



**A N A L E S  
D E L A  
R E A L A C A D E M I A  
N A C I O N A L  
D E F A R M A C I A**

**VOLUMEN 88. NÚMERO 4 (2022) · OCTUBRE - DICIEMBRE  
ACCESO ABIERTO**







# ANALES

# RANF

REAL ACADEMIA  
NACIONAL DE FARMACIA

REVISTA CIENTÍFICA

AÑO 2022 - NÚMERO 04

DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>

J.S.S.N. 1697-428X / E-ISSN: 1697-428X

VOLUMEN 88. NÚMERO 4 (2022) · OCTUBRE - DICIEMBRE

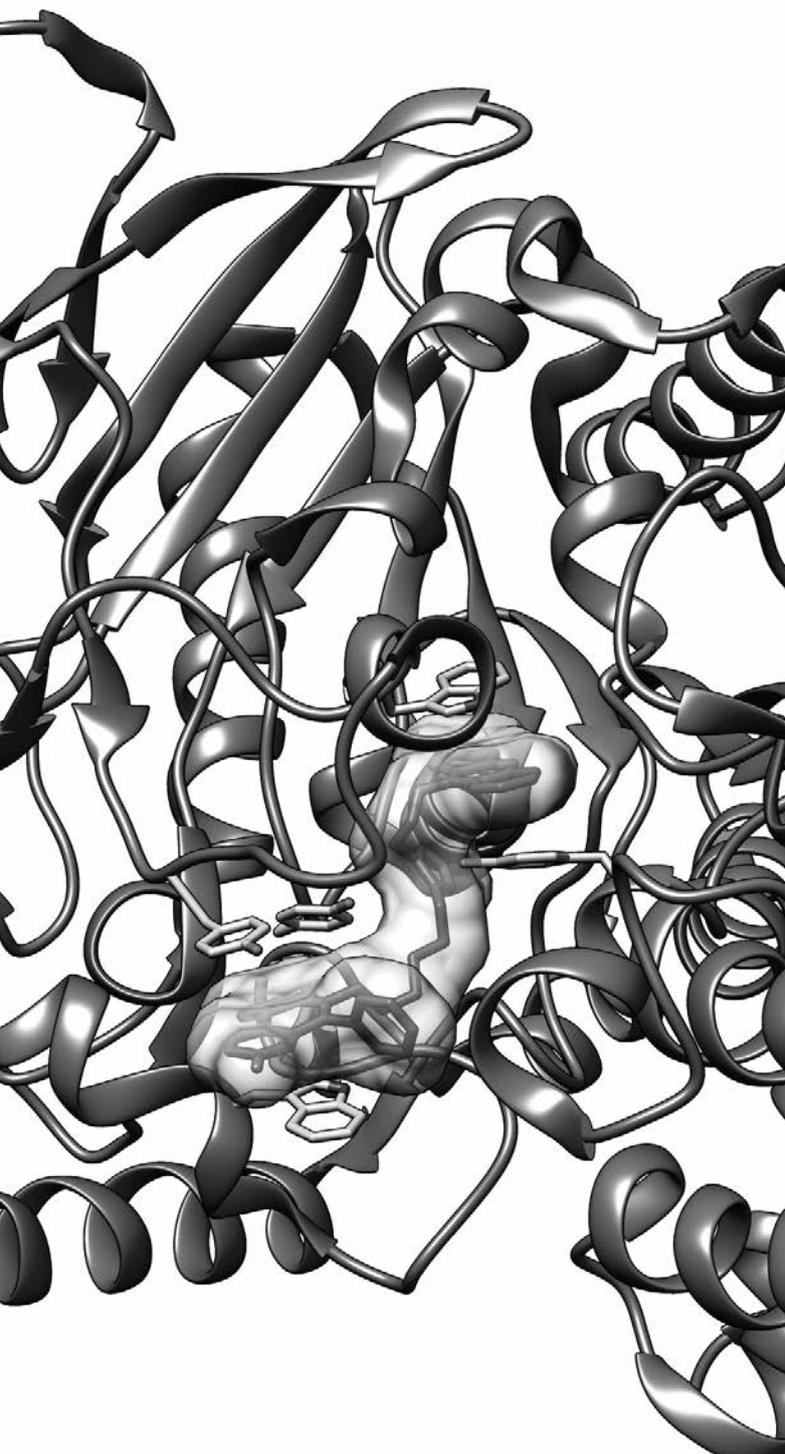


Imagen: Figura 24. Jose Carlos Menéndez.

## SUMARIO

### COMENTARIO

SANTIAGO GRISOLÍA Y KANSAS CITY  
MARÍA CASCALES

### ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN

DIVERSIDAD Y PERFILES DE RESISTENCIA  
A LOS ANTIBIÓTICOS EN ESPECIES DE AEROMONAS  
AISLADAS DE ECOSISTEMA ACUÁTICO DEL ECUADOR  
FÉLIX ANDUEZA, MARCO GONZÁLEZ, ET AL.

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE HIFOMICETOS ACUÁTICOS  
EN LA CUENCA ALTA DEL RÍO BOGOTÁ (COLOMBIA)  
A PARTIR DE MUESTRAS DE ESPUMA  
JAVIER FERNANDO DÍAZ-OVALLE Y ASTRID MARIBEL AGUILERA

### ARTÍCULOS DE REVISIÓN

NANOFORMULACIONES AVANZADAS CONTRA  
LA INFECCIÓN BACTERIANA  
MONTSERRAT COLILLA

EVALUACIÓN DE IMPACTO EN SALUD UNA  
HERRAMIENTA AL SERVICIO DE LA SOCIEDAD  
MIGUEL ÁNGEL CASERMEIRO

DE LA CICLOADICIÓN DE HUISGEN A LA QUÍMICA BIOORTOGONAL.  
UN COMENTARIO AL PREMIO NOBEL DE QUÍMICA DE 2022  
JOSÉ CARLOS MENÉNDEZ

### NOTICIAS FÁRMACOS DE NUEVA APROBACIÓN

FÁRMACOS NOVEDOSOS AUTORIZADOS RECIENTEMENTE  
POR LA EMA Y LA FDA (4º TRIMESTRE DE 2022)  
SANTIAGO CUÉLLAR RODRÍGUEZ



Revista editada por:

**REAL ACADEMIA NACIONAL DE FARMACIA**  
Calle de la Farmacia, 9-11 (Madrid)  
Teléfonos: 91 531 65 51  
I.S.S.N 1697-428X  
DOI: <https://doi.org/10.53519/analesranf>.



### **Presidente Comité Editorial**

*Doadrio Villarejo, Antonio L.*  
Presidente de la Real Academia Nacional de Farmacia

### **Directora Ejecutiva**

*Salaices Sánchez, Mercedes.*  
Vicesecretaria de la Real Academia Nacional de Farmacia

### **Editor Científico**

*Menéndez Ramos, José Carlos*  
Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

### **Consejo Editorial**

*Avendaño López, Carmen*  
*Ribas Ozonas, Bartolomé*  
*Villar del Fresno, Ángel María*  
*Lacadena Calero, Juan Ramón*  
*Rodríguez-Boto, Gregorio*  
*Salinas Sánchez, Jesús*  
Académicos de la Real Academia Nacional de Farmacia

### **Coordinación**

#### **Edición online RANF**

*Manuel Tirado Juárez*

#### **Coordinación ARP**

*Luis Javier Aróstegui Plaza*

#### **Diseño web**

*Montse López Ferres*

#### **Diseño revista**

*M. Nieves Gallardo Collado*

### **Consejo Editorial**

*Tamargo Menéndez, Juan*  
*Mayor Zaragoza, Federico*  
*Rodríguez Artalejo, Antonio*  
*Puerto Sarmiento, Javier*  
*García Sacristán, Albino*  
*Vilas Sánchez, Vicente*  
*Nombela Cano, César*  
*del Castillo García, Benito*  
*Sentandreu Ramón, Rafael*  
*Sánchez Muniz, Francisco José*  
*Abelló Gallo, Juan*  
*Ortega Ortiz de Apodaca, Fidel*  
*Basante Pol, Rosa*  
*Alonso Fernández, María José*  
*Ortiz Melón, José Miguel*  
*Giménez Gallego, Guillermo*  
*Medina Jiménez, José M<sup>a</sup>*  
*Barcina Angulo, Yolanda*  
*Domínguez-Gil Hurlé, Alfonso*  
*Esteban Rodríguez, Mariano*  
*Cabezas Fernández del Campo, J. Antonio*  
*Sanz Pérez, Bernabé*  
*Guinovart Cirera, Joan J.*  
*Vallet Regí, María*  
*Martínez Fernández, Antonio Ramón*  
*Manzanares Robles, Jorge*  
*Gómez-Serranillos Cuadrado, M<sup>a</sup> Pilar*  
*González Bueno, Antonio I.*  
*Molina Martín, María*  
*Martínez Lanao, José*  
*Daniel de la Cruz Sánchez Mata*  
*Tomás Girbes Juan*

### **Comité Científico Internacional**

*Prof. Aquiles Arancibia Orrego (Chile)*  
*Prof. Lucette Bardet (Francia)*  
*Kazuhiro Imai (Japón)*  
*Vincenzo Tortorella (Italia)*  
*Bernard Portha (Francia)*  
*Joaquim Alexandre Ribeiro (Portugal)*  
*Herbert Zimmermann (Alemania)*  
*Adolfo Pérez Miravete (Méjico)*  
*Carl - Göran Eden (Suecia)*



## ÍNDICE

**p. 709**

SANTIAGO GRISOLÍA Y KANSAS CITY  
MARÍA CASCALES ANGOSTO

**p. 713**

DIVERSIDAD Y PERFILES DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN ESPECIES DE AEROMONAS AISLADAS DE ECOSISTEMA ACUÁTICO DEL ECUADOR  
FÉLIX ANDUEZA, MARCO GONZÁLEZ, DIANA IBAZA D., PAOLA VÁSQUEZ, FRANCISCO VITERI, LUIS VILLACÍS, JUDITH ARAQUE, SANDRA ESCOBAR-ARRIETA, ANA GONZÁLEZ-ROMERO, GERADO MEDINA-RAMIREZ Y EVELIN ÁLVIAREZ.

**p. 721**

IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE HIFOMICETOS ACUÁTICOS EN LA CUENCA ALTA DEL RÍO BOGOTÁ (COLOMBIA) A PARTIR DE MUESTRAS DE ESPUMA  
JAVIER FERNANDO DÍAZ-OVALLE Y ASTRID MARIBEL AGUILERA

**p. 727**

NANOFORMULACIONES AVANZADAS CONTRA LA INFECCIÓN BACTERIANA  
MONTSERRAT COLILLA NIETO

**p. 737**

EVALUACIÓN DE IMPACTO EN SALUD UNA HERRAMIENTA AL SERVICIO DE LA SOCIEDAD  
MIGUEL ÁNGEL CASERMEIRO MARTÍNEZ

**p. 747**

DE LA CICLOADICIÓN DE HUISGEN A LA QUÍMICA BIOORTOGONAL. UN COMENTARIO AL PREMIO NOBEL DE QUÍMICA DE 2022  
JOSÉ CARLOS MENÉNDEZ RAMOS

**p. 767**

FÁRMACOS NOVEDOSOS AUTORIZADOS RECIENTEMENTE POR LA EMA Y LA FDA (4º TRIMESTRE DE 2022)  
SANTIAGO CUÉLLAR RODRÍGUEZ



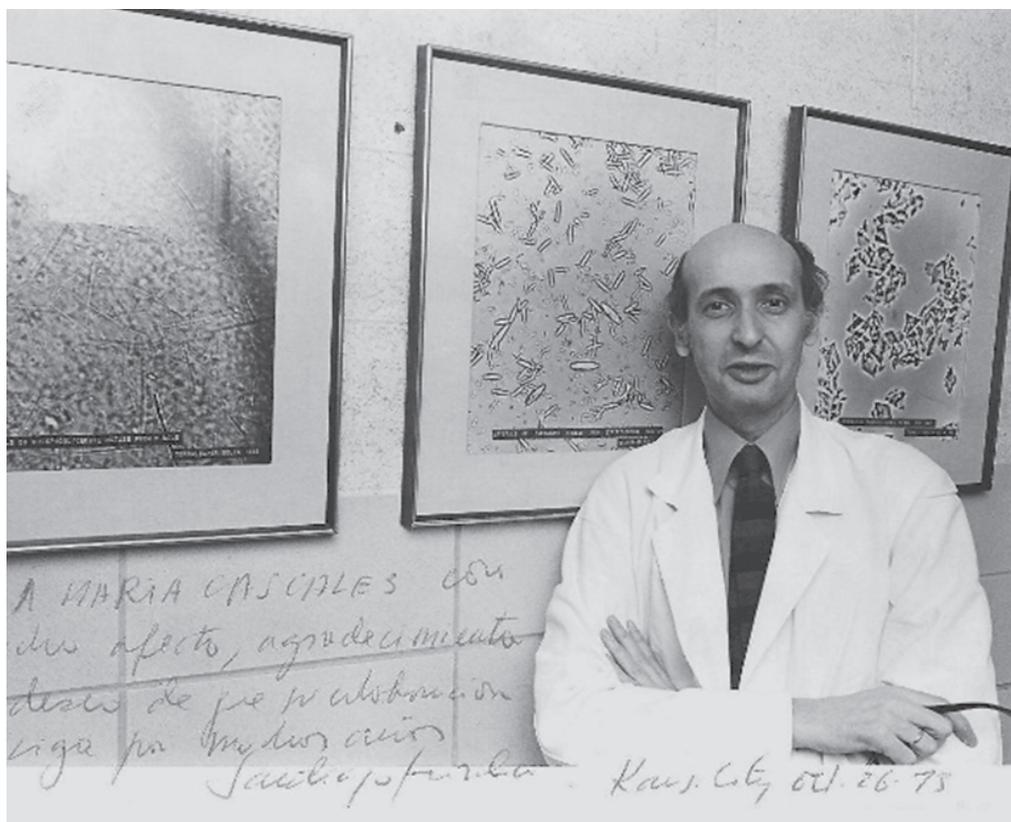
## SANTIAGO GRISOLÍA Y KANSAS CITY

### SANTIAGO GRISOLÍA AND KANSAS CITY

**María Cascales Angosto**

Académica supernumeraria de la Real Academia Nacional de Farmacia

**corresponding author:** cascales1934@gmail.com



Fotografía dedicada, por Santiago Grisolí, a la autora; tras don Santiago unos cuadros con tres de las enzimas purificadas en su laboratorio. Dedicatoria: «A María Cascales con mucho afecto, agradecimiento y deseo de que su colaboración siga por muchos años. Santiago Grisolí, Kansas City, Oct 26, 75»

Palabras Clave:

Santiago Grisolí  
María Cascales  
Kansas City (EE.UU.)  
Bioquímica.

Keywords:

Santiago Grisolí  
María Cascales  
Kansas City (USA)  
Biochemistry



Conocí a don Santiago en Nueva York, en el verano de 1964, con motivo de un Congreso Internacional de Bioquímica al que asistía con un grupo de españoles, entre ellos Ángel Santos Ruiz y Federico Mayor. En una comida que se organizó para reunirnos con Severo Ochoa, estuve al lado de Santiago Grisolí y, en el curso de la conversación, al saber que yo ya tenía el doctorado, me ofreció hacer mi postdoctorado en su Departamento de la Universidad de Kansas. Como en aquellos tiempos era muy difícil conseguir que un laboratorio extranjero te aceptara, en un principio tal ofrecimiento me pareció algo maravilloso.

A mi vuelta a Madrid comenté con el Director del Departamento de Bioquímica en el que yo trabajaba, Ángel Santos Ruiz, el ofrecimiento de don Santiago y le pareció bien, tanto que me animó a que pidiera una beca March y me dijo muy solemne: *"María, está claro que vamos a hacer de usted una científica"*. Y así fue; tuve la enorme suerte de conseguir una beca de la Fundación Juan March para trabajar en EE. UU. con Santiago Grisolí, entonces *Chairman del Biochemistry Department* de la Universidad de Kansas, en Kansas City.

En septiembre de 1965 partí para Kansas City. Yo sola, a 10.000 km de casa, en un viaje que duraba casi 20 horas, con escala en Nueva York

Llegué felizmente a Kansas City y en el aeropuerto me estaban esperando Antonio Torralba y su mujer. Don Santiago me adjudicó el laboratorio 415, y encargó a una doctoranda filipina, Josefina Tecson, que me pusiera al tanto del manejo del laboratorio. En mi laboratorio tenía un espectrofotómetro UNICAM para mí sola (en Madrid teníamos uno para todo el Departamento). También utilicé un contador de centelleo, para medir la radioactividad beta del fosforo 32.

El tema de investigación que don Santiago me encomendó fue el estudio del comportamiento de la 3-fosfoglicerato mutasa purificada. Santiago Grisolí se sentía muy orgulloso porque en su laboratorio se habían purificado y cristalizado cuatro enzimas, entre ellos la 3-fosfoglicerato mutasa.

En aquellos tiempos purificar una enzima suponía un arduo trabajo, que proporcionaba la gran ventaja de poder estudiar, sin interferencias, el mecanismo de acción de dicha enzima.

La operatividad de la 3-fosfoglicerato mutasa, en presencia de su sustrato marcado con  $^{32}\text{P}$  y de diferentes concentraciones de cloruro potásico, sufría notables cambios. En esas condiciones conseguimos una serie de resultados, mediante la separación de los fosfogliceratos por cromatografía sobre papel y evaluando la radioactividad en cada uno de ellos en un contador de centelleo. Estos resultados fueron motivo de dos publicaciones importantes (1, 2) y merecieron ser citados en un libro de texto (3).

Mi trabajo me apasionaba porque me hacía obtener buenos resultados. Observaba con satisfacción que algunos fines de semana don Santiago y su mujer, Frances, venían a mi laboratorio, miraban mis resultados y el lunes me los comentaban.

Aquella primavera visitaron Kansas City los padres de don Santiago (Santiago y Concha). Eran muy viejecitos y cariñosos. Lo pasamos muy bien y guardo muy buenos recuerdos de ellos. Cuando visitaron el Laboratorio todos querían saludarlos y me pedían que les enseñara alguna palabra de bienvenida en español.

Mi estancia en Kansas fue una experiencia que nunca olvidaré. Santiago Grisolí era un jefe excepcional dentro y fuera del laboratorio. Lo primero fue hablarme en español, con lo cual no tuve ningún problema con el inglés americano, y lo segundo fue su naturaleza afectiva y la de Frances, que me acompañaron siempre. El mismo don Santiago me trajo, con sus propios brazos, un televisor a mi apartamento. Además, en la fiesta de Navidad me invitaron a su casa donde cené y pasé esa noche durmiendo en un sofá-cama, el mismo que usaba Severo Ochoa cuando iba a Kansas City. Tengo que decir que el año que pasé en Kansas fue de los mejores que he pasado en mi vida y cuando volví a casa lo hice con un poco de añoranza. Mi estancia postdoctoral con don Santiago fue un espaldarazo en mi incipiente carrera científica. Don Ángel no se equivocó.



Santiago Grisolí pronunciando su discurso de ingreso en la Real Academia de Farmacia. Madrid, 15/02/1979.



María Cascales, Santiago Grisolí y María Barroso de Soares. Miembros de un jurado de los Premios Dupont

A mi vuelta a Madrid empecé a poner en marcha mi laboratorio y planear mis investigaciones con grupo propio. Pedí consejo a don Santiago sobre este problema, que me preocupaba mucho, y me aconsejó que eligiera un tema de investigación que no fuera competitivo, y a ser posible continuara con lo que estaba haciendo antes de ir a Kansas, y aplicando todo aquello que había aprendido, y así lo hice.

Años después, a principios de 1975, volví a Kansas. Acababa de morir mi padre en octubre de 1974 y yo me sentía realmente mal. Don Santiago, que me vio tan triste, me invitó a pasar una temporada en Kansas ya que en esos momentos, estaba allí Blanca Feijoo, que había realizado su memoria doctoral conmigo; era una forma de estar un par de meses con ella y volvernos juntas. Don Santiago había cambiado de laboratorio y había sido nombrado *Distinguished Professor*. Estábamos en el primer trimestre del 1975 y don Santiago estaba preparando su venida a España. En noviembre de ese mismo año, al morir Jerónimo Forteza, director del Instituto de Investigaciones Citológicas de Valencia, Santiago Grisolí fue nombrado el nuevo director.

Santiago Grisolí ha sido uno de los grandes científicos españoles 'americanos' que, con Severo Ochoa y Francisco Grande Covián, impulsaron la Bioquímica en España, y cuya influencia fue decisiva en la fundación de la Sociedad Española de Bioquímica y en conseguir que la Bioquímica española adquiriera rango internacional.

No voy a detenerme en glosar los méritos científicos de don Santiago, pero sí quiero referirme a que su vuelta a España, en 1975, supuso una revolución para la ciencia valenciana al contar, a partir de esa fecha, con el ímpetu, la energía y el buen hacer de este hombre increíble por su inteligencia y por su carácter abierto y comunicativo. Prueba de ello fue la creación de la Fundación

Valenciana de Estudios Avanzados y los Premios Jaime I. Yo puedo dar buena cuenta de ello porque fui invitada muchas veces a participar en actividades de la Fundación y formé parte de los jurados de los Premios, en los que compartí mesa con numerosos Premios Nobel.

La ejemplaridad de su vida mereció que S.M. el rey don Juan Carlos le otorgase el título nobiliario de Marqués de Grisolí, en los siguientes términos: "La prolongada y encomiable labor investigadora y docente de don Santiago Grisolí García y su contribución al conocimiento científico merecen un reconocimiento especial, por lo que, queriendo demostrarle mi Real aprecio, Vengo en otorgarle el título de Marqués de Grisolí, para sí y sus sucesores, de acuerdo con la legislación nobiliaria española. Dado en Madrid, el 13 de mayo de 2014. Juan Carlos R.»

En el escudo de este título nobiliario de nueva creación figura la molécula de acetil glutamato, componente del ciclo de la urea, molécula descubierta por él.

Mi última visita a don Santiago fue el pasado diciembre, pocos meses antes de su muerte. El próximo año hubiera cumplido 100 años y la Fundación ya estaba preparando los actos para celebrar su centenario. Teníamos la promesa de S.M. la reina doña Letizia de presidir esta celebración. Pero no pudo ser. Todos sus discípulos y sus colaboradores nos hemos quedado con un gran vacío y una profunda tristeza.

Don Santiago, admirado maestro y entrañable amigo, es mucho lo que tengo que agradecerle. Con usted se va una parte importantísima de la Bioquímica española. Lo echaremos mucho de menos y lo recordaremos siempre.

## REFERENCIAS

1. Cascales M., Grisolí S. Influence of ionic strength on apparent reaction mechanism of phosphoglycerate mutase. *Biochemistry* 1966; 5(10), 3116–3122.
2. Grisolí S., Cascales M. 1966. "Apparent change in reaction mechanism of phosphoglycerate mutase induced by salt". *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1966; 22(2), 200-205.
3. West E.S., Todd W.R., Mason H.S., Van Bruggen, J.T. *Textbook of Biochemistry* [4th edition]. New York: MacMillan.

Si desea citar nuestro artículo:

**Santiago Grisolí y Kansas City**

María Cascales Angosto

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. n<sup>o</sup>4 (2022) · pp. 709 - 712

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.04.01>



# DIVERSIDAD Y PERFILES DE RESISTENCIA A LOS ANTIBIÓTICOS EN ESPECIES DE AEROMONAS AISLADAS DE ECOSISTEMA ACUÁTICO DEL ECUADOR

## DIVERSITY AND PROFILES OF RESISTANCE TO ANTIBIOTICS IN SPECIES OF AEROMONAS ISOLATED FROM THE AQUATIC ECOSYSTEM OF ECUADOR

Félix Andueza<sup>1,5</sup>, Marco González<sup>1</sup>, Diana Ibaza D.<sup>1</sup>, Paola Vásquez<sup>1</sup>, Francisco Viteri<sup>1</sup>, Luis Villacis<sup>1</sup>, Judith Araque<sup>1,5</sup>, Sandra Escobar-Arrieta<sup>2</sup>, Ana González-Romero<sup>3</sup>, Gerado Medina-Ramírez<sup>4</sup>, Evelin Álvarez<sup>5</sup>.

<sup>1</sup> FIGEMPA. Universidad Central del Ecuador. (UCE). Quito. Ecuador

<sup>2</sup> Escuela Superior Politécnica del Chimborazo (ESPOCH). Riobamba. Ecuador.

<sup>3</sup> Universidad Nacional del Chimborazo. (UNACH). Riobamba. Ecuador

<sup>4</sup> Universidad Regional Autónoma de los Andes (UNIANDES). Ambato. Ecuador

<sup>5</sup> Universidad de los Andes. (ULA). Mérida. Venezuela.

corresponding author: fdandueza@uce.edu.ec

### REVISIÓN

### RESUMEN

**Introducción:** En Ecuador se desconoce la diversidad de especies de *Aeromonas* y sus perfiles de resistencia a los antibióticos en la mayoría de ecosistemas acuáticos. **Objetivo:** Conocer la diversidad de especies del género *Aeromonas* y sus perfiles de resistencia a los antibióticos presentes en el balneario de aguas mineromedicinales "Santagua de Chachimbiro" y en el agua del lago volcánico cratérico Cuicocha. **Metodología:** Se analizaron muestras de agua del balneario "Santagua de Chachimbiro" y del lago volcánico cratérico Cuicocha, ubicados en la provincia de Imbabura-Ecuador. El aislamiento de las especies de *Aeromonas* se realizó por la técnica de siembra en profundidad y por filtración en membrana utilizando como medio de cultivo el agar R<sub>2</sub>A y el agar almidón ampicilina. Las bacterias se identificaron siguiendo el esquema propuesto Longa *et al.*, (1997), complementadas con pruebas de las galerías Microgen. El perfil de resistencia a los antibióticos se determinó por el método de difusión en placas de Kirby y Bauer (1966) interpretándose según el CLSI (2019). **Resultados:** Se lograron identificar un total de 19 cepas del género *Aeromonas* pertenecientes a 6 especies. Los perfiles de resistencia a los antibióticos muestran diferentes patrones para cada una de las especies, aunque prevalecen las especies multiresistentes a los antibióticos amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, aztreonam, eritromicina y tetraciclina. **Conclusiones:** Se demuestra la presencia de diversas especies de *Aeromonas* en ambientes acuáticos del Ecuador con variados perfiles de resistencias y multiresistencia a los antibióticos.

### ABSTRACT

**Introduction:** In Ecuador, the diversity of *Aeromonas* species and their resistance profiles to antibiotics in most aquatic ecosystems are unknown. **Objective:** To know the diversity of species of the genus *Aeromonas* and their resistance profiles to antibiotics present in the mineralmedicinal water spa "Santagua de Chachimbiro" and in the water of the Cuicocha crater volcanic lake. **Methodology:** Water samples from the "Santagua de Chachimbiro" spa and from the volcanic crater lake Cuicocha, located in the province of Imbabura-Ecuador, were analyzed. The isolation of the *Aeromonas* species was carried out by the deep seeding technique and by membrane filtration using R<sub>2</sub>A agar and ampicillin starch agar as the culture medium. The bacteria were identified following the schemes proposed by Longa *et al.*, (1997), complemented with tests of the Microgen galleries. The antibiotic resistance profile was determined by the plate diffusion method of Kirby and Bauer (1966) interpreted according to the CLSI (2019). **Results:** A total of 19 strains of the genus *Aeromonas* belonging to 6 species were identified. Antibiotic resistance profiles show different patterns for each of the species, although species multi-resistant to antibiotics amoxicillin, amoxicillin/clavulanic acid, aztreonam, erythromycin and tetracycline prevail. **Conclusions:** The presence of various species of *Aeromonas* in aquatic environments of Ecuador with varied profiles of resistance and multi-resistance to antibiotics is demonstrated.

#### Palabras Clave:

*aeromonas*  
ecosistema acuáticos  
agua mineromedicinal  
lago cratérico  
resistencia a los antibióticos

#### Keywords:

*aeromonas*  
aquatic ecosystem  
mineralmedicinal water  
crateric lake  
resistance to antibiotics

## 1. INTRODUCCIÓN

El papel del ambiente en la diseminación de las bacterias resistentes a los antibióticos es un hecho establecido desde hace varias décadas (1, 2). Se ha observado que los ecosistemas acuáticos pueden albergar una gran variedad de bacterias autóctonas y alóctonas portadoras de genes de resistencia a diversos antimicrobianos, lo cual ha recibido el nombre de resistomas ambientales (3).

Los resistomas ambientales hasta ahora detectados, incluyen una gran variedad de géneros y especies bacterianas presentes en diferentes tipos de ecosistemas acuáticos, tales como, lagos, manantiales de aguas termales, plantas de tratamientos y ríos (4, 5, 6, 7).

Entre los géneros de bacterias encontrados destaca el género *Aeromonas*, las cuales están presentes principalmente en ecosistemas acuáticos (4) pero también se les suele encontrar en ecosistemas terrestres y en los alimentos, de igual manera como miembros de la microbiota de animales (8).

Varias especies del género *Aeromonas* son capaces de causar enfermedades en diferentes especies de animales, incluidos los humanos, siendo en estos últimos, responsables de infecciones intestinales y extra intestinales tales como gastroenteritis, bacteriemia, infecciones de piel y tejidos blandos y sepsis con curso letal. La infección ocurre a menudo después del contacto o consumo de aguas o alimentos contaminados (8), lo que aumenta el riesgo para la salud humana (4). Por estas razones, algunos países han establecido normas para detectar *Aeromonas spp.* en aguas (9).

La resistencia a diversos grupos de antibióticos es otra característica resaltante de las especies de *Aeromonas* aisladas de muestras clínicas (4). Se han descrito altas tasas de resistencia contra

penicilinas y cefalosporinas de primera generación y están asociadas con la producción de betalactamasas codificadas cromosómicamente (8). También, los genes *cphA/imiS* metalo-beta-lactamasa y *tet*, han sido implicados en la resistencia a los carbapenemes y las tetraciclinas (10).

La mayoría de los estudios sobre la detección de genes de resistencia a antibióticos se han limitado a las especies *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas veronii*, *Aeromonas sobria* y *Aeromonas caviae*, provenientes de muestras clínicas (10).

La incidencia de resistencia a los antibióticos en aislados ambientales de especies de *Aeromonas* se ha investigado muy poco, por lo que las implicaciones del contacto humano con aguas contaminadas con cepas de especies de *Aeromonas* son desconocidas.

En Ecuador, las aguas termales y los lagos de alta montaña son frecuentemente utilizadas por un amplio sector de la población, quienes acuden a ellas con fines recreativos y en muchos casos con fines curativos. En este sentido, el objetivo del presente trabajo fue determinar la diversidad de especies de *Aeromonas* y sus perfiles de resistencia a los antibióticos en ecosistemas acuáticos del Ecuador, de manera de conocer si existe en estos ecosistemas resistomas ambientales que pudieran ser un riesgo para la salud del público que acude a estos sitios.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Materiales

#### 2.1.1 Sitios de muestreos

Uno de los sitios donde se realizó parte de la investigación fue el balneario de aguas mineromedicinales "Santagua de Chachimbiro" ubicadas en el suroeste de la parroquia Tumbabiro, en

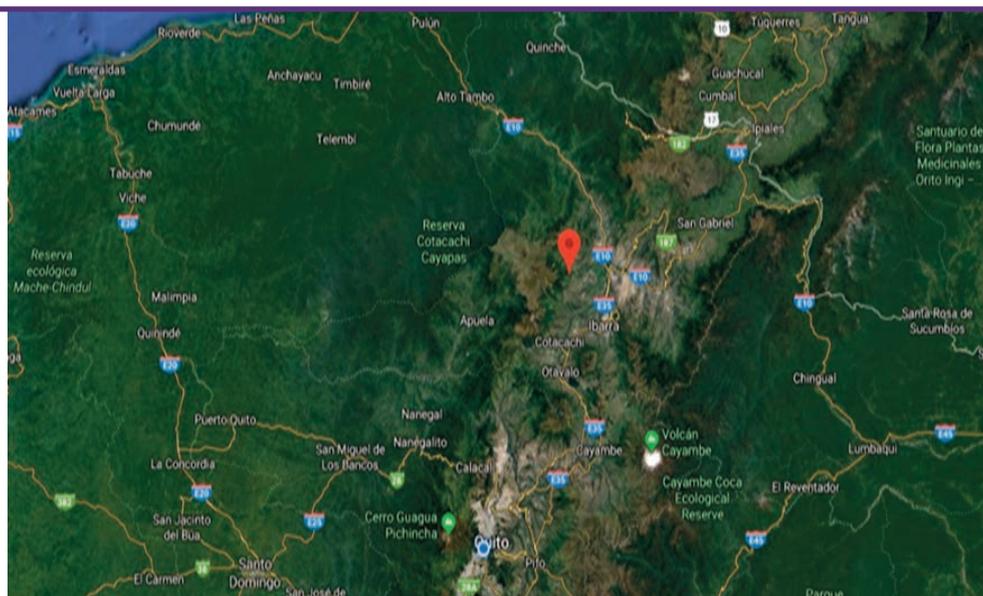


Figura 1. Ubicación geográfica del Balneario "Santagua de Chachimbiro. Imbabura. Ecuador (Google Map, 2021).



el cantón Urcuqui, provincia Imbabura, en la Cordillera Occidental Andina ecuatoriana (Figura 1) a una altitud de 2672 m.s.n.m. y con una temperatura ambiente que varía entre los 16 y 22 °C. Las aguas termo minerales de Chachimbiro en el complejo Santagua, provienen de un acuífero hidrotermal profundo. El agua termal es de tipo clorurada sódica e hipertermal ya que la temperatura media del agua es de 55 °C (11).

De igual forma, el estudio también se llevó a cabo en el lago volcánico cratérico Cuicocha. El lago Cuicocha es un lago cratérico ubicado en la cordillera occidental de los Andes ecuatorianos, ubicados a unos 100 km al norte de Quito, cerca de la población de Otavalo, en la Provincia de Imbabura (Figura 2). Está situado a una altura de 3072 metros sobre el nivel del mar, posee un diámetro de 3,2 km, una superficie de 3,78 km<sup>2</sup> y una profundidad máxima de 148 metros. Presenta en el centro del lago dos islas, la isla Yerovi de una superficie de 0.26 km<sup>2</sup> y la isla Wolf con una superficie de 0.41 km<sup>2</sup> (12).

Es un lago cratérico adyacente al volcán Cotacachi que de acuerdo con los datos geológicos que se disponen, el volcán ha sufrido una serie de erupciones intensas con emisión de cenizas, lahares y el colapso de la caldera entre los años 2900 AC y 700 DC, llegándose a formar ulterior a estos acontecimientos, un lago en la caldera que ha sido cubierto, tanto por agua de lluvia como por agua hidrotermal proveniente del volcán (12).

## 2.2.2 Muestras

En el balneario de aguas mineromedicinales “Santagua de Chachimbiro” los puntos de la toma de muestra fueron cuatro. El primero, fue en la vertiente u ojo de agua. El segundo, en el tanque de almacenamiento. El tercer y cuarto punto fueron del agua de las piscinas. En todos los casos se tomó un volumen de 1 litro de muestras de agua, por duplicado en cada ocasión. Se realizaron tres muestreos en cada punto establecido, durante un periodo de un año, con un total de 24 muestras.

Para el lago Cuicocha las muestras de agua se recolectaron por duplicado en 6 sitios seleccionados a lo largo y ancho del lago a nivel de la superficie, durante 3 ocasiones a lo largo de un año, para un total de 36 muestras. Se identificaron las coordenadas geográficas de los sitios de recolección mediante un GPS marca Hanna. Para la recolección de las muestras se utilizaron frascos esterilizados y un muestreador de agua Van Dorn.

En todos los casos los muestreos se realizaron de acuerdo con la norma ecuatoriana sobre muestras de agua (13), transportándose las muestras hasta el laboratorio de análisis según lo indicado en la normativa (14).

## 2.2 Metodología

### 2.2.1 Siembra y aislamiento

Para el aislamiento de las colonias de *Aeromonas* presentes en las muestras de agua, se utilizaron 2 técnica. La primera téc-

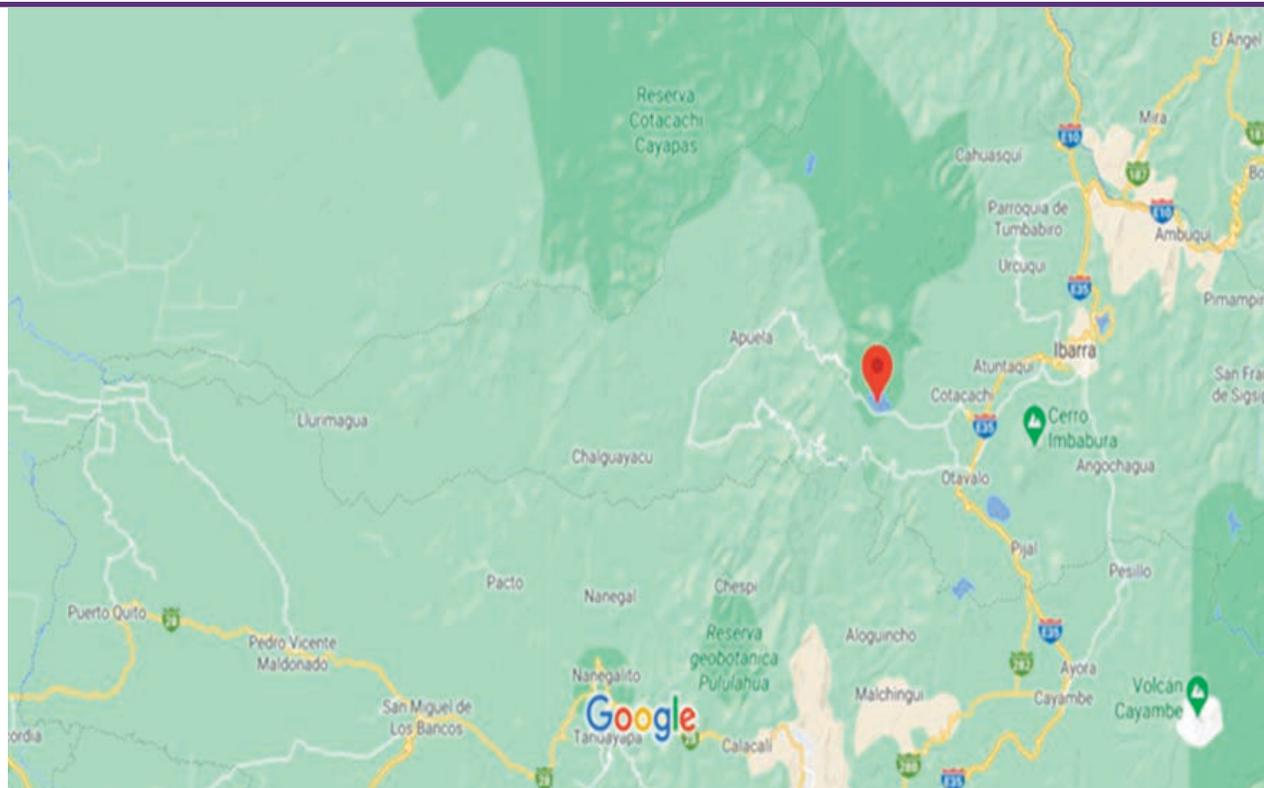


Figura 2. Ubicación geográfica del lago Cuicocha. Provincia de Imbabura. Ecuador (Google Maps, 2021).



nica fue la de siembra en profundidad utilizando diluciones seriadas hasta  $10^{-3}$  de cada una de las muestras en solución fisiológica, y posteriormente de cada una de las diluciones y de la muestra sin diluir, se realizaron siembras de un volumen de 1 mL. En este caso se utilizó el agar R<sub>2</sub>A, incubándose a 30 °C durante un tiempo de 48 a 72 horas. Posteriormente se purificaron las colonias crecidas en agar soya tripticasa para su posterior identificación (15).

La segunda técnica fue la de filtración por membrana. De cada una de las muestras recolectadas de agua se filtraron un volumen de 100 mL, utilizando filtros de 0,45  $\mu$ m de diámetro y un tamaño de poro de 0,45  $\mu$ m (Millipor). Posteriormente, las membranas se colocaron sobre placas de Petri con agar almidón suplementado con 50  $\mu$ g/mL de ampicilina (Merck). Las placas con los filtros se incubaron a una temperatura de 30 °C durante 48-72 horas. Finalizado el tiempo de incubación las colonias amarillas fueron seleccionadas y purificadas en agar almidón ampicilina para su posterior identificación (15).

### 2.2.2 Identificación de las colonias de *Aeromonas* aisladas

Cada una de las colonias aisladas fueron purificadas en placas de Petri con agar soya tripticasa. Seguidamente se les realizó la prueba de la oxidasa. Aquellas que resultaron oxidasa positiva, se les siguió las pruebas bioquímicas según lo descrito por Longa *et al.*, (1997) (16).

Las cepas presuntivas de *Aeromonas*, purificadas en el agar Trypticase-Soya, fueron sometidas a pruebas bioquímicas individuales, a fin de lograr su identificación a nivel de especie. Debido a que para el momento de realizar la identificación no se contó con el agente vibriostático O/129, del cual parte este esquema, la identificación debió complementarse con las pruebas bioquímicas individuales (16). De igual forma, se utilizó el método comercial de las galerías de identificación taxonómica Microgen™ (2004), para confirmar la identificación de las cepas de *Aeromonas*.

### 2.2.3 Perfiles de resistencia a los antibióticos

La susceptibilidad a los antibióticos fue determinada a cada una de las cepas de *Aeromonas* identificadas, a través del método de difusión en discos de Kirby-Bauer (17). Se utilizó como cepa control, la cepa ATCC 25922 de *Escherichia coli*. Se chequearon los siguientes antibióticos: amoxicilina (AMX; 10  $\mu$ g), amoxicilina/ácido clavulánico (AMC; 30  $\mu$ g), aztreonam (ATM; 30  $\mu$ g), cefalotina (CEF; 30  $\mu$ g), ceftazidima (CAZ; 30  $\mu$ g), cefepima (CEP; 30  $\mu$ g), eritromicina (ERY; 15  $\mu$ g), gentamicina (GEN; 10  $\mu$ g), imipenem (IPM; 10  $\mu$ g), tetraciclina (TET; 30  $\mu$ g) y trimetoprim/sulfametoxazol (SxT; 25  $\mu$ g).

Para la interpretación de los resultados de los antibiogramas se utilizó el manual del CLSI (2019) (18).

Tabla 1. Especies del género *Aeromonas* aisladas e identificadas de muestras de agua del balneario "Santagua de Chachimbiro" y del lago volcánico cratérico Cuicocha. Ecuador

Lugar	Número de colonias bacterianas aisladas	Número de colonias de <i>Aeromonas</i> aisladas	Porcentaje de aislamiento de <i>Aeromonas</i> (%)	Especies de <i>Aeromonas</i> identificadas	Número de cepas	Porcentaje de cada especie de <i>Aeromonas</i> (%)
Balneario Santagua de Chachimbiro	29	12	41.4	<i>A. caviae</i>	5	41.7
				<i>A. eucrenophila</i>	1	8.3
				<i>A. hydrophila</i>	1	8.3
				<i>A. media</i>	1	8.3
				<i>A. salmonicida</i>	3	25
				<i>A. schubertii</i>	1	8.3
				Lago volcánico cratérico Cuicocha	20	7
<i>A. media</i>	2	28.6				
<i>A. salmonicida</i>	1	14.3				
<i>A. schubertii</i>	2	28.6				
Total	71	19	26.8			

**Tabla 2. Perfiles de resistencia a los antibióticos de especies de *Aeromonas* aisladas en ecosistemas acuáticos del Ecuador**

Lugar	Especie <i>Aeromonas</i>	AMX	AMC	ATM	CEF	CAZ	CEP	ERY	GEN	IPM	TET	SxT
Balneario Santagua de Chachimbiro	<i>A. caviae</i>	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	R
	<i>A. eucrenophila</i>	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S
	<i>A. hydrophila</i>	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R
	<i>A. media</i>	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S
	<i>A. salmonicida</i>	R	S	S	R	S	S	R	R	S	R	R
	<i>A. schubertii</i>	R	S	R	S	S	S	R	S	S	S	S
Lago Volcánico cratérico Cuicocha	<i>A. eucrenophila</i>	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
	<i>A. media</i>	R	R	S	R	S	S	R	R	S	S	S
	<i>A. salmonicida</i>	R	R	S	S	S	S	R	R	S	R	S
	<i>A. schubertii</i>	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S

Nota: AMX: amoxicilina 10 µg. AMC: amoxicilina/ácido clavulánico 30 µg. ATM: aztreonam 30 µg. CEF: cefalotina 30 µg. CAZ: ceftazidima 30 µg. CEP: cefepima 30 µg. ERY: eritromicina 15 µg. GEN: gentamicina 10 µg. IPM: imipenem 10 µg. TET: tetraciclina 30 µg. SxT: trimetoprim/sulfametoxazol 2.5 µg. R: Resistente. S: Sensible.

### 3. RESULTADOS

#### 3.1 Diversidad de especies de *Aeromonas*

A partir de las 24 muestras de agua termal recolectadas en el balneario de aguas mineromedicinales "Santagua de Chachimbiro", se logró aislar un total de 29 colonias de bacterias, de las cuales 12 (41,4 %) correspondieron a células de *Aeromonas spp* (Tabla 1), de acuerdo con las pruebas de Gram, oxidasa, fermentación de la glucosa, crecimiento en presencia de cloruro de sodio, Voges Proskauer y producción de ácido a partir del inositol.

En el caso del agua del lago volcánico cratérico Cuicocha, de 20 cepas bacterianas aisladas, se pudo identificar como pertenecientes al género *Aeromonas*, un total de 7 (35 %) cepas bacterianas. (Tabla 1).

Los esquemas para la identificación de las especies de *Aeromonas* son variables. Algunos investigadores las han identificado, mediante la determinación de características morfológicas, nutricionales y fisiológicas, con posterior comparación con aquellas características descritas por otros investigadores (16).

