

E-ISSN 2340-9894 · EDITA: FACULTAD DE FARMACIA DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

Ars Pharmaceutica

Vol. 64(4) · Octubre-diciembre 2023

E-ISSN 2340-9894

Ars Pharmaceutica es una revista científica de carácter multidisciplinar, en el ámbito de las Ciencias Farmacéuticas en su sentido más amplio, con especial énfasis en la Tecnología y Química Farmacéutica, Farmacología, y Atención Farmacéutica. Ha sido pionera en España en estas disciplinas, editada por la Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada desde 1960 de manera ininterrumpida. Durante este tiempo se ha ido adaptando a la evolución de la mayoría de las revistas científicas, en la que se ha pasado de su publicación en papel a convertirla en una revista electrónica de libre acceso. Esto ha supuesto una mayor accesibilidad de investigadores de todos los países a la publicación, lo que se ha podido comprobar por el número de visitas recibidas en la web y un interés por publicar sus trabajos en ella. El hecho de aceptar trabajos en español o inglés indistintamente, también ha contribuido a aumentar el número de originales recibidos en la última década.

Actualmente se encuentra indexada en las siguientes bases de datos/directorios/repertorios: EMERGING SOURCE CITATION INDEX (ESCI), EBSCO, EMBASE, DIALNET, DOAJ, GOOGLE ACADEMICO, LATINDEX, REDIB, SCIELO, IBECS, MIAR y es nuestra intención aumentar su presencia en otras bases. Se han establecido las distintas categorías de trabajos que se pueden publicar. Para agilizar el envío de originales a través de la web se ha desarrollado un sistema electrónico de envío. Se han habilitado recursos humanos y económicos, que nos permiten ofrecer la revista en formato electrónico y de forma gratuita a todos los científicos y profesionales interesados.

La revista se alinea con la Open Access Journal y los artículos que se publican lo hacen según los términos de la licencia Creative Commons 4.0 Internacional (CC BY-NC-SA 4.0) desde 2018. Ars Pharmaceutica no cobra tasas por el envío de trabajos, ni por la publicación de sus artículos.

Esta revista es el órgano de expresión de la “Cátedra Maria José Faus Dader de Atención Farmacéutica”, desde 2012.

En el año 2021 se le ha renovado el sello de calidad editorial otorgado por la FECYT, por un periodo de tres años y ha entrado en el nuevo índice de impacto JCI (Journal Citation Indicator), lo que ha supuesto estar dentro de las 357 revista del mundo en el campo de la Farmacología y la Farmacia, recogidas en los JCR de la Web of Science. Por ello desde aquí invitamos a todos los autores a enviar sus aportaciones a las distintas secciones de la revista.

Contacto de la Redacción

Editorial Office Contact Info

Ars Pharmaceutica.
Facultad de Farmacia.
Universidad de Granada.
Campus de Cartuja s/n.
18071 -Granada. España
email: ars@ugr.es

Edita

Scientific Editor

Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada

Publica

Publisher

Facultad de Farmacia de la Universidad de Granada
Campus de Cartuja, s.n.
18071 - GranadaEspaña | Spain

Toda la información sobre la revista en
More info about the journal available on

Equipo Editorial

Directores Honoríficos:

Dr. Jesús Cabo Torres. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, España

Dra. María José Faus Dáder, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, España

Dr. Fernando Martínez-Martínez, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, España

Director

Dr. Manuel Sánchez Polo, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, España

Editora

Dra. María Dolores Ruiz-López, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, España

Coordinadores de área

Atención Farmacéutica

Dr. José Pedro García Corpas, Cátedra Atención Farmacéutica, Univ. de Granada, España

Estudios clínicos

Dra. Carmina Wanden-Berghe, Hospital General de Alicante, España

Farmacia Clínica

Dr. Miguel Ángel Calleja, Farmacia Hospitalaria. Hospital Virgen de las Nieves. Granada, España

Fisiología y Fisiopatología experimental

Dra. Inmaculada López Aliaga. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada España

Legislación y Gestión farmacéutica

Dra. María Dolores Cabezas López. Farmacia Asistencial, social y Legal. Universidad de Granada. España

Microbiología Clínica

Dra. Belén Juárez Jiménez, Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Granada, España

Química Farmacéutica

Dr. Joaquín María Campos Rosa, Química Farmacéutica y Orgánica Univ. Granada, España

Radiofarmacia

Dr Antonio Matilla, Química Inorgánica, Radiofarmacia. Univ. de Granada, Granada, España

Salud

Dra. Reyes Artacho. Nutrición y Bromatología. Universidad de Granada. Granada. España

Tecnología Farmacéutica

Dra. Beatriz Clares Naveros, Tecnología Farmacéutica. Univ. de Granada, España

Consejo Asesor

Dr. Pedro Amariles. Farmacia Clínica. Universidad de Antioquia, Colombia

Dr. Shalom Isaac Benrimoj. Pharmacy Practice. Universidad Tecnología Sydney, Australia

Dr. Fernando Fernández-Llimós. Farmacia Social. Universidad de Lisboa, Portugal

Dra. Lidiette Fonseca González. Biofarmacia, Universidad de Costa Rica, Costa Rica

Dr. Tomas de Haro. Análisis Clínico. Hospital Clínico San Cecilio. Granada, España

Dra. Marcela Raquel Longhi. Ciencias Farmacéuticas. Universidad Nacional de Córdoba. Argentina

Dr. Eduardo Luis Mariño. Unidad Farmacia Clínica. Universidad de Barcelona, España

Dra. Ana Isabel del Moral García. Microbiología. Universidad de Granada. España

Dra. Lucrecia Moreno. Farmacología. Universidad CEU Cardenal Herrera. Valencia, España

Dr. José Cristian Plaza-Plaza. Facultad de Química y de Farmacia. Pontificia Universidad Católica de Chile, Chile.

Dr. José Luis Quiles. Fisiología. Universidad de Granada. Granada, España

Dr. Carlos Tomás Quirino Barreda. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco. México

Dr. Antonio Rabasco. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad de Sevilla, España

Dra. María del Carmen Ramírez Tortosa. Bioquímica y Biología Molecular. Universidad de Granada, España

Dr. Alan Joel Ruiz Padilla. Farmacia Asistencial. Universidad de Guanajuato. México

Dr. Daniel Sabater. Pharmacy Practice. Universidad Tecnología Sydney, Australia

Dr. Javier Sanz Valero. Instituto de Salud Carlos III. Madrid. España

Dra. Ana Isabel Torres Suárez. Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Universidad Complutense, Madrid. España

Sumario Contents

Artículos Originales / Original Articles

- 315-328 **MARÍA MARGARITA RÍOS-CABRERA, IRALDO BELLO-RIVERO, JAVIER CRUZ-RODRÍGUEZ**
Combinación de interferones en pacientes con tumores cerebrales de alto grado de malignidad sin opciones terapéuticas
Combination of interferons in patients with high-grade brain tumors without therapeutic options
- 329-341 **M^a ÁNGELES PEÑA-FERNÁNDEZ, GAIA SPANÒ, NORMA SOFÍA TORRES-PABÓN, FLEMING MARTÍNEZ**
Solubility data and solubility parameters of barnidipine in different pure solvents
Solubilidad y parámetros de solubilidad del barnidipino en diferentes disolventes puros

Originales breves/ Short Articles

- 342-347 **JOSÉ MIGUEL SOTOCA-MOMBLONA, MARINA ROVIRA-ILLAMOLA**
Estudio de utilización de nirmatrelvir/ritonavir en tres centros de atención primaria durante 2022
Drug use evaluation of nirmatrelvir/ritonavir in three primary care centres during 2022

- 348-358 **PEDRO AMARILES**
Legalización del consumo de cannabis recreativo en adultos y problemas de salud mentales
Legalization of recreational cannabis use in adults and mental health problems

- 359-375 **PRAKASH RAJAK, ROFIQUL ISLAM, ARKA KARMAKAR, BIMAN BHUYAN**
Aquasomal drug delivery system: A special emphasis on the formulation techniques and applications
Sistema de administración de fármacos Aquasomal: Especial énfasis en las técnicas de formulación y aplicaciones
- 376-384 **VICENTE OTERO EGOCHEAGA**
Ecdiesteroides y su actividad farmacológica sobre el músculo esquelético
Ecdysteroids and their pharmacological activity on skeletal muscle

doi: 10.30827/ars.v64i4.27824

Artículos originales

Combinación de interferones en pacientes con tumores cerebrales de alto grado de malignidad sin opciones terapéuticas

Combination of interferons in patients with high-grade brain tumors without therapeutic options

María Margarita Ríos-Cabrera¹  0000-0002-0259-3730

Iraldo Bello-Rivero²  0000-0003-0154-9137

Javier Cruz-Rodríguez³  0000-0002-7849-4050

¹Hospital Provincial Clínico-Quirúrgico “Arnaldo Milián Castro”, Departamento de Investigaciones, Santa Clara, Cuba.

²Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología, Departamento de Investigaciones Clínicas, La Habana, Cuba.

³Hospital Provincial Clínico-Quirúrgico “Arnaldo Milián Castro”, Servicio de Cirugía General, Santa Clara, Cuba.

Recibido: 10.04.2023

Aceptado: 02.07.2023

Publicado: 20.09.2023

Correspondencia

MSc. Lic. María Margarita Ríos-Cabrera
mariamrc@infomed.cu

Agradecimientos

Agradecemos a los especialistas participantes en el tratamiento de los pacientes.

Financiación

Sin financiamiento.

Conflicto de intereses

Sin conflictos de intereses.

Resumen

Introducción: La escasa supervivencia de pacientes con tumores cerebrales de alto grado de malignidad, pese a la existencia de algunas opciones de tratamiento, conduce a la búsqueda de nuevas modalidades terapéuticas. La combinación cubana de interferones alfa y gamma es novedosa y existen evidencias de que aumenta la supervivencia de pacientes con tumores sólidos.

Método: Se realizó una investigación clínica para determinar la eficiencia de la combinación en pacientes con tumores cerebrales de alto grado sin opciones terapéuticas. Se incluyeron 40 pacientes tratados en el Hospital “Arnaldo Milián Castro” en el período 2009-2020, se evaluó seguridad y eficacia.

Resultados: No se produjeron efectos adversos graves, fueron leves o moderados, y los pacientes se recuperaron. Al año habían fallecido el 8,7 % de los casos del grupo experimental, frente al 70,6 % en el grupo control. La supervivencia global en estadio III fue similar en ambos escenarios y en estadio IV fue superior para el grupo experimental. La posibilidad de sobrevivir para los pacientes que se trataron con la combinación de interferones fue 0,887 veces superior a los casos control. Se produjeron diferencias significativas en la capacidad funcional entre ambos grupos de pacientes.

Conclusiones: Se evidenció que la combinación cubana de interferones es segura y eficaz para el tratamiento de tumores cerebrales de alto grado de malignidad sin opciones terapéuticas, lo que la convierte en una opción eficiente en este escenario clínico.

Palabras clave: tumor cerebral; interferón; investigación clínica.

Abstract

Introduction: The poor survival of patients with high-grade malignancy brain tumors, despite the existence of some treatment options, leads to the search for new therapeutic modalities. The Cuban combination of alpha and gamma interferons is novel and there is evidence that it increases the survival of patients with solid tumors.

Method: A clinical investigation was conducted to determine the efficiency of the combination in patients with high-grade brain tumors without therapeutic options. 40 patients treated at the “Arnaldo Milián Castro” Hospital in the period 2009-2020 were included, safety and efficacy were evaluated.

Results: No serious adverse events occurred, events were mild or moderate, expected, and patients recovered. After one year, 8.7 % of the cases in the experimental group had died, compared to 70.6 % in the control group. Overall survival in stage III was similar in both scenarios and in stage IV it was higher for the experimental group. The chance of survival for the patients who were treated with the combination of interferons was 0.887 times higher than the control cases. There were significant differences in functional capacity between both groups of patients.

Conclusions: It was evidenced that the Cuban combination of interferons is safe and effective for the treatment of high-grade malignancy brain tumors without therapeutic options, which makes it an efficient option in this clinical scenario.

Keywords: brain tumor; interferon; clinical research.

Puntos clave

Los tumores cerebrales recurrentes de alto grado se caracterizan por una profunda inmunosupresión y un crecimiento agresivo, las opciones terapéuticas de segunda o tercera línea son escasas y con resultados controversiales de seguridad y eficacia. Algunos ensayos clínicos están en curso, pero deben potenciarse las investigaciones en este campo.

No existe una investigación anterior que evalúe esta propuesta, que evidencia la seguridad y eficacia de la combinación cubana de interferones como nueva línea de terapia en pacientes con tumores cerebrales avanzados sin opción terapéutica.

La producción de un fármaco nacional, que responde de modo eficaz a parámetros de seguridad y supervivencia en enfermedades sin opciones terapéuticas, constituye una estrategia gubernamental para mejorar la oferta de salud a los pacientes, ampliar los horizontes de investigación con el fármaco y reducir importaciones.

Introducción

El cáncer ocasiona millones de muertes al año y origina altos costos. Los tumores primarios del Sistema Nervioso Central (SNC) corresponden al 2 % de todos los tipos de cáncer. A escala mundial en el año 2020 se diagnosticaron 308 102 casos de tumores del SNC, con 251 329 defunciones. Dentro de los tumores de encéfalo primarios, el 38 % son de alto grado de malignidad.⁽¹⁾ En el 2018 en Cuba, esta entidad ocasionó la muerte de 617 pacientes, con una tasa ajustada entre 5,6 y 5,4 por cada 100 000 habitantes.⁽²⁾ El tratamiento de primera línea de los tumores de alto grado es la cirugía, seguido de radioterapia, pero se ha obtenido un limitado progreso en su tratamiento.⁽³⁻⁵⁾ Se estima que en más del 95 % de los casos ocurre una recurrencia en el área adyacente a la resección.^(6,7) La sobrevida de pacientes de alto grado persistentes o recidivantes es alrededor de seis meses, y menos del 10 % sobrevive dos años.^(8,9) La aplicación de enfoques inmunoterapéuticos, especialmente estrategias de combinación, han demostrado alguna eficacia contra el glioblastoma multiforme (GM). La asociación de inhibidores del punto de control inmunitario con radioterapia parece ser una estrategia a considerar, sin embargo, las reacciones de disparidad en los estudios indican la necesidad de realizar investigaciones adicionales para evaluar la eficacia en grupos específicos de pacientes. Estas terapias dianas inducen pocas respuestas completas en los enfermos, no han sido curativas y han mostrado toxicidad, sin lograr beneficios notables en la supervivencia.

Estos resultados tan pobres conducen a la búsqueda de nuevas modalidades terapéuticas que produzcan un impacto real en la supervivencia, en condiciones de seguridad para los pacientes y con factibilidad económica en su empleo.

El interferón (IFN), primer modificador de respuesta biológica efectivo, se ha utilizado con frecuencia para tratar diversas neoplasias, como el sarcoma de Kaposi⁽¹⁰⁾ y el mieloma múltiple.⁽¹¹⁾ Existen tres tipos de Interferones: Tipo I (IFN- α e IFN- β), Tipo II (IFN- γ) y Tipo III (IFN λ 1, λ 2, λ 3), esta clasificación se basa en la procedencia celular, la derivación genética y las propiedades de cada uno de ellos.⁽¹²⁾ Pueden ser divididos en tipos antigénicamente distintos y también por el tipo de estímulo para su inducción.⁽¹³⁾ La acción antitumoral de los interferones (IFNs) está mediada en lo fundamental por la inhibición del crecimiento y la inducción de la apoptosis de las células tumorales, ya que actúan a nivel del ciclo celular.^(14,15) Al controlar la apoptosis, el IFN- γ puede ejercer acción antitumoral, este efecto es dependiente del estado de diferenciación de las células y de los niveles de receptores para IFN.^(16,17) El IFN- α ha resultado eficaz en el tratamiento de tumores sólidos que constituyen indicaciones reconocidas de este tipo de producto, tales como carcinoma renal, de mama, basocelulares, superficial de vejiga y en carcinomas recurrentes de ovario.⁽¹⁸⁻²⁰⁾

En el Centro de Ingeniería Genética y Biotecnología (CIGB) en La Habana, Cuba, se ha probado la combinación de IFN alfa y gamma en enfermedades oncológicas, única en el mundo, con la hipótesis de potenciar los efectos antitumoral y antiangiogénico de ambos. La característica principal de esta formulación combinada es su sinergismo, con la conservación de las propiedades biológicas descritas

para ambos tipos de interferones (antiviral, antiproliferativa e inmunomoduladora). La administración del producto en un modelo experimental de ratones desnudos con un tumor glial humano implantado, demostró ser eficaz en la reducción de volumen tumoral. La farmacodinamia, evaluada en primates no humanos, mostró un elevado nivel de expresión de neopterinina, que reflejó la potenciación de su acción biológica. La farmacocinética y farmacodinamia comparada en voluntarios sanos brindó datos de seguridad que avalaron su uso en humanos y una potencia biológica superior a los interferones por separado y similar a los interferones pegilados.⁽²¹⁾ En los países en desarrollo existe poca disponibilidad de las terapias de segunda o tercera línea que se emplean para el tratamiento de pacientes con tumores cerebrales recurrentes de alto grado de malignidad. El uso de los IFNs para el tratamiento de los pacientes con esta entidad puede ser potenciado a través de su combinación en busca de eficacia, sin promover toxicidad.

Desde 2009 se realiza un estudio retrospectivo en el Hospital Clínico Quirúrgico “Arnaldo Milián Castro” de Villa Clara, Cuba, para evaluar la efectividad y seguridad de la aplicación de la combinación de interferones en estos pacientes, sin otras opciones terapéuticas disponibles.

Métodos

Datos

Pacientes con tumor cerebral recurrente o progresivo de alto grado de malignidad recibieron tratamiento con el anticuerpo monoclonal nimotuzumab o con una combinación de interferones entre 2009 y 2016 en el Hospital Provincial Universitario Clínico Quirúrgico “Arnaldo Milián Castro”, de Villa Clara, Cuba. Los criterios de inclusión fueron: edad ≥ 18 años, cualquier género y color de piel, escala de Karnofsky al inicio del tratamiento (EK) 60-100 %, criterio diagnóstico anatómo-patológico, evaluación por imágenes, parámetros hematopoyéticos en rango normal, al menos cuatro semanas después de la cirugía y con los criterios de recuperación, las pacientes en edad fértil utilizaron un método anticonceptivo eficaz, expresa por escrito la voluntariedad del paciente. Los criterios de exclusión fueron los siguientes: infarto de miocardio en los últimos 6 meses, angina severa o inestable, implante de bypass coronario o periférico, insuficiencia cardíaca congestiva sintomática, embarazo, puerperio o lactancia, infección activa, hipersensibilidad al Interferón, enfermedades crónicas descompensadas, enfermedades con compromiso metabólico, muy mal estado general, convulsiones intratables médicamente o trastorno psiquiátrico grave.

Tratamiento y diseño del estudio

Se realizó un estudio retrospectivo unicéntrico en pacientes con tumor cerebral recurrente o progresivo de alto grado de malignidad que habían recibido tratamiento con anticuerpo monoclonal Nimotuzumab o la combinación de interferones. El Grupo Experimental (GE) recibió la combinación de interferón, se administraron 7 MUI de una mezcla de interferón alfa y gamma por vía subcutánea en un volumen de 5 mL dos veces por semana, durante cuatro semanas durante la fase de inducción. En la fase de mantenimiento se administraron 3,5 MUI de la mezcla, con la misma frecuencia de administración. El Grupo Control (GC) fue tratado con 200mg de Nimotuzumab endovenoso en un volumen de 250 mL de cloruro de sodio al 0,9 %, una vez por semana, por seis semanas durante la fase de inducción. En la fase de mantenimiento se administró la misma dosis y vía de acceso, pero disminuyó la frecuencia a dos veces por mes.

Resultados y evaluaciones

La Supervivencia Global (SG) se definió como la fecha del diagnóstico hasta la muerte por cualquier causa o la fecha de la última visita. En cada visita se evaluó la capacidad funcional según la escala de Karnofsky. Las visitas de seguimiento se realizaron cada semana durante el primer mes y luego cada tres meses hasta el final del estudio.

Este proyecto de investigación fue aprobado por el Consejo Científico Institucional y el Comité de Ética en Investigación Clínica, quienes lo evaluaron desde el punto de vista científico, metodológico y ético.

Se determinó que cumplió con la Declaración de Helsinki (Principios Éticos para la Investigación Médica en Seres Humanos, adoptada por la Asamblea Médica Mundial, Seúl 2008) y sus procedimientos se realizaron de acuerdo con lo establecido en los códigos de ética nacionales e internacionales y la normativa legal vigente en Cuba (Normas de Buenas Prácticas Clínicas, CECMED 2001), así como en la Guía de Buenas Prácticas Clínicas de la Conferencia Internacional de Armonización.

Análisis estadístico

Se utilizó estadística descriptiva para las variables de control, como media, mediana, mínimo y máximo, tasa porcentual. La homogeneidad de los grupos se determinó comparando las variables de control. Para sexo y tipo histológico se utilizó la prueba de Chi-cuadrado. Para el color de la piel y las comorbilidades presentes, se utilizó la prueba exacta de Fisher. Para la edad, estadio tumoral, y capacidad funcional al inicio del estudio se utilizó la prueba de Mann-Withney. En cuanto a la capacidad funcional a lo largo de la investigación se utilizó la prueba de Mann-Withney. Las curvas de supervivencia se completaron mediante los métodos de Kaplan-Meier con una prueba de rangos logarítmicos.

Resultados

Caracterización de la muestra en estudio.

Se identificaron 44 pacientes que cumplían criterio diagnóstico en el periodo de inclusión, se excluyeron 4 enfermos, dos de ellos no estuvieron de acuerdo en participar y otros dos presentaron alguno de los criterios de exclusión, quedó constituida una muestra de 40 casos. En estos pacientes, 23 recibieron la combinación de interferones, conformando el GE, y en el GC se incluyeron 17 enfermos que se trataron con Nimotuzumab. Las variables demográficas y clínicas de interés de ambos grupos se muestran en la tabla 1. Luego del análisis estadístico, se consideró que ambos grupos resultaron comparables al inicio de la investigación. De manera global, tanto en la muestra total como por grupos se observó correspondencia con lo referido en la literatura.

Predominó del sexo masculino con razón de masculinidad de 1,8 hombres por cada mujer y el color de piel blanca. Los valores medios de edad se ubicaron en 50,9 años en el GE y 49,4 años en el GC. La incidencia de tumores cerebrales en general aumentó con la edad. Para el glioma maligno en particular, la incidencia mundial es bimodal con prevalencia en las edades más jóvenes y mayores y la distribución de edad también varía según el tipo histológico. El más común, el GM tienen la mayor incidencia en personas de entre 60 y 70 años y decrece después de ese periodo. Se refieren para ello causas competitivas de mortalidad, diferentes patrones de diagnóstico en los grupos de edades más antiguos, o diferencias reales en la incidencia de los tumores cerebrales.^[5,6] Al respecto, en este estudio solo dos adultos jóvenes presentaron GM, uno por grupo, con 24 y 25 años a la inclusión. Sobre el pico de incidencia de la enfermedad, el 93,3 % de los casos se presentaron después de los 45 años, para el GE el mayor rango etario fue entre 45 y 58 años con el 47,82 %, mientras que para el GC fue entre 47 y 60, con el 52,94 %, los valores de medias y medianas en ambos grupos son muy semejantes. Con respecto a las comorbilidades, más del 60 % de los pacientes no refirieron ninguna enfermedad asociada. En el GC, ningún paciente refirió más de una comorbilidad, en el GE un solo caso presentó dos o más enfermedades. Sobre las enfermedades más frecuentes, 10 pacientes refirieron hipertensión arterial.

En ambos grupos prevaleció el estadio tumoral IV, 65,21 % de los pacientes del GE y 70,58 % de los casos del GC. Predominó el GM, con 60,86 % para el GE y 70,58 % para el GC. En segundo lugar de incidencia se reportó el AA para el GE, pero en el GC el segundo lugar en la incidencia fue para el oligoastrocitoma anaplásico. Como diagnóstico infrecuente quedó un caso de gliosarcoma en el GE. Un factor importante por considerar es la toma de uno o más lóbulos cerebrales, con el consiguiente peor pronóstico de la lesión. En esta investigación, para ambos grupos predominó la consideración unilobular. Dos pacientes del GE presentaron lesión multilobular frontoparietal y temporoparietal respectivamente. Otro factor analizado fue la resección tumoral, que en ambos grupos resultan similares con más del 85 % de los pacientes sometidos a resección parcial o sub-total, o sea, entre el 50 y el 99 % de la lesión extirpada. En sentido general, se esperaron mejores resultados en función del mayor porcentaje

de resección. Junto al grado de resección tumoral, la escala funcional de Karnofsky preoperatorio en estos pacientes se considera factor pronóstico bien establecido. En el GE predominaron los pacientes que presentaban EK entre 90 y 70 con el 73,89 % de los casos, mientras que en el GC el 70,58 % presentó EK de 90.

Tabla 1: Distribución de pacientes según variables demográficas y clínicas de interés. Hospital Provincial Clínico Quirúrgico "Arnaldo Milián Castro", años 2009-2020.

Variables		Grupo exp. (n=23)	Grupo con. (n=17)	Test aplicados	P
Sexo	Hombre	16 (69,56 %)	10 (58,82 %)	Chi cuadrado	0,481
	Mujer	7 (30,43 %)	7 (41,17 %)		
Color de la piel	Blanca	18 (78,26 %)	15 (88,23 %)	Prueba exacta de Fisher	0,677
	No blanca	5 (21,73 %)	2 (11,76 %)		
Edad	Media (años)	50,9	49,4	Test de Mann-Witthney	0,924
	Mediana (años)	52	50		
	(Mín; Máx)	(25; 76)	(24; 74)		
Estadio tumoral	III	8 (34,78 %)	5 (29,41 %)	Test de Mann-Witthney	0,831
	IV	15 (65,21 %)	12 (70,58 %)		
Tipo histológico	Oligoastrocitoma anaplásico	2 (8,69 %)	3 (17,64 %)	Prueba de Monte Carlo	0,520
	Astrocitoma anaplásico	6 (26,08 %)	2 (11,76 %)		
	Gliosarcoma	1 (4,34 %)	0		
	Glioblastoma multi-forme	14 (60,86 %)	12 (70,58 %)		
Ubicación topográfica por lóbulo	Frontal	8 (34,78 %)	9 (52,94 %)	Prueba de Monte Carlo	0,497
	Parietal	6 (26,08 %)	4 (23,52 %)		
	Temporal	5 (21,73 %)	3 (17,64 %)		
	Occipital	1 (4,34 %)	1 (5,88 %)		
	Vermix	1 (4,34 %)	0		
	Más de un lóbulo	2 (8,69 %)	0		
% de resección tumoral	Total 100 %	3 (13,04 %)	2 (11,76 %)	Test de Mann-Witthney	0,833
	Sub-total 90-99 %	5 (21,73 %)	5 (29,41 %)		
	Parcial 50-89 %	15 (65,21%)	10 (58,82 %)		
	Biopsia < 50 %	0	1 (4 %)		
Co-morbilidad	No refiere	14 (60,86 %)	11 (64,7 %)	Prueba de Monte Carlo	0,683
	Una	8 (34,78 %)	6 (35,29 %)		
	Dos o más	1 (4,34 %)	0		
Escala de Karnofsky a la inclusión	KPS 100	3 (13,04 %)	1 (5,88 %)	Test de Kolmogorov-Smirnov	0,238
	KPS 90	7 (30,43 %)	12 (70,58 %)		
	KPS 80	5 (21,73 %)	1 (5,88 %)		
	KPS 70	5 (21,73 %)	3 (17,64 %)		
	KPS 60	3 (13,04 %)	0		

Fuente: Historias clínicas.

Evaluación de eficacia

Análisis de la supervivencia global por grupo de estudio y estadio.

La SG por grupo de estudio se evaluó a los seis, 12 meses y al cierre del estudio y también se analizó en función al estadio tumoral. Los resultados se muestran en la Tabla 2 y en la Figura 1.

Tabla 2: Evaluación de la supervivencia global. Hospital Provincial Clínico Quirúrgico “Arnaldo Milián Castro”, años 2009-2020.

Variable	Grupo de estudio	Media	IC 95 %	Mediana	IC 95 %	Valor de P	Porcentaje
SG-6	Exp.	28,870	20,96-36,77	18,0	7,04-28,95	0,096	n=23 100 %
	Control	21,200	12,06-30,33	11,0	10,40-11,59		n=15 88,2 %
SG-12	Exp.	30,571	22,26-38,87	23,0	11,78-34,21	0,294	n=21 91,3 %
	Control	42,800	28,53-57,06	37,0	26,26-47,73		n=5 29,4 %
SG al cierre	Exp.	32,114	23,35-40,87	18,0	7,04-28,95	0,011	n=5 21,7 %
	Control	19,118	10,86-27,37	11,0	10,38-11,61		n=2 11,8 %
Estadio III	Exp. (n=8)	47,00	33,21-60,78	.	.	0,492	n=5 62,5 %
	Control (n=5)	42,80	30,04-55,55	37,00	26,26-47,73		n=2 40,0 %
Estadio IV	Exp. (n=15)	20,467	15,21-25,72	16,00	11,26-20,73	0,000	n=0
	Control (n=12)	9,250	7,55-10,94	10,00	9,15-10,84		n=0

Fuente: Historias clínicas.

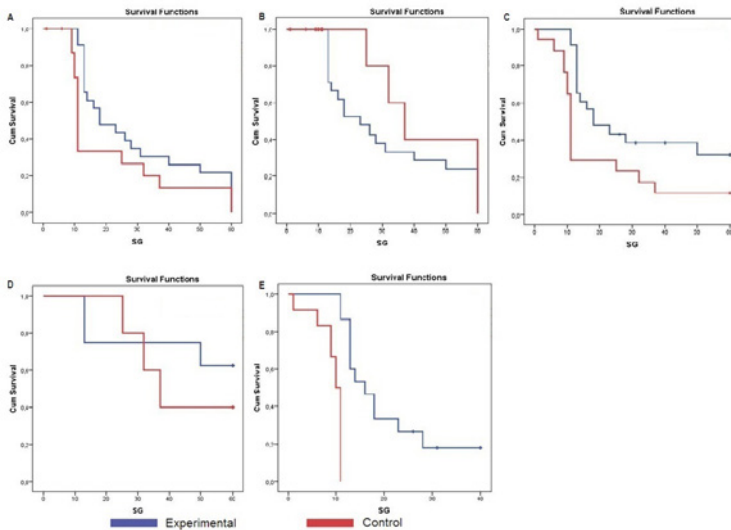


Figura 1: Curvas de Kaplan-Meier para supervivencia global, A: SG-6, B: SG-12, C: SG- Global, D: SG estadio III, E: SG estadio IV.

Aunque no se demostraron diferencias significativas en la SG entre el GE y GC en ninguna de las evaluaciones, a los seis meses el 100 % de los pacientes del GE y el 88,2 % de los casos del GC se mantenían vivos. Al año habían fallecido solamente el 8,7 % de los casos del GE, frente al 70,6 % en el GC. Al cierre del estudio el 21,7 % de los pacientes del GE aún vivía, frente al 11,8 % en el GC. Se determinó también la SG en función del estadio tumoral, en esta evaluación no hay diferencias significativas entre los valores de media para los pacientes con tumores estadio III, con 47 y 42,8 meses respectivamente para el GE y el GC. En los estadios IV la media de SG alcanzó los 20,47 meses en el GE y 9,3 meses en el GC, con diferencias significativas. La mediana para estos casos fue de 16 meses en el GE y de 10 meses en el GC. Todos los pacientes estadio IV habían fallecido al cierre.

