



# BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

---

---

## FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS

Oxidación biocatalítica de fármacos utilizados durante la  
pandemia de Covid-19

Tesis que para obtener el título de  
**LICENCIADA EN BIOTECNOLOGÍA**

Presenta:

**María Ixel Hernández Hernández**

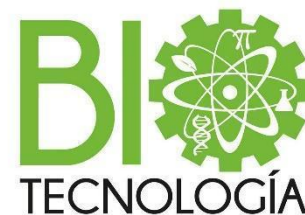
**Director:**

Dr. Eduardo Torres Ramírez

**Codirectora:**

Dra. Cynthia Romero Guido

Agosto 2023



## AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Angelica, Amador y Pole, por brindarme todo el amor, cariño y soporte necesario para realizar cada una de mis metas, por creer en mí y ser los primeros en aplaudirme y levantarme cuando es necesario. A ti mamita linda, por la vida, por ser mi guía, por llevarme a mi primer verano científico a los 5 años, por motivarme en cada concurso, por estar en la primera fila cuando apenas conocía lo que era la ciencia; por esperarme cada día hasta que terminara mis experimentos y ahora, por seguir motivándome.

A mi hermana Angélica que ha sido mi compañera de vida, mejor amiga y consejera, por creer y escuchar cada uno de mis sueños y ser mi motor en todas las etapas.

A mi hermana Carmen quien ha sido mi ejemplo y me ha contagiado su fortaleza.

A mis tíos Ari y Nelson por acompañarme a cada uno de mis cursos, por darme el cariño como si fuera una hija más y por estar siempre al pendiente de mí.

A mi director de tesis, el Dr. Eduardo, quien por su seminario en los primeros semestres de la carrera me motivó a estudiar un poco sobre las aplicaciones de las enzimas. Además de asesorarme en este trabajo gracias por siempre tener un momento para escucharme; estar en su laboratorio me nutrió como profesionista y como persona. Infinitas gracias por su guía y cariño.

A mis compañeros de laboratorio, Adriana, Gaby, José Luis y Eduardo, por acompañarme en mis experimentos, asesorarme, pero sobre todo por brindarme su amistad.

A mi codirectora y tutora, la Dra. Cynthia porque la conozco desde mi primer día en la universidad y me ha visto crecer. Agradezco infinitamente estar cerrando este ciclo con usted porque me ha enseñado mucho de la biotecnología y la vida.

A mis revisores y profesores, la Dra. Norma y el Dr. Ramiro, quienes me compartieron su conocimiento en clases y me dieron las herramientas para finalizar la carrera. Gracias por ser parte de mi formación e inspirarme con sus investigaciones.

A mis amigas y amigos, Irene, Aleida, Alejandra, Lupita, Gustavo, Emiliano, Lily y Mily por las horas de estudio, por escucharme y por las risas y cariño en cada momento juntos.

Finalmente, a mi novio Iván por su amor, paciencia y apoyo en todos estos años. Tu presencia me ha llenado de luz y sobre todo felicidad; en medio del caos has sido mi calma, gracias por ser mi compañía en las buenas y en las malas.

## **DEDICATORIA**

A mi abuelita, mi compañera eterna.

Te dedico este trabajo por las ilusiones que teníamos de que este día llegara, sé que me cuidas desde el cielo y te extrañaré toda la vida.

Gracias por haberme dado una felicidad inmensa, siempre llevaré un cachito de ti en mi corazón.

# ÍNDICE

<b>I. RESUMEN</b> .....	<b>6</b>
<b>II. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>7</b>
<b>III. HIPÓTESIS</b> .....	<b>9</b>
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	<b>9</b>
4.1. OBJETIVO GENERAL .....	9
4.2. OBJETIVOS PARTICULARES.....	9
<b>V. MARCO REFERENCIAL</b> .....	<b>10</b>
5.1 IMPORTANCIA DE LOS SISTEMAS ACUÁTICOS.....	10
5.2 CONTAMINACIÓN DEL AGUA.....	11
5.2.1. <i>Contaminación por efluentes y plantas de tratamiento</i> .....	12
5.3 BIOACUMULACIÓN DE LOS FÁRMACOS UTILIZADOS PARA EL TRATAMIENTO DE COVID-19 EN LOS SISTEMAS ACUÁTICOS.....	15
5.3.1. <i>Ecotoxicidad y mecanismo de acción de los medicamentos</i> .....	17
5.4 NORMATIVIDAD .....	21
5.5 TÉCNICAS UTILIZADAS PARA REMOVER COMPUESTOS FARMACÉUTICOS DEL AGUA .....	22
5.5.1. <i>Técnicas convencionales</i> .....	22
5.5.2. <i>Técnicas biológicas</i> .....	24
5.6 ENZIMA PEROXIDASA .....	27
5.6.1. <i>Mecanismo de reacción</i> .....	27
5.6.2. <i>Uso como agente biológico para el tratamiento de aguas residuales</i> .....	29
<b>VI. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>31</b>
6.1. REACTIVOS.....	31
6.2. COMPUESTOS .....	31
6.3. TÉCNICAS ANALÍTICAS UTILIZADAS.....	33
6.3.1. <i>Análisis del espectro de absorción y selección del pico de absorción</i> .....	33
6.3.2. <i>Cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC)</i> .....	33
6.3.3 <i>Curva de calibración</i> .....	34
6.4 ANÁLISIS DE LA CAPACIDAD OXIDATIVA.....	35
6.4.1. <i>Evaluación de la capacidad oxidativa</i> .....	35
6.4.2. <i>Cuantificación de la degradación de los compuestos modelo</i> .....	36
6.5. CONSTANTES CINÉTICAS .....	36
<b>VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>38</b>

7.1. IDENTIFICACIÓN DE LOS COMPUESTOS FARMACÉUTICOS.....	38
7.1.1. <i>Espectro de absorción</i> .....	38
7.2. CAPACIDAD OXIDATIVA.....	42
7.2.1 <i>Oxidación enzimática de los compuestos farmacéuticos</i> .....	42
7.2.2 <i>Productos de degradación</i> .....	46
7.3. CONSTANTES CINÉTICAS .....	48
7.3.1 <i>Determinación de las constantes cinéticas ajustadas al modelo de Michaelis</i> <i>Menten</i> .....	49
<b>VIII. CONCLUSIONES</b> .....	<b>52</b>
<b>IX. REFERENCIAS</b> .....	<b>53</b>

## I. RESUMEN

El impacto de la pandemia de Covid-19 se generó en diversos sectores, entre ellos el aumento de la contaminación por fármacos en efluentes de agua. Su presencia, sumada a las pocas acciones y aplicación de tecnologías implementadas en México, generaron el aumento en la contaminación de aguas superficiales y subterráneas. En el siguiente trabajo se ensayó la oxidación mediante la enzima cloroperoxidasa para los compuestos de paracetamol, ivermectina y venlafaxina en muestras de laboratorio, alcanzando un porcentaje de degradación del 20, 51 y 45% respectivamente; además, se determinaron las constantes cinéticas mediante el ajuste de los datos experimentales al modelo de Michaelis-Menten. El éxito en la degradación de los compuestos farmacéuticos demuestra que los tratamientos enzimáticos pueden ser implementados eventualmente para la remoción de este tipo de contaminantes presentes en el ambiente.

## II. INTRODUCCIÓN

La pandemia de Covid-19 fue causada por el virus SARS-CoV-2 perteneciente a la familia de lo *Coronaviridae* (Chilamakuri y Agarwal, 2021). Los síntomas al inicio de la contingencia fueron fiebre, escalofríos, dolor muscular, dolor de cabeza, dolor de garganta y pérdida del gusto u olfato, y en casos más severos, problemas para respirar provocados por neumonía (Chilamakuri y Agarwal, 2021; Islam e Iqbal, 2020).

Durante los primeros meses del 2020, las infecciones aumentaron principalmente en China, lugar de origen del virus; sin embargo, la capacidad de movilización de la población a través de transporte aéreo, terrestre y marino permitió la distribución a Europa, América, Oceanía y África (Ciotti *et al.*, 2022; Holmes *et al.*, 2021).

El 11 de marzo del 2020, a través de la Organización Mundial de la Salud (OMS) se dio la declaratoria mundial de pandemia debido al número de casos en diferentes territorios y al riesgo que representaba para la población humana (Yu y Li, 2021). En México, al 30 de abril del 2020 se alcanzaron los 19 224 casos confirmados y 1 859 (9.67% de los casos) fallecidos (Suárez *et al.*, 2020). Los datos al 26 de enero del 2023 en el territorio nacional, indican 7 680 330 casos confirmados y 346 056 defunciones (COVID-19-CONACYT, 2023). Los protocolos a causa de la pandemia se establecieron de forma obligatoria del 2020 al 2022, como: distanciamiento social, reducción de espacios públicos, restricciones en el transporte, además de que las actividades no prioritarias fueron llevadas a cabo a través de plataformas digitales (Hassankhani *et al.*, 2021). Debido a las medidas de distanciamiento social, aislamiento, incertidumbre sobre la infección, pérdidas financieras, humanas y manejo de la pandemia se tuvo un fuerte impacto psicológico en la población provocando el desarrollo de psicopatologías como la ansiedad y depresión (Bueno-Notivol *et al.*, 2021). Sumado a esa sintomatología la cantidad de fármacos preescritos para contrarrestar algunos síntomas de la enfermedad se incrementó notablemente; lo anterior, llevó también a un incremento en la

incorporación de estos medicamentos en los sistemas acuático, debido a la descarga continua en heces y orina (Nippes *et al.*, 2021). Ya existen numerosos reportes de la presencia en el ambiente de algunos de compuestos farmacéuticos; por lo que es importante proponer metodologías para la remoción de estos contaminantes, principalmente tecnologías que se consideren sustentables para no incrementar la carga ambiental en los ecosistemas.

Con respecto a la limpieza y el tratamiento del agua, la biocatálisis ambiental es una tecnología potencial; de las enzimas estudiadas actualmente destaca la cloroperoxidasa debido a su potencial para transformar microcontaminantes, como los farmacéuticos, a sustancias menos dañinas, más biodegradables y menos o nulamente poco tóxicas (Wannstedt *et al.*, 1990). Esto puede ayudar a reducir la concentración de compuestos orgánicos nocivos en los cuerpos de agua.

En el presente trabajo se propone utilizar la enzima cloroperoxidasa como tratamiento biológico para la transformación de compuestos farmacéuticos utilizados durante la pandemia de Covid-19 con la finalidad de cuantificar su porcentaje de oxidación además de conocer la reactividad que tiene la enzima con diferentes sustratos. Al lograr su degradación significaría que las nuevas tecnologías ambientales pueden ser consideradas como parte del esquema de tratamiento de efluentes para usarse en conjunto con las técnicas convencionales; si bien existen varias propuestas de tecnologías ambientales, el uso de la biocatálisis ambiental puede ser tomada en cuenta como parte del esquema debido a su estabilidad en el ambiente.



### **III. HIPÓTESIS**

La enzima cloroperoxidasa tiene la capacidad de transformar algunos de los compuestos farmacéuticos utilizados durante la pandemia de Covid-19.

### **IV. OBJETIVOS**

#### **4.1. Objetivo general**

Evaluar la capacidad oxidativa de la enzima cloroperoxidasa hacia los compuestos farmacéuticos de paracetamol, dexametasona, ivermectina y venlafaxina.

#### **4.2. Objetivos particulares**

- Analizar la conversión de los compuestos seleccionados por espectroscopía UV-visible
- Determinar la conversión enzimática de los compuestos utilizando la enzima cloroperoxidasa mediante cromatografía de alta resolución
- Determinar las constantes cinéticas de los compuestos farmacéuticos mediante la reacción enzimática con la enzima cloroperoxidasa por la técnica de cromatografía líquida de alta resolución

## V. MARCO REFERENCIAL

### 5.1 Importancia de los sistemas acuáticos

El agua es uno de los recursos más importantes para la vida, su presencia ha derivado procesos evolutivos y se encuentra tanto en grandes cantidades como a niveles traza en el manto y núcleo del planeta, además, está vinculado con procesos térmicos y físicos de la Tierra, promoviendo así el desarrollo de la atmósfera, los océanos y la vida en distintos niveles (Peslier *et al.*, 2017). Del planeta, el agua abarca el 71% de la superficie, de la cual, 96.5% pertenece a los océanos y el resto a agua dulce que se encuentra en ríos, lagos, glaciares, acuíferos, aguas subterráneas, entre otros. Aparentemente, el suministro de agua potable proviene del agua superficial, sin embargo, la subterránea mantiene con vida a los ríos, lagos y es fuente de la misma en lugares aparentemente desérticos, representando el 1.69% del agua total contra el 0.0002% que pertenece a los ríos y 0.013% de los lagos (Gleick, 1993).

En México se presenta una mezcla climas desérticos y húmedos, generando zonas de escasez de agua en gran parte del país, sin embargo, del total de agua dulce en el mundo, el país cuenta con el 0.1% de ella. En algunas regiones hay constantes precipitaciones, recibiendo 1 489 mil millones de metros cúbicos al año de agua, de esta forma, su paradero se distribuye en un 22% para los ríos o arroyos mediante escurrimiento y 6% por infiltración al subsuelo (Comisión Nacional del Agua [CONAGUA], 2015). De acuerdo con el informe de la CONAGUA (2016), más de la mitad del consumo de agua proviene del sector agrícola, representando un 68.23%, seguido del uso público con el 14.52% y las industrias con el 7.41%, además, se deben tomar en cuenta a las hidroeléctricas y empresas dedicadas a la producción de energía, las cuales representan aproximadamente 10% del uso nacional.

En el sector agrícola, se utiliza en mayor manera agua de tipo superficial para llevar a cabo las actividades de siembra y cosecha, abarcando para 2018, 6.17 millones de hectáreas. El agua empleada para redes de agua potable como domicilios y servicios proviene en su mayoría de aguas subterráneas. Las industrias de diversos tipos, como petroleras, químicas, azucareras, etc., son abastecidas en mayor parte por ríos, arroyos, lagos o acuíferos del país (CONAGUA y SINA, 2019).

La pérdida del agua ocurre en un poco más del 50% por evaporación, sin embargo, la otra parte se debe a las deficiencias en la infraestructura, generando fugas por el mal estado, estas son producidas en un 38% por la ciudad de México y área metropolitana (CONAGUA, 2015). Analizando también a las zonas rurales, del 21% de la población que pertenece a este sector, solo 60.5% disponen de agua entubada y en su mayoría son suministradas por pozos, su uso también es en mayor medida para los cultivos agrícolas y abastecimiento; este último punto representa uno de los mayores retos, ya que el 18.43% de las comunidades se enfrentan a la escasez y mala calidad de agua ocasionada por la exposición a fuertes fenómenos naturales como huracanes, lluvias torrenciales, inundaciones, y a la contaminación antropogénica, siendo este último punto un aspecto de carácter mundial (Cruz *et al.*, 2022).

## **5.2 Contaminación del agua**

El incremento poblacional ha derivado en la escasez de los recursos naturales, entre ellos, el agua, a esto se le debe sumar los efectos del cambio climático y la huella ecológica generada por las actividades y residuos antropológicos. Por medio de satélites se han monitoreado de 2002-2022 la abundancia de los recursos hídricos como aguas superficiales, nieve, humedad y aguas subterráneas, los datos recopilados muestran un agotamiento pronunciado de los mismos a causa de la sobreexplotación principalmente;

otro factor implicado en la disponibilidad del agua es la calidad de esta, ya que ha ido en descenso (Scanlon *et al.*, 2023).

En México, el Instituto Mexicano de Tecnología del Agua documentó en el 2020 que el 70% de los cuerpos de agua del país se encontraban contaminados debido a actividades económicas y sociales, comprometiendo así a la población en general y los distintos niveles de gobierno. El cambio climático también se encuentra presente y las acciones para preservar los recursos hídricos son mínimas, sumado a estas problemáticas, el sector del agua recibe poco financiamiento, por lo que el mantenimiento y generación de nueva infraestructura se ve comprometido, ya que las construcciones son de mediados del siglo pasado. Finalmente, el marco legal también debe ser actualizado para cubrir las nuevas implicaciones (Arreguín-Cortés *et al.*, 2020).

Como fue mencionado anteriormente, la agricultura es fuente principal de contaminación, en donde gran parte de los contaminantes pueden llegar a las fuentes de agua debido a la escorrentía, la cual traza un camino entre las tierras y ríos, lagos, humedales y fuentes subterráneas. De las fuentes agrícolas no puntuales se encuentra el sobrepastoreo, sobrecarga de la tierra y mala gestión en el uso de agroquímicos como los plaguicidas (CDC *et al.*, 2016).

El impacto generado por la contaminación del agua es directo e indirecto, puesto que está presente en la cotidianidad mediante el suministro de agua potable, aerosoles en ecosistemas, procesos geoquímicos y en la producción de alimentos (Chapman y Sullivan, 2022). Las fuentes son diversas, por lo que para combatir la problemática es necesario tomar acciones en cada uno de los sectores involucrados.

### 5.2.1. Contaminación por efluentes y plantas de tratamiento

Anteriormente se mencionaron compuestos que pueden llegar a los ambientes acuáticos mediante descargas de aguas residuales y aguas domésticas, entre los ejemplos

de lo que contienen se encuentra la materia orgánica y nutrientes provenientes de fertilizantes, herbicidas y productos de higiene personal, además de infinidad de químicos sintéticos; estos alcanzan no solo los niveles superficiales si no también las aguas subterráneas (Chapman y Sullivan, 2022). Los principales compuestos presentes son nitrógeno, fósforo, compuestos orgánicos y bacterias coliformes fecales (Jiménez, *et al.*, 2010).

En México se estima que, de las descargas de aguas residuales, 52.7% son aguas municipales y 32% no municipales, de ellas 56.9% son vertidas al ambiente sin tratamientos previos y 43.1% utilizando algún método de tratamiento, existiendo 2 477 plantas para el tratamiento de aguas municipales y 2 832 para aguas no municipales, incluyendo las industriales (CONAGUA, 2016). Para las aguas residuales municipales los tratamientos incluyen los lodos activados, lagunas de estabilización y aireadas y filtros biológicos (CONAGUA, 2011).

Debido a la mala gestión de las instituciones encargadas de monitorear y darle tratamiento al agua solo las regiones del mundo con suficientes recursos económicos pueden disponer de nuevas tecnologías que superen a las técnicas actuales usadas en las plantas de tratamiento, ya que los contaminantes presentes alcanzan niveles microscópicos y difícilmente son removidos; además, para remover los contaminantes de los efluentes se debe incluir el monitoreo y vigilancia de contaminantes presentes, con la finalidad de detectar moléculas nuevas implicadas en los procesos humanos pues se dice que "lo que no puede ser monitoreado, no puede ser (efectivamente) manejado" (Chapman y Sullivan, 2022).