El procedimiento utilizado permitió descartar la posibilidad de que los aislados estudiados pertenecieran al grupo de los *Vibrio* no halófilos, tales como *V. cholerae* y *V. mimicus*, los cuales,

si no se realiza la prueba del agente vibriostático, se asemejan a *Aeromonas* en pruebas claves tales como la oxidasa y la utilización de la sacarosa. En este sentido, la utilización de prueba como el hidrólisis de la esculina, utilización de la arabinosa, de carboxilación de la ornitina y de la arginina y la reacción de Voges Proskauer, resolvió el problema planteado.

Al observar los datos señalados en la Tabla 1, se puede indicar que para el balneario de aguas mineromedicinales "Santagua de Chachimbiro" se logró identificar 12 cepas del género *Aeromonas* pertenecientes a las especies: *Aeromonas caviae*, *Aeromonas eucrenophila*, *Aeromonas hydrophila*, *Aeromonas media*, *Aeromonas salmonicida* y *Aeromonas schubertii*.

En el caso del agua del lago volcánico cratérico Cuicocha se pudo identificar un total de 7 cepas del género *Aeromonas* perteneciente a las especies *Aeromonas caviae*, *Aeromonas eucrenophila*, *Aeromonas salmonicida subsp. Salmonicida* y *Aeromonas schubertii* (Tabla 1).

Al analizar los datos de la Tabla 1, se observa que las especies con mayor frecuencia de aislamiento, considerando los dos ecosistemas analizados, fueron *Aeromonas caviae* (41,7 %), *Aeromonas eucrenophila* (36,9 %) *Aeromonas media* (36,9 %), *Aeromonas shubertii* (36,9 %).



### 3.2 Perfiles de resistencia a los antibióticos

En la Tabla 2 se resumen los resultados obtenidos en la determinación de los perfiles de resistencia y sensibilidad a los antibióticos de las especies del género *Aeromonas* identificadas en el balneario de agua mineromedicinal "Santagua de Chachimiro" y en el agua del lago volcánico cratérico Cuicocha en Ecuador.

En la presente investigación se observaron las mayores resistencia para el caso de los antibióticos amoxicilina, amoxicilina/ácido clavulánico, aztreonam, eritromicina y tetraciclina. Siendo los antibióticos más efectivos contra las cepas de las diferentes especies de *Aeromonas*, los antibióticos ceftazidima, cefepima, imipenem y trimetoprim/sulfametoxazol, resultados que corresponde a la susceptibilidad que se ha indicado para este género en diferentes tipos de muestras (8).

## 4. DISCUSIÓN

En diversas partes del mundo se han realizado estudios que han puesto en evidencia la presencia de especies de *Aeromonas* en diferentes tipos de ecosistemas acuáticos, incluyendo manantiales de aguas termales (19, 20). En este sentido, los resultados del presente trabajo son similares respecto a la presencia de especies de este género en las aguas estudiadas, aunque se difiere en el aspecto de las especies identificadas y sus porcentajes de aislamientos.

En la mayoría de los estudios realizados en ecosistemas acuáticos (4, 9, 15, 20), las especies prevalente han sido *Aeromonas hydrophila* y *Aeromonas veronii*, resultados diferentes a los obtenidos en la presente investigación.

En Ecuador existen varios estudios sobre el aislamiento y caracterización de este género bacteriano en muestras de aguas de balnearios mineromedicinales. Sin embargo, al comparar los resultados obtenidos en la presente investigación con los observados en otros balnearios de aguas mineromedicinales del Ecuador (21, 22), se puede señalar que especies del género *Aeromonas* se han aislados en estos tipos de ecosistemas, aunque existen variaciones en las especies identificadas y en la frecuencia de aislamiento.

Con respecto a las investigaciones donde se señale el aislamiento de especies del género *Aeromonas* en aguas de lagos volcánicos crátericos, son escasas a nivel del mundo (6) y en Ecuador este trabajo sería el primero en evidenciar la presencia de este género bacterianos en las aguas de lagos volcánicos crátericos, aunque se ha indicado la presencia de cepas de *Aeromonas* en otros lagos no volcánicos de alta montaña del Ecuador (23).

Las *Aeromonas* presentan un perfil típico de susceptibilidad a antibióticos, aunque los perfiles de resistencia varían entre los estudios, lo que parece estar relacionado con rasgos específicos de la cepa y presiones selectivas ambientales (8).

El porcentaje de cepas de *Aeromonas* resistentes a tetraciclina y/o trimetoprima/sulfametoxazol fue inferior a los reportados en ambientes clínicos (24), acuicultura (25) y plantas de tratamiento de aguas residuales (26), no así en los casos de *Aeromonas* aisladas en aguas potables, las cuales diversos autores han señalado resultados mayores o similares a los datos obtenidos en el presente trabajo (4, 23).

En diversos estudios realizados en los últimos años en diferentes tipos de ecosistemas acuáticos, como lo son los glaciares, los lagos volcánicos y los manantiales de aguas termales, han dejado al descubierto que en estos ambientes existen, desde tiempos prehistóricos, una diversidad de microorganismos con resistencias naturales a los antibióticos que han sobrevivido y se han adaptado a las condiciones extremas reinantes en esos ambientes, constituyendo un reservorio natural de bacterias y de genes asociados con la resistencia a los antibióticos denominados resistomas ambientales, los cuales han sido poco estudiados y que colocan el problema de la resistencia a los antibióticos en un contexto ambiental, ecológico y evolutivo, además del sanitario (5, 12, 27, 28).

Es decir, mucho antes de que surgiera la era de los antibióticos, las comunidades bacterianas naturales han interactuado con los microorganismos productores de antibióticos y desarrollados mecanismos de resistencia que le han permitido su adaptación y proliferación en distintos ambientes acuáticos y terrestres (29).

Los resultados obtenidos reflejan probablemente la existencia de presiones selectivas en los ecosistemas investigados debido a la presencia de microorganismos productores de antimicrobianos en estos ambientes, así como a la presencia de especies de bacterias patógenas proveniente de fuentes externas (29).

En lo que se refiere a estudios en otras partes del mundo sobre la presencia de especies del género *Aeromonas* resistente a antibióticos en muestras de agua de lagos volcánicos crátericos, no se evidencian en la bibliografía.

En el caso de Ecuador, el presente trabajo sería el primero en señalar la presencia de especies del género *Aeromonas* resistentes a diversos antibióticos en muestras de agua de lagos volcánicos crátericos. Sin embargo, Chavez en el año 2020 (23) en un estudio realizados en los lagos de alta montaña Yahuarcocha, Yambo y Colta, señala la presencia de cepas de bacterias del género *Aeromonas* resistente a diversos antibióticos, resultado similar a los obtenidos en la presente investigación.

Recientemente se ha señalado que las especies del género *Aeromonas* se encuentra en la interfaz de lo que se ha denominado "One Health", concepto que integra la salud ambiental, animal y humana bajo una misma premisa y representa una prueba sólida de este enfoque sanitario. Los miembros del género *Aeromonas* no solo son bacterias ambientales ubicuas, capaces de colonizar rápi-



damente y causar infecciones oportunistas en humanos y animales, sino que también son capaces de promover el intercambio de genes de resistencia a los antibióticos en los ambientes naturales, tales como los ecosistemas acuáticos (30).

## 5. CONCLUSIONES

Se evidencia que en el agua mineromedicinal del balneario "Santagua de Chachimiro" están presentes una mayor variedad de especies de *Aeromonas* en comparación de la observada en el agua del lago volcánico cratérico Cuicocha.

Se detecta por primera vez en el Ecuador la presencia de diversas especies del género *Aeromonas* en el agua de un lago volcánico cratérico.

Los resultados obtenidos en los perfiles de resistencia a los antibióticos de las distintas especies de *Aeromonas* encontradas, indican la presencia de especies resistentes y multiresistentes a una variedad de antimicrobianos, lo que evidencia el papel de las especies del género *Aeromonas* en la diseminación de los genes de resistencias a antibióticos en el ambiente y su posible papel en el establecimiento de resistomas ambientales.

Este trabajo señala la necesidad de estudiar y comprender la importancia de las aguas minerales naturales, como lo son las aguas mineromedicinales de uso público, así como las aguas de los lagos volcánicos, como reservorios de la diversidad bacteriana y de resistomas ambientales.

## Conflicto de intereses

Los autores dejan constancias que no existe ningún tipo de conflicto de intereses con la investigación realizada y los resultados expresados en el presente artículo.

## Agradecimientos

A la Dirección de Investigación de la Universidad Central del Ecuador por el financiamiento otorgado a través de los proyectos avanzados senior 011-2017, 045-2019 y 045-2022 que han permitido el desarrollo de una línea de investigación a la cual pertenece la presente investigación, así como a la Escuela Superior Politécnica del Chimborazo, la Universidad Nacional del Chimborazo, la Universidad UNIANDES y la Universidad de los Andes de Venezuela por la ayuda, colaboración y asesoramiento prestado.

## 6. REFERENCIAS

1. Baquero F, Martínez J, Cantón R. (2008). Antibiotics, and antibiotic resistance in water environments. *Current Opinion in Biotechnology*. Vol. 19 (3): 260-265.
2. Barón S, Granier S A, Larvor E, Jouy E, Cineux M, Wilhelm A, Gas-

3. silloud B, Le Bouquin S, Kempf I, Chauvin C. (2017). *Aeromonas* Diversity and Antimicrobial Susceptibility in Freshwater—An Attempt to Set Generic Epidemiological Cut-Off Values. *Frontiers in Microbiology*. Vol. 8: 503. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2017.00503>
4. Dante G, Sommer M. (2014). Genética de la resistencia microbiana. *Investigación y Ciencias*. Vol. Agosto: 28-34.
5. Figueira V, Vaz-Moreira I, Silva M, Manaia CM. (2011). Diversity and antibiotic resistance of *Aeromonas* spp. in drinking and wastewater treatment plants. *Water Res*. 45:5599–5611.
6. Andueza F, Albuja A, Arguelles P, Escobar S, Espinoza C, Araque J, Medina G. (2015). Antimicrobial resistance in strains *Pseudomonas aeruginosa* isolated from thermal waters at Chimborazo, Ecuador. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. Vol. 81(2): 158-163.
7. Gacac J & Briones J. (2020). *Aeromonas veronii* and *Plesiomonas shigelloides* (Gamma proteobacteria) isolated from *Glossogobius aureus* (Gobiidae) in Lake Sampaloc, Laguna, Philippines. *Philippine Journal of Systematic Biology*. Vol. 14 (1): 1-6.
8. González M, Viteri F, Villacís L, Escobar J, Araujo L, González A, Medina G, Araque J, Andueza F. (2021) Perfiles de susceptibilidad a los antibióticos en cepas del género *Bacillus* aisladas de ambientes acuáticos extremos del Ecuador. *An. Real Acad. Farm*. Vol. 87(1): 27-34.
9. Janda JM & Abbott SL. (2010) The genus *Aeromonas*: taxonomy, pathogenicity, and infection. *Clin Microbiol Rev*. Vol. 23: 35–73.
10. Di Bari M, Hachich EM, Melo AMJ, Sato MZ. (2007). *Aeromonas* spp. and microbial indicators in raw drinking water sources. *Brazilian Journal of Microbiology*. Vol. 38: 516–521.
11. Wu CJ, Chen PL, Wu JJ, Yan JJ, Lee CC, Lee HC, Lee NY, Chang CM, Lin YT, Chiu YC, Ko WC. (2012). Distribution and phenotypic and genotypic detection of a metallo-β-lactamase, *CphA*, among bacteriemic *Aeromonas* isolates. *Journal of Medical Microbiology*. Vol. 61: 712–719.
12. Carrera Villacrés D & Guevara García P. (2017). Fuentes termales del Ecuador. Escuela Superior Politécnica del Ejercito (ESPE). Quito. Ecuador. <http://repositorio.espe.edu.ec/xmlui/handle/21000/11739>.
13. González M, Araque J, Viteri F, Villacís L, Escobar S, Araujo L, Medina G, Andueza F. (2021). Microbiología del agua del Lago cratérico Cuicocha. Imbabura. Ecuador. *Revista de la Facultad de Farmacia*. Vol. 63 (1): 25-33
14. Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN) (1998a). NTE INEN 2 176-98 Agua. Calidad del agua. Muestreo. Técnicas de muestreo. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito-Ecuador.
15. Instituto Ecuatoriano de Normalización (INEN). (1998b) NTE INEN 2 169-98 Agua. Calidad del agua. Muestreo. Manejo y conservación de muestras. Instituto Ecuatoriano de Normalización. Quito-Ecuador.
16. Andueza F. (2007). Diversidad Microbiana de las Aguas Minerome-



- dicinales de los Balnearios de Jaraba. Tesis Doctoral. Universidad Complutense de Madrid, España.
16. Longa A, Vizcaya L, Nieves B, Bravo L, Bravo J. (1997). Estudio comparativo de 4 métodos para la identificación de especies del género *Aeromonas*. *Rev. Cubana Med. Trop.* Vol. 49 (2): 84-85.
  17. Bauer AW, Kirby MM, Sherris JC, Truck M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *Am. J. Clin. Pathol.* Vol. 45(4): 493-496.
  18. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). (2019). Performance standards for antimicrobial susceptibility testing Clinical and Laboratory Standards Institute Wayne, PA.
  19. De la Rosa M, Andueza F, Sánchez M, Rodríguez C, Mosso M. (2004) Microbiología de las aguas mineromedicinales de los Balnearios de Jaraba. *Anales de la Real Academia Nacional de Farmacia*. Vol. 70 (Extraordinario): 51-74.
  20. Gutiérrez MG; Andueza F, Araque J, Lugo A, Chacón Z. (2018). Caracterización microbiológica y potencial biotecnológico de microorganismos aislados de las aguas termales de la Musuy, Municipio Rangel del Estado Mérida. Venezuela. *Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiología*. Vol. 38 (1): 27-32.
  21. Medina-Ramírez G, Naranjo K, Escobar S, Araque J, Djabayan P, Andueza, F (2016). Microbiota extremófila y resistomas ambientales de la fuente termal "Termas La Merced". Quito. Ecuador. *FIGEMPA: Investigación y desarrollo*. Vol. 2 (7): 33-38. <https://doi.org/10.29166/revfig.v1i2.867>.
  22. Andueza F, Araque J, Parra Y, Arciniegas S, Guaila R, Escobar S, Medina G. (2020). Diversidad bacteriana en aguas mineromedicinales del balneario "Urauco". Pichincha. Ecuador. *An. Real Acad. Farm.* Vol. 90 (1): 9 – 18.
  23. Chávez Nara R B. (2020). Aislamiento y caracterización fenotípica de *Aeromonas* spp. correlacionada con los parámetros físicos del agua y su sensibilidad a los antimicrobianos en tres sistemas acuáticos de los Andes ecuatorianos. Trabajo de titulación. Carrera de Medicina Veterinaria y Zootecnia. Universidad Central del Ecuador. Quito. Ecuador.
  24. Chang YC, Shih DY, Wang JY, Yang SS. (2007). Molecular characterization of class 1 integrons and antimicrobial resistance in *Aeromonas* strains from foodborne outbreak-suspect samples and environmental sources in Taiwan. *Diagnostic. Microbiology and Infectious Disease*. Vol. 59:191–197.
  25. Jacobs L, Chenia HY. (2007). Characterization of integrons and tetracycline resistance determinants in *Aeromonas* spp. isolated from South African aquaculture systems. *International Journal of Food Microbiology*. Vol. 114: 295–306.
  26. Skwor T, Stringer S, Haggerty J, Johnson J, Duhr S, Johnson M, Sec-kinger M, Stemme M. (2020). Prevalence of Potentially Pathogenic Antibiotic-Resistant *Aeromonas* spp. in Treated Urban Wastewater Effluents versus Recipient Riverine Populations: a 3-Year Comparative Study. *Applied and Environmental Microbiology*. Vol. 86 (3): e02053-19.
  27. Ishii S. (2019). Ecology of Pathogens and Antibiotic-resistant Bacteria in Environments: Challenges and Opportunities. *Microbes Environ.* Vol. 34(1): 1-4.
  28. Yarzabal L, Buela L, Batista R. (2021). Climate change, melting cryosphere and frozen pathogens: Should we worry? *Environmental Sustainability*, Vol. (4): 489–501. <https://doi.org/10.1007/s42398-021-00184-8>.
  29. Letten AD, Hall AR, Levine JM. (2021). Using ecological coexistence theory to understand antibiotic resistance and microbial competition. *Nat. Ecol. Evol.* Vol. 5: 431–441 <https://doi.org/10.1038/s41559-020-01385-w>.
  30. Lamy B, Baron S, Barraud O. (2022). *Aeromonas*: the multifaceted middleman in the One Health world. *Current Opinion in Microbiology*. Vol. 65: 24-32. <https://doi.org/10.1016/j.mib.2021.09.012>

Si desea citar nuestro artículo:

**Diversidad y perfiles de resistencia a los antibióticos en especies de aeromonas aisladas de ecosistema acuático del Ecuador**

Félix Andueza, Marco González; Diana Ibaza D., Paola Vásquez, Francisco Viteri, Luis Villacis, Judith Araque, Sandra Escobar-Arriet, Ana González-Romero, Gerado Medina-Ramírez y Evelin Alviarez.

An Real Acad Farm (Internet].

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. n°4 (2022) · pp. 713 - 720

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.04.02>

# IDENTIFICACIÓN TAXONÓMICA DE HIFOMICETOS ACUÁTICOS EN LA CUENCA ALTA DEL RÍO BOGOTÁ (COLOMBIA) A PARTIR DE MUESTRAS DE ESPUMA

## TAXONOMIC IDENTIFICATION OF AQUATIC HYPHOMYCETES IN THE UPPER BOGOTÁ RIVER BASIN (COLOMBIA) FROM FOAM SAMPLES

Javier Fernando Díaz-Ovalle<sup>1</sup>, Astrid Maribel Aguilera Becerra<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Estudiante, Universidad de Boyacá, Facultad de Ciencias de la Salud, Tunja-Boyacá, Colombia.

<sup>2</sup> Docente, Universidad de Boyacá, Facultad de Ciencias de la Salud, Tunja-Boyacá, Colombia.

corresponding author: amaguilera@uniboyaca.edu.co

### ARTÍCULO DE INVESTIGACIÓN

#### RESUMEN

Partiendo de que los hifomicetos u hongos ingoldianos son microorganismos presentes en los ambientes acuáticos como los ríos en los cuales intervienen en la descomposición del material orgánico devolviendo la energía a los niveles superiores de la cadena trófica, pero que a pesar de su importancia son pocos los estudios realizados referente a su diversidad y presencia en estos ecosistemas, el objetivo de este trabajo fue identificar los hifomicetos presentes en la cuenca alta del río Bogotá. Esto se realizó mediante la toma de muestra de espuma en los remansos de los ríos a las cuales se les realizó coloración con azul de lactofenol y observación con microscopio óptico para la identificación de los hongos ingoldianos a partir de la morfología de sus conidios con el uso de claves taxonómicas. Se identificaron un total de 10 géneros y 10 especies de las cuales 4 géneros y 7 especies son reportes nuevos para el territorio colombiano, lo cual demuestra la gran diversidad y desconocimiento que tenemos de estos microorganismos en nuestro país.

#### ABSTRACT

*Based on the fact that hyphomycetes or ingoldian fungi are microorganisms present in aquatic environments such as rivers in which they are involved in the decomposition of organic material, returning energy to the higher levels of the trophic chain, but despite their importance, few studies have been conducted on their diversity and presence in these ecosystems, the objective of this work was to identify the hyphomycetes present in the upper Bogotá river basin. This was done by taking foam samples in the backwaters of the rivers, staining them with lactophenol blue and observing them with optical microscopy to identify the ingoldian fungi based on the morphology of their conidia with the use of taxonomic keys. A total of 10 genera and 10 species were identified, of which 4 genera and 7 species are new reports for the Colombian territory, which demonstrates the great diversity and lack of knowledge that we have of these microorganisms in our country.*

#### Palabras Clave:

conidio  
identificación  
hongos acuáticos  
río

#### Keywords:

conidia  
identification  
aquatic fungi  
river



## 1. INTRODUCCIÓN

Los hongos son unos de los grupos más extensos de microorganismos con una distribución ubicua que forman parte de diferentes procesos biológicos en los ambientes (1) (2), dentro de este grupo aparecen los denominados hongos acuáticos que tiene una gran capacidad de degradar material orgánico complejo por su amplia batería enzimática, siendo los principales descomponedores de hojas deciduas y material que cae a las corrientes de agua, al igual que en la producción de metabolitos secundarios los cuales pueden ser usados para diferentes fines (3).

A pesar de que los criterios para clasificar los hongos como terrestres o acuático no están bien definidos ecológica ni fisiológicamente y pueden generar confusión, a nivel taxonómico según la morfología pueden ser catalogados, pero estos criterios no siempre se pueden aplicar debido a que no son conocidos los ciclos de vida de todos los hongos, por lo que en estos casos se pueden hablar de hongos ingoldianos (4).

Los hifomicetos acuáticos u hongos ingoldianos, llamados así por ser Ingold el primero en describirlos en el año 1942, forman un grupo de hongos heterogéneo y filogenéticamente artificial, a los cuales se les denominó hongos imperfectos anteriormente clasificados como Deuteromicota, integrado principalmente por anamorfos de los phylas Ascomicota y Basidiomicota, que debido a no tener un estadio sexual conocido no es posible agruparlos en estas divisiones, razón por la cual se creó esta clasificación (5,6,7,8,9).

Estos hongos a su vez han tenido diferentes clasificaciones en relación a su versatilidad de estar en otros ambientes y no estrictamente acuáticos como lo hace Goh & Hyde (10) basando se en sus ciclos de vida. Pero la clasificación de estos se basa principalmente en la morfología de sus conidios las cuales tiene características morfológicas distintivas que permiten su identificación, dentro de estas formas se encuentran: tetraradiadas, sigmoides, fusiformes, enrolladas y esféricas, morfologías que permiten a los conidios permanecer mayor tiempo en suspendidas y adherirse a sustratos presentes en los ríos (5) (9).

Los hifomicetos acuáticos se les ha atribuido una gran importancia en los ecosistemas en los que habitan, en relación a su papel como descomponedores del material orgánico siendo los intermediarios de la energía hacia los niveles más altos de la cadena trófica, razón por la cual se les ha considerado bioindicadores de la calidad del agua, debido a que su desarrollo solo se da en aguas con excelentes condiciones fisicoquímicas y microbiológicas (9) (11).

A pesar de que estos hongos tienen una distribución ubicua, su mayor reporte y estudio se ha realizado en zonas templadas y frías, en comparación a los pocos estudios realizados en los trópicos

o zonas cálidas donde por su alta fauna y flora la diversidad de microbiota fúngica en agua debería ser mayor (12).

Para Colombia son pocos los estudios realizados al respecto de este tema siendo los únicos reportes los realizados por Luna (13) para la región caribe en la parte baja del río Gaira (Santa Marta) con cinco especies, Ruiz-Chala & Peláez-Rodríguez (14) en la región andino amazónica en el río Hacha (Flores-Caquetá) con seis especies, Narváez-Parra, et al (15) para el departamento de Santander en el río Frío (Floridablanca) con 23 especies y Peñate-Carranza, et al (16) en la parte media del río Gaira (Santa Marta) con 10 especies.

Debido al poco conocimiento de la diversidad de hifomicetos en el territorio colombiano y a los escasos estudios realizados respecto a este tema se plantea el objetivo de realizar la identificación de los hifomicetos acuáticos para la cuenca alta del río Bogotá (Cundinamarca).

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Área de estudio

El estudio se llevó a cabo en la cuenca alta del río Bogotá cuyo nacimiento se da en el páramo de Guacheneque (Cundinamarca), específicamente en las inmediaciones del municipio de Villa Pinzón entre los 5°12'39.0"N - 73°35'01.3"W (vereda la merced) el cual se encuentra a uno 9 km del páramo, a una altura de 2.770 msnm, con una temperatura promedio de 13 °C, precipitaciones anuales de 689.8 mm y humedad relativa del 86%, cerca del punto se realiza actividades agrícolas como cultivos y cría de animales.

#### *Toma de muestra*

El muestreo se realizó en diciembre del 2020 periodo en el cual el lugar se encuentra en temporada de lluvia permitiendo la formación de espuma en los remansos del río y zonas con bastante turbulencia, las muestras se tomaron de zonas aleatorias con presencia de espuma utilizando cucharas plásticas, tomando alrededor de 50 ml y depositándolas en bolsa con cierre hermético a las cuales se le agrego azul de lactofenol, las bolsas fueron empacadas en una nevera con geles refrigerantes manteniendo una temperatura de 4 °C y fueron llevadas al laboratorio para su procesamiento (4) (17).

#### *Procesamiento e identificación*

Las muestras se tomaron directamente de las bolsas con micropipeta colocando 25 µL de la muestra de espuma entre lamina y laminilla para ser observadas en el microscopio óptico con reglilla, la identificación se realizó mediante las medidas y características morfológicas, utilizando claves taxonómicas como Ingold (18) y Gulis, et al (19).

### 3. RESULTADOS

A partir del muestreo se realizó la identificación de 10 géneros y 10 especies de hifomicetos acuáticos u hongos ingoldianos para la cuenca alta del río Bogotá presentes en muestras de espuma siendo el primer estudio realizado en esta zona (tabla 1).

Además, se generó el primer reporte de los géneros (*Tetracladium*, *Articulospora*, *Tricladium* y *Margaritispota*) y de las especies (*Lemoneira aquatica*, *Tetracladium setigerum*, *Articulospora tetracladia*, *Tricladium splendens*, *Anguillospora crassa*, *Varicosporium elodeae* y *Margaritispota aquatica*) para el territorio colombiano.

Tabla 1. Especies de hifomicetos identificados.

Hifomicetos acuáticos		
Nº	Genero	Especie
1	<i>Lemonniera</i>	<i>aquatica</i>
2	<i>Clavariopsis</i>	<i>aquatica</i>
3	<i>Tetracladium</i>	<i>setigerum</i>
4	<i>Articulospora</i>	<i>tetracladia</i>
5	<i>Alatospora</i>	<i>acumina</i>
6	<i>Tricladium</i>	<i>sp</i>
7	<i>Tricladium</i>	<i>splendens</i>
8	<i>Varicosporium</i>	<i>elodeae</i>
9	<i>Anguillospora</i>	<i>longissima</i>
10	<i>Anguillospora</i>	<i>crassa</i>
11	<i>Margaritispota</i>	<i>aquatica</i>

Dentro de las diferentes morfologías apreciadas, se observó conidios tetrarradiados o multirradiados los cuales se caracterizan por tener gran número de proyecciones que les permiten una mejor adherencia a los sustratos en los medios líquidos, además de ser las especies más comunes en las muestras de espuma (Figura 1).

Por otro lado, también se presentaron morfologías fusiformes, sigmoides y fililiformes las cuales se caracterizan por ser alargadas, en medialuna o en zigzag, que debido a estas formas su adherencia y su duración en suspensión en medios líquidos es menor (Figura 2).

Finalmente se presenta una especie que presentaba dos tipos de morfología en relación la profundidad en los ríos las cuales son fusiforme y esférica, esta morfología no les permite una buena adherencia ni tiempo en suspensión (Figura 3).

### 4. DISCUSIÓN

La diversidad de hifomicetos que se observó en el presente trabajo, presento un aumento respecto a estudios como de Luna-Fontalvo (13) con un estudio en Santa Marta realizado en la parte baja del río Gaira y Ruiz-Chala y Peláez-Rodríguez (14) en el Río Hacha (Florencia – Caquetá), pero inferior al estudio de Narváez-Parra, et al (15) quienes realizaron un estudio en Floridablanca, Santander y un número similar al de Peñate, et al (16) en la cuenca media del río Gaira para el sector nororiental de la Sierra Nevada de Santa Marta.

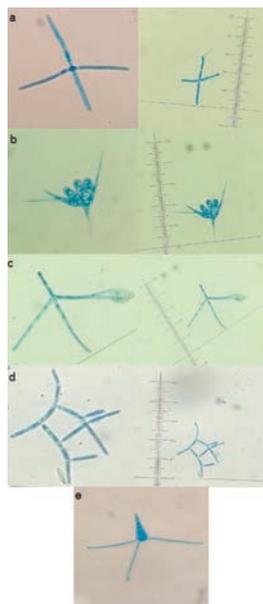


Figura 1. a) Conidio de *Lemonniera aquatica* 100x. b) Conidio de *Tetracladium setigerum* 100x. c) Conidio de *Articulospora tetracladia* 100x. d) Conidio de *Varicosporium elodeae* 100x. e) Conidio de *Clavariopsis aquatica* 100x.

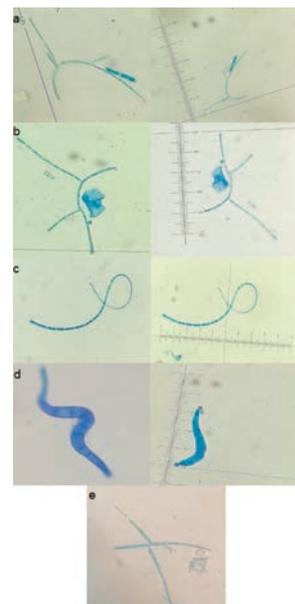


Figura 2. a) Conidio de *Alatospora acumina* 100x. b) Conidio de *Tricladium sp* 100x. c) Conidio de *Anguillospora longissima* 100x. d) Conidio de *Anguillospora crassa* 100x. e) Conidio de *Tricladium splendens* 100x.

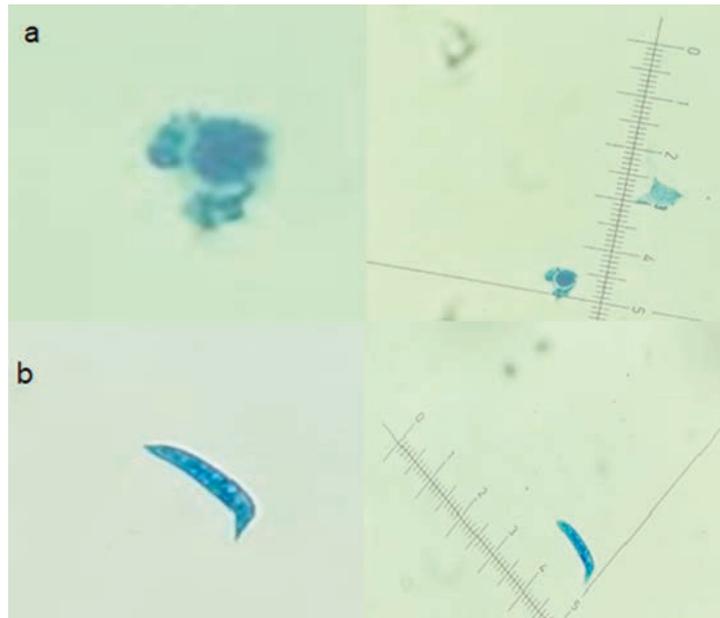


Figura 3. a) *Margaritispora aquatica* conidio en aguas profundas 100x. b) *Margaritispora aquatica* conidio en aguas superficiales 100x. c) *Elodea* 100x. d) Conidio de *Clavariopsis aquatica* 100x.

Además, en relación a estas investigaciones y comparándolas con nuestro estudio cuatro géneros y siete especies fueron únicas para la zona estudiada de los diez identificados, resaltando que del presente trabajo y los cuatro estudios no se observa una similitud de especies, sino tan solo la presencia de algunos géneros en común como *Campylospora*, *Triscelophorus* y *Flabellospora* los cuales no estaba presentes en todos los estudios, pero ninguno en el presente trabajo.

Este comportamiento se puede dar en relación a que estos estudios se han realizado en diferentes zonas del territorio colombiano con variaciones en la temperatura, altitud sobre el nivel del mar, vegetación ribereña y demás factores climáticos lo cual puede generar una variación en la diversidad de estos hongos. Por otro lado, también nos demuestra la gran diversidad y variedad de géneros y especies de hifomicetos acuáticos para nuestro país.

Estudios como el de Fernández y Smits (20) realizado en el río Guáquira de la reserva ecológica Guáquira en San Felipe Venezuela, reportaron un total de 46 especies de hifomicetos, los cuales se clasificaron por la frecuencia de aparición, de estos hallazgos solo se presentó similitud con nuestro estudio para las especies *Alatospora acuminata*, *Anguillospora crassa* y *Articulospora tetracladia* las cuales se clasificaron como menos recurrentes.

Para Panamá Almicar-Cáceres, et al (21) con el estudio realizado en el río Majagua, Chiriquí, donde se reportaron 25 diferentes morfotipos de los cuales las especies *Anguillospora longissima*, *Clavariopsis aquatica*, *Lemonniera aquatica*, *Margaritispora aquatica* y *Tricladium sp* coinciden con el presente trabajo, además de resaltar que las especies con conidios tetra radiados son más comunes en relación a la capacidad de adherirse a los sustratos en el

río a diferencia de las morfologías filiformes o fusiformes, lo cual puede explicar la escasa presencia de géneros como *Alatospora* y *Anguillospora* en las diferentes investigaciones.

Fiuza, et al (22) realizó un estudio en Chapada Diamantina, la región semiárida del noreste de Brasil en tres arroyos en la cuenca del río Cuentas, reportando 15 especies de hifomicetos de las cuales solo la especie *Anguillospora longissima* coincide con nuestro estudio.

El comportamiento y la diversidad de hifomicetos es variado y no sigue patrones específicos, por lo que se observa una gran variedad siendo los géneros *Campylospora*, *Triscelophorus* y *Flabellospora* los más comunes en las diferentes investigaciones a nivel de América del Sur y Colombia, pero los cuales no estuvieron presentes en nuestro estudio.

## 5. CONCLUSIÓN

El muestreo demostró la gran variedad y diversidad de hifomicetos acuáticos para la región andina específicamente en la cuenca alta del río Bogotá (Cundinamarca) con un total de diez géneros y especies reportados, de los cuales cuatro géneros y siete especies son nuevos reportes para el territorio nacional, ampliando el conocimiento y número de estos hongos registrados en Colombia, además de demostrar el escaso conocimiento que tenemos sobre hongos y los sistemas acuáticos de nuestro país.

## Agradecimientos

Al semillero Quorum Sensing de la Universidad de Boyacá.



## 6. REFERENCIAS

- García, M., Restrepo, S., y Franco, A. *Biología de los hongos*. Universidad de los Andes 1 Edición. 2012. 32-38.
- Pietryczuk, A., Cudowski, A., Hauschild, T., Świsłocka M., Więcko, A., y Karpowicz, M. Abundance and Species Diversity of Fungi in Rivers with Various Contaminations. *Current Microbiology*. 2018; 75(5): 1-9.
- Grossart, H.P., y Rojas-Jiménez, K. Aquatic fungi: targeting the forgotten in microbial ecology. *Current Opinion in Microbiology*. 2016; 31: 140–145.
- Descals, E., y Moralejo, E. "Water and asexual reproduction in the ingoldian fungi". *Botanica Complutensis*. 2001; 25: 13- 71.
- Fernández, R., Smits, G., y Pinto, M. Características e importancia de los Hifomicetos acuáticos y registro de especies en Venezuela. *FARAUTE Cienc. y Tec*. 2010; 5(2): 56-73.
- Suresha, H., Krishnappa, M., Descals, E., Raju, G., y Taylor, B. "Diversity of aquatic hyphomycetes in Kalathgiri falls of Chikmagalur District, Karnataka, India". *International Journal of Microbiology Research*. 2013; 5(3): 410-416.
- Bärlocher, F. Aquatic hyphomycetes in a changing environment. *Fungal Ecol*. 2016; 19: 14 - 27.
- Duarte, S., Barlocher, F., Trabulo, J., Cassio, F., y Pascoal, C. Stream-dwelling fungal decomposer communities along a gradient of eutrophication unraveled by 454 pyrosequencing. *Fungal Diversity*. 2015; 70:127–148.
- Fernández, R., Vincenzo, S., y Smits, G. Evaluación de los hifomicetos acuáticos como bioindicadores de calidad ambiental en el río Chirgua (Bejuma, Venezuela). *Gestión y Ambiente*. 2017; 20(1): 82-94.
- Goh, T. K., y Hyde, K. D. Biodiversity of freshwater fungi. *Journal of Industrial Microbiology*. 1996; 17 (5-6): 328-345.
- Krauss, G.J., Solé, M., Krauss, G., Schlosser, D., Wesenberg, D., y Barlocher, F. Fungi in freshwaters: ecology, physiology and biochemical potential. *FEMS Microbiol Rev*. 2011; 35: 620–651.
- Da Silva, R.F., y Smits, G. Registro de la presencia de hifomicetos acuáticos en ríos de la cordillera de la costa, Venezuela. *Rev Inter-ciencia*. 2009; 34: 8. 1-7.
- Luna-Fontalvo, J. Hongos anamórficos acuáticos asociados a la hojarasca en el río Gaira de la costa del Caribe Colombiano. *Intrópica*. 2009; 4: 37-43.
- Ruiz-Chala, G.A., y Peláez-Rodríguez, M. Registro de hifomicetos acuáticos para la región andinoamazónica colombiana. *Biota Colombiana*. 2013; 14(2): 336-339.
- Narváez-Parra, E.X., Jerez, J.H., y Santos-Flores, C.J. Hifomicetos ingoldianos del río Frío (Floridablanca), Santander, Colombia. *Biota Colombiana*. 2016; 17 (2): 1 - 11.
- Peñate-Carranza, B., Tamaris-Turizo, C.E., y Luna-Fontalvo, J.A. Hongos ingoldianos de la parte media del río Gaira, Sierra Nevada de Santa Marta, Colombia. *Rev. Acad. Colomb. Cienc*. 2021; 45(174):208-216.
- Russo, G., Libkind, D., Sampaio, JP y Van Broock, M. Levaduras del Río Agrío y El Lago Caviahue, un ambiente acuático ácido de origen volcánico (Neuquén, Argentina). *Bol. Soc. Argent. Bot*. 2006; 41 (3-4): 167 - 175.
- Ingold, C. Aquatic hyphomycetes of decaying alder leaves. *Transactions of the British Mycological Society*. 1942; 25 (4): 339-417.
- Gulis, V., Marvanova, L., y Descals, E. An illustrated key to the common temperate species of aquatic hyphomycetes. In: Graça M.A, Bärlocher F, Gessner M.O. (eds), *Methods to Study Litter Decomposition*. Dordrecht, Springer. 2005; 153-167.
- Fernández, R., y Smits, G. Registro de hifomicetos acuáticos en el río Guáquire de la Reserva Ecológica Guáquire (San Felipe, Venezuela). *Gestión y Ambiente*. 2018; 21(1): 121-128.
- Amilcar-Cáceres, O., Yorget, S., y Antje-Hofmann, T. Hifomicetos acuáticos asociados a hojarasca sumergida en el río Majagua, Chiriquí, Panamá. *Rev Mex Mico*. 2015; 42: 65 -69.
- Fiuza, P., Cantillo-Pérez, T., Monteiro, J., Gulis, V., y Pascholati, L.F. Rare hyphomycetes from freshwater environments from Chapada Diamantina, Bahia, Brazil. *Nova Hedwigia*. 2017; 104: 451- 466.

Si desea citar nuestro artículo:

**Identificación taxonómica de hifomicetos acuáticos en la cuenca alta del río Bogotá (Colombia) a partir de muestras de espuma**

Javier Fernando Díaz-Ovalle y Astrid Maribel Aguilera Becerra.

An Real Acad Farm (Internet].

An. Real Acad. Farm.Vol. 88. n°4 (2022) · pp. 721-725

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.04.03>



# NANOFORMULACIONES AVANZADAS CONTRA LA INFECCIÓN BACTERIANA

## ADVANCED NANOFORMULATIONS AGAINST BACTERIAL INFECTION

**Montserrat Colilla Nieto**

Académica correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia

Dpto. Química en Ciencias Farmacéuticas, Unidad de Química Inorgánica (Bioinorgánica y Biomateriales). Facultad de Farmacia. Universidad Complutense de Madrid. Instituto de Investigación Sanitaria Hospital 12 de Octubre i+12. Plaza Ramón y Cajal s/n, 28040 Madrid, España. CIBER de Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina, CIBER-BBN, Madrid, España.

**corresponding author:** mcolilla@ucm.es

### ARTÍCULO DE REVISIÓN

Discurso de ingreso como Académica Correspondiente de la RANF

### RESUMEN

En la actualidad, los antibióticos constituyen la piedra angular en el tratamiento de las infecciones bacterianas. Sin embargo, en las últimas décadas, las bacterias han desarrollado mecanismos de defensa que las hace altamente resistentes a los antibióticos existentes, lo que nos deja vulnerables frente a las infecciones. La Organización Mundial de la Salud alerta de que las resistencias bacterianas constituyen una grave amenaza para la toda la humanidad y que necesitamos urgentemente el desarrollo de nuevos antibacterianos. La nanotecnología ha irrumpido en este escenario proporcionando herramientas novedosas para el diagnóstico, prevención y tratamiento de numerosas patologías, principalmente el cáncer. De este modo, la *nanomedicina* permite abordar diferentes enfermedades utilizando nanotransportadores de fármacos capaces de dirigirse de forma selectiva a la diana terapéutica, aumentando así la eficacia del tratamiento y disminuyendo los efectos secundarios. Este discurso se centra en las nanopartículas mesoporosas de sílice (MSNs), cuyas propiedades únicas y enorme versatilidad permiten diseñar múltiples nanosistemas para tratar infecciones bacterianas. Su capacidad para dirigirse específicamente a las bacterias y/o al *biofilm*, liberar distintos fármacos de manera controlada y/o inteligente en respuesta a determinados estímulos, e incorporar cationes terapéuticos en terapias combinadas, auguran el desarrollo de nanoformulaciones avanzadas que podrían revolucionar la lucha contra la infección bacteriana.

### ABSTRACT

*Nowadays, antibiotics remain the cornerstone in the treatment of bacterial infections. However, in recent decades, bacteria have developed defense mechanisms that make them highly resistant to the existing antibiotics, leaving us vulnerable to infection. The World Health Organization warns that bacterial resistance constitutes a serious threat to humanity at global level and that there is an urgent need of developing new antibacterial agents. Nanotechnology has entered into this scenario by providing novel tools for the treatment of numerous pathologies, highlighting cancer. Nanomedicine brings up the opportunity to address different diseases using drug nanocarriers that can be specifically directed to the therapeutic target, increasing the efficacy of the treatment and reducing the side effects. This entrance speech focuses on mesoporous silica nanoparticles, whose unique properties and enormous versatility allow the design of multiple nanosystems to treat bacterial infections. Its ability to specifically target bacteria and/or biofilm, release different drugs in a controlled manner and/or in a smart fashion, i.e. in response to certain stimuli, and incorporate therapeutic cations for combined therapies, envision the development of advanced nanoformulations that could revolutionize the fight against bacterial infection.*

#### Palabras Clave:

Nanomedicina  
infección bacteriana  
terapia focalizada  
terapia combinada  
nanopartículas mesoporosas de sílice  
liberación controlada de fármacos  
antibióticos  
iones metálicos

#### Keywords:

Nanomedicine  
bacterial infection  
targeted therapy  
combined therapy  
mesoporous silica nanoparticles  
controlled drug delivery  
antibiotics  
metal ions



## 1. PROBLEMÁTICA DE LAS INFECCIONES BACTERIANAS

A lo largo de la historia, la humanidad se ha enfrentado a múltiples epidemias y pandemias producidas por enfermedades infecciosas asociadas fundamentalmente a la zoonosis, la pobreza, la falta de higiene y la mala alimentación, que han provocado millones de muertes humanas y serios estragos en la sociedad de cada época (1). En la antigüedad predominaban las epidemias y pandemias provocadas por bacterias, destacando por su gravedad la peste, el tifus, el cólera o la tuberculosis, entre otras. Estas enfermedades bacterianas, que siguen siendo endémicas en algunas regiones de Asia y África, se consiguieron controlar desde el siglo XIX gracias al desarrollo de antibióticos y vacunas. Con el paso del tiempo han ido ganando protagonismo las infecciones ocasionadas por virus, como la viruela, la gripe española, el VIH/SIDA, el Ébola, la COVID-19, etc (2). La *globalización*, el *cambio climático* y el *impacto negativo de los seres humanos en el medio ambiente*, entre otros factores, están favoreciendo la aparición y propagación de nuevos virus en el ser humano.

En las últimas décadas se ha dedicado un gran esfuerzo científico en el ámbito sanitario para frenar la propagación de infecciones, y disminuir la morbilidad y las tasas de mortalidad en los seres humanos. Sin embargo, el uso inadecuado fármacos antimicrobianos ha ocasionado el rápido aumento global y la expansión de microorganismos patógenos multirresistentes. La Resistencia Antimicrobiana (RAM) es un proceso por el cual determinados microorganismos (bacterias, virus, hongos o parásitos) evolucionan con el tiempo para defenderse de los fármacos que se utilizan para combatirlos. Como consecuencia, los medicamentos se vuelven ineficaces y las infecciones persisten en el cuerpo, lo que aumenta el riesgo de propagación a otras personas, la aparición de enfermedades graves y de muerte (3-5).

En 2014, la Organización Mundial de la Salud (OMS) declaró la RAM como una de las 10 mayores amenazas a las que se enfrenta la humanidad a nivel mundial (6). Ese mismo año, el economista británico Jim O'Neill lideró un estudio para analizar el problema global del aumento de la resistencia a los medicamentos y proponer acciones concretas a nivel internacional. Este estudio, avalado conjuntamente por el gobierno del Reino Unido y la organización de investigación biomédica *Wellcome Trust* originó una primera revisión en 2014 sobre RAM y "cómo abordar una crisis para la salud y el bienestar de las naciones" (7), y una versión final, que vio la luz en 2016, titulada "cómo abordar infecciones farmacorresistentes de forma global: informe final y recomendaciones" (8).

Los datos contemplados en dichos informes estimaron que unas 700.000 personas mueren cada año por infecciones resistentes

a los antimicrobianos, y que esta cifra podría aumentar a 10 millones para 2050. De hecho, se estima que, para esa fecha, morirán más personas por infecciones provocadas por microorganismos multirresistentes que por cáncer. Aparte de elevados índices de mortalidad, la RAM conlleva serias implicaciones económicas ya que, además del exceso de muertes y discapacidad, la prolongación de enfermedades se traduce en estancias hospitalarias de mayor duración así como en la necesidad de cuidados más intensivos y de medicamentos más caros (4,9). En este contexto, el mensaje de la OMS en 2018 fue claro: "El uso indebido de los antimicrobianos es un riesgo para todos".