Análisis de la tasa de control de la enfermedad y del riesgo relativo de muerte.

Se determinó la TCE para ambos grupos, obteniéndose la proporción de pacientes que redujeron o estabilizaron la enfermedad a lo largo del estudio. El GC presentó una proporción de 0,2941 y 0,4347 el GE, con diferencias significativas entre ellos ($p=0,0101$). La relación entre las tasas de incidencia se corresponde con la evaluación del riesgo.

Al ejecutar el análisis de riesgo, el riesgo absoluto del GE fue de 78,26 %, con IC 95 % 61,40 %- 95,12 %, el riesgo absoluto del GC fue de 88,24 %, con IC 95 % 72,91 %- 103,55 %. El HR fue de 0,887, con IC 95 % 0,673 %-1,17 %, lo que significó una asociación positiva y directa entre el tratamiento propuesto y la supervivencia. Como el límite inferior del IC es menor que 1, no se consideró estadísticamente significativa la relación entre ambos. La posibilidad de sobrevivir para los pacientes que se trataron con la combinación de interferones fue 0,887 veces superior a los tratados solo con el nimotuzumab.

Análisis de la capacidad funcional.

Sobre la capacidad funcional se determinaron los cambios respecto al valor basal a los tres, seis, nueve y 12 meses de tratamiento, y luego al cierre. Se reportaron diferencias para el GE con respecto al GC en la inclusión, con peor capacidad funcional para los pacientes del GE. Esta salvedad en la homogeneidad de los grupos del estudio en detrimento del GE no tuvo significación estadística y resulta favorable para la investigación, pues situó en peores condiciones al GE a la inclusión. Las evaluaciones a los tres y seis meses no arrojaron diferencias entre los grupos, pero a partir de los nueve meses se evidenciaron diferencias notables que se extienden hasta el cierre de la investigación, llega a estar el 21,74 % de los pacientes del GE con una capacidad funcional favorable por encima de 80 según la escala de Karnofsky, mientras en el GC el 88,24 % de los pacientes se encuentran en el valor de la escala que corresponde al fallecimiento. El análisis de los resultados de las evaluaciones de la escala de Karnofsky en cada momento, se recogieron en la Figura 2.

Consideraciones sobre la seguridad terapéutica

No se produjeron EA graves relacionados con los fármacos en el estudio. Este resultado tan favorable contrastó con lo reportado en la literatura para los esquemas de tratamiento empleados al tratar tumores cerebrales de alto grado de malignidad.

Se reportaron 197 EAs, de ellos 133 (67,5 %) correspondieron al GE y 64 eventos (32,06 %) al GC. Los EA que globalmente se reportaron con mayor frecuencia fueron la cefalea (10,15 %), la fiebre (9,64 %) y la astenia (7,61 %). En el análisis por grupo, en el GE se reportaron como EA frecuentes la fiebre (13,53 %), la astenia (11,27 %) y episodios de febrícula (8,27 %). En el GC resultó más frecuente la cefalea (15,62 %), la alteración de las enzimas hepáticas (14,06 %) y en menor medida el malestar general y la elevación de la glicemia (ambos EA con 7,81 %). Predominaron los EA de grado menor que 3, de intensidad leve o moderada (84,23 %), con relación de causalidad probable o definitiva con los fármacos de la investigación (79,18 %), que no generaron cambios en la medicación (94,41 %) y con recuperación mejoría en la mayor parte (86,81 %). Al analizar la seguridad por grupo, se observó semejanza de las mismas categorías reportadas en el análisis global, a excepción de la relación de causalidad, a predominio definitiva (72,18 %) en el GE y distribuida entre definitiva (32,81 %) y dudosa (29,69 %) en el GC. En cuanto a resultados de los EA que se presentaron, en el GE solo persistieron nueve EA (6,77 %), no se generaron secuelas o se produjeron empeoramientos por EA, para el GC los casos en los que los

EA generaron secuelas que persistieron o empeoraron alcanzan el 26,56 %. El análisis de los eventos adversos por grupo se recoge en la Figura 3.

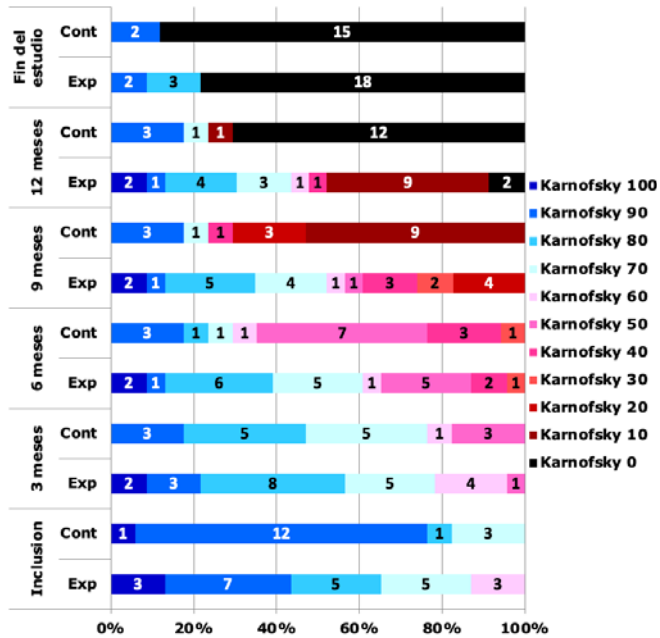


Figura 2: Evaluación de la capacidad funcional por categorías de la escala de Karnofsky.

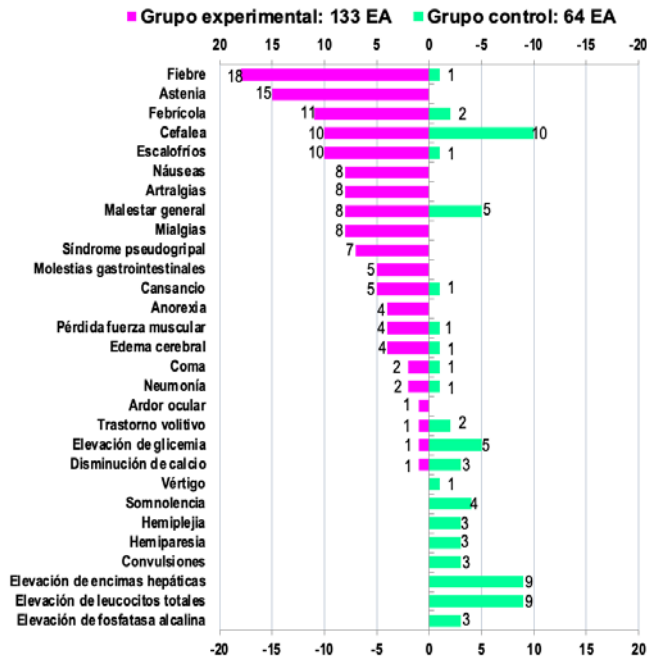


Figura 3: Frecuencia de aparición de eventos adversos por grupo.

Discusión

Para los pacientes en estadio III, las pautas de tratamiento recomiendan resección máxima, radioterapia y quimioterapia con temozolamida, pese a este enfoque de tratamiento multimodal, los pacientes tienen una limitada esperanza de vida. En el estudio de Wahner (2020)⁽²²⁾ todos recibieron los mejores esquemas de tratamiento posibles y a más del 65 % de los pacientes se les realizó cirugía de resección amplia y se obtuvo un modelo predictivo de tres escalas donde la SG a los cinco años para el mejor grupo fue de 88 %. En la presente investigación, sin definir el peor escenario posible y con limitaciones en la determinación de biomarcadores, en 11 años la SG para los AA alcanzó el 62,5 %. La investigación de Christians (2019)⁽²³⁾ determinó para el AA SG media de 41 meses sin asociar factores pronósticos, en este estudio la media se situó en 47 meses y los valores de la mediana no pudieron establecerse. Wu (2021)⁽²⁴⁾ evaluó toxicidad e indicios de efecto del zotiraciclib en dos esquemas combinado con temozolamida en AA recurrentes, se obtuvo SLP de 25 y 40 % para cada esquema, pero con neutropenia profunda. Ninguno de los estudios descritos ofreció resultados superiores a los determinados en la presente investigación para los AA.

El estándar de atención para los GM al debut ha sido bien determinado, pero a pesar de que se han desarrollado numerosas terapias contra el cáncer en las últimas décadas, pocos medicamentos han sido aprobados por la FDA en el tratamiento del GMr. En este estudio se obtuvieron resultados semejantes y superiores a algunos de los reportados. Sigue siendo un reto elevar la sobrevida en estos pacientes y son escasos los estudios con resultados que superen la mediana alcanzada en la presente investigación.

Sobre el análisis de riesgo, los estudios revisados evidenciaron resultados semejantes a los presentados en esta investigación. Para los AA, Cloughesy (2020)⁽²⁵⁾ refirió HR de 1,06 para SG y Wu (2021)⁽²⁴⁾ obtuvo del zotiraciclib un HR de 2,3. En los GM se reportan resultados similares, Shieh (2020)⁽²⁶⁾ analizó las diferencias entre dosis estándares y elevadas de radioterapia para GMr, la dosis altas (HR=0,47) y un mayor volumen de radiación (HR=0,76) se identificaron como factores predictivos de mejor SG. El estudio de Eun (2020)⁽²⁷⁾ pretendió evaluar si cambiar la intensidad de la señal de transferencia de protones de amida en RMN después del tratamiento con bevacizumab es predictivo de una respuesta temprana al tratamiento, el HR fue de 0,36. Kumar (2021)⁽²⁸⁾ comparó el bevacizumab con bevacirel en cuanto a seguridad y eficacia, con un HR de 1,21. Según Biswas (2021)⁽²⁹⁾, en el estudio EORTC26101 en 437 pacientes con GMr para evaluar la lomustina y el bevacizumab más lomustina, el HR fue 0,95.

Dietterle (2020)⁽³⁰⁾ demostró diferencias significativas en SLP y en SG en pacientes con Karnofsky por encima de 70 antes de la cirugía. Straube (2020)⁽³¹⁾ elaboró un índice pronóstico para predecir SG en pacientes ancianos con GM, que relacionó la edad y el índice de Karnofsky, entre otros factores. Pierscianek (2020)⁽³²⁾ diseñó una escala para evaluación preoperatoria del riesgo de supervivencia a corto plazo en GM, donde confirió peor puntaje a los pacientes con Karnofsky por debajo de 60. El estudio de Wahner (2020)⁽²²⁾ en AA de diagnóstico reciente con los mejores esquemas de tratamiento, generó un modelo predictivo donde la capacidad funcional es uno de los parámetros que influyen en la SG. En la presente investigación, con pacientes en el GE en peores condiciones de capacidad funcional a la inclusión, se alcanzan resultados superiores a los reportados para el GC. Al analizar otros autores se observan resultados similares, que resultaron inferiores al obtenido. En los estudios internacionales sobre GMr⁽³³⁻³⁷⁾, las respuestas superiores se obtienen en pacientes con mejor capacidad funcional al inicio del tratamiento, en este estudio el GC comienza con mejor capacidad funcional que el GE para los GMr, en ningún caso revisado en la literatura se documentó un grupo de pacientes que respondiera mejor a las propuestas de tratamiento, y que comenzaran con una capacidad funcional inferior, lo que le confirió fortaleza a esta investigación.

Sobre toxicidad en los AA, el estudio de Cloughesy (2020)⁽²⁵⁾ evaluó la seguridad de Vocimagene Amiretrorepvec y refirió un 26 % de pacientes con EA graves relacionados con el tratamiento. La investigación de Wu (2021)⁽²⁴⁾ para toxicidad de zotiraciclib en dos esquemas, evidenció toxicidades limitantes similares de zotiraciclib, pero con EA de grado 3 o superior en 11 pacientes (20,7 %) dados por neutropenia, diarrea, enzimas hepáticas elevadas y fatiga. Con respecto a los GMr, el estudio de Detti (2021)⁽³⁸⁾ con bevacizumab evidenció que el 6,5 % de los pacientes interrumpió la terapia debido a EA, todos sufrieron trombocitopenia, el 50 % severa. Los resultados del ensayo KEYNOTE-028⁽³⁹⁾ en pacientes con

GMr evidenciaron EA relacionados con el tratamiento en 19 pacientes, lo que representó el 73 %, y cinco pacientes experimentaron EA de grado 3 o 4. Sobre la seguridad de vacunas de DC, el metaanálisis de Li (2020)⁽⁴⁰⁾ mostró que no existían diferencias significativas entre los pacientes tratados y los casos de control en los seis ensayos clínicos analizados, ni EA severos relacionados con el tratamiento. Los resultados, tanto para el GE como para el GC, generados en este estudio, se consideraron superiores a los reportados anteriormente, así como a otros estudios para tratar GMr.

Los resultados de este estudio coincidieron con lo descrito para combinaciones de interferones y para nimotuzumab. La combinación de interferones empleada, como se ha mencionado con anterioridad, se caracteriza por la sinergia en el efecto y la disminución de los EA tipos para los interferones por separado, tanto en frecuencia como en intensidad. Esto no es diferente en esta investigación. Duncan (2022)⁽⁴¹⁾ señala en un estudio de seguimiento de pacientes tratados con la combinación ante tumores de piel no melanomas que los EA informados fueron en su mayoría leves. Ante la epidemia de Sars-CoV-2, las características antivirales de los interferones motivaron ensayos clínicos con la combinación, lo que generó nuevas evidencias de la seguridad de su empleo. El estudio de Esquivel (2020)⁽⁴²⁾ para comparar seguridad y eficacia en esa entidad de la combinación de interferones y el interferón alfa, dio como resultado EA en el 31,5 % de los pacientes, 28,5 % para el IFN- α y 34,4 % en el grupo de la combinación, el EA más frecuente fue la cefalea que se presentó en el 17,4 %. El meta-análisis de ensayos clínicos con nimotuzumab combinado con quimiorradioterapia en cáncer esofágico, de Viada (2021)⁽⁴³⁾ evidenció que el nimotuzumab tuvo 1,6 y 1,2 veces más toxicidades de tipo hematológicas y no hematológicas respectivamente, en comparación con su GC. La comparación entre estudios pre-registro y pos-aprobación del nimotuzumab en glioma, de Álvarez (2016)⁽⁴⁴⁾ describió 35 % y 61,7 % de EA reportados respectivamente, de los cuales 13,3 % y 11,6 % correspondieron a eventos relacionados con el nimotuzumab y 5 % de EA graves que estuvieron relacionados con el fármaco. El estudio de Saurez (2015)⁽⁴⁵⁾ en pacientes con tumores gliales malignos evidenció que el 24,1 % de los eventos se relacionaron con nimotuzumab, con intensidad ligera y moderada. En el análisis global de seguridad en esta investigación, se consideraron semejantes la combinación de interferones y el nimotuzumab.

Conclusión

Se evidencia que la combinación cubana de interferones es segura y eficaz para el tratamiento de tumores cerebrales de alto grado de malignidad sin opciones terapéuticas, lo que la convierte en una opción eficiente en este escenario clínico.

Bibliografía

1. Sung H, Ferlay J, Siegel R L, Laversanne M, Soerjomataram I, Jema A, et al. Global Cancer Statistics 2020: GLOBOCAN Estimates of Incidence and Mortality Worldwide for 36 Cancers in 185 Countries. *CA Cancer J Clin*. 2021; 71(3): 209-249. doi:10.3322/caac.21660
2. Díaz J, Reyes M, Rodríguez L, Sierra E. Medios diagnósticos y tratamientos actuales del glioblastoma multiforme. *Progaleno*. 2020; 3(2): 87-102. doi:revprogaleno.sld.cu/index.php/progaleno/article/view/165
3. Lukas R, Wainwright D, Ladomersky E, Sachdev S, Sonabend A, Stupp R. Diagnosed Glioblastoma: A Review on Clinical Management. *Oncology (Williston Park)*. 2019; 33(3):91-100. doi:europemc.org/articles/PMC7278092
4. You S, Hara A, Kanayama T, Noguchi K, Niwa A, Miyai M, et al. Treatment Strategies Based on Histological Targets against Invasive and Resistant Glioblastoma. *J oncol*. 2019; 3(2): 1-10. doi:10.1155/2019/2964783
5. Schenk R. Neuroonkologische therapiekonzepte zur behandlung von astrozytomen hoheren malignitätsgrades und rezidivlokalisierung. [Tesis Doctoral]. Alemania: Universidad Ratisbona; 2019. Disponible en: <https://epub.uniregensburg.de/40710/1/Neuroonkologische%20Therapiekonzepte%20Astrozytom%20und%20Rezidivlokalisierung%20ohne%20CV%29.pdf>

6. Ocampo MI, Gómez JC, Feo OH. Epidemiología y caracterización general de los tumores cerebrales primarios en el adulto. *Universitas medica*; 60(1): 47-60. doi:10.11144/javeriana.umed60-1.cere.
7. Comas AS. Glioblastoma tras radioterapia: estudio de la supervivencia y del patrón de recaída en relación con la localización de la lesión respecto a la zona subventricular y la dosis de radiación recibida en dicha área. [Tesis Doctoral] España: Universidad Autónoma de Barcelona; 2018. Disponible en: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/tesis?codigo=271553>
8. Bruna J, Alemany M. Perspectiva histórica de los estudios con mayor impacto en el tratamiento de los gliomas. *Rev neurol*. 2020; 70(06): 220-230. doi:10.33588/rn.7006.2019144
9. Wang J, Hu G, Quan X. Analysis of the Factors Affecting the Prognosis of Glioma Patients. *Open Med* 2019; 14: 331-335. doi:10.1515/med-2019-0031
10. Requena C, Alsina M, Morgado-Carrasco D, Cruz J, Sanmartín O, Serra-Guillén C, et al. Sarcoma de Kaposi y angiosarcoma cutáneo: directrices para el diagnóstico y tratamiento. *Actas Dermosifiliogr* 2018; 109(10): 878-887. doi:10.1016/j.ad.2018.06.013
11. Peña JA, Aguilar J, Alcivar LM, Álvarez JL, Anaya I, Añorve E, et al. Consenso Mexicano de Mieloma Múltiple. *Gac Med Mex*. 2020; 156(2): 1-49. doi:10.24875/gmm.m20000392.
12. Hernández J, Roque A. Interferones y SARS-CoV-2. Boletín Científico del CIMEQ. Actualización médica del SARS-CoV-2. 2020; 1(8): 6-7 Disponible en: <http://files.sld.cu/cimeq/files/2020/05/Bol-CCimeq-2020-1-8-pag6-7.pdf>
13. Sallard E, Lescure FX, Yazdanpanah Y, Mentre F, Peiffer-Smadja N. Type 1 interferons as a potential treatment against COVID-19. *Antiviral res*. 2020; 178(104791): 1-4. doi:10.1016/j.antiviral.2020.104791
14. Hao Q, Tang H. Interferon- γ and Smacmimetics synergize to induce apoptosis of lung cancer cells in a TNF α -independent manner. *Cancer cell int*. 2018; 18(84): 1-12. doi:10.1186/s12935-018-0579-y
15. 33rd Annual Meeting & Pre-Conference Programs of the Society for Immunotherapy of Cancer (SITC 2018). *JITC* 2018; 6(115): doi:10.1186/s40425-018-0423-x
16. Deng S, Zhang G, Kuai J, Fan P, Wang X, Zhou P, et al. Lentinan inhibits tumor angiogenesis via interferon γ and in a T cell independent manner. *J Exp Clin Cancer Res*. 2018; 37(260): 1-12. doi:10.1186/s13046-018-0932-y
17. Green D, Nunes A, David-Ocampo V, Ekwede I, Houston N, Highfill S, et al. A Phase 1 trial of autologous monocytes stimulated ex vivo with Sylatron® (Peginterferon alfa-2b) and Actimmune® (Interferon gamma-1b) for intra-peritoneal administration in recurrent ovarian cancer. *J Transl Med*. 2018; 16(1): 196. doi:10.1186/s12967-018-1569-5
18. Provance OK, Lewis-Wambi J. Deciphering the role of interferon alpha signaling and microenvironment crosstalk in inflammatory breast cancer. *Breast Cancer Res* 2019; 21(59): 1-10. doi:10.1186/s13058-019-1140-1
19. Lu C, Klement J, Ibrahim M, Xiao W, Redd P, Nayak-Kapoo A, et al. Type I interferon suppresses tumor growth through activating the STAT3-granzyme B pathway in tumor-infiltrating cytotoxic T lymphocytes. *J Immunother Cancer* 2019; 7(157): 1-11. doi:10.1186/s40425-019-0635-8
20. Green DS, Nunes AT, David-Ocampo V, Ekwede IB, Houston ND, Highfill SL, et al. A Phase 1 trial of autologous monocytes stimulated ex vivo with Sylatron® (Peginterferon alfa-2b) and Actimmune® (Interferon gamma-1b) for intra-peritoneal administration in recurrent ovarian cancer. *J Transl Med*. 2018; 16(196): 1-9. doi:10.1186/s12967-018-1569-5
21. Resumen de las Características del Producto HeberFERON® (Interferón alfa 2b hu-rec + Interferón gamma hu-rec) [Internet]. Registro Sanitario de Medicamentos, Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos CECMED. 2017; Disponible en: <https://www.cecmecd.cu/registro/rcp/biologicos/heberferonr-interferon-alfa-2b-hu-rec-interferon-gamma-hu-rec>

22. Wahner HCW, Träger M, Bender K, Schweizer L, Onken J, Senger C, et al. Predicting survival in anaplastic astrocytoma patients in a single-center cohort of 108 patients. *Radiat Oncol.* 2020; 15(282): 1-9. doi:10.1186/s13014-020-01728-8
23. Christians A, Adel-Horowski A, Banan R, Lehmann U, Bartels S, Behling F, et al. The prognostic role of IDH mutations in homogeneously treated patients with anaplastic astrocytomas and glioblastomas. *Acta Neuropathol Commun.* 2019; 7(156): 1-11 doi:10.1186/s40478-019-0817-0
24. Wu J, Yuan Y, Long Priel DA, Fink D, Peer CJ, Sissung TM, et al. Phase I Study of Zotiraciclib in Combination with Temozolomide for Patients with Recurrent High-grade Astrocytomas. *Clin Cancer Res.* 2021; 27(12) 3298-3306. doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-4730
25. Cloughesy TF, Petrecca K, Walbert T, Butowski N, Salacz M, Perry J, et al. Effect of Vocimagene Amiretorepvec in Combination With Flucytosinevs Standard of Care on Survival Following Tumor Resection in Patients With Recurrent High-Grade Glioma: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Oncol* 2020 6(12): 1939-1946. doi:10.1001/jamaoncol.2020.3161
26. Shieh L, Guo H, Ho C, Lin L, Chang C, Ho S Survival of glioblastoma treated with a moderately escalated radiation dose-Results of a retrospective analysis. *PloS one* 2020 15(5): 1-14 doi:10.1371/journal.pone.0233188
27. Eun J, Sung H, Young S, Chai S, Hoon J, Heo H. Identification of Early Response to Anti-Angiogenic Therapy in Recurrent Glioblastoma: Amide Proton Transfer-weighted and Perfusion-weighted MRI compared with Diffusion-weighted MRI. *Radiology* 2020 295(2): 397-406 doi:10.1148/radiol.2020191376
28. Kumar G, DSouza H, Menon N, Srinivas S, Vallathol DH, Boppana M, et al. Safety and efficacy of bevacizumab biosimilar in recurrent/ progressive glioblastoma. *Ecancermedicalscience*, 2021 15(1166): 1-9 doi:10.3332/ecancer.2021.1166
29. Biswas A. Bevacizumab in progressive or recurrent glioblastoma: A quest for the optimal dosage. *Cancer Research, Statistics, and Treatment*, 2021; 4: 356-359 doi: 10.4103/crst.crst_128_21
30. Dietterle J, Wende T, Wilhelmy F, Eisenlöffel C, Jähne K, Taubenheim S, et al. The prognostic value of peri-operative neurological performance in glioblastoma patients. *Acta Neurochir*, 2020; 162: 417-425 doi:10.1007/s00701-019-04136-4
31. Straube C, Kessel KA, Antoni S, Gempt J, Meyer B, Schlegel J, et al. A balanced score to predict survival of elderly patients newly diagnosed with glioblastoma. *Radiat Oncol* 2020; 15(97): 1-16 doi:10.1186/s13014-020-01549-9
32. Pierscianek D, Ahmadipour Y, Kaier K, Darkwah Oppong M, Michel A, et al. The SHORT Score for Preoperative Assessment of the Risk for Short-Term Survival in Glioblastoma. *World neurosurg* 2020; 138: e370-e380 doi:10.1016/j.wneu.2020.02.131
33. Seystahl K, Hentschel B, Loew S, Gramatzki D, Felsberg J, Herrlinger U, et al. Bevacizumab versus alkylating chemotherapy in recurrent glioblastoma. *J Cancer Res Clin Oncol.* 2020 146: 659-670 doi:10.1007/s00432-019-03086-9
34. Omuro A, Vlahovic G, Lim M, Sahebjam S, Baehring J, Cloughesy T, et al. Nivolumab with or without ipilimumab in patients with recurrent glioblastoma: results from exploratory phase I cohorts of Check Mate 143. *Neuro Oncol* 2018 20(5): 674-686 doi:10.1093/neuonc/nox208
35. Reardon DA, Brandes AA, Omuro A, Mulholland P, Lim M, Wick A, et al. Effect of Nivolumab vs Bevacizumab in Patients With Recurrent Glioblastoma: The Check Mate 143 Phase 3 Randomized Clinical Trial. *JAMA oncol*, 2020 6(7): 1003-1010 doi:10.1001/jamaoncol.2020.1024
36. Nayak L, Molinaro AM, Peters K, Clarke JL, Jordan JT, Groot J, et al. Randomized Phase II and Biomarker Study of Pembrolizumab plus Bevacizumab versus Pembrolizumab Alone for Patients with Recurrent Glioblastoma. *Clin Cancer Res.* 2021 27(4): 1048-1057 doi:10.1158/1078-0432.CCR-20-2500
37. Groot J, Penas-Prado M, Alfaro-Munoz K, Hunter K, Pei BL, O'Brien B, et al. Window-of-opportunity clinical trial of pembrolizumab in patients with recurrent glioblastoma reveals predominance of immune-suppressive macrophages. *Neuro Oncol* 2020 22(4): 539-549 doi:10.1093/neuonc/noz185


- 38.** Detti B., Scoccianti S., Teriaca M.A., Maragna V., Lorenzetti V., Lucidi S., et al. Bevacizumab in recurrent high-grade glioma: a single institution retrospective analysis on 92 patients. *Radiol Med.* 2021; 126: 1249-1254 doi:10.1007/s11547-021-01381-5
- 39.** Reardon DA, Kim TM, Frenel JS, Simonelli M, Lopez J, Subramaniam DS, et al. Treatment with pembrolizumab in programmed death ligand 1-positive recurrent glioblastoma: Results from the multicohort phase 1 KEYNOTE-028 trial. *Cancer* 2021 127(10): 1620-1629 doi:10.1002/cncr.33378
- 40.** Li L, Jiangchao H, Haipeng X., Xiangyang Z. Efficacy and safety of dendritic cell vaccines for patients with glioblastoma: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Int Immunopharmacol.* 2020; 83: 106336 doi:10.1016/j.intimp.2020.106336
- 41.** Duncan Y, Garcia Y, Collazo S, Rodríguez M, Zalazar M, Rodríguez J, et al. Five years follow-up of patients with non-melanoma skin cancer treated with HeberFERON. *medRxiv.* 2022; doi:10.1101/2022.02.07.22270604
- 42.** Esquivel I, Pérez J, Duncan Y, Vázquez D, Bequet M, Báez L, et al. Effect and safety of combination of interferon alpha-2b and gamma or interferon alpha-2b for negativization of SARS-CoV-2 viral RNA. Preliminary results of a randomized controlled clinical trial. *medRxiv* 2020; 07: doi:10.1101/2020.07.29.20164251
- 43.** Viada CE, Lima M, Soriano JL, Fors MM, Santiesteban Y, Santiesteban Y, et al. Meta-análisis de ensayos clínicos controlados de Nimotuzumab combinado con quimiorradioterapia en cáncer esofágico avanzado. *Rev Cub Oncol.* 2021; 19(3): 1-23 Disponible en: <http://www.revoncologia.sld.cu/index.php/onc/article/view/148>
- 44.** Alvarez M, Saurez G, Viada C, Luaces P, Frías A, Santiesteban Y, et al. Nimotuzumab en el tratamiento de pacientes con glioma maligno. Comparación entre estudios pre-registro y pos-aprobación. *Bionatura* 2016; 1(4) 171-176 doi:10.21931/RB/2016.01.04.3
- 45.** Saurez MG, Salva CSN, Piedra SP, Iglesias CB, Toledo JC, Solomón MT, et al. Security and effectiveness of nimotuzumab in patients with malign glial tumors. *Rev Cubana Neurol Neurocir.* 2015; 5(2): 123-132 Disponible en: <http://www.revneuro.sld.cu/index.php/neu/article/view/240>

doi: 10.30827/ars.v64i4.27728

Artículos originales

Solubility data and solubility parameters of barnidipine in different pure solvents

Solubilidad y parámetros de solubilidad del barnidipino en diferentes disolventes puros

M^a Ángeles Peña-Fernández¹  0000-0002-0908-8286

Gaia Spanò²  0009-0008-8791-5559

Norma Sofía Torres-Pabón¹  0000-0002-0028-0802

Fleming Martínez³  0000-0002-4008-7273

¹Universidad de Alcalá, Facultad de Farmacia, Departamento de Ciencias Biomédicas, Alcalá de Henares, Madrid, España.

²Università degli studi di Napoli Federico II. Dipartimento di Farmacia, Napoli, Italia.

³Grupo de Investigaciones Farmacéutico Físicoquímicas, Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá, Colombia.

Received: 28.03.2023

Accepted: 10.07.2023

Published: 20.09.2023

Correspondence

M^a Ángeles Peña-Fernández
angeles.pena@uah.es

Funding

This work has been funded by the HERMES 56224 research project “Estudio fisicoquímico de algunos fármacos y excipientes en soluciones acuosas y no acuosas” of the Universidad Nacional de Colombia –Sede Bogotá.

Conflict of interests

The authors have no financial interests related to the materials mentioned in the manuscript.

Resumen

Introducción: Los estudios de solubilidad y la obtención de datos fisicoquímicos de fármacos en disolventes puros pertenecientes a diferentes clases químicas resultan claves para desarrollar nuevas formulaciones de medicamentos. En este trabajo se calcularon los parámetros de solubilidad parciales de Hansen (HSP) para evaluar la miscibilidad y las interacciones intermoleculares del barnidipino en diecisiete disolventes puros. Además, se compararon los valores experimentales obtenidos con los teóricos calculados según la estructura del barnidipino, para analizar la influencia de las relaciones soluto-soluto, soluto-solvente de los grupos de contribución aditivos, en las propiedades químicas y físicas del barnidipino con los solventes de diferente polaridad ensayados, para aportar información relevante para su uso en la industria farmacéutica.

