

C U R S O S E C O N G R E S O S

Santiago de Compostela
19 de outubro de 2023

Libro de resumos

IV Encontro
Galego da Mocidade
Investigadora
en Ciencias
Farmacéuticas



EDICIÓN A CARGO DE
M^a de los Reyes Laguna Francia
Raquel Sendón García
Trinidad de Miguel Bouzas

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

IV Encontro Galego da Mocidade
Investigadora en Ciencias Farmacéuticas

Santiago de Compostela,
19 de outubro de 2023

LIBRO DE RESUMOS

CURSOS E CONGRESOS DA
UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA
N.º 276

IV Encontro Galego da Mocidade Investigadora en Ciencias Farmacéuticas

Santiago de Compostela,

19 de outubro de 2023

LIBRO DE RESUMOS

EDICIÓN A CARGO DE

M^a de los Reyes Laguna Francia

Raquel Sendón García

Trinidad de Miguel Bouzas

2024

UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA



Esta obra atópase baixo unha licenza internacional Creative Commons BY-NC-ND 4.0. Calquera forma de reprodución, distribución, comunicación pública ou transformación desta obra non incluída na licenza Creative Commons BY-NC-ND 4.0 só pode ser realizada coa autorización expresa dos titulares, salvo excepción prevista pola lei. Pode acceder Vde. ao texto completo da licenza nesta ligazón: <https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/deed.gl>

© Universidade de Santiago de Compostela, 2025

Maqueta

José María Gairí

Edita

Edicións USC

Campus Vida

15782 Santiago de Compostela

<https://www.usc.gal/publicacions>

DOI: <https://dx.doi.org/10.15304/9788410142435>

EGMICF23

IV Encontro Galego da Mocidade Investigadora en Ciencias Farmacéuticas

**IV Encontro Galego da
Mocidade Investigadora
en Ciencias Farmacéuticas**

19 de outubro
Facultade de Farmacia
Santiago de Compostela

Organiza:



FACULTADE DE FARMACIA



Colabora:



Presentación de resumos: ata 4 de outubro as 14:00h
Comunicación de aceptación : 6 de outubro

Índice

AVALIACIÓN <i>IN SILICO</i> DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS DO EXTRACTO ACUOSO DE <i>ACHYROCLINE SATUREIODES</i>	10
<i>Péterson Alves Santos, Patrícia Pereira, Jose Ángel Fontenla</i>	
ANÁLISE DE GHB EN MOSTRAS DE PELO: UTILIDADE EN CASOS DE SUBMISIÓN QUÍMICA.....	13
<i>Miriam Blanco Ces, Ana de Castro Ríos, Ángela López Rabuñal, Angelines Cruz Landeira, Manuel López-Rivadulla Lamas, Elena Lendoiro Belío</i>	
IMPLANTES INTRAVÍTREOS LIQUIDOCRISTALINOS PARA A LIBERACIÓN CONTROLADA DE BEVACIZUMAB	15
<i>Guillermo Blanco Fernández, Bárbara Blanco Fernández, Francisco Fraga López, Asteria María Luzardo Álvarez, Bruno Dacuña Mariño, Anxo Fernández Ferreiro, Francisco Javier Otero Espinar</i>	
A REACCIÓN DE BIGINELLI COMO NOVA ABORDAXE DA ENFERMIDADE DE ALZHEIMER.....	16
<i>Lucía Campos Prieto, Rubén Prieto-Díaz, Ana Mallo-Abreu, Jhonny Azuaje, Rita M. Paleo, Xerardo García-Mera, José Brea, M. Isabel Loza, Eddy Sotelo</i>	
USO DE FERRAMENTAS DE INTELIXENCIA ARTIFICIAL PARA A PREDICIÓN DE RESULTADOS DE IMPRESIÓN POR INXECCIÓN DE TINTA	18
<i>Paola Carou-Senra, Jun Jie Ong, Brais Muñiz Castro, Iria Seoane-Viaño, Lucía Rodríguez-Pombo, Pedro Cabalar, Carmen Alvarez-Lorenzo, Abdul W. Basit, Gilberto Pérez, Alvaro Goyanes</i>	
CARACTERIZACIÓN PRECLÍNICA MEDIANTE OCT DUN MODELO PATOLÓXICO DE UVEÍTE.....	20
<i>Andrea Cuartero-Martínez, Xurxo García-Otero, Jessica Fraga-Codesido, Pablo Aguiar, Francisco J. Otero-Espinar, Marcos Ortega-Hortas, Anxo Fernández-Ferreiro</i>	
NANOPARTÍCULAS DE CANNABIDIOL (CBD) PARA O TRATAMENTO DA PSORÍASE	22
<i>Vinicius de Monte Vidal, Izahiuwa Iredia, Victoria Diaz Tomé, Francisco J. Otero Espinar</i>	
BUSCA DE BIOMARCADORES PREDITIVOS DE RESPOSTA AO TRATAMENTO EN MOSTRAS DE COLON DE PACIENTES CON COLITE ULCEROSA.....	25
<i>Mariña Durán Rubí, Antón Leandro Martínez Rodríguez, José Manuel Brea Floriani, María Isabel Loza García</i>	
DESCIFRANDO O IMPACTO DE LNCRNA ALTERADOS NO ENVELLECIMENTO NA TECNOLOXÍA DA PLURIPOTENCIA INDUCIDA	27
<i>Celia Fernandez, Tiago Moreira, David Martínez, Miguel Fidalgo</i>	
AVALIACIÓN DE EXTRACTOS NATURAIS DE FLORA GALEGA COMO POTENCIAIS NUTRACÉUTICOS.....	29
<i>Lorena G. Calvo, Ana G. Abril, Trinidad De Miguel</i>	