Muy recientemente, en enero de 2022, la revista médica *Lancet* ha publicado los resultados de una investigación global sobre resistencias bacterianas, dirigido por la Universidad de Oxford (10). Dicho estudio revela que en el año 2019 hubo 1,27 millones de muertes en todo el mundo, 77.600 de ellas en Europa Central, provocadas directamente por bacterias resistentes, y 4,95 millones de fallecimientos asociadas a ellas. Las responsables de este incremento tan brusco respecto a datos anteriores son cepas de bacterias comunes que desarrollan resistencia a múltiples antibióticos y que se conocen popularmente como "superbacterias". En la actualidad se han identificado numerosos patógenos responsables de muertes asociadas a resistencias a antibióticos, siendo los siete principales *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Mycobacterium tuberculosis* (10). El problema es grave en sí mismo, pero genera aún mayor preocupación el hecho de que casi el 40 % de la carga sanitaria de la RAM esté causada por bacterias resistentes a los antibióticos de último recurso (como los carbapenémicos o la colistina).

Esta "pandemia silenciosa", que en 2019 resultó más mortal que la malaria o el VIH, fue la tercera causa de muerte a nivel mundial, si se consideran todos los fallecimientos asociados a ella, sólo por debajo de los infartos cardíacos o cerebrales. El problema de la resistencia a los antibacterianos es complejo y multifactorial, pero una de las causas más determinantes es el uso inadecuado de los antibióticos, los cuales son elementos esenciales en la medicina moderna. Esto ocurre cuando se prescriben antibióticos para tratar enfermedades que no son producidas por bacterias, cuando se pautan antibióticos de amplio espectro para tratar enfermedades bacterianas que podrían tratarse con antibióticos más específicos, cuando los antibióticos se emplean durante tiempos superiores al necesario o cuando se dosifican de forma inadecuada. En este sentido, no podemos obviar el impacto de la COVID-19 sobre la resistencia bacteriana debido principalmente al uso empírico inadecuado de los antibióticos, en un contexto de ausencia de vacunas y de medicamentos eficaces para tratar esta infección vírica. De hecho, un



informe reciente del Centro para el Control y la Prevención de Enfermedades de los Estados Unidos de América concluye que la amenaza de las infecciones debidas a las resistencias bacterianas se ha agravado debido, en gran parte, a los efectos de la pandemia por COVID-19 (11).

Además de la RAM adquirida, que ya hemos mencionado, las bacterias tienen un mecanismo de defensa natural denominado *biofilm* bacteriano, que consiste en comunidades bacterianas que crecen adheridas a una superficie y que quedan embebidas en una matriz de exopolisacárido (12,13). Estos *biofilms* proporcionan protección a las bacterias frente a ambientes hostiles, incluidos los antibióticos y el sistema inmunitario (14,15). De hecho, las bacterias dentro del *biofilm* han mostrado ser de 10 a 1.000 veces más resistentes a los antibióticos que las bacterias en estado planctónico (16). Aproximadamente un 80% de las infecciones crónicas y recurrentes en el cuerpo humano se deben a *biofilms* bacterianos (17), por lo que la combinación de "superbacterias" y los *biofilms* bacterianos son una de las principales preocupaciones clínicas (18).

Otro problema alarmante es la ausencia de nuevas clases de antibióticos en la fase de desarrollo clínico, de hecho, en los últimos cinco años sólo se han aprobado 12 antibióticos. La falta de tratamientos innovadores nos deja vulnerables frente a las infecciones producidas por las bacterias más peligrosas del mundo. La OMS alerta que se nos acaba el tiempo para reaccionar a las resistencias a antibióticos y que necesitamos urgentemente el desarrollo de nuevos antibacterianos. De lo contrario, procedimientos médicos habituales, como por ejemplo la quimioterapia contra el cáncer, los trasplantes de órganos, el parto por cesárea o el implante y reemplazo de prótesis, se volverán muy arriesgados.

## 2. NANOMEDICINA Y NANOTRANSPORTADORES DE ANTI-BACTERIANOS

En la actualidad, para lograr una eficacia antimicrobiana adecuada se requieren altas dosis o varias administraciones de uno a varios antibióticos, lo que no sólo aumenta la toxicidad y los efectos secundarios, sino también provoca la aparición de RAM. En este escenario, existe una necesidad urgente de desarrollar nuevas estrategias terapéuticas basadas en sistemas de administración de fármacos que originen tratamientos más eficientes.

La nanotecnología ha irrumpido con mucho éxito en este escenario, proporcionando herramientas novedosas para el diagnóstico, la prevención y el tratamiento de diversas patologías, entre las que cabe destacar el cáncer, y que ha permitido el desarrollo de la una nueva disciplina, la *nanomedicina*. En el contexto del presente discurso, el tratamiento de la infección bacteriana, la *nanomedicina* ha permitido desarrollar nanoformulaciones antibacterianas, mu-

chas de ellas aún en ensayos clínicos y otras ya disponibles en el mercado. Estas últimas, de momento son escasas, pero podemos destacar Arikace® (INSMED), una preparado liposomal de amikacina que se administra por inhalación y está indicada para mejorar la penetración del fármaco en el moco y en los *biofilms* bacterianos en pacientes con bronquiectasia; y VivaGel® (STARPHARMA) un gel vaginal basado en un dendrímero sulfonado de polilisina de cuarta generación para el tratamiento de la vaginosis bacteriana. Una nanoformulación antibacteriana ideal debe satisfacer los siguientes requisitos (19-21): i) proteger el principio activo y transportarlo selectivamente a la zona infectada; ii) liberar de forma controlada el o los antibióticos transportados; iii) capacidad para vehiculizar varios agentes antimicrobianos; iv) mejorar la biodisponibilidad del agente antimicrobiano en la diana terapéutica aumentando así su eficacia; v) reducir la dosis efectiva de fármaco, aumentando la eficacia del tratamiento y disminuyendo los efectos secundarios; y vi) presentar una seguridad y biocompatibilidad elevadas.

Para el diseño de estas nanoformulaciones, una de las estrategias más ampliamente utilizadas consiste en el empleo de nanotransportadores de agentes antimicrobianos. Un nanotransportador es un nanomaterial -un material con alguna de sus dimensiones en la nanoescala, comprendida entre 1 y 100 nm- utilizado como módulo de transporte de sustancias, como son los fármacos y otros agentes terapéuticos. El tamaño más adecuado de los nanotransportadores con aplicación en *nanomedicina* se encuentra comprendido entre 10 y 200 nm (22). Su clasificación puede hacerse en función de su naturaleza: orgánica, como los liposomas, los dendrímeros, las nanopartículas lipídicas, las micelas poliméricas, las nanopartículas poliméricas o las nanopartículas tipo virus; o inorgánica: como las nanojaulas de carbono, los puntos cuánticos, las nanopartículas de oro, los nanotubos de carbono o las nanopartículas mesoporosas de sílice.

## 3. NANOFORMULACIONES BASADAS EN NANOPARTÍCULAS MESOPOROSAS DE SÍLICE (MSNS)

De entre todos los nanotransportadores, las Nanopartículas Mesoporosas de Sílice (MSNs, de su terminología anglosajona *Mesoporous Silica Nanoparticles*), constituyen uno de los nanomateriales más prometedores por sus interesantes propiedades como nanosistemas inorgánicos avanzados para la liberación controlada de fármacos (23,24). De hecho, existe una extensa literatura científica centrada en MSNs capaces de albergar y liberar agentes antitumorales, antimicrobianos, osteogénicos y angiogénicos, así como material genético, para diversas aplicaciones biomédicas (25,26). La expansión y desarrollo de este tipo de estudios realizado por nu-



merosos equipos de investigación en todo el mundo, se inspiró en el trabajo pionero del grupo de la Prof. María Vallet-Regí en 2001 sobre el material MCM-41 como sistema de liberación controlada con ibuprofeno como fármaco modelo (27). Por lo tanto, la comunidad científica acumula ya dos décadas de experiencia investigadora en MSNs como sistemas de liberación controlada de fármacos. En este discurso abordaré los avances más recientes que hemos desarrollado en el Grupo de Investigación de Biomateriales Inteligentes de la Prof. María Vallet-Regí en la Universidad Complutense de Madrid, en la línea de investigación de MSNs para el tratamiento de la infección bacteriana.

Las principales fortalezas de las MSNs son: su elevada superficie (ca. 1000 m<sup>2</sup>/g) y volumen de poro (ca. 1 cm<sup>3</sup>/g), lo que se traduce en una gran capacidad para albergar fármacos en su interior; su biocompatibilidad, robustez y estabilidad, así como la facilidad de ser producidas a gran escala; la presencia de grupos silanol en superficie lo que permite funcionalizar estos nanosistemas utilizando diversas estrategias. Todo ello permite una gran versatilidad en cuanto al diseño de estos nanosistemas. Es por ello que podemos comparar las MSNs con un cubo de Rubick en el que cada cara representa un aspecto a modificar en estos nanosistemas como son, sus características estructurales, la incorporación de agentes de vectorización a la diana terapéutica; la funcionalización con elementos que les doten de estabilidad en el medio biológico y propiedades furtivas frente al sistema fagocítico mononuclear; la carga de péptidos, proteínas y material genético (ARN/ADN); la incorporación de elementos que respondan a estímulos; y la carga de fármacos y/o cationes terapéuticos.

Gracias a su enorme versatilidad y las numerosas posiciones utilizando la analogía con el cubo de Rubick, será posible diseñar múltiples nanosistemas para tratar infecciones bacterianas. Los elementos principales incluyen: agentes de vectorización para el transporte selectivo de agentes antimicrobianos al microentorno bacteriano (bacteria y/o *biofilm*); elementos estímulo-respuesta que permitan la administración controlada de los antimicrobianos sin que haya liberación prematura antes de alcanzar la diana; cationes metálicos terapéuticos para lograr efectos antimicrobianos potenciados y/o sinérgicos; y otros componentes que permitan combinar la administración de fármacos con otras aproximaciones terapéuticas, como la terapia fotodinámica (PDT), la terapia fototérmica, etc (26,28).

Utilizando diversas aproximaciones científicas hemos diseñado y desarrollado nanoformulaciones bacterianas avanzadas basadas en MSNs con varios propósitos: 1) evaluar la capacidad de las MSNs como nanosistemas dosificadores de antibióticos; 2) incorporar elementos estímulo-respuesta que permitan una liberación inteligente de fármacos; 3) incorporar ligandos de vectorización

para desarrollar nanosistemas con capacidad para dirigirse a la bacteria y/o al *biofilm*; 4) desarrollar nanosistemas multiterapia mediante la combinación de diferentes agentes antimicrobianos, como antibióticos y cationes terapéuticos.

### 3.1. MSNs como nanosistemas dosificadores de antibióticos

La primera aproximación ha consistido en evaluar la capacidad de las MSNs de actuar como nanosistemas dosificadores de antibióticos. Hasta ahora, un gran número de estudios recogidos en la bibliografía se han centrado a evaluar el efecto antibacteriano y/o antibiofilm de nanosistemas multicomponente en su conjunto, es decir, evaluando el efecto combinado de los diferentes elementos en el nanotransportador (19-21, 29-31). Sin embargo, no se había prestado atención a estudiar únicamente el efecto de la carga antibiótica liberada desde las MSNs. En este sentido, en el marco de la Tesis Doctoral de Anna Aguilar Colomer, y en colaboración con el Dr. Jaime Esteban Moreno, del Instituto de Investigación Sanitaria Fundación Jiménez Díaz, de Madrid, hemos publicado una investigación donde se evalúan de forma sistemática y cuantitativa las dosis activas y el efecto en el *biofilm* bacteriano de la carga antibiótica liberada desde MSNs (32). Para ello, se cargaron por impregnación y de forma independiente MSNs con antibióticos de diferentes familias; se realizaron estudios de liberación "in vial" en disoluciones fisiológicas acelulares, recogiendo las dosis de la carga antibiótica liberada a diferentes tiempos; y se determinaron las curvas de actividad biológica junto con el impacto de la carga antibiótica activa sobre *biofilms* de bacterias Gram-positivas (*S. aureus*) y Gram-negativas (*E. coli*). Por último, se evaluó la citotoxicidad de los nanosistemas.

Los resultados obtenidos para el levofloxacino (LEVO), como ejemplo ilustrativo, muestran una liberación muy sostenida en el tiempo, la cual se explica porque este antibiótico presenta una fuerte interacción con la superficie del nanotransportador a pH fisiológico a través de enlaces de hidrógeno con los grupos silanol de la matriz de sílice. Los ensayos microbiológicos realizados para evaluar la capacidad *antibiofilm* en bacterias *S. aureus* indicaron que las dosis de LEVO liberadas a los distintos tiempos ensayados redujeron significativamente el *biofilm* hasta un 99,9% incluso para la dosis liberada a las 72 horas, y sin aparición de resistencia bacteriana. Por último, no se observó citotoxicidad del nanosistema a ninguna de las concentraciones ensayadas (10–75 µg/mL), como demuestran los estudios de viabilidad realizados en células preosteoblásticas MC3T3-E1. Este estudio pone de manifiesto que las MSNs son excelentes nanotransportadores para cargar y liberar antibióticos de diversas familias, conservando su actividad antimicro-



biana. Es por ello que las MSNs constituyen nanoplataformas ideales como punto de partida hacia el diseño de nanoformulaciones avanzadas en el desarrollo de terapias personalizadas para el tratamiento de la infección bacteriana.

### 3.2. Nanosistemas basados en MSNs para la liberación de antibióticos estímulo-respuesta

La segunda aproximación ha consistido en la incorporación de elementos estímulo-respuesta para desarrollar sistemas de liberación controlada de antibióticos demanda cuando se aplica un estímulo externo. De este modo, en el marco de la Tesis Doctoral de Elena Álvarez Corchado, y en colaboración con el grupo de investigación de la Dra. María del Puerto Morales, del Instituto de Ciencia de Materiales (ICMM) del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) hemos desarrollado un nuevo nanosistema magnético basado en MSNs que permite combinar la liberación de antibióticos activada por un campo magnético alterno (AMF, de la terminología anglosajona *alternating magnetic field*) y la hipertermia magnética contra *biofilms* bacterianos (33).

La síntesis del nanosistema consistió en una serie de etapas mediante las cuales las MSNs se decoraron con polietilenglicol (PEG), principalmente para mejorar la estabilidad coloidal, y con un polímero termosensible a base de poli-N-isopropilacrilamida (PNIPAM), el cual puede experimentar un cambio conformacional de hidrofílico a hidrofóbico (lineal a globular) a una temperatura entre 40-43 °C. Además, la superficie externa del nanosistema recubierto de polímero se decoró con nanopartículas superparamagnéticas (SPIONs, de la terminología anglosajona *superparamagnetic iron oxide nanoparticles*) de magnetita ( $\text{Fe}_3\text{O}_4$ ), previamente sintetizadas por el método de descomposición térmica seguido de un intercambio parcial del ligando ácido oleico por ácido cítrico (34). En el nanosistema, las SPIONs actúan como puntos calientes, ya que son capaces de generar calor tras la aplicación de un AMF, alcanzando la temperatura necesaria para inducir un cambio conformacional en el polímero, de lineal a globular, y provocando la apertura del poro y la liberación de la carga antibiótica (35).

La carga de antibiótico, en este caso LEVO, se llevó a cabo por el método de impregnación a 50 °C para provocar que el polímero adoptara una conformación globular y permitir que el antibiótico entrara en el interior de los poros. A continuación, la muestra se enfrió para favorecer que el polímero adoptara una conformación extendida y bloqueara las entradas de los poros, evitando así la liberación prematura del antibiótico.

Los estudios de liberación de antibiótico llevados a cabo a diferentes temperaturas, para evaluar el efecto de hipertermia en el polímero termosensible, revelaron que la cantidad de LEVO liberado aumentó al incrementar la temperatura. Por otro lado, se ob-

servó que la aplicación de un AMF a 37 °C provocó una mayor liberación de antibiótico, debido al efecto de hipertermia en los nanosistemas.

Este diseño innovador del nanosistema, donde SPIONs decoran la superficie exterior, permitiría el contacto estrecho de la nanopartícula magnética con el *biofilm* bacteriano, y el efecto de la hipertermia magnética, así como el ligero efecto antimicrobiano inherente a las SPIONs (36), no se verían apantallados por la estructura de sílice. Los ensayos microbiológicos revelaron que la exposición de *biofilms* de *E. coli* a 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  del nanosistema y la aplicación de un AMF (202 kHz, 30 mT) redujeron el número de bacterias viables en 4  $\log_{10}$  unidades en comparación con el control. Esta prueba de concepto, basada en la combinación de la terapia de hipertermia magnética y la liberación de antibióticos en respuesta a la temperatura desde una única nanoplataforma, constituye una estrategia prometedora para el tratamiento local de las infecciones bacterianas asociadas a *biofilms*.

### 3.3. Nanosistemas basados en MSNs dirigidos al microentorno bacteriano

La tercera aproximación se ha centrado en la incorporación de ligandos de vectorización que guíen a nuestros sistemas a la diana terapéutica, el microentorno bacteriano. Con una analogía al mítico *Caballo de Troya*, hemos diseñado nanosistemas que son capaces de dirigirse específicamente a la bacteria en estado planctónico y/o al *biofilm*. La administración de agentes antimicrobianos exclusivamente en la diana terapéutica sin afectar las células sanas tiene como objetivo aumentar la selectividad y la eficacia del tratamiento al reducir las dosis de antibióticos, la frecuencia del tratamiento y los efectos secundarios.

Aunque en la infección bacteriana hay atisbos del efecto de Permeabilidad y Retención Mejorada (EPR, de la terminología anglosajona *enhanced permeability and retention*) característico de ciertos tumores sólidos, apenas se ha explotado esta vectorización pasiva en los nanosistemas antimicrobianos (37). En este sentido, las estrategias que están adquiriendo una relevancia creciente consisten en la vectorización activa, basadas en decorar la superficie más externa de los nanosistemas con ligandos de vectorización que originen una acumulación selectiva en la pared bacteriana o en el *biofilm*. El mayor avance de esta aproximación científica es la posibilidad de mejorar la eficacia de los agentes antimicrobianos no sólo por la interacción específica de los nanosistemas con bacterias o *biofilms*, sino también a la combinación con mecanismos de acción adicionales adscritos al propio nanotransportador, como la desestabilización de la pared celular bacteriana o el aumento de la penetrabilidad del *biofilm* (38). Teniendo en cuenta la naturaleza del *biofilm* y la afinidad de ciertas sustancias a ella, hemos diseñado



nanosistemas capaces de penetrar el *biofilm* y aumentar la actividad antimicrobiana de los antibióticos cargados. Por otra parte, considerando que la pared bacteriana está cargada negativamente, hemos diseñado nanosistemas que contienen grupos funcionales con cargas positivas en exterior de forma que exista una atracción electrostática con la bacteria.

En este contexto, a continuación, se describen los avances científicos más recientes desarrollados en nuestro grupo de investigación.

### **Vectorización al *biofilm***

En primer lugar, abordaremos las estrategias que hemos desarrollado para guiar nuestros nanosistemas al *biofilm* bacteriano. Como se ha comentado anteriormente, un *biofilm* es una comunidad bacteriana en la cual las bacterias están embebidas en una matriz extracelular principalmente compuesta de polisacáridos, incluyendo glicanos. Por otra parte, las lectinas, como la Concavalina A (ConA) son glicoproteínas que están presentes en una variedad de organismos, la mayoría de ellos de origen vegetales, y que tienen la capacidad intrínseca de reconocer y unirse específicamente a los glicanos formando glicoconjugados. Este hecho inspiró la idea de anclar esta lectina a la superficie de las MSNs como agente de vectorización al *biofilm*, investigación que se llevó a cabo durante la etapa predoctoral de Marina Martínez Carmona (39).

Para llevar a cabo la síntesis del nanosistema, las MSNs de sílice pura se sintetizaron por el bien conocido método de Stöber modificado (40), y se funcionalizaron externamente con un alcoxilano conteniendo grupos ácido carboxílico, lo cuales permitieron el anclaje final de la ConA por reacción con los grupos amino presentes en la proteína. La carga de LEVO se llevó a cabo por el método de impregnación en etanol y siempre antes del anclaje de la ConA, para evitar la desnaturalización de la proteína. Se registraron los perfiles de liberación del antibiótico desde las diferentes matrices, observándose que el porcentaje máximo de LEVO liberado desde MSNs de sílice pura era de alrededor de un 30 %, mientras que la presencia de ConA en la superficie externa de las MSNs facilitó la liberación del 100% del antibiótico cargado. Por otra parte, el efecto de la vectorización se estudió por microscopía confocal utilizando los nanosistemas sin cargar con antibiótico. Los estudios confirmaron la internalización de los nanosistemas cuando están funcionalizados con ConA. De hecho, se observó claramente que, cuando las muestras no estaban funcionalizadas, las nanopartículas eran visibles en la superficie, mientras que, cuando estaban funcionalizadas con ConA, se observó la presencia de nanopartículas en el interior del *biofilm*. Finalmente se evaluó el efecto *antibiofilm* de los nanosistemas determinando la viabilidad celular (bacterias vivas) y el área ocupada por la matriz protectora del *biofilm*. Los resultados indi-

caron que la combinación sinérgica de la ConA (como agente de vectorización al *biofilm*) y el LEVO (antibiótico) en una única nanoplateforma provoca una destrucción completa del *biofilm* bacteriano.

### **Vectorización a la bacteria**

Como se ha comentado anteriormente, otra aproximación posible es dirigir los nanosistemas a la bacteria. El objetivo es aprovechar las interacciones electrostáticas atractivas entre las nanopartículas cargadas positivamente y la pared celular de las bacterias, cargada negativamente, para favorecer la acumulación y adhesión de dichas nanopartículas a la pared bacteriana, pudiendo perturbar así las vías metabólicas o produciendo perforaciones y fisuras la pared celular, provocando su pérdida o su desestructuración (41), e incluso promover la internalización en la bacteria.

A la hora de elegir un ligando de vectorización hay que tener en cuenta una serie de características: i) que no sea un agente tóxico; ii) que contenga cargas positivas; y iii) que tenga muchos puntos de anclaje para favorecer su internalización. En este contexto, en 2018 propusimos una nueva estrategia para anclar ligandos de vectorización a la bacteria para el desarrollo de "nanoantibióticos" para el tratamiento de la infección bacteriana (42,43). Concretamente, diseñamos nanosistemas que consisten en MSNs, cuyos poros se cargan con LEVO y a cuya superficie externa se une covalentemente un dendrímero policatiónico, poli(propilenoimina) de tercera generación (PPI-G3), que confiere al nanosistema de una elevada densidad de carga positiva superficial. El objetivo fue que este nanosistema se internalizara en bacterias Gram-negativas, y liberara la carga antibiótica en su interior, pudiendo destruir así la bacteria de forma más eficiente. Los estudios de internalización utilizando los nanosistemas libres de antibiótico demostraron que el dendrímero policatiónico PPI-G3 anclado a las MSNs favorece la penetrabilidad a través de la pared celular de las bacterias *E. coli*. La flexibilidad y la alta densidad de cargas positivas proporcionadas por el dendrímero G3 en la superficie de las MSNs permiten una estrecha interacción atractiva con la pared bacteriana cargada negativamente, produciendo la permeabilización de la membrana y favoreciendo así la internalización del nanoantibiótico. Finalmente, se evaluó la eficacia antimicrobiana *in vitro* de los nanosistemas completos, es decir, cargados con el antibiótico, frente a biofilms de *E. coli*. Los resultados demostraron que la combinación sinérgica de elementos que favorezcan la internalización bacteriana y agentes antimicrobianos en un único nanosistema provoca un notable efecto antimicrobiano contra el *biofilm* bacteriano. Este novedoso nanoantibiótico se concibe como una alternativa prometedora a los tratamientos disponibles actualmente para el tratamiento de infecciones.



### 3.4. Incorporación de cationes metálicos en nanosistemas basados en MSNs

La cuarta aproximación se ha basado en la incorporación de cationes metálicos a los nanosistemas basados en MSNs. Los complejos metálicos se encuentran actualmente en desarrollo clínico para el tratamiento del cáncer, la malaria y enfermedades neurodegenerativas. Sin embargo, se ha prestado poca atención a su posible aplicación como compuestos antimicrobianos (44). A menudo se piensa que los metales son tóxicos y peligrosos, pero la vida tal como la conocemos no sería posible sin ellos. Los metales traza son esenciales para que nuestro cuerpo funcione; son un componente de muchas proteínas que nos ayudan a convertir los nutrientes en energía y nos mantienen vivos. De hecho, los metales han desempeñado un papel crucial en la medicina a lo largo de la historia; el arsénico fue el primer tratamiento eficaz de la sífilis (Arsfenamina, 1910) y el oro en el tratamiento de la artritis reumatoide (Auranofina, 1985), mientras que el fármaco a base de platino, el Cisplatino, aprobado en 1978, todavía se usa en la mayoría de los tratamientos contra el cáncer en la actualidad.

Recientemente, los investigadores de la Universidad de Queensland en colaboración con científicos internacionales han descubierto 23 compuestos previamente inexplorados que contienen metales como plata, manganeso, zinc, rutenio e iridio que tienen actividad antibacteriana y antifúngica. Dicho estudio revela que los metales podrían ser el vínculo a nuevos antibióticos para combatir la creciente amenaza mundial de las resistencias bacterianas.

En este sentido, teniendo en cuenta la capacidad del sistema que hemos visto anteriormente, que incorpora el dendrímero policatiónico PPI-G3 y que tiene capacidad para penetrar en la bacteria, hemos partido de este nanosistema y hemos incorporado un catión metálico antimicrobiano en su superficie además de un antibiótico dentro de los poros. Para ello hemos desarrollado un procedimiento sintético sencillo y versátil que permite la complejación de las aminas terciarias del dendrímero con diferentes cationes como plata, zinc o cobre, dependiendo de las necesidades del paciente. Concretamente, mediante esta aproximación, es posible desarrollar nanosistemas multiterapia contra la infección ósea donde: La presencia de ambos agentes antimicrobianos evitaría la aparición de resistencias bacterianas; dependiendo del catión metálico incorporado podría promoverse la regeneración ósea (favoreciendo por ejemplo la osteogénesis en el caso del zinc o la angiogénesis en el caso del cobre).

Recientemente hemos publicado un artículo en el cual se emplea esta estrategia sintética para diseñar un nanosistema de sílice mesoporosa con efecto dual, antimicrobiano y osteogénico, mediante la combinación LEVO y  $Zn^{2+}$  (45). Para demostrar la versatilidad del nanosistema se incorporaron iones  $Ag^+$  en un nanosistema de referencia. Para llevar a cabo la síntesis, el derivado

sililado del dendrímero PPI-G3 se unió covalentemente a la superficie externa de las MSNs en una primera etapa. Posteriormente los cationes metálicos ( $Zn^{2+}$  o  $Ag^+$ ) se incorporaron al sistema mediante su complejación con los grupos amina terciarias del dendrímero para dar lugar al material MSNS-G3- $M^{n+}$ . Para llevar a cabo dicha complejación se utilizaron nitratos metálicos en medio acuoso como precursores. La carga del antibiótico en las MSNs se llevó a cabo por el método de impregnación de forma simultánea al anclaje del dendrímero en la superficie externa, de modo que la accesibilidad del LEVO al interior de los poros no se vea dificultado por impedimento estérico de las ramas dendríticas.

La caracterización por microscopía electrónica de transmisión (TEM, de su terminología anglosajona *Transmission Electron Microscopy*) de las MSNs de partida y de las nanopartículas MSNS-G3- $M^{n+}$  revelaron que la funcionalización y la posterior complejación catiónica no alteraron ni la morfología ni el orden mesoporoso de las nanopartículas. Sin embargo, se observó un área más oscura en la parte de la superficie externa de los nanosistemas que incorporan los cationes. Este hecho podría atribuirse a la mayor intensidad de una región rica en electrones debido a la complejación de cationes con el dendrímero de poliamina, que se encuentra en la superficie más externa de los nanosistemas

Asimismo, se llevaron a cabo estudios preliminares mediante microscopía confocal para evaluar el efecto directo de los nanosistemas MSN-G3- $M^{n+}$  (sin cargar con fármaco) frente a *biofilms* de *E. coli*. El *biofilm* control presentó una estructura típica compuesta por una capa de bacterias vivas cubierta con una capa protectora de polisacáridos. Sin embargo, para los *biofilms* incubados durante 2 h con muestras de MSN-G3- $Zn^{2+}$  o MSN-G3- $Ag^+$ , se observó una notable reducción del área del *biofilm*, junto con la presencia de regiones oscuras y pequeñas colonias bacterianas, además de bacterias aisladas por toda la superficie. Estos resultados indicaron que estos nanosistemas provocan la disrupción del *biofilm*, la cual es más pronunciada en los nanosistemas que contienen  $Ag^+$ , en buen acuerdo con el mayor efecto antimicrobiano del catión  $Ag^+$  comparado con el catión  $Zn^{2+}$  (46).

Una vez comprobado el efecto de las muestras que incorporan cationes (MSN-G3- $M^{n+}$ ) sobre el *biofilm*, se evaluó el efecto bactericida sobre los *biofilms* de *E. coli* de los nanosistemas cargados tanto con el antibiótico LEVO como con el catión  $Zn^{2+}$  (MSN-G3-L- $Zn^{2+}$ ). Los resultados obtenidos tras la exposición de *biofilms* preformados de *E. coli* expuestos a diferentes concentraciones (30 y 60  $\mu g/mL$ ) de las distintas muestras indicaron que los nanosistemas conteniendo sólo uno de los agentes microbicidas, es decir, el catión (MSN-G3- $Zn^{2+}$ ) o el antibiótico (MSN-G3-L), produjeron una notable reducción del *biofilm*. Sin embargo, se alcanzaron valores superiores al 99% de reducción cuando los agentes incorporaron los dos agentes simultáneamente.



Los estudios de internalización de los nanosistemas en células preosteoblásticas MC3T3-E1 indicaron que, en comparación con la MSN de sílice pura, la unión del dendrímero G3, que proporciona al sistema cargas positivas, provoca un aumento de la internalización. La disminución del grado de internalización de las muestras cargadas con LEVO se debió a que la incorporación del antibiótico disminuye ligeramente la carga positiva del nanosistema. Finalmente, la incorporación del catión  $Zn^{2+}$  provocó valores de internalización dosis dependientes y similares a los del sistema que sólo incorporaba el dendrímero. Así, dosis de  $60 \mu\text{g/mL}$  de nanosistemas con  $Zn^{2+}$  originaron valores de internalización celular superiores al 90%.

Los ensayos de viabilidad celular en células MC3T3-E1 indicaron un efecto no citotóxico para el MSN-G3-L- $Zn^{2+}$  hasta  $60 \mu\text{g/mL}$ , manteniéndose los valores de viabilidad celular en el rango de 80 a 90% tanto a las 24 h como a las 96 h de ensayo.

En función de los resultados obtenidos, seleccionamos dosis de hasta  $60 \mu\text{g/mL}$  para evaluar la influencia de los nanosistemas que contienen  $Zn^{2+}$  en el efecto sobre la diferenciación osteogénica en células MC3T3-E1. Por una parte, se realizó un estudio de mineralización mediante la tinción de compuestos de calcio depositados en los pocillos con Rojo de Alizarina S y medida de absorbancia a 620 nm. Por otra parte, se midió la actividad enzimática de la fosfatasa alcalina (ALP, de su terminología anglosajona *Alkaline Phosphatase*), enzima que participa en el proceso de formación y mineralización del hueso en la fase inicial de la diferenciación osteogénica. Los resultados de dicho estudio indican que la dosis de  $60 \mu\text{g/mL}$  del nanosistema completo (MSN-G3-L- $Zn^{2+}$ ) genera diferenciación osteogénica sin comprometer la viabilidad, y reduce eficazmente el *biofilm* bacteriano.

#### 4. CONCLUSIÓN

En conclusión, a lo largo de este discurso hemos expuesto los avances más recientes desarrollados en el grupo de investigación de la Profesora María Vallet-Regí centrados en el desarrollo de diversos nanosistemas antibacterianos basados en Nanopartículas Mesoporosas de Sílice (MSNs). La versatilidad de las MSNs permite la incorporación de diferentes elementos funcionales, tales como antibióticos, elementos estímulo-respuesta, ligandos de vectorización a la bacteria y/o al *biofilm* bacteriano, o cationes antimicrobianos multiterapéuticos. Los nanosistemas desarrollados, se presentan como nanoformulaciones avanzadas muy prometedoras, como alternativa a los tratamientos convencionales con antibióticos, en la lucha contra la infección bacteriana.

#### Agradecimientos

Mi agradecimiento a los miembros de la Real Academia Nacional de Farmacia por el honor que me hacen con este nombramiento y por su afectuosa acogida.

Permítanme recordar unos versos del poeta sevillano Antonio Machado, "*Caminante, son tus huellas, el camino y nada más; caminante, no hay camino, se hace camino al andar...*", y en eso ha consistido mi carrera científica, un camino que he recorrido y sigo recorriendo, con ilusión, vocación y ganas de seguir aprendiendo.

Asimismo, quiero expresar mi agradecimiento a la Junta de Gobierno de esta Real Academia por haberme elegido como Académica Correspondiente y a la Sección Primera de Química y Física por haberme propuesto. Reconozco que me emocioné cuando me invitaron a presentar mi candidatura y ahora me siento verdaderamente honrada y agradecida.

Por todo ello, será un placer para mí formar parte de esta Real Academia Nacional de Farmacia y espero poder contribuir al trabajo que en ella se realiza. Ante el reto que se me presenta, sólo puedo decir que estoy dispuesta a acometerlo con esfuerzo y dedicación, pues, en palabras de Albert Einstein, "*el genio se hace con un 1% de talento y un 99% de trabajo*".

Quiero agradecer muy especialmente a la Excelentísima Sra. Doña María Vallet-Regí, mi mentora, maestra, referente y amiga desde hace ya 17 años, quien me ha impulsado a entrar en esta Real Academia y ha elaborado con mucho cariño la presentación a mi discurso. Muchas gracias Marita por esas bonitas y sentidas palabras que me has dedicado, con las que has conseguido emocionarme. Has hablado de mis logros y, en este sentido, creo que la frase original de Juan de Salisbury, también empleada por Isaac Newton "*si llegado a ver más lejos es porque me subí a hombros de gigantes*" adquiere su máximo significado. Gracias por las múltiples oportunidades que me has brindado y por todos los valores que me has transmitido. Para mí eres todo un referente científico, y como persona te has ganado mi admiración, mi respeto, mi cariño y mi amistad.

Por supuesto, mi agradecimiento a mis profesores y maestros a lo largo de toda mi vida académica y mi carrera investigadora, que me han introducido en esta área tan multidisciplinar como son los Biomateriales.

Quiero dar las gracias a todos mis compañeros y amigos del Departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas, con los que he tenido la oportunidad de trabajar, aprender y compartir el día a día.

Quisiera hacer mención especial a mi familia por su apoyo incondicional que me ha permitido llegar hasta aquí. A mi madre, que por desgracia ya no se encuentra entre nosotros; y a mi padre, que estará siguiendo este acto on-line. A Merche, Juanjo,



Laura, gracias todo.

Por último, no quiero olvidarme de mi amiga Gema; mis compañeras y amigas Isabel, Blanca y Sandra, gracias por vuestra amistad; las personas que tanto me han ayudado a nivel personal, Paula, Águeda, Pilar, Ana y Yolanda, gracias por todo.

Para finalizar, quisiera agradecer a las entidades financiadoras como la European Research Council con el proyecto VERDI, liderado por la Prof. Dra. María Vallet-Regí, al Ministerio de Ciencia e Innovación del Gobierno de España, y a los centros de investigación con los que colaboramos, un gran apoyo para nosotros, y que también han hecho posible esta investigación.

Por supuesto mi más sincero agradecimiento a todo el Grupo de Investigación en Biomateriales Inteligentes, liderado por la Prof. Vallet-Regí, al que tengo el privilegio de pertenecer.

Quisiera reiterar mi agradecimiento a la Real Academia Nacional de Farmacia por este nombramiento como Académica Correspondiente. Es un auténtico honor para mí formar parte de esta ilustre Institución. Gracias, de todo corazón por acogerme en esta casa, en la con devoción daré lo mejor de mí para contribuir a proporcionar soluciones a los retos y demandas de la sociedad actual.

Por último, me gustaría finalizar mi intervención con unas imágenes de la ciudad en que nací, Madrid, y sobre ellas, una frase de la célebre investigadora y Premio Nobel, Marie Curie: *"La vida no es fácil para ninguno de nosotros. Debemos tener perseverancia y, sobre todo, confianza en nosotros mismos. Debemos creer que estamos dotados para algo y que esto debe ser alcanzado."*

Muchas gracias a todos por venir, por vuestro apoyo y por vuestra atención.

*He dicho.*

## 5. REFERENCIAS

- Pagani Ballett R. Enfermedades epidémicas y pandémicas: Causas, cronología e implicaciones socioculturales An. Real Acad. Farm. 2020; 86: 189-214.
- Piret J, Boivin G. Pandemics Throughout History. Front Microbiol. 2021; 11: 631736.
- Ogunsona EO, Muthuraj R, Ojogbo E, Valerio O, Mekonnen TH. Engineered nanomaterials for antimicrobial applications: A review. Appl. Mater. Today 2020; 18: 100473.
- W.H.O. Antimicrobial resistance. 2021. Available online: [www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance](http://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance) (accessed on 24 October 2022).
- Zaidi S, Misba L, Khan AU. Nano-therapeutics: A revolution in infection control in post antibiotic era. Nanomed. Nanotechnol., Biol. Med. 2017; 13: 2281–301.
- W.H.O. Antimicrobial Resistance, Global Report on Surveillance, World Health Organization, Geneva, Switzerland, 2014.
- O'Neill J. Antimicrobial Resistance: Tackling a crisis for the health and wealth of nations. Rev. Antimicrob. Resist. 2014.
- O'Neill, J. Tackling drug-resistant infections globally: final report and recommendation. Rev. Antimicrob. Resist. 2016.
- W.H.O. New Report Calls for Urgent Action to Avert Antimicrobial Resistance Crisis. 2019. Available online: [www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis](http://www.who.int/news/item/29-04-2019-new-report-calls-for-urgent-action-to-avert-antimicrobial-resistance-crisis) (accessed on 24 October 2022).
- Antimicrobial Resistance Collaborators. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. Lancet 2022; 399: 629-55.
- COVID-19: U.S. Impact on Antimicrobial Resistance, Special Report 2022. Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, CDC. 2022.
- Davies D. Understanding biofilm resistance to antibacterial agents. Nat. Rev. Drug Discovery 2003; 2: 114-22.
- Kumar A, Alam A, Rani M, Ehtesham NZ, Hasnain SE. Biofilms: Survival and defense strategy for pathogens. Int. J. Med. Microbiol. 2017; 307: 481-9.
- Høiby N, Bjarnsholt T, Givskov M, Molin S, Ciofu O. Antibiotic resistance of bacterial biofilms. Int. J. Antimicrob. Agents 2010; 35: 322-32
- Donlan RM. Role of biofilms in antimicrobial resistance. ASAIO J. 2000; 46: S47-S52.
- Sharma D, Misba L, Khan AU. Antibiotics versus biofilm: an emerging battleground in microbial communities. Antimicrob Resist Infect Control. 2019; 8: 76.
- Mah T-F. Biofilm-specific antibiotic resistance. Future Microbiol. 2012; 7: 1061-72.
- Watnick P, Kolter R, Biofilm, city of microbes. J. Bacteriol. 2000; 182: 2675-9.
- Vallet-Regí M, González B, Izquierdo-Barba I. Nanomaterials as Promising Alternative in the Infection Treatment. Int. J. Mol. Sci. 2019; 20: 3806.
- Colilla M, Vallet-Regí M. Targeted Stimuli-Responsive Mesoporous Silica Nanoparticles for Bacterial Infection Treatment. Int. J. Mol. Sci. 2020; 21: 8605.
- Álvarez E, González B, Lozano D, Doadrio AL, Colilla M, Izquierdo-Barba I. Nanoantibiotics Based in Mesoporous Silica Nanoparticles: New Formulations for Bacterial Infection Treatment. Pharmaceutics. 2021; 13: 2033.
- Mitchell MJ, Billingsley MM, Haley RM, Wechsler ME, Peppas NA, Langer R. Engineering precision nanoparticles for drug delivery. Nat. Rev. Drug Discov. 2021; 20: 101-24.
- Vallet-Regí M, Balas F, Arcos D. Mesoporous Materials for Drug Delivery. Angew. Chem. Int. Ed. 2007; 46: 7548-58.
- Vallet-Regí M. Our contributions to applications of mesoporous silica



- nanoparticles. *Acta Biomater.* 2022; 137: 44-52.
25. Zhou S, Zhong Q, Wang Y, Hu P, Zhong W, Huang C-B, Yu Z-Q, Ding C-D, Liu H, Fu J. Chemically engineered mesoporous silica nanoparticles-based intelligent delivery systems for theranostic applications in multiple cancerous/non-cancerous diseases. *Coord. Chem. Rev.* 2022; 452: 214309.
  26. Vallet-Regí M, Schüth F, Lozano D, Colilla M, Manzano M. Engineering mesoporous silica nanoparticles for drug delivery: where are we after two decades? *Chem. Soc. Rev.* 2022; 51: 5365–451.
  27. Vallet-Regí M, Rámila A, Del Real RP, Pérez-Pariente J. A New Property of MCM-41: Drug Delivery System. *Chem. Mater.* 2001; 13: 308-11.
  28. Castillo RR, Vallet-Regí M. Recent Advances Toward the Use of Mesoporous Silica Nanoparticles for the Treatment of Bacterial Infections. *Int J Nanomedicine.* 2021; 16: 4409-30.
  29. Martínez-Carmona M, Gun'ko YK, Vallet-Regí M. Mesoporous Silica Materials as Drug Delivery: "The Nightmare" of Bacterial Infection. *Pharmaceutics* 2018; 10: 279.
  30. Bernardos A, Piacenza E, Sancenón F, Hamidi M, Maleki A, Turner RJ, Martínez-Máñez R. Mesoporous Silica-Based Materials with Bactericidal Properties. *Small* 2019; 15: 1900669.
  31. Selvarajan V, Obuobi S, Ee PLR. Silica Nanoparticles-A Versatile Tool for the Treatment of Bacterial Infections. *Front. Chem.* 2020; 8: 602.
  32. Aguilar-Colomer A, Colilla M, Izquierdo-Barba I, Jiménez-Jiménez C, Mahillo I, Esteban J, Vallet-Regí M. Impact of the antibiotic-cargo from MSNs on gram-positive and gram-negative bacterial Biofilms. *Micropor. Mesopor. Mat.* 2021; 311: 110681.
  33. Álvarez E, Estévez M, Gallo-Cordova A, González B, Castillo RR, Morales MdP, Colilla M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M. Superparamagnetic Iron Oxide Nanoparticles Decorated Mesoporous Silica Nanosystem for Combined Antibiofilm Therapy. *Pharmaceutics* 2022; 14: 163.
  34. Salas G, Casado C, Teran FJ, Miranda R, Serna CJ, Morales MP. Controlled synthesis of uniform magnetite nanocrystals with high-quality properties for biomedical applications. *J. Mater. Chem.* 2012; 22: 21065-75.
  35. Guisasola E, Baeza A, Talelli M, Arcos D, Moros M, De La Fuente JM, Vallet-Regí M. Magnetic-Responsive Release Controlled by Hot Spot Effect. *Langmuir* 2015; 31: 12777-82.
  36. M. Arakha, S. Pal, D. Samantarai, T. K. Panigrahi, B. C. Mallick, K. Pramanik, B. Mallick and S. Jha, Antimicrobial activity of iron oxide nanoparticle upon modulation of nanoparticle-bacteria interface. *Sci. Rep.* 2015; 5: 1-12.
  37. Azzopardi EA, Ferguson EL, Thomas DW. The enhanced permeability retention effect: a new paradigm for drug targeting in infection. *J. Antimicrob. Chemother.* 2013; 68: 257–74.
  38. Wang L, Hu C, Shao L. The antimicrobial activity of nanoparticles: present situation and prospects for the future. *Int J Nanomedicine.* 2017; 12: 1227-49.
  39. Martínez-Carmona M, Izquierdo-Barba I, Colilla M, Vallet-Regí M. Concanavalin A-targeted mesoporous silica nanoparticles for infection treatment. *Acta Biomater.* 2019; 96: 547-56.
  40. Grün, M; Lauer I, Unger KK. The synthesis of micrometer- and sub-micrometer-size spheres of ordered mesoporous oxide MCM-41. *Adv. Mater.* 1997; 9: 254-7.
  41. Lam SJ, O'Brien-Simpson NM, Pantarat N, Sulistio A, Wong EH, Chen YY, Lenzo JC, Holden JA, Blencowe A, Reynolds EC, Qiao GG. Combating multidrug-resistant Gram-negative bacteria with structurally nanoengineered antimicrobial peptide polymers. *Nat Microbiol.* 2016; 1: 16162.
  42. Pedraza D, Díez J, Barba I, Colilla M, Vallet-Regí M. Amine-Functionalized Mesoporous Silica Nanoparticles: A New Nanoantibiotic for Bone Infection Treatment. *Biomed. Glasses* 2018; 4: 1-12.
  43. González B, Colilla M, Díez J, Pedraza D, Guembe M, Izquierdo-Barba I, Vallet-Regí M, Mesoporous silica nanoparticles decorated with polycationic dendrimers for infection treatment. *Acta Biomater* 2018; 68: 261-71.
  44. Frei A, Zuegg J, Elliott AG, Baker M, Braese S, Brown C, Chen F, Dowson C, Dujardin G, Jung N, King AP, Mansour AM, Massi M, Moat J, Mohamed HA, Renfrew AK, Rutledge PJ, Sadler PJ, Todd MH, Blaskovich MAT. Metal complexes as a promising source for new antibiotics. *Chem. Sci.* 2020, 11, 2627-39.
  45. Álvarez E, Estévez M, Jiménez-Jiménez C, Colilla M, Izquierdo-Barba I, González B, Vallet-Regí M. A versatile multicomponent mesoporous silica nanosystem with dual antimicrobial and osteogenic effects. *Acta Biomater.* 2021; 136: 570-81.
  46. Fan W, Sun Q, Li Y, Tay FR, Fan B. Synergistic mechanism of Ag<sup>+</sup>-Zn<sup>2+</sup> in anti-bacterial activity against *Enterococcus faecalis* and its application against dentin infection. *J. Nanobiotechnology* 2018; 16: 10.