#### *5.2.1.1. Contaminantes emergentes*

La presencia de productos farmacéuticos en el agua se ha convertido en una preocupación creciente debido a su impacto potencial sobre el medio ambiente y la salud

humana (López-Pacheco *et al.*, 2019). Las primeras investigaciones de la presencia de moléculas en mantos acuíferos fueron mencionadas durante la década de los 80 (Sundararaman *et al.*, 2022). Compuestos antiinflamatorios, analgésicos, antibióticos, antiepilépticos, antihistamínicos y neurodepresoras fueron los primeros en identificarse como contaminantes emergentes, resultado de descargas de aguas residuales a sistemas acuáticos (Pyhälä *et al.*, 2017).

Solo en el año 2002 hubo un consumo de aproximadamente 200 000 toneladas de antibióticos y fármacos, para el mismo año, el Paracetamol tuvo un consumo de 5 706 toneladas (Pyhälä *et al.*, 2017a). La familia de los antiinflamatorios-analgésicos ocupan el segundo lugar seguido de los antibióticos con la mayor presencia de firmas moleculares en los análisis de detección. Otro grupo de moléculas recién estudiadas son los fármacos neurodepresivos, por ejemplo, Venlafaxina (Patel *et al.*, 2019).

Entre los efectos de su presencia se encuentran: la bioacumulación en organismos, resistencia a antibióticos, comportamiento animal y modificación de poblaciones microbiológicas (Camargo y Alonso, 2006) (Figura 1). Los mantos acuíferos son los más estudiados debido al arribo de residuales provenientes de las urbes (Sundararaman *et al.*, 2022).

#### 5.2.1.2. *Afectaciones ambientales por la pandemia de Covid-19*

Debido al confinamiento por la pandemia de Covid-19, la población se vio afectada a niveles sociales, económicos, ambientales y por supuesto en la salud. En conjunto, estos sectores modificaron los usos, costumbres y actividades llevadas a cabo, provocando efectos significativos en el medio ambiente. Si bien al inicio de la pandemia cuando se tomaron medidas estrictas de confinamiento los beneficios ambientales hicieron presencia como la disminución en las emisiones de carbono, poca actividad antropogénica en ecosistemas por lo que los recursos de bosques, playas y ríos no se veían

amenazados, estos fueron intercambiados por otro tipo de impactos ambientales derivados de las nuevas costumbres sociales como el aumento de los residuos orgánicos e inorgánicos provenientes de los empaques de comida, plásticos derivados de las medidas de protección como empleo de mascarillas, guantes, caretas; microcontaminantes derivados del aumento en el uso de medicamentos, insecticidas, desinfectantes, productos de higiene personal, entre otros (Hammad *et al.*, 2023; Rume e Islam, 2020).

Como consecuencia del uso indiscriminado de compuestos desinfectantes y medicamentos se puede estar desequilibrando los sistemas ecológicos de manera indirecta, ya que, si bien estos agentes no son dirigidos a ellos, llegan por contacto en el ambiente como heces, aguas residuales y basura (Ahmed *et al.*, 2020). El impacto también puede ser por la generación de subproductos tóxicos en estos sistemas (Mallik *et al.*, 2022) por lo que es necesario tomar medidas efectivas contra la remoción de los contaminantes generados por la enfermedad de Covid-19 sumándole los ya presentes en el ambiente.

### **5.3 Bioacumulación de los fármacos utilizados para el tratamiento de Covid-19 en los sistemas acuáticos**

El uso de fármacos para el tratamiento de la enfermedad ocasionada por Covid-19 fue relevante para el manejo de los casos leves y graves. Derivado de la enfermedad, también se usaron otro tipo de fármacos para tratar otras manifestaciones clínicas como trastornos de ansiedad y depresión, resultado de las restricciones sociales (Bhatia *et al.*, 2020; Crook *et al.*, 2021).

Durante el inicio de la pandemia, el tratamiento fue principalmente sintomático, como la mayoría de enfermedades respiratorias provocadas por virus (Chilamakuri y Agarwal, 2021). Los fármacos más utilizados fueron antihistamínicos como Clorfenamina para aliviar los malestares leves como irritación en garganta, estornudo y escurrimiento

nasal (Rizvi *et al.*, 2022). Otros como analgésicos y antipiréticos, por ejemplo, Paracetamol, fueron cruciales para el manejo de fiebre y dolor muscular (Quincho-Lopez *et al.*, 2021). Algunos corticosteroides, como Dexametasona, se aplicaron en pacientes con desarrollo temprano de enfermedad grave, debido a su acción de supresión inflamatoria en el proceso de desarrollo de neumonía (Rayman *et al.*, 2021).

Al inicio de la pandemia se emplearon fármacos con posible relación antiviral, por ejemplo, Ivermectina, usado principalmente como antiparasitario (Santin *et al.*, 2021). Actualmente, ya no es parte del esquema básico de tratamiento contra la enfermedad por COVID-19 debido a la ausencia de resultados positivos en las pruebas clínicas a lo largo de estos 3 años (Barac *et al.*, 2022).

La pandemia por COVID-19 no solo tuvo efectos respiratorios, otros padecimientos principalmente relacionados con la salud mental tuvieron mayor presencia debido al aislamiento y reducción de la interacción social (de Figueiredo *et al.*, 2021). Los trastornos mentales aumentaron de igual forma la demanda de servicios de psiquiatría y psicología y en algunos casos, el empleo de fármacos para reducir la incidencia de crisis de ansiedad o depresión (Wu *et al.*, 2021). Dentro de los más utilizados se encuentran la Venlafaxina como inhibidor selectivo de la absorción de serotonina y norepinefrina (antidepresivo) (Adhikari *et al.*, 2023).

Una de las características de los fármacos es su estabilidad en diferentes ambientes, incluyendo post aplicación en el tratamiento, debido a la liberación del compuesto químico a través de la orina o excretas. Aunque sufren de modificaciones biológicas y fisicoquímicas, la liberación de estas moléculas es una fuente de contaminación que se ha relacionado en alteraciones de conducta, reproducción y microbiota, principalmente en sistemas acuíferos (Patel *et al.*, 2019).



### 5.3.1. Ecotoxicidad y mecanismo de acción de los medicamentos

#### 5.3.1.1. Paracetamol

El paracetamol (N-(4-hidroxifenil)etanamida) es un derivado del p-aminofenol que presenta actividad analgésica (alivio del dolor) y antipirética (reducción estados febriles) además de que no posee actividad antiinflamatoria. Se cree que el paracetamol produce analgesia a través de una inhibición central de la síntesis de prostaglandinas. El principal problema del uso de paracetamol es su hepatotoxicidad tras una sobredosis (Freo *et al.*, 2021; Moore y Moore, 2016).

Es uno de los productos farmacéuticos usados en mayor cantidad en el mundo (Jozwiak-Bebenista y Nowak, 2014) y también de los más detectados con mayor frecuencia las plantas de tratamiento de aguas residuales, aguas superficiales y agua potable (Wu *et al.*, 2012).

La detección de este compuesto es mayor en áreas densamente pobladas como centros urbanos, donde se espera que el consumo de medicamentos alcance proporciones elevadas (Patel *et al.*, 2019; S. Wu *et al.*, 2012). Además, aproximadamente el 5% del paracetamol consumido es excretado a través de la orina y heces fecales (Bührer *et al.*, 2021). Se consumen aproximadamente 520 toneladas de este (Pyhälä *et al.*, 2017b) por lo que se puede considerar que es uno de los fármacos más populares en todo el mundo, representando así una gran fuente de contaminación acuífera (Wu *et al.*, 2012).

Debido a la alta demanda y a su uso popular durante la pandemia, se ha detectado su presencia en el medio ambiente (Hayden *et al.*, 2022). En algunas plantas como lenteja, puede ocasionar inhibición de crecimiento y anomalías en el crecimiento (Mercado y Galvis, 2023). En modelos animales, la exposición a paracetamol a concentración de 66 mg/kg de peso corporal, en modelo de ratas, tiene efectos indeseables como alteraciones en la bioquímica e histopatología en el hígado y la exposición a 5 y 15 mg/kg de peso

corporal afecta la neurotransmisión asociada con el bulbo raquídeo o puede afectar directamente la médula espinal (López-Pacheco *et al.*, 2019).

Debido a la falta de técnicas de degradación óptimas o a su costo elevado, muchos contaminantes, incluyendo el paracetamol, se liberan en su forma original como metabolitos más estables al medio ambiente; esto podría resultar en la acumulación de los metabolitos en las cadenas tróficas y crear efectos adversos a largo plazo en los organismos acuáticos (Cerro-López *et al.*, 2021).

### 5.3.1.2 Ivermectina

La ivermectina es un medicamento usado para tratar algunos gusanos parásitos, incluidos los gusanos intestinales o los que causan la oncocercosis. Los tratamientos tópicos también se utilizan para parásitos externos (piojos) y para ayudar con afecciones de la piel (rosácea) (Laing *et al.*, 2017).

El fármaco es una lactona macrocíclica obtenida inicialmente de *Streptomyces avermitilis*. Su mecanismo de acción actúa mediante un efecto antiparasitario a través de la unión y activación de los canales de cloruro regulados por glutamato (GluCl) expresados en las neuronas de los nematodos y las células del músculo faríngeo. Esto provoca un aumento de la permeabilidad de los iones de cloruro, produciendo un estado de hiperpolarización y como resultado la parálisis y muerte del parásito (Laing *et al.*, 2017; Santin *et al.*, 2021; Shirazi *et al.*, 2022).

Durante el inicio de la pandemia por COVID-19, y debido a la ausencia de tratamientos efectivos, se estudiaron fármacos con posible acción antiviral contra SARS-CoV-2, uno de estos fue la ivermectina. Los estudios *in silico* mostraron una posible unión al heterodímero importina (IMP) alfa/beta1, que es responsable de la importación nuclear de proteínas virales como la proteína integrasa (IN). Esto provocó la inhibición de la

importación nuclear de proteínas virales y del huésped, dando como resultado la inhibición de la replicación viral (Sharun *et al.*, 2020; Shirazi *et al.*, 2022).

Los efectos de la ivermectina en la contaminación del agua son una preocupación creciente, ya que los estudios han demostrado que incluso las concentraciones bajas del medicamento pueden tener efectos negativos en los organismos acuáticos, en particular en los invertebrados, como los crustáceos e insectos. Estos organismos juegan un papel importante en los ecosistemas acuáticos, y su exposición a la ivermectina puede provocar una variedad de efectos negativos, como la disminución de la supervivencia, el crecimiento y la reproducción y modificación de comunidades microbianas (Mancini *et al.*, 2020; Syerson *et al.*, 2007).

Además, la acumulación de ivermectina en estos organismos puede tener efectos en cascada en la cadena alimentaria y, en última instancia, afectar a todo el ecosistema. Finalmente, la ivermectina puede persistir en el agua durante largos períodos de tiempo y esto puede conducir a una exposición crónica de los organismos acuáticos al fármaco (Liebig *et al.*, 2010; Lu *et al.*, s.f.).

### 5.3.1.3 Dexametasona

La dexametasona es un esteroide fluorado que tiene en su estructura grupos hidroxilo en las posiciones 11, 17 y 21, un grupo metilo en la posición 16 y grupos oxo en las posiciones 3 y 20. Es un miembro sintético de la clase de glucocorticoides. Tiene un papel como agente adrenérgico, antiemético, agente antineoplásico, contaminante ambiental, xenobiótico, agente inmunosupresor y fármaco antiinflamatorio (Cummings *et al.*, 1990; Tomlinson *et al.*, 1997).

El mecanismo de acción es mediante la unión al receptor de glucocorticoides, el complejo fármaco-receptor se traslada al núcleo y actúa como factor de transcripción para la expresión del gen diana. Se cree que las acciones antiinflamatorias de la dexametasona

involucran proteínas inhibidoras de la fosfolipasa A2, como las anexinas (también conocidas como lipocortinas), que controlan la biosíntesis de los principales mediadores de la inflamación, las prostaglandinas y los leucotrienos. También se ha demostrado un aumento de los niveles de tensoactivos y una mejor circulación pulmonar (Tomlinson *et al.*, 1997; Trzeciak *et al.*, 1993).

En pacientes con COVID-19 grave producen un estado hiperinflamatorio (Musee *et al.*, 2021a; Spoorenberg *et al.*, 2014). Por lo tanto, la efectividad terapéutica de la dexametasona probablemente se deba a las amplias actividades antiinflamatorias de los glucocorticoides. El metabolismo se lleva principalmente en el hígado y se libera alrededor del 10% en la orina (Cummings *et al.*, 1990).

Como resultado, la dexametasona puede potencialmente ingresar al medio ambiente a través de la descarga de aguas residuales tratadas en cuerpos de agua como ríos, lagos y arroyos (Musee *et al.*, 2021b). Si bien existe una investigación limitada sobre los efectos específicos de la dexametasona en la contaminación del agua, los estudios han demostrado que la presencia de productos farmacéuticos como los esteroides pueden tener impactos negativos en los organismos acuáticos como los peces, los invertebrados y las algas. Por ejemplo, la exposición a esteroides puede provocar cambios en el comportamiento reproductivo y la función endocrina de los peces (Zhong *et al.*, 2021). Otro estudio indicó que la dexametasona puede tener impactos negativos en los biomarcadores sanguíneos, los procesos bioquímicos y los procesos hematobioquímicos en el bagre (Sayed *et al.*, 2022).

#### 5.3.1.4. Venlafaxina

Se han reportado algunas investigaciones de los efectos negativos de la venlafaxina en la contaminación del agua. Un estudio realizado por el Departamento de Salud de Minnesota informó que la venlafaxina puede causar daño a los peces, caracoles y plantas

que viven en arroyos afectados por aguas residuales (Venlafaxine y Desvenlafaxine, s.f.). Por otro lado, se descubrió que la degradación de la venlafaxina durante los procesos de desinfección con cloro libre y dióxido de cloro, puede generar en subproductos de degradación, algunos de los cuales pueden ser más tóxicos que el compuesto original (Lv *et al.*, 2021). Otros estudios han encontrado que la venlafaxina puede cambiar el comportamiento y los procesos fisiológicos relacionados de la trucha marrón (Ziegler *et al.*, 2021) y del pez cebra, en el que puede causar bioacumulación e hipometilación del ADN lo que podría estar relacionado con cambios en los mecanismos moleculares de estos peces (Lin *et al.*, 2022). En general, los estudios sugieren que la venlafaxina puede tener efectos negativos en los organismos acuáticos, incluidos los peces, los caracoles, las plantas y el pez cebra, cuando está presente en el agua en concentraciones ambientales (Lin *et al.*, 2022; Lv *et al.*, 2021; Ziegler *et al.*, 2021). Sin embargo, se requieren de más investigaciones para determinar el alcance de estos efectos y los riesgos potenciales para el medio ambiente y la salud humana.

#### **5.4 Normatividad**

La Norma Oficial Mexicana NOM-001-SEMARNAT-2021 “[e]stablece los límites permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales” y la NOM-002-ECOL-1996 “[e]stablece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado urbano o municipal los bienes acuíferos nacionales” no consideran de manera sólida la presencia de este tipo de moléculas (Cerro-López *et al.*, 2021).

La contaminación por fármacos solamente es mencionada en la NOM-073-ECOL-1994 que: “Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a cuerpos receptores provenientes de las industrias farmacéuticas y farmoquímica”, no obstante, no ha sufrido de modificaciones en los últimos 30 años

ignorando así la regulación de la contaminación por el manejo de los productos comercializados y usados por la población en la liberación en aguas residuales (DOF, 1995).

La presencia de medicamentos empleados durante la emergencia sanitaria provocada por COVID-19 presenta un nuevo reto ambiental derivado de la liberación de los fármacos en los mantos acuíferos, favoreciendo a los efectos negativos en los procesos naturales, algunos de estos son: paracetamol, ivermectina, dexametasona y venlafaxina (Barac *et al.*, 2022; Camargo y Alonso, 2006; Efrain Merma Chacca *et al.*, 2022; Pashaei *et al.*, 2022).

## **5.5 Técnicas utilizadas para remover compuestos farmacéuticos del agua**

### 5.5.1. Técnicas convencionales

Existen varias técnicas convencionales para eliminar compuestos farmacéuticos del agua, que incluyen las siguientes.

#### *5.5.1.1. Adsorción*

Este proceso implica el uso de adsorbentes como el carbón activado para eliminar los productos farmacéuticos del agua (Rodríguez-Serin *et al.*, 2022). La adsorción es un proceso práctico, pero se realiza principalmente en estudios con un diseño experimental puro, y no se ha evaluado su aplicabilidad a escalas mayores (Zhang *et al.*, 2021). El carbón activado en polvo (PAC) y carbón activado granular (GAC), se ha evaluado para medir la eficiencia en la eliminación de compuestos farmacéuticos (Zhang *et al.*, 2021). Los resultados del estudio mostraron que tanto el PAC como el GAC fueron efectivos para eliminar Paracetamol, Carbamazepina, Cafeína y Metronidazol del agua. La eficiencia de eliminación fue variable, la cafeína solo alcanzó un 75 % de remoción mientras que Carbamazepina, Metronidazol y Paracetamol fue aproximadamente del 80-

98%, sin embargo, una de las limitaciones en su empleo es los costos para su utilización en volúmenes elevados (Zhang *et al.*, 2021).

#### 5.5.1.2. Ozonización

La ozonización implica el uso de ozono como un fuerte agente oxidante, para descomponer los compuestos farmacéuticos en sustancias más simples y menos nocivas (Rodríguez-Serin *et al.*, 2022). La ozonización se puede realizar directa o indirectamente, esta última implicando la adición de peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) para mejorar el proceso de oxidación. El porcentaje de eliminación de compuestos farmacéuticos por ozonización varía según el compuesto farmacéutico específico y las condiciones de operación (Zilberman *et al.*, 2023). Un estudio examinó la eficiencia de eliminación de iohexol, bezafibrato, lamotrigina, valsartán, ciclofosfamida y sulfametoxazol por ozonización directa e indirecta y encontró que ambos métodos mostraron una eliminación que rondaba del 34 % al 100 % de los compuestos originales (Zilberman *et al.*, 2023). Otro estudio investigó la eficiencia de eliminación de cuatro productos farmacéuticos por ozonización y encontró que la eficacia de eliminación de los productos farmacéuticos excedía el 85 %, excepto el metoprolol que solo alcanzó 60 % (de Wilt *et al.*, 2018). La ozonificación se ha utilizado en años recientes debido a los resultados positivos, sin embargo, se requiere de una infraestructura que permita la integración en la remediación de aguas contaminadas (de Wilt *et al.*, 2018; Zilberman *et al.*, 2023).