COASOCIACIÓN DE FÁRMACOS ANTI-TB EN NANOCÁPSULAS BASEADAS EN QUITOSANO.....	31
<i>Ángela González-Baizán, Patricia Díaz-Rodríguez, Carmen Remuñan-López</i>	
UNHA PLATAFORMA DE CONJUGACIÓN VERSÁTIL PARA O DESENVOLVIMENTO DE PROTAC E SONDAS MOLECULARES PARA A SÚA CARACTERIZACIÓN.....	33
<i>Lucía González, María Majellaro, Thomas Webb, Olliver Hsia, Alessio Ciulli, Eddy Sotelo</i>	
DESEÑO E SÍNTESE DE HÍBRIDOS RILUZOL-CUMARINA PARA A ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA.....	35
<i>Sela Gonzalez, Dheyaa M. Dhahir, Elena Cabaleiro, Lourdes Santana, Eugenio Uriarte, Maria João Matos</i>	
ESTUDO FITOQUÍMICO DE <i>ASPARAGUS SETACEUS</i> (KUNTH) JESSUP EMPREGADO NO TRATAMENTO DA DEMENCIA EN MANICA (MOZAMBIQUE).....	36
<i>Lucio Jasse, Elías Quezada, Dolores Viña, Reyes Laguna</i>	
ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA FRONTE A CEPAS CLÍNICAS DUN EXTRACTO DE BAGAZO DE UVA RICO EN POLIFENOIS	38
<i>Tamara Manso, Marta Lores, Trinidad de Miguel</i>	
FILMES ACTIVOS PARA APLICACIÓNS ALIMENTARIAS A BASE DE SUBPRODUTOS DA INDUSTRIA.....	39
<i>Sandra Mariño-Cortegoso, Ana Isabel Bourbon, Ana Rodríguez Bernaldo de Quirós, Raquel Sendón, Letricia Barbosa-Pereira</i>	
MELLORANDO A DESINFECCIÓN SOLAR DA AUGA DE BEBIDA FRONTE A <i>CRYPTOSPORIDIUM</i> : AVALIACIÓN DO MONOPERSULFATO E DISTINTOS MATERIAIS PLÁSTICOS.....	41
<i>Sandra Martín-García, Seila Couso-Pérez, Anabel Isabel Vidal-Varela, Hipólito Gómez-Couso</i>	
DESENVOLVIMENTO DE FORMULACIÓNS NANOPARTICULADAS DE IL-4 PARA ADMINISTRACIÓN INTRAARTICULAR NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE	43
<i>Rebeca Martínez-Borrajó, Celia Anton, Patricia Díaz-Rodríguez, Mariana Landin</i>	
SÍNTESE E DESCUBRIMENTO DE NOVOS ANTAGONISTAS A3 PARA O TRATAMENTO DO CANCRO VÍA REACCIÓN DE UGI	45
<i>Darío Miranda-Pastoriza, Rodrigo Bernardes, Jhonny Azuaje, Rubén Prieto-Díaz, María Majellaro, Aitor García-Rey, Ana Mallo-Abreu, Claudia Gioé-Gallo, Alejandro González, José Brea, M. Isabel Loza, María Majellaro, Xerardo García-Mera, Hugo Gutiérrez-de-Terán, Eddy Sotelo</i>	
AVALIACIÓN DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO E INHIBIDOR DE B-LACTAMASE DE EXTRACTOS DE <i>SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS</i> FRONTE A CEPAS RESISTENTES A BETALACTÁMICOS	47
<i>Fatima Mourabit, Trinidad de Miguel, José Luis R. Rama, Yassine Zouheir, Abdelaziz Soukri, Bouchra El Khalfi</i>	
DESEÑO E SÍNTESE DE NOVAS 3-HETEROARILCUMARINAS COMO POTENCIAIS AXENTES NEUROPROTECTORES.....	49
<i>Cynthia N. Pereira, Manuel Novas González, Ana Fernández Pozo, Víctor Gamas Bello, Giulio Dettori, Davide Crucitti, Maria João Matos</i>	

RECRUTAMENTO DE TRANSDUTORES E TRÁFICO DE RECEPTORES DA VARIANTE XENÉTICA RARA DO RECEPTOR DE FRACTALQUINA CX ₃ CR1-A55T ASOCIADO Á ESQUIZOFRENIA.....	51
<i>Alba Paz-Castro, Pablo Blázquez, Marián Castro</i>	
ESTABILIDADE E BIOACCESIBILIDADE DE DERIVADOS DO BISFENOL A PRESENTES EN MATERIAIS DE ENVASE ALIMENTARIOS	52
<i>Lara Pazos-Soto, Patricia Vázquez Loureiro, Sandra Mariño-Cortegoso, Antía Lestido-Cardama, Juana Bustos, Perfecto Paseiro-Losada, Ana Rodríguez-Bernaldo de Quirós, Raquel Sendón, Letricia Barbosa-Pereira</i>	
DESCUBRIMENTO DE FÁRMACOS MULTIDIANA ASISTIDO POR REACCIÓNS MULTICOMPOÑENTE: DESEÑO, OPTIMIZACIÓN E ENSAIOS TUMORAIS EX VIVO	54
<i>Iván Rodríguez-Pampín, Rubén Prieto-Díaz, Hugo Fojo-Carballo, Jhonny Azuaje, Maria Majellaro, Apple Tay, Carlos Carbajales, María I. Loza, José Brea, Andreas Lundqvist, Eddy Sotelo</i>	
IMPRESIÓN 3D DE MEDICAMENTOS PERSONALIZADOS NO ÁMBITO HOSPITALARIO PARA NENOS AFECTADOS POR ENFERMIDADES METABÓLICAS RARAS.....	56
<i>Lucía Rodríguez-Pombo, María José de Castro-López, Paula Sánchez Pintos, Jose Maria Giraldez-Montero, Patricija Januskaite, Goretti Duran-Piñeiro, M. Dolores Bóveda, Carmen Alvarez-Lorenzo, Abdul W. Basit, Alvaro Goyanes, Maria L. Couce Pico</i>	
O AMPC PROTEXE FRONTE Ó DANO NA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA INDUCIDO POR INFLAMACIÓN	58
<i>Nuria Seoane, Aitor Picos, Manuel Campos-Toimil, Dolores Viña</i>	
APLICACIÓN DUN CULTIVO DE CÉLULAS DE FLUXO E ESTUDOS DE ACTIVIDADE ANTIMICROBIANA PARA AVALIACIÓN IN VITRO DUN SISTEMA BASEADO EN POLE PARA A ADMINISTRACIÓN PULMONAR DE RIFABUTINA.....	59
<i>Lorena Valverde-Fraga, Sandra Sanchez, Carmen Remuñán, Noemi Csaba</i>	
AVALIACIÓN DE DIFERENTES ESTRATEXIAS PARA DIMINUÍR AS RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS.....	61
<i>Rosa Antía Villarino Fernández, Lorena Gómez Calvo, José Luís Rodríguez Rama, Sandra Sánchez Poza</i>	
USO CRÓNICO DE ATORVASTATINA E GRAVIDADE DA COVID-19: UN ESTUDO DE BASE POBOACIONAL.....	64
<i>Irene Visos-Varela, Maruxa Zapata-Cachafeiro, María Piñeiro-Lamas, Adolfo Figueiras, Ángel Salgado-Barreira</i>	

AVALIACIÓN *IN SILICO* DOS PRINCIPAIS COMPOSTOS DO EXTRACTO ACUOSO DE *ACHYROCLINE SATUREIODES*

Péterson Alves Santos,^{1,2} Patrícia Pereira², Jose Ángel Fontenla¹

¹Departamento de Farmacología, Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, Universidade de Santiago de Compostela. España