Si desea citar nuestro artículo:

**Nanoformulaciones avanzadas contra la infección bacteriana**

Montserrat Colilla Nieto

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. n°4 (2022) · pp. 727 - 736

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.04.04>

# EVALUACIÓN DE IMPACTO EN SALUD UNA HERRAMIENTA AL SERVICIO DE LA SOCIEDAD

## HEALTH IMPACT ASSESSMENT, A USEFUL TOOL FOR SOCIETY

**Miguel Ángel Casermeiro Martínez**

Académico correspondiente de la Real Academia Nacional de Farmacia

Departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas. Unidad Docente de Edafología. Facultad de Farmacia UCM. Madrid.

ORCID: 0000-0002-1415-9528

**corresponding author:** macasermeiro@gmail.com

### ARTÍCULO DE REVISIÓN

#### RESUMEN

La Evaluación de impacto en salud es una herramienta para favorecer la toma de decisiones por parte de la autoridad sanitaria de las repercusiones sobre la salud de determinados planes, programas y proyectos. Esta herramienta está instaurada en numerosos países homólogos al nuestro desde hace más de dos décadas; sin embargo, aunque se encuentra definida en la Ley de salud pública, su aplicación está lejos de ser generalizada. En esta revisión, se analiza la importancia del binomio medioambiente y salud, a través de estudio de casos históricos; así como, sobre los orígenes y evolución de la Evaluación de Impacto en Salud de manera general y en España en particular.

#### ABSTRACT

*Health Impact Assessment is an useful mix of procedures, tools and methods for the assessment of the health issues due the development of new plans, programs and projects. Health Impact Assessment is well established in homologous countries in the decision making processes for more than two decades. Nevertheless, in Spain the actual situation is far from international standards. In this review, a revision of the relationships between health and environment has been carried out using case study methods, as well as the origin and evolution of HIA in general and particularly in Spain.*

#### Palabras Clave:

evaluación de impacto en salud  
Medio Ambiente  
Salud Pública

#### Keywords:

health impac assessment  
Environment  
Public Health



## 1. INTRODUCCIÓN

La Evaluación de Impacto en Salud se configura como una herramienta de suma utilidad en la promoción de la salud, con evidentes repercusiones en la toma de decisiones sobre planes, programas y proyectos que ya tiene un largo recorrido en países homólogos al nuestro y que sin embargo no está correctamente implantada ni en nuestro ordenamiento jurídico, ni en lo que es más importante a mi juicio, en los procesos de toma de decisión.

La Evaluación de Impacto en Salud entronca con algunas de las funciones tradicionales que ha ejercido, y ejercen los farmacéuticos desde el origen de la profesión hasta la actualidad. El farmacéutico es, y siempre ha sido, un profesional que ha velado no solo por la salud de los individuos sino por el de las poblaciones y por la sociedad en su conjunto. Además, el farmacéutico tiene una enorme implantación y conocimiento territorial, por lo que se puede decir, sin ningún género de dudas, el farmacéutico es un agente sanitario con grandes conocimientos locales en su área de actuación y tiene una enorme capilaridad y respeto de la sociedad. Lo anteriormente expuesto junto con mi experiencia personal desde hace más de 30 años en el ámbito de la investigación y evaluación de los impactos ambientales, unido a mi formación sanitaria me inducido a elegir este tema en mi toma de posesión como académico correspondiente.

## 2. NATURALEZA Y SALUD

Desde el origen de los tiempos, el binomio salud y naturaleza o como ahora lo conocemos, el medio ambiente, han ido de la mano. Se puede indicar que todas las poblaciones humanas han buscado emplazamientos con suficientes recursos naturales y ambientales, incluyendo alimentos y materia médica, para el correcto desarrollo de los individuos y sociedades. La búsqueda de nuevos territorios y emplazamientos por parte de la humanidad debían ser por tanto salubres y este hecho es independiente del contexto cultural.

La arqueología nos ofrece numerosos ejemplos de ello. La civilización egipcia a través de numerosos papiros como el Ebers nos indica la recolección y el uso de plantas con fines medicinales, lo cual suponía un profundo conocimiento de la naturaleza (1). El conocido hombre de hielo Ötzi, que vivió en el norte de Italia (3300 años AC), de la edad de cobre, acababa de tomar helecho águila *Pteridium aquilinum*, con uso como vermífugo (2). Uno de los padres de la medicina *Hipócrates* ya establece la importancia de la naturaleza, en este caso el clima, en la salud, en su famosa obra de aforismos indica “*todas las enfermedades se producen en todas las estaciones, pero durante algunas de estas se producen y se agravan*

*especialmente algunas de aquéllas*”. Desde ese momento, son frecuentes las menciones a aspectos que ponen de manifiesto la importancia de la naturaleza en la salud, se pueden mencionar a *Averroes*, *Adelardo de Bath*, *Spinoza* entre otros autores.

Me gustaría mencionar el famoso código de la Cruz Badiano *Libellus de medicinalibus indorum herbis A. D. 1552*, (3) del cual hay una excelente copia en la biblioteca de la Real Academia Nacional de Farmacia, en este libro fascinante, se presentan desde la particular cosmología mesoamericana abundantes remedios (formulaciones) basados en plantas medicinales, animales, minerales y lugares con propiedades mágicas, su lectura es un compendio de la medicina americana precolombina.

En el desarrollo de la ciencia, tecnología y filosofía moderna, el papel de la naturaleza en la salud humana va cobrando cada vez más interés y son numerosos los autores que se preocupan por este tema. La revolución industrial supone una profunda transformación social y también sobre la naturaleza, lo que se traduce en un aumento exponencial de la población humana, así como de la presión del ser humano sobre el anterior mundo en muchas ocasiones prístino de la era preindustrial.

Las propuestas malthusianas y neomalthusianas han funcionado a modo de profecías negativas; poniendo en tela de juicio la capacidad de acogida de la tierra desde el siglo XVIII, profecías que nunca se han cumplido a pesar de ir hacia 9000 millones de habitantes (4). Sin embargo, no es menos cierto, que a pesar de haber aumentado la calidad y expectativa de vida desde la era industrial, también se han acrecentado los problemas ambientales y consecuentemente los problemas derivados sobre la salud humana. Numerosos ejemplos ilustran la relación directa entre la alteración de los ecosistemas por la influencia humana y la aparición de problemas de salud pública.

El caso de Itai Itai es uno de los primeros casos documentados de enfermedad derivada de un proceso de contaminación tiene al suelo y a la vegetación (en este caso al arroz) como protagonistas; documentada desde 1912, es en 1950 cuando se describe la *enfermedad de Itai Itai*, o enfermedad del *iy ay!*, llamada así por el dolor producido por las fracturas óseas espontáneas producidas por la sustitución del  $\text{Ca}^{2+}$  por el  $\text{Cd}^{2+}$ . En este caso el origen de la contaminación fue la minería, que aunque histórica desde la edad media, sufrió una fuerte incremento con la revolución industrial contaminado el río Jinzu por Cd, el cual al quedar retenido por el complejo de cambio de los suelos permite la biodisponibilidad por las plantas de arroz, en las márgenes de los cultivos del río. El cambio en el estado de oxidación del Cd, derivado de los ciclos de inundación y sequía del cultivo del arroz, favoreció el ingreso de Cd en el arroz y de ahí a la cadena trófica. El trabajo el profesor Kushi-zaki (5) aclara estos aspectos, que fueron muy difíciles de identi-



ficar puesto que hubo que analizar a nivel de parcela la concentración de Cd y correlacionarlo con la concentración de dicho elemento en el de arroz y en el consumo del mismo (6) (Simmons et al, 2008). En los años 50, en la bahía de Minamata se produjo otro caso de contaminación severa por metales pesados, producido por la bioacumulación de Hg en ese caso en medio marino. La eliminación de los catalizadores de sulfato y cloruro de Hg por la empresa Chisso al mar, y posterior transformación por bacterias reductoras en los fondos sedimentarios marinos en metil y dimetil mercurio, propició el ingreso del Hg en la cadena trófica que posteriormente mediante un proceso de bioacumulación, que fue incrementado su concentración según se asciende en la cadena trófica; estos proceso de concentración alcanzan magnitudes de  $10^6$ - $10^9$ , de tal manera que el consumo de estos los animales contaminados supuso la aparición de casos muy severos de afectación neurológica incluso la muerte con más de 439 personas fallecidas y 1483 afectados (7). Recientemente Naciones Unidas ha promovido la convención de Minamata para eliminar el Hg de los procesos industriales, que fue firmada por el gobierno Español en 2013 y ratificada en 2021 (8). Una reflexión sobre este tema es que hemos tardado más de medio siglo desde la identificación de un problema hasta la resolución en el plano político e industrial del mismo.

En los años 60-70 la guerra de Vietnam, propició el uso de agentes químicos con diferentes funciones bélicas entre las que destaca el conocido como Agente Naranja que es una mezcla 1:1 de dos herbicidas —ácido 2,4-diclorofenoxiacético (2,4-D) y ácido 2,4,5-triclorofenoxiacético (2,4,5-T)— en forma de éster iso-octilo, pronto se identificó que estos herbicidas estaban contaminados por dioxinas sumamente tóxicas en concreto con 2,3,7,8-tetraclorodibenzodioxina (TCDD). Estos herbicidas que funcionan como defoliantes de contacto, tenían como fin facilitar la observación de tropas enemigas en las pluvisilvas vietnamitas. Sin embargo, pronto se descubrieron efectos mutagénicos y teratogénicos que afectaba principalmente a la población local. Las dioxinas tienen una justa leyenda negra, pues a menudo ha sido calificada como la molécula más tóxica jamás producida. El profesor Galston de Caltech (9) puso en evidencia estos efectos en la famosa conferencia sobre los efectos de los herbicidas en la guerra de Vietnam, en la famosa conferencia *International Symposium on Herbicides in the Vietnam War: An Appraisal* (10).

La noche del 2 al 3 de diciembre de 1984 ha pasado a la historia como uno de los mayores desastres ambientales de la historia. En la ciudad india de Bhopal, una planta de la extinta Union Carbide, sufrió un fatal accidente liberando a la atmósfera 40 toneladas de isocianato de metilo, un gas tóxico y letal a bajas concentraciones que bloquea las cadenas respiratorias celulares. De manera inmediata, esa misma noche, murieron 3800 personas, aun-

que algunas estimaciones produjeron 20000 muertos relacionados de manera directa con el accidente y afectando a medio millón de personas (11). Estas cifras habrían disminuido de manera radical si un buen plan de emergencias hubiese prevista la situación, ya que el tiosulfato sódico hubiese funcionado de manera eficaz como antídoto, de haber estado disponible.

Es decir, que si en la India hubiesen sido de aplicación las directivas Seveso y el marco normativo de Evaluación de Impacto Ambiental, esta tragedia no se habría producido. La tragedia de Bhopal, se estudia como un ejemplo de mala praxis informativa, de gestión ambiental y social corporativa que de hecho le llevo a la desaparición como empresa. El juicio contra los responsables del accidente acabó con una condena de dos años de cárcel y 2000 dólares de multa para los 7 responsables de la planta. Posterior revisiones jurídicas, obligaron a la compañía a pagar una indemnización análoga a la asbestosis, lo que supuso una indemnización global de 430 millones de dólares para las 554895 personas afectadas, con un promedio de 2200 dólares por cada persona fallecida.

Una de los efectos que se puso en evidencia tras el accidente, es la doble vara de medida en relación con la responsabilidad ambiental y social de las compañías en función del país receptor de la industria; numerosos países en vías de desarrollo implementaron nuevas medidas regulatorias tras este accidente.

Otros ejemplos que podríamos comentar son los relativos a la contaminación nuclear de la cual desgraciadamente tenemos varios ejemplos: Semipalatiniski, Chernobil y recientemente Fukushima, han puesto de manifiesto los potenciales riesgos para la salud derivado de accidentes o mala praxis en la gestión de la energía nuclear.

Todos los casos anteriormente comentados, se asocian a accidentes, situaciones extraordinarias, y a la falta de conocimiento del efecto de las sustancias tóxicas en el medio ambiente, de ahí el desarrollo de la ecotoxicológica como disciplina. Es destacable que además de estas situaciones excepcionales, los procesos de degradación ambiental se encuentran cada vez más acelerados y tiene un carácter permanente principalmente desde el inicio del siglo XX.

Recientemente se ha introducido en el ámbito de la salud pública y de la sanidad ambiental el concepto de salud global o en inglés *One health* cuyo origen está íntimamente relacionado con las antropozoonosis, donde la reciente pandemia del coronavirus es un buen ejemplo. Este enfoque integrador implica que la salud del individuo trasciende a la salud de las poblaciones, es decir las sociedades, y de los ecosistemas donde se sustentan.

En un esquema de ecología clásica estaríamos hablando del autoecología, la especie (en este caso el hombre), de sineocología las poblaciones y el biotopo o lugar donde viven las poblaciones. Numerosos artículos publicados durante la pandemia nos han invi-



tado a reflexionar sobre la aparición de nuevas enfermedades y sobre la transferencia más sencilla desde los hospedadores intermedios y reservorios al hombre, debido entre otras causas a la degradación ambiental.

En su informe de 2012 la OMS (12) que indica que el 25% de la mortalidad está asociada a determinantes ambientales, *“Los factores de riesgo ambientales, como la contaminación del aire, el agua y el suelo, la exposición a los productos químicos, el cambio climático y la radiación ultravioleta, contribuyen a más de 100 enfermedades o traumatismos”*. En declaraciones a los medios la Dra. Margaret Chan, Directora General de la OMS indica: *“Si los países no adoptan medidas para que los ambientes en los que se vive y se trabaja sean sanos, millones de personas seguirán enfermando y muriendo prematuramente”*. (13) (WHO, 2016). Sin duda sus palabras confirman la importancia de continuar con el análisis y el estudio del binomio medio ambiente y salud.

### 3. DESARROLLO SOSTENIBLE, EVALUACIÓN AMBIENTAL Y EVALUACIÓN DE IMPACTO EN SALUD

Gro Harlem Brundtland no era consciente del cambio de paradigma en el ámbito de las relaciones entre el modelo económico y el ambiental que se desarrolló cuando publicó su informe en Naciones Unidas sobre Desarrollo Sostenible en 1986 (14).

Desde ese momento, la sociedad modificó el enfoque predominante que primaba la optimización de la producción económica a otro nuevo que se basa en los 5 principios que sustentan el nuevo modelo de relación de la sociedad y el medio ambiente y que resumo a continuación:

- **Principio de sostenibilidad**, que se resume en dejar a las futuras generaciones al menos los mismos recursos naturales y ambientales que la generación parental.
- **Principio de prevención**, que se resume en una frase muy sanitaria *“más vale prevenir que curar”* y que es la base conceptual de la Evaluación de Impacto en Salud.
- **Principio de responsabilidad**, que se resume en *“el que contamina paga”*, frase en la que personalmente no estoy de acuerdo ya que, si la transformamos en su forma pasiva, sería *pago luego contamina*, en ningún caso sería admisible la contaminación, aunque este principio ha dado lugar a la creación de mercados secundarios de contaminantes.
- **Principio de promoción**, que se resume en la frase *“hay que internalizar las externalidades”*, este principio propone la integración de las externalidades, es decir los costes económicos no integrados en un balance económico de una actividad. Un ejemplo sería el aumento de prevalencia de enfermedades derivadas de las actividades de determinando sector productivo, por ejem-

plo el aumento de concentración de  $\text{NO}_3^-$  en aguas subterráneas, por la actividad agrícola que puede producir el síndrome de bebe azul.

- **Principio de solidaridad**, que se basa en la justa transferencia de conocimientos tecnología y recursos entre los países desarrollados y los que están en vías de desarrollo.

Entre todos estos principios, destaco el de prevención ya que, sobre este, se basa el establecimiento de una nueva cultura preventiva que propone la evaluación *ex-ante* de una actividad antes su puesta en marcha, como es el caso que nos ocupa.

Desde un punto de vista conceptual, los antecedentes a la Evaluación de Impacto en Salud se basan en la Evaluación Ambiental que formalmente tiene su origen en la aprobación de la NEPA *National Environmental Policy Act* promulgada por el presidente Nixon en 1970 y que recoge las reivindicaciones de los primeros movimientos ecologistas de los años 60 ante los accidentes y desastres ambientales previamente mencionados (15). Desde ese momento, es necesario la realización de informes de evaluación ambiental de manera previa a la aprobación del órgano sustantivo correspondiente. Esta filosofía, la de evaluar de manera previa a la aprobación administrativa, supuso el desarrollo de numerosas metodologías de evaluación y definieron un nuevo marco de trabajo que fue rápidamente exportado a diferentes países.

En la Unión Europea, tenemos que esperar hasta la directiva 337/85 *“relativa a la evaluación de las repercusiones de determinados proyectos públicos y privados sobre el medio ambiente.”* En dicha directiva en el preámbulo indica que *“Considerando que los efectos de un proyecto sobre el medio ambiente deben evaluarse para proteger la salud humana, contribuir mediante un mejor entorno a la calidad de vida, velar por el mantenimiento de la diversidad de especies y conservar la capacidad de reproducción del ecosistema como recurso fundamental de la vida”*. Este considerando hace mención tanto a la salud de las personas como diríamos ahora de la sostenibilidad de los ecosistemas, dos de los principios rectores del Desarrollo Sostenible (16).

Esta directiva fue transpuesta en España por el RD legislativo 1302/86, posteriormente desarrollada por el RD 1131/88 y sucesivas modificaciones hasta llegar a la actual Ley 21/2013 de Evaluación Ambiental; en todas ellas, hace referencia a la **necesidad de analizar los impactos sobre la salud humana** (17, 18, 19).

Es un hecho, que la evaluación de los aspectos sanitarios en los estudios de impacto ambiental no ha sido correctamente desarrollada en el transcurso de los más de 30 años que lleva en funcionamiento los procedimientos de Evaluación de Impacto Ambiental, salvo en casos excepcionales y muy concretos donde el objeto del análisis ambiental y el enfoque de salud es coincidente. Por ejemplo, en los casos de contaminación atmosférica o de análisis



del ruido donde los criterios de evaluación, incluso de zonificación de actividades se asocian a los límites de intervención para la prevención de la salud humana. La utilización de indicadores de evaluación basados en criterios sanitarios en los procedimientos de evaluación ambiental permite, de alguna manera, tener en consideración un cierto grado de cumplimiento de las premisas contempladas en la voluntad del legislador.

#### 4. EVALUACIÓN DE IMPACTO EN SALUD

De manera paralela al desarrollo de los procedimientos de Evaluación de Impacto Ambiental, en muchos países análogos al nuestro, se ha ido desarrollando el concepto de Evaluación de Impacto en Salud.

Según la OMS la definición de Evaluación de Impacto en Salud es la siguiente: *la combinación de procedimientos, métodos y herramientas con los que puede ser analizada una norma, plan, programa o proyecto, en relación a sus potenciales efectos en la salud de la población y acerca de la distribución de los mismos, que por cierto es la definición que utiliza la Ley 33/2011 de Salud pública en su artículo 35, a al cual me referiré más adelante. A continuación se resume la evolución conceptual de la Evaluación de Impacto en Salud en los últimos tiempos.*

La primera vez que se popularizó internacionalmente el término de Evaluación de Impacto en Salud se debe al artículo de Alex Scott-Samuel (20) titulado "*Health Impact Assessment: An idea whose time has come*", publicado en el *British Medical Journal*. Esta idea se estableció de manera permanente tras el consenso de Goteburgo en 1999 (21). Una buena revisión del origen de la EIS, para las personas interesadas en este tema, es la realizada por Harris-Roxas y colaboradores en 2012 (22).

Los primeros enfoques de EIS se dirigieron a introducir variables sanitarias en la práctica de la Evaluación de Impacto ambiental tal y como proponen Birley (23) y Ahmad (24); este enfoque estaba basado en esquemas de evaluación utilizando herramientas tales como el análisis de riesgo, disciplina con una alta relación toxicológica, (25). Prácticamente de manera simultánea Scott-Samuel & Birley (26) propusieron una revisión crítica los procedimientos de Evaluación de Impacto en Salud hacia el actual, hacia la actualmente aceptada por la comunidad internacional. Desde ese momento, los esquemas clásicos de EIS se han movido hacia la integración de los determinantes ambientales y sobre todo determinantes sociales a partir de 2010; el concepto de determinantes sociales en salud ha sido desarrollado por Solar & Irwin (27) que ha sido incluido en países con diferentes contextos socioculturales y diferentes escalas de trabajo. El último avance ha sido la inclusión del concepto de inequidad social en los EIS. Una revisión de los materiales que sustentan esta línea de desarrollo se puede encontrar por ejemplo en la web de la OMS (28).

Se puede indicar por tanto que la Evaluación de Impacto en Salud ha establecido unos enfoques de evaluación propios desde 2010, es decir que se ha independizado de la tutela de la Evaluación ambiental. La Sociedad Española de Sanidad Ambiental, realizó un gran trabajo publicando una guía para la integración de las variables de salud en los procedimientos de Evaluación Ambiental (29). Desde un punto de vista práctico hay que indicar que numerosos países de nuestro entorno llevan más de dos décadas trabajando en este ámbito de actuación, una revisión ilustrativa es la realizada por Hebert (30).

Las EIS son un procedimiento común no sólo en países de nuestro entorno, sino que en muchos casos también se realiza de manera voluntaria en países en vías de desarrollo, donde no está integrado en el ordenamiento jurídico, sobre todo cuando los planes de inversión se asocian a la financiación de organismos multilaterales como el Banco mundial, el BID o el Asian Development Bank. Así no es extraño encontrar ejemplos prácticos en países en vías de desarrollo como Mongolia y Nigeria, entre otros. Más aún, numerosas compañías privadas realizan estos procedimientos para asegurar que sus iniciativas no afectan las poblaciones locales, entre otros sectores, destaca el sector minero en Iberoamérica. Numerosos profesionales independientes del sector ambiental o sanitario, trabajan en empresas que se dedican a este sector por todo el mundo y sin duda se constituye como una nueva salida profesional para nuestros egresados.

En relación a los antecedentes en España, podemos indicar que la Ley 33/2011 de salud pública dedica un capítulo el VII a la Evaluación de Impacto en Salud y en concreto el art 35 donde se define que es la EIS se adscribe a la definición propuesta por la OMS (31). Esta Ley está pendiente de desarrollo normativo, probablemente mediante un Real Decreto y no está integrada prácticamente en ninguna normativa autonómica, excepto en Andalucía a través del *Decreto 169/2014, de 9 de diciembre, procedimiento de la Evaluación del Impacto en la Salud de la Comunidad Autónoma de Andalucía* (32).

#### 5. PRÁCTICA EN LA REALIZACIÓN DE LOS ESTUDIOS DE EVALUACIÓN DE IMPACTO EN SALUD

En esencia, la realización de un EIS consiste en la evaluación *ex-ante* por parte de un equipo independiente de las posibles repercusiones que puede tener para la salud de una población humana la puesta en marcha de una nueva política, plan, programa, proyecto o actividad.

Aunque no hay consenso sobre cómo definir un EIS típico, si podemos indicar que, con carácter general, un EIS se compone de las siguientes fases (Figura1):

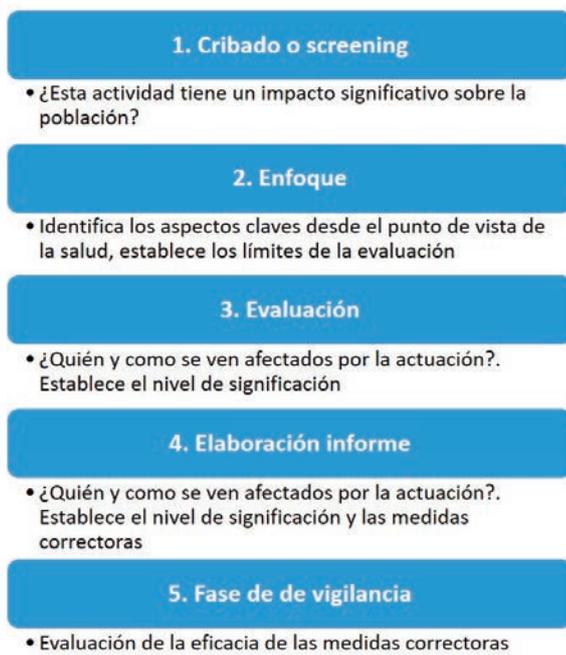


Figura 1. Esquema de las fases de un Estudio de impacto en Salud

- **Fase de cribado o screening:** la primera decisión que debe tomarse es si es necesario realizar un EI para el plan, programa, proyecto o actividad pensada, en realidad esta fase tiene que responder a la pregunta *¿Esta actividad tiene un impacto significativo sobre la población?*. Normalmente el marco normativo responde a esta pregunta, mediante la inclusión de anejos con listados de actividades en las que es obligatoria la EIS o bien mediante un estudio caso por caso; es destacable que la legislación andaluza estable un listado de comprobación que trata de responder a esta pregunta. Esta fase es realmente importante ya que permite delimitar los esfuerzos de los equipos que participan en estos procesos realizando evaluaciones innecesarias. Es destacable, a modo de ejemplo, la lista de comprobación elaborada por la consejería de Sanidad de la Junta de Andalucía relativa a la fase de cribado de un EIS. (Figura 2).
- **Fase de enfoque o scoping:** en esta fase se hacen consultas a instituciones, asociaciones y/o población sobre los aspectos más relevantes que se deben tener en cuenta la evaluación.
- **Fase de Evaluación:** mediante el uso de diferentes enfoques y metodologías, supone la fase de recogida de datos y de análisis de los mismos. En esta fase se identifican los aspectos clave tanto del proyecto, del medio ambiente y de las poblaciones potencialmente afectadas.
- **Elaboración de informe:** donde se recoge toda la información y resultados del EIS, incluido el establecimiento de medidas correctoras de los impactos sobre la salud y los procedimientos de vigilancia de las mismas.

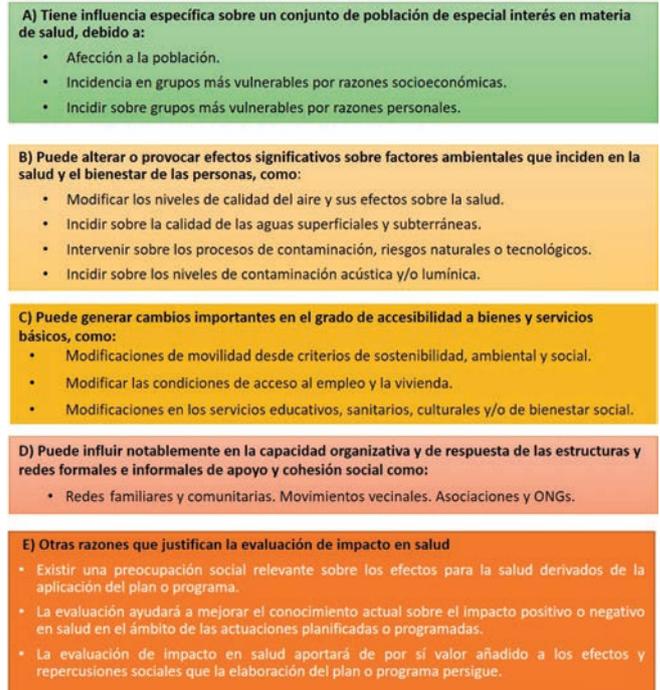


Figura 2. Fases del proceso de cribado para someter un proyecto a un Estudio de Impacto en salud en la comunidad de autónoma de Andalucía basado en el Decreto 169/2014

- **Fase de vigilancia:** procedimiento de retroalimentación de la evaluación.

Este esquema tan sencillo, se ha ido complicando por diversos autores, un ejemplo ilustrativo es el propuesto por el sistema de salud de Canadá donde identifican siete etapas diferentes incluyendo el análisis de riesgo como parte inherente a la evaluación. (Figura 3).

## 6. DETERMINANTES AMBIENTALES, EL CASO DEL SUELO

Los determinantes ambientales de salud hacen referencia al papel del medio ambiente en el mantenimiento de la salud humana. En esencia hacen referencia a “la intersección entre el medioambiente y la salud pública, aborda los factores ambientales que influyen en la salud humana, y que incluyen factores físicos, químicos y biológicos, y todos los comportamientos relacionados con estos” (33).

En esencia y tal y como ya he manifestado, la salud está íntimamente ligada a la calidad del medio ambiente, entendiendo está como las cualidades del territorio que permiten las correctas condiciones de salud. Así un medio ambiente saludable está en un territorio en el que la calidad del aire, de las aguas, del suelo, de los ecosistemas, del clima, del ruido, son saludables.

La OMS recoge numerosísimos determinantes ambientales como objeto de interés para preservar la salud; y ante la imposibilidad de desarrollar todos permítanme que haya tomado la licencia de centrarme en el suelo por razones profesionales.

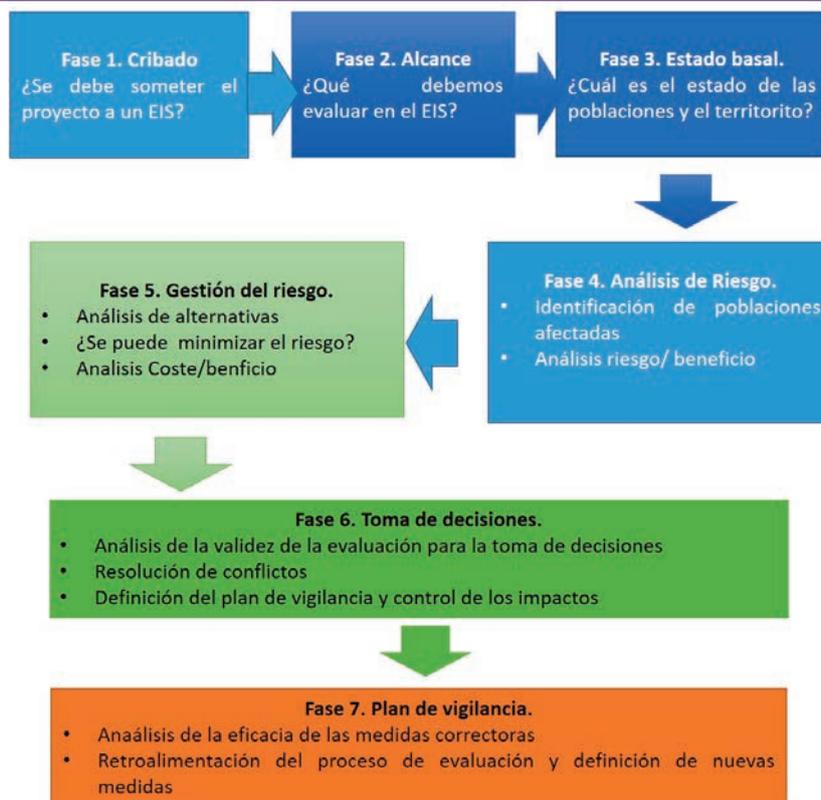


Figura 3. Esquema de un Estudio de Impacto en Salud basado en *Canadian Handbook on Health Impact Assessment, Volumen 2: Approaches and Design marketing*

Los suelos, son la base sobre la cual se sustentan los ecosistemas terrestres, nos proveen de numerosos bienes y servicios ambientales, sobre ellos se produce el 95 % de los alimentos de origen vegetal, y me gusta destacar que son un recurso natural no renovable a escala social. Es decir que la destrucción del recurso suelo por diferentes causas de degradación tales como la contaminación química, la salinización, la erosión; supone la destrucción de un cuerpo natural que ha tardado cientos o miles de años en su formación.

El desarrollo de nuevos estudios en el suelo, por ejemplo la importancia del microbioma del suelo, están poniendo en valor la consideración del suelo como un ente vivo. El estudio de las complejas relaciones biológicas, químicas y fisicoquímicas y cómo afecta a la funcionalidad están generando una nueva visión del suelo; ya hay numerosos autores, como los profesores Lal (34), o Lehmann (35), que abordan conceptos como salud del suelo o modelos de calidad del suelo, elementos necesarios para la correcta valoración de este recurso que desafortunadamente no tiene en mi opinión la importancia que debería tener ni en los medios de comunicación ni en los planes de estudio.

Me gustaría comentar que la OMS publica desde hace décadas valores de referencia y recomendaciones aplicables a los principales elementos del medio, por ejemplo el manual de referencia de aguas potables y de contaminación atmosférica, pero no es así

en el caso del suelo por la complejidad del mismo. Desde otras instituciones se han desarrollado marcos jurídicos a diferentes niveles: legislación, europea, española y autonómica, así como, el establecimiento de niveles genéricos de referencia y de intervención en el caso de suelos contaminados (36).

La degradación y destrucción del suelo no es un problema menor, en la acción COST IS1408: *Industrially Contaminated Sites and Health Network (ICSHNet)*, desarrollada desde 2014-2018 puso en evidencia datos reveladores (37). En los 27 países de la UE y según los datos que pertenecen a la red de observatorios de Información Ambiental, se estima que un total de 2,6 millones de emplazamientos están contaminados, de los cuales el 14 %, 340.000 emplazamientos van a necesitar procesos activos e restauración o remediación ambiental con unos presupuestos estimados superiores a 6.000 millones de €. La identificación, valoración y recuperación de estos suelos contaminados son primordiales para el correcto mantenimiento de la salud no solo del suelo sino de las poblaciones asentadas sobre los mismos. A pesar del esfuerzo en investigación realizado hasta el momento, estamos lejos de conocer en profundidad los procesos que regulan la transferencia de elementos contaminantes y de los riesgos asociados por la exposición a estos ambientes contaminados.



## 7. DETERMINANTES SOCIALES, INEQUIDAD

Otro aspecto relevante en la Evaluación de impacto en Salud son los determinantes sociales y siguiendo el ejemplo anterior. Es común que en las zonas contaminadas, o de menor calidad ambiental, se encuentran en zonas periurbanas donde es frecuente el asentamiento de minorías migrantes o personas con un bajo nivel adquisitivo, cuyo riesgo de exposición es mayor que el resto de la población. En la interesante revisión realizada por Pasetto, se analizan en profundidad estos hechos (38).

Un ejemplo en nuestro país, serían las comunidades de migrantes, que trabajan en los cultivos bajo plástico y que utilizan diferentes agroquímicos muchas veces sin la formación adecuada, lo que da lugar a un aumento de la incidencia y prevalencia de diferentes patologías asociadas a estos productos. Son ilustrativos los datos proporcionados por el ISCIII en relación a mortalidad ligada al cáncer que se asocia a zonas de agricultura intensiva o industriales de la provincia de Huelva en el Atlas de cáncer de España (39).

Otros casos con evidente repercusión internacional en los medios de comunicación son: el basurero electrónico de Agbogbloshie, en Ghana donde colectivos que reciclan material informático en Acrá en África, o los desguaces de barcos en Bangladesh o la India, en la playa sin las mínimas condiciones de salubridad. Los trabajadores de estas actividades están expuestos a altos valores de inmisión de diferentes tóxicos, por lo que es seguro que la salud de estos colectivos se verá afectada por esta actividad, de manera adicional no sólo este colectivo se verá afectado, también sus familias y las personas más vulnerables expuestas.

La inclusión de parámetros sociales, económicos y culturales es obligada en los procedimientos de evaluación de Impacto en salud. Destacando en particular todos aquellos que están relacionados con la inequidad entendida esta, desde una perspectiva en lengua inglesa, como situación de injusticia y en concreto como injusticia social. Aspectos como la perspectiva de género, la edad, nivel de ingresos, nivel de estudios, acceso al sistema público o privado de salud, son parte sustancial durante el proceso de evaluación e impacto en Salud.

## 8. CONCLUSIONES Y TENDENCIAS DE FUTURO

La Evaluación de Impacto en salud es una herramienta preventiva que se encuentra perfectamente desarrollada en países de nuestro entorno y sin embargo, a pesar de estar recogida en la Ley de salud pública, es una gran desconocida en España.

El fin último de la Evaluación de Impacto en Salud es ayudar a la toma de decisiones por parte de la autoridad sanitaria, es por tanto necesario definir de manera concreta un procedimiento administrativo reglado que haga transparente estos procesos de evaluación.

Quiero llamar la atención sobre esta disciplina desde la tribuna de esta academia, ya que la EIS se configura como una nueva competencia para el farmacéutico que debe ser considerada como tal y por tanto que debe ser incluida en planes de estudio; además es necesario formar de manera urgente profesionales que permitan una transición rápida hacia una praxis profesional, tanto del ámbito público como privado y que junto con otros profesionales sanitarios o de medio ambiente serán los encargados de realizar esas evaluaciones.

## Agradecimientos

Agradezco de manera muy especial al profesor Nombela Cano†, académico de número, su estímulo para presentarme a la Real Academia de Farmacia, su generosísima presentación y la revisión del manuscrito. *Sit tibi terra levis.*

## 9. REFERENCIAS

1. Aboelsoud NH. Herbal medicine in ancient Egypt. *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 2010. Vol. 4 Issue (2): 82-86. DOI: 10.5897/JMPR09.013
2. Zink, A, Samadelli, M, Gostner, P and Piombino-Mascali D. Possible evidence for care and treatment in the Tyrolean Iceman. *International Journal of Paleopathology*. 2019. Vol. 25: 110-117. <https://doi.org/10.1016/j.ijpp.2018.07.006>
3. Martín de la Cruz; según traducción latina de Juan Badiano; versión española con estudios y comentarios por diversos autores. (1991). *Códice de la Cruz Badiano*.
4. Vollset, E, Goren, E, Yuan, CW, Cao, J, et al. Fertility, mortality, migration, and population scenarios for 195 countries and territories from 2017 to 2100: a forecasting analysis for the Global Burden of Disease Study. *The Lancet*. 2020. Vol. 396, Issue 10258: 1285-1306. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30677-2](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30677-2)
5. Kushizakil, M. Studies on Soil Pollution by Cadmium, a Heavy Metal. *Japan Agricultural Research Quarterly*. 1977. Vol. 11, Issue 2: 89-94.
6. Simmons, R.W.; Noble, A.D., Pongsakul, P. et al. Analysis of field-moist Cd contaminated paddy soils during rice grain fill allows reliable prediction of grain Cd levels. *Plant and Soil*. 2008. Vol. 302 Issue (1-2): 125-137.
7. Tamashiro, H, Arakaki, M, Akagi, H, Futatsuka, M & Roht, LH. Mortality and Survival for Minamata Disease. *International Journal of Epidemiology*. 1985. Vol. 14 Issue 4: 582-588. DOI:10.1093/ije/14.4.582.
8. Convenio de Minamata sobre el Mercurio. <https://www.mercuryconvention.org/es>. PNUMA.
9. Galston, AW. Herbicides: A Mixed Blessing. *BioScience*. 1979. Vol. 29 Issue 2: 85-90. DOI: 10.2307/1307744.



10. Carlson, EA. Commentary: International Symposium on Herbicides in the Vietnam War: An Appraisal. *BioScience*. 1983. Vol. 33, Issue 8: 507-512. DOI: 10.2307/1309140.
11. Broughton, E. The Bhopal disaster and its aftermath: a review. *Environmental Health*. 2005. Vol. 4 Issue 1: 6. DOI: 10.1186/1476-069X-4-6.
12. Prüss-Ustün, AW, Corvalán, C, Bos, R, and Neira, M. Preventing disease through healthy environments: a global assessment of the burden of disease from environmental risks. 2012. Ed. WHO. Geneva.
13. Chan, M. (2016) en <https://www.who.int/es/news>
14. Brundtland, G.H. Our Common Future: Report of the World Commission on Environment and Development. 1987. Institution: UN-DokumentA/42/427.
15. Hughes, S. National Environmental Policy Act of 1969. (1975). Bibliography. Congressional Research Service, Library of Congress, 91-190. Washington, D.C.
16. CEE. Directiva 85/337/CEE del Consejo, de 27 de junio de 1985, relativa a la evaluación de las repercusiones de determinados proyectos públicos y privados sobre el medio ambiente. 1985. Rule Number: L 17. CEE Start Page 40.
17. BOE. 1986. Real Decreto Legislativo 1302/1986, de 28 de junio, de evaluación de impacto ambiental. Page 23733.
18. BOE. 1988. Real Decreto 1131/1988, de 30 de septiembre, por el que se aprueba el Reglamento para la ejecución del Real Decreto Legislativo 1302/1986, de 28 de junio, de Evaluación de Impacto Ambiental. BOE-A-1988-23079. Page 28911.
19. BOE. 2013. Ley 21/2013, de 9 de diciembre, de evaluación ambiental. Page 1.
20. Scott-Samuel. A. Health Impact Assessment: An Idea Whose Time Has Come. *British Medical Journal* 1996. Vol. 313. Issue 7051: 183-184
21. WHO. Health Impact Assessment: main concepts and suggested approach. Gothenburg Swedeen. 1999. WHO Ed. Brussels.
22. Harris-Roxas, B, Viliani, F, Bond, A, Cave, B, et al. Health impact assessment: the state of the art. *Impact Assessment and Project Appraisal*. 2012. Vol. 30 Issue 1: 43-52. DOI: 10.1080/14615517.2012.666035
23. Birley, M. Health impact assessment, integration and critical appraisal. *Impact Assessment and Project Appraisal*. 2003. Vol. 21 Issue 4: 313-321. DOI: 10.3152/147154603781766158.
24. Ahmad, B.S. Integrating health into impact assessment: challenges and opportunities. *Impact Assessment and Project Appraisal*. 2004. Vol. 22, Issue 1: 2-4. DOI: 10.3152/147154604781766094.
25. Franssen, EAM, Staatsen, BAM, & Lebret, E. Assessing health consequences in an environmental impact assessment: The case of Amsterdam Airport Schiphol. *Environmental Impact Assessment Review*. 2002. Vol. 22 Issue 6: 633-653. [https://doi.org/10.1016/S0195-9255\(02\)00015-X](https://doi.org/10.1016/S0195-9255(02)00015-X)
26. Scott-Samuel, A., Birley, M. and K. Ardern. *The Merseyside Guidelines for Health Impact Assessment*. 2001. 2nd Edition. Publisher: International Health Impact Assessment Consortium. Vol. 1.
27. Solar O, and Irwin AA. Conceptual framework for action on the social determinants of health. *Social Determinants of Health Discussion Paper 2 (Policy and Practice)*. 2010. WHO ed. Vol. 1
28. Health Impact Assessment. Disponible en World Health organization. [https://www.who.int/health-topics/health-impact-assessment#tab=tab\\_1](https://www.who.int/health-topics/health-impact-assessment#tab=tab_1).
29. Casas S, García A, Suárez S, Barberá M, et al. La salud en la evaluación de impactos ambientales. Guía metodológica. 2011. Sociedad Española de Sanidad Ambiental. Serie De aeribus, aquis et locis nº 1. Madrid
30. Hebert, KA, Wendel, AM, Kennedy S K and Dannenberg AL. Health impact assessment: A comparison of 45 local, national, and international guidelines. *Environmental Impact Assessment Review*. 2012. Vol. 34: 74-82. <https://doi.org/10.1016/j.eiar.2012.01.003>
31. BOE. 2011. Ley 33/2011, de 4 de octubre, General de Salud Pública. Pages 104593-104626.
32. BOJA. 2011. Ley 16/2011, de 23 de diciembre, de Salud Pública de Andalucía. Vol. 255 Issue 1: 18
33. Determinantes ambientales en salud. En Organización Panamericana de la Salud. Disponible en (<https://www.paho.org/es>).
34. Lal, R. Managing soils for resolving the conflict between agriculture and nature: The hard talk. *European Journal of Soil Science* Vol. 2020. 7. Issue 1: 1-9. <https://doi.org/10.1111/ejss.12857>
35. Lehmann, J, Bossio, DA, Kögel-Knabner, I and M. C. Rillig. The concept and future prospects of soil health. *Nature Reviews Earth & Environment*. 2020. Vol. 1 Issue 10: 544-553. DOI: 10.1038/s43017-020-0080-8
36. BOE. 2005. Real Decreto 9/2005, de 14 de enero, por el que se establece la relación de actividades potencialmente contaminantes del suelo y los criterios y estándares para la declaración de suelos contaminados. BOE 15, de 18 de enero de 2005: 1833-1843.
37. Lavarone, I & Leonardi, G. IS1408: Industrially Contaminated Sites and Health Network (ICSHNet). 2019. COST Action Final Achievement Report.
38. Pasetto, RM, Benedetta, AU & Marsili, D. Environmental Justice in Industrially Contaminated Sites A. Review of Scientific Evidence in the W. H. O. European Region. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 2019. Vol. 16 Issue 6: 20. DOI: 10.3390/ijerph16060998.
39. Fernández-Navarro P, Roquette R, Nuñez O, de Sousa-Uva M, García-Pérez J, et al. Atlas of Cancer Mortality in Portugal and Spain 2003-2012. National Institute of Health and National Institute of Health Carlos III (Spain), 2021.

Si desea citar nuestro artículo:

**Evaluación de impacto en salud una herramienta al servicio de la sociedad**

Miguel Ángel Casermeiro

An Real Acad Farm (Internet].

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº4 (2022) · pp. 737 - 745

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.04.05>



# DE LA CICLOADICIÓN DE HUISGEN A LA QUÍMICA BIOORTOGONAL. UN COMENTARIO AL PREMIO NOBEL DE QUÍMICA DE 2022

## FROM THE HUISGEN CYCLOADDITION TO BIOORTHOGONAL CHEMISTRY. A COMMENTARY ON THE 2022 NOBEL PRIZE IN CHEMISTRY

**José Carlos Menéndez**

Unidad de Química Orgánica y Farmacéutica, Departamento de Química en Ciencias Farmacéuticas, Facultad de Farmacia, Universidad Complutense de Madrid  
Académico de Número de la Real Academia Nacional de Farmacia

**corresponding author:** josecm@farm.ucm.es

### ARTÍCULO DE REVISIÓN

#### RESUMEN

El primer logro de los galardonados con el Premio Nobel de Química de 2022, y en particular de Sharpless, es de tipo conceptual, y consistió en la propuesta del concepto de reacción *click* dentro de un cuerpo de doctrina general. En una segunda fase, tanto Sharpless como Meldal establecieron la catálisis de la cicloadición 1,3-dipolar de Huisgen por Cu(I), lo que llevó a su reconocimiento de como la primera reacción *click* y a su empleo generalizado en todos los campos de la química. Estos descubrimientos prepararon el terreno para el descubrimiento por Bertozzi de las reacciones *click* bioortogonales, aprovechando el incremento de reactividad asociado a la tensión anular de los derivados de ciclooctino. La influencia de estas ideas y descubrimientos ha sido enorme y ha conducido a grandes avances en diversos campos de la Química y la Biología.