#### 5.5.1.3. Fotocatálisis

La fotocatálisis es un proceso que combina la fotoquímica y la catálisis para degradar los contaminantes orgánicos, incluidos los compuestos farmacéuticos en el agua (Rodríguez-Serin *et al.*, 2022). El proceso implica el uso de un fotocatalizador, que suele ser un material semiconductor que absorbe la luz y genera pares huecos de electrones, que pueden reaccionar con las moléculas de agua para producir especies reactivas de

oxígeno (ROS: *Reactive Oxygen Species*; Gaur *et al.*, 2022). Estos ROS pueden reaccionar con las moléculas farmacéuticas y luego oxidarlos, provocando la degradación en sustancias más simples y potencialmente menos dañinas (Rodríguez-Serin *et al.*, 2022). Un estudio evaluó la eliminación de ciclofosfamida (CRZ) y el irinotecán (IMT); fármacos usados en el tratamiento del cáncer, utilizando óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) como fotocatalizador. El estudio encontró que la eficiencia fotocatalítica se redujo principalmente al agregar varias sales inorgánicas y compuestos orgánicos a la mezcla de medicamentos. La presencia de iones fosfato en los sistemas de fotocatalisis CRZ e IMT tuvo un efecto negativo en la remoción, lo que confirma la hipótesis de que los fosfatos son inhibidores de la fotocatalisis de  $\text{TiO}_2$ . No obstante, el estudio informó una eliminación significativa de los dos medicamentos contra el cáncer, con una eficiencia de eliminación del 80-90% para CRZ y del 70-80% para IMT después de 120 minutos de fotocatalisis (Moradi *et al.*, 2021; Tolić Čop *et al.*, 2022). El empleo de fotocatalisis representa una alternativa, sin embargo, al igual que el carbón activado, los costos comparados con la eficiencia representan una limitante en su empleo a nivel industrial (Gaur *et al.*, 2022).

El porcentaje de eliminación de compuestos farmacéuticos del agua varía según el método de tratamiento utilizado y el compuesto farmacéutico específico al que se dirige (Rodríguez-Serin *et al.*, 2022).

### 5.5.2. Técnicas biológicas

Los compuestos farmacéuticos del agua se pueden eliminar mediante diversas técnicas biológicas. Algunas de estas técnicas incluyen biorreactores de membrana, biorreactores, procesos de crecimiento adherido (biopelícula), proceso de lodos activados, digestión anaeróbica, fitorremediación y degradación enzimática (Zupanc *et al.*, 2013). La eficiencia de estos procesos oscila entre el 20 y el 90 % (Mansouri *et al.*, 2021).



#### 5.5.2.1. Lodos activados

El proceso de lodos activados implica el uso de microorganismos para descomponer la materia orgánica, incluidos los compuestos farmacéuticos (Mansouri *et al.*, 2021). La biodegradación y la absorción de lodo se han identificado como los dos mecanismos principales de eliminación en proceso de lodos activados (Alfonso-Muniozguren *et al.*, 2021). Para sustancias fácilmente degradables como ibuprofeno o paracetamol, se puede obtener una alta remoción del 90%, mientras que la remoción de carbamazepina suele ser inferior al 20% debido a la mínima interacción de carbamazepina con los microorganismos y/o lodo presente en el biorreactor (Mansouri *et al.*, 2021).

#### 5.5.2.2. Digestión anaerobia

La digestión anaerobia implica el uso de microorganismos para descomponer la materia orgánica en ausencia de oxígeno. Los reactores anaeróbicos están libres de moléculas de oxígeno y solo se puede encontrar oxígeno enlazado en moléculas como nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) (Peng *et al.*, 2019) lo que promueve rutas de O-desmetilación en productos farmacéuticos como guaifenesina, naproxeno, oxibenzona y mestranol, probando una reducción de sus efectos en la contaminación de agua (Lahti y Oikari, 2011).

#### 5.5.2.3. Fitorremediación

La fitorremediación implica el uso de plantas para eliminar o reducir los contaminantes del agua o suelo. La mayoría de las plantas empleadas para la fitorremediación son especies acuáticas que tienen un metabolismo adecuado para la absorción de las moléculas (Zupanc *et al.*, 2013). La especie *Typha* spp. se ha utilizado para eliminar los productos farmacéuticos de las aguas residuales, como el ibuprofeno, la carbamazepina y el ácido clofíbrico. La eficiencia de eliminación del 96, 97 y 75% para ibuprofeno, carbamazepina y ácido clofíbrico, respectivamente, liberados en condiciones

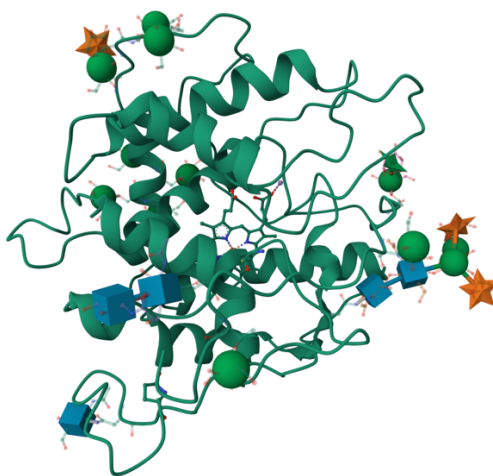
de verano después de un tiempo de retención de 7 días (Dordio *et al.*, 2010). En otra investigación se empleó un conjunto de plantas de humedales: *Typha*, *Phragmites*, *Iris* y *Juncus* para eliminar ibuprofeno e iohexol (IOH) de la solución de cultivo y determinar los mecanismos para la eliminación de este sistema. Todas las especies de plantas eliminan completamente las IBU en un experimento de 24 días, pero la eliminación de IOH mostró una variación entre el 13 y el 80 % (Y. Zhang *et al.*, 2016).

#### 5.5.2.4. Enzimas

Una forma en que los fármacos pueden degradarse en el agua es a través de la acción de las enzimas (Roohi *et al.*, 2017). Las enzimas son moléculas biológicas que catalizan reacciones (bio)químicas y algunos con una estabilidad a factores físicos como temperatura, presión y presencia de sales (Rathore *et al.*, 2022; Roohi *et al.*, 2017). Estas características de estabilidad por parte de algunas enzimas han permitido que a lo largo de la evolución se presenten en muchos sistemas naturales, incluidos los cuerpos de agua (Filimon *et al.*, 2013). La degradación de los fármacos en el agua por enzimas puede dar lugar a la formación de metabolitos que pueden tener diferentes propiedades químicas e impactos potencialmente diferentes en el medio ambiente y la salud humana, principalmente en la reducción de los efectos adversos (Mauro *et al.*, 2021). Comprender los procesos involucrados en la degradación de fármacos en el agua por enzimas es importante para desarrollar estrategias para gestionar la contaminación farmacéutica en las fuentes de agua (Camargo y Alonso, 2006; Mauro *et al.*, 2021). Este tema se ha convertido en un área activa de investigación, con científicos que exploran los mecanismos de degradación de fármacos catalizada por enzimas y los factores que influyen en este proceso (Filimon *et al.*, 2013).

## 5.6 Enzima peroxidasa

La Cloroperoxidasa (CPO) (Figura 1), una enzima versátil de aproximadamente 299 aminoácidos que contiene un grupo hemo en el sitio catalizador y realiza reacciones óxido similares a las de la peroxidasa (Alvarado y Torres, 2009), catalasa y reacciones de halogenación (Hofrichter *et al.*, 2010). Catalizan la oxidación de un electrón de sus sustratos, empleando un peróxido, generalmente  $\text{H}_2\text{O}_2$ . La CPO fue aislada por primera vez del hongo *Caldariomyces fumago*, actualmente *Leptoxyphium fumago* (Crous, 2020); tiene la capacidad de efectuar reacciones como epoxidación, sulfoxidación y la oxidación de enlaces de hidrocarburos activados, lo que ha demostrado su versatilidad como enzima (Miller *et al.*, 1995; Undiano *et al.*, 2022; Wannstedt *et al.*, 1990).



**Figura 1.** Enzima cloroperoxidasa de *Leptoxyphium fumago* (Sundaramoorthy *et al.*, 1995). Código PDB: P04963

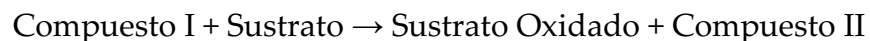
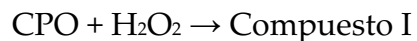
### 5.6.1. Mecanismo de reacción

El mecanismo de reacción de la cloroperoxidasa (CPO) implica varios pasos e intermedios (Tabla 1). Su actividad catalítica se basa principalmente en la coordinación del grupo hemo con varios sustratos (Alvarado y Torres, 2009).

**Tabla 1.** Descripción de mecanismo de reacción de Cloroperoxidasa. (De Montellano, 2010; Ruiz-Dueñas y Martínez, 2010; Torres y Ayala, 2010)

Paso de reacción	Descripción
<i>Formación del compuesto I</i>	CPO reacciona con el peróxido de hidrógeno (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ), y el hierro hemo (Fe) dentro del sitio activo de la enzima. Esta interacción conduce a la formación de un intermedio altamente reactivo denominado "Compuesto I". El compuesto I contiene una especie de hierro-oxo (Fe=O) y un radical catiónico de porfirina. Esta especie es un potente oxidante y actúa como la principal especie activa en las reacciones enzimáticas.
<i>Unión al sustrato</i>	El sustrato orgánico se une al sitio activo del Compuesto I. Algunos sustratos que han sido puestos a prueba contra CPO han sido compuestos aromáticos, como fenoles, alquenos, alcoholes, aldehídos, cetonas, halógenos y grupos que contienen azufre, como tioles, o nitrógeno como nitritos y amidas. La unión puede ocurrir a través de varias interacciones, dependiendo de la naturaleza del sustrato y la reacción específica.
<i>Oxidación del sustrato</i>	El hierro del grupo hemo del Compuesto I facilita la transferencia de un átomo de oxígeno al sustrato, lo que conduce a la oxidación del sustrato. Esta transferencia de átomos de oxígeno puede implicar reacciones radicales directas o la formación de intermediarios de vida corta.
<i>Formación del compuesto II</i>	Después de la oxidación del sustrato, el Compuesto I se convierte en el "Compuesto II". En el Compuesto II, el hierro hemo está en estado férrico (Fe <sup>3+</sup> ) y el radical porfirina ha desaparecido.
<i>Reciclado de CPO</i>	Para regenerar la enzima activa, el Compuesto II debe reducirse a su estado de reposo, Compuesto 0. Este proceso generalmente implica la transferencia de electrones de una molécula donante, como un compuesto aromático o una molécula orgánica pequeña al hierro hemo, convirtiéndolo del estado férrico (Fe <sup>3+</sup> ) al estado ferroso (Fe <sup>2+</sup> ). Este paso de reducción prepara la enzima para otra ronda de catálisis con H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .

El esquema general de reacción se puede resumir de la siguiente manera:



Vale la pena señalar que el mecanismo de reacción preciso puede variar según el sustrato específico y la reacción catalizada por la cloroperoxidasa (Ruiz-Dueñas y Martínez, 2010). Además, el estudio de los mecanismos enzimáticos es un campo de investigación complejo y los estudios en curso continúan revelando más detalles y complejidades de la actividad catalítica de CPO (Alvarado y Torres, 2009).

#### 5.6.2. Uso como agente biológico para el tratamiento de aguas residuales

En este sentido, las múltiples reacciones han dirigido las investigaciones a procesos de degradación de moléculas contaminantes, por ejemplo, hidrocarburos aromáticos polícíclicos, plaguicidas y recientemente fármacos (Alvarado y Torres, 2009; Filimon *et al.*, 2013; Rathore *et al.*, 2022).

La CPO es capaz de reducir átomos de halógeno (por ejemplo, cloro y bromo) de ciertos compuestos orgánicos, lo que lleva a la deshalogenación de contaminantes. Esto es particularmente útil para tratar agua contaminada con compuestos orgánicos halogenados como solventes clorados (He *et al.*, 2021; Miller *et al.*, 1995). Degradación de plaguicidas que son a menudo una fuente importante de contaminación del agua. La cloroperoxidasa tiene el potencial de descomponer algunos residuos de pesticidas, haciendo que el agua sea más segura para el consumo y la vida acuática (Bairán *et al.*, 2022; He *et al.*, 2021).

Es importante tener en cuenta que, si bien la cloroperoxidasa se muestra prometedora para las aplicaciones de limpieza del agua, su uso práctico en el tratamiento del agua a gran escala aún está bajo investigación y desarrollo (Ruiz-Dueñas y Martínez, 2010). Las enzimas como el CPO pueden enfrentar desafíos en términos de estabilidad, costo y disponibilidad de  $H_2O_2$  como oxidante. Sin embargo, la investigación y los avances en biotecnología ofrecen nuevas líneas de investigación para la aplicación futura de la cloroperoxidasa y otras enzimas en los procesos de limpieza del agua, por ejemplo, aquellos contaminantes que provienen de la industria farmacéutica y que debido a la pandemia su presencia en mantos acuíferos puede relacionarse con alteraciones a nivel ecológico y a la salud humana (Lim *et al.*, 2018; Torres y Ayala, 2010).

## VI. MATERIALES Y MÉTODOS

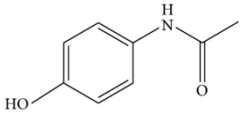
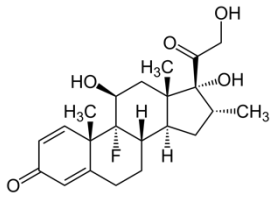
### 6.1. Reactivos

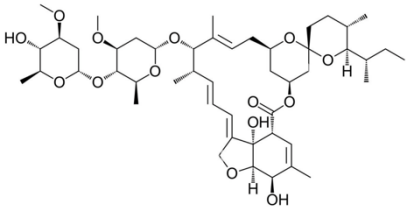
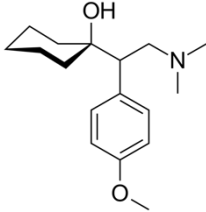
Acetonitrilo grado HPLC (*High-Performance Liquid Chromatography*), fosfato de potasio al 99% adquiridos a Fermont, ácido fosfórico al 85% adquirido de Karal, peróxido de hidrógeno al 30% adquirido a J.T. Baker. Ivermectina, Paracetamol, Dexametasona y Venlafaxina adquiridos a Sigma-Aldrich, enzima cloroperoxidasa del hongo *Leptoxylum fumago* comprada a Altech, con una actividad catalítica de 22 000 min<sup>-1</sup> usando monoclorodimedona como sustrato (Crous, 2020).

### 6.2. Compuestos

Se seleccionaron cuatro compuestos farmacéuticos con alta demanda de consumo durante la pandemia de Covid-19 (Wu et al., 2020), estos compuestos fueron, Paracetamol (PCT), Ivermectina (IVM), Dexametasona (DXM) y Venlafaxina (VFX). En la Tabla 2 se muestran las características químicas de cada uno de los compuestos farmacéuticos.

**Tabla 2.** Características de los compuestos farmacéuticos evaluados

Compuesto	Nomenclatura IUPAC	Número CAS	Pureza
 <i>Paracetamol (PCT)</i> 151.16 g/mol	N-(4-hidroxifenil)etanamida	103-90-2	≥ 99.0 %
	9-fluoro-11β,17,21-trihidroxi-16a-metilpregna-1,4-dieno-3,20-diona	50-02-2	98%

<p><i>Dexametasona (DXM)</i> 392.46 g/mol</p>			
 <p><i>Ivermectina B1a (IVM)</i> 875.1 g/mol</p>	<p>(1'R, 2R, 4'S, 5S, 6R, 8'R, 10'E, 12'S, 13'S, 14'E, 16'E, 20'R, 21'R, 24'S)-21', 24'-dihidroxi-12' - ((2R, 4S, 5S, 6S) - 5 - ((2S, 4S, 5S, 6S) - 5-hidroxi - 4-metoksi - 6 - metiloxan - 2 -il]oksi) - 4 - metoksi - 6 - metiloxan-2-il]oksi) - 5, 11', 13', 22' - tetrametil- 6 -(propan-2-il) - 3', 7', 19' - trioxaspiro [oxano-2, 6'-tetraciclo [15.6.1.1<sup>4</sup>, 8.0<sup>2</sup>, 2<sup>4</sup>] pentacosano] - 10', 14', 16', 22' - tetraen-2'-ona; (1'R, 2R, 4'S, 5S, 6R, 8'R, 10'E, 12'S, 13'S, 14'E, 16'E, 20'R, 21'R, 24'S) - 6- [(2R) -butan-2-il] -21', 24'-dihidroxi-12'- ((2R, 4S, 5S, 6S) - 5 - ((2S, 4S, 5S, 6S) - 5-hidroxi - 4 -metoxy - 6 - metiloxan - 2 -il] oxi) - 4 -metoxin - 6. -metiloxan - 2-il]oksi)-5, 11', 13', 22'-tetrametil-3', 7', 19'- trioxaspiro [oxano-2, 6' -tetraciclo [15.6.1.1<sup>4</sup>, 8.0<sup>20</sup>, 2<sup>4</sup>] pentacosano] -10', 14', 16', 22'-tetraen-2'-ona</p>	<p>70288-86-7</p>	<p>≥ 90 %</p>
 <p><i>Venlafaxina (VFX)</i> 277.402 g/mol</p>	<p>1- [2- (dimetilamino) -1- (4-metoxifenil) etil] ciclohexanol</p>	<p>99300-78-4</p>	<p>99.4 %</p>



### 6.3. Técnicas analíticas utilizadas

#### 6.3.1. Análisis del espectro de absorción y selección de la banda de absorción

El espectro electrónico de absorción se obtuvo mediante espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis) utilizando el espectrofotómetro VARIAN Cary 50, con celdas de cuarzo de capacidad de 1 mL. Se analizaron los cinco compuestos farmacéuticos en un intervalo de 200-600 nm. En la Tabla 3 se muestran las concentraciones empleadas para el análisis de los compuestos farmacéuticos. Para cada uno se comparó el espectro de absorción obtenido con los reportados en la literatura para verificar la presencia del compuesto activo.

Tabla 3. Concentraciones analizadas mediante UV-Vis

Compuesto	Concentración (μM)
Paracetamol	298
Dexametasona	64
Ivermectina	29
Venlafaxina	54

Con base en los espectros de absorción obtenidos, se seleccionó la longitud de onda de cada uno de los compuestos farmacéuticos para los análisis posteriores.

#### 6.3.2. Cromatografía de líquidos de alta eficiencia (HPLC)

A partir de las longitudes de onda seleccionadas para cada uno de los compuestos farmacéuticos se analizaron por cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC, por sus siglas en inglés) por método de separación isocrático a un flujo constante de 0.7 mL/min utilizando el equipo Perkin Elmer serie 200 acoplados a un detector UV, con una columna

C<sub>18</sub> fase reversa, tamaño de partícula de 5 µM, con las siguientes dimensiones, 150 mm de largo por 3.0 mm de diámetro interno. La fase móvil empleada para la elución de los compuestos, así como la longitud de onda de detección, se muestra en la Tabla 4.

**Tabla 4.** Método de separación isocrático para la oxidación de los compuestos ensayados mediante HPLC

Compuesto	Longitud de onda	Fase A	Fase B	Relación de las fases
Paracetamol	243 nm	ACN	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> [20 mM pH:2]	40: 60
Dexametasona	240 nm	ACN	H <sub>2</sub> O	40: 60
Ivermectina	247 nm	ACN	H <sub>2</sub> O	90: 10
Venlafaxina	225 nm	ACN	H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub> [20 mM pH:2]	35: 65

De acuerdo con los resultados obtenidos en los ensayos con HPLC, se determinó la baja viabilidad de cuantificar la degradación de DXM, por lo que ya no se realizaron más pruebas con este compuesto.