²Laboratorio de Neurofarmacología e Toxicología Preclínica, Departamento de Farmacología do ICBS
Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Brasil

peterston.alves@rai.usc.gal

Achyrocline satureioides (Lam.) DC (*A. satureioides*), membro da familia das Asteraceae, é unha planta autóctona de América do Sur (Brasil, Arxentina, Chile e Colombia), que se chama comunmente “marcela” e que se está a estudar debido ás súas propiedades antiinflamatorias, antioxidantes, antipiréticas, antimicrobianas e antivirais. Tamén hai evidencias da súa actividade neuroprotectora, que está asociada á presenza de compostos antioxidantes e anti-inflamatorios na súa composición. Estudos previos demostraron que o extracto acuoso inhibe a activación da vía NF-κB e reduce a expresión de citocinas proinflamatorias, o que suxire que a actividade antiinflamatoria pode ser un dos mecanismos subxacentes á súa actividade neuroprotectora. Hai evidencias de que os seus extractos son capaces de modular a plasticidade sináptica e a neurotransmisión en modelos murinos de enfermidade de Alzheimer (EA) e no modelo de hipoxia de isquemia vascular cerebral. [1]

O uso popular da formulación de extracto acuoso é 1 g de inflorescencia vexetal por 100 ml de auga (1% p/v). Esta concentración considérase segura para o uso humano, segundo as directrices fitoterapéuticas dos países de orixe da planta. Este método de infusión foi capaz de extraer o 22% da quercetina (Q), o 23% da luteolina (L), o 54% da 3-O-metilquercetina (3OMQ) e o 30% da aquiróbichalcona (ACB) presentes nas inflorescencias. [2]

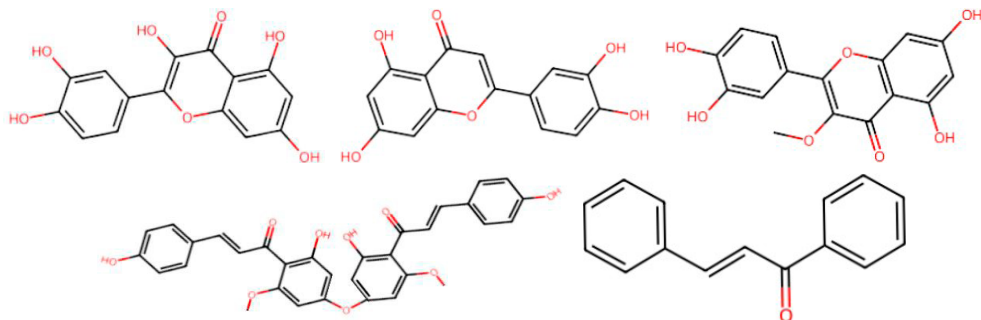


Figura 1. Quercetina (Q), luteolina (L), 3-O-metilquercetina (3OMQ), aquiróbichalcona (ACB) e chalcona (Ch).

O obxectivo deste estudo é a avaliación *in silico* das propiedades fisicoquímicas/farmacocinéticas, a capacidade de atravesar a barreira hematoencefálica (BH), e a toxicidade da ACB, Ch, Q, L e 3OMQ, en comparación cunha pequena representación doutros fármacos activos sobre o sistema nervioso central (SNC).

As propiedades fisicoquímicas/farmacocinéticas determináronse mediante os programas en liña Molinspiration (<https://www.molinspiration.com/>), SwissADME (<http://www.>

swissadme.ch) e RDkit (<http://www.rdkit.org>). A predición do cruzamento da barreira hematoencefálica (BH) foi avaliada co programa en liña BBB Predictor (<https://www.cbligand.org/bbb/>). A potencial toxicidade oral (LD50) foi obtida a partir da base de datos en liña ProTox-II, dispoñible en https://tox-new.charite.de/protox_II/ Nesta base de datos defínense as clases de toxicidade segundo o sistema globalmente harmonizado de clasificación de etiquetaxe de produtos químicos.

Segundo Lipinski (2004) para que unha molécula se absorba ben por vía oral e atravesese as membranas biolóxicas debe cumprir as seguintes regras: a) Ter un coeficiente de reparto octanol/auga (LogP) inferior ou igual a 5; b) Ter un peso molecular (PM) inferior a ou igual a 500 Da; c) Non ter máis de 5 doadores de enlaces de hidróxeno (nO); d) Non superar os 10 aceptores de enlaces de hidróxeno (nOHNH); e) O número de enlaces de rotación (nrotb) debe ser inferior a 10 (Táboa 1). De forma xeral, Lipinski establece que as moléculas non poden vulnerar máis de dúas das regras establecidas para que se consideren un potencial bo fármaco.[3]

	miLog	MW	nON	nOHNH	nrotb
Quercetina	1,8±0,1	302,2±0	7±0	5±0	1±0
Luteolina	2,03±0,1	286,2±0	6±0	4±0	1±0
3OMQ	2,08±0,1	316,26±0	7±0	4±0	2±0
ACB	5,33±0,9	554,54±0	9±0	4±0	10±0
Chalcona	3,30±0,4	208,26±0	1±0	0±0	3±0
Levodopa	-0,5±0,9	197,19±0	4,66±0,3	4,33±0,3	3±0
Amantadina	2,24±0,2	151,25±0	1±0	1,33±0,3	0±0
Galantamina	2,01±0,3	287,35±0	4±0	1±0	1±0
Apomorfina	2,76±0,1	267,32±0	3±0	2±0	0±0
Ácido valproico	2,35±0,2	144,21±0	1,66±0,3	1±0	5±0

Táboa 1. Valores obtidos no software Molinspiration, SwissADME e RDkit (media±esm). **miLogP** - logaritmo do coeficiente de partición octanol/auga, **nO** - aceptores de enlaces de hidróxeno. **nOHNH** - Número de doadores de enlaces de hidróxeno. **Nrotb** - número de enlaces rotativos e **MW** - peso molecular .

As moléculas avaliadas, a semellanza dos fármacos de referencia empregados, e coa excep-

		Quercetina	Luteolina	3OMQ	ACB	Chalcone	Levodopa	Amantadina	Galantamina	Apomorfina	Ácido Valproico
AdaBoost	MACCS	-0.997	-0.997	-2.638	0.539	9.301	-2.057	9.287	7.509	2.326	6.111
	Openbabel(FP2)	-10.071	-5.815	-6.107	4.839	16.763	-1.15	17.106	10.177	4.772	14.109
	MolprintModelo2D	-0.147	-0.147	-1.803	-0.612	7.81	-173.76	8.469	11.736	1.996	-173.76
	PubChem	-1.582	0.953	-6.094	-10.628	0.389	-0.112	13.74	14.128	7.093	7.911
SVM	MACCS	0.003	0.003	-0.05	0.002	0.124	-0.032	0.049	0.154	0.071	0.089
	Openbabel(FP2)	0.022	0.029	0.063	0.022	0.14	-0.084	0.164	0.091	0.063	0.243
	MolprintModelo2D	0.086	0.157	0.04	0.346	0.69	0.681	0.288	0.649	0.288	0.681
	PubChem	0.005	0.038	-0.029	-0.218	0.389	-0.112	0.203	0.346	0.222	0.503

Táboa 2. Resultados en Cbligand coa aplicación de dous algoritmos, SVM e AdaBoost, e catro tipos

de impresión dixitais: MACCS, Openbabel (FP2), Molprint 2D e PubChem. Os valores positivos superiores a 0,02 indican que poden superar a BH (cor verde).