#### ABSTRACT

*The first achievement of the 2022 Chemistry Nobel Prize awardees, Sharpless in particular, was of a conceptual nature and consisted in the proposal of the click chemistry concept, together with its placement in a broader theoretical frame. In a second phase, both Sharpless and Meldal established the copper(I)-catalyzed conditions that allowed the Huisgen 1,3-dipolar cycloaddition to be recognized as the first click reaction, which was broadly employed in all fields of chemistry. These discoveries laid the ground for the development by Bertozzi of bioorthogonal chemistry on the basis of the increased reactivity associated to ring strain in cyclooctyne derivatives. The influence of these ideas and discoveries has been widespread and has led to innumerable advances in many fields of Chemistry and Biology.*

#### Palabras Clave:

Química *click*  
cicloadiciones  
síntesis de fármacos  
química biológica  
descubrimiento de fármacos

#### Keywords:

Click chemistry  
cycloadditions  
drug synthesis  
biological chemistry  
drug discovery

## 1. INTRODUCCIÓN: BREVE BIOGRAFÍA DE LOS LAUREADOS

El premio Nobel de Química de 2022 ha sido concedido a Carolyn Ruth Bertozzi, Morten Peter Meldal y Karl Barry Sharpless “por el desarrollo de la química *click* y bioortogonal” (1,2).

Karl Barry Sharpless, nacido en Filadelfia en 1941, consiguió una licenciatura en Química por el Dartmouth College (1963) y un doctorado en Química por la Universidad de Stanford (1968) por un trabajo sobre la química del escualeno dirigido por Eugene Van Tamelen. Continuó su formación con estudios postdoctorales en la Universidad de Stanford (1968), uniéndose al laboratorio de James P. Collman, un especialista en química organometálica. Posteriormente, y dentro todavía de su etapa postdoctoral, trabajó en la Universidad de Harvard (1969) en el laboratorio de Konrad E. Bloch, un especialista en enzimología que había sido galardonado con el premio Nobel en 1964 por su trabajo sobre el metabolismo del colesterol y los ácidos grasos. Sharpless ha sido profesor en el Massachusetts Institute of Technology (1970-77), en la Universidad de Stanford (1977-80), de nuevo en el MIT (1980-90) y finalmente en el Scripps Research Institute

(1990-actualidad). Cabe destacar que Sharpless es el segundo investigador en ser galardonado dos veces con el Premio Nobel de Química, habiéndolo recibido por primera vez en 2001 por el desarrollo de reacciones de oxidación enantioselectivas (figura 2).

Morten Peter Meldal nació en Copenhague en 1954 y estudió Ingeniería Química en la Universidad Tecnológica de Copenhague, completando su licenciatura en 1980. Obtuvo el Doctorado en Química por la Universidad Tecnológica de Copenhague en 1983, trabajando bajo la dirección de Klaus Bock en el campo de la síntesis de carbohidratos. Se trasladó entonces a la Universidad de Cambridge para llevar a cabo estudios postdoctorales sobre química de péptidos en el grupo de Robert C. Sheppard del MRC Laboratory of Molecular Biology. Tras esta estancia, consiguió una plaza de profesor en la Universidad Tecnológica de Copenhague, donde estuvo entre 1986 y 1988. Se trasladó entonces al Centro de Investigación de Carlsberg de Copenhague, donde trabajó entre 1988 y 2011 y desarrolló el trabajo por el que ha recibido el Premio Nobel. Finalmente, en 2011 se trasladó a la Universidad de Copenhague, donde sigue trabajando en la actualidad.



Carolyn R. Bertozzi  
(Universidad de Stanford)



Morten P. Meldal  
(Universidad de Copenhague)



K. Barry Sharpless  
(Scripps Institute)

Figura 1. Los tres galardonados con el premio Nobel de Química de 2022

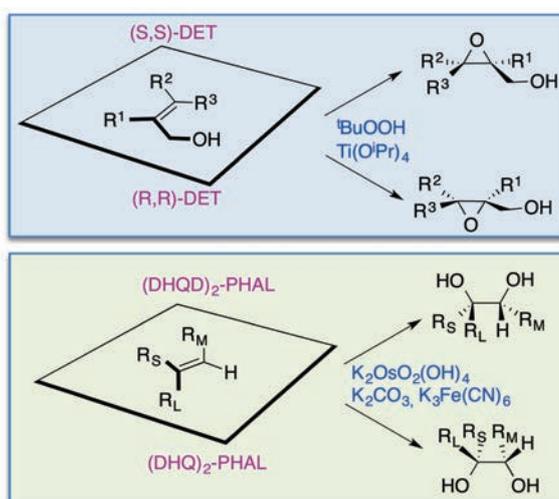


Figura 2. El primer Premio Nobel de Química de Sharpless, concedido en 2001

From the Huisgen cycloaddition to bioorthogonal chemistry.

748

A commentary on the 2022 Nobel Prize in Chemistry

José Carlos Menéndez Ramos

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. n<sup>o</sup> 4(2022) · pp. 747 - 766



Carolyn Ruth Bertozzi nació en Boston en 1966 y obtuvo su Licenciatura en Química por la Universidad Harvard en 1988, así como un doctorado en Química sobre síntesis de oligosacáridos por la Universidad de Berkeley en 1993, trabajando bajo la dirección de Mark D. Bednarski. Para sus estudios postdoctorales seleccionó el grupo del Dr. Steven D. Rosen en la Universidad de California en San Francisco), trabajando en las implicaciones de la química de oligosacáridos en inmunología. Ha ocupado puestos docentes e investigadores en la Universidad de Berkeley (1996-2000), en el Howard Hughes Medical Institute (2000-2015) y en la Universidad de Stanford (2015-actualidad).

## 2. LA INTRODUCCIÓN DEL CONCEPTO DE QUÍMICA *CLICK* POR SHARPLESS

Pocos meses antes de la concesión de su primer premio Nobel, Sharpless, junto con un estudiante postdoctoral de su grupo (Harmuth C. Kolb) y otro antiguo doctorando que estaba trabajando en una empresa spin-off creada por el propio Sharpless (M. G. Finn), publicó un artículo que supuso la creación del concepto de química *click* y el desarrollo de sus aspectos teóricos (3). Es interesante destacar que Sharpless dedicó a este tema la parte final de su conferencia de aceptación de su primer premio Nobel, a pesar de haberle sido concedido por sus logros en un campo muy diferente, el de la oxidación enantioselectiva (4).

Esta contribución seminal comienza con algunas consideraciones generales sobre la síntesis orgánica, que pueden resumirse en los siguientes puntos:

1. La finalidad última de la síntesis orgánica no es la preparación de compuestos, sino la obtención de determinadas propiedades asociadas a éstos.
2. La síntesis orgánica convencional pone énfasis en la construcción de enlaces carbono-carbono y se basa principalmente en la química del grupo carbonilo.
3. Sharpless sugiere que, por su dificultad, esta no es la mejor estrategia para obtener de forma ágil compuestos bioactivos.
4. Propone, en su lugar, el empleo de reacciones modulares en las que se generan enlaces carbono-heteroátomo entre sustratos simples y asequibles.
5. Indica, finalmente, que esta estrategia requiere el uso de reacciones simples y robustas para unir los fragmentos estructurales, proponiendo el nombre de química *click* para designar este tipo de reacciones.

Por tanto, estrictamente la expresión "química *click*" no hace referencia a una reacción concreta, sino a un concepto ideal de reacción. Sharpless propone los siguientes como requisitos de una reacción *click* ideal:

1. Se trata de un proceso modular, es decir, implica la unión de fragmentos preformados.
2. Es robusta y presenta un amplio ámbito de aplicación.
3. Transcurre con elevado rendimiento.
4. Implica el uso de compuestos de partida sencillos.
5. Puede llevarse a cabo en ausencia de disolvente, o empleando disolventes no tóxicos (idealmente agua).
6. Genera subproductos no tóxicos.
7. Es regioselectiva.

### Cicloadiciones



### Apertura por nucleófilos de anillos tensionados



### Química de grupos carbonilo con formación de enlaces carbono-heteroátomo



### Adiciones a enlaces múltiples carbono-carbono

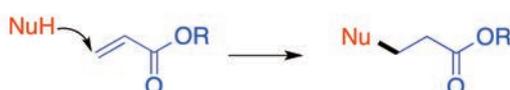


Figura 3. Algunas transformaciones candidatas a reacciones *click* propuestas en la publicación de Sharpless de 2001



- Es enantioespecífica, es decir, genera productos estereoquímicamente diferentes cuando se parte de isómeros espaciales diferentes. En cambio, Sharpless no impone el requisito de que la reacción sea enantioselectiva.
- Es experimentalmente sencilla de realizar.
- Permite un fácil aislamiento del producto de interés, sin necesidad de cromatografía.
- Idealmente, es insensible al aire y al oxígeno.

Finalmente, Sharpless y sus colaboradores sugirieron algunas reacciones ya conocidas que pueden considerarse buenas candidatas al estatus de reacción *click* y que se esquematizan en la figura 3. De ellas, las primeras en investigarse con tal finalidad fueron las cicloadiciones [3 + 2].

### 3. LAS CICLOADICIONES [3 + 2] COMO REACCIONES *CLICK*

Las cicloadiciones [3 + 2] se basan generalmente en la reacción entre un reactivo que se describe como un 1,3-dipolo, por presentar separación de carga y deslocalización electrónica sobre un fragmento estructural de tres carbonos, y otro, llamado dipolarófilo,

que reacciona con el primero para generar un ciclo de cinco miembros. Por este motivo, las reacciones [3 + 2] se describen habitualmente como cicloadiciones 1,3-dipolares (Figura 4). La primera reacción de este tipo, en la que se obtuvo un derivado de pirazol por tratamiento del diazoacetato de metilo con fumarato de metilo fue descrita por Eduard Buchner en 1888 (5). Otros precursores del estudio de las cicloadiciones 1,3-dipolares fueron Erst Otto Beckmann, que investigó la química de las nitronas, incluyendo una cicloadición 1,3-dipolar con isocianato de fenilo (6), Arthur Michael, que utilizó por primera vez una azida como 1,3-dipolo (7) y Otto Dimroth, que estudió la reacción entre el ácido hidrazoico y el acetileno para dar triazol (8) (Figura 5).

A partir de estos antecedentes fue Rolf Huisgen quien, a partir de 1957 y trabajando en la Universidad de Munich, estableció las cicloadiciones 1,3-dipolares como un nuevo campo de la síntesis orgánica. En concreto, los logros iniciales de Huisgen en esta área pueden resumirse como:

- Sistematización de los 1,3-dipolos existentes y diseño y estudio de otros (por ejemplo, las münchnonas).
- Empleo de nuevos dipolarófilos (por ejemplo, los arinos).



Figura 4. Esquema general de una cicloadición 3 + 2 dipolar

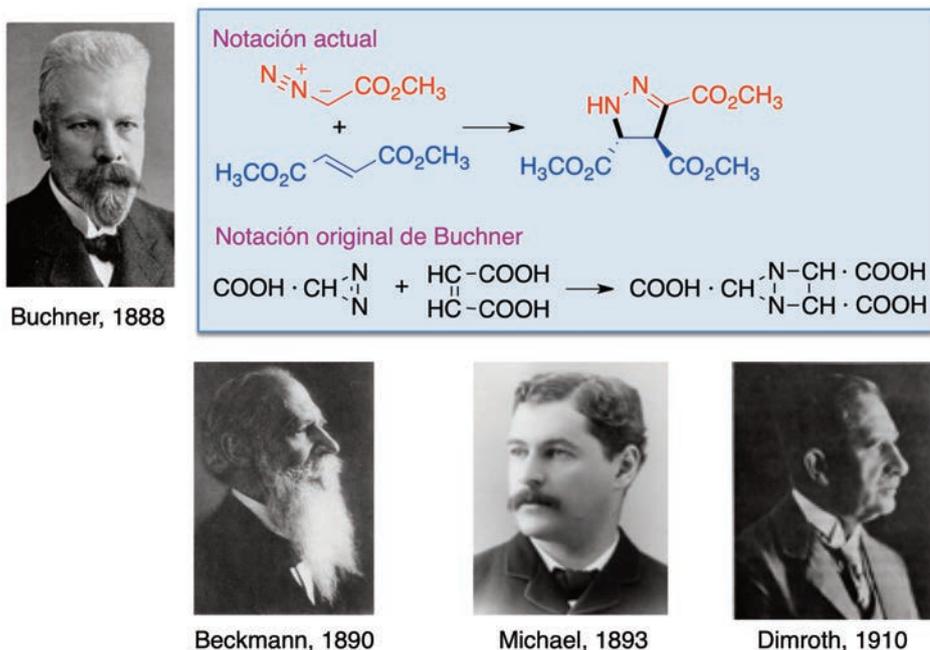


Figura 5. Los pioneros de las reacciones de cicloadición 1,3-dipolares

From the Huisgen cycloaddition to bioorthogonal chemistry.

750

A commentary on the 2022 Nobel Prize in Chemistry

José Carlos Menéndez Ramos

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº 4(2022) · pp. 747 - 766



Rolf Huisgen

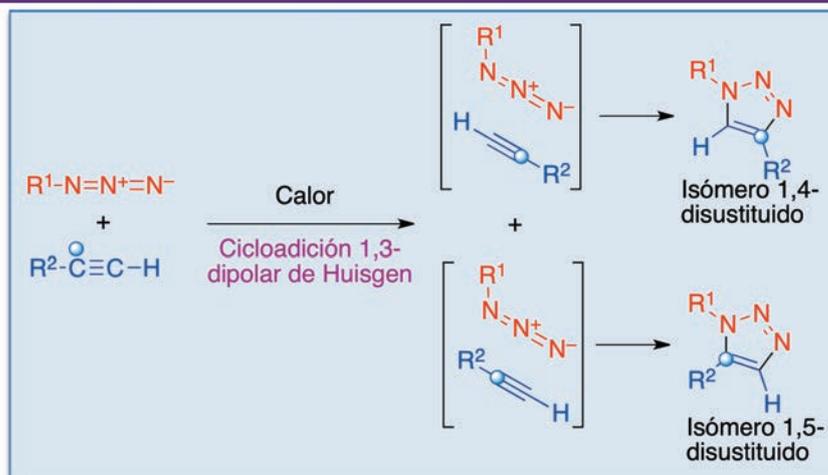


Figura 6. La cicloaddición 1,3-dipolar de Huisgen

3. Propuesta de un mecanismo de reacción concertado.
4. Sistematización de la reacción en un artículo de revisión (9).  
Debido a estos logros, la reacción entre azidas y alquinos para dar derivados de triazol se conoce como cicloaddición de Huisgen. A pesar de su gran relevancia, tiene algunas limitaciones. Así, en su versión original requiere elevadas temperaturas y carece de regioselectividad, proporcionando mezclas de triazoles 1,4- y 1,5-disustituidos (Figura 6).

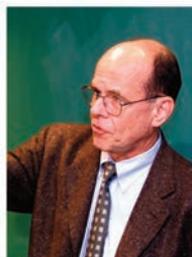
La falta de regioselectividad y la necesidad de altas temperaturas hacen que la versión original de la reacción de Huisgen sea en muchos casos poco práctica sintéticamente. Sin embargo, en 2002 se describió que, en presencia de sales de Cu(I), la reacción se convierte en regioselectiva, a favor del isómero 1,4-disustituido, y puede llevarse a cabo en condiciones suaves (Figura 7). Esta variante de la reacción de Huisgen se describe habitualmente como CuAAC (*copper-catalyzed azide alkyne cycloaddition*), y fue descrita, casi si-

multáneamente, por Meldal, en el Centro de Investigación de Carlsberg en Copenhague (10), y Fokin y Sharpless, en el Scripps Institute (11).

La catálisis por cobre facilitó el empleo generalizado de la reacción de Huisgen en todos los campos de la síntesis orgánica, cuando se necesita unir dos fragmentos estructurales en una sola molécula (12,13,14,15). Fue tanto su impacto que es habitual considerarla la reacción *click* por antonomasia y designarla como tal, a pesar de que, como ya se ha comentado, "*click*" hace referencia a un concepto de reacción, no a una reacción concreta. Es difícil consultar un número reciente de una revista dedicada a la Química Farmacéutica sin encontrar varios ejemplos de profármacos o fármacos multidiana obtenidos por conjugación de dos fragmentos estructurales mediante una reacción CuAAC. Como ejemplo, en la Figura 8 se muestran dos estructuras multidiana recientes, diseñadas, respectivamente, como antiinflamatorio en hipoxia cardíaca (16) y contra el cáncer (17).



Morton Meldal



Barry Sharpless



Valery Fokin

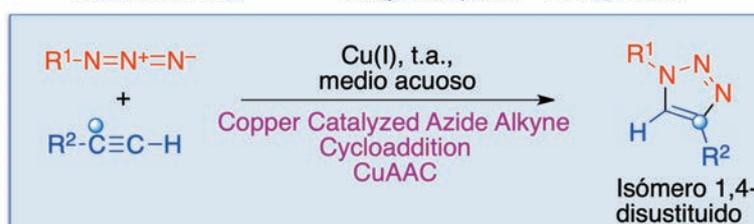


Figura 7. La reacción de Huisgen catalizada por cobre (CuAAC)

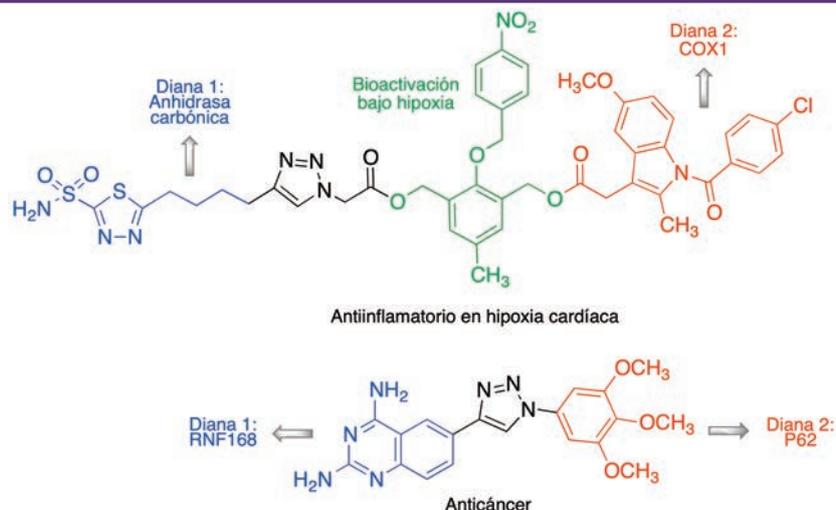


Figura 8. Dos ejemplos recientes de fármacos multidiana construidos mediante la reacción CuAAC

Similarmente, en la figura 9 se esquematiza el funcionamiento de una sonda fluorescente basada en rodamina y que es capaz de marcar selectivamente células de hepatocarcinoma por reconocimiento de receptores de asialoglicoproteínas (ASGPR). Tras la internalización del fármaco por endocitosis, el cambio de pH asociado a su entrada en el lisosoma conduce a la apertura de la rodamina para generar la correspondiente especie fluorescente (18).

La reacción CuAAC ha encontrado también aplicación en la síntesis de fármacos derivados de triazol. Un ejemplo es la rufinamida, un fármaco antiepiléptico de introducción relativamente reciente para el tratamiento del síndrome de Lennox-Gastaut.

Este fármaco ha sido sintetizado recientemente por nuestro grupo en condiciones mecanoquímicas, utilizando un molino de bolas vibratorio para llevar a cabo las tres etapas de la ruta (Figura 10). A partir del bromuro de 2,6-difluorobencilo, se llevaron a cabo una reacción de sustitución nucleofílica en la que se introduce el grupo azida, una cicloadición de Huisgen con propiolato de metilo catalizada por  $\text{Cu}^0$  y una reacción final de amidación (19). Una característica de este método es el empleo de nitruro de calcio como un precursor sólido de amoníaco, que resultó particularmente adecuado para las condiciones mecanoquímicas (20).

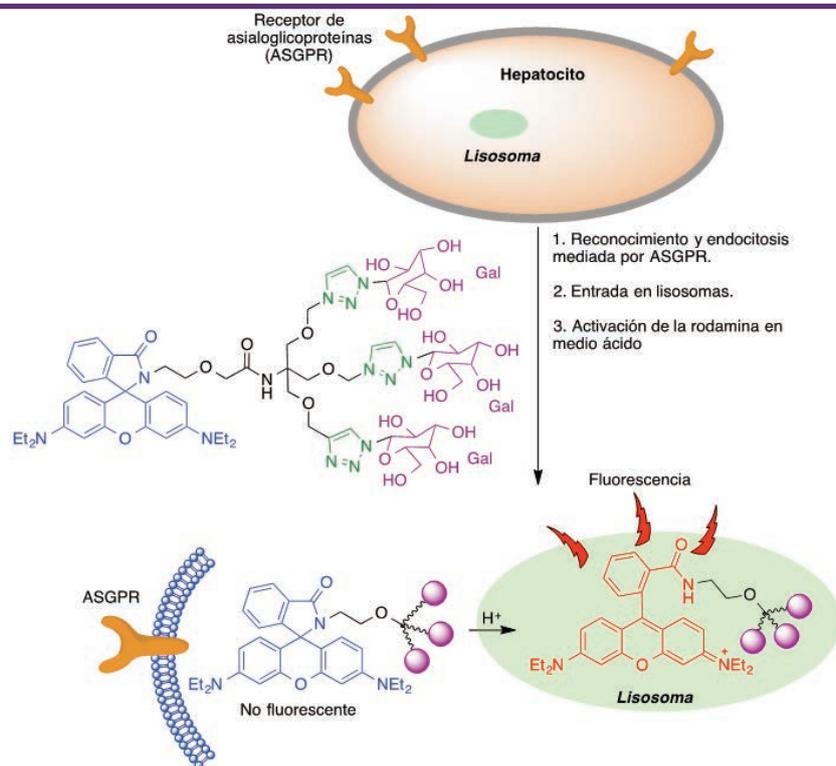


Figura 9. Marcaje selectivo de células de hepatocarcinoma basada en el reconocimiento de receptores de asialoglicoproteínas (ASGPR).

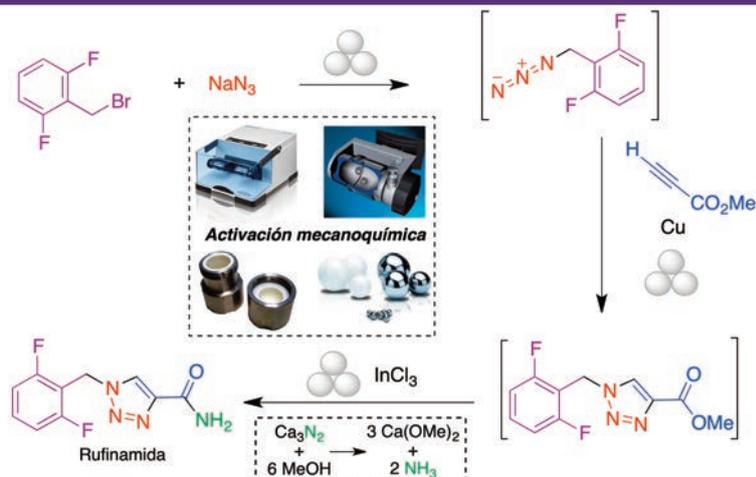


Figura 10. Síntesis mecanoquímica del fármaco antiepiléptico rufinamida

A pesar del éxito de la reacción CuAAC como método de síntesis, la toxicidad del cobre impide utilizar la reacción en la mayor parte de los medios biológicos, además de que estos catalizadores pueden desactivarse por coordinación con diversos grupos funcionales de las biomoléculas. En otras palabras, la reacción CuAAC no es, en principio, bioortogonal.

#### 4. QUÍMICA BIOORTOGONAL. CONCEPTO Y DESARROLLO INICIAL

Una reacción se considera bioortogonal si tiene lugar en condiciones fisiológicas y además no interfiere en las reacciones bioquímicas y por tanto se puede llevar a cabo en medios biológicos

(21,22). Este término parece haber sido introducido por primera vez en la tesis doctoral de George Lemieux, dirigida por Bertozzi (23), y se inspira en el uso del término "ortogonal" en química de péptidos y en otros ámbitos de la química para describir grupos protectores que pueden considerarse independientes por poderse eliminar de forma selectiva, sin afectarse unos a otros (24).

Se plantea, por tanto, el problema de cómo lograr que la cicloadición de Huisgen tenga lugar a temperatura ambiente y en ausencia de catalizadores basados en metales de transición para lograr biocompatibilidad. Una posibilidad es utilizar sustratos que sean inestables y por tanto altamente reactivos, ya que una mayor energía del sustrato de una reacción se traduce en una menor energía de activación del proceso. (Figura 11.A). En el caso de la reacción

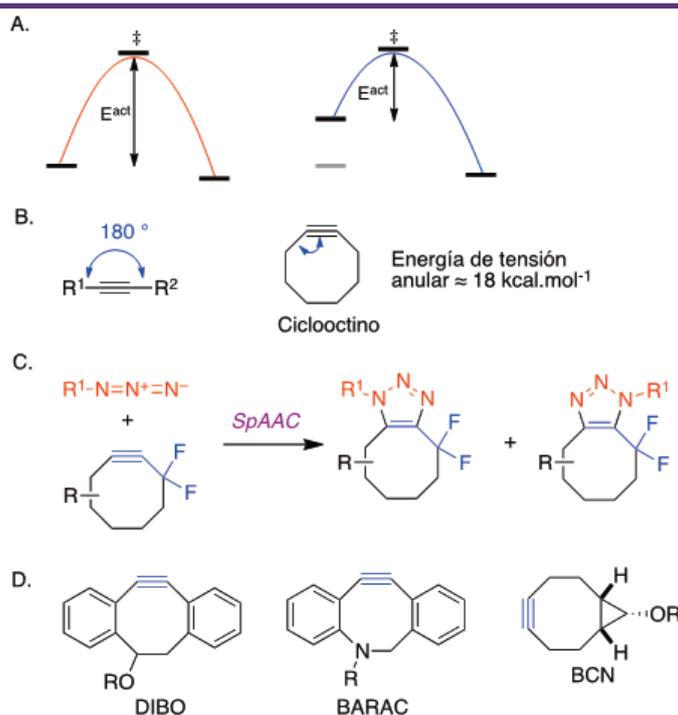


Figura 11. A, B. Incremento de reactividad en alquinos tensionados. C, D. Algunos ciclooctinos habituales en química bioortogonal y su empleo en la cicloadición de Huisgen.

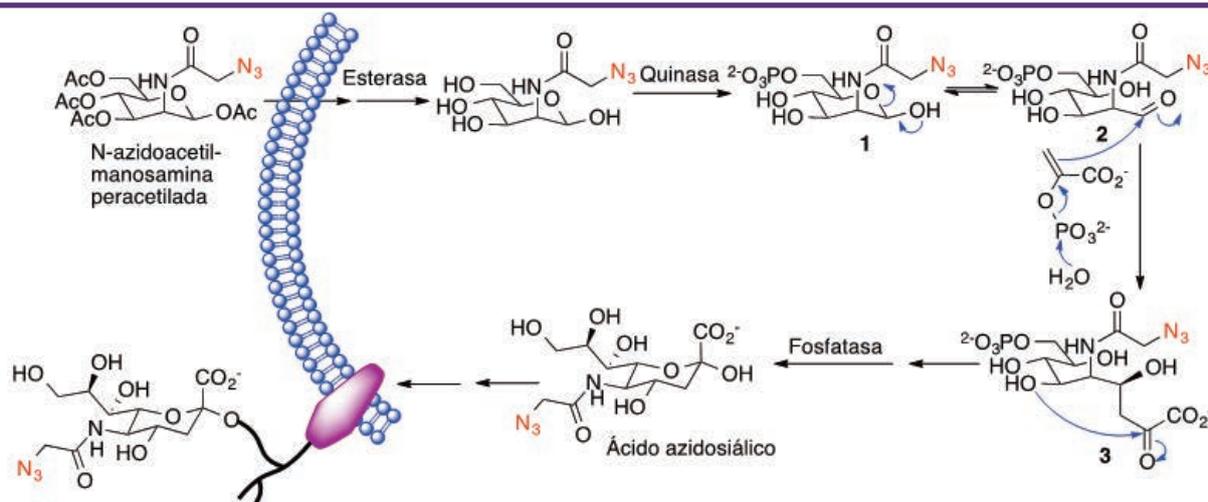


Figura 12. Incorporación de ácido azidosiálico a las membranas celulares tras la administración de N-azidoacetilmanosamina peracetilada

de Huisgen, puede aprovecharse la elevada reactividad asociada a la tensión angular de alquinos cuyo triple enlace pertenece a un carbociclo de ocho miembros, estrategia que ha sido designada como *strain-promoted azide-alkyne 1,3-dipolar cycloaddition* (SpAAC) (Figura 11.B). La reactividad de estos compuestos se incrementa mediante la presencia de dos átomos de flúor, fuertemente aceptores, en la posición vecina al triple enlace. Empleando estos sustratos

altamente reactivos la reacción de cicloadición dipolar tiene lugar en condiciones suaves, aunque, al faltar el efecto director del catalizador de cobre, proporciona los dos regioisómeros posibles (25) (Figura 11C). Otros derivados de ciclooctino utilizados habitualmente en química bioortogonal están resumidos en la figura 11D.

Aunque se conocían ejemplos aislados, debidos a Blomquist (26) y Wittig (27), de reacciones de Huisgen llevadas a cabo a

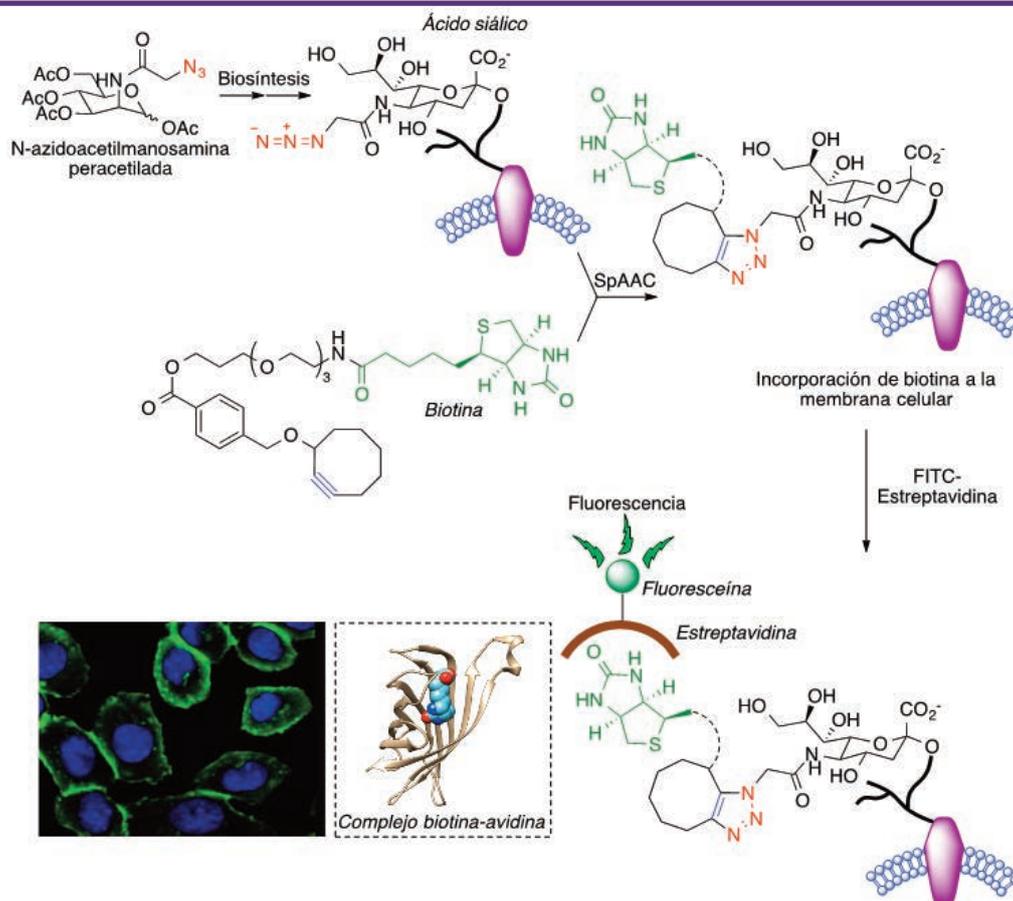


Figura 13. Marcaje fluorescente de células por el método de Bertozzi. La imagen del experimento de tinción celular se ha reproducido, con permiso, de la referencia 30; copyright (2007) National Academy of Sciences. El complejo estreptavidina-biotina se ha generado a partir de pdb 1mk5.

From the Huisgen cycloaddition to bioorthogonal chemistry.

**754**

A commentary on the 2022 Nobel Prize in Chemistry

José Carlos Menéndez Ramos

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº 4(2022) · pp. 747 - 766



partir de ciclooctino sin necesidad de catalizadores metálicos, fue Bertozzi quien sistematizó esta transformación y publicó el primer ejemplo de una reacción 1,3-dipolar de un cicloalquino para el marcaje de una proteína de membrana en un entorno celular. Sus experimentos iniciales se basaron en un descubrimiento previo (28) que indicaba que la ruta biosintética habitual de los ácidos siálicos puede manipularse para lograr la presencia de ácidos siálicos modificados en la membrana celular mediante la administración de análogos de la N-acetilmanosamina, entre ellos la N-azidoacetilmanosamina peracetilada (Ac<sub>4</sub>ManNAz), como se indica en la Figura 12. El intermedio **1**, procedente de la desacetilación del compuesto de partida seguida de fosforilación, es un hemiacetal que está en equilibrio con el hidroxialdehído **2**. La reacción de éste con el fosfoenol piruvato proporciona **3**, cuya ciclación seguida de hidrólisis genera el ácido azidosiálico.

De esta forma se consiguen células portadoras de grupos azida en los glicanos presentes en su superficie y que pueden por tanto reaccionar mediante el proceso SpAAC con un compuesto que contiene un fragmento de ciclooctino y otro de biotina unidos mediante un espaciador. Esta reacción conduce, por tanto, a la incorporación de moléculas de biotina a la membrana celular. Por otra parte, la proteína estreptavidina contiene un profundo bolsillo que presenta una gran afinidad por la biotina, de modo que la adición de estreptavidina marcada con isotiocianato de fluoresceína (FITC) conduce, finalmente, al marcaje de la membrana celular con moléculas de fluoresceína, altamente fluorescentes (29) (Figura 13). Investigaciones posteriores del grupo de Bertozzi permitieron la adaptación de esta metodología al marcaje de membranas celulares en organismos vivos (30,31).

## 5. REACCIONES BIOORTOGONALES DIFERENTES A LA CICLOADICIÓN 1,3-DIPOLAR

Además de la de Huisgen, se han utilizado otras reacciones de cicloadición como base para procesos de bioconjugación. La cicloadición [4 + 2] es la clásica reacción de Diels-Alder, en la que se forma un ciclo de seis eslabones a partir de un compuesto de partida que aporta cuatro átomos al nuevo anillo y que contiene dos dobles enlaces conjugados (*dieno*) y de un segundo compuesto, del que proceden los dos átomos restantes del nuevo anillo y que contiene un doble enlace aislado (denominado *dienófilo*). Aunque existen ejemplos de su uso en reacciones de bioconjugación, tiene el inconveniente de que el aducto puede revertir a los compuestos de partida (Figura 14.A). Una manera de superar este problema es emplear como dieno un sistema de 1,2,4,5-tetrazina, ya que en ese caso el aducto inicialmente generado evoluciona rápidamente por extrusión de una molécula de nitrógeno y no tiene la opción de regenerar los compuestos de partida mediante un mecanismo de tipo retro Diels-Alder (Figura 14.B). La reacción de la tetrazina con alquenos se clasifica como un proceso hetero Diels-Alder de demanda electrónica inversa (iEDDA) porque en ella el dienófilo es de baja densidad electrónica.

Los grupos de Fox (32) y Hilderbrand (33) desarrollaron de forma independiente la aplicación de esta reacción hetero Diels-Alder a la química bioortogonal. Para incrementar la velocidad de reacción, utilizaron como dienófilos derivados del *trans*-cicloocteno, altamente tensionados (Figura 14.C) Esto permite conseguir reacciones muy rápidas en condiciones fisiológicas, que han encontrado una aplicación muy extensa en el campo de la Química Biológica

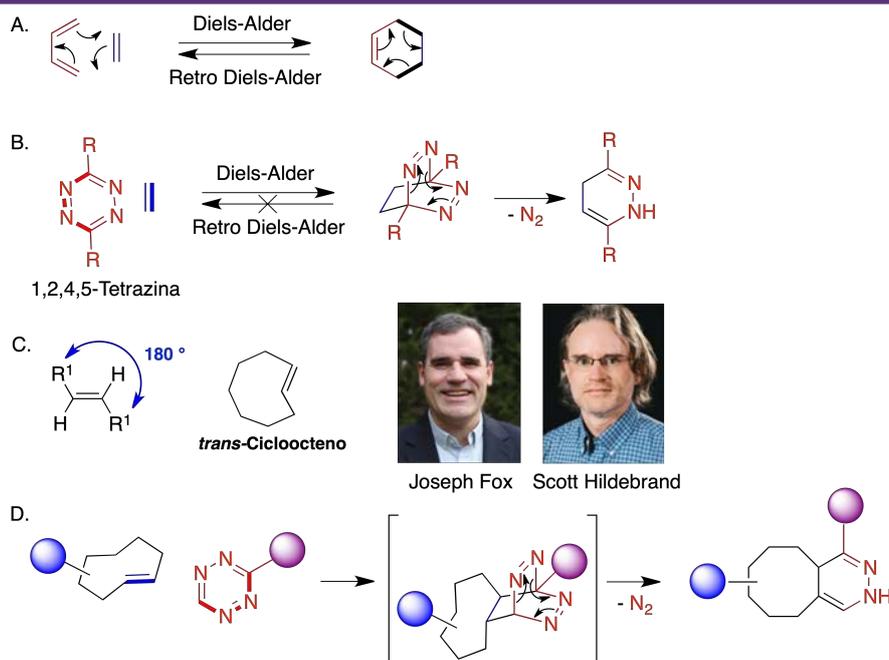


Figura 14. Química bioortogonal basada en reacciones hetero Diels-Alder

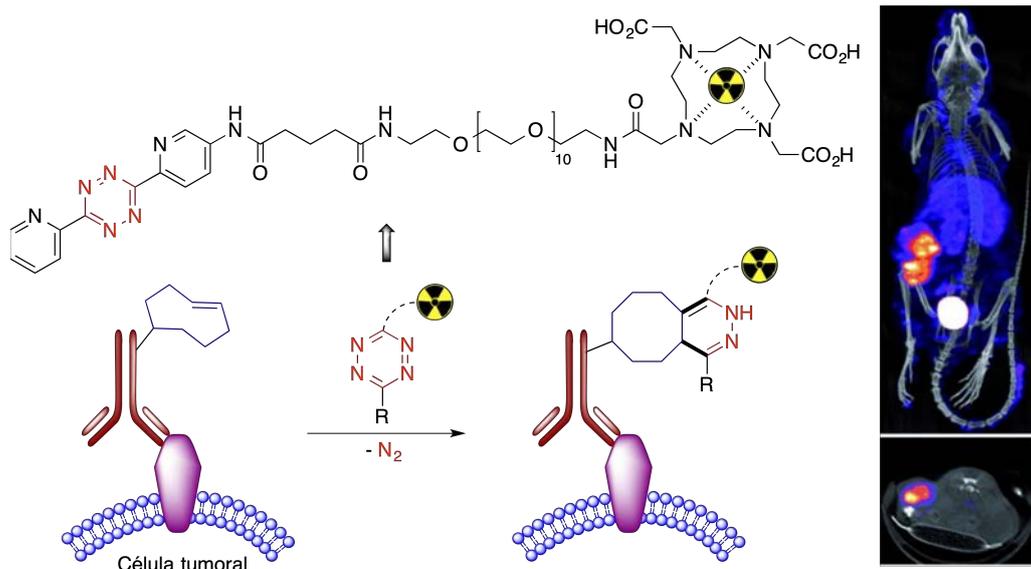


Figura 15. Fijación de radioisótopos en células tumorales por medio de una reacción *click*. La imagen del tumor en el ratón se ha reproducido de la referencia 39, con permiso de John Wiley and Sons.

gracias a que su constante de velocidad ( $k \sim 10^5 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ) es del mismo orden de magnitud que los procesos de asociación entre biomoléculas, lo que permite aplicaciones en las que la química sustituye o complementa a la biología (Figura 14.D).

## 6. ALGUNAS APLICACIONES DE LA QUÍMICA BIOORTOGONAL

Existe un número inmenso de aplicaciones de la química bioortogonal (34,35,36,37,38), que no es posible tratar con profundidad aquí. Se resumen a continuación algunos ejemplos seleccionados.

### 6.1 Distribución selectiva de fármacos

Una estrategia habitual para lograr la distribución selectiva de fármacos hacia tumores se basa en el empleo de anti-

cuerpos dirigidos a antígenos específicos del tumor. De esta manera se puede lograr la fijación al tumor de anticuerpos portadores de sustituyentes de *trans*-ciclooctenilo. Unos días después, para asegurar la distribución completa del anticuerpo, se administra una cantidad equimolecular de un derivado radiomarcado de tetrazina de eliminación rápida, consiguiéndose un eficaz y rápido marcaje de las células tumorales con el radioisótopo (39) (Figura 15).

La diferenciación entre las células normales y las tumorales es esencial para el diagnóstico y el tratamiento del cáncer, por lo que es de gran interés la posibilidad que ofrece la química bioortogonal de llevar a cabo reacciones específicas en la superficie de las células tumorales. Como se comentó previamente, es posible la incorporación de glúcidos sustituidos con grupos azida en los ácidos siálicos presentes en la cubierta glucoproteica de las células, lo que se ha aprovechado para el marcaje selectivo de células

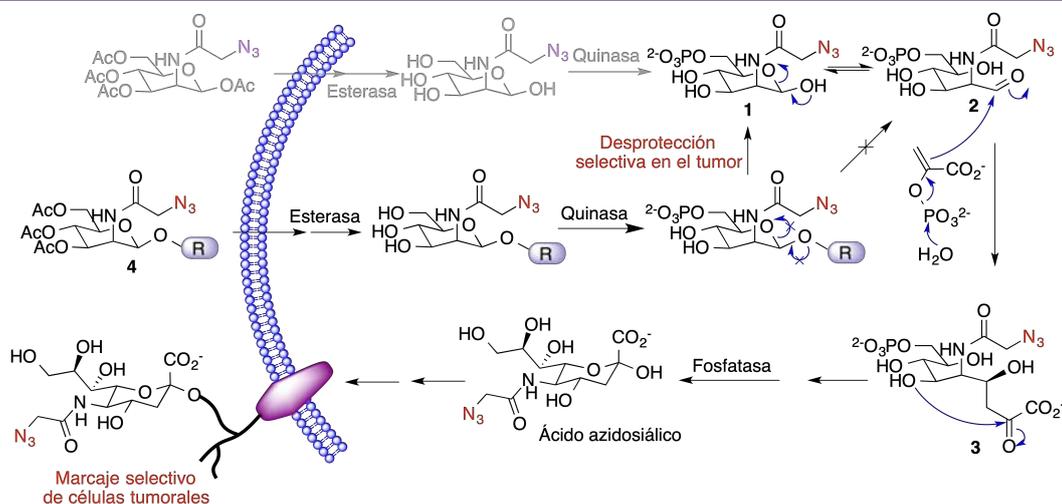


Figura 16. Fundamento bioquímico de la estrategia ATTACK.

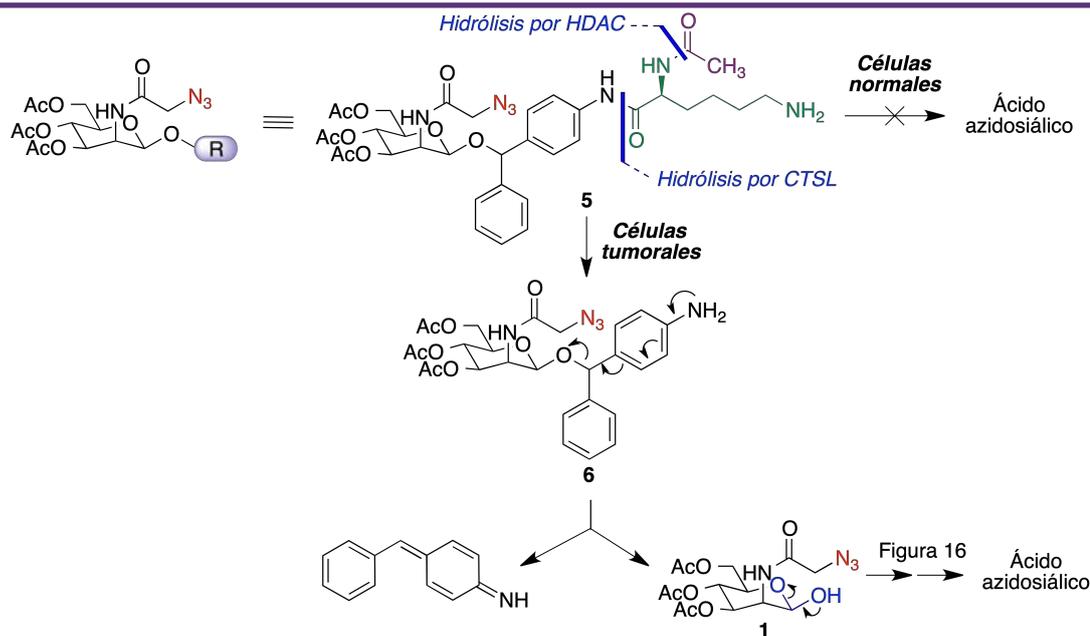


Figura 17. Un precursor de ácido azidosiálico para su activación selectiva en células tumorales

tumorales tanto *in vitro* como *in vivo*. Para ello, se razonó que un análogo de la N-azidoacetilmanosamina peracetilada que tuviera un grupo éter en la posición anomérica (4) no debería ser capaz de incorporarse directamente a la ruta biosintética que conduce al ácido azidosiálico, ya que, al no contener un fragmento de hemiacetal, no sería posible la formación de un grupo aldehído (compuesto 1) a través de su apertura. El objetivo era diseñar un grupo protector de este tipo cuya desprotección dependiera de una enzima sobreexpresada en tumores, de modo que fuera posible la generación del intermedio 1 y, a partir de él, de ácido azidosiálico, que marcaría selectivamente las células tumorales con grupos azida (Figura 16).