### 6.3.3 Curva de calibración

Se realizó una curva de calibración por HPLC de cada compuesto utilizado a diferentes concentraciones del fármaco. Partiendo de los estándares de referencia se hicieron diluciones por triplicado en medio acuoso a diferentes concentraciones para cada compuesto farmacéutico, en la Tabla 5 se especifica el rango empleado.

**Tabla 5.** Concentraciones utilizadas para la curva de calibración

Compuesto	Rango de concentraciones [μM]
Paracetamol	100-500
Ivermectina	5.7-114
Venlafaxina	3.6-144

Para cada punto en las curvas de calibración se obtuvo el área correspondiente y se graficó contra la concentración; la relación entre los datos se hizo mediante el método de mínimos cuadrados para obtener la recta de regresión lineal utilizando Origin 9.0 *software* (Originlab Corporation, Northampton, MA, USA) con la función de ajuste lineal aplicando la ecuación 1:

$$y = mx + b \quad (1)$$

Donde  $y$  corresponde a la variable dependiente,  $m$  es la pendiente,  $x$  es la variable independiente y  $b$  es la intersección con el eje  $y$ .

## 6.4 Análisis de la capacidad oxidativa

### 6.4.1. Evaluación de la capacidad oxidativa

La determinación de la capacidad oxidativa de la enzima cloroperoxidasa se realizó usando los diferentes compuestos a concentraciones micromolares, así como diferentes cantidades de enzima. Las muestras de 1 mL se hicieron por triplicado y contenían amortiguador de fosfatos 60 mM pH 3, KCl, peróxido de hidrógeno y enzima cloroperoxidasa, todas a temperatura ambiente. La transformación de los compuestos se monitoreó en primer lugar por espectrofotometría UV-Vis a diferentes tiempos de reacción, en un intervalo de entre 5 y 10 minutos. Las condiciones finales del ensayo para cada uno de los medicamentos se enlistan en la Tabla 6.

**Tabla 6.** Concentraciones utilizadas para los medicamentos ensayados mediante UV-Vis

Condiciones	Paracetamol	Dexametasona	Ivermectina	Venlafaxina
Amortiguador fosfatos [mM]	60	60	60	60
KCl [mM]	20	20	20	20
Compuesto [ $\mu$ M]	298	64	29	54
Peróxido de Hidrógeno [mM]	0.05	0.1	0.1	0.1
Cloroperoxidasa [ $\mu$ M]	0.00575	0.0115	0.0115	0.0115

La capacidad de la cloroperoxidasa de oxidar el compuesto se determinó cualitativamente por los cambios en el espectro electrónico de absorción en el intervalo de 200-600 nm.

#### 6.4.2. Cuantificación de la degradación de los compuestos modelo

Se cuantificó el grado de oxidación y la velocidad de reacción de cada uno de los compuestos con la enzima cloroperoxidasa por HPLC. Las condiciones de reacción utilizadas fueron las mismas que las descritas en el ensayo de UV-Vis enlistado en la Tabla 6. El método de separación empleado también se muestra en la Tabla 4.

La cuantificación de la degradación se calculó mediante el cambio del área del pico correspondiente al compuesto después del tratamiento enzimático a diferentes tiempos de reacción. Las áreas obtenidas antes y después del tratamiento fueron convertidas a concentración empleando la curva de calibración previamente generada.

#### 6.5. Constantes cinéticas

Se estimaron las constantes cinéticas,  $K_m$  y  $V_{max}$ , mediante HPLC en función de la velocidad inicial de cada compuesto, variando la concentración de peróxido de

hidrógeno llevadas a 1 mL por triplicado a temperatura ambiente con las condiciones de reacción descritas en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Concentraciones de reacción utilizadas para la determinación de las constantes cinéticas

	<b>Paracetamol</b>	<b>Ivermectina</b>	<b>Venlafaxina</b>
Amortiguador fosfatos [mM]	60	60	60
KCl [mM]	20	20	20
Compuesto [ $\mu$ M]	298	29	54
Peróxido de hidrógeno [mM]	0.01-0.6	0.01-0.6	0.01-0.6
Cloroperoxidasa [ $\mu$ M]	0.00575	0.0115	0.0115

De las áreas obtenidas, se graficó la concentración de peróxido de hidrógeno contra la velocidad inicial de cada compuesto calculada a partir de la ecuación 2.

$$V_o = \frac{C_o - C_f}{t} \quad (2)$$

En donde  $V_o$  corresponde a la velocidad inicial calculada,  $C_o$  es la concentración inicial,  $C_f$  es la concentración final y  $t$  el tiempo de reacción que varió entre 3-5 minutos. Con base en las velocidades se determinó la velocidad máxima de reacción, así como la  $K_M$  a partir del ajuste no lineal con la ecuación 3 que corresponde al modelo de Michaelis-Menten.

$$V_o = \frac{V_{max} [S]}{K_M + [S]} \quad (3)$$

Donde  $V_o$  corresponde a la velocidad inicial calculada,  $V_{max}$  a la velocidad máxima de reacción,  $K_M$  a la constante de Michaelis y  $S$  a la concentración de peróxido de hidrógeno. El ajuste no lineal de la ecuación se realizó mediante el software Origin 9.0

software (Originlab Corporation, Northampton, MA, USA) con la ecuación de *kinetics-Michaelis Menten*.

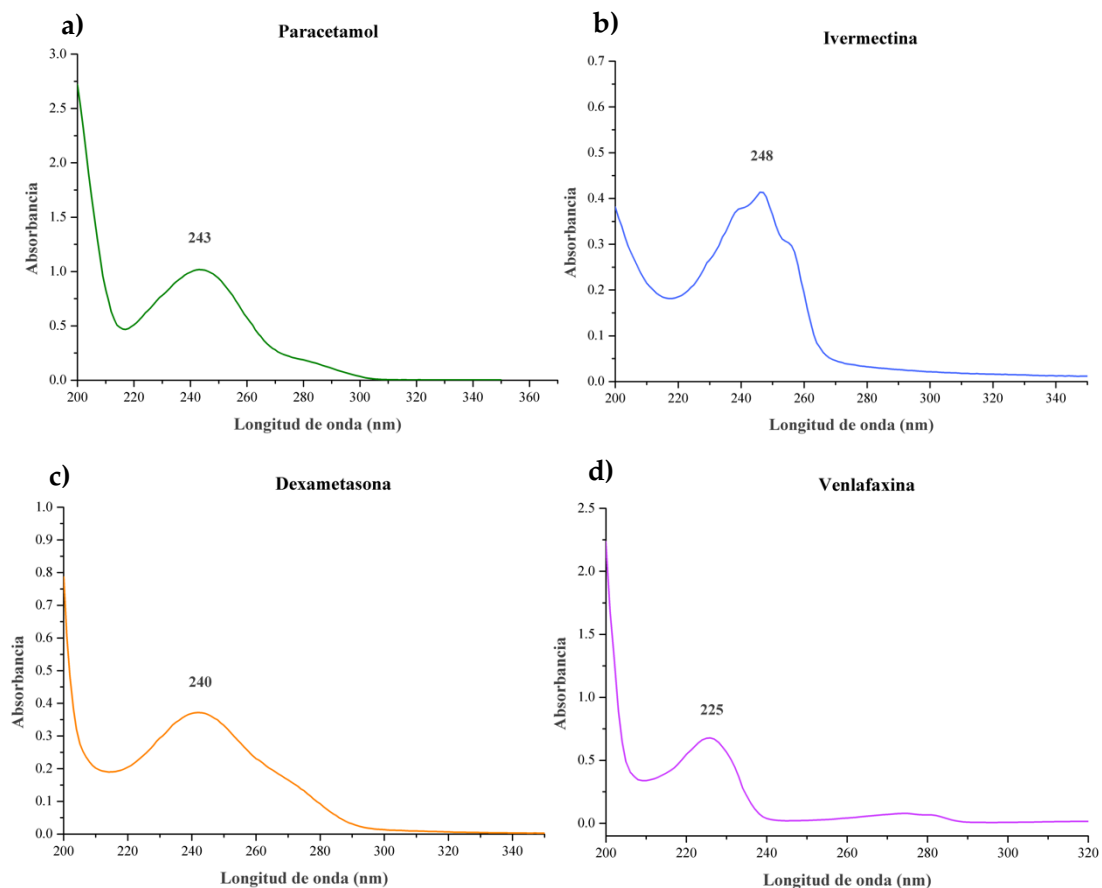
## VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1. Identificación de los compuestos farmacéuticos

El análisis de los compuestos farmacéuticos PCT, IVM, DXM y VFX mediante los equipos de UV-Vis y HPLC se muestran a continuación.

#### 7.1.1. Espectro de absorción

De cada uno de los compuestos farmacéuticos se obtuvo el espectro de absorción a partir de los estándares de referencia, como se muestra en la Figura 2.



**Figura 2.** Espectro de absorción mediante UV-vis. a) Paracetamol b) Ivermectina c) Dexametasona d) Venlafaxina

Para cada uno de los compuestos ensayados se tomó la banda máxima de absorción (Figura 2) para determinar a qué longitud de onda se cuantificarían los compuestos mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Al tomar la medición de las bandas máximas se disminuye el error de medición y se aumenta la sensibilidad del equipo (Grajeda, 2014). En el caso de PCT, se cuantificó a 243 nm, para IVM a 248 nm, DXM a 240 nm y VFX a 225 nm.

De acuerdo con la literatura, se observó que los espectros de absorción coincidieron con los obtenidos en el trabajo (Mafull *et al.*, 2014), (Kulkarni *et al.*, 2020), (Madhan *et al.*, 2019), (Rao *et al.*, 2011). Para el caso de IVM (Figura 2b) y VFX (Figura 2d) se observó la presencia de más una banda, sin embargo, ambos se encuentran dentro de lo reportado.

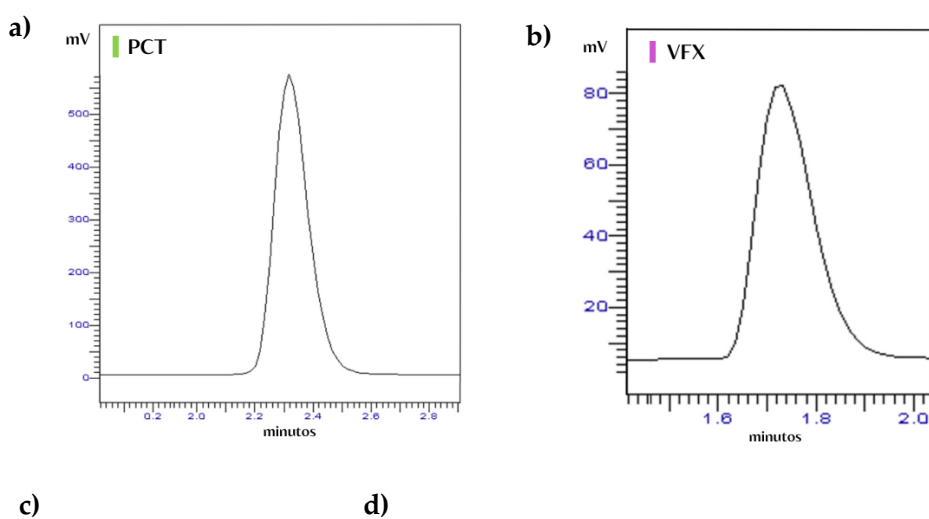
#### 7.1.2. Identificación cromatográfica

A partir de los picos de absorción de cada uno de los compuestos farmacéuticos se procedió a la cuantificación mediante HPLC y así se evaluaron los distintos tiempos de retención en el equipo. En la Tabla 8. se muestran los resultados de los mismos.

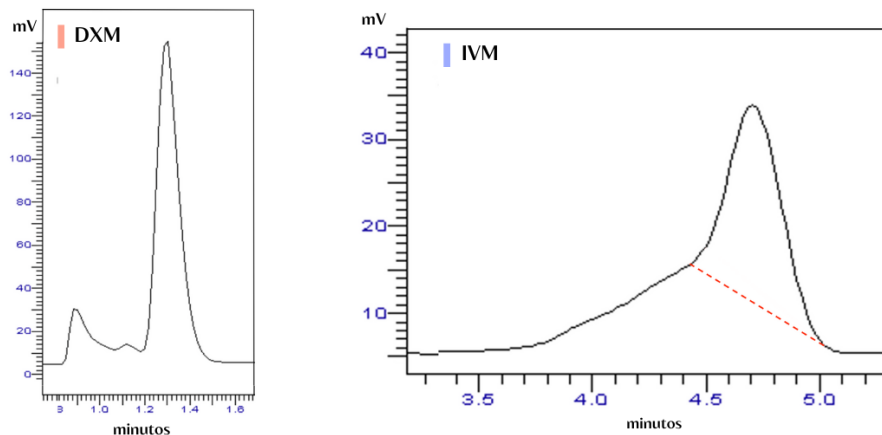
**Tabla 8.** Tiempos de retención obtenidos mediante HPLC para los compuestos analizados

<b>Compuesto</b>	<b>Tiempo de retención (min)</b>
Paracetamol	2.3
Ivermectina	4.7
Dexametasona	1.2
Venlafaxina	1.6

Como parte inicial se muestran los cromatogramas obtenidos mediante el ensayo. En la Figura 3 a) la cual corresponde a PCT, se puede observar la obtención de un pico bien definido, con ello se clasificaron como óptimas las condiciones para los ensayos posteriores; caso similar a la VFX (Figura 3b) en donde se presenta un pico bien definido para la continuación de los ensayos. En el caso de DXM (Figura 3c) se observa la presencia de 3 picos coeluidos que corresponden al amortiguador de fosfatos, KCl y DXM; a pesar de los repetidos ensayos donde se variaron las condiciones experimentales como el porcentaje de fases, no se logró la separación de los mismos; es por ello que se descartó la continuación de pruebas con este compuesto, ya que su cuantificación no era óptima. Para IVM (Figura 3d) se observa la coelución de un segundo pico a un tiempo de retención de 4 – 4.5 min; esto se debe a que contiene al menos 80% del compuesto 22,23-dihidroavermectina B1a y no más del 20% de 22,23-dihidroavermectina B1b (Merck y Co, 1996), la presencia de ambos se verificó mediante la ficha técnica proporcionada por el fabricante (*Op. cit.*). De acuerdo al cromatograma, el pico de Ivermectina B1b representa menos del 3% con respecto al pico de IVM B1a por lo que no afecta su detección; para su cuantificación se realizó una integración como se muestra con la línea roja punteada y se realizó de la misma manera en los ensayos posteriores (Figura 3d).





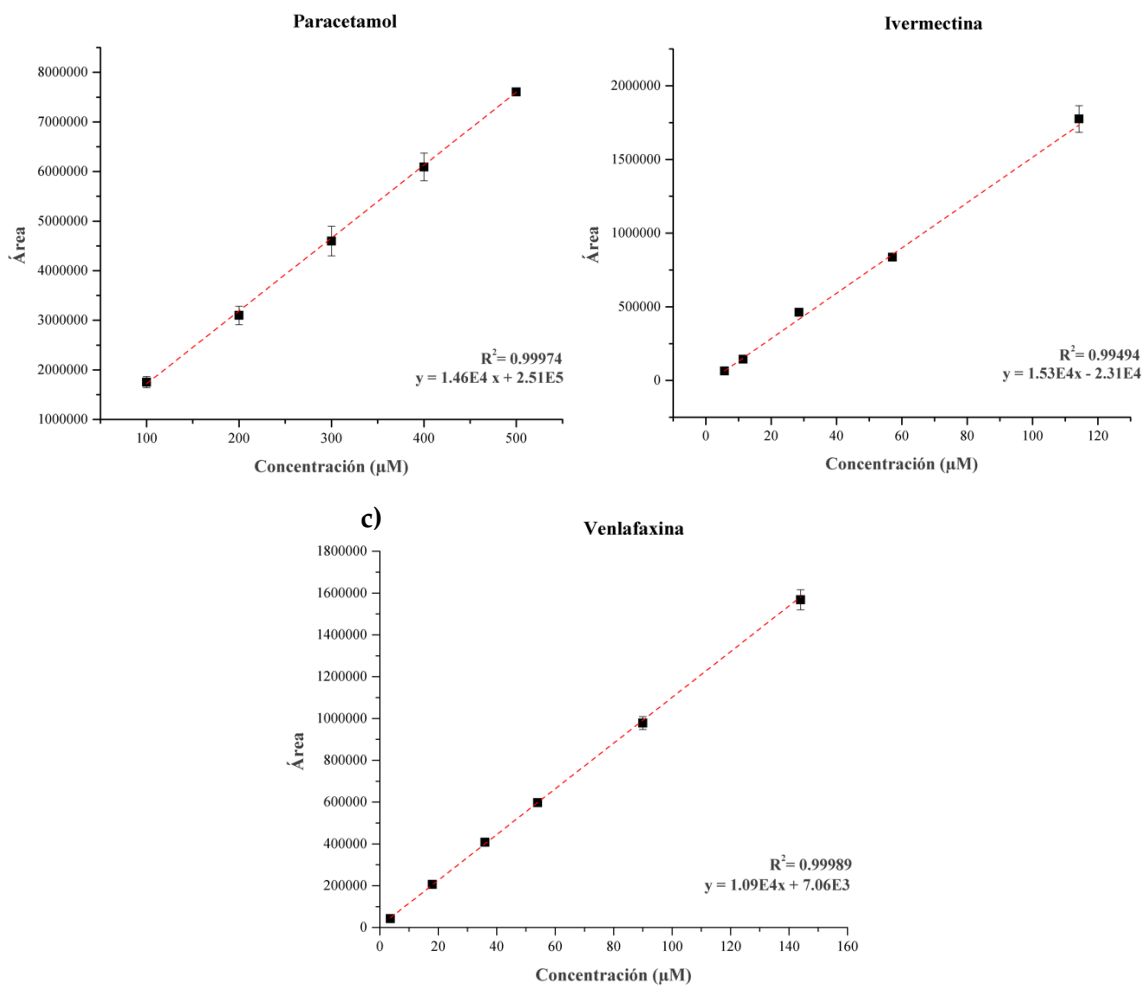


**Figura 3.** Cromatogramas de los compuestos ensayados: a) Paracetamol, b) Venlafaxina, c) Dexametasona, d) Ivermectina

#### 7.1.2.1 Curvas de calibración

Una vez identificados los tiempos de retención y condiciones óptimas se realizaron las curvas de calibración correspondientes a PCT, IVM y VFX. Para cada uno se determinaron de 5 a 6 puntos en donde se tomaron concentraciones cercanas a cero y aproximadamente el doble de la concentración analizada para los ensayos de UV-Vis (Tabla 5).

Una vez graficadas las concentraciones, se ajustaron al modelo de mínimos cuadrados para obtener la recta de regresión lineal, como se mostró en la ecuación 1. Los resultados obtenidos mediante el ajuste de la ecuación se muestran en cada una de las figuras e indicaron que el método fue correcto.