Método: La solubilidad en equilibrio del barnidipino en los disolventes seleccionados se determinó usando el método clásico de agitación en matraces seguida de un análisis por espectrofotometría UV a 298,15 K, y se calcularon los parámetros parciales de solubilidad con la aplicación de métodos teóricos de contribución de grupo, propuestos por Hoftyzer-Van Krevelen y Fedors. El modelo KAT-LSER se usó para investigar el efecto del solvente basado en el concepto de relaciones de energía de solvatación lineal. La fracción molar se obtuvo considerando las densidades de las soluciones. Los análisis en fase sólida se realizaron por calorimetría diferencial de barrido.

Resultados: La modificación introducida en el método de Hansen, es decir, el empleo de $\ln X_2$ como variable dependiente proporcionó excelentes resultados. Los valores más altos de solubilidad se han encontrado en los disolventes polares. Se observa que las interacciones intermoleculares solvente-solvente y soluto-solvente con enlaces de hidrógeno y fuerzas de van der Waals, influyeron significativamente en la solubilidad del fármaco.

Conclusiones: La afinidad entre el barnidipino y los disolventes seleccionados fue estudiada con HSP. Los resultados mostraron que HSP podría ser utilizado para analizar la solubilidad del fármaco en los disolventes puros elegidos. El barnidipino es más fácil de disolver en disolventes de cadenas de carbono más cortas y con mayor polaridad.

Palabras clave: Parámetro de solubilidad de Hansen, barnidipino, métodos de contribución de grupos.

Abstract

Introduction: Solubility studies and obtaining physicochemical data on drugs in pure solvents belonging to different chemical classes are key to developing new drug formulations. In this work, Hansen partial solubility parameters (HSP) were calculated to assess the miscibility and intermolecular interactions of barnidipine in seventeen pure solvents. The comparison of the results obtained with the theoretical values calculated according to the structure of barnidipine, were valuable to analyse the influence of the solute-solute, solute-solvent relationships of the additive contribution groups, on the chemical and physical properties of this molecule with the solvents of different polarity tested, to provide relevant information highly useful in the pharmaceutical industry.

Method: Equilibrium barnidipine solubilities in mono-solvents was determined using the classical shake-flask method, followed by UV-spectrophotometric analysis at 298.15 K. The partial solubility parameters were calculated by applying theoretical group contribution methods, proposed by Hoftyzer-Van Krevelen and Fedors. The KAT-LSER model was used to investigate the effect of solvent based on the concept of linear solvation energy relationships. The mole fraction was obtained from the densities of the solutions. Solid-phase analyses were made by calorimetry differential scanning.

Results: The modification introduced in the extended Hansen method, that is, the use of $\ln X_2$ as the dependent variable, provided excellent results. The highest solubility values have been found in polar solvents. It is observed that solvent-solvent and solute-solvent intermolecular interactions through hydrogen bonds and van der Waals forces, significantly influence drug solubility.

Conclusions: The affinity between barnidipine and each one of the selected solvent was evaluated by using HSP. Results showed that HSP could be well used to analyse drug solubility in particular solvents. Barnidipine is easier to dissolve in solvents with shorter carbon chains and higher polarity.

Keywords: Hansen solubility parameter; barnidipine; group contribution methods.

Highlights

Partial solubility parameters were used to research the dissolution behaviour of barnidipine in seventeen mono-solvents.

Partial solubility parameters were calculated by applying theoretical group contribution methods, proposed by Hoftyzer-Van Krevelen and Fedors.

Miscibility and solubility behaviour were revealed by Hansen solubility parameters

The solvent effect was discussed by KAT-LSER model in seventeen mono-solvents.

Introduction

Barnidipine (Fig. 1, 3-(3S)-1-benzylpyrrolidin-3-yl 5-methyl (4S)-2,6-dimethyl-4-(3-nitrophenyl)-1,4-dihydropyridine-3,5-dicarboxylate) (CAS 104713-75-9, molecular formula $C_{27}H_{29}N_3O_6$ and molar mass 491.544 g/mol) is an antihypertensive drug that belongs to the group of dihydropyridine (DHP) calcium antagonists (Figure 1). Barnidipine has selective action against cardiovascular calcium antagonist receptors and its antihypertensive action is related to the reduction of peripheral vascular resistance secondary to its vasodilator action. As with other DHP calcium antagonists, vasodilator adverse events such as headache, flushing and peripheral edema account for most adverse events reported with its use and are generally transient. Barnidipine contains two chiral centres thus can have four possible enantiomers. The active component is composed of a single optical isomer (3'S, 4S configuration), which is the most potent and longest acting of the four enantiomers.⁽¹⁾

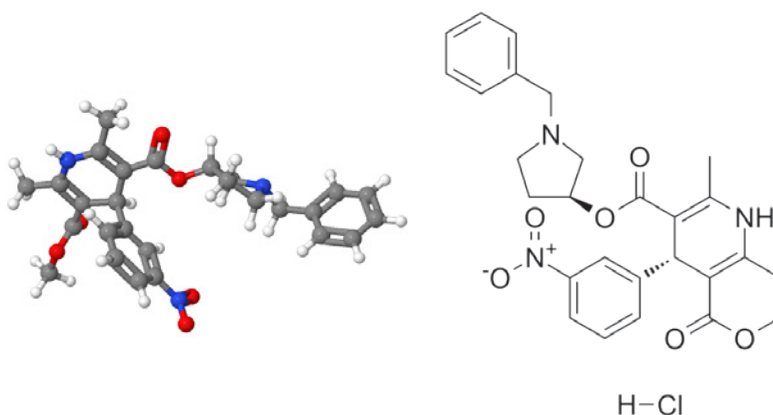


Figure 1. Chemical structure of barnidipine.

The solubility and other physicochemical data of drugs in pure solvents play an important role in the process of drug discovery and the development of future formulations. Barnidipine belongs to class II of the Biopharmaceutical Classification System (BCS).⁽²⁾ In this study, the solubility of barnidipine in 17 pure solvents, which are widely used in the pharmaceutical industry including manufacturing and purification, was measured at 298.15 K and $p = 0.1$ MPa. The classical flask-shaken technique has been used as the solid-liquid equilibrium method to evaluate the solubility of barnidipine.⁽³⁾

In addition, the calculation of Hansen solubility parameters (HSP) was proposed, key to help in the design of drugs.⁽⁴⁻⁶⁾ Hansen divided the cohesive energy density (the square root of cohesive energy density is called solubility parameter, δ) into contributions from nonpolar interactions (van der Waals dispersion forces), dipole interactions and hydrogen bonding (Equation 1). HSP can be used for polar and hydrogen bonding systems to evaluate the compatibility of substances. Hansen solubility parameters (HSP) may be useful for preparing drugs and to estimate their miscibility.⁽⁶⁾

$$\delta_T = \sqrt{[(\delta_d)^2 + (\delta_p)^2 + (\delta_h)^2]}$$

Equation 1

where the terms δ_d , δ_p , and δ_h are partial parameters representing the dispersion, polar and hydrogen bonding components of the total solubility parameter δ_T . The value of δ_d of a given solvent was assumed to be equal to that of a non-polar substance (e.g. hydrocarbon) of about the same chemical structure.

Furthermore KAT-LSER model had been applied to explore the solvent effects on barnidipine based on linear solvation energy relationships concept.⁽⁷⁻⁹⁾

Methods

Materials

Barnidipine (mass fraction purity > 0.999) was supply from Laboratorios Liconsa (Spain). 1,4-Dioxane, acetone, benzene, isopropyl myristate, N,N-Dimethylformamide (DMF), acetophenone, ethyl acetate, water, chlorobenzene, methanol, ethanol, 1-Octanol, 1-Pentanol, acetonitrile, 1,2-Dichloroethane, acetic acid, were acquired from Sigma Aldrich Co. (USA) and diethylene glycol monoethyl ether (DEGME, Transcutol® HP). The detailed properties regarding materials are listed in Table 1.

Table 1. Properties of solvents used in the present study.

Chemical name	CAS Number	Molecular formula	Molar mass (g/mol)	Source	Purity mass fraction
Ethanol	64-17-5	C ₂ H ₅ OH	46.07	Sigma Aldrich	≥99.9%
Water	7732-18-5	H ₂ O	18.02	Millipore	≥99.9%
Ethyl acetate	141-78-6	C ₄ H ₈ O ₂	88.11	Merck	99.5%
1,4-Dioxane	123-91-1	C ₄ H ₈ O ₂	88.01	Sigma Aldrich	99.5%
Acetic acid	64-19-7	CH ₃ COOH	60.05	Sigma Aldrich	96.0%
1-Pentanol	71-41-0	C ₅ H ₁₂ O	88.15	Sigma Aldrich	≥99.9%
DMF	200-679-5	C ₃ H ₇ NO	73.09	Sigma Aldrich	99.8%
Benzene	71-43-2	C ₆ H ₆	78.11	Sigma Aldrich	99.8%
DEGME	111-90-0	C ₆ H ₁₄ O ₃	134.17	Gattefossé	99%
Acetone	67-64-1	C ₃ H ₆ O	58.08	Merck	≥99.5%
Chlorobenzene	108-90-7	C ₆ H ₅ Cl	112.56	Sigma Aldrich	≥99.5%
1-Octanol	111-87-5	C ₈ H ₁₈ O	130.23	Sigma Aldrich	≥99.0%
Acetophenone	98-86-2	C ₈ H ₈ O	120.15	Sigma Aldrich	99%
Isopropyl alcohol	67-63-0	C ₃ H ₈ O	60.10	Sigma Aldrich	≥99.5%
Methanol	67-56-1	CH ₃ OH	32.04	Merck	≥99.9%
Acetonitrile	75-05-08	CH ₃ CN	41.05	Merck	≥ 99.8 %
1,2-Dichloroethane	107-06-2	C ₂ H ₄ Cl ₂	98.96	Sigma Aldrich	≥99.0%

Calculation of partial solubility parameter

The Hansen solubility parameters (HSP) are physicochemical parameters and are widely used to estimate the type of interactive forces drug-solvent, corresponding to atomic dispersion (δd), molecular dipolar interactions (δp), and hydrogen-bonding interactions (δh) (Equation 1). Hydrogen bonding is used here in a general sense to mean highly polar, oriented interactions of specific donor acceptor types.^(10,11)

HSP was used to estimate the miscibility of solvent and solute.⁽¹²⁻¹⁴⁾ The HSP for solvent mixtures (δ_M^{mix}) is estimated through Equation 2:

$$\delta_M^{mix} = \alpha \delta_M^1 + (1 - \alpha) \delta_M^2$$

Equation 2

the parameter α represents the volume fraction composition of cosolvent in the selected solutions; δ_M^1 and δ_M^2 express the HSP of cosolvent and water, correspondingly. To evaluate the interactions of “solvent and drug” molecules, the solubility parameter ($\Delta\delta$)⁽¹⁵⁾ (Equation 3) is employed here to illustrate the mixing procedure between solute and solvents.⁽¹⁵⁾

$$\Delta\delta = \sqrt{[(\delta_{d2} - \delta_{d1})^2 + (\delta_{p2} - \delta_{p1})^2 + (\delta_{h2} - \delta_{h1})^2]}$$

Equation 3

It has been observed that the $\Delta\delta$ value of $<5.0 \text{ MPa}^{1/2}$ indicates the high miscibility possibility between solute and liquid solvent.⁽¹⁶⁾

Bustamante et al.⁽¹⁷⁻¹⁸⁾ found that it is possible to directly regress $\ln X_2$ against the three partial solubility parameters, improving the significance of the regression coefficients. The modified models are presented as:

$$\ln X_2 = C_0 + C_1 \delta_{1d}^2 + C_2 \delta_{1d} + C_3 \delta_{1p}^2 + C_4 \delta_{1p} + C_5 \delta_{1h}^2 + C_6 \delta_{1h}$$

Equation 4

Equation 4 can also be used to calculate the partial solubility parameters of the solute using the ratio of the coefficients in expressions equivalent to the following:

$$\delta_{d2} = - (C_2 / 2C_1)$$

$$\delta_{p2} = - (C_4 / 2C_3)$$

$$\delta_{h2} = - (C_6 / 2C_5)$$

The HSP can as well be estimated from group contribution methods.⁽¹⁹⁻²²⁾ The group contribution methods are only approximate, but they are very convenient to obtain a quite idea about the magnitude of the solubility parameters of a drug. The partial parameters are estimated from:

$$\delta_d = \frac{\sum nF_d}{\sum nV} \quad \delta_p = \frac{\sqrt{\sum nF_p^2}}{\sum nV} \quad \delta_h = \sqrt{\frac{\sum nU_h}{\sum nV}}$$

where F_d , F_p and U_h have been determined by Hoftzyer-Van Krevelen⁽¹⁹⁻²²⁾ and F_d represents the contribution to the dispersion force; F_p stands for the contribution to the polarity force; and U_h stands for the contribution to the hydrogen bond interaction energy.

Solid-state characterization methods of barnidipine

Differential scanning calorimetry (DSC) (DSC 3, Mettler, Switzerland) was used to determine the melting temperature and the enthalpy of fusion of barnidipine. Approximately 5 mg was added in an aluminum hermetic pan with pin-holed lids, which were subsequently crimped. Indium was used as a standard substance during the calibration process. The test temperature ranged from 303.15 K to 573.15 K and the heating rate was 10 K/min under the protection of nitrogen. At least 3 separate DSC measurements were performed on each solid preparation.

Solubility measurements of barnidipine

The shake-flask technique was applied to measure the solubility of barnidipine in the seventeen mono solvents at 298 K. Excess amount of drug was collocated in flask of 100 mL and introduced into a thermostated bath (± 0.1 K) (HETO® Type SBD50-1 bio. Paris, France) shaking continuously at constant highest temperature to obtain the equilibrium of solubility at least three days (during this time, the mixture was checked at intervals to ensure the solid-liquid equilibrium). The main principle of the experimental equipment is to ensure stirring and dissolving of solute to reach saturation under a constant temperature. Once reached the equilibrium, samples of the saturated solutions were filtered (Durapore membranes 0.2 μm pore size, Darmstadt, Germany) and diluted with absolute ethanol. The concentrations were determined in a single beam spectrophotometer (Agilent® 61030AX. CA. United States) at $\lambda_{\text{max}} = 358$ nm. The densities of the solutions were measured at each temperature in 10-mL pycnometers, to convert the molar solubility into mole fraction units.

All solubility measurements were repeated three times. The experimental solubility of barnidipine fraction (X_2) in each solvent was calculated using Equation 5. The relative deviations (RD) between the experimental data and the literature data were less than 3%, which indicates that the measurement system and method used were reliable and accurate.

$$X_2 = \frac{m_1/M_1}{m_1/M_1 + m_2/M_2}$$

Equation 5

In the formula, M_1 and M_2 are the relative molar mass of barnidipine and solvent, respectively, and m_1 is the mass of solute and m_2 represent the mass of pure solvent.

Results

Solid-state properties of barnidipine

Differential scanning calorimetry was performed for the original powder and for the solid phase after equilibration with the pure solvents, this allows to detect possible changes of the thermal properties

of the solid phase. The DSC thermogram of barnidipine is depicted in Figure 2. The thermal analysis results showed that the onset temperature and specific fusion enthalpy (ΔH^F) were 230 °C and 75.6 J/g respectively, associated with the polymorphic form II. The use of form II provides a new opportunity to improve and facilitate the handling and storage of barnidipine hydrochloride since it is a light-stable crystalline form. Characterization of the original barnidipine powder solid phase and the equilibrated solid phases with the selected pure solvents showed in all cases the same melting-related endothermic event, suggesting that barnidipine exists in a pure crystalline form that was not transformed into no polymorphic form after solubility experiments performed. Unfortunately, there is not much information previously published in relation to the barnidipine polymorphism, a patent approved in 2014 has been found, on polymorph of barnidipine hydrochloride and processes for its preparation.⁽²³⁾

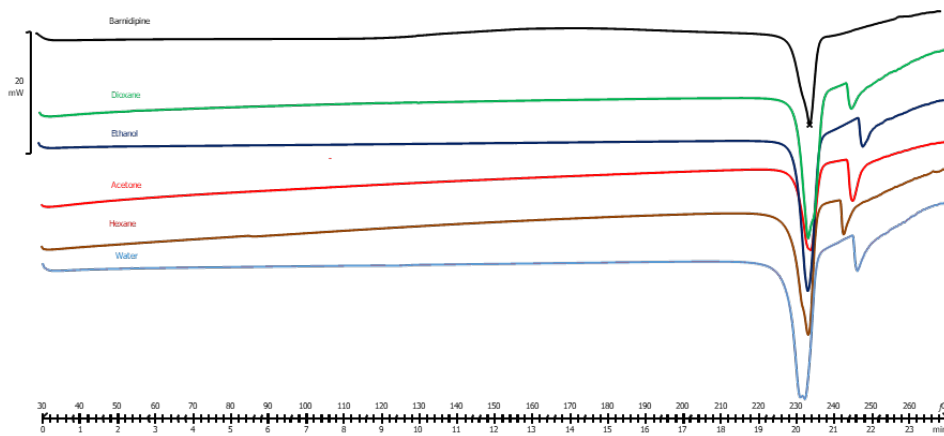


Figure 2. DSC spectra of pure barnidipine and equilibrated from any pure solvents.

Experimental solubility data of barnidipine in seventeen mono solvents

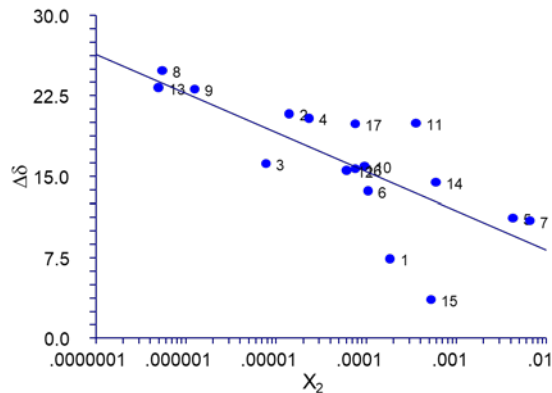
The experimental mole fraction solubility data of barnidipine in seventeen mono solvents at 298.15 K and the partial parameters and total solubility parameters of solvents chosen are tabulated in Table 2. It can be seen temperature has different effects on the solubility change trend of various types of solvents⁽²⁴⁾. Experimental mole fraction solubility was ranked in the following order: isopropyl myristate < benzene < chlorobenzene < ethyl acetate < water < 1,4-Dioxane < acetone < acetonitrile < 1,2-Dichloroethane < 1-Octanol < 1-Pentanol < ethanol < acetophenone < methanol < DEGME < acetic acid < DMF. As can be appreciated, the solubility of barnidipine increases to a maximum with solvents as DEGME, acetic acid or DMF, are Lewis-acid solvents suggesting that barnidipine is a better proton-acceptor than proton-donor. According to this result, solubility of barnidipine is completely analogous to the order of polarity, this result may be due to the higher polarity of barnidipine. Solvents like DMF or acetic acid, contain similar groups of C=O than the drug, which may lead the larger solubility. In addition, the intermolecular interactions such as hydrogen bonds and Van der Waals' forces between solvent-solvent and solute-solvent will also influence the solubility. Then the solubility data would be helpful in separation, purification studies and formulation development of barnidipine in chemical and pharmaceutical industries.

The solvents with a less ability for solubilizing barnidipine (isopropyl myristate, benzene and chlorobenzene) have small total solubility parameters. The solubility in primary alcohols, 1-Octanol, 1-Pentanol, ethanol, and methanol also follows the order of increasing solubility parameter. With the decrease of the carbon chain length, the solubility of barnidipine increased significantly, and the maximum values were obtained in methanol. Overall, explaining the dissolution behavior of barnidipine requires the consideration of solid-liquid equilibrium is affected by different interactions. So barnidipine is easier to dissolve in solvents with shorter carbon chains and higher polarity.

Table 2. Values of HSP of selected solvents and equilibrium solubility of barnidipine in mole fraction scale in pure solvents at $T/K = 298.15$.

Solvents	δ_d	δ_p	δ_h	δ_T	X_2	$\Delta\delta$	Weight
Ethanol	15.8	8.8	19.4	26.5	$1.87 \cdot 10^{-4}$	7.36	0.01
Water	15.6	16	42.3	47.9	$1.42 \cdot 10^{-5}$	20.79	1
Ethyl acetate	15.1	5.3	9.2	18.5	$7.82 \cdot 10^{-6}$	16.15	0.01
1,4-Dioxane	19.0	1.8	7.4	20.5	$2.35 \cdot 10^{-5}$	20.37	1
Acetic acid	14.5	8.7	13.5	21.4	$4.32 \cdot 10^{-3}$	11.13	0.01
1-Pentanol	13.0	4.5	13.9	21.7	$1.06 \cdot 10^{-4}$	13.61	1
DMF	17.4	13.7	11.3	24.8	$6.67 \cdot 10^{-3}$	10.88	0.01
Benzene	18.4	1	2	18.6	$5.56 \cdot 10^{-7}$	24.79	1
Cl-Benzene	19.0	4.3	2	19.6	$1.27 \cdot 10^{-6}$	23.1	0.01
1-Octanol	17.0	3.3	11.9	20.9	$9.75 \cdot 10^{-5}$	15.93	1
Acetophenone	19.6	8.6	3.7	21.7	$3.61 \cdot 10^{-4}$	19.91	1
Acetone	15.5	10.4	7	20	$6.17 \cdot 10^{-5}$	15.52	1
Isopropyl myristate	15.9	2.1	2.8	16.3	$5.02 \cdot 10^{-7}$	23.21	1
DEGME	15.5	5.7	11.2	19.95	$6.00 \cdot 10^{-4}$	14.43	0.01
Methanol	15.1	12.3	22.3	29.6	$5.33 \cdot 10^{-4}$	3.55	1
Acetonitrile	15.3	18	6.1	24.4	$7.67 \cdot 10^{-5}$	15.65	1
1,2-Dichloroethane	19.0	7.4	4.1	20.8	$7.67 \cdot 10^{-5}$	19.87	1

On the other hand, the effect of mole fraction on $\Delta\delta$, key parameter to judge the ability of solvent to dissolve solute (eq. 3), was evaluated and the results are included in Fig. 3. To facilitate the interpretation of the results, a number has been assigned to each solvent (Table 2). Ethanol and methanol are the solvents that are furthest away. $\Delta\delta$ were found to decrease linearly with increasing molar fraction. The maximum solubilization of barnidipine could be possible due to upper polarity and different solute-solvent interactions. Accordingly, DMF could be utilized as an efficient cosolvent in the solubilisation process.

**Figure 3.** Impact of molar fraction on $\Delta\delta$

An approximation to the calculation of the cohesive energy and the solubility parameter of drug were made from group contribution methods. Table 3 summarizes the results of the application of the group contribution method of Fedors⁽²⁵⁾ for estimate interne energy (ΔE), molar volume (ΔV), and total Hansen solubility parameter of barnidipine $\delta_2 = 23.2 \text{ MPa}^{1/2}$. According to the group contribution method proposed by Hoftyzer-Van Krevelen δ_d , δ_p , δ_h and δ_T of barnidipine can be calculated, as can see in Table 4.

Table 3. Application of the group contribution method of Fedors⁽²⁵⁾ for estimate interne energy, molar volume and total Hansen solubility parameter of barnidipine.

Group or atom	n _i	ΔE _i (kJ/mol)	ΔV _i (cm ³ /mol)	n _i ΔE _i (kJ/mol)	n _i V _i (cm ³ /mol)
(-CH ₃)	3	4.71	33.5	14.13	100.5
(-CH ₂ -)	4	4.94	16.1	19.76	64.4
(>CH-)	2	3.43	-1	6.86	-2.0
(>C=)	4	4.31	-5.5	17.24	-22.0
Phenyl	1	31.90	71.4	31.90	71.4
Phenylene	1	31.90	52.4	31.90	52.4
Ring closure-5	2	1.05	16.0	2.10	32.0
Conj in ring	2	1.67	-2.2	3.34	-4.4
(-COO-)	2	18.00	18.0	36.00	36.0
(-NH-)	1	8.40	4.5	8.40	4.5
(-N<)	1	4.20	-9.0	4.20	-9.0
(-NO ₂) arom	1	15.36	32.0	15.36	32.0
				191.19	355.8
$\delta_2 = (\sum n_i E_i / \sum n_i V_i)^{1/2} = 23.2 \text{ MPa}^{1/2} = 11.34 \text{ (cal/cm}^3)^{1/2}$					

Conversion of (J/cm³)^{1/2} or MPa^{1/2} into (cal/cm³)^{1/2} is simple because it only requires division by 2.045.

Table 4. Application of the group contribution method of Hoftzyer-Van Krevelen⁽¹⁹⁾ for estimate the contribution to the dispersion force, polarity force and to the hydrogen bond interaction energy and total Hansen solubility parameter of barnidipine.

Group or atom	n _i	n _i F _{di}	n _i (F _{pi}) ²	n _i U _{hi}
(-CH ₃)	3	1260	0	0
(-CH ₂ -)	4	1080	0	0
(>CH-)	2	160	0	0
(>C=)	4	280	0	0
Phenyl	1	1430	12100	0
Phenylene	1	1270	12100	0
(-COO-)	2	780	480200	14000
(-NH-)	1	160	44100	3100
(-N<)	1	20	640000	5000
(-NO ₂) arom	1	500	1144900	1500
	∑	6940	2333400	23600
$\delta_d = (\sum n_i F_{di}) / V$			19.5 MPa ^{1/2}	
$\delta_p = \sqrt{(\sum n_i (F_{pi})^2) / V}$			4.3 MPa ^{1/2}	
$\delta_h = (\sum n_i U_{hi}) / V$			8.1 MPa ^{1/2}	
$\delta_T = \sqrt{[(\delta_d)^2 + (\delta_p)^2 + (\delta_h)^2]}$				21.6 MPa ^{1/2}

Solvent effects: KAT-LSER model

The KAT-LSER (Kamlet-Abboud-Taft linear solvation energy relationship) model is applied to the barnidipine solubility to explain the Lewis-acid-base and polarization effects upon improvement of this property. Classical KAT-LSER model takes the form of Equation 6.^(26,27)

$$\ln x_2 = c_0 + c_1\alpha + c_2\beta + c_3\pi + c_4 \left(\frac{V_2\delta_1^2}{100RT} \right)$$

Equation 6

where, $c_1\alpha$ and $c_2\beta$ refer to the energy terms for specific solute–solvent Lewis acid and base interactions, respectively; $c_3\pi$ represents the energy term for non-specific interactions; whereas, the last term in the Equation 6 denotes cavity term defining the energy for solvent–solvent molecule interactions. This term designates the drug accommodation energy as a product of the Hansen solubility parameter, δ_1 , and molar volume of barnidipine, V_2 . The universal gas constant, R , and experimental temperature, T/K , are considered here in denominator with the purpose of getting a dimensionless magnitude of the cavity term. c_0 represents the solute–solute interactions and measures the intercept at $\alpha = \beta = \pi = \delta_2 = 0$; c_1 and c_2 are a measure of the property susceptibility of barnidipine to solute–solvent interactions of specific hydrogen bonding, while c_3 and c_4 represent the solute sensitivity to the nonspecific electrostatic solute–solvent and solvent–solvent molecule interactions.

Table 5 summarizes the solvatochromic parameters, α , β , and π , as well as the Hansen solubility parameters of 15 solvents studied in this research taken from the literature.⁽²⁸⁻³²⁾

Table 5. Solvatochromic parameters and total Hansen solubility parameter of some solvent studied.

Solvent	α^a	β^a	π^a	δ_2 (MPa ^{1/2}) ^b
Ethanol	0.86	0.75	0.54	26.5
Water	1.17	0.47	1.09	47.8
Ethyl acetate	0.00	0.45	0.45	18.1
1,4-Dioxane	0.00	0.37	0.49	20.5
Acetic acid	1.12	0.45	0.64	21.4
1-Pentanol	0.84	0.86	0.40	21.7
DMF	0.00	0.69	0.88	24.8
Benzene	0.00	0.10	0.55	18.8
Cl-Benzene	0.00	0.07	0.68	19.8
1-Octanol	0.77	0.81	0.40	21.0
Acetophenone	0.04	0.49	0.81	21.8
Acetone	0.08	0.48	0.62	20.0
Methanol	0.98	0.66	0.60	29.6
Acetonitrile	0.19	0.40	0.66	24.4
1,2-Dichloroethane	0.00	0.10	0.73	20.9

^a Taken from Marcus.⁽³³⁾ ^b Taken from Barton.⁽²⁰⁾

In this way, KAT-LSER model obtained is shown as Equation 6 (with $r = 0.905$ and $F = 11.36$).

$$\ln x_2 = -20.28 + 3.24\alpha + 7.14\beta + 15.80\pi - 4.55 \left(\frac{V_2\delta_1^2}{100RT} \right)$$

Positive values of c_1 (3.24), c_2 (7.14) and c_3 (15.80) demonstrate the favourable contribution of Lewis-acid base and polarizability of barnidipine solubility, whereas the negative values of c_0 (-20.28) and c_4 (-4.55) demonstrate the unfavourable contribution of solute-solute interactions and cavity energy requirements on the solubility of this drug. Moreover, if absolute values of c_1 , c_2 , c_3 and c_4 are compared the following contribution percentages are obtained: 10.6, 23.2, 51.4 and 14.8%, respectively, which means that polarization effects implies the higher contribution on solubilisation, followed by the Lewis basic behaviour of barnidipine owing tertiary amine group and oxygen atoms, whereas the Lewis acidic behaviour of this drug is the lowest favourable contributor and it could be due to hydrogen atom of secondary amine group.

Discussion

Hansen solubility parameters

Robust regression methods as well as analysis of residuals were used to detect inconsistencies of individual cases with the overall regression model. From these results, weighted regression were performed to obtain the partial solubility parameters, i.e. smaller weights were assigned to the solvents that least fitted the models. The parameters are calculated from regression coefficients that are statistically significant at least at the 0.05 probability level using Eq. 4.^(17,18) using the dependent variable, $\ln X_2$. A weight of 0.01 was assigned to the following solvents: ethanol, ethyl acetate, acetic acid, chlorobenzene, DEGME and DMF which least fit the model. For the remaining solvents the weight was fixed at unity.

The results of partial solubility parameters for barnidipine from experimental values are $\delta_d=14.32$ MPa^{1/2}; $\delta_p=15.69$ MPa^{1/2}; $\delta_h=21.55$ MPa^{1/2} and for total solubility parameter is $\delta_T=30.25$ MPa^{1/2}, that experimental value is not close to obtained using Fedors or Hoftzyer-Van Krevelen methods. This indicates that the actual polarity of the drug against the solvents is larger than expected from the additive contribution of its groups. On the other hand, the experimental δ_T obtained is in excellent agreement with the value calculated from the Fedors method. The reason may be that the Fedors method includes a larger number of groups than the Hoftzyer-Van Krevelen method. The group contribution methods are useful because they provide a rough estimation of total and the partial solubility parameters.

$\Delta\delta$ factor has been well established in the literature that the smaller the difference in solubility of two compounds is the more miscible they are Hoftzyer-Van Krevelen method is of the same order of accuracy and the optimal way for estimation of the solubility parameter is to apply both taking the average results Table 2 summarizes the values obtained, as can see methanol and ethanol are the two best solvents for barnidipine, representing the smallest increment values, that is, solubility depends on hydrogen bonding (δ_h) preferentially. To describe the miscibility between barnidipine and the pure solvents, $\Delta\delta_{\text{methanol}}=3.55$, parameter appointed for mutually miscible systems. It can be concluded that when the parameters of barnidipine are closer to those of the selected solvent, barnidipine will theoretically be more soluble in the solvent. This indicates that the difference values ($\Delta\delta$) are important indexes to predict the extent of dissolution.