Su presencia debería permitir la fijación posterior de compuestos con relevancia terapéutica o diagnóstica mediante reacciones bioortogonales, lo que se describe como la estrategia ATTACK (*active tissue targeting via anchored click chemistry*).

Para esta finalidad, se diseñó un compuesto que contiene en la posición anomérica de la manosa un grupo de benzhidril éter, conectado a su vez a un resto de N-acetil lisina (5). Este compuesto se activa mediante una secuencia de reacciones que se inicia con la desacetilación del fragmento de lisina por una histona desacetilasa (HDAC), seguida por la hidrólisis del enlace amida por la catepsina L (CTSL) para dar el compuesto 6. Ambas enzimas están sobreex-

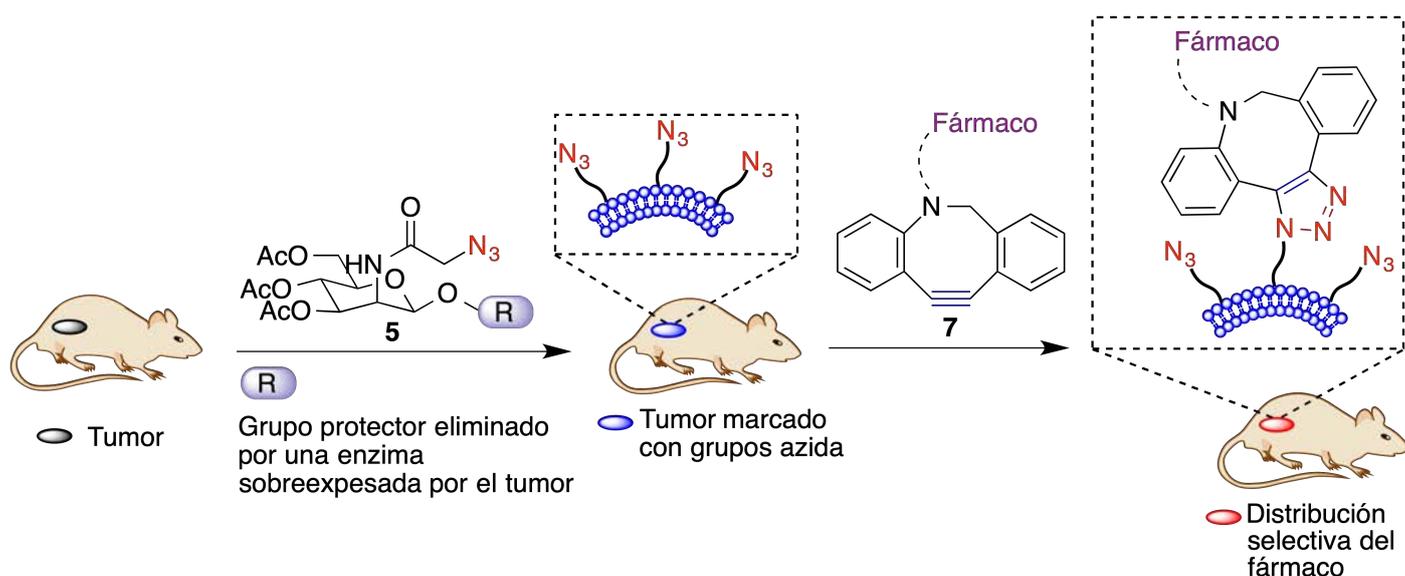


Figura 18. Fijación de fármacos a las membranas de células tumorales mediante la estrategia ATTACK.

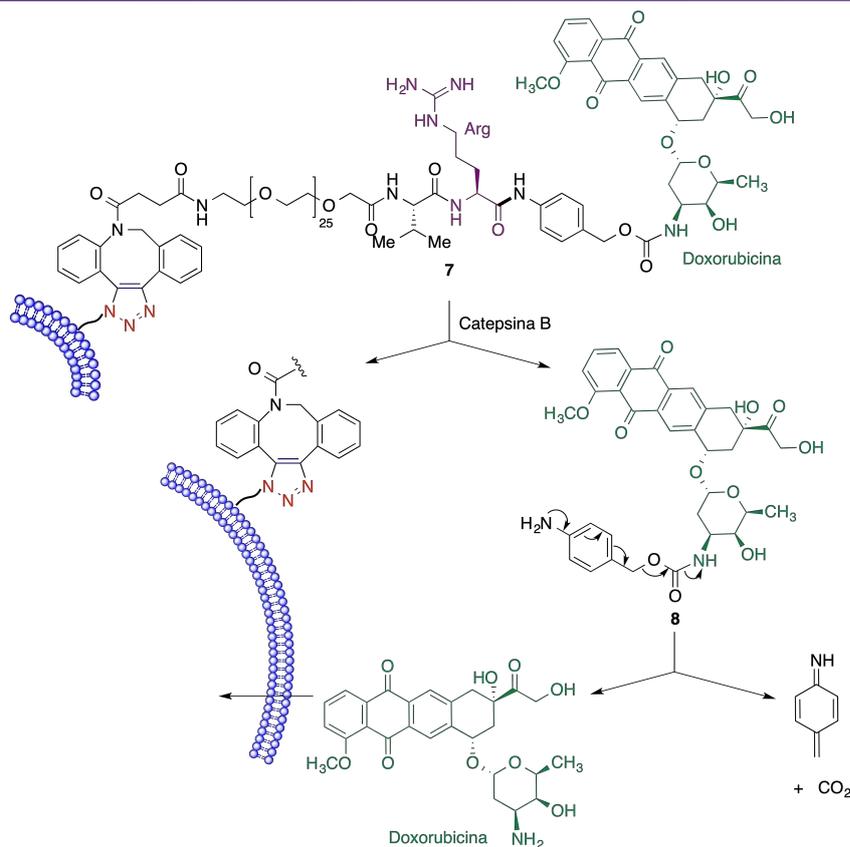


Figura 19. Liberación de doxorubicina junto a una célula tumoral como parte de la estrategia ATTACK

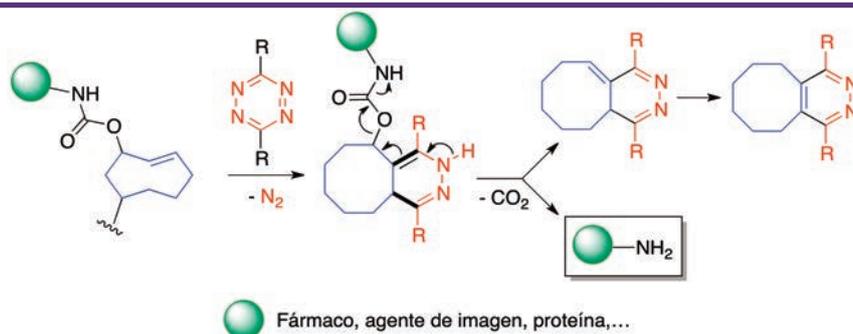
presadas en muchos tumores y el hecho de que la activación requiera dos etapas enzimáticas ayuda a la selectividad hacia el tejido tumoral. Una tercera etapa, no enzimática, implica la descomposición espontánea de **6** que libera el compuesto **1**, citado anteriormente como un intermedio de la biosíntesis del ácido azidosilálico (Figura 17) (40).

Esta técnica puede emplearse para lograr la distribución selectiva de fármacos antitumorales hacia el tejido tumoral, con algunas ventajas frente a la aproximación habitual basada en el empleo de anticuerpos monoclonales:

1. No es necesario identificar un antígeno específico en el tumor.
2. Implica el uso de moléculas pequeñas, mucho más baratas que los anticuerpos y susceptibles de administración oral.
3. Se esquematiza a continuación el proceso utilizado para

conseguir el transporte selectivo de doxorubicina a tumores. La administración del compuesto **5** a ratones en los que se ha implantado un tumor permite la acumulación de grupos azida en las membranas de las células tumorales. Si se administra a continuación el compuesto **7**, que contiene un alquino altamente tensionado y está unido al fármaco que se desea transportar mediante un espaciador, logra a la fijación del fármaco al tumor (Figura 18).

Una vez lograda la fijación selectiva del fármaco a las células tumorales es necesaria su liberación. La proteasa cathepsina B demostró la capacidad de hidrolizar el enlace amida correspondiente al residuo de arginina del espaciador, dando lugar al intermedio **8**. Este, finalmente, se descompone espontáneamente y libera la doxorubicina (Figura 19).



Fármaco, agente de imagen, proteína,...

Figura 20. Carbamatos de trans-3-ciclooctenilo para la liberación de fármacos mediada por una reacción click

## 6.2 Profármacos basados en reacciones click

La inestabilidad química de los productos de reacciones *click* de carbamatos de trans-3-ciclooctenilo (41) proporciona una forma sencilla de liberar compuestos tales como fármacos, agentes de diagnóstico, etc. junto a una diana de interés (Figura 20).

Como un primer ejemplo de la activación selectiva de este tipo de profármacos en el tejido tumoral, se comentará a continuación una estrategia basada en el aprovechamiento del efecto efecto de permeación y retención aumentada (*enhanced permeability and retention*, EPR). Este efecto se debe a las alteraciones del tejido vascular en el entorno de los tumores, ya que la neovascularización generada por el fenómeno de angiogénesis es diferente de la de un tejido sano y se caracteriza por células endoteliales desorganizadas y con grandes fenestraciones, que permiten una mayor entrada y acumulación de nanopartículas en comparación con un tejido sano. En el ejemplo que se va a comentar, estas nanopartículas actúan como activadoras de un profármaco, que puede entrar tanto en el tejido sano como en el tumoral pero solo se activa en este último ya que en el sano no están presentes las nanopartículas (Figura 21).

Las nanopartículas utilizadas son nanotubos de carbono que contienen como sustituyentes anillos de tetrazina, por lo que cuando entran en contacto con los fragmentos de ciclooctenilo de una molécula del profármaco tiene lugar la reacción hetero Diels-Alder para dar el compuesto **9**, que se descompone según el mecanismo que se ha indicado previamente para liberar la doxorubicina (Figura 22).

## 6.3 Síntesis de fármacos en su lugar de acción.

La posibilidad de llevar a cabo reacciones *click* en entornos biológicos, y más concretamente en el interior de cavidades de las proteínas, abre las puertas a un nuevo paradigma en el descubrimiento de fármacos. Se trata de una aproximación basada en fragmentos en la que cada uno de ellos se une a un bolsillo de la proteína y después se conectan mediante una reacción de Huisgen dentro de la propia proteína diana, permitiendo potencialmente un ajuste perfecto a ésta (Figura 23). Cabe esperar que, al utilizar como recipiente de reacción la propia proteína diana, esta estrategia conduzca a compuestos activos de forma más rápida y eficaz que el método alternativo que implica la síntesis convencional en el laboratorio de familias de compuestos para proceder posteriormente a su ensayo frente a la diana.

El trabajo pionero en esta área se debe una vez más a Sharpless, que propuso la técnica de diseño previamente descrita y la aplicó a la búsqueda de inhibidores de la enzima acetilcolinesterasa, una diana muy importante en el tratamiento de la enfermedad de Alzheimer (42,43). Teniendo en cuenta que esta enzima tiene dos sitios principales de unión de inhibidores, se buscó un compuesto que se uniera a ambos. Para ello, se sintetizaron diversos derivados de la tacrina, un inhibidor que se une a una región vecina a la tríada catalítica, y por otra parte una serie de derivados de fenantridinio, que se esperaba tuvieran afinidad por el sitio aniónico periférico de la enzima. En lugar de sintetizar en el laboratorio toda la colección de análogos, se pusieron en contacto con la enzima, en placas de pocillos, todas las combinaciones posibles tacrina-fenantridinio. Se esperaba que para algunas de ellas la disposición espacial y la distancia entre los grupos azida y etinilo, una vez que los sistemas heterocíclicos principales ocuparan sus lugares de unión, permitiera una reacción de Huisgen que generara un inhibidor divalente en el seno de la propia enzima inhibida. De acuerdo con estas expectativas, una de las 83 combinaciones tacrina-fenantridinio estudiadas dio lugar a la formación del compuesto **10**, que resultó ser el inhibidor más potente conocido de la enzima, con un valor de  $CI_{50}$  de 100 femtomolar. Cabe destacar que la reacción de Huisgen llevada a cabo en el seno de la enzima tuvo lugar rápidamente a temperatura ambiente, a pesar de la ausencia de catalizadores de cobre, y dio lugar a un solo regioisómero a causa de las restricciones espaciales impuestas por la enzima. En la figura 24 se incluye también el complejo que forma el compuesto **10** con la acetilcolinesterasa, que muestra la ocupación tanto del sitio de fijación de tacrina como del sitio aniónico periférico (44).

La estrategia de síntesis *in situ* introducida por Sharpless ha sido generalizada por otros investigadores y ha encontrado múltiples aplicaciones en Química Farmacéutica y Química Biológica (45).

De la cicloadición de Huisgen a la química bioortogonal.

Un comentario al premio Nobel de Química de 2022

José Carlos Menéndez Ramos

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. n°4(2022) · pp. 747 - 766

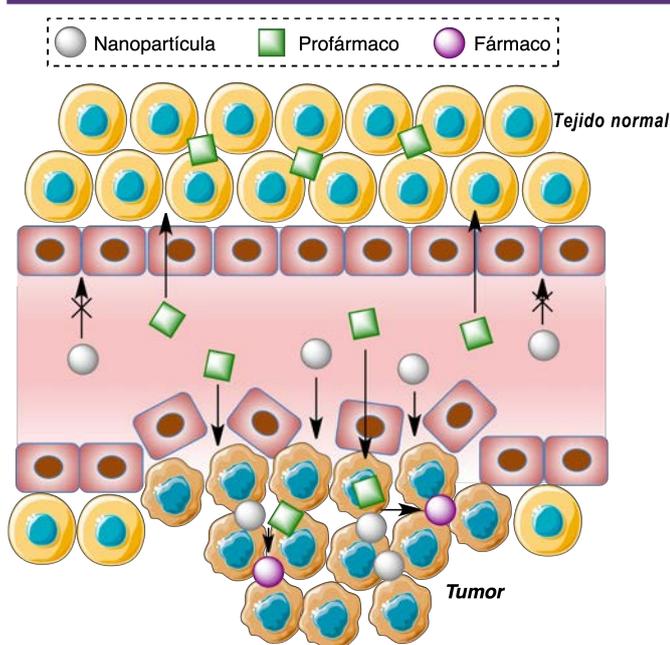


Figura 21. Distribución selectiva de nanopartículas mediada por el efecto EPR y su aplicación a la activación selectiva de profármacos

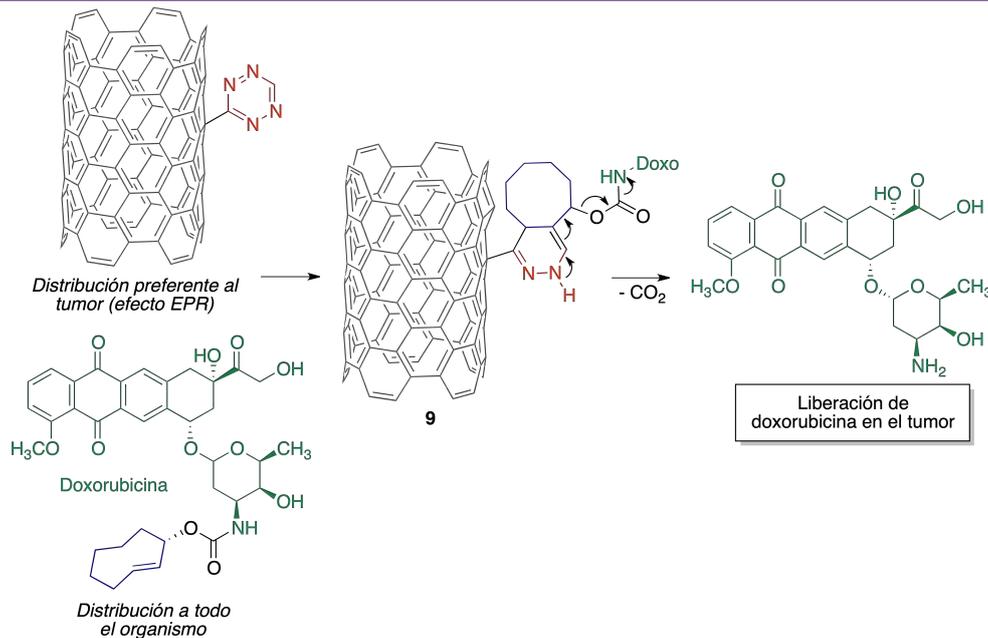


Figura 22. Liberación selectiva de doxorubicina en tumores a partir de un profármaco generado *in situ* mediante una reacción hetero Diels-Alder de nanotubos de carbono portadores de anillos de tetrazina.

Una segunda situación en la que puede ser conveniente llevar a cabo la síntesis de un fármaco dentro del organismo se da cuando la especie con actividad terapéutica es una molécula de gran tamaño, lo que puede traer consigo una baja biodisponibilidad y otros problemas farmacocinéticos. Este es el caso de los fármacos de tipo PROTAC (*proteolysis-targeting chimera*), una estrategia emergente cuya finalidad es la de promover la hidrólisis de una proteína diana marcándola para su degradación por el proteasoma. Los PROTAC son agentes multidiana, diseñados para que presenten afinidad con la diana que se desea degradar y también con una proteína perteneciente a la familia de las ligasas E3, que tienen la capacidad de transferir unidades de ubiquitina a la proteína diana y conseguir así que sea sustrato del proteasoma.

Desde el punto de vista del diseño de fármacos, uno de los defectos de los PROTAC es que son moléculas excesivamente grandes, dada la necesidad de que contengan fragmentos capaces de unirse a dos dianas y además un espaciador. Esto puede traer consigo una baja biodisponibilidad y otros problemas farmacocinéticos. Como alternativa basada en la química bioortogonal, se ha

propuesto la estrategia CLIPTAC (*click-formed proteolysis-targeting chimeras*), consistente en la administración por separado de un ligando de la proteína diana y otro de una ligasa E3, de forma que ambos fragmentos tienen tamaños moleculares más reducidos que el PROTAC completo y atraviesan fácilmente las membranas celulares. Una de estas moléculas contiene un fragmento de *trans*-cicloocteno y la otra uno de tetrazina para que tenga lugar una reacción hetero Diels-Alder que genere el PROTAC de forma intracelular, evitándose los problemas de distribución asociados a su administración como tal (Figura 25).

Esta idea se ha aplicado a la degradación de oncoproteínas como posible base de tratamientos antitumorales. Como ejemplo, se representa en la Figura 26 la estructura de un PROTAC generado *in situ* y capaz de inducir la degradación de la proteína BDR4 (*bromodomain-containing protein 4*). Este PROTAC sirve de enlace entre el complejo E3-E2-ubiquitina y la proteína diana, que de esta forma puede ser ubiquitinilada y por tanto actuar como sustrato del proteasoma, como se esquematiza en la figura 26 (46).

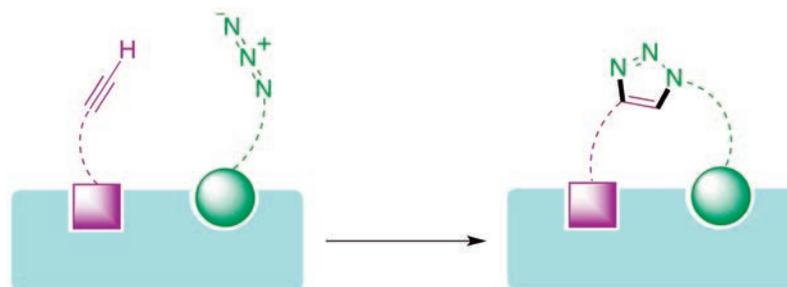


Figura 23. Diseño de fármacos basado en fragmentos que se conectan mediante una reacción *click* dentro de la proteína diana.

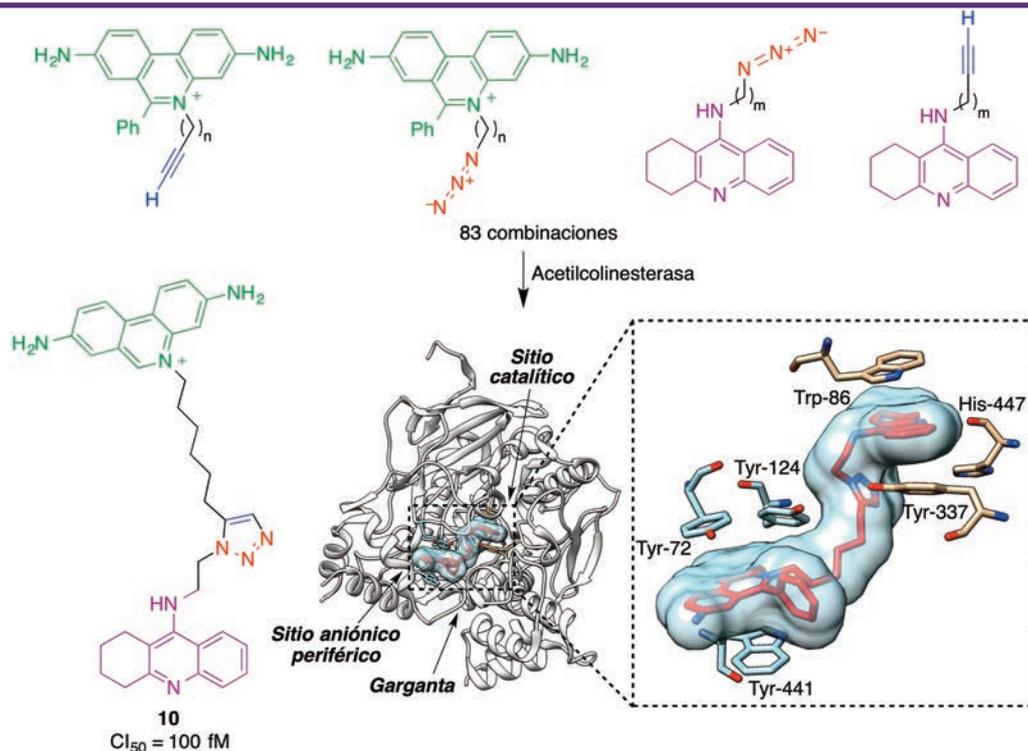


Figura 24. Síntesis de un inhibidor femtomolar de la acetilcolinesterasa (compuesto **10**), llevada a cabo en el seno de la propia enzima. El complejo formado por **10** y la acetilcolinesterasa se ha generado a partir de PDB 1Q83.

#### 6.4 LYTACs: Degradación lisosomal de proteínas

Debido al gran interés actual en la degradación controlada de proteínas como estrategia terapéutica, se están investigando activamente metodologías alternativas al uso del proteasoma para degradar proteínas que se consideren dianas terapéuticas (47). En este contexto, Bertozzi publicó en 2020 sus primeros resultados sobre una técnica a la que ha llamado LYTAC (*Lysosome Targeting Chimeras*) y que se basa en la explotación de los mecanismos lisosomales de degradación de proteínas (48). A diferencia de los PROTACs, que normalmente afectan a proteínas citoplasmáticas, los

LYTACs son capaces de degradar proteínas extracelulares y de membrana, que se estima que constituyen alrededor del 40% del proteoma, y por tanto tienen potencialmente una mayor generalidad como entidades terapéuticas. El proceso de degradación de una proteína extracelular por los lisosomas se inicia con su reconocimiento por receptores de membrana de la familia LTR (*Lysosome-Targeting Receptors*), de los cuales el más extendido es el receptor CI-M6PR (también llamado IGF2R), que reconoce glicoproteínas que terminan en residuos de manosa-6-fosfato y los transfiere a los lisosomas. La estrategia LYTAC consiste en unir covalentemente, por medio de

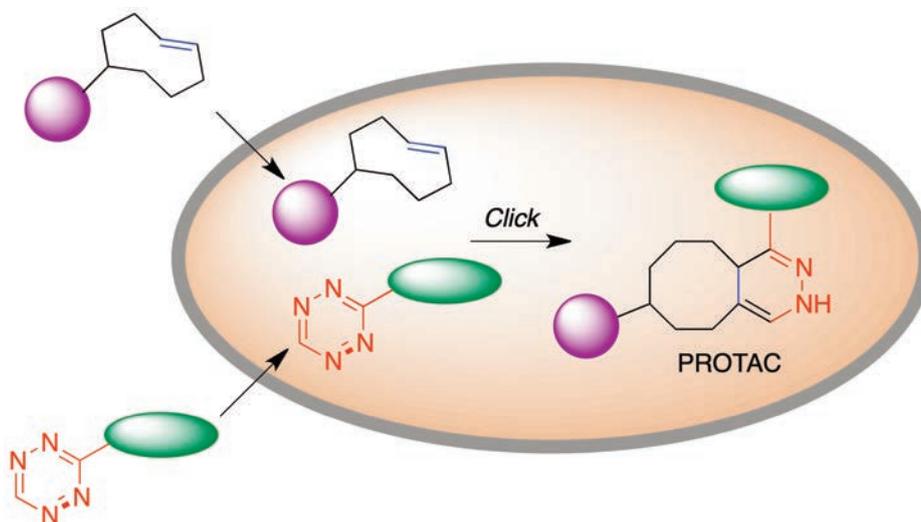


Figura 25. Fundamento de la estrategia CLIPTAC. Generación intracelular de PROTACs

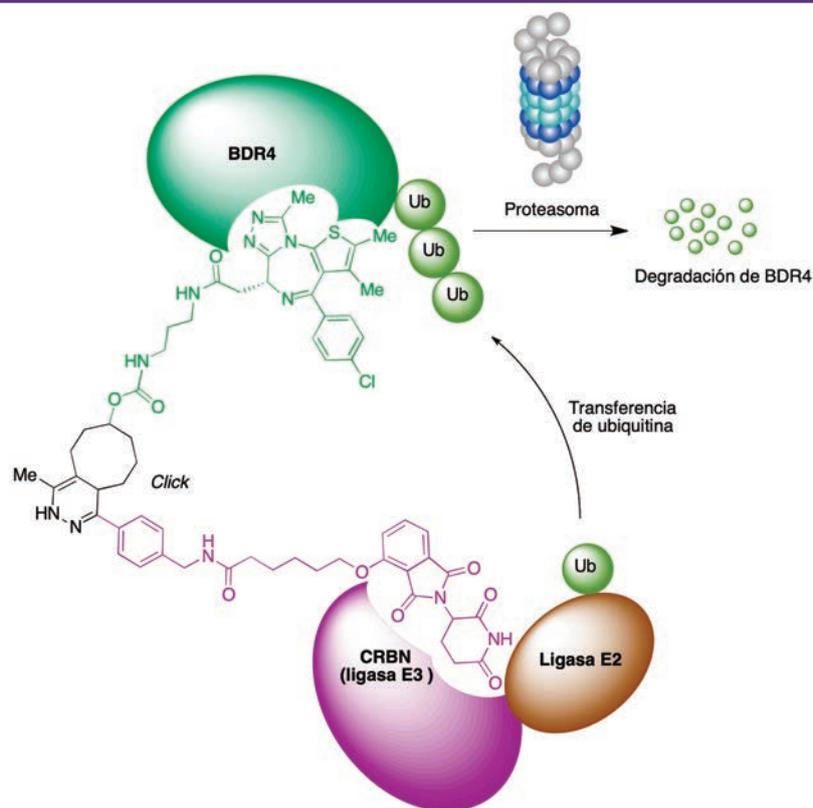


Figura 26. Un ejemplo de CLIPACT, destinado a lograr la degradación de la oncoproteína BDR4

una reacción *click* azida-alquino, un glucolipopéptido que contiene restos de manosa-6-fosfato a un anticuerpo capaz de reconocer la proteína que se desea degradar (Figura 27.A), siendo posible también el uso para este fin de ligandos con naturaleza de moléculas pequeñas.

Una vez que el anticuerpo ha reconocido a la proteína diana y que los fragmentos de manosa-6-fosfato son reconocidos por CI-M6PR, se desencadena un proceso de endocitosis que transfiere todo el conjunto al interior de un lisosoma donde tiene lugar la degradación hidrolítica de la proteína, reciclandose el receptor CI-M6PR (Figura 28).

Aunque los receptores de la familia LTR están ampliamente distribuidos en el organismo, algunas de estas proteínas se

expresan selectivamente en determinados tejidos, lo que hace posible diseñar LYTACs dirigidos selectivamente a un tejido determinado. Por ejemplo, Bertozzi ha utilizado ASGPR, una glicoproteína transmembrana expresada específicamente en el hígado, como receptor de LYTACs (49).

### 6.5 Proteómica química *in situ*

La proteómica química se basa en el uso de moléculas orgánicas como sondas para investigar la distribución y función de las proteínas, proporcionar información sobre las interacciones entre éstas y validar nuevas dianas farmacológicas. Esta nueva ciencia es actualmente esencial en el descubrimiento y desarrollo de fármacos (50,51,52,53).

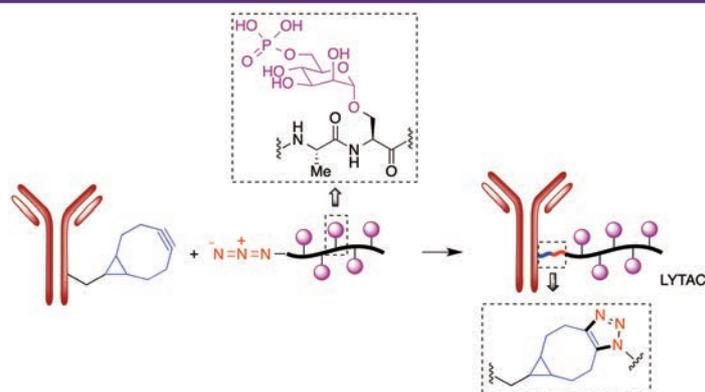


Figura 27. Unión covalente de un glucolipopéptido portador de residuos de manosa-6-fosfato a un anticuerpo por medio de una reacción *click*

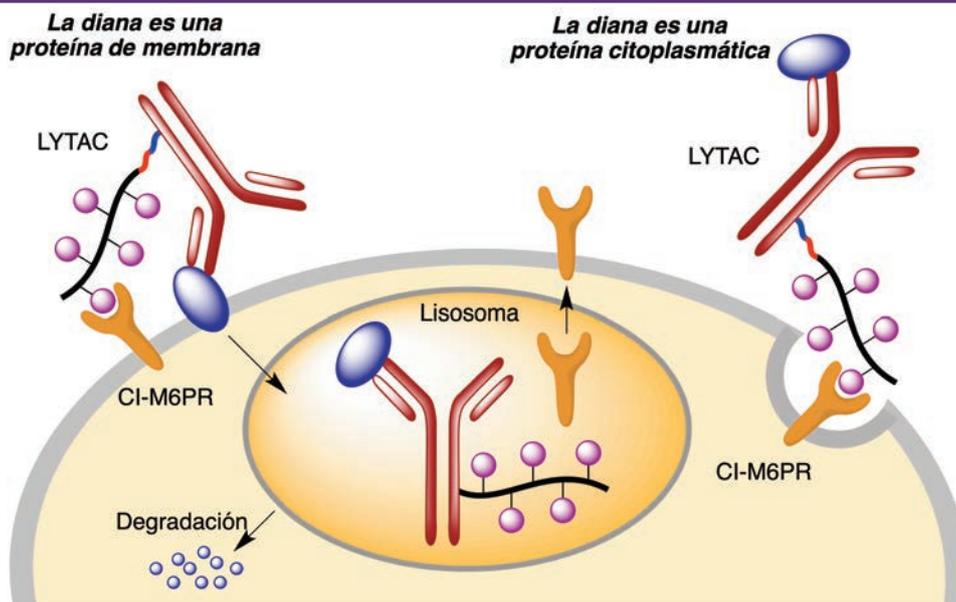


Figura 28. La estrategia LYTAC para la degradación lisosómica de proteínas

La formación de imágenes basada en fluorescencia permite la visualización no invasiva de las biomoléculas para investigar sus funciones. Por este motivo, el descubrimiento de la proteína verde fluorescente, premiado con el premio Nobel de Química en 2008 (54) supuso una revolución en muchas áreas de la biología. El empleo de la química bioortogonal ha permitido llevar a cabo estudios celulares de la interacción entre moléculas pequeñas y proteínas (55). En una aproximación a la localización de la diana intracelular de un fármaco, se puede introducir en un cultivo celular

un análogo de dicho fármaco que se haya modificado mediante la introducción de un fragmento de *trans*-cicloocteno en una parte de la molécula que, de acuerdo con estudios de relación estructura-actividad previos, no sea esencial para la interacción con su diana. De entre los miles de proteínas presentes en la superficie o el interior de la célula y que forman el proteoma de ésta, este compuesto debe unirse selectivamente a su diana. Si a continuación se adiciona un derivado de tetrazina, dotado de fluorescencia para facilitar la monitorización del proceso, debe tener lugar una reacción hetero Diels-

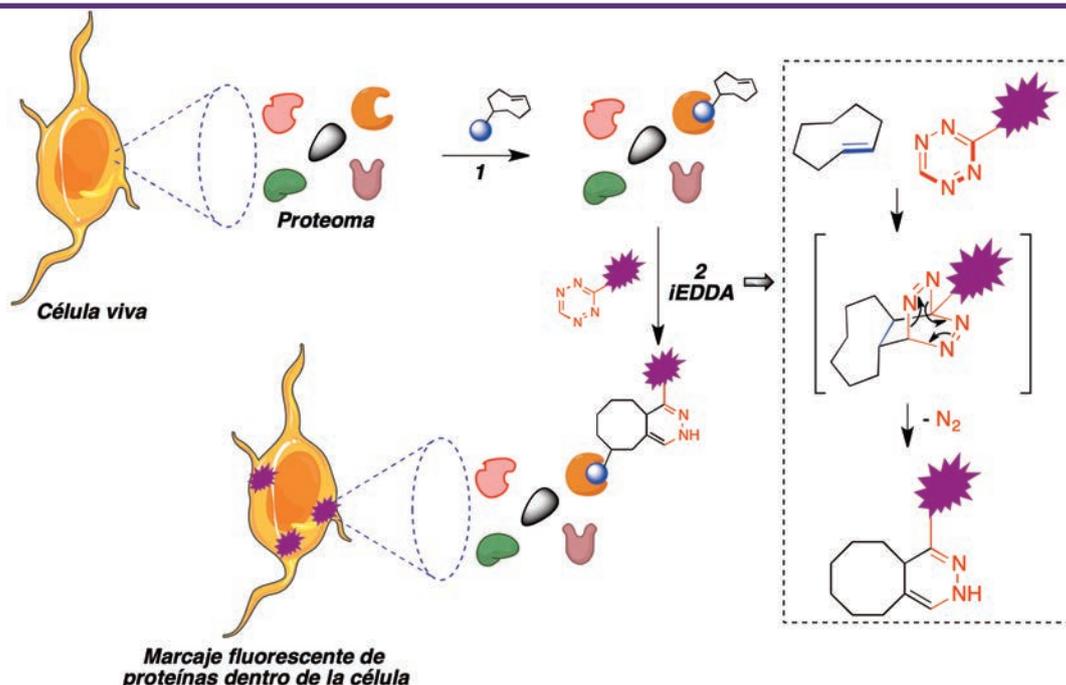


Figura 29. Localización de la diana intracelular de un fármaco basada en su marcaje covalente con derivados fluorescentes de tetrazina. Etapa 1: Unión a su diana de un fármaco, al que se ha incorporado un resto de *trans*-ciclooctenilo. Etapa 2: Marcaje fluorescente de la proteína unida al fármaco por medio de una reacción hetero Diels-Alder del fragmento de *trans*-ciclohexeno con un derivado fluorescente de 1,2,4,5-tetrazina.

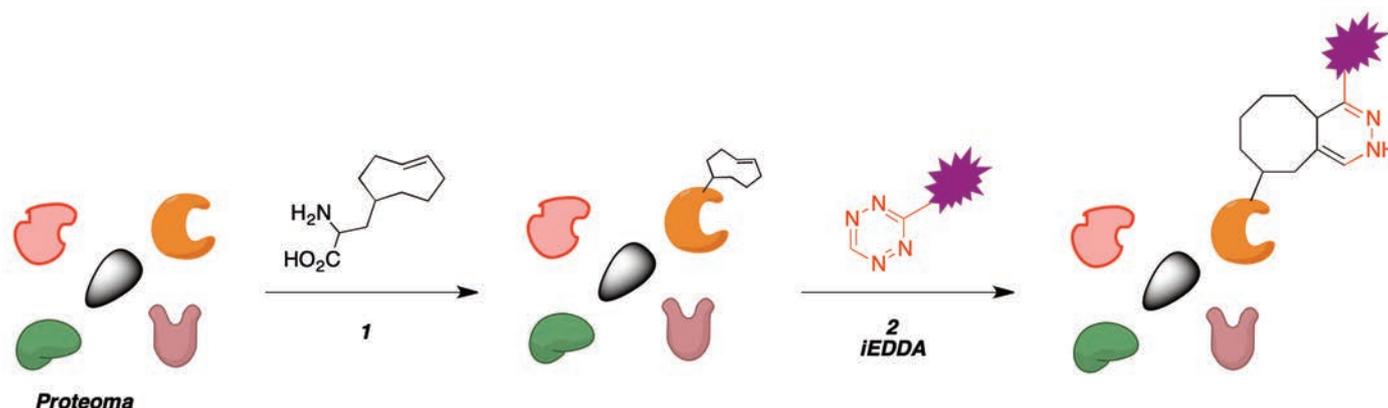


Figura 30. Marcaje fluorescente de una proteína para la que no se conocen ligandos

Alder en la que se genera una unión covalente entre el fármaco y el fragmento de tetrazina. Puesto que el fármaco, a su vez, se encuentra unido a su diana, el proceso induce la emisión fluorescente por parte de ésta (Figura 29). Este método ha permitido la localización intracelular de la diana de un elevado número de fármacos, incluyendo el taxol, olaparib, foretinib y dasatinib, entre otros muchos (56).

Esta metodología permite también el marcaje fluorescente de proteínas para las que no se dispone de ligandos conocidos. En una primera etapa, se procede a la modificación de la proteína que se desea estudiar mediante la incorporación de un aminoácido no natural portador de un resto de *trans*-ciclooctenilo, utilizando técnicas de genética molecular. En una segunda etapa, la reacción del fragmento de *trans*-cicloocteno con un derivado fluorescente de 1,2,4,5-tetrazina conduce al marcaje covalente de la proteína (Figura 30).

## 7. CONCLUSIONES

Los avances de la ciencia no se deben solo a la realización de nuevos descubrimientos, sino también a la aparición de nuevos conceptos y marcos de referencia mentales que estimulen nuevos planteamientos y permitan abrir caminos previamente inexplorados. En este contexto, el Nobel de Química de 2022 ha premiado la invención y desarrollo de los conceptos de química *click* y química bioortogonal. La relevancia de los logros de los galardonados se pone de manifiesto en los grandes avances a los que han conducido en todos los campos de la química y áreas relacionadas.

## 8. REFERENCIAS

1. Fernholm A. Their functional chemistry works wonders. Popular science background on the Nobel Prize in Chemistry 2022. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2022/popular-information>.
2. Ramström O. Click chemistry and bioorthogonal chemistry. Scientific background on the Nobel Prize in Chemistry 2022. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2022/advanced-information>.
3. Kolb HC, Finn MG, Sharpless KB. Click chemistry: Diverse chemical function from a few good reactions. *Angew Chem Int Ed* 2001; 40: 2004-2021.
4. <https://www.nobelprize.org/prizes/chemistry/2001/sharpless/lecture/>
5. Breugst M, Reissig H-U. The Huisgen reaction: Milestones of the 1,3-dipolar cycloaddition. *Angew Chem Int Ed* 2020; 59: 12293-12307.
6. Beckmann E. Zur kenntniss der aldoxime. VII. *Ber Dtsch Chem Ges* 1890; 23: 3331-3341.
7. Michael A. Ueber die einwirkung von diazobenzolimid auf acetylendicarbonsäuremethylester. *J Prakt Chem* 1893; 48: 94-95.
8. Dimroth O, Fester G. Triazol und tetrazol aus stickstoffwasserstoffsäure. *Ber Dtsch Chem Ges* 1910; 43: 2219-2223.
9. Huisgen R. 1,3-Dipolar cycloadditions. Past and future. *Angew Chem Int Ed Engl* 1963; 2: 565-598.
10. Tomøe CW, Christensen C, Meldal M. Peptidotriazoles on solid phase: [1,2,3]-triazoles by regioselective copper(I)-catalyzed 1,3-dipolar cycloadditions of terminal alkynes to azides. *J Org Chem* 2002; 67: 3057-3064.
11. Rostovtsev W, Green LG, Fokin VV, Sharpless KB. A stepwise Huisgen cycloaddition process: copper(I) catalyzed regioselective ligation of azides and terminal alkynes. *Angew Chem Int Ed* 2002; 41: 2596-2599.
12. Meldal M, Tornøe CW. Cu-catalyzed azide-alkyne cycloaddition. *Chem Rev* 2008; 108: 2952-3015.
13. Hein JE, Fokin VV. Copper-catalyzed azide-alkyne cycloaddition (CuAAC) and beyond: New reactivity of copper(I) acetylides. *Chem Soc Rev* 2010; 39: 1302-1315.
14. Liang LY, Astruc D. The copper(I)-catalyzed alkyne-azide cycloaddition (CuAAC) "click" reaction and its applications. An overview. *Coord Chem Rev* 2011; 255: 2933-2945.

From the Huisgen cycloaddition to bioorthogonal chemistry.

A commentary on the 2022 Nobel Prize in Chemistry

José Carlos Menéndez Ramos

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº 4(2022) · pp. 747 - 766



15. Haldon E, Nicasio MC, Pérez PJ. Copper-catalysed azide-alkyne cycloadditions (CuAAC): An update. *Org Biomol Chem* 2015; 13: 9528–9550.
16. Zhou W, Wang C, Liu Z, Gou S. Hypoxia-activated prodrugs with dual COX-2/CA Inhibitory effects on attenuating cardiac inflammation under hypoxia. *J Med Chem* 2022; 65: 13436-13451.
17. Wang FC, Peng D, Ren T-T, Liu SP, Du J-R, Chen Z-H, Zhang T-T, Gu X, Li M, Cao S-L, Xu X. A 1,2,3-triazole derivative of quinazoline exhibits antitumor activity by tethering RNF168 to SQSTM1/P62. *J Med Chem* 2022; 65: 15028–15047.
18. Hu W, Chen Z, Wang M, Luo T, Wang J. Design, synthesis and evaluation of HepDirect fluorescence probes mediated by asialoglycoprotein receptor. *Dyes and Pigments* 2018; 159: 471-478.
19. Gómez-Carpintero C, Cabrero C, Sánchez JD, González JF, Menéndez JC. A sequential multistep process for the fully mechanochemical, one-pot synthesis of the antiepileptic drug rufinamide. *Green Chem Lett Rev* 2022; 15: 639-646
20. Gómez-Carpintero C, Sánchez JD, González JF, Menéndez JC. Mechanochemical synthesis of primary amides. *J Org Chem* 2021; 86: 14232-14237
21. Sletten EM, Bertozzi CR. Bioorthogonal chemistry: fishing for selectivity in a sea of functionality. *Angew Chem Int Ed Engl.* 2009; 48: 6974-6998.
22. Avendaño C. Química bioortogonal. Real Academia Nacional de Farmacia, Monografía 34. Madrid, 2012.
23. Lemieux GA. Modulating cell surface immunoreactivity and cellular targeting of diagnostic probes using bio-orthogonal chemistry. PhD Thesis, University of California, Berkeley, 2002.
24. Kocienski PJ. Protecting groups, 3<sup>a</sup> Ed. Thieme Verlag, 2005.
25. Agard NJ, Baskin JM, Prescher JA, Lo A, Bertozzi CR. A comparative study of bioorthogonal reactions with azides. *ACS Chem Biol* 2006, 1, 644–648.
26. Blomquist AT, Liu LH. Many-membered carbon rings. VII. Cyclooctyne. *J Am Chem Soc* 1953; 75: 2153-2154.
27. Wittig G, Krebs A. Zur existenz niedergliedriger cycloalkine, I. *Chem Ber* 1961; 94: 3260-3275.
28. Mahal LK, Yarema KJ, Bertozzi CR. Engineering chemical reactivity on cell surfaces through oligosaccharide biosynthesis. *Science* 1997; 276: 1125–1128.
29. Agard NJ, Prescher JA, Bertozzi CR. A strain-promoted [3 + 2] azide—alkyne cycloaddition for covalent modification of biomolecules in living systems. *J Am Chem Soc* 2004; 126: 15046-15047.
30. Baskin JM, Prescher JA, Laughlin ST, Agard NJ, Chang PV, Miller IA, Lo A, Codelli JA, Bertozzi CR. Copper-free click chemistry for dynamic in vivo imaging. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 16793-16797.
31. Laughlin ST, Baskin JM, Amacher SL, Bertozzi CR. In vivo imaging of membrane-associated glycans in developing zebrafish. *Science* 2008; 320: 664-667.
32. Blackman ML, Royzen M, Fox JM. Tetrazine ligation: fast bioconjugation based on inverse-electron-demand Diels-Alder reactivity. *J Am Chem Soc* 2008; 130: 13518-13519.
33. Devaraj NK, Weissleder R, Hilderbrand SA. Tetrazine-based cycloadditions: application to pretargeted live cell imaging. *Bioconjug Chem* 2008; 19: 2297-2299.
34. Devaraj NK. The future of bioorthogonal chemistry *ACS Cent Sci* 2018; 4: 952–959.
35. Scinto SL, Bilodeau DA, Hincapie R, Lee W, Nguyen SS, Xu M, am Ende CW, Finn MG, Lang K, Lin Q, Pezacki JP, Prescher JA, Robillard MS, Fox JM. Bioorthogonal chemistry. *Nat Rev Primers* 2021; 1: 30.
36. Bird RE, Lemmel SA, Yu X, Zhou QA. Bioorthogonal chemistry and its applications. *Bioconjug Chem* 2021; 32: 2457–2479.
37. Taiariol L, Chaix C, Farre C, Moreau E. Click and bioorthogonal chemistry: the future of active targeting of nanoparticles for nanomedicines? *Chem Rev* 2022; 122: 340–384.
38. Wu D, Yang K, Zhang Z, Feng Y, Rao L, Chen X, Yu G. Metal-free bioorthogonal click chemistry in cancer theranostic. *Chem Soc Rev* 2022; 51: 1336-1376.
39. Rossin R, Verkerk PR, van den Bosch SM, Vulders RCM, Verel I, Lub J, Robillard MS. In vivo chemistry for pretargeted tumor imaging in live mice. *Angew Chem Int Ed* 2010; 49: 3375–3378.
40. Wang H, Wang R, Cai K, He H, Liu Y, Yen J, Wang Z, Xu M, Sun Y, Zhou X, Yin Q, Tang L, Dobrucki IT, 5, Dobrucki LW, Chaney EJ, Boppart SA, Fan TM, Lezmi S, ChenX, Yin L, Cheng J. Selective in vivo metabolic cell-labeling-mediated cancer targeting. *Nat Chem Biol* 2017; 13: 415–424.
41. Versteegen RM, Rossin R, ten HoeveW, Janssen HM, Robillard RS. Click to release: instantaneous doxorubicin elimination upon tetrazine ligation. *Angew Chem Int Ed* 2013; 52: 14112–14116
42. Lewis WG, Green LG, Grynspan F, Radic Z, Carlier PR, Taylor P, Finn MG, Sharpless KB. Click chemistry in situ: Acetylcholinesterase as a reaction vessel for the selective assembly of a femtomolar inhibitor from an array of building blocks. *Angew Chem Int Ed* 2002; 41: 1053-1057.
43. Bourne Y, Sharpless KB, Taylor P, Marchot P. Steric and dynamic parameters influencing in situ cycloadditions to form triazole inhibitors with crystalline acetylcholinesterase. *J Am Chem Soc* 2016; 138: 1611–1621.
44. Bourne Y, Kolb HC, Radic Z, Sharpless KB, Taylor P, Marchot P. Freeze-frame inhibitor captures acetylcholinesterase in a unique conformation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004; 101: 1449-1454.
45. Agnew HD, Coppock MB, Idso MN, Lai BT, Liang JX, McCarthy-Torrens AM, Warren CM, Heath JR. Protein-catalyzed capture agents. *Chem Rev* 2019; 119: 9950-9970.
46. Lebraud H, Wright DJ, Johnson CN, Heightman TD. Protein degradation by in-cell self-assembly of proteolysis targeting chimeras. *ACS Cent Sci* 2016; 2: 927–934.
47. Cores A, Villacampa M. PROTAC: Redirigiendo los sistemas de degradación de proteínas a nuevos sustratos. *An Real Acad Farm* 2022, 88: 45-59.