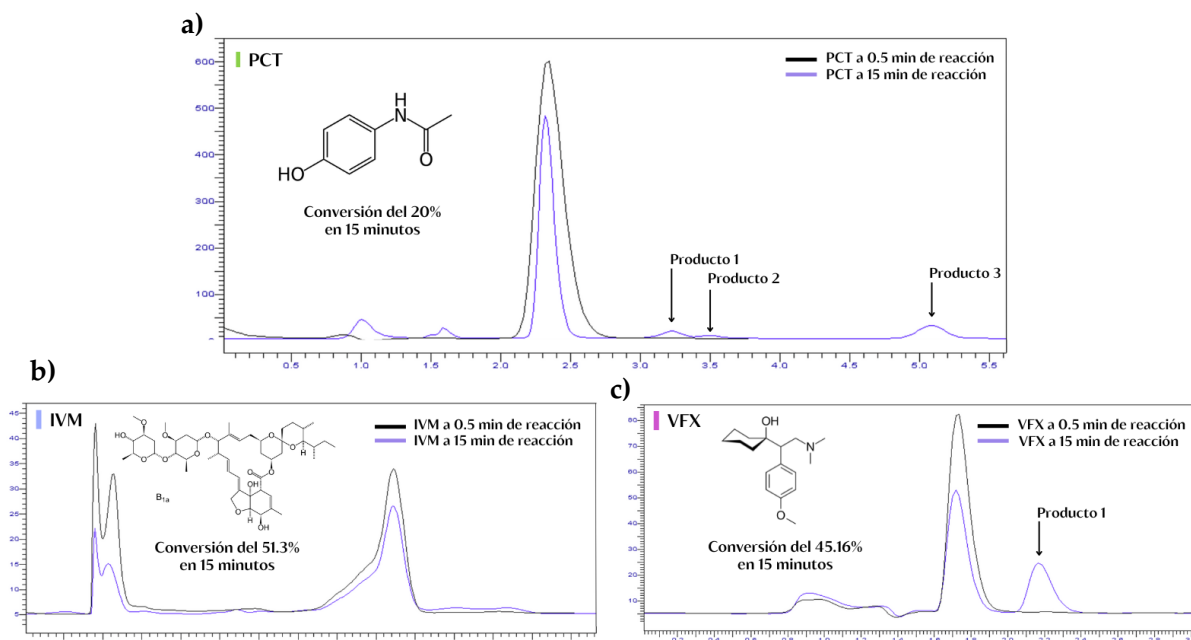


**Figura 4.** Curvas de calibración mediante HPLC para los compuestos a) Paracetamol, b) Ivermectina, c) Venlafaxina

## 7.2. Capacidad oxidativa

### 7.2.1 Oxidación enzimática de los compuestos farmacéuticos

Una vez establecidos los intervalos de cuantificación para cada uno de los compuestos, se evaluó la capacidad oxidativa de la enzima cloroperoxidasa (CPO) con los distintos fármacos mediante el cambio de áreas medidas a través de diferentes tiempos de reacción. En la Figura 5 se muestran los cromatogramas correspondientes.



**Figura 5.** Cromatogramas de la evaluación de la oxidación de medicamentos mediante CPO. a) Paracetamol, b) Ivermectina, c) Venlafaxina

En todos los casos se evaluaron las reacciones de oxidación en un intervalo de 0.5-15 minutos. Para los tres compuestos se puede observar la disminución en el área mediante la comparación de la línea negra y la línea morada. Para PCT se observó una conversión del 20% a los 15 minutos de reacción, siendo este un porcentaje menor con respecto al uso de otras peroxidases como la proveniente de berros (*Nasturtium officinale*) donde al mismo tiempo de reacción se logró una conversión del 74% (Gazga y Gazga, 2019). Con respecto a la VFX se logró una conversión del 45.16% lo cual es más eficiente que cuando se utiliza peroxidasa de soya en donde se han reportado conversiones de entre 4-7% a los 30 minutos (Morsi *et al.*, 2021). Para IVM la conversión fue de un 51.37% y se puede comparar con degradaciones realizadas con cepas de *Bacillus* donde se han logrado remociones de un 66% (Wang *et al.*, 2020). Así mismo, para PCT y VFX se observa la aparición de nuevos picos posterior a la elución del compuesto de interés, indicando la aparición de productos de degradación.

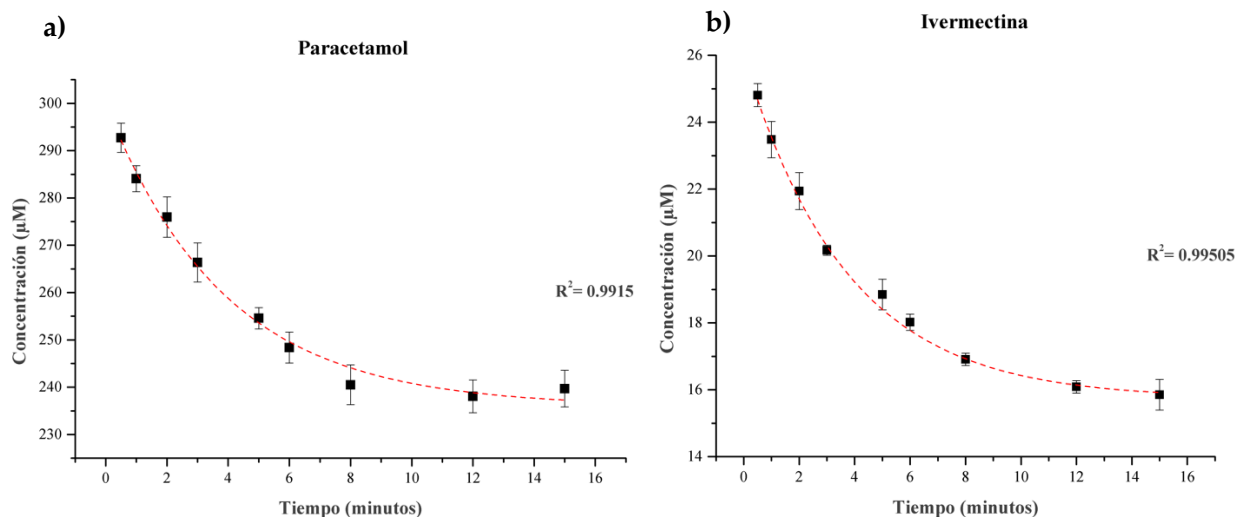
Posteriormente, las áreas fueron transformadas a concentración para observar la cantidad de sustrato oxidado por la enzima, con ello se determinaron las constantes de velocidad ( $k$ ) que se ajustaron al modelo de reacción de primer orden en el que la velocidad de reacción depende linealmente de la concentración del reactivo. Se ajustó el modelo a la derivada de la ley de velocidad para una reacción de primer orden de la siguiente manera (ecuación 4):

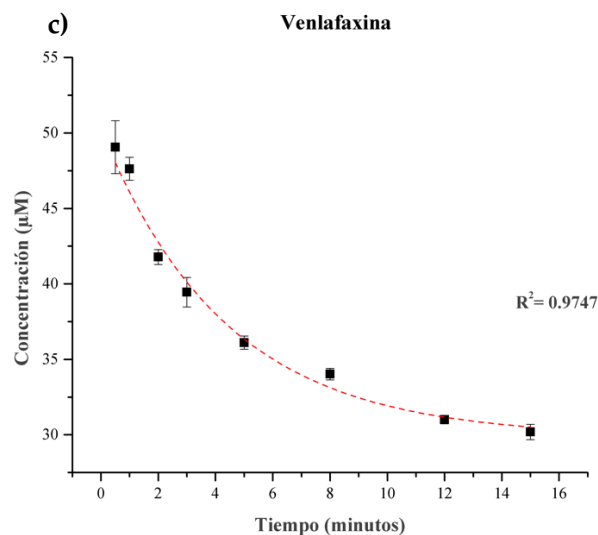
$$v = \frac{\delta[A]}{\delta t} = k[A] \quad (4)$$

Se integra la ecuación para obtener la siguiente:

$$[A] = [A]_0 e^{-kt} \quad (5)$$

En donde  $[A]$  corresponde a la concentración a diferentes tiempos de los compuestos farmacéuticos,  $[A]_0$  es la concentración inicial,  $e$  es el número de Euler (base del logaritmo natural),  $k$  corresponde a la constante de velocidad y  $t$  al tiempo transcurrido. El ajuste se realizó en el software Origin 9.0 *software* (Originlab Corporation, Northampton, MA, USA) y su comportamiento se muestra en la Figura 6.





**Figura 6.** Cinética de reacción de compuestos farmacéuticos por CPO. a) Paracetamol, b) Ivermectina, c) Venlafaxina

A partir del ajuste se muestra en la Tabla 9 la comparación de las constantes de velocidad ( $k$ ) en donde se compara la velocidad a la que se transforman los reactivos, en este caso los compuestos farmacéuticos en productos (Wei-Shou, 2018). Comparando las tres reacciones se puede observar que cuentan con velocidades muy similares, sin embargo, para el caso de la IVM, es ligeramente mayor a la de PCT y VFX, siendo esta última la más lenta. Con respecto a su comportamiento, en la parte inicial es mayor la velocidad, llegando a un descenso a los 8 minutos para PCT y a los 12 para IVM y VFX.

**Tabla 9.** Constantes de velocidad para los compuestos farmacéuticos

Compuesto	Constante de velocidad ( $k$ )	$R^2$
Paracetamol	$0.2572 \text{ min}^{-1}$	0.9915
Ivermectina	$0.2682 \text{ min}^{-1}$	0.9950
Venlafaxina	$0.2292 \text{ min}^{-1}$	0.9747

## 7.2.2 Productos de degradación

Como se mostró en la Figura 5, se observó la aparición de nuevos picos de elusión conforme aumentaba el tiempo de reacción, con lo cual se plantea la posibilidad de contar con la presencia de productos de degradación como resultado de la transformación enzimática. Se verificó que los tiempos de retención fueran siempre los mismos, dando como resultado los datos de la Tabla 10.

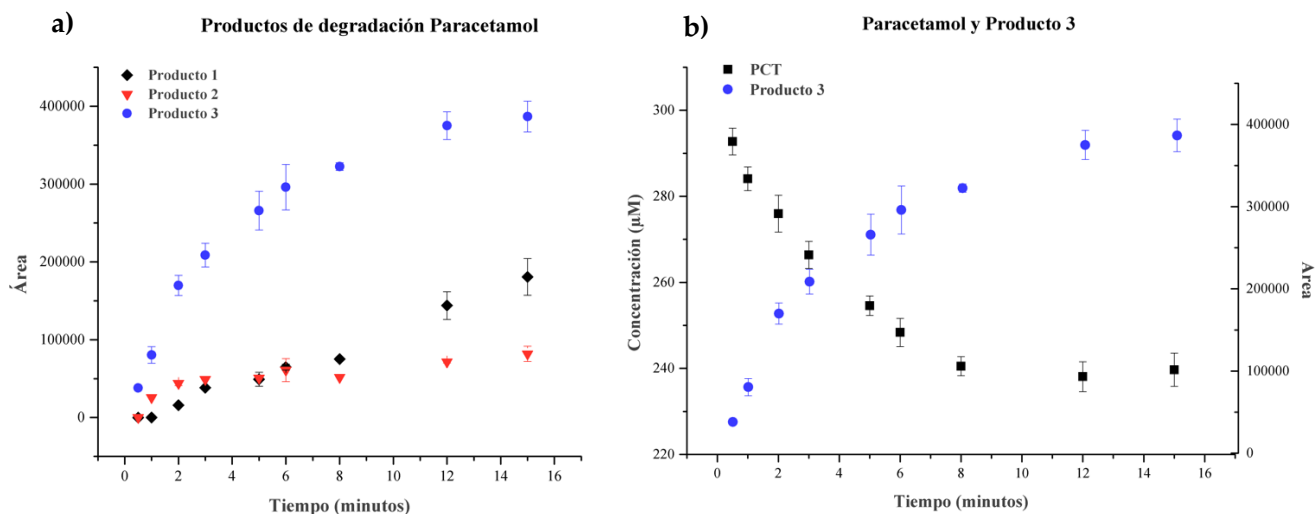
**Tabla 10.** Tiempos de retención obtenidos para los productos de degradación mediante HPLC

Compuesto	Producto de degradación	Tiempo de retención
Paracetamol	Producto 1	3.3 min
	Producto 2	3.5 min
	Producto 3	5.04 min
Venlafaxina	Producto 1	2.18 min

Una vez establecidos los tiempos de retención de los posibles productos de degradación, se cuantificó el aumento de área con respecto al tiempo.

Como se observa en la Figura 7. a), se observa la formación de 3 posibles productos con relación a la oxidación del PCT. Con distintos colores se muestra el aumento de áreas en cada uno de los productos identificados; el producto 3 es el de mayor área con respecto a los otros dos, además, se puede observar mejor la tendencia en cuanto a su aumento, es por ello que se comparó contra la oxidación de PCT en la Figura 7 b). donde se puede observar que a medida en que disminuye el área de PCT, aumenta el área del producto 3 llegando a un punto de saturación similar entre el tiempo 12 y 15. Con el uso de otras peroxidasas como la de rábano picante (HRP) y la de lignina (LiP) se han identificado mediante Espectroscopía de resonancia magnética nuclear (RMN) que después de la interacción con dichas enzimas, los protones aromáticos, moléculas iniciales inherentes

al paracetamol, desaparecen (Pylypchuk *et al.*, 2020) siendo así un antecedente para la composición de los productos de reacción.



**Figura 7.** Formación de productos y oxidación de Paracetamol. a) Comparación de la formación de productos, b) oxidación de paracetamol y formación de producto 3

Para el caso de la VFX se monitoreó únicamente la formación de un posible producto de degradación, como se muestra en la Figura 8. La tendencia de los círculos azules indica la formación del posible producto de degradación con respecto al tiempo en donde a medida que disminuye el área de la VFX, el área del producto aumenta. Para determinar más productos de degradación se podrían utilizar metodologías como Cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS) como se ha realizado en diversos estudios (Morsi *et al.*, 2021).

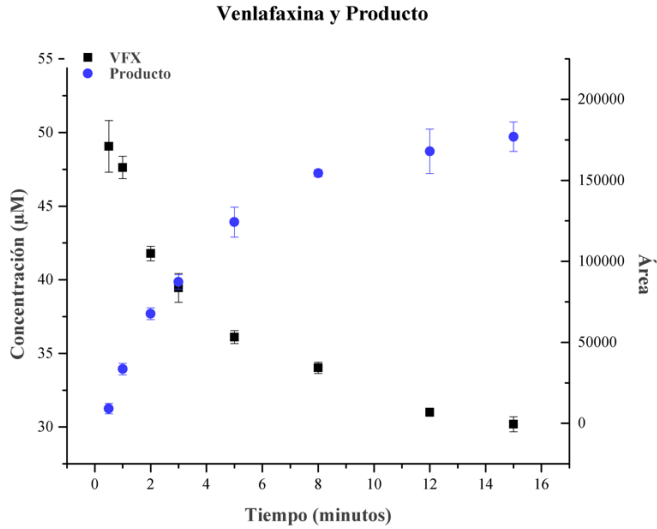
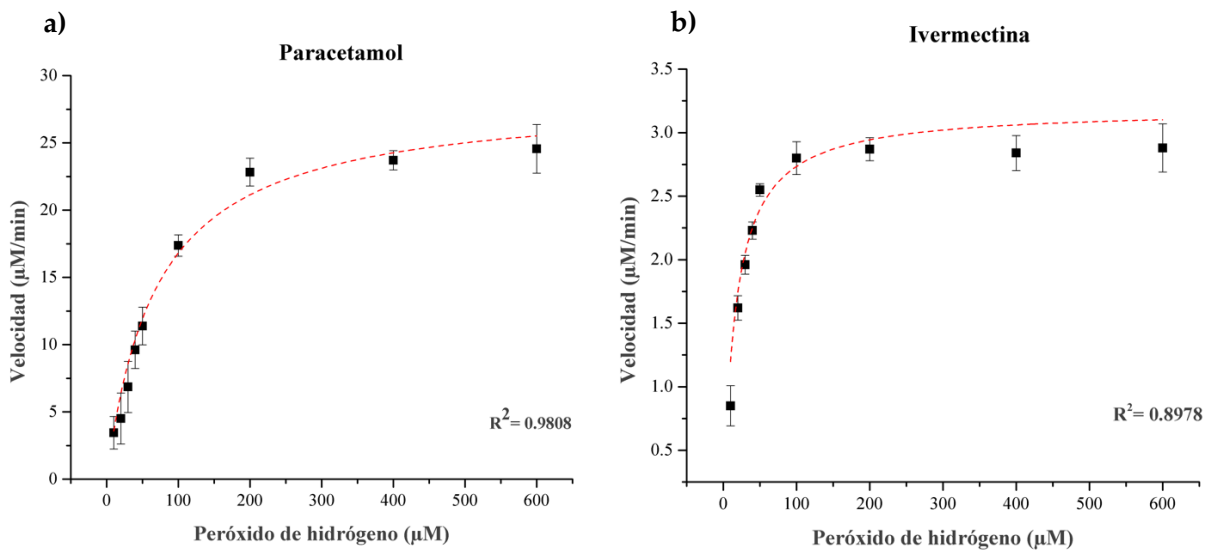


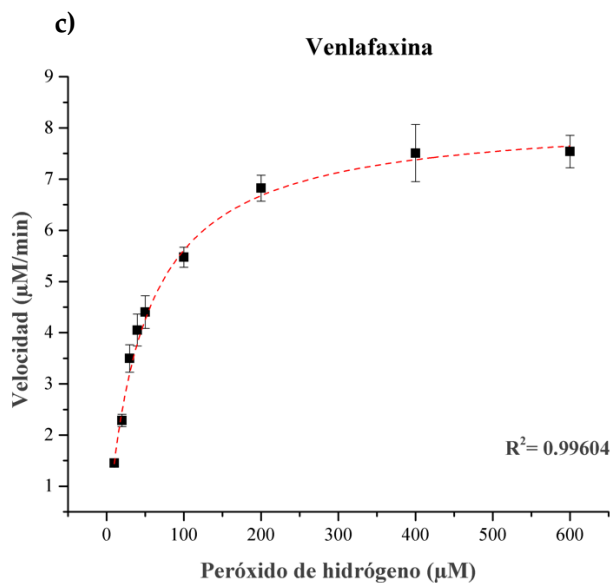
Figura 8. Formación de producto de degradación y oxidación de Venlafaxina

### 7.3. Constantes cinéticas

Se determinaron los parámetros cinéticos mediante el análisis del comportamiento hiperbólico entre la velocidad y la concentración del sustrato, manteniendo constantes la concentración de enzima y compuestos farmacéuticos, variando la concentración de peróxido de hidrógeno. El comportamiento se muestra en la Figura 9 y es considerado correcto, ya que en promedio el ajuste de la  $R^2$  es de 0.95, siendo muy cercano a 1.