Conclusion

$\ln X_2$ as dependent variable was used, r^2 value is higher (>0.98) and all the regression coefficients are significant. The total and partial solubility parameters obtained are in quite good agreement considering the structure of the drug, $\delta_T=30.25$ MPa^{1/2}.

Barnidipine is easier to dissolve in solvents with shorter carbon chains and higher polarity. The influence of solute-solvent interaction, solvent-solvent interaction, physical and chemical properties of solute and solvents were studied and analysed.

Experimental data were compared with the data calculated according to the Fedors and Hoftzyer-Van Krevelen methods to show the importance of using both methods to determine HSP. It is interesting to evaluate the experimental and theoretical values estimated from the group contribution methods of Fedors for total solubility parameters and Hoftzyer-Van Krevelen for total and partial solubility parameters.

According to KAT-LSER model, solvent effect (solvent interaction) was investigated through correlating barnidipine solubility data in selected solvents. It turns out that the self-cohesive interaction of the solvent may have a more significant weight on the solubility of barnidipine.

References

1. National Center for Biotechnology Information. PubChem Compound Summary for CID 443869. Barnidipine. PubChem. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Barnidipine>. Accessed 24 January 2023.
2. Yan T, Liu W, Chen K, Yang L, Benet LZ, Zhai S. Predicting interactions of antihypertensive drugs and rifampin in tuberculosis patients using BDDCS. *Pharmacotherapy*. 2020;40(4):274-290. doi:10.1002/phar.2380.
3. Sharapova A, Ol'khovich M, Blokhina S, Perlovich GL. Experimental Examination of Solubility and Lipophilicity as Pharmaceutically Relevant Points of Novel Bioactive Hybrid Compounds. *Molecules*. 2022; 27(19):6504.
4. Hansen CM. The three-dimensional solubility parameters. Key to paint component affinities. *J Paint Technol*. 1967;39:505-11.
5. Petříková E, Patera J, Gorlová O. Influence of active pharmaceutical ingredient structures on Hansen solubility parameters. *Eur J Pharm Sci*. 2021;167:106016. doi:10.1016/j.ejps.2021.106016.
6. Lara J, Zimmermann F, Drolet D, Hansen C, Chollet A, Monta N. The use of the Hansen solubility parameters in the selection of protective polymeric materials resistant to chemicals. *Inter J Current Res*. 2017;9:47860-7.
7. Bustamante P, Peña MA, Barra J. Partial solubility parameters of naproxen and sodium diclofenac. *J. Pharm. Pharmacol*. 1998;50: 975-982.
8. Bustamante P, Peña MA, Barra J. Partial solubility parameters of piroxicam and niflumic acid. *Int. J. Pharm*.1998;174:141-150.
9. Gao Q, Zhu P, Zhao H, Farajtabar A, Jouyban A, Acree WE. Solubility, Hansen solubility parameter, solvent effect and preferential solvation of benorilate in aqueous mixtures of isopropanol, N,N-dimethylformamide, ethanol and N-methyl-2-pyrrolidinone. *J. Chem. Therm*. 2021;161:106517. doi:10.1016/j.jct.2021.106517.
10. Alqarni MH, Haq N, Alam P, Abdel-Kader MS, Foudah AI, Shakeel F. Solubility data, Hansen solubility parameters and thermodynamic behavior of pterostilbene in some pure solvents and different (PEG-400 + water) cosolvent compositions. *J. Mol. Liq*. 2021;331:115700.
11. Cui Z, Zhao Z, Yao L, Hu Y. Determination and analysis of solubility of brassinolide in different solvent systems at different temperatures (T = 278.15–323.15 K). *J. Mol. Liq*. 2021;340:117316.
12. Irska I, Paszkiewicz S, Gorący K, Linares A, Ezquerro T, Jedrzejewski R, Roslaniec Z, Piesowicz E. Poly(butylene terephthalate)/polylactic acid based copolyesters and blends: miscibility-structure-property relationship. *Polym Letters* 2020;26:14. Doi:0.3144/expresspolymlett.2020.4
13. Yameng W, Haixia H, Fanfan L, Yanxun L, Xiaoqiang G. Study on dissolution behavior of naphazoline nitrate in four binary solvents: Determination, modelling, Hansen solubility parameter and thermodynamic analysis. *J Mol Liq*. 2023;375:121349. doi:10.1016/j.molliq.2023.121349.
14. Bustamante P, Martín A, González-Guisandez MA. Partial-solubility parameters and solvatochromic parameters for predicting the solubility of single and multiple drugs in individual solvents. *J Pharm Sci*. 1993;82:635-40. doi:10.1002/jps.2600820618.
15. Bustamante P, Navarro-Lupi3n J, Escalera B. A new method to determine the partial solubility parameters of polymers from intrinsic viscosity. *Eur. J. Pharmaceut. Sci*. 2005;24(2-3):229-237.
16. Hoftyzer PJ, Van Krevelen DW. *Properties of Polymers*. 2nd ed. Elsevier; 1976, pp. 152–5.

- 17.** Barton AFM. Handbook of Solubility Parameters and other Cohesion Parameters. 2nd ed. CRC Press. Boca Raton; 1991, pp 177-83.
- 18.** Bustamante P, Peña MA, Barra J. The modified Hansen method to determine partial solubility parameters of drugs containing single hydrogen bonding group and their sodium derivatives: Benzoic acid/Na and ibuprofen/Na. *Int J Pharm.* 2000;194:117-24. doi:10.1016/s0378-5173(99)00374-9 16.
- 19.** Just S, Sievert F, Thommes M, Jörg B. Improved group contribution parameter set for the application of solubility parameters to melt extrusion. *Eur J Pharm Biopharm.* 2013;85:1191-9. doi:10.1016/j.ejpb.2013.04.006.
- 20.** Sha J, Cao Z, Huang Z, Gong Y, Wan Y, Sun R, He H, Jiang G, Li Y, Li T, Ren B. Solid-liquid phase equilibrium of busulfan in fifteen pure solvents: Solubility determination, solvent effect, model correlation and thermodynamic analysis. *J. Chem. Therm.* 2021;154:106328.
- 21.** Gong Y, Wang Y, Huang Z, Sha J, Li Y, Li T, Ren B. Solubility, solvent effect, molecular simulation and thermodynamic properties of clozapine in twelve pure solvents. *J. Chem. Therm.* 2021;158:106398.
- 22.** Du C, Li R, Chen L. Dissolution thermodynamic properties calculation and intermolecular interaction analysis of diacerein in different pure and mixed solvents. *J. Chem. Therm.* 2022;173:106850.
- 23.** Poma D, Caglio D, Porcelloni M. Polymorph of barnidipine hydrochloride and processes for its preparation. WO2013143967A1. 2013.
- 24.** Kharwade M, Subrahmanyam CVS, Puvvadi S. Total and partial solubility parameters prediction: Lornoxicam in individual solvents. *J Pharm Res.* 2013;7:409-13. doi:10.1016/j.jopr.2012.12.004.
- 25.** Fedors RF. A method for estimating both the solubility parameters and molar volumes of liquids. *Polym Eng Sci.* 1974;14(2):147-154. doi:10.1002/pen.760140211.
- 26.** Li Y, Li C, Gao X, Lv H. Equilibrium solubility, preferential solvation and solvent effect study of clotrimazole in several aqueous co-solvent solutions. *J Chem Thermodyn.* 2020;151:106255. doi:10.1016/j.jct.2020.106255.
- 27.** Cong Y, Du C, Xing K, Bian Y, Li X, Wang M. Investigation on co-solvency, solvent effect, Hansen solubility parameter and preferential solvation of fenbufen dissolution and models correlation. *J Mol Liq.* 2022;348:118415. doi:10.1016/j.molliq.2021.118415.
- 28.** Wan Y, He H, Li F, Li Y, Gao X. Study on dissolution behavior of naphazoline nitrate in four binary solvents: Determination, modeling, Hansen solubility parameter and thermodynamic analysis. *J Mol Liq.* 203;375:121349. doi:10.1016/j.molliq.2023.121349.
- 29.** Alanazi A, Alshehri S, Altamimi M, Shakeel F. Solubility determination and three-dimensional Hansen solubility parameters of gefitinib in different organic solvents: Experimental and computational approaches. *J Mol Liq.* 2020;299:112211. doi:10.1016/j.molliq.2019.112211.
- 30.** Xu R, Yao G. Solubility determination, Hansen solubility parameter, solvent effect and preferential solvation of thenalidine in four aqueous binary mixtures. *J Mol Liq.* 2023;369:120860. doi:10.1016/j.molliq.2022.120860.
- 31.** Hu D, Chen X, Li D, Zhang H, Duan Y, Huang Y. Tranilast-matine co-amorphous system: Strong intermolecular interactions, improved solubility, and physicochemical stability. *Int J Pharm.* 2023;635:122707. doi:10.1016/j.ijpharm.2023.122707.
- 32.** Gumireddy A, Bookwala M, Zhou D, Wildfong PLD, Buckner IS. Investigating and comparing the applicability of the R3m molecular descriptor and solubility parameter estimation approaches in predicting dispersion formation potential of APIs in a random co-polymer polyvinylpyrrolidone vinyl acetate and its homopolymer. *J Pharm Sci.* 2023;112(1):318-27. doi:10.1016/j.xphs.2022.11.004.
- 33.** Marcus Y. The properties of solvents. John Wiley & Sons, Chichester (UK); 1998.

doi: 10.30827/ars.v64i4.28499

Originales breves

Estudio de utilización de nirmatrelvir/ ritonavir en tres centros de atención primaria durante 2022

Drug use evaluation of nirmatrelvir/ritonavir in
three primary care centres during 2022

José Miguel Sotoca-Momblona¹  0000-0002-6546-3351

Marina Rovira-Illamola¹  0000-0001-5118-8603

¹Servicio de Farmacia Hospital Clínic de Barcelona – Consorci d'Atenció Primària de Barcelona Esquerra.
Barcelona, España.

Recibido: 20.06.2023

Aceptado: 12.09.2023

Publicado: 20.09.2023

Agradecimientos

A los médicos de familia por su colaboración.

Financiación

Sin financiación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no presentar conflicto de intereses.

Resumen

Introducción: Nirmatrelvir/ritonavir (Paxlovid®) es el único tratamiento oral autorizado en Europa para tratar la enfermedad por COVID-19 en adultos que no requieren aporte de oxígeno suplementario y que tienen un riesgo alto de progresar a COVID-19 grave.

Está disponible en España previa validación debido al perfil de interacciones y advertencias de uso.

El objetivo es determinar efectividad, seguridad y manejo de interacciones.

Método: Estudio retrospectivo de todos los pacientes con tratamiento validado de nirmatrelvir/ritonavir en tres centros de salud urbanos durante 2022. La efectividad fue la proporción de participantes sin hospitalización relacionada con COVID-19 o muerte por cualquier causa hasta el día 28.

Resultados: Se analizaron 24 pacientes. Se consideró efectivo en 23 (95,8 %). Más del 80 % de pacientes presentaban interacción potencial con la medicación concomitante, recomendándose la suspensión temporal de medicamentos destacando simvastatina y metamizol.

Conclusiones: Nirmatrelvir/ritonavir se ha considerado efectivo pero con difícil manejo en pacientes pluripatológicos polimedcados.

Palabras clave: COVID-19; nirmatrelvir/ritonavir; atención primaria; estudio de utilización de medicamentos; efectividad.

Abstract

Introduction: Nirmatrelvir/ritonavir (Paxlovid®) is the only oral treatment authorized in Europe to treat COVID-19 disease in adults who do not require supplemental oxygen and who are at high risk for progression to severe COVID-19.

It is available in Spain after validation due to the profile of interactions and warnings for use.

The objective is to determine effectiveness, safety and management of interactions.

Method: Retrospective study of all patients on validated nirmatrelvir/ritonavir treatment at three urban health centres during 2022. Effectiveness was the proportion of participants without COVID-19-related hospitalization or death from any cause through day 28.

Results: 24 patients were analyzed. It was considered effective in 23 (95.8 %). More than 80 % of patients presented potential interaction with the concomitant medication, recommending the temporary suspension of medications, highlighting simvastatin and metamizole.

Conclusions: Nirmatrelvir/ritonavir has been considered effective but difficult to manage in polymedicated poly-pathological patients.

Keywords: COVID-19; nirmatrelvir/ritonavir; primary care; drug use evaluation; effectiveness.

Puntos clave

La pandemia COVID-19 ha tenido un elevado impacto en la incidencia de casos y de mortalidad en todo el mundo. Nirmatrelvir/ritonavir es el primer y único tratamiento oral autorizado en Europa para tratar la enfermedad por COVID-19 en adultos que no requieren aporte de oxígeno suplementario y que tienen un riesgo alto de progresar a COVID-19 grave. Está disponible en España previa validación debido al perfil de interacciones y advertencias de uso. Existen pocos datos en práctica de vida real del uso de este medicamento.

El presente estudio muestra la efectividad, seguridad y el manejo de las posibles interacciones del fármaco prescrito en atención primaria.

Los resultados obtenidos muestran el uso real que han dado los médicos de familia al único fármaco que pueden prescribir para tratar a sus pacientes ambulatorios con COVID-19 con riesgo alto de progresar a enfermedad grave. Los datos muestran una utilización limitada y compleja, con una validación previa y un perfil de interacciones que requiere una revisión exhaustiva de toda la medicación concomitante.

Introducción

La Agencia Europea del Medicamento (EMA) concedió el 28 de enero de 2022 una autorización condicional de comercialización a Paxlovid[®], actualizándose en enero de 2023 a una autorización estándar, siendo el primer y único tratamiento oral autorizado en Europa para tratar la enfermedad por coronavirus 2019 (COVID-19). Paxlovid[®] está formado por la asociación de nirmatrelvir (inhibidor de la proteasa principal del SARS-CoV-2) y ritonavir (inhibidor del citocromo CYP3A4 que prolonga la actividad de nirmatrelvir). Tiene indicación para el tratamiento de COVID-19 en adultos que no requieren aporte de oxígeno suplementario y que tienen un riesgo alto de progresar a COVID-19 grave⁽¹⁾. A pesar de que España aún no dispone de decisión de precio y financiación en el Sistema Nacional de Salud, el Ministerio de Sanidad realizó una compra estratégica de 344.000 tratamientos que se distribuyeron entre las comunidades autónomas según criterios poblacionales⁽²⁾. La eficacia se basa en un ensayo clínico⁽³⁾ en fase 2/3, aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo en 2.246 adultos no vacunados y sin infección previa. Presentaban sintomatología leve-moderada, no estaban hospitalizados y tenían un diagnóstico confirmado por laboratorio de infección por SARS-CoV-2. Los pacientes además tenían un factor de riesgo preespecificado para progresión a enfermedad grave o bien edad igual o superior a 60 años independientemente de la condición médica crónica preespecificada, e iniciaron el tratamiento dentro de los primeros cinco días de aparición de la sintomatología. La variable primaria de eficacia fue la proporción de participantes con hospitalización relacionada con COVID-19 o muerte por cualquier causa hasta el día 28 (0,77 % vs. 6,32 %; $p < 0,001$; número necesario a tratar (NNT) = 18 [14 a 25]), siendo Delta la variante principal de SARS-CoV-2. Debido al perfil de interacciones y advertencias especiales de uso, se requiere una validación previa a su dispensación⁽⁴⁾.

Una revisión Cochrane concluye que hay una certeza baja de la evidencia de que nirmatrelvir/ritonavir reduce el riesgo de mortalidad por todas las causas y de ingreso hospitalario o muerte a partir de este único ensayo clínico⁽⁵⁾.

Los estudios en práctica clínica real son limitados, destacando el realizado en Israel donde muestra su efectividad reduciendo el riesgo de progresión a COVID-19 severo o muerte, siendo la variante dominante Omicron, pero en menor medida que el estudio pivotal⁽⁶⁾.

Métodos

Con el objeto de conocer la utilización del medicamento en nuestro medio y determinar la efectividad, seguridad y el manejo de las posibles interacciones de nirmatrelvir/ritonavir, se realizó un estudio retrospectivo que incluyó todos los pacientes con tratamiento prescrito y validado de nirmatrelvir/ritonavir en tres centros de salud urbanos durante el año 2022, con una población asignada de unos

90.000 habitantes. El presente estudio ha sido aprobado por el comité ético de referencia. Los pacientes se identificaron a partir de los registros de validación de medicación. Las variables recogidas fueron: edad, sexo, prescriptor, posología, criterios de riesgo para indicación (A: inmunocomprometidos y otras condiciones de alto riesgo, independientemente del estado de vacunación; B: no vacunados > 80 años; C: > 65 años, independientemente del estado de vacunación, con al menos un factor de riesgo de progresión), vacunación, ingreso por COVID-19, muerte a los 28 días, efectivo (considerando efectivo si no presenta ingreso por COVID-19 o muerte a los 28 días), efectos adversos, número de principios activos prescritos, interacciones, fármacos implicados y recomendación sobre la interacción.

Se consideraron factores de riesgo de progresión los indicados por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios⁽⁷⁾:

- Enfermedad renal crónica: pacientes con tasa de filtración glomerular inferior a 60 ml/min.
- Enfermedad hepática descompensada.
- Enfermedad neurológica crónica (esclerosis múltiple, esclerosis lateral amiotrófica, miastenia gravis o enfermedad de Huntington).
- Enfermedades cardiovasculares, definidas como antecedentes de cualquiera de los siguientes: infarto de miocardio, accidente cerebrovascular, accidente isquémico transitorio, insuficiencia cardíaca, angina de pecho con nitroglicerina prescrita, injertos de revascularización coronaria, intervención coronaria percutánea, endarterectomía carotídea y derivación aórtica.
- Enfermedad pulmonar crónica de alto riesgo.
- Diabetes con afectación de órgano diana.
- Obesidad (Índice de Masa Corporal (IMC) ≥ 35).

En el período comprendido entre el 1 de enero de 2022 y el 24 de julio de 2022 (final de la séptima y última ola) se diagnosticaron 15.815 casos de COVID-19 en los 3 centros de salud⁽⁸⁾.

En la ciudad en la que están ubicados los centros del estudio el número de casos diagnosticados de COVID-19 durante todo el año 2022 fue de 319.827⁽⁹⁾.

Resultados

Se analizaron 24 pacientes con nirmatrelvir/ritonavir, siendo un 75 % mujeres, con una edad media de $82,4 \pm 11,9$ años. La primera prescripción fue del día 8 de abril de 2022. 9 (37,5 %) pacientes tenían la posología reducida por insuficiencia renal moderada. Respecto a los criterios de riesgo para indicación, 4 (16,7 %) pacientes eran inmunocomprometidos, 3 (12,5 %) eran no vacunados > 80 años y 17 (70,8 %) eran > 65 años con al menos un factor de riesgo de progresión.

En la Figura 1 aparecen los factores de riesgo de progresión en los pacientes del grupo C.

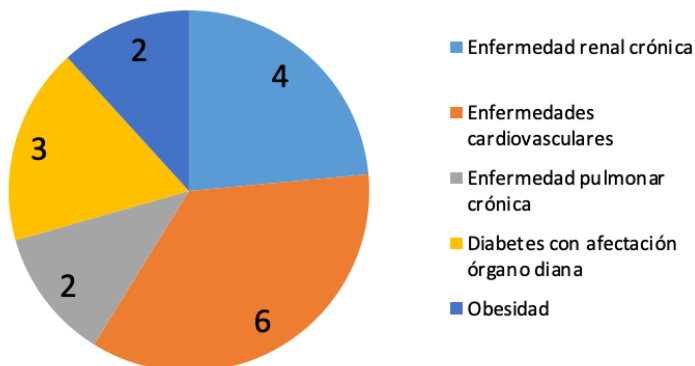


Figura 1. Factores de riesgo de progresión en los pacientes del grupo C

Respecto al estado de vacunación, 3 (12,5 %) pacientes no estaban correctamente vacunados (2 no habían recibido ninguna dosis y 1 únicamente dos dosis).

Se identificaron 14 prescriptores diferentes de un total de 91 médicos de familia (15,4 %).

Se consideró efectivo en 23 (95,8 %) pacientes. Un paciente (4,2 %) ingresó por COVID-19 al cuarto día de tratamiento con nirmatrelvir/ritonavir y fue dado de alta tras dos días. Se consideró que 4 (16,7 %) pacientes presentaron efectos adversos (diarreas, vómitos, disgeusia) y en 2 de ellos a causa de estos efectos no se completó el tratamiento. Los pacientes tomaban una media de $9,8 \pm 3,6$ fármacos y 20 (83,3 %) pacientes presentaron posibles interacciones farmacológicas con la medicación concomitante. En la tabla 1 se muestran las interacciones potenciales detectadas, los posibles efectos a nivel farmacocinético y las recomendaciones para evitarlas.

Tabla 1. Interacciones potenciales detectadas de nirmatrelvir/ritonavir con la medicación concomitante.

Principio activo	Pacientes (n)	Posible efecto de ritonavir sobre el principio activo	Recomendación
Simvastatina	10	Aumento Cp	Stop
Metamizol	3	Aumento Cp	Stop
Alprazolam	2	Aumento Cp	Reducir dosis
Amlodipino	2	Aumento Cp	Reducir dosis
Atorvastatina	2	Aumento Cp	Stop
Diltiazem	2	Aumento Cp	Reducir dosis
Morfina	2	Disminución Cp	Monitorizar
Tamsulosina	2	Aumento Cp	Stop
Acenocumarol	1	Disminución Cp	Monitorizar
Clonazepam	1	Aumento Cp	Stop
Fentanilo	1	Aumento Cp	Reducir dosis
Indapamida	1	Aumento Cp	Monitorizar
Lercanidipino	1	Aumento Cp	Stop
Losartan	1	Aumento Cp	Monitorizar
Oxicodona	1	Aumento Cp	Stop
Quetiapina	1	Aumento Cp	Stop
Rosuvastatina	1	Aumento Cp	Stop
Salmeterol	1	Aumento Cp	Stop
Silodosina	1	Aumento Cp	Stop
Solifenacina	1	Aumento Cp	Stop
Trazodona	1	Aumento Cp	Reducir dosis

Cp: concentración plasmática

Discusión

El primer y único tratamiento oral autorizado en Europa para tratar la enfermedad por COVID-19 ha sido poco prescrito ya que únicamente se han identificado 24 pacientes con el fármaco durante todo el año 2022 mientras que se diagnosticaron más de 15.000 casos COVID en los tres centros desde enero de 2022 hasta el final de la séptima ola en julio de 2022, última fecha en que se dispone de datos por centro de atención primaria.

Posibles causas para esta limitada utilización podrían ser la presencia de variantes diferentes de SARS-CoV-2 a la del estudio pivotal, la menor letalidad del virus, el manejo complicado de las interacciones para medicamentos muy utilizados como las estatinas, el circuito de validación y dispensación complejo y la preocupación por un rebote viral observado después del tratamiento.

Cabe recordar que molnupiravir, otro fármaco también oral, no está autorizado por la EMA. La Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios emitió unas recomendaciones sobre su uso temprano antes de la autorización de comercialización ante una situación de emergencia, y se recomendaba usar en caso de contraindicación a Paxlovid® y como alternativa a otros tratamientos como remdesivir^(7,10).

Conclusión

Podemos concluir que Paxlovid® se ha considerado efectivo pero con difícil manejo en pacientes pluri-patológicos polimedicados.

Bibliografía

1. European Medicine Agency. Consultada el 02/03/2023. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/EPAR/paxlovid>
2. Ministerio de Sanidad. Consultada el 02/03/2023. Disponible en: <https://www.sanidad.gob.es/gabinete/notasPrensa.do?id=5624>
3. Hammond J, Leister-Tebbe H, Gardner A, Abreu P, Bao W, Wisemandle W, Baniecki M, Hendrick VM, Damle B, Simón-Campos A, Pypstra R, Rusnak JM; EPIC-HR Investigators. Oral Nirmatrelvir for High-Risk, Nonhospitalized Adults with Covid-19. *N Engl J Med.* 2022; 386(15):1397-1408. doi: 10.1056/NEJMoa2118542.
4. Canal Salut Generalitat Catalunya. Consultada el 02/03/2023. Disponible en: https://canalsalut.gencat.cat/web/.content/_A-Z/C/coronavirus-2019-ncov/professionals/recomanacions-inici-seguiment-tractament-paxlovid.pdf
5. Reis S, Metzendorf MI, Kuehn R, Popp M, Gagyor I, Kranke P, Meybohm P, Skoetz N, Weibel S. Nirmatrelvir combined with ritonavir for preventing and treating COVID-19. *Cochrane Database Syst Rev.* 2022;20(9):CD015395. doi: 10.1002/14651858.CD015395.pub2.
6. Najjar-Debbiny R, Gronich N, Weber G, Khoury J, Amar M, Stein N, Goldstein LH, Saliba W. Effectiveness of Paxlovid in Reducing Severe Coronavirus Disease 2019 and Mortality in High-Risk Patients. *Clin Infect Dis.* 2023;76(3):e342-e349. doi: 10.1093/cid/ciac443.
7. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. Criterios para valorar la administración de las nuevas alternativas terapéuticas antivirales frente a la infección por SARS-CoV-2. Versión 3. 30 de marzo de 2022. Consultada el 20/4/2023. Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/medicamentos-de-uso-humano/acceso-a-medicamentos-en-situaciones-especiales/criterios-para-valorar-la-administracion-de-las-nuevas-alternativas-terapeuticas-antivirales-frente-a-la-infeccion-por-sars-cov-2/>
8. Registre de casos de COVID-19 a Catalunya per àrea bàsica de salut i sexe. Portal de dades obertes de la Generalitat. Consultada el 31/03/2023. Disponible en: <https://analisi.transparenciacatalunya.cat/>
9. Sistema d'Informació per a la Vigilància d'Infeccions a Catalunya. COVID-19. Consultada el 31/03/2023. Disponible en: <https://sivic.salut.gencat.cat/covid?ftemporada=12®io=3&ftipusdada=2>
10. EMA. Molnupiravir. Consultada el 31/03/2023. Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/human/summaries-opinion/lagevrio>

doi: 10.30827/ars.v64i4.28681

Artículos especiales

Legalización del consumo de cannabis recreativo en adultos y problemas de salud mentales

Legalization of recreational cannabis use in adults and mental health problems

Pedro Amariles^{1,2}  0000-0002-3825-8045

¹Universidad de Antioquia. Facultad de Ciencias Farmacéuticas y Alimentarias. Departamento de Farmacia.

²Grupo de Investigación en Atención Farmacéutica. Universidad de Granada. Facultad de Farmacia.

Correspondencia

Pedro Amariles
pedro.amariles@udea.edu.co

Recibido: 06.07.2023

Aceptado: 19.09.2023

Publicado: 20.09.2023

Financiación

No aplica

Conflicto de intereses

El autor declara no tener conflictos de interés.

Resumen

Los problemas de salud mental hacen parte de las enfermedades no transmisibles y se les atribuye, con otras enfermedades asociados al bienestar, hasta un 21 % de las muertes mundiales. Por ello, es necesario analizar y establecer la relación riesgo/beneficio de políticas relacionadas con la salud mental, caso de la legalización del consumo de cannabis recreativo en adultos. El cannabis es la droga “ilícita” de mayor consumo en los países occidentales, en esencia por incrementar la sociabilidad y la euforia. En la última década, varios países han promulgado normas orientadas a legalizar la comercialización de cannabis recreativo en adultos. En este sentido, existe controversia del efecto de este tipo de iniciativas, en el porcentaje de personas que consumen esta sustancia y en la salud de los mismos. Sin embargo, se podría esperar que este tipo de iniciativas favorezca un aumento en el porcentaje de personas que consumen esta sustancia. El aumento del consumo de marihuana puede favorecer una mayor prevalencia de problemas de salud mental, incluyendo psicosis y esquizofrenia. Se acepta la existencia de una asociación entre consumo de cannabis y psicosis (incluyendo esquizofrenia). En este marco, reconociendo los beneficios de las políticas de legalización del consumo de cannabis recreativo en adultos, orientadas a superar el enfoque prohibicionista y a buscar la reducción del daño, es conveniente evaluar y definir el efecto de las mismas. Además, estas iniciativas se deben acompañar de programas informativos y educativos, orientados a sintetizar los riesgos del consumo, incluyendo, la dependencia y problemas de salud mentales.

Palabras clave: Uso de la Marihuana; Cannabis; Políticas, Planificación y Administración en Salud; Salud mental; Educación para la salud.

Abstract

Mental health problems are included in the non-communicable diseases and together to other problems associated with well-being, they are attributed up to 21 % of global deaths. Therefore, it is necessary to analyze and establish the risk/benefit ratio of policy related to mental health, for example, in the case of the legalization of recreational cannabis use in adults. Cannabis is the most widely used “illicit” drug in Western countries, essentially because it increases sociability and euphoria. In the last decade, several countries have endorsed policies aimed at legalizing the commercialization of recreational cannabis in adults. In this sense, there is controversy about the effect of this type of policy on the percentage of people who consume this substance and on their health. However, it could be expected that this type of initiative will improve the percentage of people who consume this substance. Increased marijuana use may lead to a higher prevalence of mental health problems, including psychosis and schizophrenia. The existence of an association between cannabis use and psychosis (including schizophrenia) is accepted. In this framework, recognizing the benefits of policies to legalize the use of recreational cannabis in adults, advancing from a drug prohibition approach to one focused on harm reduction, it is convenient to evaluate and define the effect of this type of policies. Also, this kind of policies should be linked to informative and educational programs to clarify the risks of consumption, including, dependence and mental health problems.

Key words: Marijuana Use; Cannabis; Health Policy, Planning and Management; Mental health; Health education.

Puntos clave

El efecto de políticas de legalización del consumo de cannabis recreativo, en el porcentaje de personas usuarias de esta droga (incluyendo jóvenes/adolescentes) y, con ello, en la presentación de trastorno por consumo de cannabis, dependencia, psicosis e incluso esquizofrenia, es controvertido.

La legalización del cannabis con fines recreativos puede aumentar el consumo en adultos jóvenes; y el consumo de cannabis aumenta el riesgo de desarrollar psicosis, síntomas psicóticos y esquizofrenia.

La legalización del consumo del cannabis con fines recreativos se debe acompañar de programas de información y educación, orientados a garantizar el conocimiento de los riesgos asociados, buscando optimizar el riesgo/beneficio de este tipo de iniciativas en la salud de la población de cada país.

Introducción

En el 2015, la organización de naciones unidas estableció como objetivo de desarrollo sostenible-3: “*garantizar una vida sana y promover el bienestar para todos en todas las edades*” y como meta 3.4 “*reducir en un 33 % la mortalidad prematura por enfermedades no transmisibles (ENT) o crónicas*”, mediante la prevención y tratamiento, potenciados por la promoción de la salud y del bienestar⁽¹⁾.

Las ENT son problemas de salud crónicos, responsables de la mayor cantidad de enfermedad y muerte global y que comparten factores de riesgo *genéticos* (predisposición a desarrollarlas), *ambientales* (polución y contaminación), *fisiológicos/metabólicos* (hipertensión arterial, diabetes y dislipemia) y *conductuales* (fumar tabaco -también marihuana-, inactividad física, alimentación no saludable, consumo excesivo de alcohol y hábitos de sueño inadecuados). Por ello, las intervenciones de promoción y prevención, orientadas a controlar dichos factores, pueden disminuir la enfermedad y muertes por las ENT⁽¹⁾.