No programa ProTox-II, os compostos Ch, ABC, L e 3OMQ presentaron unha DL50 máis alta en comparación cos fármacos de referencia empregados, encadrándose dentro da denominada Clase V, con valores $2000 < DL50 < 5000$, o que pode predicir que son menos nocivos cando se toman por vía oral. Polo contrario, a Q atópase na mesma clase que a gran maioría dos fármacos de referencia avaliados, Clase III: tóxico se é inxerido ($50 < DL50 \leq 300$).

Agradecementos

Universidade de Santiago de Compostela (USC); Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). Este traballo foi financiado parcialmente polo CNPq.

Referencias:

- [1] Bianchi SE, et al. Fitoterapia. 2023 Jul;168:105537. doi: 10.1016/j.fitote.2023.105537. Epub 2023 May 22. PMID: 37225023.
- [2] Bastos CIM, et al. Phytother Res. 2023 Aug 15. doi: 10.1002/ptr.7976. Epub ahead of print. PMID: 37583121.
- [3] Lipinski CA. Drug Discov Today Technol. 2004 Dec;1(4):337-41. doi: 10.1016/j.ddtec.2004.11.007. PMID: 24981612.

ANÁLISE DE GHB EN MOSTRAS DE PELO: UTILIDADE EN CASOS DE SUBMISIÓN QUÍMICA

Miriam Blanco Ces,¹ Ana de Castro Ríos,¹ Ángela López Rabuñal,¹ Angelines Cruz Landeira,¹ Manuel López-Rivadulla Lamas,¹ Elena Lendoiro Belío¹

¹Instituto de Ciencias Forenses Luis Concheiro, Universidade de Santiago de Compostela, España

miriamblanco.ces@usc.gal

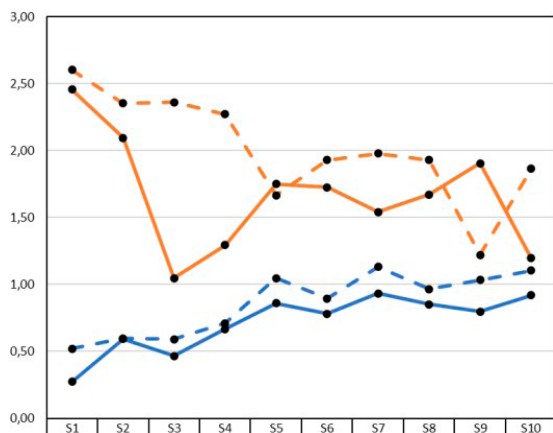
A submisión química (SQ), termo procedente do francés “soumission chimique”, pode definirse como a administración de substancias psicoactivas, as cales modificarán a vontade, conciencia e/ou comportamento daquel que as consuma, cuxo emprego ten fins delituosos ou criminais. O incremento da concienciación á hora de denunciar e a maior formación dos profesionais implicados supuxo nos últimos anos un incremento das denuncias dos casos de SQ. O GHB, unha das substancias máis empregadas, ten unha xanela de detección moi curta en matrices biolóxicas convencionais como o sangue e os ouriños, o que orixinou que matrices non convencionais como o pelo cobrasen grande importancia. Neste traballo desenvolveuse e validouse un método analítico para a detección e cuantificación de GHB en mostras de pelo mediante UPLC-MS/MS co obxectivo de aplicalo na análise de casos de SQ [1]. A preparación da mostra iníciase co proceso de descontaminación para a eliminación da posible contaminación externa. O pelo lávase con diclorometano durante 5 minutos, dúas veces. Posteriormente realízase o proceso de pulverización: 10 mg de pelo pésanse nun tubo Precellys® que se introduce nun muíño de homoxeneización Precellys® para proceder coa pulverización (6500-3x60-046). Ao pelo pulverizado engádenselle 1 mL de agua Mili-Q e 50 µL de patrón interno (GHB-d6). A continuación axítase en vórtex e incúbase nun baño de ultrasóns durante 30 minutos. Despois centrifúgase en *minispin* durante 15 minutos a 14.500 rpm para así recoller o sobrenadante, que se evapora con N₂ a 37 °C, para logo reconstituír o residuo en 50 µL dunha mestura de acetonitrilo e metanol (3:1, v:v). Tras axitar en vórtex e centrifugar de novo en *minispin* (5 minutos a 14.500 rpm), transvásase o sobrenadante a viais de plástico para a inxección de 5 µL de mostra no equipo de UPLC-MS/MS. A separación cromatográfica realízase empregando unha columna CORTECS® UPLC® HILIC 1,6 µm 2,1x100 mm e un gradiente con acetonitrilo e acetato amónico 10 mM (pH 6,0), nun tempo total de 10 minutos. Para a detección do analito emprégase un espectrómetro de masas triplo cuadrípolo (XEVO TQ-XS) en modo ESI-. Monitorízanse dúas transicións MRM (*Multiple reaction monitoring*) para o GHB (103,0>85,0 e 103,0>57,0) e unha para o patrón interno deuterado (109,0>61,1).

O método foi validado, seguindo os criterios establecidos nas Guías de Validación empregadas en toxicoloxía forense (neste caso empregouse a guía *Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology*), con resultados satisfactorios para todos os parámetros estudados: linearidade (0,5-50 ng/mg), exactitude (95,0-103,2%), imprecisión (<10,2%), límite de detección (0,1 ng/mg) e de cuantificación (0,5 ng/mg), selectividade esóxena (sen interferencias), efecto matriz (<-44,2%), rendemento da extracción (>86,4%), eficacia total (>46,1%) e estabilidade 72 h no inxector a 6 °C (<4,3%) [2].