**Figura 9.** Cinéticas de Michaelis-Menten variando la concentración de peróxido de hidrógeno para los compuestos farmacéuticos. a) Paracetamol, b) Ivermectina, c) Venlafaxina

### 7.3.1 Determinación de las constantes cinéticas ajustadas al modelo de Michaelis Menten

De los resultados obtenidos en la Figura 9, se obtuvieron valores como la constante de Michaelis-Menten ( $K_M$ ), y la Velocidad máxima ( $V_{max}$ ), ya que el modelo se ajustó a la ecuación 3, sin embargo, de acuerdo al mecanismo de reacción, se pueden obtener valores como la constante catalítica ( $k_{cat}$ ) así como la constante de velocidad aparente ( $k_{cat}/K_M$ ); estos se obtuvieron a partir de la descripción del mecanismo de reacción dado por la ecuación 6:



Donde de acuerdo a la suposición del estado estacionario para el complejo enzima-sustrato (ES) se obtiene el modelo clásico de Michaelis-Menten (ecuación 7):

$$v_i = \frac{V_{max}[S]}{K_M + [S]} = \frac{k_{cat}[E]_T[S]}{K_M + [S]} \quad (7)$$

De la cual se puede obtener la  $k_{cat}$  a partir de la ecuación 8 donde:

$$V_{max} = k_{cat}[E]_T \quad (8)$$

Despejando:

$$k_{cat} = \frac{V_{max}}{[E]_T} \quad (9)$$

Donde  $v_i$  corresponde a la velocidad inicial,  $V_{max}$  es la velocidad máxima,  $[S]$  es la concentración del sustrato,  $K_M$  la constante de Michaelis-Menten,  $k_{cat}$  la constante catalítica y  $[E]_T$  es la concentración total de enzima (López y Huerta, 2004). Una vez despejada la ecuación se sustituyeron los datos para obtener todos los parámetros como se muestra en la Tabla 11.

**Tabla 11.** Valores cinéticos para los sustratos ensayados para la oxidación por CPO

Sustrato	$V_{max}$ ( $\mu\text{M min}^{-1}$ )	$K_M$ ( $\mu\text{M}$ )	$k_{cat}$ ( $\text{min}^{-1}$ )	$K_{cat}/K_M$ ( $\mu\text{M}^{-1} \text{min}^{-1}$ )
Paracetamol	28.48	69.53	4953.04	71.23
Ivermectina	3.18	16.58	276.52	16.67
Venlafaxina	8.24	47.01	716.52	15.24

De manera experimental, la velocidad máxima obtenida indica el momento en el que toda la enzima ha formado un complejo con el sustrato. La  $K_M$  es dependiente del mecanismo de reacción como lo son el número y velocidades relativas de los pasos independientes, ya que para considerarse una medida de afinidad se debe tomar en cuenta si  $k_2$  es mayor o menor a  $k_{-1}$  siguiendo el mecanismo de la ecuación 6. Por otro lado, la  $k_{cat}$  indica la velocidad límite de cualquier reacción catalizada por enzimas en saturación y es definida como el número de moléculas de sustrato convertidas en producto por moléculas de enzima por unidad de tiempo; un valor alto de  $k_{cat}$  indica que más sustratos se renuevan en un segundo. A manera de comparación, los valores de  $k_{cat}$  y  $K_M$  reflejan más el entorno celular, la concentración de sustrato y la química de la reacción catalizada (Nelson y Cox, 2008). Como última instancia, una manera eficaz de hacer una comparativa en cuanto al recambio de diferentes sustratos por la misma enzima mediante la relación  $k_{cat}/K_M$ , ya que como se llevó a cabo en este trabajo, la enzima

tiene más de un sustrato posible, por lo que los valores de  $k_{cat}/K_M$  van a determinar la especificidad de la enzima para cada uno, un valor elevado de este indicará que la enzima es más específica para ese sustrato (Lorsch, 2014).

En este sentido y teniendo los valores de la Tabla 11, cuando se usa como sustrato el PCT con la enzima peroxidasa se alcanza la conversión de un mayor número de moléculas por minutos seguido por la VFX y finalmente por la IVM; el valor dato por el PCT es mucho mayor que en los otros dos sustratos por lo que se puede asegurar que puede degradar mayor cantidad de este con respecto al tiempo.

Para los valores de  $K_{cat}/K_M$ , se puede observar que la enzima CPO es más específica cuando se usa PCT como sustrato, seguida de IVM y finalmente VFX, siendo estos dos últimos valores muy similares. Revisando su estructura química, es de esperarse que la degradación con CPO sea más afín cuando se usa PCT ya que la molécula es de menor complejidad que cuando se compara con la IVM. Sin embargo, aunque la IVM y VFX tienen 6 veces menos afinidad, la transformación de los compuestos alcanzó un buen porcentaje. Esto también indica que los ensayos con PCT pudieran repetirse para lograr una mayor conversión puesto que la enzima es más afín a ese sustrato y su bajo porcentaje de degradación pudo ocasionarse por error humano.

## VIII. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos de la investigación se puede concluir que la degradación enzimática para los compuestos de PCT, VFX e IVM se lleva a cabo de manera rápida, ya que en los tres casos se superó el 15% de oxidación del compuesto, además, en todos los casos fue posible detectarlos mediante UV-Vis y monitorear su oxidación mediante técnicas cromatográficas. Cabe destacar que de dos de los compuestos se pudo monitorear la presencia de posibles productos de degradación a los cuales se les puede evaluar su toxicidad y estructura. De igual forma, el método puede ser mejorado para, en caso de que sea posible, aumentar el porcentaje de degradación. Esta propuesta también puede ser realizada debido al cálculo, determinación e interpretación de los datos cinéticos que se obtuvieron dejando así nuevas perspectivas para futuros ensayos.

## IX. REFERENCIAS

- Acquavia, M. A., Foti, L., Pascale, R., Nicolò, A., Brancaleone, V., Cataldi, T. R. I., Martelli, G., Scrano, L., y Bianco, G. (2021). Detection y quantification of Covid-19 antiviral drugs in biological fluids y tissues. *Talanta*. Elsevier, 224, pp. 121862. doi: 10.1016/J.TALANTA.2020.121862
- Adhikari, S., Kumar, R., Driver, E. M., Bowes, D. A., Ng, K. T., Sosa-Hernandez, J. E., Oyervides-Muñoz, M. A., Melchor-Martínez, E. M., Martínez-Ruiz, M., Coronado-Apodaca, K. G., Smith, T., Bhatnagar, A., Piper, B. J., McCall, K. L., Parra-Saldivar, R., Barron, L. P., y Halden, R. U. (2023). Occurrence of Z-drugs, benzodiazepines, y ketamine in wastewater in the United States y Mexico during the Covid-19 pyemic. *The Science of the Total Environment*. *Sci Total Environ*, 857(Pt 2). doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2022.159351
- Ahmed W., Angel N., Edson J., Bibby K., Bivins A., O'Brier J.W. First confirmed detection of SARS-CoV-2 in untreated wastewater in Australia: a proof of concept for the wastewater surveillance of COVID-19 in the community. *Sci. Total Environ*. 2020;728:138764
- Akash, M. S. H. y Rehman, K. (2020). High Performance Liquid Chromatography. Essentials of Pharmaceutical Analysis. Singapore. Springer, Singapore, pp. 175–184. doi: 10.1007/978-981-15-1547-7\_14
- Alfonso-Muniozguren, P., Serna-Galvis, E. A., Bussemaker, M., Torres-Palma, R. A., and Lee, J. 2021. A review on pharmaceuticals removal from waters by single and combined biological, membrane filtration and ultrasound systems. *Ultrasonics Sonochemistry*. Elsevier, 76, pp. 105656. doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2021.105656
- Al-Sanea, M. M. y Gamal, M. (2022). Critical analytical review: Rare y recent applications of refractive index detector in HPLC chromatographic drug analysis. *Microchemical Journal*. Elsevier, 178, pp. 107339. doi: 10.1016/J.MICROC.2022.107339
- Alvarado, B. y Torres, E. (2009). Recents patents in the use of peroxidases. *Recent Patents on Biotechnology*. *Recent Pat Biotechnol*, 3(2), pp. 88–102. doi: 10.2174/187220809788700210
- Arreguín-Cortés, F. I., López-Pérez, M., y Cervantes-Jaimes, C. E. (2020). Los retos del agua en México / Water challenges in Mexico. *Tecnología Y Ciencias Del Agua*, 11(2), 341-371. <https://doi.org/10.24850/j-tyca-2020-02-10>

- Bairán, G., Chávez-Bravo, E., Ortiz-álvarez, J., Romero-Guido, C., y Torres, E. (2022). Oxidation of sulfonamide micropollutants by versatile peroxidase from *Bjerkyaera adusta*. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. Centro de Ciencias de la Atmosfera, UNAM, 38, pp. 571–585. doi: 10.20937/RICA.54390
- Barac, A., Bartoletti, M., Azap, O., Bussini, L., Ergonul, O., Krause, R., Paño-Pardo, J. R., Power, N. R., Rodríguez-Baño, J., Sibani, M., Szabo, B. G., Tsiodras, S., Verweij, P. E., Quirós, A. M., y Zollner-Schwetz, I. 2022. Inappropriate use of ivermectin during the COVID-19 pyemic: primum non nocere! *Clinical Microbiology y Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology y Infectious Diseases*. *Clin Microbiol Infect*, 28(7), pp. 908–910. doi: 10.1016/J.CMI.2022.03.022
- Bele, A. A., Khale, A., Archana, M., y Bele, A. (2011). An Overview on thin layer Chromatography. *IJPSR*, 2(2), pp. 256–267. [www.ijpsr.com](http://www.ijpsr.com)
- Bhatia, M. S., Goyal, S., Singh, A., y Daral, A. (2020). COVID-19 Pyemic-Induced Panic Disorder. *The Primary Care Companion for CNS Disorders*. *Prim Care Companion CNS Disord*, 22(3). doi: 10.4088/PCC.20L02626
- Blum, F. (2014). High performance liquid chromatography. *British Journal of Hospital Medicine*. *Br J Hosp Med (Lond)*, 75(2). doi: 10.12968/HMED.2014.75.SUP2.C18
- Bothwell, J. H. F. y Griffin, J. L. (2011). An introduction to biological nuclear magnetic resonance spectroscopy. *Biological Reviews*. John Wiley y Sons, Ltd, 86(2), pp. 493–510. doi: 10.1111/J.1469-185X.2010.00157.X
- Bueno-Notivol, J., Gracia-García, P., Olaya, B., Lasheras, I., López-Antón, R., & Santabárbara, J. (2021). Prevalence of depression during the COVID-19 outbreak: A meta-analysis of community-based studies. *International Journal of Clinical and Health Psychology*, 21(1). <https://doi.org/10.1016/j.ijchp.2020.07.007>
- Bührer, C., Endesfelder, S., Scheuer, T., y Schmitz, T. (2021). Paracetamol (Acetaminophen) y the Developing Brain. *International Journal of Molecular Sciences*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 22(20), pp. 11156. doi: 10.3390/IJMS222011156

- Camargo, J. A. y Alonso, Á. 2006. Ecological y toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: A global assessment. *Environment International*. Elsevier Ltd, 32(6), pp. 831–849. doi: 10.1016/j.envint.2006.05.002
- Capítulo de Shiklomanov, I. World fresh water resources en Gleick, P.H. (1993), *Water in Crisis: A Guide to the World's Fresh Water Resources*. *Oxford University Press*. Nueva York
- Carr D. 2002. *The Handbook of Analysis y Purification of Peptides y Proteins by Reversed-Phase HPLC*. [www.gracevdydac.com](http://www.gracevdydac.com)
- Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Emerging and Zoonotic Infectious Diseases (NCEZID), Division of Foodborne, Waterborne, y Environmental Diseases (DFWED). (2016). Water Contamination. *CDC*. <https://www.cdc.gov/healthywater/other/agricultural/contamination.html>
- Cerro-López, M., Castro-Pastrana, L. I., Toledo-Wall, M. L., Gómez-Oliván, L. M., y Saldívar-Santiago, M. D. 2021. Análisis de fármacos en aguas residuales de tres hospitales de la ciudad de Puebla, México. *Ingeniería Del Agua*. IWA Publishing, 25(1), pp. 59–73. doi: 10.4995/IA.2021.13660
- Chapman, D. V, y Sullivan, T. (2022). The role of water quality monitoring in the sustainable use of ambient waters. *One Earth*, 5(2), 132–137. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.oneear.2022.01.008>
- Chaytor, A. 2007. Clonazepam. *XPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference*. Elsevier Inc., pp. 1–5. doi: 10.1016/B978-008055232-3.61494-1
- Chilamakuri, R. y Agarwal, S. 2021. COVID-19: Characteristics y Therapeutics. *Cells*. *Cells*, 10(2), pp. 1–29. doi: 10.3390/CELLS10020206
- Ciotti, M., Ciccozzi, M., Pieri, M., y Bernardini, S. 2022. The COVID-19 pyemic: viral variants y vaccine efficacy. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*. *Crit Rev Clin Lab Sci*, 59(1), pp. 66–75. doi: 10.1080/10408363.2021.1979462
- Comisión Nacional del Agua, (2015): *Atlas del Agua en México*. Conagua. Documento disponible en: <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Publicaciones/Publicaciones/ATLAS2015.pdf>
- Comisión Nacional del Agua, (2016): *Estadísticas del Agua en México*. Conagua. Documento disponible en: <https://agua.org.mx/biblioteca/estadisticas-del-agua-en-mexico-edicion-2016/>

- Comisión Nacional del Agua y Sistema Nacional de Información del Agua. (2019). Usos del Agua. *Gobierno de México*. <https://www.gob.mx/conagua/acciones-y-programas/usos-del-agua>
- COVID-19 Tablero México - CONACYT - CentroGeo - GeoInt - DataLab. n.d. Retrieved March 25, 2023, from <https://datos.covid-19.conacyt.mx/>
- Crook, H., Raza, S., Nowell, J., Young, M., y Edison, P. 2021. Long covid-mechanisms, risk factors, y management. *BMJ (Clinical Research Ed.)*. *BMJ*, 374. doi: 10.1136/BMJ.N1648
- Cruz Ortega, B., Molina Rodríguez, C.B., Torres Romero, G., Vizuet Morales, M. y Gutiérrez Ortiz M. (2022). Gestión Comunitaria del Agua. Manual de procedimiento: obras por cooperación proagua. *AquaFund*.
- Cummings, D. M., Larijani, G. E., Conner, D. P., Ferguson, R. K., y Rocci, M. L. 1990. Characterization of dexamethasone binding in normal y uremic human serum. *DICP, Annals of Pharmacotherapy*, 24(3), pp. 229–231. doi: 10.1177/106002809002400301
- de Figueiredo, C. S., Syre, P. C., Portugal, L. C. L., Mázala-de-Oliveira, T., da Silva Chagas, L., Raony, Í., Ferreira, E. S., Giestal-de-Araujo, E., dos Santos, A. A., y Bomfim, P. O. S. 2021. COVID-19 pyemic impact on children y adolescents' mental health: Biological, environmental, y social factors. *Progress in Neuro-Psychopharmacology y Biological Psychiatry*. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry*, 106. doi: 10.1016/J.PNPBP.2020.110171
- De Montellano, P. R. O. 2010. Catalytic mechanisms of heme peroxidases. *Biocatalysis Based on Heme Peroxidases: Peroxidases as Potential Industrial Biocatalysts*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 79–107. doi: 10.1007/978-3-642-12627-7\_5
- de Wilt, A., van Gijn, K., Verhoek, T., Vergnes, A., Hoek, M., Rijnaarts, H., and Langenhoff, A. 2018. Enhanced pharmaceutical removal from water in a three step bio-ozone-bio process. *Water Research*. *Water Res*, 138, pp. 97–105. doi: 10.1016/J.WATRES.2018.03.028
- DOF - NOM-073-ECOL-1994, (1995). Retrieved March 25, 2023, from [https://www.dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4866259&fecha=11/01/1995#gsc.tab=0](https://www.dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4866259&fecha=11/01/1995#gsc.tab=0)
- Dordio, A., Carvalho, A. J. P., Teixeira, D. M., Dias, C. B., and Pinto, A. P. 2010. Removal of pharmaceuticals in microcosm constructed wetlands using *Typha* spp. and LECA. *Bioresource Technology*. *Bioresour Technol*, 101(3), pp. 886–892. doi: 10.1016/J.BIORTECH.2009.09.001



- E. Nardi, A., Machado, S., Ferreira Almada, L., Paes, F., Cardoso Silva, A., Jose Marques, R., Amrein, R., C. Freire, R., Martin-Santos, R., Cosci, F., E. Hallak, J., A. Crippa, J., y Arias-Carrion, O. 2013. Clonazepam for the treatment of panic disorder. *Current Drug Targets. Curr Drug Targets*, 14(3), pp. 353–364. doi: 10.2174/1389450111314030007
- Efrain Merma Chacca, D., Maldonado, I., y Vilca, F. Z. 2022. Environmental y ecotoxicological effects of drugs used for the treatment of COVID 19. *Frontiers in Environmental Science. Frontiers Media S.A.*, 10, pp. 1287. doi: 10.3389/FENVS.2022.940975/BIBTEX
- Filimon, M. N., Nica, D. V., Ostafe, V., Bordean, D. M., Borozan, A. B., Vlad, D. C., y Popescu, R. 2013. Use of enzymatic tools for biomonitoring inorganic pollution in aquatic sediments: a case study (Bor, Serbia). *Chemistry Central Journal. Chem Cent J*, 7(1). doi: 10.1186/1752-153X-7-59
- Freo, U., Ruocco, C., Valerio, A., Scagnol, I., y Nisoli, E. 2021. Paracetamol: A Review of Guideline Recommendations. *Journal of Clinical Medicine* 2021, Vol. 10, Page 3420. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 10(15), pp. 3420. doi: 10.3390/JCM10153420
- Gaur, N., Dutta, D., Singh, A., Dubey, R., and Kamboj, D. V. 2022. Recent advances in the elimination of persistent organic pollutants by photocatalysis. *Frontiers in Environmental Science. Frontiers Media S.A.*, 10, pp. 872514. doi: 10.3389/FENVS.2022.872514/BIBTEX
- Gazga Madrigal, I. y Gazga Madrigal, M. (2019). Degradación de fármacos con peroxidasa proveniente de berros (*Nasturtium Officinale*). *Experiencias México*
- Grajeda, J., Cantoral, R., y Bravo, S. (2014). *Saberes matemáticos asociados a la curva de calibración en el análisis químico: Un caso.*
- Greenblatt, D. J., Miller, L. G., y Shader, R. I. 1990. Neurochemical y pharmacokinetic correlates of the clinical action of benzodiazepine hypnotic drugs. *The American Journal of Medicine*, 88(3 SUPPL. 1). doi: 10.1016/0002-9343(90)90281-H
- Griffin, C. E., Kaye, A. M., Rivera Bueno, F., y Kaye, A. D. 2013. Benzodiazepine Pharmacology y Central Nervous System–Mediated Effects. *The Ochsner Journal. Ochsner Clinic, L.L.C. y Alton Ochsner Medical Foundation*, 13(2), pp. 214. Retrieved July 11, 2023, from /pmc/articles/PMC3684331/
- Hammad, H.M., Nauman, H.M.F., Abbas, F. *et al.* Impacts of COVID-19 pandemic on environment, society, and food security. *Environ Sci Pollut Res* (2023). <https://doi.org/10.1007/s11356-023-25714-1>