Los problemas de salud mental hacen parte de las principales ENT y se les atribuye, en conjunto con otros problemas asociados al bienestar, hasta un 21 % de las muertes mundiales⁽¹⁾. En este sentido, se acepta que la prevención y tratamiento de los problemas de salud mental son uno de los retos genuinos y actuales de la salud pública local e internacional. Por ello, la necesidad académica y social de analizar y establecer la relación riesgo/beneficio de decisiones políticas, relacionadas con la salud mental, caso de la legalización de la venta, compra y comercialización del cannabis recreativo en adultos. Propósito que, aunque no legaliza la adicción a dicha droga, podría favorecer su consumo y, con ello, un aumento en los efectos negativos para la salud de los consumidores directos e indirectos (“fumadores pasivos”).

Las plantas de marihuana y cáñamo pertenecen al género *Cannabis*. Los efectos fisiológicos del cannabis se derivan principalmente de sus cannabinoides. Hasta la fecha, entre más de 100 fitocannabinoides identificados, el cannabidiol (CBD) y el delta-9-tetrahidrocannabinol (D9-THC) son los dos cannabinoides mejor estudiados. Por su parte, relacionado con clasificación taxonómica las tres variedades de cannabis utilizadas con fines recreativos y medicinales corresponden a *Cannabis sativa* Linnaeus, *Cannabis indica* Lamarck y *Cannabis ruderalis*; siendo la altura y el contenido de cannabinoides psicoactivos, las que generan su diferenciación. En este sentido, a pesar de posibles controversias, la variedad *C. sativa* se asocia a una planta con alto contenido de THC; la *C. indica* a una planta mixta de THC y CBD; y la *C. ruderalis*, una planta con alto contenido de CBD. De forma más específica, en función de la relación del contenido THC/CBD, las variedades de las plantas de *cannabis* pueden ser quimiotipo I (plantas tipo droga), caracterizadas por tener una alta relación THC/CBD $\gg 1.0$; quimiotipo II (plantas de tipo intermedio), por tener una relación THC/ CBD cercana a 1.0; y plantas de quimiotipo III (tipo cáñamo) con una relación THC / CBD $\ll 1.0$ ^(2,3).

La *Cannabis sativa* L. (conocida también como cáñamo índico) es la más conocida y estudiada, debido a su utilidad como fuente de fibra, alimentos, aceite y medicinas; al igual que a su uso con fines recreativos y religiosos. Esta variedad es una planta herbácea anual, cultivada desde la antigüedad, en Asia Central (India y China), pero distribuida de forma global en todos los continentes; en la que se han identificado compuestos activos, como terpenoides, flavonoides, alcaloides y cannabinoides,

siendo estos últimos los más activos. El componente psicoactivo clave en *C. sativa* es el delta-9-tetrahidrocannabinol (D9-THC); mientras que el cannabidiol es más reconocido por sus potencialidades terapéuticas^(2,3).

De forma global, desde el enfoque de políticas públicas, el cannabis se considera medicinal o recreativo. Sin embargo, la terminología relacionada con el cannabis carece de estandarización, lo que favorece la utilización de varios términos sin una diferenciación precisa y, con ello, confusión entre la comunidad^(4,5). En este contexto, una aproximación con mayor claridad, a la terminología, podría ser: uso recreativo (o con fines recreativos) corresponde al consumo de cannabis con el objetivo de inducir euforia u otros efectos cognitivos (sin intención terapéutica)⁽⁴⁾. Con lo que se intenta favorecer que, la población, diferencie entre el uso de la droga (con fines no-terapéuticos y asociado a posible trastorno por consumo de cannabis y dependencia) del uso de los cannabinoides con fines terapéuticos “medicina o terapia médica basada en cannabinoides”. Es importante mencionar que esta aproximación, guardando las diferencias notorias entre ambas drogas, se asimila a lo ocurrido con los opiáceos: opiáceos de uso medicinal (caso de la morfina) diferente al uso recreativo (caso de la heroína)⁽⁵⁾.

En este contexto, en especial en el globo occidental, las políticas orientadas a favorecer la legalización del uso recreativo se han acompañado de un debate centrado en los efectos positivos/negativos (riesgo/beneficio) de este tipo de iniciativas^(2,6). Por ello, desde una perspectiva académica, se considera adecuado presentar algunas reflexiones sobre este tema. En este sentido, el objetivo de este artículo fue presentar algunas consideraciones sobre posibles efectos para la salud, especialmente mental, que pueden generar las políticas orientadas a legalizar el uso del cannabis con fines recreativos, en esencia por un posible aumento en la prevalencia de uso en la población más vulnerable para alteraciones mentales, caso de jóvenes y adolescentes.

Efectos beneficiosos (positivos) en la salud del uso de cannabis

El cannabis es la droga “ilícita” de mayor consumo en los países occidentales, en esencia por el aumento que genera en la sociabilidad y euforia de las personas que lo consumen. Adicionalmente, cada vez se dispone de más evidencia del papel terapéutico de preparados con cannabis, con la relación adecuada de los cannabinoides D9-THC (esencialmente psicoactivo) y cannabidiol-CBD (esencialmente terapéutico), en pacientes con ciertos problemas de salud, incluyendo trastornos neurológicos y psiquiátricos. Estos beneficios terapéuticos son más probables en los casos en los que no se dispone de alternativas o en los que no se logra controlar o aliviar el problema de salud con tratamientos habituales^(2-4,6).

La utilización de diferentes cannabinoides (naturales y sintéticos) es una opción terapéutica en varios problemas de salud, debido sus acciones y efectos sobre el sistema endocannabinoide (SEC). En este sentido, varios estudios preclínicos y clínicos han mostrado que la regulación o modulación (activación o inhibición) del SEC es una estrategia terapéutica que podría ser utilizada en diversos problemas de salud. Para el caso, dolor crónico, esclerosis múltiple, epilepsia resistente (en especial en los síndromes de Dravet y de Lennox-Gastaut), náuseas y vómitos debido a la quimioterapia, y la caquexia existe evidencia suficiente o concluyente de los beneficios. Por su parte, para otras alteraciones, incluyendo alteraciones del sueño, ansiedad y algunas enfermedades neurodegenerativas, caso del Alzheimer, la evidencia es limitada^(2,3,7).

De forma global el SEC es responsable de mantener la homeostasis, equilibrio en el ambiente interno (temperatura, estado de ánimo y sistema inmunológico), al igual que el balance energético (ingreso y salida de energía) en los sistemas biológicos vivos. Además de regular los procesos fisiológicos, el SEC influye directamente en la ansiedad, el comportamiento/apetito alimentario, el comportamiento emocional, la depresión, las funciones nerviosas, la neurogénesis, la neuro-protección, la recompensa, la cognición, el aprendizaje, la memoria, la sensación de dolor, la fertilidad, el embarazo y el desarrollo pre y postnatal⁽⁸⁾.

El SEC está integrado por receptores, ligandos y enzimas expresados ampliamente a nivel central (cerebro) y periférico, con la finalidad de mantener la homeostasis de varios procesos fisiológicos. En este sentido hacen parte el SEC: a) mensajeros lipídicos moduladores, neurotransmisores o ligandos

endógenos (endocannabinoides), en especial la anandamida (AEA) y el 2-araquidonilglicerol (2-AG); b) receptores específicos para cannabinoides, en especial los RCB1 y RCB2; y c) enzimas responsables de su síntesis (diversas fosfolipasas) o de su inactivación metabólica, en especial la ácido-graso-amido-hidrolasa (AGAH), para la anandamida, y la monoacilglicerol lipasa (MAGL), para el 2-AG. Además, el logro de la finalidad del sistema requiere de las siguientes etapas claves: a) síntesis, a demanda, y liberación de los endocannabinoides, a la hendidura sináptica; b) unión y modulación de los receptores cannabinoides, usualmente asociados a otros sistemas de neurotransmisión y, c) terminación del efecto, por la recaptación e inactivación metabólica de dichos neurotransmisores^(3,4,8).

Sin embargo, a pesar de los avances en el conocimiento de los efectos terapéuticos de los cannabinoides, los aspectos relacionados con el mecanismo de acción, en especial el molecular, sigue siendo limitada, incluso para el CBD, considerado como el prototipo de los cannabinoides medicinales⁽³⁾.

Efectos negativos para la salud del uso de cannabis recreacional

La evaluación general de la seguridad de los medicamentos a base de cannabinoides es compleja, debido a la confusión con el uso recreativo de cannabis, a lo que se suma las limitaciones en el diseño de los estudios, indicaciones, dosificación y vías de administración⁽⁴⁾. Además, aunque los estudios sobre el consumo recreativo de cannabis pueden ser fuente de información, la generalización de hallazgos es controvertida, debido a que se basan en informes subjetivos y no verificables, sumado a las limitaciones en el diseño de los estudios. Sin embargo, en el caso del uso recreacional se podrían establecer algunas generalidades. Por ejemplo, el fumar cannabis se asocia al riesgo de la ingesta de subproductos potencialmente mutagénicos y cancerígenos, un mayor riesgo de trastorno por el consumo de cannabis y de alteraciones mentales. Pero de nuevo, por ejemplo, en el caso de los datos sobre el trastorno por consumo de cannabis, su validez está afectada por factores de confusión, tales como el uso simultáneo de otras drogas recreativas y el tabaquismo. Por su parte, el consumo agudo o en el corto plazo de cannabis con fines recreativos (sin certeza en la composición del producto), se ha asociado con agitación, hiperémesis, alteraciones cardiovasculares (taquicardia, contracciones ventriculares prematuras, fibrilación auricular y arritmia ventricular), bronquitis, visión borrosa somnolencia y trastornos psicológicos, incluyendo psicosis^(3,4).

Por su parte, en la última década, varios países, caso de Uruguay, Canadá y varios estados de los Estados Unidos de América, han promulgado normas/políticas orientadas a legalizar la comercialización y distribución de cannabis recreativo en adultos. En este sentido, existe controversia, favorecida por publicaciones científicas con resultados contradictorios, relacionados con el efecto de este tipo de iniciativas, en el porcentaje de personas que usan esta sustancia y en la salud de los mismos. En este sentido, algunas revisiones sistemáticas recientes^(9,10), para el caso de los adolescentes, identifican resultados mixtos; mientras que, para los adultos jóvenes, documentan un aumento en la prevalencia del consumo de cannabis. Además, aunque no identifican impactos notorios en el corto plazo, señalan posibles consecuencias negativas atribuidas a políticas de legalización del consumo del cannabis recreativo en adultos^(9,11).

Por ello, con el soporte de resultados más recientes y con lo observado con la regulación del cannabis medicinal⁽¹²⁾, se podría esperar que este tipo de iniciativas favorezca un aumento en el porcentaje de personas que consumen esta sustancia, incluyendo grupos poblacionales diferentes a los mayores de 18 años, caso de los adolescentes⁽³⁾. Efecto atribuido, entre otros, a la asociación entre este tipo de norma/políticas con una percepción de menor riesgo del consumo de marihuana, principalmente en los jóvenes^(9,11). Adicionalmente, algunos estudios muestran que, la legalización de la marihuana recreativa, podría aumentar el riesgo de consumo simultáneo de alcohol y marihuana entre los adolescentes^(13,14).

¿El aumento en el consumo de marihuana puede favorecer una mayor prevalencia de los problemas de salud mental?

Se podría establecer que, la evidencia disponible, inclina la balanza a una respuesta positiva a este interrogante. En este contexto, una revisión sistemática realizada entre 2009 y 2019, en PubMed y la base de datos de carga mundial de salud (GBD, por sus iniciales en inglés), en la que se incluyeron 21

estudios de 1383 registros identificados, reporto resultados que respaldan esta afirmación. En este sentido, entre los consumidores de marihuana, el 22 % (IC95 %: 18-26 %) desarrolla trastorno por consumo de cannabis o marihuana (TCC); y el 13 % (IC95 %: 10-15 %) desarrolla dependencia; riesgo que llega hasta el 33 % (IC95 %: 22-44 %), entre los jóvenes que consumen cannabis de forma regular (semanal o diario)⁽¹⁵⁾. De forma similar, otra revisión sistemática en Medline, EMBASE, PsycInfo, CINAHL y Web of Science, centrada en estudios de cohortes/casos y controles que evaluaron la asociación entre la frecuencia de consumo de cannabis y la TCC, entre el 2000 a 2022, también documentó resultados similares. En este sentido, en la revisión se incluyeron seis estudios de cohortes prospectivos, en los que se identificó una asociación dosis-respuesta significativa entre la frecuencia de consumo de cannabis y el riesgo de TCC ($p < 0,0001$). El riesgo relativo de TCC aumentó de 2,03 (IC 95 %: 1,85-2,22) para el uso anual, a 4,12 (IC 95 %: 3,44-4,95), 8,37 (IC 95 %: 6,37-11,00) y a 16,99 (IC del 95 %: 11,80-24,46) cuando el uso es mensual¹⁷, semanal y diario, respectivamente. Además, el riesgo absoluto para el uso anual fue de 3,5 % (IC del 95 %: 2,6-4,7); el cual se incrementó al 8,0 % (IC del 95 %: 5,3-12,1), 16,8 % (IC del 95 %: 8,8-32,0) y 36 % (IC del 95 %: 27,04-7,9) cuando el uso fue mensual, semanal y diario, respectivamente⁽¹⁶⁾.

El TCC es un problema de salud en personas que consumen marihuana y que, a pesar de los problemas sociales y de salud asociados, no pueden abandonar su consumo; siendo más frecuente en las personas que inician el uso de marihuana en la juventud o en la adolescencia y en quienes lo hacen con mayor frecuencia o utilizan productos con mayor contenido de THC. Además, parece existir una asociación, entre una posible predisposición genética para el desarrollo del TCC con la de la aparición de esquizofrenia⁽¹⁷⁾.

Asimismo, el aumento del consumo de cannabis se asocia, de forma notoria, con el desarrollo de problemas psiquiátricos, caso de alteraciones del pensamiento, el aprendizaje, la memoria, el juicio y la toma de decisiones, al igual que de la psicosis, esquizofrenia y trastornos del estado de ánimo⁽¹⁸⁾. De forma similar, entre los consumidores de cannabis que desarrollan TCC se ha documentado un mayor riesgo de desarrollar trastorno afectivo bipolar I y II⁽¹⁹⁾.

El consumo de cannabis puede causar y empeorar la psicosis y la esquizofrenia⁽²⁰⁾; en este contexto, diferentes estudios han mostrado que, en comparación con los no consumidores, la enfermedad psicótica es más frecuente en los consumidores de cannabis. Por su relevancia, se detallan los resultados de algunos de estas dos revisiones sistemáticas (una de ellas revisión sistemática de revisiones).

- Revisión sistemática a diciembre 31 de 2013, en bases de datos electrónicas, complementadas con búsquedas manuales en bibliografías, realizada con el fin de establecer la asociación entre el grado de consumo de cannabis y la psicosis, y complementada con un meta-análisis para cuantificar la magnitud del efecto. La revisión identificó 571 registros, de las cuales se incluyeron 18 en la revisión y 10 (total de 66.816 personas) en el meta-análisis. De forma general, los niveles más altos de consumo de cannabis se asociaron con un mayor riesgo de psicosis en todos los estudios incluidos. De forma específica, la razón de disparidad (OR, por sus iniciales en inglés) para el riesgo de esquizofrenia y otros problemas de salud relacionados con la psicosis fue de 3,90 (IC del 95 %: 2,84 a 5,34). De forma similar, el análisis estratificado mostró resultados similares para cada categoría. Por ejemplo, la estratificación por tipo de estudio generó una OR de 3,99 (IC 95 %: 2,50 a 6,37) y 3,83 (IC 95 %: 2,34 a 6,29) para los estudios transversales y los de cohortes, respectivamente. Por su parte, para la presencia de síntomas psicóticos la OR fue 3,59 (IC 95 %: 2,42 a 5,32), mientras que para un diagnóstico de esquizofrenia o trastorno psicótico fue de 5,07 (IC 95 %: 3,62 a 7,09)⁽²¹⁾.

- Revisión sistemática y meta-análisis de revisiones sistemáticas, orientada a evaluar el efecto del consumo de cannabis en el inicio y curso de las psicosis. La búsqueda se realizó desde 2005 hasta 2016, en PubMed, PsycINFO, Medline, Embase y la Biblioteca Cochrane. Se incluyeron 26 revisiones sistemáticas y meta-análisis. En comparación con los no consumidores, los usuarios de cannabis tienen mayor prevalencia de enfermedad psicótica, un mayor riesgo dependiente de la dosis de desarrollar enfermedades psicóticas, y un inicio más temprano de la enfermedad psicótica (los consumidores de cannabis tienen un inicio de la enfermedad alrededor de 2 a 3 años antes que los no consumidores). Además, en

pacientes psicóticos, el consumo de cannabis también se asoció con mayores tasas de recaída, gravedad de los síntomas positivos y hospitalizaciones⁽²²⁾.

- Revisión sistemática y meta-análisis orientada a establecer la relación entre el consumo de cannabis en adolescentes y otros factores el riesgo de desarrollar psicosis. La búsqueda se realizó en 4 bases de datos hasta junio de 2020, para identificar artículos que evaluaran el consumo de cannabis en adolescentes, tuvieran psicosis como resultado y analizaran la asociación entre el consumo de cannabis en adolescentes y la psicosis. En la revisión narrativa se incluyeron 63 estudios y en el meta-análisis 18. De forma global, el consumo de cannabis en adolescentes aumenta el riesgo de psicosis (RR = 1,71 [IC 95 %, 1,47-2,00, $p < 0,00001$]) y de un inicio más temprano de la psicosis. Por su parte, la edad de inicio del consumo de cannabis, el consumo frecuente de cannabis, los traumas infantiles, el consumo simultáneo de otras sustancias y los factores genéticos favorecen la relación entre el consumo de cannabis y el riesgo de psicosis⁽²³⁾.

Por lo anterior, es plausible establecer que, cada vez se dispone de mayor evidencia de la asociación fuerte, entre el consumo de cannabis y el riesgo de desarrollar psicosis, síntomas psicóticos e incluso esquizofrenia. El consumo de cannabis tiene una asociación fuerte (dependiente de la dosis) con un mayor riesgo de psicosis y con efectos más graves de este tipo de problema de salud. Riesgo que parece ser mayor en adolescentes, un inicio de consumo a una edad más temprana, un consumo más frecuente y predisposición genética⁽²⁰⁻²³⁾.

Además, la evidencia señala una mayor influencia nociva del inicio del consumo de cannabis en el curso de la depresión, especialmente en adolescentes⁽¹¹⁾. En este sentido, una revisión sistemática con meta-análisis orientada a evaluar la prevalencia y la fuerza de asociación entre TCC con la depresión mayor y el trastorno generalizado de ansiedad (TGA). La búsqueda se realizó en Medline, CINAHL, PsycINFO, EMBASE, entre el 1 de enero de 1980 y el 31 de julio de 2020. La revisión identificó 67 registros, de los cuales se incluyeron 8 en la revisión. De forma global, la OR entre el TCC y la depresión mayor fue de 3,22 (IC 95 %: 2,31 - 4,49); mientras que para el TAG fue de 2,99 (IC95 %: 2,14 - 4,16)⁽²⁴⁾.

Relacionado con las edades de mayor riesgo para la aparición de problemas mentales, una revisión sistemática y meta-análisis, orientada a establecer estimaciones epidemiológicas globales sólidas de la edad de inicio de los trastornos mentales. La revisión se centró en identificar estudios representativos de la población general, con información de la edad de inicio de cualquier trastorno mental, en PubMed/Web of Science, hasta el 16 de mayo de 2020. En el meta-análisis se incluyeron 192 estudios (n = 708.561) y se identificó que, en los grupos poblacionales menores de 14, 18 y 25 años de edad, los porcentajes que presentan cualquier trastorno mental fueron del 34,6 %, 48,4 % y 62,5 %, respectivamente; mientras que la edad pico fue de 14,5 años. Para el caso del inicio de trastornos por consumo de sustancias/conductas adictivas, en estos mismos grupos de edad, los porcentajes fueron del 2,9 %, 15,2 % y 48,8 %, respectivamente, siendo los 19,5 años la edad pico. Por su parte, para la esquizofrenia y estados psicóticos primarios, de nuevo en menores de 14, 18 y 25 años, los porcentajes fueron del 3 %, 12,3 %, 47,8 %, respectivamente, y los 20,5 años la edad pico⁽²⁵⁾.

Sin embargo, en términos de evidencia, hay que señalar que la disponibilidad de estudios clínicos controlados (que pudiesen establecer una clara relación causa-efecto) es limitada. En esencia, la ausencia de este tipo de estudios, en parte explicada por sus implicaciones éticas, genera controversia sobre el grado de certeza de la relación causa/efecto, entre el consumo de cannabis y los problemas para la salud de las personas. En términos prácticos, se acepta la existencia de una asociación entre el consumo de cannabis y psicosis (incluyendo esquizofrenia), pero es objeto de debate, si dicha relación es causal o no⁽²⁶⁾.

En este contexto, es conveniente destacar los resultados de un artículo publicado en mayo de 2023, que respalda la hipótesis de la asociación fuerte entre el consumo de cannabis y esquizofrenia. En esencia, la importancia de dicha publicación se fundamenta, más allá del resultado a favor de dicha asociación, en la cantidad de personas y del tiempo de seguimiento que se tuvo para identificar la asociación, los cuales le confieren valor notorio a los resultados y conclusiones del estudio. En este sentido, se trata de un estudio de cohorte, basado en el registro nacional danés, en el que se incluyó a todas las personas nacidas antes del 31 de diciembre de 2005 y que estaban vivas y tenían entre 16 y

49 años (ambos inclusive) en algún momento durante 1972-2021. El estado de TCC y esquizofrenia se obtuvo de los registros con información sobre todos los tratamientos psiquiátricos hospitalarios en Dinamarca desde 1969, complementados con todos los tratamientos ambulatorios desde 1995. Entre los resultados se encontró que, entre 1972 y el 2021, se incluyeron 6.907.859 personas, 3531266 (51,1%) hombres, con 45.327 casos nuevos de esquizofrenia, y hubo un seguimiento equivalente a 129.521.260 años-persona⁽²⁷⁾. Este estudio muestra que, los varones jóvenes pueden ser particularmente susceptibles para el desarrollo de esquizofrenia por cannabis. En este contexto, asumiendo causalidad para esta asociación, un 20 % de los casos de esquizofrenia en varones jóvenes podrían prevenirse evitando el TCC. Por ello, estos resultados destacan la importancia de la detección temprana y el tratamiento del TCC, al igual que la necesidad de un adecuado análisis de los beneficios y riesgos de decisiones políticas que puedan afectar la disponibilidad y el acceso al consumo de cannabis, particularmente en jóvenes entre los 16 a los 25 años⁽²⁷⁾.

Por lo expuesto, se puede establecer la existencia de evidencia de una asociación fuerte entre el uso de cannabis recreativo y la aparición de psicosis y de esquizofrenia, la cual se soporta en resultados de publicaciones con análisis de datos epidemiológicos, series de casos y revisiones sistemáticas de estudios observacionales^(17-18,20-28). En este sentido, a pesar de la posible y necesaria controversia, se puede establecer que existe información disponible que respalda la hipótesis de asociación entre el consumo de marihuana con la aparición y empeoramiento de la psicosis y la esquizofrenia, asociación que puede ser mayor en población vulnerable, caso de la población joven o con otro tipo de alteraciones mentales^(17-18,20-28).

Riesgo/beneficio de políticas de legalización del consumo recreativo de cannabis en adultos

Dada la popularidad en el uso de cannabis recreativo y sus posibles efectos nocivos, existe la necesidad de más investigación y de un análisis más detallado del riesgo/beneficio, que podría tener la aprobación de normas que buscan favorecer el derecho al acceso seguro a esta droga y el libre desarrollo de la personalidad. Este tipo de normas, podría aumentar el porcentaje de usuarios y, con ello, el riesgo para la salud de consumidores directos y “fumadores pasivos”. Además, es necesario considerar la posible afectación del derecho a un ambiente sano, debido a un aumento en el riesgo a la exposición pasiva al cannabis y a sus residuos presentes en el humo y generados en el proceso de la combustión, condición que, a pesar de no tener la misma magnitud en el efecto nocivo, es un factor de riesgo para la salud de estas personas^(2-4,6).

En este contexto, cada vez se dispone de mayor información de los efectos negativos para la salud, a corto y largo plazo, asociados al consumo de cannabis recreativo, incluyendo problemas respiratorios^(2-4,29-30) y cardiovasculares⁽²⁻⁴⁾, similares a los documentados con el humo y residuos del cigarrillo, por lo que, en algunas guías clínicas recientes de estos problemas de salud, se le considera como un factor de riesgo, caso de la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC)⁽²⁹⁾. Por ejemplo, la guía de la Iniciativa Global para la Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (GOLD, por sus iniciales en inglés), en su versión 2023, registra que, el fumar cannabis, es un factor de riesgo para la EPOC, debido a que fumar marihuana amplifica los efectos nocivos del tabaquismo como factor de riesgo para la EPOC y en la disminución del volumen espiratorio del primer segundo, en el tiempo⁽³⁰⁾. Es importante destacar que, la guía GOLD integra los aportes de profesionales de la salud de todo el mundo, está basada en evidencia, se actualiza usualmente cada año y busca contribuir al logro del tratamiento más adecuado y a los mejores resultados en salud de pacientes con EPOC, en todos los rincones del mundo⁽²⁹⁾.

En este marco delimitado por la información disponible, reconociendo los beneficios de políticas de legalización del consumo de cannabis recreativo en adultos, especialmente en términos de libertades y derechos, evolucionando del enfoque prohibicionista a uno centrado en la reducción del daño⁽³¹⁾, es conveniente evaluar y definir el efecto de otras intervenciones en salud pública, más allá de la simple meta de legalizar el consumo recreativo de cannabis. Además, se debe considerar y evaluar los efectos para la salud, en especial mental, que podría generar el consumo de marihuana y, por tanto, el riesgo de un mayor acceso y disponibilidad de este producto. De forma específica, la hipótesis es que, el aumento en la disponibilidad y acceso a este producto, podría generar un aumento en la proporción de usuarios, incluyendo jóvenes y adolescentes, lo que, a su vez, podría generar un aumento en la preva-

lencia de casos de psicosis y esquizofrenia, especialmente en hombres jóvenes. Por ello, la necesidad de un mayor análisis de posibles riesgos y beneficios de este tipo de iniciativas, en el contexto de cada país. Además, parece ser que no se dispone de información suficiente, de los beneficios de legalizar el consumo de cannabis recreativo en adultos, a lo que se suma el efecto de las diferencias y contextos de los países; por ello, existen limitaciones para hacer llamados globales a legalizar el uso recreativo de esta droga⁽³²⁾.

Conclusiones

En definitiva, aceptando la productiva y necesaria controversia, favorecida por resultados contradictorios, se podría asumir que cada vez se dispone de más resultados que avalan la hipótesis de que la legalización del uso de cannabis recreativo en adultos, se correlaciona con un aumento en la cantidad de consumidores o del consumo de cannabis con mayor cantidad de THC y, con ello, con un aumento en el riesgo de TCC, de dependencia y de problemas mentales, especialmente psicosis y esquizofrenia^(17-18,20-28).

Además, se requiere del diseño y desarrollo de investigaciones orientadas a generar mayor información del efecto de este tipo de políticas, incluyendo poblaciones vulnerables, caso de personas con problemas de salud mental o las personas que consumen cannabis con frecuencia o con dosis más altas de THC^(6,9,11). En todo caso, la comunidad debe estar informada sobre los riesgos de desarrollar TCC, dependencia y problemas mentales asociados al consumo de cannabis⁽¹⁵⁾. Por ello, la legalización del consumo de esta droga se debe acompañar de programas de información y educación que garanticen el conocimiento de los riesgos asociados, utilizando las experiencias exitosas en el caso de otras drogas caso del alcohol y el tabaco, con la intención de optimizar el riesgo beneficio de la legalización del uso recreativo de esta droga en la salud de la población del respectivo país⁽³³⁾.

Bibliografía

1. World Health Organization. WHO Package of Essential Noncommunicable (PEN) Disease Interventions for Primary Health Care. World Health Organization; Geneva, Switzerland: 2020.
2. Bonini SA, Premoli M, Tambaro S, et al. Cannabis sativa: A comprehensive ethnopharmacological review of a medicinal plant with a long history. *J Ethnopharmacol.* 2018;227:300-315. doi: 10.1016/j.jep.2018.09.004.
3. Page RL 2nd, Allen LA, Kloner RA, et al; American Heart Association Clinical Pharmacology Committee and Heart Failure and Transplantation Committee of the Council on Clinical Cardiology; Council on Basic Cardiovascular Sciences; Council on Cardiovascular and Stroke Nursing; Council on Epidemiology and Prevention; Council on Lifestyle and Cardiometabolic Health; and Council on Quality of Care and Outcomes Research. Medical Marijuana, Recreational Cannabis, and Cardiovascular Health: A Scientific Statement from the American Heart Association. *Circulation.* 2020;142(10):e131-e152. doi: 10.1161/CIR.0000000000000883.
4. Gottschling S, Ayonrinde O, Bhaskar A, et al. Safety Considerations in Cannabinoid-Based Medicine. *Int J Gen Med.* 2020;13:1317-1333. doi: 10.2147/IJGM.S275049.
5. Sordo L, Gual A. Cannabis recreativo y cannabinoides terapéuticos, ni mezclados ni agitados [Recreational cannabis and therapeutic cannabinoids, neither shaken nor stirred]. *Gac Sanit.* 2022;36(6):500-501. doi: 10.1016/j.gaceta.2022.03.009.
6. Cohen K, Weizman A, Weinstein A. Positive and Negative Effects of Cannabis and Cannabinoids on Health. *Clin Pharmacol Ther.* 2019;105(5):1139-1147. doi: 10.1002/cpt.1381.
7. Pagano C, Navarra G, Coppola L, Avilia G, Bifulco M, Laezza C. Cannabinoids: Therapeutic Use in Clinical Practice. *Int J Mol Sci.* 2022;23(6):3344. doi: 10.3390/ijms23063344.