Como o GHB é un composto endógeno é necesario coñecer os niveis “fisiolóxicos” en pelo para poder determinar a exposición esóxena a este composto en casos de SQ. Por isto, leváronse a cabo dous tipos de análises. A primeira consistiu en analizar mostras de pelo de dez individuos diferentes, todos eles non consumidores de drogas de abuso, para detectar niveis

endóxenos de GHB. Neste caso obtívose un rango de concentración de 1,13 a 3,91 ng/mg. No segundo caso, estudouse a evolución temporal do GHB endógeno ó longo de toda a lonxitude do guecho de cabelo mediante unha análise segmental. A análise realizouse en mostras de cabelo procedentes de dous casos reais que chegaron ao Laboratorio de Toxicoloxía Forense no 2020 para a detección do consumo de drogas de abuso e que tiñan unha lonxitude e cantidade de pelo suficientes. Para realizar a análise segmental aliñouse e estirouse o guecho de pelo e con axuda dunha regra realizáronse cortes de 3 mm. De cada segmento tomáronse 10 mg que foron descontaminados e tratados como xa se explicou previamente. Por outra parte, tomáronse outros 10 mg de cada segmento que foron pulverizados directamente, sen a descontaminación previa.

Na gráfica que se mostra a continuación pódese observar a distribución temporal dos niveis de GHB obtidos para cada caso e a influencia de realizar o proceso de descontaminación previa (liña continua) ou a súa ausencia (liña descontinua).



No caso 39 (laranxa), pódese ver como os dous primeiros segmentos son os que presentan unha maior concentración de GHB, sendo algo máis elevada no caso do pelo non descontaminado (liña descontinua), especialmente nos segmentos 3 e 4. Isto probablemente se deba á incorporación pola sudación e as secrecións sebáceas. Tamén pódese ver como a concentración vai decrecendo ao longo do guecho polo efecto de *wash out*. No relativo ao caso 111 (azul) pódese ver, por unha parte, que a diferenza entre as concentracións no cabelo lavado e non lavado non é significativa, e que, ademais, a concentración de GHB aumenta lixeiramente co tempo. Pódense establecer algunhas hipóteses que expliquen isto, como que previamente á toma da mostra o suxeito realizara un lavado exhaustivo do cabelo ou ben que meses atrás fora consumidor de GHB e que nos últimos meses este cesara.

Agradecementos

A todo o equipo do Grupo Fortox.

Referencias:

- [1] Cruz-Landeira A, Quintela-Jorge O, López-Rivadulla M. Sumisión química: epidemiología y claves para su diagnóstico. *Med Clin (Barc)*. 2008; 131 (20): 783-789.
- [2] American Academy of Forensic Sciences (AAFS) [Internet]. Estados Unidos: AAFS Standards Board; 2019. Standard Practices for Method Validation in Forensic Toxicology [consultado 20 dec 2022]. Disponible en: https://www.aafs.org/sites/default/files/media/documents/036_Std_e1.pdf

IMPLANTES INTRAVÍTREOS LIQUIDOCRISTALINOS PARA A LIBERACIÓN CONTROLADA DE BEVACIZUMAB

Guillermo Blanco Fernández,¹ Bárbara Blanco Fernández,² Francisco Fraga López,³ Asteria María Luzardo Álvarez,¹ Bruno Dacuña Mariño,⁴ Anxo Fernández Ferreiro,⁵ Francisco Javier Otero Espinar^{1,6}

¹Departamento de Farmacología, Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela.

² Institute for Bioengineering of Catalonia (IBEC), The Barcelona Institute of Science and Technology, Barcelona.

³Departamento de Física Aplicada, Facultade de Ciencias, Lugo, Universidade de Santiago de Compostela

⁴Servizo de Difracción de Raios X, Rede de Infraestruturas de Apoio á Investigación e ó Desenvolvemento Tecnolóxico, Universidade de Santiago de Compostela.

⁵Departamento de Farmacia, Complexo Hospitalario Universitario de Santiago de Compostela (SERGAS), Santiago de Compostela

⁶ Instituto de Materiais iMATUS, Universidade de Santiago de Compostela

guillermo.blanco.fernandez@rai.usc.gal

A retinopatía diabética proliferativa e a dexeneración macular neovascular asociada á idade son dúas enfermidades causadas por un descontrol na produción do factor de crecemento endotelial vascular (VEGF). O tratamento actual baséase na administración dun anticorpo monoclonal contra este factor, o que consegue atrasar o avance destas dúas enfermidades (1). O obxectivo deste traballo foi o desenvolvemento de implantes a base de monooleína, conformando un sistema liquidocristalino biocompatible que permita a liberación controlada de bevacizumab (anticorpo anti-VEGF). Os implantes preparáronse mesturando unha fase oleosa a base de monooleína e unha fase acuosa a base de auga e poloxámero 407 para F1 e auga, poloxámero 407 e Tween 80 para F2. A continuación, procedeuse a unha caracterización físicoquímica. A xiringabilidade determinouse cunha máquina universal de materiais Shimadzu AGS-X (célula de carga de 1 kN, xiringas de 5 mL, agullas de 27G), para determinar a forza necesaria para facer pasar a formulación a través da agulla. As estruturas liquidocristalinas avaliáronse por microscopia polarizada (POM) (Nikon Optiphot-Pol), microscopia confocal (microscopio óptico Leica DMI8), DSC (calorimetría diferencial de varrido; DSC TA), e raios X (difractómetro PANalytical Empyrean, tubo de raios X de fonte selada con ánodo de Cu ($\lambda(\text{K}\alpha_1)=1,5406\text{\AA}$)). A homoxeneidade do anticorpo na matriz lipídica estudouse por Raman (WITec CONFOCAL RAMAN MICROSCOPE). Posteriormente avaliáronse as súas propiedades de liberación mediante un ensaio de liberación en tampón fosfato salino e posterior cuantificación por UPLC (Waters; columna Bioresolve; 280nm). Finalmente sometéronse a ensaios de toxicidade celular mediante XTT e a toxicidade *in ovo* mediante HET-CAM.

Os implantes obtidos foron de tipo hexagonal, homoxéneos e administrables a través de xiringa con agulla. Mostraron unha liberación prolongada e biocompatibilidade.

Agradecementos:

Ministerio de Ciencia e Innovación (RTI2018-099597-B-100, PID2022-142350OB-C21)

Referencias:

- [1] Hujanen P, Ruha H, Lehtonen E, Pirinen I, Huhtala H, Vaajanen A, et al. Ten-year real-world outcomes of antivasculard endothelial growth factor therapy in neovascular age-related macular degeneration using pro re nata regimen. *BMJ Open Ophthalmol.* 2023 Aug 16;8(1).