48. Banik SM, Pedram K, Wisnovsky S, Ahn G, Riley NM, Bertozzi CR. Lysosome-targeting chimaeras for degradation of extracellular proteins. *Nature* 2020; 584:291-297.
49. Ahn G, Banik SM, Miller CL, Riley NM, Cochran JR, Bertozzi CR. LYTACs that engage the asialoglycoprotein receptor for targeted protein degradation. *Nat Chem Biol* 2021; 17: 937–946.
50. Doyle SK, Pop MS, Evans HL, Koehler AN. Advances in discovering small molecules to probe protein function in a systems context. *Curr Opin Chem Biol* 2016; 30: 28–36.
51. Garbaccio MR, Parmee ER. The impact of chemical probes in drug discovery: A pharmaceutical industry perspective. *Cell Chem Biol* 2016; 23: 11-17.
52. Jones LH, Neubert H. Clinical chemoproteomics - Opportunities and obstacles. *Sci Transl Med* 2017; 9: eaaf7951.
53. Chen X, Wang Y, Ma N, Tian J, Shao Y, Zhu B, Wong YK, Liang Z, Zou C, Wang J. Target identification of natural medicine with chemical proteomics approach: probe synthesis, target fishing and protein identification. *Sig Transduct Target Ther* 2020; 5: 72.
54. Tsien RY. Constructing and exploiting the fluorescent protein paintbox (Nobel lecture). *Angew Chem Int Ed* 2009; 48: 5612–5626.
55. Cañeque T, Müller S, Rodríguez R. Visualizing biologically active small molecules in cells using click chemistry. *Nat Rev Chem* 2018; 1: 201-215.
56. Kim YR, Kim YH, Kim SW, Lee YJ, Chae DE, Kim KA, Lee ZW, Kim ND, Choi JS, Choi IS, Lee KB. A bioorthogonal approach for imaging the binding between dasatinib and its target proteins inside living cells. *Chem Commun* 2016; 52: 11764–11767.

Si desea citar nuestro artículo:

**De la cicloadición de Huisgen a la química bioortogonal.  
Un comentario al premio Nobel de Química de 2022**

José Carlos Menéndez Ramos  
An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº4 (2022) · pp. 747 - 766  
DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.04.06>

**From the Huisgen cycloaddition to bioorthogonal chemistry.**

**766**

**A commentary on the 2022 Nobel Prize in Chemistry**

José Carlos Menéndez Ramos

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº 4(2022) · pp. 747 - 766

# FÁRMACOS DE NUEVA APROBACIÓN NEWLY APPROVED DRUGS

## FÁRMACOS NOVEDOSOS AUTORIZADOS RECIENTEMENTE POR EMA Y FDA (4º TRIMESTRE DE 2022)

NOVEL DRUGS RECENTLY AUTHORIZED BY EMA AND FDA (Q4, 2022)

**Santiago Cuéllar Rodríguez**

Real Academia Nacional de Farmacia

**corresponding author:** santiago.cuellar.rodriguez@gmail.com

### NOTICIAS

#### EMA (EUROPEAN MEDICINES AGENCY)

(A) TRACTO ALIMENTARIO Y METABOLISMO: Fosdenopterina (Nulibry®): deficiencia de cofactor de molibdeno. Maralixibat (Liventcity®): prurito colestático. (H) PREPARACIONES HORMONALES SISTÉMICAS: Abaloparatida (Eladynos®): osteoporosis. (J) ANTIINFECCIOSOS SISTÉMICOS: Nirsevimab (Beyfortus®): virus respiratorio sincitial. Vacuna COVID-19 recombinante (VidPrevtyn Beta®): covid-19. Vacuna DENGUE Tetravalente (Qdenga®): dengue. Maribavir (Liventcity®): citomegalovirus. (L) AGENTES ANTINEOPLÁSICOS E INMUNOMODULADORES: Voclosporina (Lupkynis®): nefritis lúpica. Tabelecleucel (Ebvallo®): enfermedad linfoproliferativa postrasplante. Sutimlimab (Enjaymo®): anemia hemolítica por crioglobulinas. (R) SISTEMA RESPIRATORIO: Tezepelumab (Tezspire®): asma. (V) VARIOS: Gozetotida (Locametz®): diagnóstico del cáncer de próstata.

#### FDA (U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION)

(A) TRACTO ALIMENTARIO Y METABOLISMO: Teplizumab (Tziel®): diabetes mellitus tipo 1. Microbiota fecal viva (Rebyota®): profilaxis de la recurrencia de Clostridioides difficile. (B) SANGRE Y SISTEMA HEMATOPOYÉTICO: Etranacogene dezaparvovec (Hemgenix®): hemofilia. Betibeglogene autotemcel (Zynteglo®): talasemia beta. (L) AGENTES ANTINEOPLÁSICOS E INMUNOMODULADORES: Nadofaragene Firadenovec (Adstiladrin®): cáncer de vejiga. Tremelimumab (Imjudo®): cáncer hepatocelular. Mirvetuximab soravtansina (Elahere®): cáncer de ovario. Olutasidenib (Rezlidhia®): leucemia mieloide aguda. Adagrasib (Krazati®): cáncer de pulmón. Futibatinib (Lytgobi®): colangiocarcinoma intrahepático. (N) SISTEMA NERVIOSO: Taurursodiol/Fenilbutirato (Relyvrio®): esclerosis lateral amiotrófica (ELA). Elivaldogene autotemcel (Skysona®): adrenoleucodistrofia cerebral. Ublituximab (Briumvi®): esclerosis múltiple. (P) (S) ÓRGANOS SENSORIALES: Omidenedapag isopropilo (Omlonti®): glaucoma. (V) VARIOS: Tiosulfato sódico (Pedmark®): antídoto del cisplatino. Gadopicolenol (Elucirem®): diagnóstico por imagen de RMN. Xenón [Xe-129] hiperpolarizado (Xenoview®): diagnóstico por imagen de RMN.



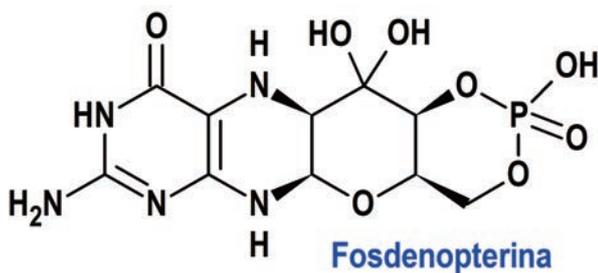
## 1. EUROPEAN MEDICINES AGENCY (EMA)

### (A) Tracto Alimentario y Metabolismo

#### Fosdenopterina (Nulibry®) Comharsa

Indicación: Tratamiento de pacientes con deficiencia de cofactor de molibdeno (DCMo) tipo A.

Tipo: Autorizado el 15-9-2022, como medicamento huérfano (*Orphan drug*) y en condiciones excepcionales (*Exceptional circumstances*); autorizado previamente en Estados Unidos el 26-2-2021.



Mecanismo: Los pacientes con DCMo tipo A tienen mutaciones en el gen de la *proteína 1 de biosíntesis del cofactor de molibdeno* (MOCS1), que dan lugar a una deficiencia en la síntesis del sustrato intermedio, la cPMP, dependiente de MOCS1A/B. El tratamiento de reposición del sustrato con fosdenopterina proporciona una fuente exógena de cPMP, que es transformada a molibdopterina. La molibdopterina es transformada en cofactor molibdeno, el cual es necesario para la activación de las enzimas dependientes del molibdeno, como la sulfito oxidasa (SOX), una enzima que reduce la concentración de sulfitos neurotóxicos.

Eficacia clínica: Análisis combinado de 15 pacientes con DCMo tipo A confirmada mediante diagnóstico genético que recibieron tratamiento de reposición de sustrato con fosdenopterina y/o cPMP, la cual tiene el mismo grupo activo que fosdenopterina y se considera su equivalente desde el punto de vista terapéutico. La probabilidad de supervivencia según Kaplan-Meier a 1 año fue del 93 % y a 3 años del 86%; la media y la mediana del tiempo de supervivencia fueron de 73 y 64 meses, respectivamente.

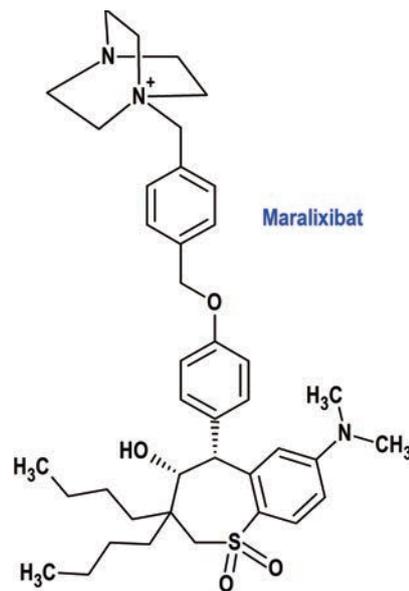
Eventos adversos: Los más comunes (>20%) son complicaciones asociadas al catéter empleado en la administración y no a la fosdenopterina. Ningún paciente tuvo que interrumpir el tratamiento debido a eventos adversos.

#### Maralixibat (Liventcity®) Mirum

Indicación: Tratamiento del prurito colestático en pacientes con síndrome de Alagille (SALG) de 2 meses de edad y mayores.

Tipo: Autorizado el 9-12-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*) y en condiciones excepcionales (*Exceptional circumstances*); autorizado previamente en Estados Unidos el 29-9-2021.

Mecanismo: Inhibidor selectivo, potente y reversible del transportador ileal de ácidos biliares (IBAT), que se absorbe en cantidades mínimas, actuando localmente en el íleon distal para reducir la recaptación de ácidos biliares y aumentar su eliminación a través del colon, lo que disminuye la concentración de ácidos biliares en sangre.



Eficacia clínica: Ensayo con 29 pacientes con SALG acompañado colestasis y prurito aleatorizados para recibir maralixibat o placebo durante el tiempo de espera aleatorizado y doble ciego de 4 semanas en las semanas. Posteriormente, todos recibieron maralixibat en régimen abierto durante un máximo de 48 semanas. Se observó una reducción media estadísticamente significativa en los ácidos biliares en comparación con los valores iniciales de 88 (120) y 96 (166,6)  $\mu\text{mol/l}$  en las semanas 18 y 48 tras la administración de maralixibat. Al final del periodo controlado con placebo, se demostró una diferencia en la media por mínimos cuadrados estadísticamente significativa entre maralixibat y placebo con respecto al cambio en los ABS desde la semana 18 hasta la semana 22 ( $-114$  [48,0]  $\mu\text{mol/l}$ ). Los pacientes que recibieron maralixibat presentaron un cambio clínicamente significativo y reducciones estadísticamente significativas en la escala ItchRO(Obs) [escala validada de 0 a 4 cumplimentada por los cuidadores, donde 0=nada y 4=muy grave), en la que los cambios  $\geq 1,0$  clínicamente significativos] de  $-1,7$  y  $-1,6$  puntos con respecto al inicio en las semanas 18 y 48, respectivamente.

Eventos adversos: Los más comunes son diarrea (36%) y dolor abdominal (29%), ninguno grave.



## (H) Preparaciones Hormonales Sistémicas

### Abaloparatida (Eladynos®) Radius Health

Indicación: Tratamiento de la osteoporosis en mujeres posmenopáusicas que presentan un aumento del riesgo de fractura..

Tipo: Autorizado el 12-12-2022; autorizado previamente en Estados Unidos el 28-4-2017.

Mecanismo: Péptido de 34 aminoácidos que comparte una homología del 41% con la hormona paratiroidea (PTH[1-34]) y una homología del 76% con el péptido relacionado con la hormona paratiroidea (PTHrP[1-34]). Es un activador de la vía de señalización del receptor PTH1 que estimula la formación de hueso nuevo en las superficies óseas trabeculares y corticales mediante la estimulación de la actividad osteoblástica, causando aumentos transitorios y limitados de la resorción ósea y aumenta la densidad ósea.

Eficacia clínica: Ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, con doble enmascaramiento, controlado con placebo y con un producto activo no enmascarado (teriparatida) durante 18 meses de tratamiento con 1 mes de seguimiento en 2070 mujeres posmenopáusicas de entre 50 y 86 años de edad (media de 69). La variable principal de eficacia fue la incidencia de fracturas vertebrales nuevas en las pacientes tratadas con abaloparatida, en comparación con las que recibieron el placebo: a los 18 meses, la abaloparatida (0,5%) y la teriparatida (0,7%) redujeron la tasa de fracturas vertebrales nuevas en comparación con el placebo (4,2%); a los 19 meses, la incidencia de fracturas no vertebrales fue similar entre los grupos de la abaloparatida (2,7%) y de la teriparatida (2,0%) y no fue estadísticamente diferente en comparación con el placebo (3,6%).

Eventos adversos: Los más comunes son hipercalcemia (15,6 %), mareo (11,1 %), dolor de espalda (8,6 %), náuseas (8,5 %), cefalea (8,5 %), artralgia (8,4 %), hipertensión (6,8 %), reacción en el lugar de inyección (6,2 %) y palpitaciones (5,6 %).

## (J) Antiinfecciosos Sistémicos

### Nirsevimab (Beyfortus®) AstraZeneca

Indicación: Prevención de la enfermedad de las vías respiratorias inferiores producida por el Virus Respiratorio Sincitial (VRS) en neonatos y lactantes durante su primera temporada del VRS.

Tipo: Autorizado el 31-10-2022. Medicamento biológico, constituido por un anticuerpo monoclonal IgG1 kappa humano recombinante de larga duración neutralizante de la conformación de prefusión de la proteína VRS F que ha sido modificada con una sustitución triple de aminoácidos (YTE) en la región Fc para extender la semivida en suero.

Mecanismo: Nirsevimab se une a un epítipo altamente conservado en el sitio antigénico Ø de la proteína de prefusión del VRS. Inhibe el paso esencial de fusión de membrana en el proceso de entrada viral, neutralizando el virus y bloqueando la fusión célula-célula.

Eficacia clínica: Dos ensayos multicéntricos aleatorizados, doble ciego, controlados con placebo para la prevención de la infección de las vías respiratorias inferiores por VRS en 2.933 lactantes a término y prematuros ( $\geq 29$  semanas) expuestos a su primera temporada del VRS. La variable primaria de eficacia fue la incidencia de infección de las vías respiratorias inferiores atendidas médicamente (incluida la hospitalización) causada por el VRS confirmado por RT-PCR, caracterizada predominantemente como bronquiolitis o neumonía, hasta 150 días después de la dosificación: 2,6 vs. 9,5% (efectividad del 70,1%) en muy prematuros y moderadamente prematuros ( $\geq 29$  a  $< 35$  semanas) y 1,2 vs. 5,0% (74,5%) en nacidos a término y prematuros tardíos ( $\geq 35$  semanas). La variable secundaria fue la incidencia de hospitalización hasta 150 días después de administrar el medicamento: 0,8 vs. 4,1% (efectividad del 78,4%) en muy prematuros y moderadamente prematuros ( $\geq 29$  a  $< 35$  semanas) y 0,6 vs. 1,6% (62,1%) en nacidos a término y prematuros tardíos ( $\geq 35$  semanas).

Eventos adversos: Los más comunes son erupción (0,7%), que se produjo en los 14 días posteriores a la dosis. La mayoría de los casos fueron de intensidad leve a moderada. Además, se notificaron pirexia y reacciones en el lugar de la inyección en una tasa de 0,6% y 0,4% dentro de los 7 días posteriores a la dosis, respectivamente. Las reacciones en el lugar de la inyección no fueron graves.

### Vacuna Covid-19 Recombinante (VidPrevtyn Beta®) Sanofi Pasteur

Indicación: Como refuerzo de la inmunización activa para prevenir la COVID-19 en adultos que hayan recibido previamente una vacuna contra la COVID-19 de ARNm o vector adenoviral.

Tipo: Autorizado el 10-11-2022. Medicamento biológico, constituido por una vacuna con adyuvante compuesta por la proteína de punta (S) recombinante trimérica soluble SARS-CoV-2 (cepa B.1.351) estabilizada en su conformación de prefusión y delecionada de sus dominios transmembrana e intracelular. Utiliza como adyuvante AS03, compuesto por escualeno, DL- $\alpha$ -tocoferol y polisorbato 80.

Mecanismo: La combinación de antígeno y adyuvante mejora la magnitud de la respuesta inmunitaria, lo que puede contribuir a la protección contra la COVID-19.

Eficacia clínica: Estudio clínico aleatorizado, simple ciego, multicéntrico, que evaluó la respuesta inmunitaria inducida por una



dosis de refuerzo de VidPrevtyn Beta o la vacuna de ARNm de COVID19 (nucleósido modificado/tozinamerán) en personas vacunadas previamente con 2 dosis de Vacuna de ARNm de COVID-19 (tozinamerán). La población de análisis por protocolo incluyó a 143 participantes de 18 años de edad y mayores que recibieron 2 dosis de vacuna de ARNm de COVID-19 (tozinamerán) de 3 a 7 meses antes de recibir VidPrevtyn Beta (N=67) o vacuna de ARNm de COVID-19 (tozinamerán) (N=76). Se compararon los títulos (media geométrica) de los anticuerpos neutralizantes 28 días después: 1.327,5 vs 524,0 (ratio de 2,53 favorable a VidPrevtyn Beta).

Eventos adversos: Los más comunes son dolor en el lugar de la inyección (76,2%), dolor de cabeza (41,4%), mialgia (37,8%), malestar general (33,0%), artralgia (28,7%) y escalofríos (19,9%). La mediana de duración de las reacciones adversas locales y sistémicas es de 1 a 3 días. La mayoría ocurrieron dentro de los 3 días posteriores a la vacunación y fueron de gravedad leve a moderada.

#### Vacuna Dengue Tetravalente (Qdenga®) Takeda

Indicación: Prevención del dengue en personas a partir de los 4 años de edad.

Tipo: Autorizado el 5/12/2022; autorizada previamente en Estados Unidos el 1-5-2019. Medicamento biológico, constituido por Virus del dengue vivos y atenuados de los serotipos 1, 2, 3 y 4, producidos en células Vero mediante tecnología de ADN recombinante.

Mecanismo: Replicar de forma local y provocar respuestas inmunitarias humorales y celulares contra los cuatro serotipos del virus del dengue.

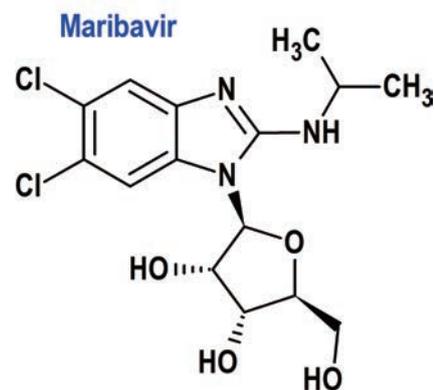
Eficacia clínica: Ensayo clínico de fase 3, doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo realizado en 5 países de América Latina (Brasil, Colombia, República Dominicana, Nicaragua y Panamá) y en 3 países de Asia (Sri Lanka, Tailandia y Filipinas). Un total de 20.099 niños de entre 4 y 16 años fueron aleatorizados (en una proporción de 2:1) para recibir la vacuna o placebo, indistintamente de la infección previa por dengue. La variable primaria de eficacia fue la tasa de sujetos con fiebre manifestada entre 30 días y 12 meses después de la segunda dosis de vacuna: 0,5% (vacuna) vs. 2,4% (placebo), con una eficacia del 80,2%.

Eventos adversos: Los más comunes son dolor en el lugar de inyección (50%), cefalea (35%), mialgia (31%), eritema en el lugar de inyección (27%), malestar (24%), astenia (20%) y fiebre (11%). Generalmente ocurrieron en los 2 días posteriores a la inyección, fueron de intensidad leve a moderada, tuvieron una duración breve (de 1 a 3 días) y fueron menos frecuentes tras la segunda inyección que después de la primera.

#### Maribavir (Livtency®) Takeda

Indicación: Tratamiento de la infección y/o enfermedad por citomegalovirus (CMV) que es refractaria (con o sin resistencia) a uno o más tratamientos previos, incluyendo ganciclovir, valganciclovir, cidofovir o foscarnet en pacientes adultos que se han sometido a un trasplante de células madre hematopoyéticas (TCMH) o a un trasplante de órganos sólidos (TOS).

Tipo: Autorizado el 9-11-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*) y con revisión prioritaria (*Priority Medicines*; PRIME); autorizado previamente en Estados Unidos el 23-11-2021.



Mecanismo: Inhibidor competitivo de la proteína cinasa UL97 en la fase de replicación del ADN viral, inhibiendo la serina/treonina cinasa de la UL97 mediante la inhibición competitiva de la unión de ATP al sitio de unión de ATP de la cinasa, sin afectar al proceso de maduración del concaténador, aboliendo la fosfotransferasa que inhibe la replicación, maduración, encapsidación y salida nuclear del ADN del CMV.

Eficacia clínica: Estudio clínico de fase 3, multicéntrico, aleatorizado, abierto y con control activo (comparación con el tratamiento asignado por el investigador, IAT) en 352 receptores de TCMH y TOS con infecciones por CMV refractarias al tratamiento con ganciclovir, valganciclovir, foscarnet o cidofovir, incluidas las infecciones por CMV con o sin resistencia confirmada a 1 o varios agentes anti-CMV. La variable principal de eficacia fue la reducción de la viremia confirmada por CMV (concentración plasmática de ADN del CMV por debajo del límite inferior de cuantificación <137 UI/ml) en la semana 8 de tratamiento, independientemente de que se interrumpiera el tratamiento asignado por el estudio antes del final de las 8 semanas estipuladas de terapia: 56 vs. 24%. La variable secundaria fue la reducción de la viremia por CMV y el control de los síntomas de la infección por CMV en la semana 8, con el mantenimiento de este efecto del tratamiento hasta la semana 16: 19 vs. 10%.

Eventos adversos: Los más comunes (>10%) son alteraciones del gusto (46%), náuseas (21%), diarrea (19%),



vómitos (14%) y fatiga (12%). Las reacciones adversas graves notificadas con mayor frecuencia fueron la diarrea (2%) y las náuseas, la disminución de peso, la fatiga, el aumento del nivel de concentración de fármacos inmunosupresores y los vómitos (todos se produjeron en más del 1%).

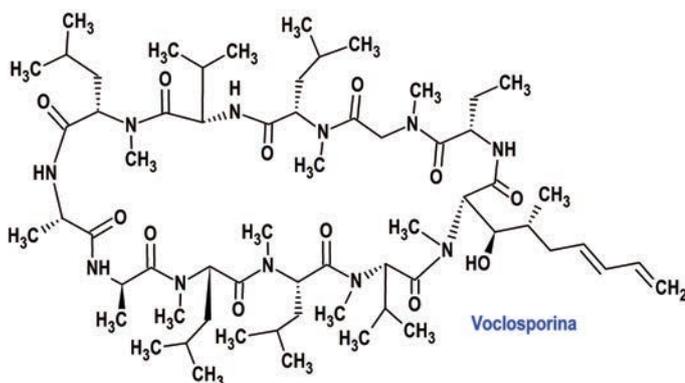
## (L) Agentes Antineoplásicos e Inmunomoduladores

### Voclosporina (Lupkynis®) Otsuka

Indicación: Tratamiento de pacientes adultos con nefritis lúpica (NL) activa de clase III, IV o V (incluidas las clases mixtas III/V y IV/V) en combinación con micofenolato de mofetilo.

Tipo: Autorizado el 15-9-2022; autorizado previamente en Estados Unidos el 22-01-2021.

Mecanismo: Es un inmunosupresor que inhibe la calcineurina de forma dependiente de la dosis. La activación de los linfocitos implica un aumento de las concentraciones de calcio intracelular. La calcineurina es una fosfatasa dependiente de calcio/calmodulina cuya actividad es necesaria para la inducción de la producción y proliferación de linfocinas en los linfocitos T. La actividad inmunosupresora se traduce en la inhibición de la proliferación de linfocitos, la producción de citocinas de linfocitos T y la expresión de antígenos de superficie para la activación de linfocitos T.



Eficacia clínica: Dos ensayos clínicos controlados con placebo en pacientes con nefritis lúpica (NL) de clase III o IV (solos o en combinación con la clase V) o de clase V pura. El primer estudio fue de fase 3, prospectivo, aleatorizado y con doble enmascaramiento, durante un periodo de tratamiento de 52 semanas, que incluyó a 357 pacientes. La proporción total de pacientes que alcanzaron cada uno de los criterios que componían la variable primaria en la semana 52 fueron: cociente proteína/creatinina en orina (CPCo)  $\leq 0,5$  mg/mg (45,3% vs. 23,0%); con función renal normal y estable, definida como TFG  $\geq 60$  ml/minuto/1,73 m<sup>2</sup> o sin disminución confirmada de la TFG

desde el inicio  $>20\%$  (82,1% vs. 75,8 %); en presencia de dosis bajas sostenidas de corticosteroides (no más de 10 mg durante  $\geq 3$  días consecutivos o durante  $\geq 7$  días en total durante las semanas 44 a 52 (87,2% vs. 85,4%); y que no recibieron medicación de rescate para la nefritis lúpica (91,1% vs. 86,5%). El otro estudio fue un estudio de continuación (2 años más) para evaluar la seguridad y la eficacia a largo plazo en 216 pacientes que completaron el tratamiento en el estudio anterior, complementando el estudio más del 85 % de los pacientes. La proporción de pacientes con respuesta renal en el mes 36 fue del 51% vs. 39 %.

Eventos adversos: Los más comunes son la disminución de la tasa de filtración glomerular (TFGe; 26%) y la hipertensión (19%); son también muy frecuentes ( $>10\%$ ) las infecciones del tracto respiratorio superior, anemia, cefalea, tos, diarrea y dolor abdominal. Las reacciones adversas graves notificadas más frecuentemente son las infecciones (10,1%), lesión renal aguda (3 %) e hipertensión (1,9 %).

### Tabelecleucel (Ebvallo®) Atara Biotherapeutics

Indicación: Monoterapia para el tratamiento de pacientes adultos y pediátricos de 2 años de edad y mayores con enfermedad linfoproliferativa postrasplante positiva asociada al virus de Epstein-Barr (EBV+ PTLD) en recaída o refractaria que han recibido al menos un tratamiento previo. En el caso de los pacientes con trasplante de órganos sólidos, el tratamiento previo incluye quimioterapia, a menos que no sea adecuada

Tipo: Autorizado el 16-12-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*), con revisión prioritaria (*Priority Medicines*; *PRIME*) y en condiciones excepcionales (*Exceptional circumstances*). Medicamento biológico de terapia avanzada, consistente en inmunoterapia alogénica de células T específicas del virus de EpsteinBarr (EBV) dirigida a las células positivas para el EBV y eliminándolas de forma restringida por medio del antígeno leucocitario humano o antígeno de histocompatibilidad (HLA). Tabelecleucel se produce a partir de células T obtenidas de donantes humanos.

Mecanismo: Inmunoterapia alogénica de células T específicas del EBV que se dirige a las células infectadas por el EBV y las elimina de forma restringida por medio del antígeno leucocitario humano (HLA). El mecanismo de acción es equivalente al demostrado por las células T endógenas circulantes en los donantes de los que se deriva el medicamento. El receptor de células T de cada población clonal dentro del medicamento reconoce un complejo peptídico del EBV con una molécula HLA específica en la superficie de las células diana (el alelo HLA restrictivo) y permite que el medicamento ejerza una actividad citotóxica contra las células infectadas por el EBV.



**Eficacia clínica:** Ensayo multicéntrico de fase 3, abierto, de un grupo y realizado en 43 pacientes adultos y pediátricos con EBV+ PTLD después de un trasplante de órganos sólidos (TOS) o alogénico de células hematopoyéticas (TPH) tras el fracaso de la terapia previa. El medicamento se administró los días 1, 8 y 15, evaluándose la respuesta al día 28. La variable principal de eficacia fue la tasa de respuesta objetiva (ORR: 56%, 31% respuesta completa en TOS; 50%, 43% respuesta completa en TPH) según la evaluación de la adjudicación de la respuesta oncológica independiente (IORA), utilizando los criterios de clasificación de Lugano con la modificación de los criterios de respuesta del linfoma al tratamiento inmunomodulador (LYRIC); también se determinó la duración de la respuesta (DOR: 15,2 meses en TOS y 23,0 meses en TPH).

**Eventos adversos:** Los más comunes son fiebre (31,1%), diarrea (26,2%), cansancio (23,3%), náuseas (18,4%), anemia (16,5%), disminución del apetito (15,5%), hiponatremia (15,5%), dolor abdominal (14,6%), disminución del recuento de leucocitos (14,6%), disminución del recuento de neutrófilos (14,6%), aumento de aspartato aminotransferasa (13,6%), estreñimiento (12,6%), aumento de alanina aminotransferasa (11,7%), aumento de fosfatasa alcalina en sangre (11,7%), hipoxia (11,7%), deshidratación (10,7%), hipotensión (10,7%), congestión nasal (10,7%) y exantema (10,7%).

### **Sutimlimab (Enjaymo®) Genzyme**

**Indicación:** Tratamiento de la anemia hemolítica por crioglobulinas (*cold agglutinin disease*, CAD) en pacientes adultos.

**Tipo:** Autorizado el 15-11-2022, como medicamento huérfano (*Orphan drug*); autorizado previamente en Estados Unidos en 4-2-2022. Medicamento biológico, constituido por un anticuerpo monoclonal de inmunoglobulina G4 (IgG4).

**Mecanismo:** Inhibe la vía clásica del complemento y se une específicamente al componente de la proteína del complemento 1, subcomponente s (C1s), una serina proteasa que escinde C4; sin embargo, sutimlimab no inhibe las actividades de la lectina y las vías alternativas del complemento. La inhibición de la vía clásica del complemento a nivel de C1s impide el depósito de opsoninas del complemento en la superficie de los glóbulos rojos, lo que provoca la inhibición de la hemólisis en pacientes con anemia hemolítica por crioglobulinas, previene la generación de anafilotoxinas proinflamatorias C3a y C5a y el complejo terminal del complemento posterior C5b.

**Eficacia clínica:** Dos estudios clínico de fase 3, el primero aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo en 42 pacientes, y el segundo abierto y de un solo grupo en 24 pacientes durante un periodo de 26 semanas. La variable principal de eficacia consistió en la proporción de pacientes que cumplieron los criterios de la

variable primaria: un aumento desde el momento basal en el nivel de Hg  $\geq 1,5$  g/dl en el momento de la evaluación del tratamiento (semanas 23-26) [16 vs. 3%] y la media de transfusiones semanales desde la semana 5 hasta la semana 26 [0,05 vs. 0,5%]. Las variables secundarias consistieron en el cambio medio de la hemoglobina [+2,56 vs. +0,09 g/dl], puntuación de fatiga según la FACIT para evaluar el cambio en la calidad de vida [+10,83 vs. +1,91] y cambio medio de la bilirrubina total [-22,13 vs. -1,83 micromol/l].

**Eventos adversos:** Los más comunes ( $\geq 10\%$ ) son infección del tracto urinario, cistitis, infecciones del tracto respiratorio superior, nasofaringitis, gastroenteritis, rinitis, cefalea, hipertensión, cianosis (notificada como acrocianosis), fenómeno de Raynaud, dolor abdominal y náuseas.

### **(R) Sistema Respiratorio**

#### **Tezepelumab (Tezspire®) AstraZeneca**

**Indicación:** Tratamiento de mantenimiento adicional en adultos y adolescentes a partir de 12 años con asma grave que no están adecuadamente controlados a pesar de la administración de corticosteroides inhalados a dosis altas en combinación con otro medicamento para el tratamiento de mantenimiento.

**Tipo:** Autorizado el 19-9-2022; autorizado previamente en Estados Unidos el 17-12-2021. Medicamento biológico, constituido por un anticuerpo monoclonal humano inmunoglobulina G2-lambda producido mediante tecnología de ADN recombinante.

**Mecanismo:** Anticuerpo monoclonal dirigido contra la linfopoyetina estromal tímica (TSLP), impidiendo su interacción con el receptor heterodimérico de TSLP. En el asma, tanto los desencadenantes alérgicos como los no alérgicos inducen la producción de TSLP. El bloqueo de TSLP con tezepelumab reduce un amplio espectro de biomarcadores y citoquinas asociados con la inflamación de las vías respiratorias (eosinófilos, IgE, FeNO, IL-5 e IL-13).

**Eficacia clínica:** Dos ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego, de grupos paralelos, controlados con placebo, de 52 semanas de duración en los que participaron un total de 1609 pacientes a partir de 12 años con asma grave. La variable principal para ambos ensayos clínicos fue la tasa de exacerbaciones asmáticas graves medidas durante 52 semanas (empeoramiento del asma que precisó el uso o aumento de corticosteroides orales o sistémicos durante al menos 3 días o una dosis única inyectable de corticosteroides, y/o visitas al servicio de urgencias que requerían el uso de corticosteroides orales o sistémicos y/u hospitalización): 0,93 vs. 2,10 en el primer estudio y 0,20 vs. 0,72 en el segundo.

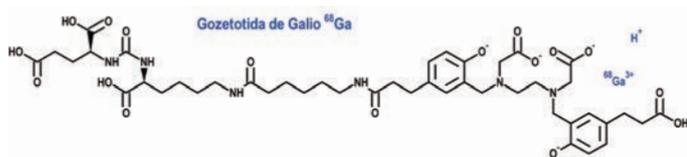
**Eventos adversos:** Los más comunes son artralgia (3,8%) y faringitis (4,1%).



## (V) Varios

### Gozetotida (Locametz®) Novartis

Indicación: Tras el marcaje radiactivo con galio-68, está indicado para la detección de lesiones positivas al antígeno prostático de membrana (PSMA) mediante tomografía por emisión de positrones (PET) en adultos con cáncer de próstata (CaP) en los siguientes escenarios clínicos: Estadificación inicial de pacientes con CaP de alto riesgo antes de la terapia curativa inicial; sospecha de recidiva de CaP en pacientes con niveles crecientes de antígeno prostático específico (PSA) en suero después de la terapia curativa inicial o identificación de pacientes con cáncer de próstata resistente a la castración metastásico progresivo positivo a PSMA (CPRCm) para los que está indicada la terapia dirigida con PSMA.



Tipo: Autorizado el 9-12-2022; autorizado previamente en Estados Unidos el 1-12-2020. Medicamento constituido por un equipo de reactivos para preparación radiofarmacéutica, aunque el radionucleido (galio-68) no está incluido en el equipo.

Mecanismo: El galio-68-gozetotida se une a las células que expresan PSMA, incluidas las células malignas del cáncer de próstata, que sobreexpresan PSMA. El galio-68 es un radionucleido con un rendimiento de emisión que permite obtener imágenes PET que indican la presencia de la proteína PSMA en los tejidos.

Eficacia clínica: Un estudio de 103 pacientes varones adultos con cáncer de próstata con confirmación por biopsia y características de riesgo intermedio y alto indicados para una disección de los ganglios linfáticos pélvicos extendida (DGLPe), sometidos a imágenes PET/TC con galio (68)-gozetotida.; la sensibilidad fue del 42%, la especificidad del 91%, el valor predictivo positivo (VPP) del 77% y el negativo (VPN) del 68%. Otro estudio en 635 pacientes varones adultos con cáncer de próstata con recidiva bioquímica con confirmación histopatológica tras prostatectomía, radioterapia o ambas, se sometieron a PET/TC con galio (68Ga)-gozetotida o imágenes PET/MRI; la detección de lesiones positivas para PSMA ocurrió en el 75% pacientes que recibieron galio (68Ga)-gozetotida y la tasa de detección aumentó significativamente con los niveles de PSA. La sensibilidad fue del 92% y los valores predictivos positivo y negativo fueron del 84%.

Eventos adversos: Los más comunes son fatiga (1,2%), náuseas (0,8%), estreñimiento (0,5%) y vómitos (0,5%), todos ellos leves o moderados.

## 2. FOOD & DRUG ADMINISTRATION (FDA)

### (A) Tracto Alimentario y Metabolismo

#### Teplizumab (Tziel®) Provention Bio

Indicación: Para retrasar la aparición de la diabetes tipo 1 en estadio 3 en adultos y pacientes pediátricos de 8 años de edad y mayores con diabetes tipo 1 en estadio 2.

Tipo: Autorizado el 17/11/2022; no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico constituido por un anticuerpo monoclonal humanizado (IgG1 kappa).

Mecanismo: Se une a CD3 (antígeno de superficie presente en los linfocitos T) y retrasa la aparición de la diabetes tipo 1 en estadio 3 en adultos y pacientes pediátricos de 8 años o más con diabetes tipo 1 en etapa 2. El mecanismo puede implicar la señalización agonista parcial y la desactivación de los linfocitos T autorreactivos de las células beta pancreáticas, provocando un aumento de la proporción de linfocitos T reguladores y de linfocitos T CD8+ agotados en sangre periférica.

Eficacia clínica: Estudio aleatorizado, doble ciego, basado en eventos y controlado con placebo en 76 pacientes, de 8 a 49 años de edad con diabetes tipo 1 en estadio 2. Se diagnosticó diabetes tipo 1 en etapa 3 en el 45% (teplizumab) vs. 72% (placebo). Según un modelo de riesgos proporcionales de Cox, estratificado por edad y estado de la prueba de tolerancia a la glucosa oral inicial, demostró que la mediana de tiempo desde la aleatorización hasta el diagnóstico de diabetes tipo 1 en etapa 3 fue de 50 meses (teplizumab) vs. 25 meses (placebo).

Eventos adversos: Los más comunes son linfopenia (73%), erupción (36%), leucopenia (21%), cefalea (11%), neutropenia (5%), aumento de alanina aminotransferasa (11%), náusea (5%), diarrea (5%) y nasofaringitis (5%).

#### Microbiota Fecal Viva (Rebyota®) Ferring

Indicación: Prevención de la recurrencia de la infección por Clostridioides difficile (CDI) en personas de 18 años de edad y mayores después del tratamiento con antibióticos para la CDI recurrente.

Tipo: Autorizado el 30-11-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*), por vía rápida (*Fast Track*) y designado como terapia innovadora (*Breakthrough Therapy*); no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico constituido una suspensión de microbiota fecal para administración rectal producida a partir de materia fecal humana procedente de donantes seleccionados, en una solución de polietilenglicol (PEG) 3350 y solución salina.



**Mecanismo:** Cada dosis contiene entre  $1 \times 10^8$  y  $5 \times 10^{10}$  unidades formadoras de colonias (CFU) por ml de microbios fecales, incluidos  $> 1 \times 10^5$  CFU/ml de Bacteroides. No se conoce el mecanismo de acción.

**Eficacia clínica:** Un estudio de fase 3 multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, y otro estudio de fase 2 también controlado con placebo. Se incluyeron en los dos estudios un total de 344 adultos con diagnóstico confirmado de CDI recurrente. El éxito del tratamiento se definió como la ausencia de diarrea CDI dentro de las 8 semanas de tratamiento. En el análisis bayesiano de los datos procedentes de ambos estudios, la tasa estimada de éxito fue del 70,6 % (tratamiento activo) vs. 57,5% (placebo).

**Eventos adversos:** Los más comunes ( $\geq 3\%$ ) son dolor abdominal (8,9%), diarrea (7,2%), distensión abdominal (3,9%), flatulencia (3,3%) y náuseas (3,3%).

## (B) Sangre y Sistema Hematopoyético

### Etranacogene Dezaparvec (Hemgenix®) CSL Behring

**Indicación:** Tratamiento de adultos con hemofilia B (deficiencia congénita del factor IX) que actualmente usan terapia de profilaxis con factor IX, o tienen hemorragia actual o histórica que pone en peligro la vida, o tienen episodios repetidos de sangrado espontáneo grave.

**Tipo:** Autorizado el 22/11/2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*) mediante revisión prioritaria (*Priority Review*) y designado como terapia innovadora (*Breakthrough Therapy*); no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico de terapia avanzada (génica), basado en vectores de virus adenoasociados.

**Mecanismo:** Se trata de un virus adenoasociado de tipo 5 (AAV5) recombinante y no replicante que contiene una secuencia de ADN de codones optimizados de la variante Padua con ganancia de función del Factor IX humano (variante R338L), bajo el control de un promotor 1 específico del hígado (LP1), consistente en elementos de núcleo específicos de hígado humano. La infusión intravenosa única del medicamento da como resultado la transducción celular y aumenta la actividad del factor IX circulante en pacientes con hemofilia B. Los niveles medios de actividad del factor IX fueron del 39% a los seis meses y del 36,7% a los 24. El inicio de la expresión de la proteína del factor IX después de la dosis fue detectable en la semana 3.

**Eficacia clínica:** Ensayo multinacional abierto, de dosis única, de un solo brazo (N = 54). Tras un periodo inicial de seis meses con tratamiento convencional, los pacientes recibieron una dosis intravenosa única, usándose los datos hasta 18 meses después

del tratamiento para la evaluación de eficacia. La variable principal de eficacia fue una prueba de no inferioridad de la tasa de sangrado anualizada (TSA) durante los meses 7 a 18 después en comparación con la TSA durante los seis meses previos, registrándose todos los episodios hemorrágicos, independientemente de la evaluación del investigador. La TSA media estimada durante los meses 7 a 18 después del tratamiento fue de 1,9 hemorragias/año, en comparación con una TSA media estimada de 4,1 durante el período inicial. La proporción de TSA (meses 7 a 18/ inicio) fue de 0,46, lo que demuestra la no inferioridad de TSA durante los meses 7 a 18 en comparación con en el período de inicio.

**Eventos adversos:** Los más comunes ( $\geq 5\%$ ) son elevaciones de ALT (42%), dolor de cabeza (18%), elevaciones de creatina cinasa en sangre (42%), síntomas gripales (14%), reacciones relacionadas con la infusión IV (33%), fatiga (12%), malestar general (12%) y elevaciones de AST (42%).

### Betibeglogene Autotemcel (Zynteglo®) Bluebird Bio

**Indicación:** Tratamiento de pacientes adultos y pediátricos con  $\beta$ -talasemia que requieren transfusiones periódicas de glóbulos rojos.

**Tipo:** Autorizado el 17-8-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*), por vía rápida (*Fast Track*), mediante revisión prioritaria (*Priority Review*) y designado como terapia innovadora (*Breakthrough Therapy*); autorizado en la Unión Europea el 29-5-2019, pero retirado a petición del titular de la autorización de comercialización. Medicamento biológico de terapia avanzada (génica), constituido por células CD34+ autólogas, que se obtienen mediante procedimientos de aféresis y que contienen células madre hematopoyéticas, transducidas con BB305 LVV.

**Mecanismo:** Las células autólogas se enriquecen con células CD34+ y luego se transducen ex vivo con BB305 LVV, que codifica la globina  $\beta$  A-T87Q, con un vector lentiviral (LVV) autoinactivante. El promotor, un elemento regulador del LVV que controla la expresión del transgén seleccionado para BB305 LVV, es un promotor celular (no viral) que controla la expresión génica específica de las células del linaje eritroide.

**Eficacia clínica:** Dos estudios en fase 3, abiertos, de un solo brazo, multicéntricos, de 24 meses de duración, en 41 pacientes de 4 a 34 años con  $\beta$ -talasemia que requerían transfusiones de sangre con regularidad. La variable principal de eficacia en ambos estudios fue el logro de la independencia transfusional (IT), definida como un promedio ponderado de  $Hb \geq 9$  g/dL sin transfusiones durante un período continuo de  $\geq 12$  meses: 89%.