8. Lowe H, Toyang N, Steele B, Bryant J, Ngwa W. The Endocannabinoid System: A Potential Target for the Treatment of Various Diseases. *Int J Mol Sci.* 2021;22(17):9472. doi: 10.3390/ijms22179472.
9. Farrelly KN, Wardell JD, Marsden E, et al. The Impact of Recreational Cannabis Legalization on Cannabis Use and Associated Outcomes: A Systematic Review. *Subst Abuse.* 2023;17:11782218231172054. doi: 10.1177/11782218231172054
10. O'Grady MA, Iverson MG, Suleiman AO, Rhee TG. Is legalization of recreational cannabis associated with levels of use and cannabis use disorder among youth in the United States? A rapid systematic review. *Eur Child Adolesc Psychiatry.* 2022. doi: 10.1007/s00787-022-01994-9
11. Chiu V, Leung J, Hall W, Stjepanović D, Degenhardt L. Public health impacts to date of the legalisation of medical and recreational cannabis use in the USA. *Neuropharmacology.* 2021;193:108610. doi: 10.1016/j.neuropharm.2021.108610
12. Freisthler B, Gruenewald PJ. Examining the relationship between the physical availability of medical marijuana and marijuana use across fifty California cities. *Drug Alcohol Depend.* 2014;143:244-50. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2014.07.036
13. O'Hara SE, Paschall MJ, Grube JW. Recreational Marijuana Legalization, Local Retail Availability, and Alcohol and Marijuana Use and Co-Use among California High School Students. *J Stud Alcohol Drugs.* 2023. doi: 10.15288/jsad.22-00277
14. Paschall MJ, García-Ramírez G, Grube JW. Recreational Marijuana Legalization and Co-use With Alcohol Among Adolescents. *Am J Prev Med.* 2022;62:57-64. doi: 10.1016/j.amepre.2021.06.003
15. Leung J, Chan CJK, Hides L, Hall WD. What is the prevalence and risk of cannabis use disorders among people who use cannabis? a systematic review and meta-analysis. *Addictive Behaviors.* 2020;109:106479
16. Robinson T, Ali MU, Easterbrook B, et al. Identifying risk-thresholds for the association between frequency of cannabis use and development of cannabis use disorder: A systematic review and meta-analysis. *Drug Alcohol Depend.* 2022;238:109582. doi: 10.1016/j.drugalcdep.2022.109582.
17. Johnson EC, Hatoum AS, Deak JD, et al. The relationship between cannabis and schizophrenia: a genetically informed perspective. *Addiction.* 2021;116(11):3227-3234. doi: 10.1111/add.15534
18. Lowe DJE, Sasiadek JD, Coles AS, George TP. Cannabis and mental illness: a review. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2019;269(1):107-120. doi: 10.1007/s00406-018-0970-7
19. Jepsen OH, Erlangsen A, Nordentoft M, Hjorthøj C. Cannabis Use Disorder and Subsequent Risk of Psychotic and Nonpsychotic Unipolar Depression and Bipolar Disorder. *JAMA Psychiatry.* 2023:e231256. doi: 10.1001/jamapsychiatry.2023.1256.
20. Urits I, Gress K, Charipova K, et al. Cannabis Use and its Association with Psychological Disorders. *Psychopharmacol Bull.* 2020;50(2):56-67.
21. Marconi A, Di Forti M, Lewis CM, Murray RM, Vassos E. Meta-analysis of the Association Between the Level of Cannabis Use and Risk of Psychosis. *Schizophr Bull.* 2016;42(5):1262-9. doi: 10.1093/schbul/sbw003.
22. Hasan A, von Keller R, Friemel CM, et al. Cannabis use and psychosis: a review of reviews. *Eur Arch Psychiatry Clin Neurosci.* 2020;270(4):403-412. doi: 10.1007/s00406-019-01068-z
23. Kiburi SK, Molebatsi K, Ntlantsana V, Lynskey MT. Cannabis use in adolescence and risk of psychosis: Are there factors that moderate this relationship? A systematic review and meta-analysis. *Subst Abuse.* 2021;42(4):527-542. doi: 10.1080/08897077.2021.1876200.
24. Onaemo VN, Fawehinmi TO, D'Arcy C. Comorbid Cannabis Use Disorder with Major Depression and Generalized Anxiety Disorder: A Systematic Review with Meta-analysis of Nationally Representative Epidemiological Surveys. *J Affect Disord.* 2021;281:467-475. doi: 10.1016/j.jad.2020.12.043.

- 25.** Solmi M, Radua J, Olivola M, et al. Age at onset of mental disorders worldwide: large-scale meta-analysis of 192 epidemiological studies. *Mol Psychiatry*. 2022;27:281-295. doi: 10.1038/s41380-021-01161-7
- 26.** Ganesh S, D'Souza DC. Cannabis and Psychosis: Recent Epidemiological Findings Continuing the "Causality Debate". *Am J Psychiatry*. 2022;179(1):8-10. doi: 10.1176/appi.ajp.2021.21111126
- 27.** Hjorthøj C, Compton W, Starzer M, et al. Association between cannabis use disorder and schizophrenia stronger in young males than in females. *Psychol Med*. 2023:1-7. doi: 10.1017/S0033291723000880
- 28.** Godin SL, Shehata S. Adolescent cannabis use and later development of schizophrenia: An updated systematic review of longitudinal studies. *J Clin Psychol*. 2022;78(7):1331-1340. doi: 10.1002/jclp.23312.
- 29.** Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease. Strategy Report 2023. Disponible en: <https://goldcopd.org/>
- 30.** Tan WC, Bourbeau J, Aaron SD, et al; CanCOLD Collaborative Research Group; Members of the CanCOLD Collaborative Research Group not listed as authors. The effects of marijuana smoking on lung function in older people. *Eur Respir J*. 2019;54(6):1900826. doi: 10.1183/13993003.00826-2019.
- 31.** Malinowska-Sempruch K, Lohman D. From drug prohibition to regulation: a public health imperative. *Lancet*. 2022;400(10353):645-646. doi: 10.1016/S0140-6736(22)01060-1.
- 32.** Mundt AP, Ibáñez C. Beyond the dichotomy of drug regulations and prohibitions. *Lancet*. 2023;401(10388):1567. doi: 10.1016/S0140-6736(23)00552-4.
- 33.** Shover CL, Humphreys K. Six policy lessons relevant to cannabis legalization. *Am J Drug Alcohol Abuse*. 2019;45(6):698-706. doi: 10.1080/00952990.2019.1569669.

doi: 10.30827/ars.v64i4.28264

Artículos de revisión

Aquasomal drug delivery system: A special emphasis on the formulation techniques and applications

Sistema de administración de fármacos
Aquasomal: Especial énfasis en las técnicas de
formulación y aplicaciones

Prakash Rajak¹  0000-0001-7072-7705

Rofiqul Islam²  0000-0002-8348-1721

Arka Karmakar¹  0000-0003-3446-7699

Biman Bhuyan¹  0000-0002-0474-6163

¹Dibrugarh University, Faculty of Science and Engineering, Department of Pharmaceutical Sciences, Dibrugarh, Assam, India.

²University of Science and Technology, Department of Pharmaceutical Sciences, Meghalaya, India

Received: 19.05.2023

Accepted: 25.08.2023

Published: 20.09.2023

Correspondence

Rajak Prakash
prakash@dibru.ac.in

Funding

There is no financial obligation to disclose whatsoever.

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Resumen

Introducción: Aquasome es un sistema portador de nanopartículas autoensamblado con tres capas. El sistema se compone de un núcleo sólido nanocristalino interno recubierto de oligómero polihidroxilado. Adsorbidas en la capa recubierta se encuentran moléculas de fármacos o compuestos bioquímicamente activos. El autoensamblaje en este sentido se refiere a la formación independiente de moléculas en patrones organizados, de larga duración y con enlaces no covalentes. nueva tecnología de administración de fármacos. El artículo aborda principalmente los procesos de formulación utilizados para crear nanoestructuras autoensambladas y sus diversas aplicaciones posibles.

Método: En la búsqueda bibliográfica se utilizaron varias bases de datos en línea, incluidas Science Direct, Medline, Web of Science, Google Scholar y Scopus. Se realizaron búsquedas en los conjuntos de datos en busca de entradas de estudios hasta julio de 2023. El documento de revisión aborda especialmente muchos elementos de la formación de aquasomas por parte de varios investigadores que emplean métodos/técnicas modificadas como la coprecipitación, la autoprecipitación, la pulverización catódica, etc. También ilustra una variedad de campos de terapia en los que se ha reconocido que el aquasoma tiene una gran influencia, como el oxígeno y el transporte de extractos.

Resultados: El núcleo sólido es responsable de brindar estabilidad estructural, mientras que el recubrimiento oligomérico es crucial para proteger contra la deshidratación y estabilizar las moléculas bioactivas. Este vehículo de administración de fármacos biodegradable a escala nanométrica muestra una tendencia a acumularse en el hígado y los músculos. La no modificación de la adsorción del fármaco en la superficie del aquasoma facilita una respuesta farmacológica rápida al permitir el reconocimiento sin obstrucciones del receptor en el sitio de acción.

Conclusiones: Aquasome, una molécula autoensamblada de tres capas, es un sistema de administración de fármacos simple pero nuevo con un prometedor potencial de transporte para aumentar la solubilidad y la biodisponibilidad de fármacos poco solubles. A pesar de una serie de desafíos, como el consumo de tiempo, los procesos sofisticados, la seguridad y los altos costos de investigación, el aquasome puede surgir como un vehículo vesicular alternativo en el futuro.

Palabras clave: Aquasomas; nanotecnología; autoensamblaje; nanopartículas cerámicas; Fosfato calcico.

Abstract

Introduction: Aquasome is a self-assembled nanoparticulate carrier system with three layers. The system is made up of a polyhydroxy oligomer-coated inner nanocrystalline solid core. Adsorbed on the coated layer are drug molecules or biochemically active compounds. Self-assembly in this sense refers to the independent formation of molecules into organised, long-lasting, and non-covalently bonded patterns. This paper gives an overview of aquasome formation, covering structural properties, formulation methodologies, and the benefits and drawbacks of this novel drug delivery technology. The article primarily addresses the formulation processes used to create self-assembled nanostructures and their various possible applications.

Method: Several online databases, including Science Direct, Medline, Web of Science, Google Scholar and Scopus, were used in the literature search. The datasets were searched for entries of studies up to July, 2023. The review paper especially addresses many elements of aquasome formation by various researchers employing methods/modified techniques such as co-precipitation, self-precipitation, sputtering, and and so forth. It also illustrates a variety of fields of therapy in which aquasome has been recognised to have a major influence, such as oxygen and extract carrier.

Results: The solid core is responsible for providing structural stability, while the oligomeric coating is crucial for safeguarding against dehydration and stabilising the bioactive molecules. This biodegradable drug delivery vehicle at the nanoscale level exhibits a tendency to accumulate in the liver and muscles. The non-modification of drug adsorption onto the aquasome surface facilitates prompt pharmacological response by allowing unobstructed receptor recognition at the action site.

Conclusions: Aquasome, a three-layered self-assembled molecule, is a simple yet new drug delivery system with promising carrier potentials to increase the solubility and bioavailability of poorly soluble drugs. Despite a host of challenges, such as time consumption, sophisticated processes, safety, and expensive research costs, aquasome may emerge as an alternative vesicular carrier in the future.

Keywords: Aquasomes; nanotechnology; self-assembly; ceramic nanoparticles; calcium phosphate.

Highlights

Aquasome is a self-assembling nanoparticulate carrier system with a polyhydroxy oligomer-coated nanocrystalline solid core. Recent decades have seen aquasomes become a promising innovative drug delivery technology as researchers investigate numerous approaches.

Aquasome formulation, including its structural properties, formulation methodologies, and pros and cons, is covered in this review.

Aquasomes protects biologically active compounds' structural integrity and conformation, its crystalline ceramic core gives structural stability and carbohydrate coating maintains bioactive molecules' structural integrity, suggesting aquasomes might carry peptide, protein, hormones, antigens, genes, and hydrophobic drugs to specified sites.

Introduction

The delivery of drug has always been an area of concern and a challenging aspect of drug discovery, formulation and delivery. A number of difficulties being faced by most drug delivery systems include poor bioavailability, physicochemical instability, poor solubility, poor intestinal absorption, potentially serious side effects and toxic effects, nonspecific drug delivery and poor therapeutic efficacy⁽¹⁾. However, the past few decades have seen revolutionary progress in the approaches for drug delivery⁽²⁾. Researchers discovered a number of novel drug delivery systems which chiefly include vesicular, colloidal, liposomal, microparticulate, nanoparticulate, and lipid-based submicron system⁽³⁾.

Nanotechnology is one of the novel fields of research and innovation that has changed people's lives in many ways and one of its main applications is in biomedical science, specifically the drug delivery system⁽⁴⁾. The human body has biological components in the size range similar to that of nanomaterials makes it easier for the nanocarriers to modulate the biological system and the intense research in this factor shows positive prospects for an efficient outcome. Nano-sized particles can pass through the bloodstream easily without any blockage or sedimentation in the blood vessel. Nanocarriers have the potential to shield the encapsulated drug from the first-pass metabolism, to provide site-specific drug delivery over a wide range of drugs in a sustained as well as controlled fashion⁽⁵⁾. Nanoparticles can be broadly classified as organic and inorganic nanoparticles. Organic particles can contain carbon nanoparticles (fullerenes) while magnetic nanoparticles, fine metal nanoparticles (such as gold and silver) and semiconductor nanoparticles (such as titanium dioxide and zinc oxide) are the inorganic ones^(6,7). The inorganic nanoparticles have grabbed more attention due to numerous characteristics such as high availability, better compatibility, rich functionality and their ability for site-specific drug delivery in a controlled manner⁽⁸⁾. Kossovsky et al.⁽⁹⁾ first proposed a new drug delivery system using an inorganic nanoparticle showing the possibilities of overcoming most of the challenges faced in a conventional drug delivery system. These drug delivery systems (also known as aquasomes) were surface modified crystalline ceramic carbohydrates of nano sizes.

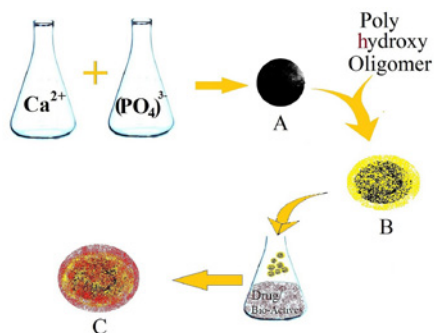


Figure 1: Schematic elucidation of the nanoparticulate three-layered aquasomal drug delivery system. The innermost central core (A) is a self-assembled ceramic core (calcium phosphate core) which is later coated with a polyhydroxy oligomeric film (B). The drug/ bio-actives / peptides are adsorbed on the surface of the oligomeric film to form the aquasome (C).

The word 'aquasome' has been derived from two words i.e., 'aqua' meaning water and 'somes' meaning body and thus, 'bodies of water'. Unlike other nanoparticles, aquasomes are three-layered self-assembled spherical nanoparticulate carrier systems comprising of an inner nanocrystalline solid core⁽¹⁰⁾. The solid is coated with polyhydroxy oligomers over which adsorption of the drug molecules or the biochemically active molecules takes place (Figure 1)⁽¹¹⁾. Self-assembly in this case is the spontaneous aggregation of molecules in organized, stable and noncovalently bonded arrangements. The chemistry involved is based on non-covalent interactions where most of the elements of the aquasome self-assemble⁽¹²⁾.

Mechanism of self-assembly

Kossovsky et al. who first proposed and developed the novel aquasomal drug delivery system described the principle of self-assembly in 1994⁽⁹⁾. Self-assembly is the phenomenon in which the pre-existing components assume spontaneously determined structural orientations in a 2D or 3D space; traditionally studied under supramolecular chemistry or nanotechnology. The macromolecular self-assembly in the aqueous domain both for the purpose of building smart nanostructure materials as well as naturally occurring biochemistry are governed by three physicochemical processes:

- *Interaction of charged groups,*
- *Hydrogen bonding and dehydration effects, and*
- *Structural stability.*

Interactions between charged groups

The inherent chemical moieties or adsorbed ions from the biological environment charges most of the synthetic and biological surfaces. Interactions of charged groups, such as amino, sulphate, carboxyl and phosphate groups, easing up the long-range approach of the self-assembling subunits. Another pivotal role of the charged group is the stabilization of the tertiary structures of crimped proteins⁽¹³⁾.

Hydrogen bonding and dehydration effect

Hydrogen bonds potentially constitute the principal role of molecular interaction in self-assembly. Hydrophilic molecules provide greater stability and a notable degree of organization in the surrounding water molecules⁽¹⁴⁾. Hydrophobic molecules cannot form hydrogen bonds with the surrounding water. However, their tendency to repel water also provides greater stability to the surrounding environment. Organized water reduces the level of entropy of the environment. Since organized water is not thermodynamically favourable, molecules tend to 'accept' the opportunity to drain the surrounding water or dehydrate, favouring their assembly. This step is the basis of self-assembly.

Structural stability

Aquasome conserves the molecular structure and biological activity of active drugs. However, in the delivery of proteins by aquasome, protein molecules undergo many biophysical constraints like temperature, pH, solvent, salt, and protein are unstable in a liquid state, ultimately leading to irreversible denaturation of proteins. In such a scenario, carbohydrates play a vital role in overcoming barriers to keep the molecule intact. Van der Waals forces, usually within the molecule, also play a small but important role in the interaction of proteins with carbohydrates. As carbohydrate is a natural stabilizer, it functions as a dehydroprotectant and thus avert denaturation and maintains the stability of the protein structure^(11, 15).

Strategies behind the chemical synthesis of the core

Aquasome as a drug delivery system is a three-layered self-assembled nanostructure. The basic strategies underlining the assembly of the nanostructures have been discussed below:

Sequential covalent synthesis

One of the basic strategies used in the synthesis of nanoparticles is the sequential covalent synthesis, which involves the binding of molecules through reversible interactions (H-bond). This strategy is applied to produce arrays of atoms that are covalently bonded with proper composition, shape and connectivity. For example, cyanocobalamin (Vit B12)⁽¹⁶⁾.

Covalent polymerization

This strategy is very essential in the formulation of aquasomes, where high molecular weight substances are produced by allowing the low molecular weight substances to react among themselves ultimately resulting in molecules with numerous covalently linked monomers.

Self-organizing synthesis

It is one of the most commonly used strategies which are dependent mostly on weak and fewer directional bonds, viz. hydrogen, ionic and Van der Waals interactions for the arrangements of the atoms, molecules or ions in the structure. Colloids, micelles, molecular crystals, ligand crystals, emulsions, self-assembled monolayer and phase-separated polymers are the varying types of structures formulated using this strategy. This unsolicited attribute of self-organization is used for the preparation of aquasomes, where the molecules revamp themselves to reach a minimum value of entropy and internal energy at equilibrium⁽¹⁷⁾.

Molecular self-assembly

Molecular self-assembly may be stated as the phenomenon in which an unorganized structure with pre-existing components rearranges itself in an organized form. The evolution of aquasomes has many interesting applications in nanoscience and nanotechnology. This method is used to make complex nanostructures based on weak noncovalent bonds such as hydrogen and ionic bonds or Van der Waals and hydrophobic interaction^(18,19).

Composition

Aquasome is basically a simple three-layered structure whose composition or the principal layers have been discussed below along with their significant roles:

Centralised nanocrystalline core

The core material plays the pivotal role of the base or the foundation of the whole structure. The core should provide a high degree of stability, structural uniformity and greater surface energy for efficient binding of the coating material. The most popularly used substances for the preparation of the core are brushite (Calcium Phosphate), Ceramic Diamond (nano-crystalline carbon-ceramic), polymers (gelatin, albumin and acrylates) and Tin oxides^(16,20). The presence of Calcium Phosphate naturally in the body makes it a favourable candidate for the core material^(21,22). The biocompatibility and biodegradable nature of the ceramics, easy availability and cost-efficient manufacturing process of the ceramics make it another good choice of core material for the aquasome⁽²³⁾.

Core coating material

The coating material generally used is the polyhydroxy oligomeric compounds. The coated layer of carbohydrate plays a number of crucial roles such as maintaining shape, chemical stability and conformational integrity of both pharmaceutical active ingredients as well as the bioactive molecules. Some of the preferred coating materials are cellobiose, sucrose, lactose monohydrate, trehalose, citrate, chitosan and pyridoxal-5-phosphate, etc⁽²⁴⁾.

API/ bioactive molecules

The bioactive molecules or the APIs are adsorbed on the surfaces of the carbohydrate coated core by various forces such as ionic and non-covalent interaction⁽¹⁵⁾.

Formulation techniques

The formulation techniques basically involve three steps:

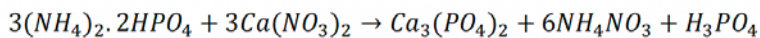
Formulation of the inorganic core

The inorganic core can be manufactured by various methods. According to Nir Kossovsky⁽¹⁵⁾, the internal core can be prepared by colloidal precipitation technique, plasma condensation technique and inverted magnetron sputtering. Some of the most popularly employed techniques for this process have been discussed below:

a.// Co-precipitation technique by reflux.

Correia et al.⁽²⁵⁾ and Patil et al.⁽²⁶⁾ used the co-precipitation technique for the preparation of hydroxyapatite core. This method involves the addition of 0.19 N diammonium hydrogen phosphate [(NH₄)₂HPO₄] solution from a burette in a dropwise manner to calcium nitrate [Ca(NO₃)₂] solution of 0.32M at a regulated temperature of 50-75°C with uninterrupted stirring alongside maintaining the pH of Ca(NO₃)₂ between 8 to 10 with a concentrated solution of ammonia. Three neck round bottom flask can be used as described by Pavani et al. each bearing a thermometer, a reflux condenser attached with a CO₂ trap and a charged funnel⁽²⁷⁾.

The chemical reaction involved in this phenomenon is as follow:



The mixture formed in the flask is to be stirred in the similar pH and temperature condition. The precipitate formed is being dried for 24 hours at 100 °C after washing thoroughly with ultrapure water.

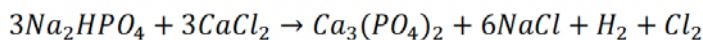
b.// Self-precipitation

Vengala et al.⁽²⁷⁾ performed the self-precipitation method for the preparation of the core. In this method, the simulated body fluid (SBF) of pH 7.2 is prepared which contains Sodium Chloride (NaCl), Potassium Chloride (KCl), Magnesium Chloride (MgCl₂), Calcium Chloride (CaCl₂), sodium hydrogen carbonate (NaHCO₃), disodium hydrogen phosphate (Na₂HPO₄), and disodium sulfate (Na₂SO₄). HCl is used every 24 hours to maintain a pH of 7.26 and the solution is stored in polystyrene bottles. 100 ml of this solution is poured into a series of 100 ml polystyrene bottles and firmly sealed and stored at 37±1°C for 7 days. The inner surface appears to develop precipitate, which is then filtered, washed multiple times with double or triple distilled water and finally dried overnight at 100°C.

c.// Co-precipitation technique by sonication

Jain S et. al.⁽²⁴⁾ used this technique to prepare the core of the aquasome as discussed by Kossovsky. A solution of disodium hydrogen phosphate (Na₂HPO₄, 0.75 M) is steadily added to a solution of calcium chloride (CaCl₂, 0.25M) in sonication at 4°C for 2 hours (Figure 2).

The reaction taking place in this process is:



The precipitate so obtained is isolated by centrifugation (15,000 rpm, 2 hours) and then washed multiple times with bi-distilled water to remove the sodium chloride formed during the reaction. The precipitate is redispersed in bi-distilled water and filtered using a 0.2 µm Millipore filter to obtain core particles of sizes less than 0.2 µm.

d.// Poly (Amidoamine) (PAMAM):

This method of core formation was used by Khopade et al.⁽²⁸⁾ They prepared SBF as reported by Kim et al.⁽²⁹⁾ (except calcium, no other divalent salt was used). In the simulated body fluid (SBF), PAMAM is

dissolved at a pH of 7.4 and stored for 1 week at 37°C to allow nucleation and the growth of crystals alongside maintaining the pH with the aid of NaOH solution. Deionized water is used to wash the precipitate so formed, which is later filtered and dried overnight.

e.// *Inverted magnetron sputtering*

Kossovsky et al.⁽³⁰⁾ synthesized nanocrystalline tin oxide core using direct current reactive magnetron sputtering (inverted cathode). In this technique, extremely pure tin is sputtered in an argon and oxygen gas mixture at high pressure. The particles (ultrafine) so formed in the gaseous mixture are accumulated on cooled copper tubes at 77K with liquid nitrogen flowing continuously.

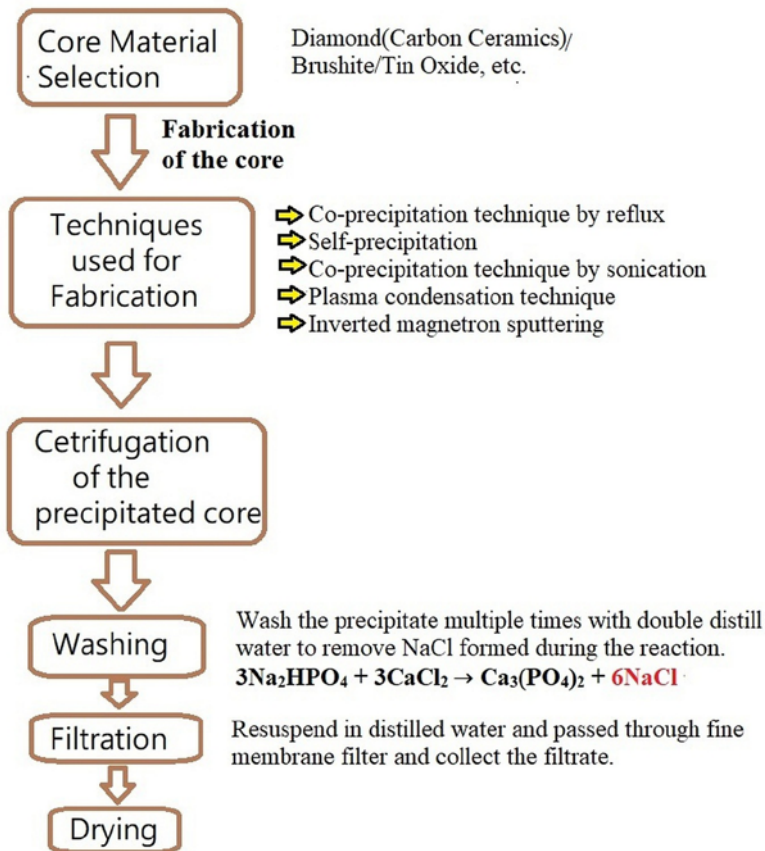


Figure 2: Schematic representation of the phenomenon of aquasomal core formation.

Coating of the core

The inorganic core so formed is coated with a polyhydroxy oligomer film. The process substantially requires the adsorption of the carbohydrate epitaxially on the core substrate. The cleaned preformed cores are dispersed in doubled distilled water. Generally, core particles obtained are dispersed in bi-distilled water and is subjected to sonication and finally lyophilization to enhance the irrevocable adsorption of the carbohydrate epitaxially on the ceramic surfaces. The coating materials that have been previously used are cellobiose, sucrose, trehalose, pyridoxal-5-phosphate and citrate and has been reported that variation is there in the drug loading based on the coating material⁽³¹⁾. Why Disaccharide Coating? In the past few decades, the application of disaccharide or other sugars has gained

importance, especially in the field of nanotechnology. Delivery of proteins, hydrophobic molecules and other drugs is a very challenging task through oral routes due to various hindrances and poor bio-availability. Based on the reports in various studies, the abilities of trehalose and sucrose to withstand various stress condition have been exploited in the selection of coating material^(32, 33). In the process of desiccation, trehalose usually works by protecting proteins and membranes within the plant cell and thus maintaining cell structure, natural colours, taste and texture. The hydroxyl group in carbohydrates combines with the polar and charged groups of the proteins and maintains the structure when dehydrated. These disaccharides contain a large number of hydroxyl groups that help to replenish water around polar residues in proteins and preserves their integrity in a dearth of water. Thus, the carbohydrate layer plays a very vital role in the formulation of aquasome^(13,15).

Drug loading

The final step in the formulation of aquasome is the drug's immobilization by physical adsorption on the surface-modified nano-crystalline cores. Drug loading on the coated core is a simple physical process of adsorption: a solution of known concentration of a drug of choice is to be prepared in a suitable solvent and added to a flask containing an accurate quantity of coated cores. The flask is stoppered and shaken continuously under controlled conditions overnight or lyophilized to procure drug-loaded aquasomes.

The three major steps involved in the formulation of an aquasomal drug delivery system have been summarized below (Figure 3).

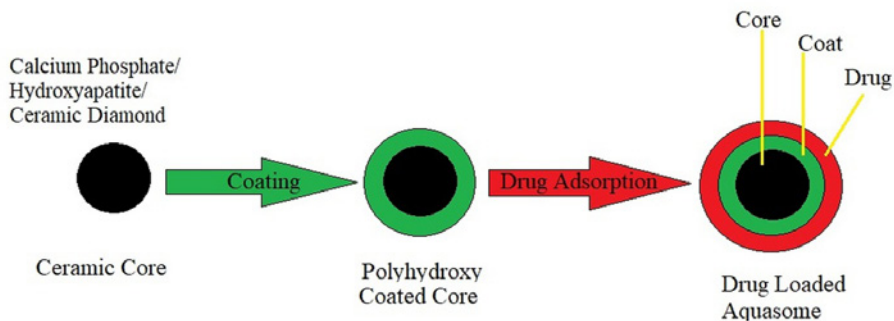


Figure 3: Step involved in the formulation of aquasome.

Characterization of the aquasome

Several tests are being performed for the characterization of the aquasomes. It basically involves the evaluation of morphology of the particles, structural properties, size distribution and drug loading.

Evaluation of the nanocrystalline core

a.// Structure analysis

The structure of the nanocrystalline core formed is examined with the help of Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). FTIR spectrophotometer is used to record the infrared spectra in the range of 400–4000 cm^{-1} wave number^(34,35).

b.// Size distribution

The morphological characterization and the analysis of size distribution of the core particles can be performed using scanning electron microscopy (SEM) and transmission electron microscopy (TEM). Core, coated core, as well as drug-loaded aquasomes, are analysed by these techniques^(30,31).

c.// Crystallinity

The prepared ceramic core can be analysed for its crystalline/ amorphous nature in which the X-Ray diffraction pattern is interpreted on a comparative study with that of a standard diffractogram⁽³⁶⁾.

Evaluation of sugar coating

a.// Colorimetric analysis of sugar coating on to the ceramic core

A number of methods are available such as concanavalin A-induced aggregation method is used for the determination of the quantity of sugar on the coated core while the anthrone method is utilized for quantification of the residual sugar remaining or residual sugar unbound after coating⁽³⁶⁾. Anthrone method is the most preferred method. Anthrone gives green coloured product, which is formed after the hydrolysis of carbohydrate into simple sugars and eventually to hydroxyl methyl furfural. After the preparation of the calibration curve aliquots of samples are transferred to boiling tubes and diluted to an appropriate concentration. After the addition of anthrone reagent, the samples are heated in a boiling water bath and cooled rapidly. When a greenish solution is obtained, its absorbance is recorded using a UV-visible spectrophotometer, taking glucose as standard. For the analysis of the sample, the sugar-coated core is accurately weighed and dissolved in distilled water. The solution is treated with the anthrone reagent using the procedure as mentioned⁽³⁷⁾.