A REACCIÓN DE BIGINELLI COMO NOVA ABORDAXE DA ENFERMIDADE DE ALZHEIMER

Lucía Campos Prieto^{1,2}, Rubén Prieto-Díaz^{1,2}, Ana Mallo-Abreu^{1,2}, Jhonny Azuaje^{1,2}, Rita M. Paleo^{1,2}, Xerardo García-Mera¹, José Brea³, M. Isabel Loza³, Eddy Sotelo^{1,2*}

¹Departamento de Química Orgánica. Universidade de Santiago de Compostela, España

²Centro de Investigación en Química Biolóxica e Materiais Moleculares (CiQUIS). Universidade de Santiago de Compostela, España

³Centro de Investigación en Medicina Molecular e Enfermedades Crónicas (CiMUS). Universidade de Santiago de Compostela, España

lucia.campos.prieto0@usc.gal

Desde o seu temperán achado e clonación, o receptor A_1 de adenosina (A_1AR) considerouse como unha diana atractiva para a intervención terapéutica. Está altamente expresado no sistema nervioso central (SNC) e participa no desenvolvemento de varios trastornos neurolóxicos e neurodexenerativos. Probas recentes demostran que o bloqueo do A_1AR reduce a toxicidade amiloide, a agregación de tau e mellora a cognición na enfermidade de Alzheimer [1]. No marco dun programa para desenvolver antagonistas do receptor A_1 para o tratamento de enfermidades do SNC, documentamos o achado dunha nova familia de ligandos potentes e selectivos derivados do *scaffold* alquil 1,4-dihidrobenczo[4,5]imidazo[1,2-a]pirimidina-3-carboxilato.

Utilizouse un enfoque computacional-experimental para redecorar este *scaffold* (presente no ligando A2BAR ISAM-140), particularmente nas posicións 3 e 4, para substituír os elementos farmacofóricos responsables da afinidade A2BAR. Unha exploración detallada de diversas estruturas heterocíclicas na posición 4 e a substitución con alquilo, cicloalquilo e bencilo, dentro do grupo éster permitiu descifrar os determinantes estruturais da unión óptima co $A1AR$ [3]. A síntese da biblioteca mediante a combinación de grupos óptimos, utilizando un enfoque eficiente e respectuoso co medio ambiente baseado en Biginelli, deu lugar a unha biblioteca focalizada de máis de 100 derivados tricíclicos, algúns dos cales presentan unha afinidade excelente ($K_i = 0,9$ -25 nM) e tamén unha gran selectividade no subtipo $A1$ (Figura 1).

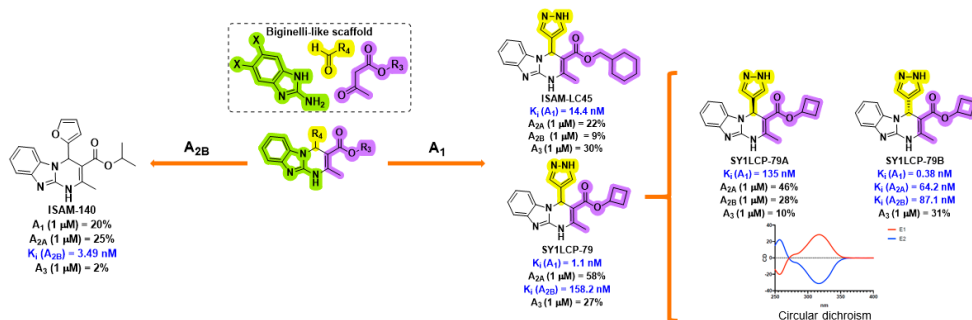


Figura 1. Decoración estrutural do *scaffold* tricíclico para obter antagonistas selectivos $A1$ ou $A2_B$.

Agradecementos:

A todo o grupo de investigación ComBioMed, especialmente ao meu titor Eddy Sotelo.

Referencias:

- [1] Trinh PN, Baltos J-A, Hellyer SD, May LT, Gregory KJ. Purinergic Signalling. **2022**;18(3):359–81
- [2] Mallo-Abreu A, Prieto-Díaz R, Jespers W, Azuaje J, et al. J. Med. Chem., **2020**, 63 (14), 7721-7739.
- [3] Prieto-Díaz R, González-Gómez M, Fojo-Carballo H, Azuaje J, et al. J. Med. Chem. **2022**;66(1):890–912.

USO DE FERRAMENTAS DE INTELIXENCIA ARTIFICIAL PARA A PREDICIÓN DE RESULTADOS DE IMPRESIÓN POR INXECCIÓN DE TINTA

Paola Carou-Senra¹, Jun Jie Ong², Brais Muñiz Castro³, Iria Seoane-Viaño²,
Lucía Rodríguez-Pombo¹, Pedro Cabalar⁴, Carmen Alvarez-Lorenzo¹,
Abdul W. Basit², Gilberto Pérez³, Alvaro Goyanes^{1,2}

¹Departamento de Farmacoloxía, Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, I+D Farma (GI-1645), Facultade de Farmacia,
Universidade de Santiago de Compostela, 15782, España

²Department of Pharmaceutics, UCL School of Pharmacy, University College London, 29-39 Brunswick Square, London WC1N 1AX, UK

³IRLab, Centro de Investigación en Tecnoloxías da Información e as Comunicacions (CITIC), Universidade da Coruña, España

⁴IRLab, Departamento de Ciencias da Computación. Universidade da Coruña, España

paola.carou@rai.usc.gal

1. Introducción

A impresión por inxección de tinta é unha tecnoloxía de fabricación baseada na inxección de material, na que se depositan gotas de tinta sobre un substrato. A accesibilidade, o control preciso da deposición de gotas e a versatilidade da impresión por inxección de tinta apoiaron a expansión continuada da investigación nas súas aplicacións farmacéuticas, o que resultou nunha gran cantidade de datos dispoñibles publicamente sobre parámetros e resultados de impresión. Debido á infinidade de variables, o desenvolvemento da formulación de tinta adoita ser un proceso empírico que leva tempo, material e custos. Polo tanto, unha ferramenta predictiva para determinar mellor a imprimibilidade das tintas optimizaría o proceso.

O presente estudo ten como obxectivo desenvolver e avaliar o rendemento dos modelos de aprendizaxe automática (*machine learning*) para predecir a imprimibilidade da impresión por inxección de tinta e a dose total do medicamento na forma de dosificación impresa final. Este estudo avaliará a dependencia multifactorial dos resultados da impresión con inxección de tinta e como se pode usar ML para analizar as diferenzas de matices e proporcionar predicións máis fiables en comparación coa orientación convencional sobre a capacidade de inxección baseada nos valores Z e Oh [1].

2. Materiais e métodos

2.1 Recollida de datos

Google Scholar, PubMed e Web of Science utilizáronse para extraer artigos publicados en inglés entre maio de 2000 e febreiro de 2022. Rexistrouse a composición dos excipientes e do fármaco en cada formulación (proporción do peso de cada compoñente ao peso total).

2.2 Variables obxectivo

Establecéronse como variables obxectivo a imprimibilidade da formulación, a calidade da impresión (produción de gotas satélite) e a dose total do medicamento na impresión final.

2.3 Técnicas de aprendizaxe automática (MLT)

Utilizáronse tres MLT: redes neuronais artificiais (ANN), máquinas vectoriais de apoio (SVM) e bosques aleatorios (RF).