- Hassankhani, M., Alidadi, M., Sharifi, A., y Azhdari, A. 2021. Smart City y Crisis Management: Lessons for the COVID-19 Pyemic. *International Journal of Environmental Research y Public Health*. *Int J Environ Res Public Health*, 18(15). doi: 10.3390/IJERPH18157736
- Hayden, K. R., Jones, M., Elkin, K. R., Shreve, M. J., Clees, W. I., Clark, S., Mashtare, M. L., Veith, T. L., Elliott, H. A., Watson, J. E., Silverman, J., Richard, T. L., Read, A. F., y Preisendanz, H. E. 2022. Impacts of the COVID-19 pyemic on pharmaceuticals in wastewater treated for beneficial reuse: Two case studies in central Pennsylvania. *Journal of Environmental Quality*. Wiley-Blackwell, 51(5), pp. 1066. doi: 10.1002/JEQ2.20398
- He, Q., Song, J., Li, H., Zhao, B., Zhang, Y., Wang, N., Liu, B., Chen, J., Nie, Z., Liang, T., y Zhong, W. 2021. Chloroperoxidase-catalyzed oxidative degradation of sulfur mustard. *Ecotoxicology y Environmental Safety*. *Ecotoxicol Environ Saf*, 225. doi: 10.1016/J.ECOENV.2021.112715
- Hejna, M., Kapuścińska, D., y Aksmann, A. 2022. Pharmaceuticals in the Aquatic Environment: A Review on Eco-Toxicology y the Remediation Potential of Algae. *International Journal of Environmental Research y Public Health*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 19(13). doi: 10.3390/IJERPH19137717
- Hofrichter, M., Ullrich, R., Pecyna, M. J., Liers, C., y Lundell, T. 2010. New y classic families of secreted fungal heme peroxidases. *Applied Microbiology y Biotechnology*. *Appl Microbiol Biotechnol*, 87(3), pp. 871–897. doi: 10.1007/S00253-010-2633-0
- Holmes, E. C., Goldstein, S. A., Rasmussen, A. L., Robertson, D. L., Crits-Christoph, A., Wertheim, J. O., Anthony, S. J., Barclay, W. S., Boni, M. F., Doherty, P. C., Farrar, J., Geoghegan, J. L., Jiang, X., Leibowitz, J. L., Neil, S. J. D., Skern, T., Weiss, S. R., Worobey, M., Yersen, K. G., Garry, R. F., y Rambaut, A. 2021. The origins of SARS-CoV-2: A critical review. *Cell*. *Cell*, 184(19), pp. 4848–4856. doi: 10.1016/J.CELL.2021.08.017
- Hussen Ali, A. 2022. *ANNALS OF ADVANCES IN CHEMISTRY A A C High-Performance Liquid Chromatography (HPLC): A review*. doi: 10.29328/journal.aac.1001026
- Infrared Spectroscopy*. 2017. ACS Reagent Chemicals. Washington, DC. American Chemical Society. doi: 10.1021/ACSREAGENTS.2008
- Islam, K. U. y Iqbal, J. 2020. An Update on Molecular Diagnostics for COVID-19. *Frontiers in Cellular y Infection Microbiology*. *Front Cell Infect Microbiol*, 10. doi: 10.3389/FCIMB.2020.560616

- Jiménez C., B.; J.C. Durán, J. M. Méndez C. (2010) *Calidad*. En: Jiménez C., M.L. Torregrosa y L. Aboites (Eds.). *El Agua en México: cauces y encauces*. AMC-Conagua. México.
- Jozwiak-Bebenista, M. y Nowak, J. Z. 2014. Paracetamol: mechanism of action, applications y safety concern. *Acta Poloniae Pharmaceutica*. Polish Pharmaceutical Society, 71(1), pp. 11–23. Retrieved April 5, 2023, from [https://europepmc.org/article/med/24779190?utm\\_medium=email&utm\\_source=transaction&client=bot&client=bot&client=bot](https://europepmc.org/article/med/24779190?utm_medium=email&utm_source=transaction&client=bot&client=bot&client=bot)
- Kirkly, J. J. 2004. Development of some stationary phases for reversed-phase HPLC. *Journal of Chromatography A*. Elsevier, 1060(1–2), pp. 9–21. doi: 10.1016/J.CHROMA.2004.10.057
- Koch-Weser, J. y Browne, T. R. 1978. Clonazepam. *The New Engly Journal of Medicine*. N Engl J Med, 299(15), pp. 812–816. doi: 10.1056/NEJM197810122991505
- Kulkarni, P., Jadhav, C., Nipate, A., Dodake-Supekar, A., y Gill, C. H. (2020). Stability Indicating RP-HPLC Method Development y Validation for Dexamethasone. *Asian Journal of Chemistry*, 32, 587–591. <https://doi.org/10.14233/ajchem.2020.22462>
- Kumar Bhardwaj, S. 2015. *A Review: HPLC Method Development y Validation*. Retrieved July 11, 2023, from <http://www.urpjournals.com>
- Lahti, M. and Oikari, A. 2011. Microbial transformation of pharmaceuticals naproxen, bisoprolol, and diclofenac in aerobic and anaerobic environments. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*. Arch Environ Contam Toxicol, 61(2), pp. 202–210. doi: 10.1007/S00244-010-9622-2
- Laing, R., Gillan, V., y Devaney, E. 2017. Ivermectin - Old Drug, New Tricks? *Trends in Parasitology*. Trends Parasitol, 33(6), pp. 463–472. doi: 10.1016/J.PT.2017.02.004
- Lamotte, S., Kromidas, S., y Steiner, F. 2016. Comparison y Selection of Modern HPLC Columns. *The HPLC Expert: Possibilities y Limitations of Modern High Performance Liquid Chromatography*. John Wiley y Sons, Ltd, pp. 203–242. doi: 10.1002/9783527677610.CH4
- Nelson D. y Cox, M. (2008). *Lehninger. Principios de Bioquímica*. Cap. 6. Enzimas. 5ª ed. W. H. Freeman and Company. 1 vol.
- Nippes, R. P., Macruz, P. D., da Silva, G. N., & Neves Olsen Scaliante, M. H. (2021). A critical review on environmental presence of pharmaceutical drugs tested for the covid-19 treatment. *Process safety and*

*environmental protection: transactions of the Institution of Chemical Engineers, Part B*, 152, 568–582.  
<https://doi.org/10.1016/j.psep.2021.06.040>

- Liebig, M., Fernyez, Á. A., Blübaum-Gronau, E., Boxall, A., Brinke, M., Carbonell, G., Egeler, H., Fenner, K., Fernyez, C., Fink, G., Garric, J., Halling-Sørensen, B., Knacker, T., Krogh, K. A., Küster, A., Dirk Löffler, M. Á. P., Pope, L., Prasse, C., Römbke, J., Rönnefahrt, I., Schneider, M. K., Schweitzer, N., Tarazona, J. V., Ternes, T. A., Traunspurger, W., Wehrhan, A., y Duisy, K. 2010. Environmental risk assessment of ivermectin: A case study. *Integrated Environmental Assessment y Management*. John Wiley y Sons, Ltd, 6(S1), pp. 567–587. doi: 10.1002/IEAM.96
- Lim, M. L., Brooks, M. D. W., Boothe, M. A., y Krzmarzick, M. J. 2018. Novel bacterial diversity is enriched with chloroperoxidase-reacted organic matter under anaerobic conditions. *FEMS Microbiology Ecology*. *FEMS Microbiol Ecol*, 94(5). doi: 10.1093/FEMSEC/FIY050
- Lin, W., Huang, Z., Ping, S., Zhang, S., Wen, X., He, Y., and Ren, Y. 2022. Toxicological effects of atenolol and venlafaxine on zebrafish tissues: Bioaccumulation, DNA hypomethylation, and molecular mechanism. *Environmental Pollution*. Elsevier, 299, pp. 118898. doi: 10.1016/J.ENVPOL.2022.118898
- López Munguía, A. y Huerta Ochoa, S. (2004). *Reactores Enzimáticos*. 03330, México: Universidad Autónoma Metropolitana, 14-17.
- López-Pacheco, I. Y., Silva-Núñez, A., Salinas-Salazar, C., Arévalo-Gallegos, A., Lizarazo-Holguin, L. A., Barceló, D., Iqbal, H. M. N., y Parra-Saldívar, R. 2019. Anthropogenic contaminants of high concern: Existence in water resources y their adverse effects. *Science of the Total Environment*, 690, pp. 1068–1088. doi: 10.1016/j.scitotenv.2019.07.052
- Lorsch, J. R. (2014). Chapter One - Practical Steady-State Enzyme Kinetics. In J. B. T.-M. in E. Lorsch (Ed.), *Laboratory Methods in Enzymology: Protein Part A* (Vol. 536, pp. 3–15). Academic Press.  
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-420070-8.00001-5>
- Lu, T., Wang, D., Han, B., Li, S., Cao, Y., y Du, X. n.d. *Environmental fate of the anti-parasitic ivermectin in an aquatic micro-ecological system after a single oral administration*. doi: 10.7717/peerj.7805
- Lv, J., Ou, C., Fu, M., and Xu, Z. 2021. Characteristics and transformation pathways of venlafaxine degradation during disinfection processes using free chlorine and chlorine dioxide. *Chemosphere*. Pergamon, 276, pp. 130147. doi: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.130147

- Madhan, S., Kavitha, J., y Lakshmi, K. (2019). Multivariate Calibration Technique for the Spectrophotometric Quantification of Ivermectin in Pharmaceutical Formulation. *Asian Journal of Pharmaceutical y Clinical Research*, 12(2), 444–451. <https://doi.org/10.22159/ajpcr.2019.v12i2.29416>
- Mafull, C. A., Tacoronte Morales, J. E., Garcia, R., Tobella, J., Llopiz, J., Iglesias, A., y Hotza, D. (2014). Comparative study of the adsorption of acetaminophen on activated carbons in simulated gastric fluid. *SpringerPlus*, 3, 48. <https://doi.org/10.1186/2193-1801-3-48>
- Mallik, A., Chakraborty, P., Bhushan, S., y Nayak, B. B. (2022). Impact of COVID-19 lockdown on aquatic environment and fishing community: Boon or bane?. *Marine policy*, 141, 105088. <https://doi.org/10.1016/j.marpol.2022.105088>
- Mancini, L., Lacchetti, I., Chiudioni, F., Cristiano, W., Domenico, K. Di, Marcheggiani, S., Carere, M., Bindi, L., y Borrello, S. 2020. Need for a sustainable use of medicinal products: environmental impacts of ivermectin. *Ann Ist Super Sanità*, 56(4), pp. 492–496. doi: 10.4415/ANN\_20\_04\_12
- Mansouri, F., Chouchene, K., Roche, N., and Ksibi, M. 2021. Removal of Pharmaceuticals from Water by Adsorption and Advanced Oxidation Processes: State of the Art and Trends. *Applied Sciences* 2021, Vol. 11, Page 6659. Multidisciplinary Digital Publishing Institute, 11(14), pp. 6659. doi: 10.3390/APP11146659
- Mant, C. T., Chen, Y., Yan, Z., Popa, T. V., Kovacs, J. M., Mills, J. B., Tripet, B. P., y Hodges, R. S. 2007. HPLC analysis y purification of peptides. *Methods in Molecular Biology* (Clifton, N.J.). *Methods Mol Biol*, 386, pp. 3–55. doi: 10.1007/978-1-59745-430-8\_1
- Mauro, M., Lazzara, V., Arizza, V., Luparello, C., Ferrantelli, V., Cammilleri, G., Inguglia, L., y Vazzana, M. 2021. Human Drug Pollution in the Aquatic System: The Biochemical Responses of *Danio rerio* Adults. *Biology*. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 10(10). doi: 10.3390/BIOLOGY10101064
- McCalley, D. V. 2003. Selection of suitable stationary phases y optimum conditions for their application in the separation of basic compounds by reversed-phase HPLC. *Journal of Separation Science*. John Wiley y Sons, Ltd, 26(3–4), pp. 187–200. doi: 10.1002/JSSC.200390026
- Medeiros, P. M. 2018. *Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC–MS)*. Springer, Cham, pp. 530–535. doi: 10.1007/978-3-319-39312-4\_159

- Mercado, S. A. S. y Galvis, D. G. V. 2023. Paracetamol ecotoxicological bioassay using the bioindicators *Lens culinaris* Med. y *Pisum sativum* L. *Environmental Science y Pollution Research*. Springer Science y Business Media Deutschly GmbH, 1, pp. 1–12. doi: 10.1007/S11356-023-26475-7/FIGURES/1
- Meta Djomsi, D. M., Lacroix, A., Soumah, A. K., Kingya Lusamaki, E. K., Mesdour, A., Raulino, R., Esteban, A., Ndong Bass, I. N., Mba Djonzo, F. A. M., Goumou, S., Ndimbo-Kimugu, S. P., Lempu, G., Mbala Kingebeni, P. M., Bamuleka, D. M., Likofata, J., Muyembe Tamfum, J.-J. M., Toure, A., Mpoudi Ngole, E. M., Kouanfack, C., Delaporte, E., Keita, A. K., Ahuka-Mundeke, S., Ayouba, A., y Peeters, M. 2023. Coronaviruses Are Abundant y Genetically Diverse in West y Central African Bats, including Viruses Closely Related to Human Coronaviruses. *Viruses*. *Viruses*, 15(2), pp. 337. doi: 10.3390/V15020337
- Metz, T. O., Zhang, Q., Page, J. S., Shen, Y., Callister, S. J., Jacobs, J. M., y Smith, R. D. 2007. The future of liquid chromatography-mass spectrometry (LC-MS) in metabolic profiling y metabolomic studies for biomarker discovery. *Biomarkers in Medicine*. NIH Public Access, 1(1), pp. 159. doi: 10.2217/17520363.1.1.159
- Miller, V. P., Tschirret-Guth, R. A., y Ortiz de Montellano, P. R. 1995. Chloroperoxidase-catalyzed benzylic hydroxylation. *Archives of Biochemistry y Biophysics*. *Arch Biochem Biophys*, 319(2), pp. 333–340. doi: 10.1006/abbi.1995.1302
- Moore, R. A. y Moore, N. 2016. Paracetamol y pain: the kiloton problem. *European Journal of Hospital Pharmacy : Science y Practice*. *Eur J Hosp Pharm*, 23(4), pp. 187–188. doi: 10.1136/EJHPHARM-2016-000952
- Moradi, Z., Jahromi, S. Z., and Ghaedi, M. 2021. Design of active photocatalysts and visible light photocatalysis. *Interface Science and Technology*. Elsevier B.V., 32, pp. 557–623. doi: 10.1016/B978-0-12-818806-4.00012-7
- Morsi, R., Al-Maqdi, K. A., Bilal, M., Iqbal, H., Khaleel, A., Shah, I. y Ashraf, S. S. (2021). Immobilized Soybean Peroxidase Hybrid Biocatalysts for Efficient Degradation of Various Emerging Pollutants. *Biomolecules*, 11(6), 904.
- Musee, N., Kebaabetswe, L. P., Tichapondwa, S., Tubatsi, G., Mahaye, N., Leareng, S. K., y Nomngongo, P. N. 2021a. Occurrence, fate, effects, y risks of dexamethasone: Ecological implications post-covid-19. *International Journal of Environmental Research y Public Health*. MDPI, 18(21), pp. 11291. doi: 10.3390/IJERPH182111291/S1

- Musee, N., Kebaabetswe, L. P., Tichapondwa, S., Tubatsi, G., Mahaye, N., Leareng, S. K., y Nomngongo, P. N. 2021b. Occurrence, fate, effects, y risks of dexamethasone: Ecological implications post-covid-19. *International Journal of Environmental Research y Public Health*. MDPI, 18(21), pp. 11291. doi: 10.3390/IJERPH182111291/S1
- Nunes, C. N., dos Anjos, V. E., y Quináia, S. P. 2019. Are there pharmaceutical compounds in sediments or in water? Determination of the distribution coefficient of benzodiazepine drugs in aquatic environment. *Environmental Pollution (Barking, Essex : 1987)*. *Environ Pollut*, 251, pp. 522–529. doi: 10.1016/J.ENVPOL.2019.05.015
- O'Flynn, D., Lawler, J., Yusuf, A., Parle-Mcdermott, A., Harold, D., Mc Cloughlin, T., Holly, L., Regan, F., y White, B. 2021. A review of pharmaceutical occurrence y pathways in the aquatic environment in the context of a changing climate y the COVID-19 pyemic. *Analytical Methods : Advancing Methods y Applications*. *Anal Methods*, 13(5), pp. 575–594. doi: 10.1039/D0AY02098B
- O'Gara, J. E., Alden, B. A., Walter, T. H., Neue, U. D., Petersen, J. S., y Niederländer, C. L. 1995. Simple Preparation of a C8 HPLC Stationary Phase with an Internal Polar Functional Group. *Analytical Chemistry*. American Chemical Society, 67(20), pp. 3809–3813. doi: 10.1021/AC00116A032/ASSET/AC00116A032.FP.PNG\_V03
- Organization, P. A. H. 2020. *COVID-19 Daily Update: 31 March 2020*. . PAHO. Retrieved March 25, 2023, from <https://iris.paho.org/hyle/10665.2/54369>
- Pashaei, R., Dzingelevičienė, R., Bradauskaitė, A., Lajevardipour, A., Mlynska-Szultka, M., Dzingelevičius, N., Raugelė, S., Razbadauskas, A., Abbasi, S., Rees, R. M., y Buszewski, B. 2022. Pharmaceutical y Microplastic Pollution before y during the COVID-19 Pyemic in Surface Water, Wastewater, y Groundwater. *Water (Switzerly)*. MDPI, 14(19), pp. 3082. doi: 10.3390/W14193082/S1
- Patel, M., Kumar, R., Kishor, K., Mlsna, T., Pittman, C. U., y Mohan, D. 2019. Pharmaceuticals of emerging concern in aquatic systems: Chemistry, occurrence, effects, y removal methods. *Chemical Reviews*. American Chemical Society, 119(6), pp. 3510–3673. doi: 10.1021/ACS.CHEMREV.8B00299/ASSET/IMAGES/LARGE/CR-2018-00299Y\_0035.JPEG
- Peng, J., Wang, X., Yin, F., and Xu, G. 2019. Characterizing the removal routes of seven pharmaceuticals in the activated sludge process. *The Science of the Total Environment*. *Sci Total Environ*, 650(Pt 2), pp. 2437–2445. doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2018.10.004

