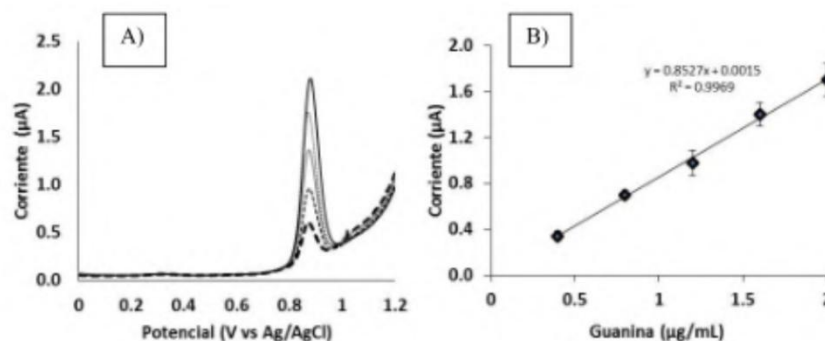


Figura 6. A) Voltamperogramas representativos de guanina obtenidos por voltamperometría diferencial de pulso (DPV). B) Curva de calibración en el intervalo de 0.4 a 2 $\mu\text{g/mL}$ (3–13 μM), con una relación lineal entre la corriente pico y la concentración ($r^2 = 0.9985$), lo que confirma la linealidad del método en las condiciones evaluadas.

Precisión del método. La precisión se determinó a partir de tres concentraciones diferentes de adenina y guanina, siguiendo la corriente de pico para cada especie: adenina en 1.2 V y guanina en 0.85V. En la Tabla 1, se presentan los valores promedio de corriente pico, desviación estándar y coeficiente de variación (CV) para cada concentración, los valores de CV obtenidos fueron inferiores al 5% por lo que el método es repetible.

Tabla 1. Análisis de precisión para adenina y guanina				
Analito	Concentración $\mu\text{g/mL}$	Media I_p (uA)	SD	%CV
ADENINA	0.82	1.72e-6	5.11e-8	2.97
	1.19	2.16e-6	5.83e-8	2.70
	2.00	3.04e-6	7.05e-8	2.32
GUANINA	0.894	1.02e-6	8.16e-8	0.80
	1.34	1.53e-6	3.72e-8	2.44
	2.24	2.15e-6	5.24e-8	2.44



Cuantificación de ADN de testículo salmón a partir de residuos de adenina y guanina.

Con el fin de observar el comportamiento del ADN ($n=3$) bajo las condiciones estudiadas de las bases púricas, se obtuvieron los voltamperogramas mediante VDP de ADNd y ADNs (Figura 7). En el ADNs, se identifican picos de guanina (+0.78–0.75 V) y adenina (0.97–1.03 V), mientras que en el ADNd los picos se desplazaron a potenciales más positivos (+0.85 V y +1.15 V), conservando la señal característica de ambas bases (Figura 7). Este cambio se atribuye a la exposición de las bases tras la ruptura de la doble hélice, lo que modifica la accesibilidad con la que el electrodo interactúa con las bases en la solución, aumentando la energía requerida para la oxidación y por ello aumentando la corriente de pico (IP), esto es consistente con lo reportado por Yang y colaboradores (2008) donde se ha demostrado que la disrupción estructural del ADN afecta directamente la corriente de oxidación y la Ip, siendo estos parámetros útiles para identificar daño molecular y pérdida de integridad estructural, el indicativo más plausible es 1) el desplazamiento de los potenciales y 2) el aumento en la corriente.

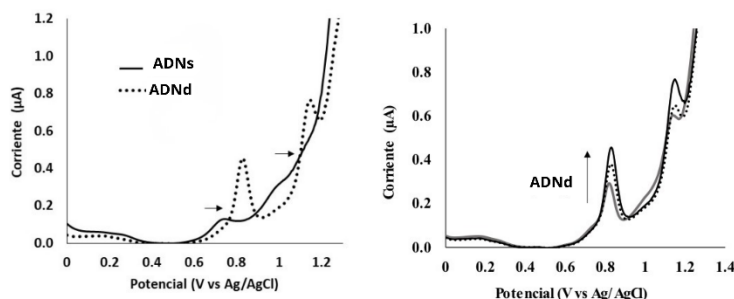


Figura 7. A) Comparación de ADNd y ADNs de testículo de salmón. B) El ADNd a diferentes concentraciones.

Además, se corroboró el efecto de la concentración de ADNd sobre las señales, el estudio mostró que a pesar de que la señal incrementa con la concentración y presenta $r^2 = 0.9977$, con un ajuste lineal representado como: $y = 0.5039x + 0.0081$, la regresión no pasa por el origen es de esperarse debido a que se trata de material biológico, y por lo tanto existe en la solución otros elementos que causan este comportamiento (efecto matriz).