**Eventos adversos:** Los más comunes ( $\geq 20\%$ ) son mucositis, neutropenia febril, vómitos, pirexia, alopecia, epistaxis, dolor abdominal, dolor musculoesquelético, tos, dolor de cabeza,



diarrea, erupción, estreñimiento, náuseas, disminución del apetito, trastorno de la pigmentación y picor. Se produjeron reacciones adversas graves en el 37% de los pacientes, siendo las más frecuentes (>3%) pirexia, trombocitopenia, enfermedad venooclusiva del hígado, neutropenia febril, neutropenia y estomatitis.

## (L) Agentes Antineoplásicos e Inmunomoduladores

### Nadofaragene Firadenovec (Adstiladrin®) Ferring

Indicación: Tratamiento de pacientes adultos con cáncer de vejiga sin invasión muscular de alto riesgo que no responde al bacilo de Calmette-Guérin (BCG) (NMIBC) con carcinoma in situ (CIS), con o sin tumores papilares.

Tipo: Autorizado el 16-12-2022 por vía rápida (*Fast Track*), mediante revisión prioritaria (*Priority Review*) y designado como terapia innovadora (*Breakthrough Therapy*); no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento de terapia avanzada (génica), basado en un vector adenoviral (adenovirus recombinante del serotipo 5) no replicante, para uso en instilación intravesical.

Mecanismo: Terapia génica basada en un vector adenoviral no replicante diseñada para administrar una copia de un gen que codifica un interferón-alfa 2b humano (IFN $\alpha$ 2b) en el urotelio de la vejiga. La instilación intravesical del medicamento da como resultado la transducción celular y la expresión local transitoria de la proteína IFN $\alpha$ 2b que se prevé que tenga efectos antitumorales.

Eficacia clínica: Estudio clínico multicéntrico que incluyó a 98 pacientes con NMIBC de alto riesgo y carcinoma in situ (CIS) que no responde a BCG, con o sin tumores papilares. Los pacientes recibieron el tratamiento una vez cada tres meses hasta por 12 meses, o hasta toxicidad inaceptable para la terapia o NMIBC de alto grado recurrente. El 51% de los pacientes tratados lograron una respuesta completa (desaparición de todos los signos de cáncer vistos en la cistoscopia, biopsia de tejido y orina). La mediana de duración de la respuesta fue de 9,7 meses; el 46% de los pacientes que respondieron permanecieron en respuesta completa durante al menos un año.

Eventos adversos: Los más comunes (>10%), son aumento de la glucosa, secreción en el lugar de la instilación, aumento de los triglicéridos, fatiga, espasmo de la vejiga, urgencia miccional, aumento de la creatinina, hematuria, disminución de fosfato, escalofríos, disuria y fiebre. Se produjeron reacciones adversas graves en el 11 % de los pacientes, siendo las más frecuentes (>1%) enfermedad arterial coronaria y hematuria. La interrupción permanente del tratamiento debido a una reacción adversa se produjo en el 1,9% de los pacientes, debido a secreción del sitio de instilación, espasmo vesical o neoplasia benigna de la vejiga.

### Tremelimumab (Imjudo®) AstraZeneca

Indicación: Tratamiento de pacientes adultos con carcinoma hepatocelular irreseccable.

Tipo: Autorizado el 21-10-2022, como medicamento huérfano (*Orphan drug*); no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico constituido por un anticuerpo monoclonal IgG2 humano.

Mecanismo: Tremelimumab se une al antígeno 4 asociado a linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), un regulador negativo de la actividad de los linfocitos T citotóxicos, y bloquea la interacción con sus ligandos CD80 y CD86, liberando la inhibición de la activación de los linfocitos T mediada por CTLA-4; el bloqueo de la actividad de CTLA-4 da como resultado una disminución del crecimiento tumoral y un aumento de la proliferación de linfocitos T en los tumores.

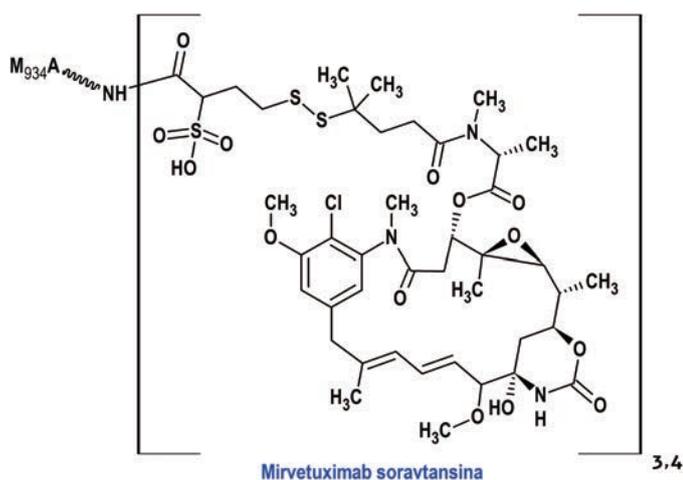
Eficacia clínica: Estudio aleatorizado (1:1:1), abierto, multicéntrico en pacientes con cáncer hepatocelular confirmado que no habían recibido tratamiento sistémico previo para el mismo. Los pacientes recibieron tremelimumab más durvalumab, como una infusión intravenosa única en combinación con durvalumab el mismo día, seguido de durvalumab cada 4 semanas; o sorafenib por vía oral dos veces al día, hasta progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable. La variable principal de eficacia fue la supervivencia global: 16,4 vs. 13,8 meses; como variables secundarias se determinaron la supervivencia libre de progresión evaluada por el investigador: 3,8 vs 4,1 meses, la tasa de respuesta objetiva: 3,1 vs 0% (respuesta completa) y 17,0 vs 5,1% (respuesta parcial); y la duración de la respuesta según RECIST v1.1: 22,3 vs. 18,4 meses (mediana), 65,8 vs 63,2% durante al menos 12 meses.

Eventos adversos: Los más comunes ( $\geq 20\%$  de los pacientes que recibieron tremelimumab en combinación con durvalumab) son erupción cutánea, diarrea, fatiga, prurito, dolor musculoesquelético y dolor abdominal. Se produjeron reacciones adversas graves en el 41%: hemorragia (6%), diarrea (4%), sepsis (2,1%), neumonía (2,1%), erupción cutánea (1,5%), vómitos (1,3%), lesión renal aguda (1,3%) y anemia (1,3%). Ocurrieron reacciones adversas fatales en el 8 % de los pacientes: hemorragia intracraneal (0,5 %), paro cardíaco (0,5 %), neumonitis (0,5 %), insuficiencia hepática (0,5 %) y hepatitis inmunomediada (0,5 %). La interrupción permanente del régimen de tratamiento debido a una reacción adversa ocurrió en el 14 %: hemorragia (1,8%), diarrea (1,5%), aumento de AST (1%) y hepatitis (1%).

### Mirvetuximab Soravtansina (Elahere®) Immunogen

Indicación: Tratamiento de pacientes adultos con cáncer epitelial de ovario, de trompas de Falopio o peritoneal primario resistente al platino, positivo para el receptor de folato alfa (FR $\alpha$ ), que han recibido de uno a tres regímenes de tratamiento sistémico previos.

Tipo: Autorizado el 14-11-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*) y mediante revisión prioritaria (*Priority Review*); no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico constituido por un conjugado de anticuerpo-fármaco (ADC) que consta de tres componentes unidos covalentemente por conjugación química del mirbetuximab, un anticuerpo monoclonal quimérico de subtipo IgG1, con el agente antitubulina DM4 (un derivado de maitansina) a través de un conector (sulfo-SPDB), con un promedio de 3,4 moléculas de DM4 por cada molécula de mirbetuximab.



Mecanismo: Es un conjugado de anticuerpo y fármaco, en el que el anticuerpo – mirvetuximab – está dirigido contra el receptor de folato alfa ( $FR\alpha$ ). El DM4 es un inhibidor de microtúbulos unido al anticuerpo a través de un conector escindible. Al unirse a  $FR\alpha$  el conjugado mirvetuximab soravtansina se internaliza, tras lo que se produce la liberación intracelular de DM4 a través una escisión proteolítica; el DM4 interrumpe la red de microtúbulos dentro de la célula, lo que provoca la detención del ciclo celular e induce la muerte celular por apoptosis.

Eficacia clínica: Ensayo de un solo grupo (brazo único) de pacientes con cáncer peritoneal primario, de trompas de Falopio o de ovario epitelial  $FR\alpha$  positivo y resistente al platino ( $n = 106$ ) que habían recibido hasta tres líneas previas de terapia sistémica; todos habían recibido bevacizumab. Las variables de eficacia fueron la tasa de respuesta global (ORR: 31,7%, 4,8% completa y 26,9% parcial) y la duración de la respuesta (DOR: mediana de 6,9 meses), ambas evaluadas por el investigador de acuerdo con los Criterios de Evaluación de Respuesta en Tumores Sólidos (RECIST), versión 1.1.

Eventos adversos: Se produjeron reacciones adversas graves en el 31% de los pacientes, siendo las más comunes ( $\geq 2\%$ ) obstrucción intestinal (8%), ascitis (4%), infección (3%) y derrame pleural (3%). Se produjeron reacciones adversas mortales en el 2%

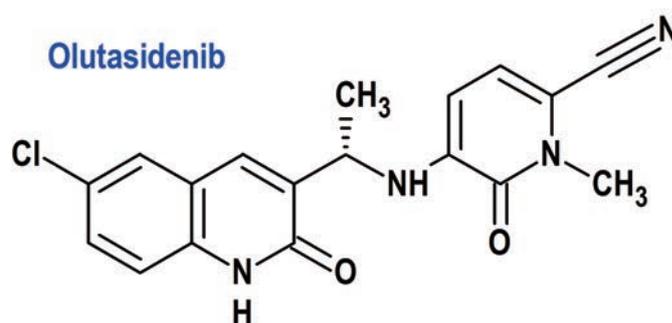
de los pacientes, incluida la obstrucción del intestino delgado (1%) y la neumonitis (1%). La discontinuación permanente del tratamiento debido a reacciones adversas ocurrió en el 11% de los pacientes, siendo las más frecuentes ( $\geq 2\%$ ) obstrucción intestinal (2%) y trombocitopenia (2%). Se produjeron retrasos en la dosificación debido a una reacción adversa en el 39% de los pacientes tratados, siendo las más comunes ( $\geq 3\%$ ) discapacidad visual (15%), queratopatía (11%), neutropenia (6%), ojo seco (5%), cataratas (3%) y aumento de la gamma-glutamyltransferasa (3%).

### Olutasidenib (Rezlidhia®) Forma Therapeutics

Indicación: Tratamiento de pacientes adultos con leucemia mieloide aguda (LMA) recidivante o refractaria con una mutación susceptible de isocitrato deshidrogenasa-1 (IDH1) detectada mediante una prueba aprobada por la FDA.

Tipo: Autorizado el 1-12-2022, como medicamento huérfano (*Orphan drug*); no autorizado aún en la Unión Europea.

Mecanismo: Es un inhibidor de la isocitrato deshidrogenasa-1 (IDH1) mutada. En pacientes con LMA, las mutaciones susceptibles de IDH1 se definen como aquellas que conducen a un aumento de los niveles de 2-hidroxisuccinato (2-HG) en las células leucémicas y cuya eficacia se predice mediante remisiones clínicamente significativas con la dosis recomendada de olutasidenib y/o la inhibición de la actividad enzimática de IDH1 mutante a concentraciones de olutasidenib sostenibles con la dosis recomendada según métodos validados. Las más comunes de tales mutaciones en pacientes con LMA son las sustituciones R132H y R132C.



Eficacia clínica: Ensayo clínico abierto, de un solo brazo, multicéntrico en 147 pacientes adultos con LMA recidivante o refractaria con una mutación IDH1. La eficacia se estableció sobre la base de la tasa de remisión completa (RC: 47%) más la remisión completa con recuperación hematológica parcial (Rch: 4%; CR+CRh: 51%), la duración de CR+CRh (mediana de 25,9 meses) y la tasa de conversión de dependencia de transfusión a independencia de transfusión: entre los 86 pacientes que dependían de transfusiones de glóbulos rojos y/o plaquetas al inicio del estudio,

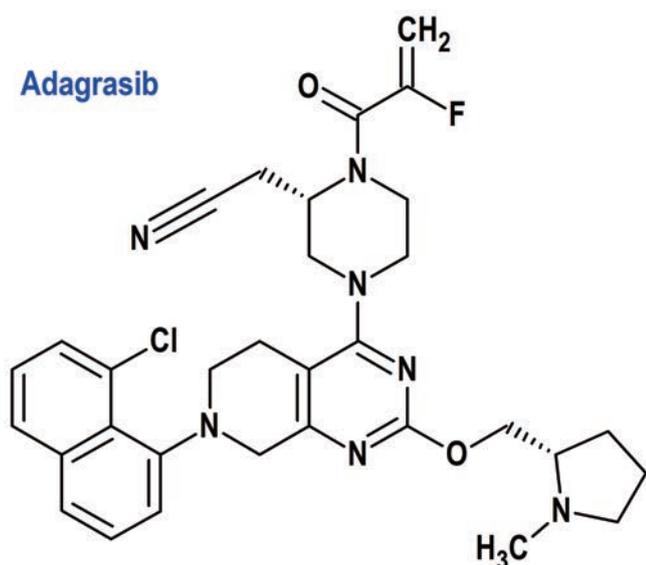


el 34% se volvieron independientes de las transfusiones durante cualquier período de 56 días posterior al inicio del tratamiento. De los pacientes que eran independientes de las transfusiones al inicio del estudio, el 64% permanecieron independientes de las transfusiones durante ese mismo periodo.

**Eventos adversos:** Los más comunes ( $\geq 20\%$ ), aumento de la aspartato aminotransferasa, aumento de la alanina aminotransferasa, disminución del potasio, disminución del sodio, aumento de la fosfatasa alcalina, náuseas, aumento de la creatinina, fatiga/malestar general, artralgia, estreñimiento, aumento de los linfocitos, aumento de bilirrubina, leucocitosis, aumento de ácido úrico, disnea, pirexia, exantema, aumento de lipasa, mucositis, diarrea y transaminitis. Se producen reacciones adversas graves en el 25% de los pacientes; las más frecuentes ( $\geq 5\%$ ) son el síndrome de diferenciación (9%) y transaminitis (6%). Se produjeron reacciones adversas mortales en el 1% de los pacientes, debido al síndrome de diferenciación. La interrupción permanente del tratamiento debido a una reacción adversa ocurre en el 8% de los pacientes, siendo las más comunes ( $\geq 1\%$ ) transaminitis, síndrome de diferenciación y trastornos de la vesícula biliar.

### Adagrasib (Krazati®) Mirati Therapeutics

**Indicación:** Tratamiento de pacientes adultos con cáncer de pulmón de células no pequeñas (CPCNP) localmente avanzado o metastásico, con mutación en KRAS G12C, determinada mediante una prueba aprobada por la FDA, que hayan recibido al menos una terapia sistémica previa.

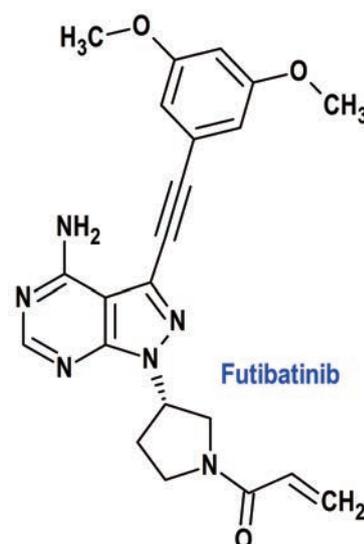


Tipo: Autorizado el 12-12-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*), de forma acelerada (*Accelerated Approval*); no autorizado aún en la Unión Europea.

**Mecanismo:** Inhibidor irreversible del KRAS G12C (*homólogo del oncogén viral del sarcoma de rata de Kirsten*), que actúa uniéndose covalentemente a la cisteína mutante en KRAS G12C y bloquea la proteína KRAS mutante en su estado inactivo que evita la señalización posterior sin afectar la proteína KRAS de tipo salvaje. La inactivación de KRAS G12C bloquea la señalización y la supervivencia de las células tumorales, inhibe el crecimiento celular y promueve la apoptosis selectivamente en tumores que albergan el oncogén KRAS G12C.

**Eficacia clínica:** Estudio de cohorte de expansión abierto, de un solo brazo y multicéntrico, a partir de 112 pacientes con NSCLC y mutación KRAS G12C localmente avanzado o metastásico que previamente recibieron tratamiento con un régimen basado en platino y un inhibidor del punto de control inmunitario. Los pacientes recibieron adagrasib hasta una toxicidad inaceptable o progresión de la enfermedad. Las evaluaciones del tumor se realizaron cada 6 semanas y las variables principales de eficacia fueron la tasa de respuesta objetiva (ORR) confirmada [43%; 0,9% completa y 42% parcial] y la duración de la respuesta (DOR) [8,5 meses de mediana y al menos 6 meses en el 58% de los pacientes], evaluadas mediante una revisión central independiente ciega de acuerdo con RECIST v1.1.

**Eventos adversos:** Los más comunes ( $\geq 25\%$ ) son náuseas (70%), diarrea (69%), vómitos (57%), fatiga (55%), dolor musculoesquelético (38%), hepatotoxicidad (37%), insuficiencia renal (33%), edema (30%), disnea (26%) y disminución del apetito (29%). Las anomalías de laboratorio de Grado 3 o 4 más comunes ( $\geq 2\%$ ) son disminución de linfocitos (20%), de hemoglobina (7%), de leucocitos (2,5%) y de neutrófilos (2,3%); aumento de alanina aminotransferasa (4,5%), de aspartato aminotransferasa (4,2%), de lipasa (2,5%), y de fosfatasa alcalina (2,0%); hipopotasemia (3,6%) e hiponatremia (3,4%).





### **Futibatinib (Lytgobi®) Taiho Oncology**

Indicación: Tratamiento de pacientes adultos con colangiocarcinoma intrahepático previamente tratado, no reseccable, localmente avanzado o metastásico que alberga fusiones del gen receptor 2 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGFR2) u otros reordenamientos.

Tipo: Autorizado el 30-9-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*), mediante revisión prioritaria (*Priority Review*); no autorizado aún en la Unión Europea.

Mecanismo: Inhibidor de cinasa de los receptores 1, 2, 3 y 4 del factor de crecimiento de fibroblastos (FGF), cuya señalización puede facilitar la proliferación y supervivencia de células neoplásicas. La unión covalente de futibatinib al receptor 2 (FGFR2) inhibe la fosforilación de éste y la subsiguiente señalización, disminuyendo la viabilidad celular de células cancerosas con alteraciones de FGFR, incluidas fusiones/reordenamientos, amplificaciones y mutaciones de FGFR.

Eficacia clínica: Ensayo multicéntrico, abierto y de un solo brazo sobre 103 pacientes con colangiocarcinoma intrahepático previamente tratado, irreseccable, localmente avanzado o metastásico que albergaba una fusión del gen FGFR2 u otro reordenamiento; el tratamiento se mantuvo hasta la progresión de la enfermedad o toxicidad inaceptable. Las variables principales de eficacia fueron la tasa de respuesta general (ORR: 43%, todas respuestas parciales) y la duración de la respuesta (DoR: mediana de 9.7 meses) según lo determinado por un comité de revisión independiente de acuerdo con RECIST v1.1.

Eventos adversos: Los más comunes ( $\geq 20\%$ ) son toxicidad en las uñas, dolor musculoesquelético, estreñimiento, diarrea, fatiga, boca seca, alopecia, estomatitis, dolor abdominal, piel seca, artralgia, disgeusia, ojo seco, náuseas, disminución del apetito, infección del tracto urinario, síndrome de eritrodisestesia palmar-plantar y vómitos. Las anomalías de laboratorio más comunes ( $\geq 20\%$ ) fueron aumento de fosfato, creatinina, glucosa, calcio, alanina aminotransferasa, fosfatasa alcalina, tiempo de tromboplastina parcial activada, aspartato aminotransferasa, creatina cinasa, bilirrubina e índice internacional normalizado de protrombina; disminución de hemoglobina, sodio, fosfato, linfocitos, plaquetas, leucocitos, albúmina, neutrófilos, glucosa y potasio. Se produjeron reacciones adversas graves en el 39% de los pacientes, siendo las más comunes pirexia (3,9%), hemorragia gastrointestinal (3,9%), ascitis (2,9%), dolor musculoesquelético (2,9%) y obstrucción de las vías biliares (2,9%). Se suspendió permanentemente el tratamiento 4,9% por reacciones adversas: esofagitis, disestesia oral, obstrucción del conducto biliar, mareos y anemia. Se produjeron interrupciones de la dosis en el 66% debido hiperfosfatemia, síndrome de eritrodisestesia palmar-plantar,

aumento de alanina aminotransferasa, aumento de aspartato aminotransferasa y fatiga. Se produjeron reducciones de dosis debido a una reacción adversa en el 58% debido a hiperfosfatemia, síndrome de eritrodisestesia palmar-plantar, fatiga, aumento de alanina aminotransferasa, aumento de aspartato aminotransferasa, toxicidad ungueal y estomatitis.

### **Ublituximab (Briumvi®) TG Therapeutics**

Indicación: Tratamiento de formas recidivantes de esclerosis múltiple, para incluir síndrome clínicamente aislado, enfermedad remitente-recidivante y enfermedad progresiva secundaria activa, en adultos.

Tipo: Autorizado el 28-12-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*); no autorizado aún en la Unión Europea. Medicamento biológico constituido por un anticuerpo IgG1 monoclonal quimérico recombinante con contenido reducido de fucosa, dirigido contra las células B que expresan CD20.

Mecanismo: Actúa uniéndose a CD20, un antígeno de la superficie celular presente en los linfocitos pre-B y B maduros. Después de la unión de la superficie celular a los linfocitos B, ublituximab provoca la lisis celular a través de mecanismos que incluyen la citólisis celular dependiente de anticuerpos y la citólisis dependiente del complemento. Con ello, se busca eliminar la población de linfocitos B en la sangre periférica y así controlar la actividad de la enfermedad.

Eficacia clínica: Dos ensayos clínicos aleatorizados, doble ciego, con doble simulación, de grupos paralelos, controlados con un comparador activo (teriflunomida), de diseño idéntico, sobre un total de 1.094 (549 + 545) pacientes tratados durante 96 semanas. Las variables primarias de eficacia clínica en ambos estudios fueron la tasa de recaída anualizada durante el período de tratamiento: 0,076 vs. 0,188 (-59%, favorable a ublituximab vs. teriflunomida) en el primer estudio y 0,091 vs. 0,178 (-49%) en el segundo, y la proporción de pacientes con progresión de la discapacidad confirmada a las 12 semanas: 5,2 vs. 5,9%. Las variables secundarias fueron el número medio de lesiones T1 hiperintensas en imágenes de resonancia magnética (MRI) en la semana 96: 0,016 vs 0,419 (-97%) y 0,009 vs 0,259 (-97%); y el de lesiones hiperintensas en T2 en MRI nuevas o en aumento en la semana 96: 0,213 vs 2,789 (-92%) y 0,282 vs 2,813 (-90%).

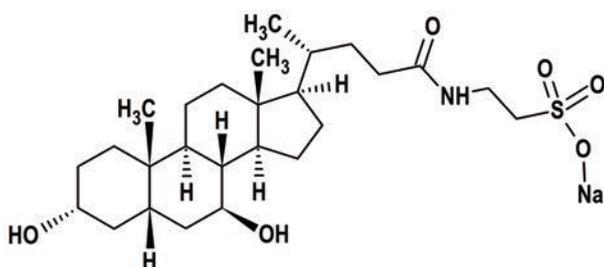
Eventos adversos: Los más comunes son reacciones a la infusión IV (48%), infecciones del tracto respiratorio superior (45%), infecciones del tracto respiratorio inferior (9%), infecciones asociadas al virus del herpes (6%), dolor en las extremidades (6%), insomnio (6%) y fatiga (5%).

## (N) Sistema Nervioso

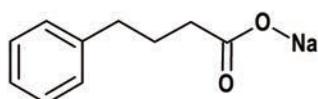
### Taurursodiol/Fenilbutirato (Relyvrio®) Amylyx

Indicación: Tratamiento de la esclerosis lateral amiotrófica (ELA) en adultos.

Tipo: Autorizado el 29-9-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*) y mediante revisión prioritaria (*Priority Review*); no autorizado aún en la Unión Europea. Combinación de dos principios activos, el fenilbutirato sódico y el taurursodiol (ácido taurursodesoxicólico) sódico, un ácido biliar ambifílico producto de la conjugación de taurina con ursodiol (ácido ursodesoxicólico).



Taurursodiol (Taurodesoxicolato) sódico



Fenilbutirato sódico

Mecanismo: Parece reducir la muerte neuronal al mitigar tanto el estrés del retículo endoplásmico como la disfunción mitocondrial. La disfunción conjunta de estos dos orgánulos dentro de las neuronas motoras se ha reconocido como un factor patógeno potencial en la ELA. Hay datos preclínicos que respaldan un efecto mitigador de ambos fármacos tanto individualmente como en combinación sobre la muerte neuronal y otras características específicas de la enfermedad en modelos de enfermedades neurodegenerativas y disfunción mitocondrial.

Eficacia clínica: Ensayo clínico multicéntrico, aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo, de grupos paralelos y 24 semanas de duración, que incluyó a 137 pacientes adultos con un diagnóstico definitivo de ELA esporádica o familiar según la definición de los criterios revisados de El Escorial, con inicio de síntomas en los últimos 18 meses y una capacidad vital lenta (SVC) superior al 60 % de lo previsto. La variable principal de eficacia fue la comparación de la tasa de reducción en las puntuaciones totales de ALSFRS-R (ALS Functional Rating Scale Revised) desde el inicio hasta la semana 24: 29,03 vs 26,73 (diferencia de 2,32 estadísticamente significativa).

Eventos adversos: Los más comunes son diarrea (25% vs. 19% placebo), dolor abdominal (21 vs. 13%), náusea (18 vs. 13%), infección del tracto respiratorio superior (18 vs. 10%), fatiga (12 vs. 6%), hipersecreción salival (11 vs. 2%) y mareo (10 vs. 4%).

### Elivaldogene Autotemcel (Skysona®) Bluebird Bio

Indicación: Para retrasar la progresión de la disfunción neurológica en niños de 4 a 17 años de edad con adrenoleucodistrofia cerebral activa temprana que sean asintomáticos o levemente sintomáticos (puntuación de función neurológica, NFS ≤ 1) que tienen realce de gadolinio en imágenes de resonancia magnética (IRM) del cerebro y puntuaciones de Loes de 0,5 a 9.

Tipo: Autorizado el 16-9-2022 mediante revisión prioritaria (*Priority Review*) y con bono para la revisión prioritaria de enfermedades pediátricas raras (*Rare Pediatric Disease Priority Review Voucher, RPD*); fue autorizado en la Unión Europea el 16-7-2021, pero fue retirada el 18-11-2021 a solicitud del titular de autorización. Medicamento biológico de terapia avanzada (génica) preparado a partir de las células hematopoyéticas del propio paciente, que se recolectan mediante aféresis. Las células autólogas se enriquecen con células CD34+, luego se transducen ex vivo con un vector lentiviral (Lenti-D LVV) y se cultivan con factores de crecimiento. Lenti-D LVV es autoinactivante, incompetente para la replicación, que lleva ADNc de ABCD1 que codifica ALDP normal. El gen ABCD1 está bajo el control de un promotor interno MNDU3, que es un promotor viral modificado y se ha demostrado que controla la expresión del transgén en las células hematopoyéticas y su progenie en todos los linajes.

Mecanismo: El medicamento agrega copias funcionales del ADNc de ABCD1 en las células madre hematopoyéticas (HSC) de los pacientes a través de la transducción de células CD34+ autólogas con Lenti-D LVV. Después de la infusión, las HSC CD34+ transducidas se injertan en la médula ósea y se diferencian en varios tipos de células, incluidos los monocitos (CD14+) capaces de producir ALDP funcional. La ALDP funcional puede entonces participar en la degradación local de los ácidos grasos de cadena muy larga (VLCFA), que se cree que ralentiza o posiblemente previene una mayor inflamación y desmielinización.

Eficacia clínica: Dos estudios abiertos de un solo brazo de 24 meses, totalizando 65 pacientes. Se observó una progresión más lenta de la disfunción neurológica o muerte desde el momento del inicio de los síntomas para los pacientes tratados en comparación con una historia natural similar de la enfermedad, estimándose que la supervivencia sin discapacidad funcional fue del 72 % para la subpoblación sintomática tratada en el mes 24 desde el momento de la primera dosis y del 43 % para la población de historia natural.

Eventos adversos: Se produjeron reacciones adversas graves en el 54% de los pacientes, siendo las más comunes (incidencia ≥ 3 %) neutropenia febril (18%), pirexia (18%), convulsiones (7%), síndrome mielodisplásico (4%), bacteriemia por *Pseudomonas* (3%), pancitopenia (3%), infección de dispositivos vasculares (3%), mucositis (3%) y vómitos (3%).



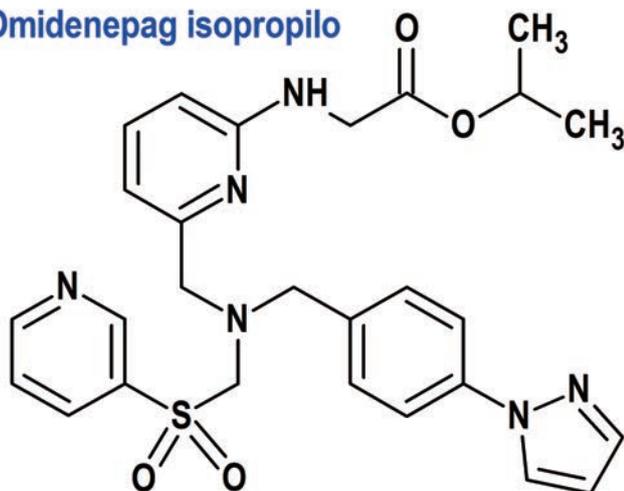
## (S) Órganos Sensoriales

### Omidenepag Isopropilo (Omlonti®) Santen

Indicación: Reducción de la presión intraocular (PIO) elevada en pacientes con glaucoma de ángulo abierto o hipertensión ocular.

Tipo: Autorizado el 22-9-2022; no autorizado aún en la Unión Europea. Se trata de un profármaco que libera el agente activo (omidenepag) mediante hidrólisis, tras su absorción a través de la córnea.

### Omidenepag isopropilo



Mecanismo: Agonista selectivo del receptor de la prostaglandina E2 (EP2), que disminuye la presión intraocular (PIO), reduciendo por tanto la probabilidad de daño del nervio óptico y de la correspondiente pérdida del campo visual glaucomatoso.

Eficacia clínica: Tres ensayos clínicos aleatorizados y controlados con timolol y latanoprost en sujetos con glaucoma de ángulo abierto o hipertensión ocular con una PIO inicial promedio de 24-26 mm Hg. La duración del tratamiento con doble enmascaramiento fue de 3 meses en los 3 estudios, el último de los cuales incluyó un período de tratamiento abierto de 9 meses después del período de tratamiento doble ciego de 3 meses. En los tres estudios, se observaron reducciones de la PIO en el brazo de omidenepag entre 5 y 7 mm Hg en los tres estudios. Las reducciones correspondientes para los brazos de timolol y latanoprost fueron de 5 a 7 mm Hg y de 6 a 8 mm Hg, respectivamente.

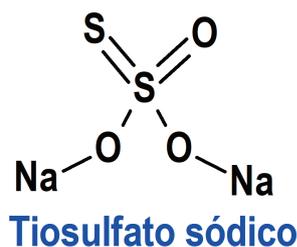
Eventos adversos: Los más comunes son hiperemia conjuntival (9%), fotofobia (5%), visión borrosa (4%), ojo seco (3%), dolor en el lugar de la instilación (3%), dolor ocular (2%), hiperemia ocular (2%), puntiforme queratitis (2%), dolor de cabeza (2%), irritación ocular (1%) y discapacidad visual (1%).

## (V) Varios

### Tiosulfato Sódico (Pedmark®) Fennec

Indicación: Reducción del riesgo de ototoxicidad asociada con el cisplatino en pacientes pediátricos de 1 mes de edad y mayores con tumores sólidos localizados no metastásicos.

Tipo: Autorizado el 20-9-2022 como medicamento huérfano (*Orphan drug*) y con revisión prioritaria (*Priority Review*); no autorizado aún en la Unión Europea para esta indicación.



Mecanismo: La ototoxicidad inducida por el cisplatino es causada por un daño irreversible a las células ciliadas en la cóclea, posiblemente como consecuencia de la combinación de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y de la reacción de alquilación directa de ADN, lo que conduce a la muerte celular. El tiosulfato de sodio interactúa directamente con el cisplatino para producir una especie de platino inactiva; además, el tiosulfato de sodio puede ingresar a las células a través del cotransportador de sulfato de sodio 2 y causar efectos intracelulares como el aumento de los niveles de glutatión antioxidante y la inhibición del estrés oxidativo intracelular. Ambas actividades pueden contribuir a la capacidad del tiosulfato de sodio para reducir el riesgo de ototoxicidad.

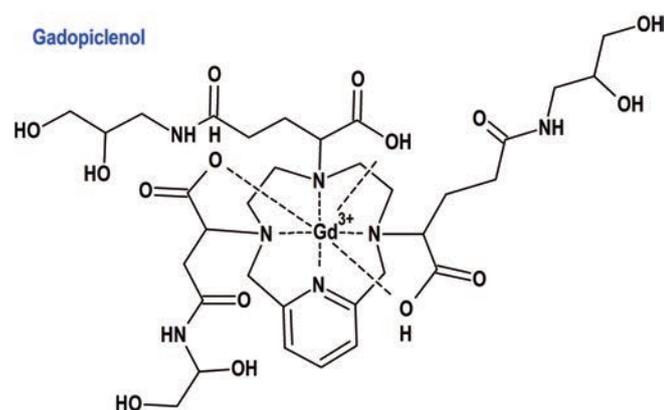
Eficacia clínica: Dos estudios multicéntricos, aleatorizados, controlado y abiertos, totalizando 239 pacientes entre 1 mes y 18 años de edad recibieron 6 ciclos de quimioterapia perioperatoria basada en cisplatino, con o sin tiosulfato. La variable principal de eficacia fue la tasa de pacientes que experimentaron pérdida auditiva evaluada según los criterios de la American SpeechLanguage-Hearing Association (ASHA): 39-44% (con tiosulfato) vs. 58-68% (sin tiosulfato).

Eventos adversos: Los más comunes (significativamente más que con cisplatino solo) son vómitos (85%), náusea (40%), reducción de los niveles de hemoglobina (34%), hipernatremia (26%), hipopotasemia (15%), hiperfosfatemia (15%), pirexia (15%) e hipomagnesemia (11%). Las reacciones adversas de grado 3 o 4 más comunes son reducción de los niveles de hemoglobina (19%), hiperfosfatemia (9%), pirexia (9%), hipomagnesemia (9%) y vómitos (8%).

### Gadopiclenol (Elucirem®) Guerbet

Indicación: En pacientes adultos y pediátricos a partir de los 2 años de edad para usar con resonancia magnética nuclear (RMN) para detectar y visualizar lesiones con vascularización anormal en el sistema nervioso central (cerebro, columna y tejidos asociados) y en el cuerpo (cabeza y cuello, tórax, abdomen, pelvis y sistema musculoesquelético).

Tipo: Autorizado el 21-9-2022, mediante revisión prioritaria (*Priority Review*); no autorizado aún en la Unión Europea.



Mecanismo: Es un agente de contraste a base de gadolinio, que forma un complejo no iónico macrocíclico de carácter paramagnético, que desarrolla un momento magnético cuando se coloca en un campo magnético, el cual altera las tasas de relajación de los protones del agua en su vecindad en el cuerpo, lo que lleva a un aumento en la intensidad de la señal (brillo) de los tejidos.

Eficacia clínica: Dos estudios clínicos prospectivos, doble ciego, aleatorizados y cruzados. El estudio 1 se realizó en 256 adultos con lesiones conocidas o muy sospechadas del SNC con áreas focales de alteración de la barrera hematoencefálica y el estudio 2 se realizó en 304 adultos con presuntas anomalías realizadas en al menos una región del cuerpo entre la cabeza y el cuello, el tórax, el abdomen, la pelvis y el sistema musculoesquelético. En ambos estudios, los pacientes recibieron gadopiclenol y gadobutrol (como comparador activo) en orden aleatorio separados por 2 a 14 días. Se realizaron imágenes de resonancia magnética antes y después de la administración de cada agente de contraste. Tres lectores centrales que desconocían la identidad del agente de contraste evaluaron de forma independiente conjuntos de imágenes previas al contraste y pareadas (previas y posteriores al contraste para el mismo fármaco). Los lectores puntuaron hasta tres lesiones por paciente para la delimitación de los bordes, la morfología interna y la mejora del contraste, cada una en una escala del 1 al 4. También se informó el número total de lesiones. Un lector central independiente adicional realizó el seguimiento de lesiones para permitir la comparación de lesiones entre imágenes previas al contraste y emparejadas. El análisis comparó la puntuación promedio a nivel del paciente para las lesiones coincidentes para

cada parámetro de visualización entre conjuntos de imágenes previas al contraste y pareadas. Las puntuaciones de visualización de lesiones con gadopiclenol y el número de lesiones identificadas por paciente fueron similares a las del gadobutrol en los dos estudios.

Eventos adversos: Los más comunes son dolor en el lugar de la inyección (0,7%), dolor de cabeza (0,7%), náuseas (0,4%), calor en el lugar de la inyección (0,4%), frío en el lugar de la inyección (0,3%), mareos (0,3%) e inflamación localizada (0,3%).

### Xenón [Xe-129] Hiperpolarizado (Xenoview®) Polarean

Indicación: Obtención de imágenes por resonancia magnética para la evaluación de la ventilación pulmonar en adultos y pacientes pediátricos de 12 años de edad y mayores.

Tipo: Autorizado el 23-12-2022; no autorizado aún en la Unión Europea. El xenón Xe-129 hiperpolarizado es químicamente idéntico al xenón Xe-129 no polarizado; es un gas transparente, incoloro, inerte y estable que está presente de forma natural en el aire a un nivel de 0,087 ppm (partes por millón), formando parte de un conjunto de nueve isótopos no radiactivos, de los cuales el xenón Xe-129 supone el 26,4 %. El medicamento consiste en un cilindro con una mezcla de gases que contiene xenón con pureza isotópica Xe-129 > 80% (1%), junto con nitrógeno (10%) y helio (89%). La hiperpolarización del Xe-129 es producida in situ por el sistema de hiperpolarización HPX.

Mecanismo: La inhalación de gas xenón Xe-129 hiperpolarizado se utiliza junto con un escáner de resonancia magnética con capacidad multinuclear, para obtener imágenes de la ventilación pulmonar. Los núcleos de xenón Xe-129 hiperpolarizados se detectan directamente mediante una bobina de resonancia magnética específica.

Eficacia clínica: Dos ensayos clínicos prospectivos, multicéntricos, aleatorizados, abiertos y cruzados que compararon la resonancia magnética con xenón Xe-129 con gammagrafía con xenón Xe-133 en pacientes adultos con trastornos pulmonares. La dosis media de utilizada fue de 99 ml de DE de xenón Xe-129 hiperpolarizado en el momento de la medición dentro de los 5 minutos posteriores a la administración. En cada prueba se calculó en ambos brazos de estudio la fracción de la señal total en los pulmones en cada una de las seis zonas (regiones superior, media e inferior en cada pulmón). Estos valores se usaron para estimar el porcentaje posoperatorio de ventilación pulmonar que se predijo que permanecería después de la resección planificada de un área pulmonar especificada previamente. En el primer estudio (31 pacientes), los porcentajes de pacientes que tenían diferencias estandarizadas dentro de  $\pm 10\%$ ,  $\pm 15\%$  y  $\pm 20\%$  fueron 81%, 94% y 94 %, respectivamente; en el segundo estudio (49 pacientes), los porcentaje respectivos del  $\pm 10\%$ ,  $\pm 15\%$  y  $\pm 20\%$  fueron del 65%, 80% y 96%.

Eventos adversos: Los más comunes son dolor orofaríngeo (4,8%), dolor de cabeza (2,4%) y mareos (2,4%).



### 3. PROCEDIMIENTOS ESPECIALES DE EVALUACIÓN Y AUTORIZACIÓN

Tanto la Agencia Europea de Medicamentos (*European Medicines Agency, EMA*) como la *Food & Drug Administration (FDA)* de Estados Unidos disponen de diversos procedimientos de evaluación y autorización de medicamentos para incentivar el desarrollo de nuevos tratamientos para enfermedades que de otra manera no atraerían el interés de las empresas debido al elevado coste del desarrollo y la imposibilidad de retorno económico comercial, así como para facilitar la mejor y más rápida disponibilidad posible de medicamentos designados como especialmente relevantes atendiendo a las particulares características patológicas de algunos pacientes, así como a la gravedad de las patologías para los que son destinados y a su potencial repercusión social y epidemiológica, valorando si constituyen el primer tratamiento disponible o si presentan ventajas significativas sobre los tratamientos existentes. Estas designaciones y procedimientos son referenciados, en su caso, en las monografías de los medicamentos previamente descritas.

#### EMA

- **Revisión prioritaria (*Priority Medicines; PRIME*):** es un esquema de evaluación de la EMA para apoyar el desarrollo de medicamentos que se dirigen a una necesidad médica no cubierta, basándose en una interacción mejorada y un diálogo temprano con los desarrolladores de medicamentos prometedores, para optimizar los planes de desarrollo y acelerar la evaluación para que estos medicamentos puedan llegar antes a los pacientes, empleando para ello el asesoramiento científico y la evaluación acelerada.
- **Evaluación acelerada (*Accelerated assessment*):** reduce el plazo máximo para que el Comité de Medicamentos de Uso Humano (CHMP) revise una solicitud de autorización de comercialización de medicamentos, pasando de 210 a 150 días. Las solicitudes pueden ser elegibles para una evaluación acelerada si el CHMP decide que el producto es de gran interés para la salud pública y la innovación terapéutica.
- **Autorización de comercialización condicional (*Conditional marketing authorisation*)** para solicitudes de medicamentos que presenten datos clínicos menos completos que los normalmente requeridos, siempre que el beneficio de la disponibilidad inmediata del medicamento supere el riesgo inherente al hecho de que todavía se requieren datos adicionales, tal como aquellos destinados a tratar, prevenir o diagnosticar enfermedades gravemente debilitantes o potencialmente mortales, incluyendo a los medicamentos huérfanos.
- **Autorización de comercialización en condiciones excepcionales**

(*Exceptional circumstances*) para medicamentos en los que el solicitante no puede proporcionar datos completos sobre la eficacia y la seguridad en condiciones normales de uso, porque la condición a tratar es rara o porque la recopilación de información completa no es posible o no es ético.

- **Medicamento huérfano (*Orphan drug*):** son designados como tales aquellos destinados a tratar enfermedades raras (en la Unión Europea son aquellas que afectan a menos de 5 de cada 10.000 habitantes), no resultan atractivos a los patrocinadores por su escasa rentabilidad y precisan por ello apoyo adicional para su desarrollo.

#### FDA

- **Revisión prioritaria (*Priority Review*):** evaluación de solicitudes de medicamentos que, de aprobarse, serían mejoras significativas en la seguridad o eficacia del tratamiento, diagnóstico o prevención de afecciones graves en comparación con las solicitudes estándar, considerando mejora significativa a la evidencia de mayor efectividad en el tratamiento, prevención o diagnóstico de la condición; eliminación o reducción sustancial de una reacción farmacológica limitante del tratamiento; mejora documentada del cumplimiento del paciente que se espera que conduzca a una mejora en los resultados graves; o evidencia de seguridad y eficacia en una nueva subpoblación.
- **Bono para la revisión prioritaria de enfermedades pediátricas raras (*Rare Pediatric Disease Priority Review Voucher, RPD*):** la FDA puede otorgar bonos o cupones de revisión prioritaria a los patrocinadores de aplicaciones de productos destinados para enfermedades pediátricas raras que cumplan con ciertos criterios. Este bono es un incentivo que el patrocinador recibe en forma de "cupón especial", el cual puede ser empleado de dos maneras: para aplicar el sistema de revisión prioritaria de la FDA en cualquier otro de sus productos o venderlo a otra compañía interesada en que su propio medicamento sea revisado de forma prioritaria.
- **Terapia innovadora (*Breakthrough Therapy*):** medicamentos destinados a tratar una afección grave y cuya evidencia clínica preliminar indica que puede demostrar una mejora sustancial sobre la terapia disponible en una o varias variables clínicamente significativas, como la duración del efecto, la relevancia del resultado clínico observado mostrando una clara ventaja sobre la terapia disponible.
- **Autorización acelerada (*Accelerated Approval*):** medicamentos indicados en afecciones graves que cubran una necesidad médica no satisfecha, que puedan ser autorizados precozmente basándose en una a más variables subrogadas (una medida de laboratorio o signo físico que se usa como sustituto de una



variable clínicamente significativa que es una medida directa sobre lo que siente un paciente, sus funciones o su supervivencia y que se espera que prediga el efecto de la terapia).

- **Vía rápida (*Fast Track*):** medicamentos que aborden enfermedades graves en las que puedan tener un impacto significativo sobre la supervivencia, el funcionamiento diario o la probabilidad de que la afección, si no se trata, progrese de una condición menos severa a una más severa, tales como el SIDA, la enfermedad de Alzheimer, la insuficiencia cardíaca y o cáncer.
- **Medicamento huérfano (*Orphan drug*):** designación de un medicamento potencialmente útil para prevenir, diagnosticar o tratar una enfermedad rara; es decir, con menos de 200.000 pacientes/año (los que supone una prevalencia aproximada de 7,5/10.000 habitantes, en la actualidad).

Si desea citar nuestro artículo:

**Fármacos novedosos autorizados recientemente  
por EMA y FDA (4º trimestre de 2022**

Santiago Cuéllar Rodríguez

An Real Acad Farm (Internet).

An. Real Acad. Farm. Vol. 88. nº4 (2022) · pp. 767 - 783

DOI: <http://dx.doi.org/10.53519/analesranf.2022.88.04.07>