Evaluation of aquasome

a.// Structural analysis

Structural analysis is assessed by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) in the wave number range of 400–4000 cm^{-1} . FTIR spectroscopy is used for the confirmation of the presence of ceramic core, presence of cellobiose on the ceramic core, and the presence of the drug on the cellobiose coated ceramic core⁽³⁸⁾.

b.// Structural analysis

Structural analysis is assessed by Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR) in the wave number range of 400–4000 cm^{-1} . FTIR spectroscopy is used for the confirmation of the presence of ceramic core, presence of cellobiose on the ceramic core, and the presence of the drug on the cellobiose coated ceramic core⁽³⁸⁾.

c.// Particle size analysis and morphology

The morphological examination of the drug-loaded aquasomes can be performed using a SEM. The mean particle size and size distribution are determined by SEM. The chemical composition and the crystalline structure of all samples are obtained through X-ray powder diffractometry^(38,39).

d.// Glass transition temperature

The effect of carbohydrate on the drug-loaded aquasomes can be analysed by differential scanning calorimetry (DSC). DSC studies are being performed extensively to record the transition from glass to rubber state with alteration in temperature for carbohydrates and proteins⁽¹⁶⁾.

e.// Estimation of percentage yield

After drying the formulated drug-loaded ceramic nanoparticles, free-flowing powdered nanoparticles may be obtained. These ceramic nanoparticles are to be collected carefully and accurately weighed. The percentage yield of the nanoparticles is calculated by the following equation⁽⁴⁰⁾.

$$\% \text{ Yield} = \frac{\text{Weight of the aquasomes obtained}}{\text{weight of drug,sugar and core taken}} \times 100$$

f.// *Entrapment efficiency and drug loading*

Entrapment efficiency is the percentage of the actual mass of drug entrapped in the carrier relative to the initial amount of loaded drug⁽⁴¹⁾. The % entrapment efficiency is calculated by:

$$\% \text{ Entrapment efficiency} = \frac{\text{Actual Drug Loaded}}{\text{Theoretical drug Loaded}} \times 100$$

$$\% \text{ Drug loading} = \frac{\text{Weight of total drug added} - \text{weight of unentrapped drug}}{\text{weight of aquasome}} \times 100$$

g.// *In-process stability studies*

The impact of the process on the integrity and stability of the protein or bio-actives can be evaluated by performing SDS-PAGE (sodium dodecyl sulphate polyacrylamide gel)^(29,42).

h.// *In vitro drug release studies*

In vitro release study of the drug-loaded in the aquasomes can be performed using suitable phosphate buffer as dissolution media by dialysis bag method (12000-14000 Dalton). Accurately weighed aquasomal powder equivalent to a known amount of the API/drug is suspended in 10 ml of phosphate buffer. This suspension is poured into the activated dialysis bag and is sealed from both ends properly. The bag is then placed with 300 ml buffer and media must be stirred at a speed of 100 rpm at 37±0.5°C. Aliquots of 5ml samples are withdrawn at various time intervals and analysed for the drug content at a specific wavelength using a UV spectrophotometer. Sink condition is to be maintained with 5 ml of fresh dissolution medium^(7,43).

i.// *Drug release kinetics*

The drug release kinetics is established by plotting several data obtained from the *in vitro* drug release studies in numerous kinetics models to understand the linear relationship, that is, kinetic principles. The data are processed for regression analysis using MS Excel statistical functions. To comprehend the release mechanisms, *in vitro* drug release data are analysed using Zero Order and First Order Kinetics, Higuchi's model, Hixson-Crowell Cube root law and Korsmeyer-Peppas model.

The fate of the aquasome

Aquasome is a nanosized biodegradable drug delivery vehicle, they get accumulated in the liver and muscles. The fact that the drugs get adsorbed onto the surface of the aquasome without any alteration or modification helps to bring about immediate pharmacological effect as there is no hindrance in the recognition of the receptors at the site of action⁽¹²⁾. Overall, in a normal system, the ceramic core, that is, calcium phosphate is a biodegradable material. *In vitro* biodegradation of the ceramic is carried out by monocytes and osteoclasts (multicellular cells) because of their intervention initially at the site of biomaterial implantation during an inflammatory reaction.

Phagocytosis of two different types was reported to occur when cells interact with biomaterials; either crystals of calcium phosphate are segregated and eventually dissolved in the cytoplasm after the disappearance of the phagosome membrane or dissolution after the formation of heterophagosomes⁽⁴⁴⁾. IFN-g (interferon-gamma) or dihydroxy cholecalciferol have an impact on the monocytic activities and can be synthesized with a number of soluble substances. Some cytokines can also develop an inflammatory process and may be involved in the biodegradation process⁽⁴⁵⁾.

Applications

Aquasome has found numerous applications (Table 1) in the delivery of drugs and bio actives. Some of them has been discussed below.

Parenteral delivery of insulin

Cherian et al.⁽⁴⁶⁾ formulated aquasomes for the delivery of insulin. They used calcium phosphate as the core material which was coated using numerous disaccharides (trehalose, cellobiose and pyridoxal-5-phosphate). The drug was later adsorbed onto this coated core using simple adsorption. *in vitro* studies revealed that the performance of the insulin loaded aquasome was far better than insulin solution.

Gene delivery

Studies have shown the possibility for delivery of a gene segment maintaining structural integrity. This drug carrier provides all the features of a viral vector without compromising its structure and activity⁽¹⁵⁾.

Aquasomes for antigen delivery

The delivery of antigen is always a challenging task as the adjuvant added for the enhancement of the immuno-property tend to alter or change the conformation of the antigen. Kossovsky et al.⁽⁹⁾ illustrated the efficiency of the aquasomes as a vehicle for antigen delivery. These aquasomes proffered conformational stabilization along with extensive surface exposure to antigen protein. Aquasomes were prepared by Goyal et al.⁽⁴⁷⁾ by self-assembling of hydroxyapatite (using co-precipitation technique). In this process, trehalose and cellobiose were used as the coating material. Ultimately, model antigen, Bovine Serum Albumin (BSA) was adsorbed on the coated hydroxyapatite core. The spherical aquasomes so formed were reported to attain a better immunological response as compared to that of plain BSA, alongside maintaining the structural integrity and conformation of the protein⁽⁴⁸⁾.

Oral delivery of lipophilic drug through aquasomes

Vengala et al.⁽⁴⁹⁾ formulated aquasomes for the delivery of the drug pimozone having poor solubility. A number of techniques were employed for the core formation of which the coprecipitation technique by sonication was a productive one. Cellobiose was coated on the calcium phosphate [$\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$] core after which the drug pimozone was allowed to adsorb onto it. Studies revealed that the pimozone loaded aquasomes were spherical and uniform in shape and showed an enhanced release profile compared to pure drug. First-order release kinetics and Higuchi diffusion-controlled release mechanism were observed, thus making them potent for the enhancement of the solubility of poorly soluble drugs⁽³¹⁾. Vengala et al. also successfully formulated aquasomes loaded with piroxicam (2016) and lornoxicam (2017)^(38,39). Oviedo⁽⁴⁴⁾ and his team also formulated aquasomes for the delivery of poorly soluble drug indomethacin adsorbed on a lactose coated calcium phosphate core.

Aquasomes as oxygen carrier

Khopade et al.⁽²⁸⁾ and Patil et al.⁽²⁶⁾ successfully prepared aquasomes for their functioning as oxygen carrier.

Khopade and his team developed haemoglobin aquasomes using spherical hydroxyapatite core. They formulated the core with carboxylic acid-terminated half-generation poly (amidoamine) dendrimer. Sugar-coating was performed on the hydroxyapatite cores after which the haemoglobin was adsorbed on the surfaces of the coated core. Aquasomes are characterized by size, loading of haemoglobin, oxygen-binding properties and storage capacity. They could successfully load 13.7mg haemoglobin per g of the nanosized aquasome and preserve oxygen concentration and consistency and stability for a minimum of 30 days. The efficacy of the formulation was tested in albino mice and indicated that it may be used as a blood transfusion.

After two years, Patil et al.⁽²⁶⁾ again formulated nanocrystalline aquasomes as a vehicle for haemoglobin which in turn serves as a carrier for oxygen delivery. The formulated haemoglobin aquasome were suspended in phosphate buffer (having 0.01%w/v lecithin and 7.5%w/v albumin) and examined for its oxygen carrying capacity which was later found to be similar to the actual blood. *In vivo* study revealed that there was no notable variation in heart rate and blood pressure when the rats were transfused with the suspension of aquasome on 50% exchange transfusion.

Enzymes delivery through aquasomes

Aquasomes' ability to protect the molecular conformation and structural integrity has been taken into account for the delivery of enzymes. Goyal et. al.⁽⁵⁰⁾ successfully immobilized DNAase (therapeutic enzyme) on the surface of the aquasomes and was able to target the specific site of action and to bring about a prominent therapeutic effect as desired.

Table 1: Various applications of aquasomes

Sl No.	API/Bio-actives	Application	References
	Dithranol	Treatment of psoriasis	(51)
	Insulin	Blood Sugar regulation	(46)
	Etoposide	Anticancer targeting	(52)
	Bromelain	multi-particulate drug carrier for oral delivery	(53)
	Hepatitis B Vaccine	Antigen for prevention of jaundice	(36)
	Haemoglobin	carrier for oxygen	(26)
	Merozoite Surface Protein-119 (MSP-119)	To improve immune adjuvant property for antimalarial antigen	(50)
	Polypeptide-k	Blood sugar regulation	(54)
	Pimozide Piroxicam Lornoxicam Indomethacin	To enhance the aqueous solubility on oral administration and improve their efficacy	(27,31,46,48)
	recombinant human interferon- α -2b (rhINF- α -2b)	To prolong release and enhance targeting in ovarian cancer	(45)
	Serratiopeptidase (STP)	Enhance proteolytic activity	(55)
	Interferon alpha (INF α) Cyclosporine A	To obtain sustained release	(56)
	Bovine Serum Albumin (BSA)	To preserve adjuvanticity and antigen properties	(47)

Aquasomes as extract carrier

Banerjee and Sen⁽⁵⁸⁾ formulated aquasomes of *Chelidonium majus L* extract and performed *in vitro* study to find out its activity on the liver. Characterization of the extract loaded nanoparticles indicated that the particles were stable and there was no interaction between the components and was found to have extract loading of 37.22 % on the carbohydrate coated core. *In vitro* histopathological analysis was performed (comparative histopathology results of toxic, silymarin treated, normal, extract-treated and formulation treated groups) which revealed the hepatoprotective activity of the extract loaded aquasome.

Advantages of aquasome

- These systems act as a reservoir that can release the molecules either in a continuous or a pulsatile manner, avoiding a multiple-injection schedule. Nanoparticulate aquasomes have a huge surface area that enables the loading of a significant amount of bioactive molecules/drugs⁽⁵⁸⁾.
- This nanoparticulate system gives a suitable environment for protein delivery without having been denatured. This property is due to the presence of inorganic cores, which are coated with polyhydroxy compounds. The inorganic core in the aquasome prevents denaturation of the proteins and coats are responsible for the hydrophilic behaviour.
- Aquasomes can increase the therapeutic efficacy of pharmaceutically active agents and also protect the active molecule from phagocytosis and environmental degradation⁽⁵⁹⁾.

- Multi-layered aquasomes, conjugated with antibiotics, nucleic acid, peptides etc can be used in various imaging tests.
- Enzyme activity and sensitivity towards molecular conformation made aquasome a novel carrier for enzymes such as DNAAes and pigment/dyes.
- Aquasomes-based vaccines offer many advantages as a vaccine delivery system due to the aquasomal potency to elicit both cellular and humoral mediated immune responses^(56,60).

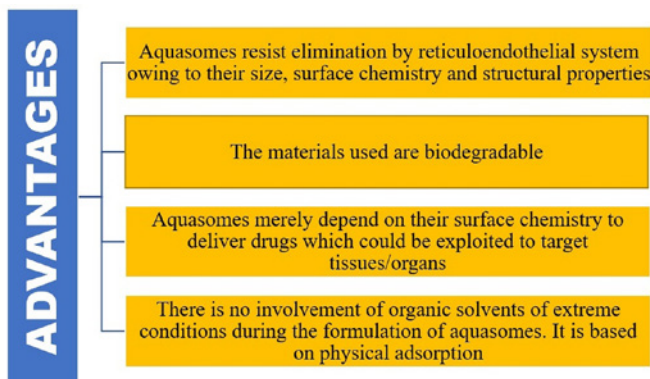


Figure 4: The principal advantages of aquasomes.

Challenges

Aquasomes can be seen to have the potential to change the future of the delivery of proteins/ peptides and other pharmaceutically active ingredients. However, various challenges have come across the successful formulation and delivery. There are a number of sectors of aquasomes to be studied, such as their irreconcilable behaviour to several sterilization techniques and their shelf-life in accordance with the ICH guidelines. Other challenges include the practicability of the large-scale production and their ensuing commercialization potential. The overall high cost of the ingredients and the lengthy production process are yet to be made feasible⁽⁶¹⁾.

The understanding and knowledge of this technique are still in the growing stage. Reproducibility after characterization of vital factors, like the *in vitro* and *in vivo* studies and their safety parameters, are some of the crucial sections yet to be extensively studied. With due course of time and the intense research going on in this direction, aquasomal drug delivery will be one of the most preferred and popularly used novel nanoparticulate drug delivery systems.

Conclusions

Aquasome, a three-layered self-assembled molecule is a simple but novel drug delivery system and it seems to have optimistic and prospective carrier potentials to improve the solubility of poorly soluble drugs and enhance their bioavailability. It has been found to maintain and protect the structural integrity and conformation of the biologically active molecules. The crystalline ceramic core provides structural stability and overall integrity. The carbohydrate coating has the property of maintaining the conformational integrity of bioactive molecules which have led to the proposal that aquasomes have potential as a carrier system for delivery of peptide, protein, hormones, antigens, genes and hydrophobic drugs to specific sites. Although there are several challenges to be addressed including time consumption, complicated process, safety and high cost in the development, aquasome can emerge as an alternative vesicular carrier in the future. Still, considerable further study of aquasomes is necessary concerning pharmacokinetics, toxicology, and animal studies to confirm their efficiency as well as safety, to establish their clinical usefulness and to launch them commercially.

References

1. Homayun B, Lin X, Choi HJ. Challenges and recent progress in oral drug delivery systems for biopharmaceuticals. *Pharmaceutics*. 2019;11(3):129. Doi:10.3390/pharmaceutics11030129.
2. Antil R, Kadawla M, Rao L. Recent advances in aquasomes carrier nanotechnology for drug delivery. *Int J Nanobiotechnol*. 2021;7(1):35-44.
3. Sarangi MK, Padhi S. Novel herbal drug delivery system: An overview. *Arch Med Health Sci*. 2018;6(1):171-179. Doi: 10.4103/amhs.amhs_88_17.
4. Samson K, Varalakshmi M, Prathima K. Aquasomes: A vesicular, self-assembled ceramic nano-particulate drug carrier. *Res Rev J Pharm Sc*.2021;12(3):1-14.
5. Alenzi AM, Albalawi SA, Alghamdi SG, Albalawi RF, Albalawi HS, Qushawy M. Review on different vesicular drug delivery systems (VDDSs) and their applications. *Recent Pat Nanotechnol*. 2023;17(1):18-32. Doi: 10.2174/1872210516666220228150624.
6. Bayda S, Hadla M, Palazzolo S, Riello P, Corona G, Toffoli G, Rizzolio F. Inorganic nanoparticles for cancer therapy: a transition from lab to clinic. *Curr Med Chem*. 2018;25(34):4269-4303. Doi: 10.2174/0929867325666171229141156.
7. Pavani V, Dintakurthi S, Aslam S, Gollagudem R, Pabbapi K. Aquasomes: a novel drug carrier system. *ChemInform*. 2012;3(4):123-127.
8. Luther DC, Huang R, Jeon T, Zhang X, Lee YW, Nagaraj H, Rotello VM. Delivery of drugs, proteins, and nucleic acids using inorganic nanoparticles. *Adv Drug Deliv Rev*. 2020;156:188-213. Doi: 10.1016/j.addr.2020.06.020.
9. Kossovsky N, Gelman A, Rajguru S, Nguyen R, Sponsler E, Hnatyszyn H, Chow K, Chung A, Torres M, Zemanovich J. Control of molecular polymorphisms by a structured carbohydrate/ceramic delivery vehicle—aquasomes. *J Control Release*. 1996;39(2-3):383-388. Doi: 10.1016/0168-3659(95)00169-7.
10. Upadhyay P, Singh D, Upadhyay S. Vesicular approach review on nanocarriers bearing curcumin and applications. *Recent Adv Drug Deliv Formul*. 2022. Doi: 10.2174/2667387816666220404092415.
11. Kossovsky N, Gelman A, Sponsler EE, Hnatyszyn HJ, Rajguru S, Torres M, Pham M, Crowder J, Zemanovich J, Chung A. Surface-modified nanocrystalline ceramics for drug delivery applications. *Biomaterials* 1994;15(15):1201-1207. Doi: 10.1016/0142-9612(94)90270-4
12. Mesariya S, Joshi K, Jain H, Upadhyay UM. Aquasomes- A self-assembled nanotechnology system. *Int J Res Pharm Sci*. 2011;2(3):492-496.
13. Kaushik JK, Bhat R. Why Is Trehalose an Exceptional Protein Stabilizer?: An analysis of the thermal stability of proteins in the presence of the compatible osmolyte trehalose. *J Biol Chem*. 2003;278(29):26458-26465. Doi: 10.1074/jbc.M300815200.
14. Reulecke I, Lange G, Albrecht J, Klein R, Rarey M. Towards an integrated description of hydrogen bonding and dehydration: decreasing false positives in virtual screening with the HYDE scoring function. *ChemMedChem*. 2008; 3(6):885-897. Doi: 10.1002/cmdc.200700319.
15. Jagdale S, Karekar S. Bird's eye view on aquasome: Formulation and application. *J Drug Deliv Sci Technol*. 2020;58:1017-76. Doi.:10.1016/j.jddst.2020.101776.
16. Jain SS, Jagtap PS, Dand NM, Jadhav KR, Kadam VJ. Aquasomes: A novel drug carrier. *J Appl Pharm Sci*. 2012;2(01):184-192.
17. Haberland M, Fless G, Scanu A, Fogelman AM. Malondialdehyde modification of lipoprotein (a) produces avid uptake by human monocyte-macrophages. *J Biol Chem*. 1992;267(6):4143-4151.
18. Kajbafvala A, Bahmanpour H, Maneshian MH, Li M. Self-assembly techniques for nanofabrication *J Nanomater*. 2013. Doi:10.1155/2013/158517

19. Li LL, An HW, Peng B, Zheng R, Wang H. Self-assembled nanomaterials: design principles, the nano-structural effect, and their functional mechanisms as antimicrobial or detection agents. *Mater Horiz*. 2019;6(9):1794-1811. Doi:10.1039/C8MH01670D.
20. Mishra DK, Shandilya R, Mishra PK. Lipid based nanocarriers: a translational perspective. *Nanomed: Nanotechnol Biol Med*. 2018;14(7):2023-2050. Doi: 10.1016/j.nano.2018.05.021.
21. Kulkarni S, Prabhakar B, Shende P. Aquasomes: Advanced Vesicular-based Nanocarrier Systems. *Curr Pharm Des*. 2022;28(29):2404-2414. Doi: 10.2174/1381612828666220728112741.
22. Pataquiva MA, Pia FM Monteiro FJ. Nanoparticles of hydroxyapatite: Preparation, characterization and cellular approach-an overview. *Revista Mutis*. 2017;3(2):43-57. Doi:10.21789/22561498.884.
23. Paul W, Sharma CP. Bioceramics, towards nano-enabled drug delivery: a mini review. *Trends Biomater Artif Organs*. 2005;1:7-11.
24. Jain S, Jain V, Mahajan S. Lipid based vesicular drug delivery systems. *Adv. Pharm*. 2014. Doi:10.1155/2014/574673
25. Correia R, Magalhaes M, Marques P, Senos A. Wet synthesis and characterization of modified hydroxyapatite powders. *J Mater Sci Mater Med*. 1996;7(8):501-505. Doi:10.1007/BF00705432.
26. Patil S, Pancholi S, Agrawal S, Agrawal G. Surface-modified mesoporous ceramics as delivery vehicle for haemoglobin. *Drug Deliv*. 2004;11(3):193-199. Doi: 10.1080/10717540490433976.
27. Vengala P, Dintakurthi S, Subrahmanyam CVS. Lactose coated ceramic nanoparticles for oral drug delivery. *J Pharm Res*. 2013;7(6):540-545. Doi:10.1016/j.jopr.2013.06.015.
28. Khopade A, Khopade S, Jain N. Development of hemoglobin aquasomes from spherical hydroxyapatite cores precipitated in the presence of half-generation poly (amidoamine) dendrimer. *Int. J. Pharm*. 2002;241(1):145-154. Doi: 10.1016/s0378-5173(02)00235-1.
29. Kim HM, Kokubo T, Miyazaki T, Nakamura T. Revised simulated body fluid. *Key Eng Mater*. 2001, 192-195.
30. Kossovsky N, Bunshah RF, Gelman A, Sponsler E, Umarjee DM, Suh TG, Prakash S, Doerr HJ, Deshpandey CV. A nondenaturing solid phase pharmaceutical carrier comprised of surface modified nanocrystalline materials. *J Appl Biomater*. 1990;1(4):289-294. Doi: 10.1002/jab.770010404.
31. Kommineni S, Ahmad S, Vengala P, Subramanyam C. Sugar coated ceramic nanocarriers for the oral delivery of hydrophobic drugs: Formulation, optimization and evaluation. *Drug Dev Ind Pharm*. 2012;38(5):577-586. Doi: 10.3109/03639045.2011.617884.
32. Wingler A. The function of trehalose biosynthesis in plants. *Phytochem*. 2002;60(5):437-440. Doi: 10.1016/s0031-9422(02)00137-1.
33. Almeida IS, Cardoso LA, Santos DM, Torné JM, Fevereiro PS. Trehalose and its applications in plant biotechnology. *In Vitro Cell Dev Biol Plant*. 2007;43(3):167-177. doi: 10.1007/s11627-006-9024-3.
34. Bunaciu AA, Aboul-Enein HY, Fleschin S. Application of Fourier transform infrared spectrophotometry in pharmaceutical drugs analysis. *Appl Spectrosc Rev*. 2010;45(3): 206-219. Doi:10.1080/00387011003601044.
35. Narang N. Aquasomes: Self-assembled systems for the delivery of bioactive molecules. *Asian J Pharm*. 2012; 6(2). Doi:10.22377/ajp.v6i2.61
36. Goyal AK, Rawat A, Mahor S, Gupta PN, Khatri K, Vyas SP. Nanodecoy system: a novel approach to design hepatitis B vaccine for immunopotentiality. *Int J Pharm*. 2006;309(1-2):227-233. Doi: 10.1016/j.ijpharm.2005.11.037.
37. Ludwig TG, Goldberg HJ., The anthrone method for the determination of carbohydrates in foods and in oral rinsing. *J Dent Res*. 1956;35(1):90-94.
38. Vengala P. Carbohydrate stabilized ceramic nanoparticles for the delivery of a poorly soluble drug, lornoxicam. *Asian J Pharm*. 2017;11(03):S497-S503.

39. Vengala P, Subrahmanyam C, Gangaraju M. In vitro and in vivo evaluation of piroxicam loaded ceramic nanoparticles. *Int. J. Pharmaceut. Sci. Res.* 2016;7:303-309.
40. Singh A, Deep A. Formulation and evaluation of nanoparticles containing atenolol. *Int J Pharm Res.* 2011;3(4):59-62.
41. Waghule T, Rapalli VK, Singhvi G, Gorantla S, Khosa A, Dubey SK, Saha RN. Design of temozolomide-loaded proliposomes and lipid crystal nanoparticles with industrial feasible approaches: comparative assessment of drug loading, entrapment efficiency, and stability at plasma pH. *J Liposome Res.* 2021;31(2):158-168. Doi: 10.1080/08982104.2020.1748648.
42. Nebija D, Noe CR, Urban E, Lachmann B. Quality control and stability studies with the monoclonal antibody, trastuzumab: application of 1D-vs. 2D-gel electrophoresis. *Int J Mol Sci.* 2014;15(4):6399-6411. Doi: 10.3390/ijms15046399.
43. Bellad K, Nanjwade B, Sarkar A, Srichana T, Shetake R. Development and evaluation of curcumin floating tablets. *Pharm Anal Acta.* 2020;12:622. Doi: 10.35248/2153-2435.20.11.622.
44. Mishra A, Patra S, Shukla SK, Pandey P, Shukla Y, Osmera P, Yadav P, Pandey M, Gupta R, Molina F. Current scenario of coronavirus pandemic. *Adv Mater Lett.* 2020;11(4):1-8.
45. Kaur K, Kush P, Pandey RS, Madan J, Jain UK, Katare OP. Stealth lipid coated aquasomes bearing recombinant human interferon- α -2b offered prolonged release and enhanced cytotoxicity in ovarian cancer cells. *Biomed Pharmacother.* 2015;69:267-276. Doi: 10.1016/j.biopha.2014.12.007.
46. Cherian AK, Rana A, Jain SK. Self-assembled carbohydrate-stabilized ceramic nanoparticles for the parenteral delivery of insulin. *Drug Dev Ind Pharm.* 2000;26(4):459-463. Doi: 10.1081/ddc-100101255.
47. Goyal AK, Khatri K, Mishra N, Mehta A, Vaidya B, Tiwari S, Vyas SP. Aquasomes-a nanoparticulate approach for the delivery of antigen. *Drug Dev Ind Pharm.* 2008;34(12):1297-1305. Doi: 10.1080/03639040802071661.
48. Rojas-Oviedo I, Salazar-Lopez RA, Reyes-Gasga J, Quirino-Barreda CT. Elaboration and structural analysis of aquasomes loaded with indomethacin. *Eur. J. Pharm. Sci.* 2007;32(3):223-230. Doi: 10.1016/j.ejps.2007.07.008.
49. Vengala P, Shwetha D, Sana A, Rekha G, Kumaraswamy P. Aquasomes: a novel drug carrier system. *Int Res J Pharm.* 2012;3(4):123-127.
50. Goyal AK, Khatri K, Mishra N, Mehta A, Vaidya B, Tiwari S, Paliwal R, Paliwal S, Vyas SP. Development of self-assembled nanoceramic carrier construct (s) for vaccine delivery. *J Biomater Appl.* 2009;24(1):65-84. Doi: 10.1177/0885328209104018.
51. Khan S, Tiwari T, Tyagi S, Bhowmik M, Joshi A, Dubey B. Preformulation studies and preparation of dithranol loaded solid lipid nanoparticles. *Int J Res Dev Pharm L Sci.* 2012;4:183-88.
52. Nanjwade BK, Hiremath GM, Manvi F, Srichana T. Formulation and evaluation of etoposide loaded aquasomes. *J Nanopharm Drug Deliv.* 2013;1(1):92-101.
53. Kutlehria A, Koushik P, Sharma S, Kaur A. Aquasomes as a carrier system for oral delivery of bromelain. *Int Res J Pharm.* 2018;9(8):123-129. Doi:10.7897/2230-8407.098177.
54. Umashankar MS, Sachdeva RK, Gulati M. Aquasomes: a promising carrier for peptides and protein delivery. *Nanomedicine: Nanotechnol Biol Med.* 2010;6(3):419-426. Doi: 10.1016/j.nano.2009.11.002.
55. Rawat M, Singh D, Saraf S, Saraf S. Development and in vitro evaluation of alginate gel-encapsulated, chitosan-coated ceramic nanocores for oral delivery of enzyme. *Drug Dev Ind Pharm.* 2008;34(2):181-188. Doi:10.1080/03639040701539479.
56. Mizushima Y, Ikoma T, Tanaka J, Hoshi K, Ishihara T, Ogawa Y, Ueno A. Injectable porous hydroxyapatite microparticles as a new carrier for protein and lipophilic drugs. *J Control Release.* 2006;110(2):260-265. Doi:10.1016/j.jconrel.2005.09.051.

57. Banerjee S, Sen KK. Preparation and evaluation of surface modified nanoparticles of calcium phosphate as extract carrier. *Int J Appl Pharm.* 2020;12(4):248–257. Doi:10.22159/ijap.2020v12i4.38126.
58. Asfour MH. Advanced trends in protein and peptide drug delivery: a special emphasis on aquasomes and microneedles techniques. *Drug Deliv Transl Res.* 2021;11(1):1-23. Doi: 10.1007/s13346-020-00746-z.
59. Gupta AK, Gupta D, Gupta V. Aquasomes: A Self-Assembled Nano-Particulate Carrier System. *Int J Cur Res Rev.* 2021;13(4):44-52. Doi:10.31782/IJCRR.2021.13427.
60. Patel S, Aundhia C, Seth A, Shah N, Pandya K, Patel D. Aquasomes: a novel approach in drug carrier system. *European J Pharm Med Res.* 2016;3(9):198-201.
61. Priya MDK, Kumar V, Damini VK, Eswar K, Reddy KR, Raj BS, Sucharitha P. SOMES: A review on composition, formulation methods and evaluations of different types of “SOMES” drug delivery system. *Int J Appl Pharm.* 2020;12(6):7-18. Doi:10.22159/ijap.2020v12i6.38996.

© BY-NC-SA 4.0

doi: 10.30827/ars.v64i4.28863

Artículos de revisión

Ecdiesteroides y su actividad farmacológica sobre el músculo esquelético

Ecdysteroids and their pharmacological activity on skeletal muscle

Vicente Otero Egocheaga¹  0009-0003-2831-5960

¹Farmacéutico

Correspondencia

Vicente Otero Egocheaga
egocheagavoe@gmail.com

Recibido: 10.08.2023

Aceptado: 19.09.2023

Publicado: 20.09.2023

Agradecimientos

A la Dra. Isabel Egocheaga por ser guía del presente Trabajo.

Financiación

El autor declara que no ha existido ningún tipo de financiación en la realización del presente trabajo.

Conflicto de intereses

El autor declara que no hay conflicto de intereses.

Resumen

Introducción: Los ecdiesteroides presentan cualidades únicas dentro del reino vegetal y animal. Su similitud a esteroides endógenos de mamíferos les otorga actividad biológica sobre el tejido muscular esquelético. Sin embargo, su mecanismo de acción está por definirse en su totalidad.

Método: Se realizó una revisión narrativa utilizando la evidencia científica más relevante. Se consultaron de las bases de datos Medline, Google Scholar, Scielo y Wiley, incluyéndose y excluyéndose trabajos acordes a los criterios del autor.

Resultados: La actividad de los ecdiesteroides, principalmente de la Ecdisterona (Ec), podría deberse a la interacción con Mas, receptor acoplado a proteína-G transmembrana (GPCR), y la posterior activación del receptor de estrógenos β (ER β) no nuclear. Dicho mecanismo de acción induce la activación de la ruta *alternativa* del Sistema Renina-Angiotensina-Aldosterona (RAA) aboliendo los mecanismos de degradación muscular y, mediante la activación indirecta de Er β , se suprime la expresión del gen de la miostatina. Esta actividad biológica pudiera conferir a los ecdiesteroides propiedades farmacológicas óptimas para impedir la degradación proteico-muscular, tales como la regeneración y reparación del tejido.

Conclusiones: Ec ha demostrado poseer propiedades farmacológicas interesantes para el abordaje alternativo de patologías musculodegenerativas por sus efectos anticatabólicos. Aunque prosigue la investigación para su implementación en la clínica, esta siendo utilizada en la industria deportiva y en ensayos para el tratamiento de diferentes patologías.

Palabras clave: Ecdiesteroides; ecdisterona; músculo esquelético; receptor de estrógenos, receptor acoplado a proteína-G; Receptor de Angiotensina (1-7) Mas.

Abstract

Introduction: Ecdysteroids present unique qualities within the plant and animal kingdoms. Their similarity to endogenous mammalian steroids allows them to present biological activity on skeletal muscle tissue. However, this molecule's action mechanism remains to be fully understood.

Method: A narrative review was carried out using the most relevant scientific evidence. Different databases such as Medline, Google Scholar, Scielo and Wiley were consulted. Works were included or excluded according to the author's criterium.