La cuantificación de ADN, se realiza sobre ADNd, ya que las señales corresponden a las bases púricas libres, por lo que las corrientes de pico se transformaron en concentraciones mediante las pendientes de calibración (Tabla 2).

El ADNd se evaluó a diferentes concentraciones, y con el uso de la curva de calibración de la nucleobase correspondiente se realizó el cálculo.

Tabla 2. Cuantificación de las bases púricas presente en ADNd.					
ADN	Concentración de ADNd ($\mu\text{g/mL}$)	Ip (μA) residuo de guanina	Concentración Residuos de guanina ($\mu\text{g/mL}$)	Ip (μA) residuo de adenina	Concentración residuos de guanina ($\mu\text{g/mL}$)
Desnaturalizado	33.33	0.261	0.304	0.598	0.461
	57.14	0.366	0.427	0.638	0.5
	75	0.47	0.511	0.7621	0.623

Conclusiones

La cuantificación de residuos de adenina y guanina en ADN de testículo de salmón permitió validar la capacidad del sensor para detectar nucleobases directamente desde muestras biológicas. Las concentraciones obtenidas (3.12–7.37 $\mu\text{g/mL}$ para adenina y 4.50–8.94 $\mu\text{g/mL}$ para guanina) mostraron una correlación lineal con el valor de la corriente registradas. El %CV mostró la repetibilidad en las mediciones. Estos resultados confirman que el método propuesto permite estimar la concentración de ADN a partir de sus bases púricas, y que la desnaturalización del ADN favorece la exposición de las bases, incrementando la señal electroquímica. Además, representa una alternativa indirecta, sensible y accesible para la cuantificación de ADN en muestras biológicas y que puede ser usado para seguir los efectos de cualquier sustancia o condición ambiental sobre el ADN.

Agradecimientos:

A la doctora Georgina Alarcón Ángeles y el Dr. Martín Gómez Hernández por contemplarme en este proyecto, así como al SECIHTI por el reconocimiento y estímulo otorgado.



Referencias

- Brohi, R. O. Z. Z., Khuawar, M. Y., & Khuawar, T. M. J. (2016). GC-FID determination of nucleobases guanine, adenine, cytosine, and thymine from DNA by precolumn derivatization with isobutyl chloroformate. *Journal of Analytical Science and Technology*, 7(1), Article 10. <https://doi.org/10.1186/s40543-016-0090-9>
- Chen, Y., Liu, J., Yang, Z., Wilkinson, J. S., & Zhou, X. (2019). Optical biosensors based on refractometric sensing schemes: A review. *Biosensors & Bioelectronics*, 144, 111693. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2019.111693>
- Jankowska-Słowińska, J., Dawgul, M., Kruk, J., & Pijanowska, D. G. (2017). Comparison of electrochemical determination of purines and pyrimidines by means of carbon, graphite and gold paste electrodes. *International Journal of Electrochemical Science*, 12(3), 2329–2343. <https://doi.org/10.20964/2017.03.16>
- Lee, I., Alakeel, R., Kim, S., Al-Sheikh, Y. A., Al-Mandeel, H., & Alyousef, A. A. (2019). Urinary phthalate metabolites among children in Saudi Arabia: Occurrences, risks, and their association with oxidative stress markers. *Science of the Total Environment*, 654, 1350–1357. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.11.025>
- Li, D., Yang, X.-L., Xiao, B.-L., Geng, F.-Y., Hong, J., Sheibani, N., & Moosavi-Movahedi, A. A. (2017). Detection of guanine and adenine using a glassy carbon electrode modified with an aminated reduced graphene oxide functional membrane. *Sensors*, 17(7), 1652. <https://doi.org/10.3390/s17071652>
- Supriya, K. M., & Pandurangappa, M. (2024). Simultaneous measurement of uric acid, guanine, and adenine using AgNP@Mn-MOFs composite-based electrochemical sensor at trace level: Application to blood, urine, and DNA sample matrices. *Electrocatalysis*, 16(1), 1–14. <https://doi.org/10.1007/s12678-024-00885-8>
- Tang, C., Yogeswaran, U., & Chen, S.-M. (2009). Simultaneous determination of adenine, guanine, and thymine at multi-walled carbon nanotubes incorporated with poly(new fuchsin) composite film. *Analytica Chimica Acta*, 636, 19–27. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.01.055>
- Thangaraj, R., & Kumar, A. S. (2013). Simultaneous detection of guanine and adenine in DNA and meat samples using graphitized mesoporous carbon modified electrode. *Journal of Solid State Electrochemistry*, 17, 583–590. <https://doi.org/10.1007/s10008-012-1895-0>
- Yang, Z., Zhang, D., Long, H., & Liu, Y. (2008). Electrochemical behavior of gallic acid interaction with calf thymus DNA and detection of damage to DNA. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 624(1–2), 91–96. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2008.07.029>