- Peng, M. S., Li, J. B., Cai, Z. F., Liu, H., Tang, X., Ying, R., Zhang, J. N., Tao, J. J., Yin, T. T., Zhang, T., Hu, J. Y., Wu, R. N., Zhou, Z. Y., Zhang, Z. G., Yu, L., Yao, Y. G., Shi, Z. L., Lu, X. M., Lu, J., y Zhang, Y. P. 2021. The high diversity of SARS-CoV-2-related coronaviruses in pangolins alerts potential ecological risks. *Zoological Research. Zool Res*, 42(6), pp. 834–844. doi: 10.24272/J.ISSN.2095-8137.2021.334
- Pereira, L. 2010. Porous Graphitic Carbon as a Stationary Phase in HPLC: Theory y Applications. <https://doi.org/10.1080/10826070802126429>. Taylor y Francis Group , 31(11–12), pp. 1687–1731. doi: 10.1080/10826070802126429
- Perló Cohen, M., y Zamora Saenz, I. (2019). *El estudio del agua en México*.
- Peslier, A.H., Schönbächler, M., Busemann, H.y Karato S.(2017). Water in the Earth's Interior: Distribution and Origin. *Space Sci Rev* 212, 743–810. <https://doi.org/10.1007/s11214-017-0387-z>
- Premraj, L., Kannapadi, N. V., Briggs, J., Seal, S. M., Battaglini, D., Fanning, J., Suen, J., Robba, C., Fraser, J., y Cho, S. M. 2022. Mid y long-term neurological y neuropsychiatric manifestations of post-COVID-19 syndrome: A meta-analysis. *Journal of the Neurological Sciences. J Neurol Sci*, 434. doi: 10.1016/J.JNS.2022.120162
- Pyhälä, M., Zyaryaa, S., Yresmaa, E., Korsjukov, M., Reisner, R., Susanne Boutrup, D., Päivi Fjäder, F., Mehtonen, J., Äystö, L., Hein, A., Küster, A., Pirntke, U., Hedman, J., Linderöth, M., Frank-Kamenetsky, D., y Li Zweifel, U. 2017a. *Baltic Sea Environment Proceedings No. 149*. Retrieved March 25, 2023, from <http://www.unesco.org/open-access/terms-use-ccbysa-en>
- Pyhälä, M., Zyaryaa, S., Yresmaa, E., Korsjukov, M., Reisner, R., Susanne Boutrup, D., Päivi Fjäder, F., Mehtonen, J., Äystö, L., Hein, A., Küster, A., Pirntke, U., Hedman, J., Linderöth, M., Frank-Kamenetsky, D., y Li Zweifel, U. 2017b. *Pharmaceuticals in the aquatic environment of the Baltic Sea region: a status report. 149*. Retrieved April 5, 2023, from <https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000247889>
- Pylypchuk, I. V., Daniel, G., Kessler, V. G., y Seisenbaeva, G. A. (2020). Removal of Diclofenac, Paracetamol, y Carbamazepine from Model Aqueous Solutions by Magnetic Sol-Gel Encapsulated Horseradish Peroxidase y Lignin Peroxidase Composites. *Nanomaterials (Basel, Switzyerly)*, 10(2), 282. <https://doi.org/10.3390/nano10020282>



- Quincho-Lopez, A., Benites-Ibarra, C. A., Hilario-Gomez, M. M., Quijano-Escate, R., y Taype-Rondan, A. 2021. Self-medication practices to prevent or manage COVID-19: A systematic review. *PloS One*. *PLoS One*, 16(11). doi: 10.1371/JOURNAL.PONE.0259317
- Raggi, A., Mogavero, M. P., DelRosso, L. M., y Ferri, R. 2023. Clonazepam for the management of sleep disorders. *Neurological Sciences: Official Journal of the Italian Neurological Society y of the Italian Society of Clinical Neurophysiology*. *Neurol Sci*, 44(1), pp. 115–128. doi: 10.1007/S10072-022-06397-X
- Rao, K., Sunita, J., Prakash, P., Dattatraya, B., y Patil, P. (2011). Development y evaluation of sustained release formulations of Venlafaxine hydrochloride. *International Research Journal of Pharmacy*, 2.
- Rathore, S., Varshney, A., Mohan, S., y Dahiya, P. 2022. An innovative approach of bioremediation in enzymatic degradation of xenobiotics. *Biotechnology y Genetic Engineering Reviews*. *Biotechnol Genet Eng Rev*, 38(1), pp. 1–32. doi: 10.1080/02648725.2022.2027628
- Ravi, V., Saxena, S., y Pya, P. S. 2022. Basic virology of SARS-CoV 2. *Indian Journal of Medical Microbiology*. *Indian J Med Microbiol*, 40(2), pp. 182–186. doi: 10.1016/J.IJMMB.2022.02.005
- Rayman, G., Lumb, A. N., Kennon, B., Cottrell, C., Nagi, D., Page, E., Voigt, D., Courtney, H. C., Atkins, H., Higgins, K., Platts, J., Dhatariya, K., Patel, M., Newly-Jones, P., Narendran, P., Kar, P., Burr, O., Thomas, S., y Stewart, R. 2021. Dexamethasone therapy in COVID-19 patients: implications y guidance for the management of blood glucose in people with y without diabetes. *Diabetic Medicine: A Journal of the British Diabetic Association*. *Diabet Med*, 38(1). doi: 10.1111/DME.14378
- Rizvi, S. A. A., Ferrer, G., Khawaja, U. A., y Sanchez-Gonzalez, M. A. 2022. Chlorpheniramine, an Old Drug with New Potential Clinical Applications: A Comprehensive Review of the Literature. *Current Reviews in Clinical y Experimental Pharmacology*. *Curr Rev Clin Exp Pharmacol*, 17. doi: 10.2174/2772432817666220601162006
- Rockwood, A. L., Kushnir, M. M., y Clarke, N. J. 2018. Mass spectrometry. *Principles y Applications of Clinical Mass Spectrometry: Small Molecules, Peptides, y Pathogens*. Elsevier, pp. 33–65. doi: 10.1016/B978-0-12-816063-3.00002-5
- Rodríguez-Serin, H., Gamez-Jara, A., De La Cruz-Noriega, M., Rojas-Flores, S., Rodriguez-Yupanqui, M., Gallozzo Cardenas, M., and Cruz-Monzon, J. 2022. Literature Review: Evaluation of Drug Removal Techniques in Municipal and Hospital Wastewater. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. MDPI, 19(20). doi: 10.3390/IJERPH192013105/S1

- Roohi, Bano, K., Kuddus, M., Zaheer, M. R., Zia, Q., Khan, M. F., Ashraf, G. Md., Gupta, A., y Aliev, G. 2017. Microbial Enzymatic Degradation of Biodegradable Plastics. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. *Curr Pharm Biotechnol*, 18(5). doi: 10.2174/1389201018666170523165742
- Ruiz-Dueñas, F. J. y Martínez, A. T. 2010. Structural y functional features of peroxidases with a potential as industrial biocatalysts. *Biocatalysis Based on Heme Peroxidases: Peroxidases as Potential Industrial Biocatalysts*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 37–59. doi: 10.1007/978-3-642-12627-7\_3
- Rume, T., e Islam, S. M. D. (2020). Environmental effects of COVID-19 pandemic and potential strategies of sustainability. *Heliyon*, 6(9), e04965. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04965>
- Santin, A. D., Scheim, D. E., McCullough, P. A., Yagisawa, M., y Borody, T. J. 2021. Ivermectin: a multifaceted drug of Nobel prize-honoured distinction with indicated efficacy against a new global scourge, COVID-19. *New Microbes y New Infections*. *New Microbes New Infect*, 43. doi: 10.1016/J.NMNI.2021.100924
- Sayed, A. E. D. H., Taher, H., Soliman, H. A. M., y Salah El-Din, A. E. D. 2022. Immunological y hemato-biochemical effects on catfish (*Clarias gariepinus*) exposed to dexamethasone. *Frontiers in Physiology*. *Frontiers Media S.A.*, 13, pp. 1018795. doi: 10.3389/FPHYS.2022.1018795/BIBTEX
- Scanlon, B. R., Fakhreddine, S., Rateb, A., de Graaf, I., Famiglietti, J., Gleeson, T., Grafton, R. Q., Jobbagy, E., Kebede, S., Kolusu, S. R., Konikow, L. F., Long, D., Mekonnen, M., Schmied, H. M., Mukherjee, A., MacDonald, A., Reedy, R. C., Shamsudduha, M., Simmons, C. T., ... Zheng, C. (2023). Global water resources and the role of groundwater in a resilient water future. *Nature Reviews Earth and Environment*, 4(2), 87–101. <https://doi.org/10.1038/s43017-022-00378-6>
- Schoch CL, et al.(2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources y tools. *Database Oxford*: baaa062. PubMed: 32761142 PMC: PMC7408187.
- Sharun, K., Dhama, K., Patel, S. K., Pathak, M., Tiwari, R., Singh, B. R., Sah, R., Bonilla-Aldana, D. K., Rodriguez-Morales, A. J., y Leblebicioglu, H. 2020. Ivermectin, a new cyidate therapeutic against SARS-CoV-2/COVID-19. *Annals of Clinical Microbiology y Antimicrobials*. *BioMed Central Ltd.*, 19(1), pp. 1–5. doi: 10.1186/S12941-020-00368-W/FIGURES/2

- Shirazi, F. M., Mirzaei, R., Nakhaee, S., Nejatian, A., Ghafari, S., y Mehrpour, O. 2022. Repurposing the drug, ivermectin, in COVID-19: toxicological points of view. *European Journal of Medical Research*. BioMed Central Ltd, 27(1), pp. 1–11. doi: 10.1186/S40001-022-00645-8/TABLES/1
- Spoorenberg, S. M. C., Deneer, V. H. M., Grutters, J. C., Pulles, A. E., Voorn, G. P., Rijkers, G. T., Bos, W. J. W., y Van De Garde, E. M. W. 2014. Pharmacokinetics of oral vs. intravenous dexamethasone in patients hospitalized with community-acquired pneumonia. *British Journal of Clinical Pharmacology*. Blackwell Publishing Ltd, 78(1), pp. 78–83. doi: 10.1111/BCP.12295
- Suárez, V., Suarez Quezada, M., Oros Ruiz, S., y Ronquillo De Jesús, E. 2020. Epidemiología de COVID-19 en México: del 27 de febrero al 30 de abril de 2020. *Revista Clínica Española*. Elsevier Doyma, 220(8), pp. 463–471. doi: 10.1016/J.RCE.2020.05.007
- Sundaramoorthy, M., Ternner, J., y Poulos, T. L. (1995). The crystal structure of chloroperoxidase: a heme peroxidase&#x2013;cytochrome P450 functional hybrid. *Structure*, 3(12), 1367–1378. [https://doi.org/10.1016/S0969-2126\(01\)00274-X](https://doi.org/10.1016/S0969-2126(01)00274-X)
- Sundararaman, S., Aravind Kumar, J., Deivasigamani, P., y Devarajan, Y. 2022. Emerging pharma residue contaminants: Occurrence, monitoring, risk y fate assessment - A challenge to water resource management. *The Science of the Total Environment*. *Sci Total Environ*, 825. doi: 10.1016/J.SCITOTENV.2022.153897
- Syerson, H., Laird, B., Pope, L., Brain, R., Wilson, C., Johnson, D., Bryning, G., Peregrine, A. S., Boxall, A., y Solomon, K. 2007. Assessment of the environmental fate y effects of ivermectin in aquatic mesocosms. *Aquatic Toxicology (Amsterdam, Netherlys)*. *Aquat Toxicol*, 85(4), pp. 229–240. doi: 10.1016/J.AQUATOX.2007.08.011
- Thakur, V. y Ratho, R. K. 2022.OMICRON (B.1.1.529): A new SARS-CoV-2 variant of concern mounting worldwide fear. *Journal of Medical Virology*. *J Med Virol*, 94(5), pp. 1821–1824. doi: 10.1002/JMV.27541
- Tolić Čop, K., Mutavdžić Pavlović, D., and Gazivoda Kraljević, T. 2022. Photocatalytic Activity of TiO2 for the Degradation of Anticancer Drugs. *Nanomaterials*. MDPI, 12(19). doi: 10.3390/NANO12193532/S1
- Tomlinson, E. S., Maggs, J. L., Park, B. K., y Back, D. J. 1997. Dexamethasone metabolism in vitro: Species differences. *Journal of Steroid Biochemistry y Molecular Biology*, 62(4), pp. 345–352. doi: 10.1016/S0960-0760(97)00038-1

- Torres, E. y Ayala, M. 2010. Biocatalysis based on heme peroxidases: Peroxidases as potential industrial biocatalysts. *Biocatalysis Based on Heme Peroxidases: Peroxidases as Potential Industrial Biocatalysts*. Springer Berlin Heidelberg, pp. 1–358. doi: 10.1007/978-3-642-12627-7/COVER
- Trzeciak, W. H., LeHoux, J. G., Waterman, M. R., y Simpson, E. R. 1993. Dexamethasone inhibits corticotropin-induced accumulation of CYP11A y CYP17 messenger RNAs in bovine adrenocortical cells. *Molecular Endocrinology*, 7(2), pp. 206–213. doi: 10.1210/MEND.7.2.8385739
- Undiano, E., Roman, R., Mirya-Molina, A., y Ayala, M. 2022. Halogenation of estrogens catalysed by a fungal chloroperoxidase. *Natural Product Research. Nat Prod Res*, 36(20), pp. 5353–5357. doi: 10.1080/14786419.2021.1925269
- Venlafaxine and Desvenlafaxine. s.f. *Venlafaxine and Desvenlafaxine and Drinking Water MDH Guidance Value*. Retrieved August 9, 2023, [https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda\\_docs/label/2017/020699s1071bl.pdf](https://www.accessdata.fda.gov/drugsatfda_docs/label/2017/020699s1071bl.pdf)
- Wang, Y., Gong, M., Wang, X., Peng, X., Wang, Y., Guan, J., Cheng, D., Weng, C., y Zheng, Y. (2020). Efficient degradation of ivermectin by newly isolated *Aeromonas taiwanensis* ZJB-18,044. *Biodegradation*, 31(4-6), 275–288. <https://doi.org/10.1007/s10532-020-09909-8>
- Walter, T. H., Iraneta, P., y Capparella, M. 2005. Mechanism of retention loss when C8 y C18 HPLC columns are used with highly aqueous mobile phases. *Journal of Chromatography A. Elsevier*, 1075(1–2), pp. 177–183. doi: 10.1016/J.CHROMA.2005.04.039
- Wannstedt, C., Rotella, D., y Siuda, J. F. 1990. Chloroperoxidase mediated halogenation of phenols. *Bulletin of Environmental Contamination y Toxicology. Bull Environ Contam Toxicol*, 44(2), pp. 282–287. doi: 10.1007/BF01700148
- Wei-Shou, H. (2018). *Kinetics of Biochemical Reactions en Engineering Principles in Biotechnology*. (1 ed., pp. 95-138). John Wiley y Sons Ltd
- Wolfender, J. L. 2009. HPLC in natural product analysis: The detection issue. *Planta Medica*. © Georg Thieme Verlag KG Stuttgart · New York, 75(7), pp. 719–734. doi: 10.1055/S-0028-1088393/ID/1/BIB
- Wu, R., Wang, L., Kuo, H. C. D., Shannar, A., Peter, R., Chou, P. J., Li, S., Hudlikar, R., Liu, X., Liu, Z., Poiani, G. J., Amorosa, L., Brunetti, L., y Kong, A. N. (2020). An Update on Current Therapeutic Drugs

Treating COVID-19. *Current Pharmacology Reports*, 6(3), 56–70. <https://doi.org/10.1007/s40495-020-00216-7>

Wu, S., Zhang, L., y Chen, J. 2012. Paracetamol in the environment y its degradation by microorganisms. *Applied Microbiology y Biotechnology*. Springer, 96(4), pp. 875–884. doi: 10.1007/S00253-012-4414-4/METRICS

Wu, T., Jia, X., Shi, H., Niu, J., Yin, X., Xie, J., y Wang, X. 2021. Prevalence of mental health problems during the COVID-19 pyemic: A systematic review y meta-analysis. *Journal of Affective Disorders. J Affect Disord*, 281, pp. 91–98. doi: 10.1016/J.JAD.2020.11.117

Yu, X. y Li, N. 2021. Understying the beginning of a pyemic: China’s response to the emergence of COVID-19. *Journal of Infection y Public Health. J Infect Public Health*, 14(3), pp. 347–352. doi: 10.1016/J.JIPH.2020.12.024

Zhang, B., Li, X., y Yan, B. 2008. Advances in HPLC detection-towards universal detection. *Analytical y Bioanalytical Chemistry*. Springer, 390(1), pp. 299–301. doi: 10.1007/S00216-007-1633-0/METRICS

Zhang, S., Arshad, M., Ullah -, A., Balasubramanian, P., T Balamurugan, T. S., Chen, S.-M., -, al, Ilavský, J., Barloková, D., and Marton, M. 2021. Removal of Specific Pharmaceuticals from Water using Activated Carbon. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. IOP Publishing, 906(1), pp. 012065. doi: 10.1088/1755-1315/906/1/012065

Zhang, Y., Lv, T., Carvalho, P. N., Arias, C. A., Chen, Z., and Brix, H. 2016. Removal of the pharmaceuticals ibuprofen and iohexol by four wetland plant species in hydroponic culture: plant uptake and microbial degradation. *Environmental Science and Pollution Research International. Environ Sci Pollut Res Int*, 23(3), pp. 2890–2898. doi: 10.1007/S11356-015-5552-X

Zhong, L., Liang, Y. Q., Lu, M., Pan, C. G., Dong, Z., Zhao, H., Li, C., Lin, Z., y Yao, L. 2021. Effects of dexamethasone on the morphology, gene expression y hepatic histology in adult female mosquitofish (*Gambusia affinis*). *Chemosphere. Pergamon*, 274, pp. 129797. doi: 10.1016/J.CHEMOSPHERE.2021.129797

Ziegler, M., Banet, M., Bauer, R., Köhler, H. R., Stepinski, S., Tisler, S., Huhn, C., Zwiener, C., and Triebkorn, R. 2021. Behavioral and Developmental Changes in Brown Trout After Exposure to the Antidepressant Venlafaxine. *Frontiers in Environmental Science. Frontiers Media S.A.*, 8, pp. 586584. doi: 10.3389/FENVS.2020.586584/BIBTEX

- Zilberman, A., Gozlan, I., and Avisar, D. 2023. Pharmaceutical Transformation Products Formed by Ozonation—Does Degradation Occur? *Molecules*. MDPI, 28(3). doi: 10.3390/MOLECULES28031227/S1
- Zupanc, M., Kosjek, T., Petkovšek, M., Dular, M., Kompare, B., Širok, B., Blažeka, Ž., and Heath, E. 2013. Removal of pharmaceuticals from wastewater by biological processes, hydrodynamic cavitation and UV treatment. *Ultrasonics Sonochemistry*. Elsevier, 20(4), pp. 1104–1112. doi: 10.1016/J.ULTSONCH.2012.12.003
- Žuvela, P., Skoczyła, M., Jay Liu, J., Baczek, T., Kaliszan, R., Wong, M. W., y Buszewski, B. 2019. Column Characterization y Selection Systems in Reversed-Phase High-Performance Liquid Chromatography. *Chemical Reviews*. American Chemical Society, 119(6), pp. 3674–3729. doi: 10.1021/ACS.CHEMREV.8B00246/ASSET/IMAGES/MEDIUM/CR-2018-00246V\_0023.GIF