3. Resultados

De 687 formulacións, 636 foron imprimibles (o 92,6% de todas as formulacións), das cales 30 produciron gotas satélite (4,72% das formulacións imprimibles) (Figura 1A). Este conxunto de datos nesgado positivamente demostra a tendencia dos investigadores a publicar só resultados positivos. Os modelos de ML optimizados predixeron a imprimibilidade das formulacións cunha precisión do 97,22 % e predixeron a calidade das impresións cunha precisión do 97,14 %. A guía actual indica que só se poden imprimir tintas con valores $Z < 10$. Seguir esta orientación produce unha taxa de falsos positivos do 77,42%, unha taxa de falsos negativos do 28,16% e unha precisión do 64,39%, baseándose no mesmo conxunto de datos utilizado para adestrar e probar o modelo ML para predicir a imprimibilidade (excluindo 224 formulacións sen que se coñeza) (Figura 1B).

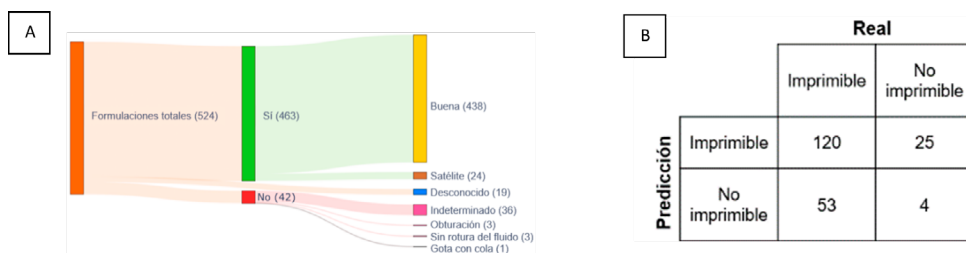


Figura 1. A) Diagrama de Sankey que mostra a distribución da imprimibilidade. B) Comparación de resultados reais/preditivos baseada na orientación convencional (valor Z).

4. Conclusión

Os modelos de ML desenvolvéronse con éxito para predicir os resultados de impresión da inxección de tinta e a carga de drogas dos obxectos impresos. A pesar do conxunto de datos desequilibrado, o modelo ML optimizado para predicir a imprimibilidade funcionou mellor que a orientación convencional baseada nos valores Z. Publicándose máis datos negativos poderá implantarse unha ferramenta fiable para optimizar o proceso.

Agradecementos:

L.R.P. recoñece a bolsa predoutoral proporcionada polo Ministerio de Universidades (FPU 2020). I.S.V. recoñece á Consellería de Cultura, Educación e Universidade pola bolsa de posdoutoramento (Xunta de Galicia, España; ED481B-2021-019).

Referencias:

- [1] Carou-Senra, P., et al., *Predicting pharmaceutical inkjet printing outcomes using machine learning*. 2023. 5: p. 100181.

CARACTERIZACIÓN PRECLÍNICA MEDIANTE OCT DUN MODELO PATOLÓXICO DE UVEÍTE

Andrea Cuartero-Martínez,¹ Xurxo García-Otero,^{2,3} Jessica Fraga-Codesido,³ Pablo Aguiar,³ Francisco J. Otero-Espinar,² Marcos Ortega-Hortas⁴, Anxo Fernández-Ferreiro¹

¹Grupo de Farmacología. Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), 15706 Santiago de Compostela, España

²Departamento de Farmacia, Farmacología e Tecnoloxía Farmacéutica, Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela (USC), 15705 Santiago de Compostela, España

³Biomarcadores de Imaxe Molecular e Departamento de Medicina Nuclear, Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), 15706 Santiago de Compostela, España

⁴Grupo VARPA, INIBIC, Centro de investigación CITIC, Universidade da Coruña, Campus de Elviña, s/n, 15071 A Coruña, España

andrea.cuartero@rai.usc.gal

Introdución: A enfermidade da uveíte engloba un grupo de patoloxías con diferentes etioloxías que provocan inflamación nas diferentes estruturas do globo ocular [1]. Actualmente, os métodos diagnósticos desta patoloxía inclúen aqueles que nos permiten ver a integridade da cámara anterior e da cámara posterior [2]. Segundo os expertos, a tendencia no diagnóstico é cara a métodos menos invasivos que aporten información completa sobre esta patoloxía [3]. Un destes métodos non invasivos é o uso da tomografía de coherencia óptica (OCT), un instrumento de imaxe que permite a obtención de imaxes *in vivo* do tecido con resolución micrométrica [4] [5]. O obxectivo do presente traballo é caracterizar un modelo animal de uveíte mediante o uso de OCT, para que nos permita facer posteriores seguimentos da efectividade de potenciais tratamentos.

Material e métodos: O modelo experimental de uveíte xerouse administrando lipopolisacárido de *Escherichia coli* (LPS) por vía intravítrea en ratas Sprawe Dawley. Para a caracterización por imaxe, empregouse un sistema OCT do segmento anterior de dominio espectral (AC-OCT) (Spectralis® OCT) para a adquisición das imaxes da cámara anterior, antes e 24 horas despois da indución (Figura 1). Os signos achados foron avaliados por un experto en tres imaxes de cinco rexións para cada animal (centro corneal, medio superior, superior, medio inferior e inferior) e comparáronse coas imaxes da cámara anterior de animais control sans.

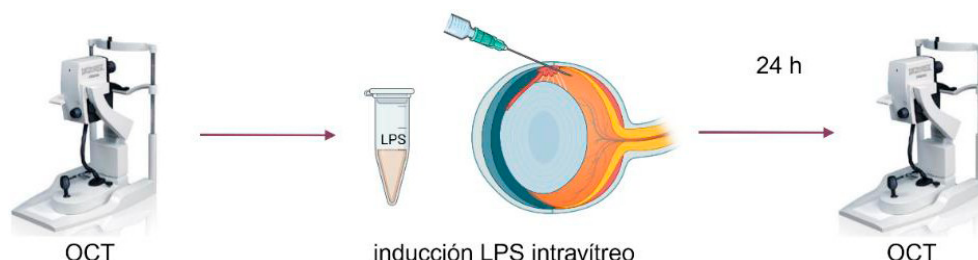


Figura 1. Resumo do estudo de imaxe con tomografía de coherencia óptica.

Resultados: Spectralis® OCT proporcionou información sobre a inflamación subxacente na cámara anterior no modelo animal de uveíte. Atopáronse signos de infiltrado celular, membranas pupilares e inflamación do iris nos animais inducidos con LPS (Figura 2). A

análise cualitativa dos animais inducidos por LPS mostrou un aumento da hiperreflectancia da cámara anterior correspondente ao aumento das células presentes despois da indución da enfermidade. AC-OCT proporcionou imaxes útiles para atopar cambios estruturais na cámara anterior asociados á uveíte no modelo animal de uveíte inducido.