Results: Ecdysteroids' activity, mostly that of ecdysterone, might be due to the interaction with Mas receptor, a transmembrane G-Protein Coupled Receptor (GPCR), and the subsequent indirect activation of β -Estrogen Receptor's (β -ER) non-nuclear form. Said action mechanism induces the *alternative* pathway activation of the Renin-Angiotensin-Aldosterone System (RAAS), abolishing muscular degradation mechanism. Finally, through β -ER activation, the myostatin gene is suppressed. This biological activity could provide ecdysteroids optimal pharmacological properties to prevent muscular protein degradation. These include tissue regeneration and repair.

Conclusions: Due to its anticatabolic effects, Ec has shown great pharmacological properties that could make it work as an alternative treatment for degenerative muscle pathologies. Although investigations regarding Ec are still in progress, it has already been used by the sports' industry and in several clinical trials that focus on the treatment of other diseases.

Keywords: Skeletal muscle; Ecdysteroids; Ecdysterone; Angiotensin (1-7) Receptor Mas; Estrogen Receptor; G Protein Coupled Receptors.

Puntos clave

Actualmente los ecdiesteroides son sujeto de estudio para el abordaje de gran variedad de patologías. Desde el inicio de la investigación de nuevos fármacos, el reino vegetal y animal ha protagonizado numerosos avances en el descubrimiento de nuevas moléculas biológicamente activas. En el caso de los ecdiesteroides, moléculas comunes en plantas y artrópodos, se han evidenciado posibles aplicaciones farmacológicas para el tratamiento de patologías degenerativas musculares (como sarcopenia o caquexia), metabólicas y respiratorias. Hoy en día, aunque se sigue indagando acerca de su mecanismo de acción, estas moléculas están atrayendo atención en la industria de la suplementación deportiva, pudiendo tener aplicabilidad en la clínica.

En esta revisión se recopila la evidencia científica más esclarecedora y novedosa acerca del mecanismo de acción de los ecdiesteroides, principalmente la ecdisterona, sobre el tejido muscular esquelético.

La degradación de la musculatura esquelética es prevalente en la sociedad anciana, entre otras, provocando numerosos episodios de traumatismos por caída. Aunque el abordaje nutricional es el indicado en estos casos, nuevas terapias farmacológicas que involucren los ecdiesteroides pudieran suponer un aumento de la calidad de vida de estos pacientes.

Introducción

Los ecdiesteroides son hormonas de naturaleza esteroídica propias de invertebrados, principalmente artrópodos. Actúan como reguladores directos de los periodos de muda y metamorfosis^(1,2). Sin embargo, existen niveles basales en el organismo de estos animales durante toda la vida. Participando en diferentes etapas, regulan procesos fisiológicos tanto directa como indirectamente, interviniendo indirectamente en el ciclo de ovoposición, desarrollo embrionario y postembrionario⁽³⁾.

Los ecdiesteroides son una familia muy amplia de moléculas presente en todas las especies de artrópodos conocidas. Dicha ubiquidad supuso la base de investigación para la búsqueda de moléculas similares fuera del metaboloma de artrópodos. Análogos a ecdiesteroides han sido descubiertos en diferentes géneros de plantas, denominándose fitoecdisteroides (PE, de sus siglas en inglés, *Phytoecdysteroids*)^(4,5). Su función principal permanece aún refutable. Sin embargo, la presencia de esta molécula ha demostrado otorgar cierto grado de protección frente a plagas de nematodos e insectos fitófagos⁽⁶⁾.

En comparación con los seres humanos, estas moléculas, pese a que parten de una estructura similar, poseen características diferenciadoras claras⁽⁶⁾. Los ecdiesteroides varían en polaridad, tamaño y forma frente a las hormonas esteroídicas de mamíferos. Dicha diferencia provoca que no exista una evidencia convincente acerca de la unión directa de estos compuestos con los receptores nucleares de esteroides^(7,8). Sin embargo, tal y como se comentará en este artículo, sí tendrían actividad biológica en células de mamífero.

El inicio del estudio de los ecdiesteroides se remonta a varias décadas atrás. En 1954, gracias al trabajo de los científicos Butenandt y Karlson⁽⁹⁾, se consiguió aislar la primera molécula de esta gran familia, la Ecdisona⁽¹⁰⁾. Esta molécula fue extraída en la fase de pupa de los insectos que se estaban desarrollando. Sin embargo, era desconocida su estructura molecular. La configuración espacial de la molécula se comprobó en 1965, cuando el grupo de investigación de Huber y Hope⁽¹¹⁾ la estableció mediante cristalografía de difracción de rayos-X. La Ecdisona es considerada una pro-hormona por muchos científicos pues parece ser el inicio sintético del resto de ecdiesteroides^(12,13).

Derivada de la Ecdisona, la Ecdisterona (Ec), β -Ecdisona o 20-Hidroiecdisona (BE) fue catalogada como la molécula *estándar* de esta familia de compuestos cíclicos perhidrogenados. Ec es el ecdiesteroide con mayor actividad biológica en insectos^(14,15,16). Del mismo modo, es el PE más común, pudiendo ser aislado de los extractos de diversas especies de plantas con una relación coste/beneficio aceptable⁽¹³⁾. Sin embargo, aunque la actividad de Ec en mamíferos es la más evidenciada, se han llegado a identificar 571 análogos⁽¹⁷⁾, de los cuales algunos también están siendo objeto de estudio. Muchos de estos compuestos vienen siendo utilizados en medicina tradicional desde hace milenios, utilizando extractos de diferentes secciones de plantas^(5,14,18).

Los efectos farmacológicos evidenciados de Ec son variados, desde actividad hipolipemiente hasta cierto efecto anabólico y mioprotectivo^(6,19,20). Gracias a ello, Ec ha sido propuesta como molécula de ensayo, siendo protagonista en diversos campos de investigación. En casos de síndrome de distrés respiratorio agudo, como la CoVID-19, Ec (denominada: BIO101) está siendo evaluada para mejorar la supervivencia del paciente de riesgo⁽²¹⁾. Aunque existen numerosas áreas de estudio que involucran la actividad de Ec como eje de investigación, la presente revisión recopila la evidencia existente acerca de su acción farmacológica sobre el tejido muscular esquelético.

Métodos

Para la realización de esta revisión bibliográfica narrativa se han utilizado las bases de datos Medline, Google Scholar, Scielo y Wiley. La elección de la evidencia científica se ha realizado en base a criterios de exclusión e inclusión propuestos por el autor. Se han incluido aquellos trabajos que mostrasen datos evidenciados, robustos y reproducibles. Del mismo modo, se han incluido evidencias históricas, en cuanto al tema, que supusieran un inicio o avance en la investigación. Se incluyen aquellos trabajos más actuales que enriquecen conclusiones sobre evidencias previas. Del mismo modo, se excluyen trabajos con resultados irreproducibles, duplicados o refutados.

Para la búsqueda bibliográfica se ha utilizado la siguiente combinación de operadores booleanos: *Ecdysteroids AND Skeletal muscle*; *Ecdysteroids AND Anabolic response*; *Ecdysterone NOR Anabolic steroids*; *Estrogen receptor AND Mas*; *Estrogen recetor AND Anabolic response*. Aunque se recopilaron 98 títulos, este trabajo incluye las 41 referencias resultantes tras la aplicación de los criterios de inclusión.

Resultados

Hipertrofia muscular

Los ecdiesteroides han demostrado inducir hipertrofia muscular estimulando la síntesis proteica muscular. Su relación con receptores nucleares, en particular con los receptores de estrógenos (RE) tipo B, mejora el rendimiento físico, así como el aumento en tamaño de las fibras musculoesqueléticas⁽²²⁾.

Numerosos estudios farmacológicos describen la respuesta del tejido muscular frente a la presencia de ecdiesteroides^(22,23). La actividad de estas moléculas se refleja en el metabolismo lipídico, sistema inmune y metabolismo proteico. Como consecuencias se dan un aumento en la oxidación de ácidos grasos, cierta estimulación de la respuesta inmune y aumento de la potencia física, respectivamente^(5,7,8,20). Debido a esto, la industria de suplementación deportiva se ha interesado en promover y desarrollar formulaciones aptas para consumo humano. Una de las principales ventajas que, hasta la fecha, parece diferenciar a los ecdiesteroides de los anabólicos esteroides comunes es la ausencia de efectos secundarios como la virilización.

La relación estructura actividad de los ecdiesteroides en artrópodos está todavía siendo estudiada. Existen diversos mecanismos moleculares que involucran a los ecdiesteroides, los cuales parecen ser responsables de su actividad biológica en esta familia de insectos. La investigación acerca de la expresión de genes codificantes para receptores de ecdiesteroides se lleva realizando desde el siglo pasado. Partiendo como base de la expresión del receptor en las glándulas salivales de la *Drosophila melanogaster*, así como en *Drosophila Kc*, un estudio de 1981 de la Universidad de Bochum⁽²⁴⁾ identificó una proteína de 130000 kDa como responsable de la actividad hormonal de la Ec en artrópodos. La unión del ligando receptor regula procesos de muda y metamorfosis de insectos. Mediante la translocación del complejo hormona (Ec)-receptor al núcleo celular y posteriormente uniéndose al material genético, modifica la expresión de genes⁽²⁵⁾. Sin embargo, la Ec no parecía modificar la síntesis o disponibilidad del receptor en la célula y, mediante estudios cuantitativos *in vitro*, el complejo hormona-receptor permanecía en el núcleo pese a la disponibilidad de Ec en el medio^(22,26). Posteriormente, con el paso del tiempo, se identificó que el complejo del receptor nuclear estaba constituido por dos subunidades, el receptor de la Ec y la proteína ultraspiracle (USP, por sus siglas en inglés). También consta la posible actividad de una proteína de membrana de la familia GPCR (*G-Protein Coupled Receptor*) la cual activa diferentes cascadas de señalización. Este complejo no se expresa en células de mamíferos, lo que da lugar a la nula actividad de la Ec sobre receptores humanos de esteroides, a diferencia de lo que ocurre con los esteroides anabólico-androgénicos (AAS, por sus siglas en inglés)⁽¹⁶⁾.

La Ec ha demostrado no tener afinidad por receptores androgénicos, receptores de glucocorticoides o receptores de estrógenos tipo α . Sin embargo, su presencia produce una respuesta biológica sobre receptores de estrógenos tipo β ⁽²⁾. Dicha actividad ha podido visualizarse en ensayos *in vitro* e *in silico*^(22,27,28). En ensayos *in vitro* que comparaban la actividad de la Ec con otros AAS, como la metandienona, se observó que, en ausencia de estímulo físico, al contrario que los AAS, esta molécula sí tenía efec-

to⁽²⁸⁾. De mismo modo, la respuesta celular es dosis dependiente ya que con una posología inferior a 5ug/Kg de peso corporal no mostraban actividad significativa⁽²⁷⁾. En modelos animales, principalmente ratas y ratones, la suplementación de la dieta con Ec durante periodos de 20 a 30 días y, en combinación con pruebas de natación, mostró que aquellos individuos suplementados eran capaces de nadar tramos más largos^(14,15,25). Estas conclusiones llevaron a la Ec a ser propuesta como molécula de estudio en humanos y dilucidar si realmente ejerce un poder anabólico y de mejora del rendimiento físico.

Para comprender la actividad de la Ec sobre tejido muscular esquelético humano se debía indagar acerca del mecanismo principal de acción. Las primeras hipótesis que se formularon fueron planteaban que la unión directa del ecdiesteroides sobre el receptor de estrógenos era la responsable^(14,22). Utilizando activadores e inhibidores de receptores de estrógenos, siendo el primero capaz de mimetizar los efectos de la Ec y el segundo de inhibirlos, sobre osteoblastos y mioblastos y comparando las respuestas fisiológicas con la producida por la Ec, no se pudo evidenciar una acción directa sobre los receptores por parte de la Ec^(22,29). Las diferencias en la respuesta biológica por parte de los ligandos conocidos del receptor no eran idénticas a las producidas en presencia de Ec. Estos resultados concluyeron en que no existía una prueba fehaciente de que la unión directa Ec-receptor fuese la causante de la actividad^(13,22).

Por otro lado, la actividad de la Ec parece estar relacionada con una activación indirecta del receptor de estrógenos^(12,13). Una posible interacción con receptores de membrana que desemboquen en una cascada de señalización se postula como la principal vía de actuación^(13,30). La evidencia de este mecanismo de acción es respaldada por la numerosa cantidad de mensajeros secundarios presentes tras la exposición de las células diana a Ec^(31,32). Del mismo modo, la unión de nanopartículas metálicas a la Ec, con el fin de evitar la entrada del ecdiesteroides al interior celular, no impedía la actividad de Ec^(31,33). En un estudio del año 2021 llevado a cabo por Lafont et al.⁽¹³⁾ mediante el empleo de mioblastos de ratón (C2C12) y la monitorización de la expresión del gen de la miostatina (proteína responsable de la degradación proteica) se observó y verificó la actividad biológica de la Ec. Los resultados mostraron que su actividad se debía fundamentalmente a la interacción con un receptor de membrana, en concreto con el receptor Mas^(6,13,16).

Actividad de Ec sobre el receptor

El receptor Mas es un receptor clave en la regulación del sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAA). La activación *clásica* del eje RAA, el cual involucra la conversión de angiotensina I en angiotensina II (Ang II) mediante la enzima convertidora de angiotensina (ECA), está estrechamente relacionado con una pérdida cuantitativa y cualitativa de masa muscular esquelética^(34,35). Niveles supra fisiológicos de angiotensina II en circulación sanguínea están relacionados con condiciones de atrofia y degradación proteico-muscular^(35,36). Sin embargo, respetando el principio de homeostasis del organismo, existe un eje de activación alternativo. El eje alternativo del sistema RAA involucra la actividad de ECAII, angiotensina 1-7 (Ang1-7) y el receptor Mas. La interacción de Ang1-7 con el receptor Mas de siete dominios transmembrana acoplado a proteína G reduce la atrofia muscular ocasionada por niveles elevados de Ang II reduciendo la degradación celular^(34,35,36).

La Ec ha demostrado comportarse de manera similar a Ang1-7⁽¹³⁾. El complejo del receptor Mas, tal y como muestra Sobrino et al.⁽²³⁾, parece estar ligado a la actividad de los receptores de estrógenos no nucleares. El estradiol tiene un papel importante en la regulación de la vasodilatación al igual que el receptor Mas^(37,38). Esta relación es primordial en los capilares sanguíneos donde el endotelio está constituido por células altamente dependientes de vasodilatadores, en particular óxido nítrico (NO) en tejido muscular esquelético⁽³⁷⁾. La ruta Akt/NOS/NO es regulada por la activación de Mas. Debido a esta relación, los dos receptores tienen tendencia a formar un heterodímero regulando su actividad en conjunto. En 2016, Omanakuttan et al.⁽³⁸⁾ observaron la activación de la migración y la proliferación celular mediada por la actividad de la Ec en cicatrización de heridas. En este tipo de afecciones la actividad de NO es fundamental, incrementándose los niveles en presencia de Ec^(12,13).

La dimerización del receptor acoplado a proteína-G (GPCR, por sus siglas en inglés) con el receptor de estrógenos en humanos es similar a la determinada en *Drosophila*⁽⁸⁾. En insectos, el receptor específico para dopamina y ecdiesteroides, DopEcR, es responsable de la liberación de Ca²⁺ del retículo endoplas-

mático, del aumento de la fosforilación proteica y de la translocación celular. Estos procesos se dan a consecuencia de la activación de los ejes de señalización GPCR/Ca²⁺/PKC y GPCR/AMPC/PKA^(8,23,35,38). Dichos ejes regulan la transcripción de genes específicos para la muda y la metamorfosis. Del mismo modo, en mamíferos, pudiera darse una inducción genética parecida vía Mas/receptor de estrógenos, resultando en el aumento de la síntesis proteica e inhibición de la degradación celular, vía inhibición de la expresión de la miostatina⁽⁶⁾.

Activación indirecta de ERβ no nuclear por acción de Ec

La activación indirecta de los receptores de estrógenos tipo β no nucleares parece ser responsable de los efectos anabólicos de Ec^(22,23,30). Años de estudio atrás, la evidencia científica situaba a los andrógenos e IGF-1 como responsables principales de los procesos anabólicos del tejido músculo esquelético^(14,39). Sin embargo, con los avances en la investigación, los receptores de estrógenos se han coronado como responsables también de la activación de la transcripción genes involucrados en el desarrollo muscular. Existen dos subtipos de receptores de estrógenos, el receptor α (ERα) y el receptor β (ERβ)^(6,40). En la actividad que concierne a la Ec, el receptor β es el responsable y protagonista. La principal diferencia entre ambos subtipos es su distribución entre los diferentes tejidos. ERα tiene mayor relación con aquellos tejidos con función reproductiva o relacionados, como el tejido uterino o tejido mamario, mientras que ERβ se expresa sobre todo en tejido endotelial vascular, próstata y tejido gastrointestinal^(5,22). Sin embargo, en otros tejidos como el músculo esquelético se expresan en conjunto. Es precisamente en este último donde la activación de ERβ induce la regeneración del tejido, reparando las fibras musculares dañadas. Incluso pese a que el receptor de estrógenos se encuentra mayormente vinculado a la homeostasis femenina, los efectos anabólicos de la activación de ERβ son observables en ambos sexos^(22,41).

Por otro lado, pese a que estos receptores pertenecen a la familia de receptores nucleares, también se conocen sus formas no nucleares. Estos últimos son los principales responsables de la regulación de la expresión de los genes de miostatina y metabolismo proteico muscular. Lafont et al., en 2021⁽¹³⁾, utilizando un análogo específico de ERβ no nuclear derivado del estradiol (17β-Estradiol) observaron la supresión de la expresión de miostatina. Simultáneamente, adicionando antagonistas de la Ang1-7, los resultados mostraron que no se abolía la actividad de ERβ. Mencionado anteriormente, ERβ no nuclear es activado en presencia de Ec. Aunque no se activa por unión directa, se propone que la interacción de Ec con Mas y la posterior activación de ERβ no nuclear, a consecuencia de la cascada de señalización producida, como el mecanismo de acción para la actividad anticatabólica vía receptor de estrógenos^(2,6,13).

La posible similitud con el mecanismo natural evidenciado en insectos⁽⁸⁾, los efectos fisiológicos visualizados en la interacción de Ec con Mas^(22,23), la interacción con los receptores extranucleares de estrógenos⁽²³⁾ y la inhibición de la miostatina⁽¹³⁾, han llevado a muchos científicos a proponer la interacción de Mas con el receptor de estrógenos no nuclear como principal mecanismo de acción de la Ec.

Conclusión

La evidencia científica revisada en este trabajo muestra la posible aplicación de los ecdiesteroides en la clínica de patologías musculodegenerativas. Patologías como la sarcopenia o la caquexia podrían disponer de un aboraje terapéutico alternativo en los próximos años si se esclarece la posible utilidad de los ecdiesteroides. Su mecanismo de acción, basado en la interacción con el complejo del receptor transmembrana Mas y Erβ no nuclear, es una alternativa para potenciar la preservación de la masa magra muscular. Inclusive, otras patologías metabólicas pudieran beneficiarse de los efectos de Ec.

Por otro lado, pese a que la activada de Ec no está confirmada para su empeño en la clínica, su comercialización para la potenciación de la actividad deportiva está presente. Por este motivo, la Agencia Mundial Anti-Dopaje (AMA) ha incluido a este ecdiesteroides en la en la clase S1.2 *Other anabolic agents* de la lista de sustancias prohibidas, por considerarse un anabólico de origen natural.

Bibliografía

1. Lenaerts C, Van Wielendaele P, Peeters P, Vanden Broeck J, Marchal E. Ecdysteroid signalling components in metamorphosis and development of the desert locust, *Schistocerca gregaria*. *Insect Biochem Mol Biol*. 2016;75:10–23. doi: 10.1016/J.IBMB.2016.05.003.
2. Lafont R, Dinan L. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: And update. *J Insect Sci*. 2003;3. doi: 10.1093/jis/3.1.7.
3. Dinan L. Phytoecdysteroids: biological aspects. *Phytochemistry* [Internet]. 2001;57:325–339. doi: 10.1016/S0031-9422(01)00078-4.
4. Wang Y chen, Zhao J jia, Chi D fu. β -Ecdysterone accumulation and regulation in *Ajuga multiflora* Bunge suspension culture. *3 Biotech* [Internet]. 2018;8. doi: 10.1007/S13205-018-1117-2.
5. Zhao P, Soukup ST, Hegevoss J, Nguen S, Kulling SE, Diel P. Anabolic effect of the traditional chinese medicine compound tanshinone iia on myotube hypertrophy is mediated by estrogen receptor. *Planta Med*. 2015;81:578–585. doi: 10.1055/s-0035-1545883.
6. Dinan L, Dioh W, Veillet S, Lafont R. 20-Hydroxyecdysone, from Plant Extracts to Clinical Use: Therapeutic Potential for the Treatment of Neuromuscular, Cardio-Metabolic and Respiratory Diseases. *Biomedicines*. 2021;9(5):492. doi: 10.3390/biomedicines9050492.
7. Xia X, Zhang Q, Liu R, Wang Z, Tang N, Liu F, Huang G, Jiang X, Gui G, Wang L, et al. Effects of 20-hydroxyecdysone on improving memory deficits in streptozotocin-induced type 1 diabetes mellitus in rat. *Eur J Pharmacol*. 2014;740:45–52. doi: 10.1016/j.ejphar.2014.06.026.
8. Zhao XF. G protein-coupled receptors function as cell membrane receptors for the steroid hormone 20-hydroxyecdysone. *Cell Commun Signal* [Internet]. 2020;18. doi: 10.1186/S12964-020-00620-Y.
9. Karlson P. Chemistry and Biochemistry of Insect Hormones. *Angewandte Chemie International Edition in English* [Internet]. 1963;2:175–182. doi: 10.1002/ANIE.196301751.
10. Cherbas P. The IVth Karlson Lecture: Ecdysone-responsive genes. *Insect Biochem Mol Biol*. 1993;23:3–11. doi: 10.1016/0965-1748(93)90076-5.
11. Huber R, Hoppe W. [On the chemistry of ecdysone. VII. Analysis of the crystal and molecular structure of the molting hormone in insects, ecdysone, using the automatized folding molecule method. *Chem Ber* [Internet]. 1965 ; 98:2403–2424. doi: 10.1002/CBER.19650980744.
12. Csábi J, Rafai T, Hunyadi A, Zádor E. Poststerone increases muscle fibre size partly similar to its metabolically parent compound, 20-hydroxyecdysone. *Fitoterapia* [Internet]. 2019;134:459–464. doi: 10.1016/J.FITOTE.2019.03.017.
13. Lafont R, Serova M, Didry-Barca B, Raynal S, Guibout L, Dinan L, Veillet S, Latil M, Dioh W, Dilda PJ. 20-Hydroxyecdysone activates the protective arm of the RAAS via the MAS receptor. *J Mol Endocrinol* [Internet]. 2021;68:77–87. doi: 10.1530/JME-21-0033.
14. Bathori M, Toth N, Hunyadi A, Marki A, Zador E. Phytoecdysteroids and anabolic-androgenic steroids--structure and effects on humans. *Curr Med Chem* [Internet]. 2008;15:75–91. doi: 10.2174/092986708783330674.
15. Wilborn CD, Taylor LW, Campbell BI, Kerksick C, Rasmussen CJ, Greenwood M, Kreider RB. Effects of methoxyisoflavone, ecdysterone, and sulfo-polysaccharide supplementation on training adaptations in resistance-trained males. *J Int Soc Sports Nutr* [Internet]. 2006;3. doi: 10.1186/1550-2783-3-2-19.
16. Gorelick-Feldman J, MacLean D, Ilic N, Poulev A, Lila MA, Cheng D, Raskin I. Phytoecdysteroids increase protein synthesis in skeletal muscle cells. *J Agric Food Chem* [Internet]. 2008;56:3532–3537. doi: 10.1021/JF073059Z.
17. Ecdybase (The Ecdysone Handbook) - a free online ecdysteroids database [Internet]. Ecdybase.org. Disponible en: <https://ecdystate.org/>

18. Jung K, Kim IH, Han D. Effect of medicinal plant extracts on forced swimming capacity in mice. *J Ethnopharmacol.* 2004;93:75–81. doi: 10.1016/j.jep.2004.03.022.
19. Liu JJ, Zhang HY, Chen X, Zhang GB, Lin JK, Feng H, Chu WH. 20-Hydroxyecdysone Improves Neuronal Differentiation of Adult Hippocampal Neural Stem Cells in High Power Microwave Radiation-Exposed Rats. *Biomed Environ Sci.* 2022;35:504–517. doi: 10.3967/bes2022.068.
20. Jian CX, Liu XF, Hu J, Li CJ, Zhang G, Li Y, Zhu JW, Tan YH. 20-hydroxyecdysone-induced bone morphogenetic protein-2-dependent osteogenic differentiation through the ERK pathway in human periodontal ligament stem cells. *Eur J Pharmacol.* 2013;698:48–56. doi: 10.1016/J.EJPHAR.2012.07.044.
21. Testing the efficacy and safety of BIO101, for the prevention of respiratory deterioration, in patients with COVID-19 pneumonia (COVA study): a structured summary of a study protocol for a randomised controlled trial - PMC [Internet]. doi: 10.1186/s13063-020-04998-5
22. Parr MK, Zhao P, Haupt O, Ngueu ST, Hengevoss J, Fritzemeier KH, Piechotta M, Schlörer N, Muhn P, Zheng WY, et al. Estrogen receptor beta is involved in skeletal muscle hypertrophy induced by the phytoecdysteroid ecdysterone. *Mol Nutr Food Res [Internet].* 2014;58:1861–1872. doi: 10.1002/MNFR.201300806.
23. Sobrino A, Vallejo S, Novella S, Lázaro-Franco M, Mompeón A, Bueno-Betí C, Walther T, Sánchez-Ferrer C, Peiró C, Hermenegildo C. Mas receptor is involved in the estrogen-receptor induced nitric oxide-dependent vasorelaxation. *Biochem Pharmacol.* 2017;129:67–72. doi: 10.1016/J.BCP.2017.01.012.
24. Schaltmann K, Pongs O. Identification and characterization of the ecdysterone receptor in *Drosophila melanogaster* by photoaffinity labeling. *Proceedings of the National Academy of Sciences [Internet].* 1982 ;79:6–10. doi: 10.1073/PNAS.79.1.6.
25. Isenmann E, Ambrosio G, Joseph JF, Mazarino M, de la Torre X, Zimmer P, Kazlauskas R, Goebel C, Botrè F, Diel P, et al. Ecdysteroids as non-conventional anabolic agent: performance enhancement by ecdysterone supplementation in humans. *Arch Toxicol.* 2019;93:1807–1816. doi: 10.1007/s00204-019-02490-x.
26. Bathori M. Phytoecdysteroids Effects on Mammalians, Isolation and Analysis. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry.* 2005;2:285–293. doi: 10.2174/1389557023406269.
27. Azizov AP, Seifulla RD, Chubarova AV, et al. Effects of leuzea tincture and leveton on humoral immunity of athletes. *Eksp Klin Farmakol.* 1997 Nov-Dec;60(6):47-8. Russian. PMID: 9460599.
28. Chermnykh NS, Shimanovskii NL, Shutko GV, et al. The action of methandrostenolone and ecdysterone on the physical endurance of animals and on protein metabolism in the skeletal muscles. *Farmakol Toksikol.* 1988;51(6):57-60. Russian. PMID: 3234543.
29. Gao L, Cai G, Shi X. β -Ecdysterone Induces Osteogenic Differentiation in Mouse Mesenchymal Stem Cells and Relieves Osteoporosis. *Biol Pharm Bull.* 2008;31:2245–2249. doi: 10.1248/BPB.31.2245.
30. Seidlova-Wuttke D, Christel D, Kapur P, Nguyen BT, Jarry H, Wuttke W. β -Ecdysone has bone protective but no estrogenic effects in ovariectomized rats. *Phytomedicine.* 2010;17:884–889. doi: 10.1016/J.PHYMED.2010.03.021.
31. Mykhaylyk OM, Kotzuruba AV., Buchanevich OM, Korduban AM, Meged EF, Gulaya NM. Signal transduction of erythrocytes after specific binding of ecdysterone and cholesterol immobilized on nanodispersed magnetite. *J Magn Magn Mater.* 2001;225:226–234. doi: 10.1016/S0304-8853(00)01262-2.
32. Kotsiuruba AB, Tuhanova AV, Bukhanevich OM, Tarakanov SS. Mechanisms of the early effect of biologically active hydroxysterols: calcitriol and ecdysterone. Identification of sphingomyelin as the effector mechanism of the early effect. *Ukr Biokhim Zh (1978).* 1995;67(2):53-8. Ukrainian. PMID: 8592786.
33. Gorelick-Feldman J, Cohick W, Raskin I. Ecdysteroids elicit a rapid Ca^{2+} flux leading to Akt activation and increased protein synthesis in skeletal muscle cells. *Steroids.* 2010;75:632–637. doi: 10.1016/J.STEROIDS.2010.03.008.

- 34.** Murphy KT, Hossain MI, Swiderski K, Chee A, Naim T, Trieu J, Haynes V, Read SJ, Stapleton DI, Judge SM, et al. Mas Receptor Activation Slows Tumor Growth and Attenuates Muscle Wasting in Cancer. *Cancer Res* [Internet]. 2019;79:706–719. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-1207.
- 35.** Rupert JE, Koniaris LG, Zimmers TA. Multimodal action of MAS activation for systemic cancer cachexia therapy. *Cancer Res*. 2019;79:699–700. doi: 10.1158/0008-5472.CAN-18-3910.
- 36.** Yamamoto K, Takeshita H, Rakugi H. ACE2, angiotensin 1-7 and skeletal muscle: review in the era of COVID-19. *Clin Sci (Lond)* [Internet]. 2020;134:3047–3062. doi: 10.1042/CS20200486.
- 37.** Santos RAS, Sampaio WO, Alzamora AC, Motta-Santos D, Alenina N, Bader M, Campagnole-Santo MJ. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS Axis of the Renin-Angiotensin System: Focus on Angiotensin-(1-7). *Physiol Rev* [Internet]. 2018;98:505–553. doi: 10.1152/PHYSREV.00023.2016.
- 38.** Omanakuttan A, Bose C, Pandurangan N, Kumar GB, Banerji A, Nair BG. Nitric Oxide and ERK mediates regulation of cellular processes by Ecdysterone. *Exp Cell Res*. 2016;346:167–175. doi: 10.1016/J.YEXCR.2016.07.019.
- 39.** Arif Y, Singh P, Bajguz A, Hayat S. Phytoecdysteroids: Distribution, Structural Diversity, Biosynthesis, Activity, and Crosstalk with Phytohormones. *Int J Mol Sci*. 2022;23. doi: 10.3390/ijms23158664.
- 40.** Dreier SI, Towers GHN. Activity of Ecdysterone in Selected Plant Growth Bioassays. *J Plant Physiol*. 1988;132:509–512. doi: 10.1016/S0176-1617(88)80073-7.
- 41.** Gholipour P, Komaki A, Parsa H, Ramezani M. Therapeutic Effects of High-Intensity Interval Training Exercise Alone and Its Combination with Ecdysterone Against Amyloid Beta-Induced Rat Model of Alzheimer’s Disease: A Behavioral, Biochemical, and Histological Study. *Neurochem Res* [Internet]. 2022;47:2090–2108. doi: 10.1007/S11064-022-03603-2.