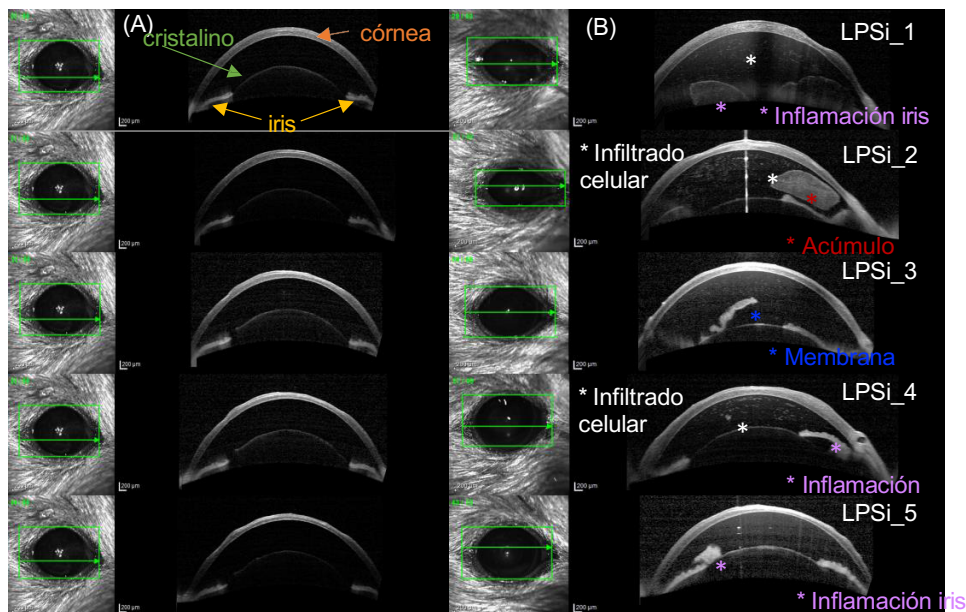


Figura 2. Imaxes *in vivo* da cámara anterior do ollo da rata. (A) Sección media inferior da cámara anterior dunha rata control onde non se observa ningún achado de inflamación relevante. (B) Sección central da cámara anterior de ratas inducidas con LPS intravítreo 24 horas despois da indución onde se observa inflamación do iris, acúmulos celulares, membranas pupilares.

Conclusiones: A OCT preclínica é unha ferramenta non invasiva, útil para a avaliación do segmento anterior en modelos experimentais de uveíte. Os nosos descubrimentos mostran signos de inflamación no AC-OCT nun modelo animal de EIU que pode servir para facer un seguimento da efectividade no desenvolvemento de novos tratamentos.

Referencias:

- [1] Standardization of Uveitis Nomenclature for Reporting Clinical Data. Results of the First International Workshop. *Am J Ophthalmol.* setembro de 2005;140(3):509-16.
- [2] Wang L, Guo Z, Zheng Y, Li Q, Yuan X, Hua X. Analysis of the clinical diagnosis and treatment of uveitis. *Ann Pal-liat Med.* decembro de 2021;10(12):12782-8
- [3] Invernizzi A, Cozzi M, Staurenghi G. Optical coherence tomography and optical coherence tomography angi-ography in uveitis: A review. *Clin Experiment Ophthalmol.* abril de 2019;47(3):357-71
- [4] Bouma BE, de Boer JF, Huang D, Jang IK, Yonetsu T, Leggett CL, et al. Optical coherence tomography. *Nat Rev Methods Primers.* 2022;2:79
- [5] Chen J, Qian H, Horai R, Chan CC, Caspi RR. Mouse Models of Experimental Autoimmune Uveitis: Comparative Analysis of Adjuvant-Induced vs Spontaneous Models of Uveitis. *Curr Mol Med.* 2015;15(6):550-7

NANOPARTÍCULAS DE CANNABIDIOL (CBD) PARA O TRATAMENTO DA PSORÍASE

Vinicius de Monte Vidal,^{1,2} Izahiuwa Iredia,^{1,3} Victoria Diaz Tomé,^{1,2}

Francisco J. Otero Espinar^{1,2}

¹Departamento de Farmacología, Farmacia e Tecnología Farmacéutica. Facultade de Farmacia

²Instituto de Materiais da Universidade de Santiago de Compostela (iMATUS)

³Department of Life Sciences (Pharmacy and Pharmacology). University of Bath

vinicius.demonte@rai.usc.gal

Introdución

A psoríase é unha enfermidade crónica autoinmune de carácter inflamatorio e hereditario que afecta aproximadamente un 2,3% da poboación española. As súas manifestacións son principalmente cutáneas e articulares. Caracterízase principalmente por lesións cutáneas escamosas que presentan proído e que poden formar placas psoriáticas. A psoríase está directamente relacionada con certas patoloxías mentais, que agravan a súa patoxenicidade. Por exemplo, o estrés crónico provoca altos niveis de citocinas proinflamatorias directamente relacionadas coa psoríase [1]. Na actualidade o tratamento habitual da psoríase baséase no uso de retinois e o calcipotriol. En moitos casos estes combínanse con corticoides como poden ser a betametasona e/ou dexametasona. En tratamentos de longa duración estes fármacos poden presentar efectos adversos como a diminución do grosor da epiderme e a xerose, así como certos efectos sistémicos. Dada a carga física e emocional desta patoloxía, están a investigarse novas liñas de tratamento como é o uso de cannabidiol (CBD). Hai estudos que evidencian as propiedades antiinflamatorias do CBD, o que conduce a un tratamento promecedor para esta enfermidade. Giacomo et al. (2021) [2], revelaron que un extracto de cánapo que contiña CBD, ácido cannabidiólico e rutina, protexía os fibroblastos e queratinocitos da citotoxicidade e a apoptose inducida polo estrés oxidativo. Con todo, CBD é unha molécula altamente lipófila, polo que tende a acumularse no estrato córneo sen permear a outras capas. Co obxectivo de resolver este problema, propónse no traballo actual, a elaboración de sistemas lipídicos nanoestruturados (SLN) que conteñan CBD. Estes sistemas presentan grandes vantaxes como son a mellora da estabilidade dos fármacos e a mellora na penetración a través de membranas biolóxicas.

Métodos

Extracción de cannabinoides

A extracción dos cannabinoides realizouse a partir da droga pulverizada (sumidade florida do cánapo) usando como disolvente hexano. Para iso tomouse unha parte da droga e deixouse en contacto con hexano polo menos 1 h. Posteriormente filtrouse e volveuse tratar a droga ata o esgotamento con hexano limpo. Xúntanse todos os extractos hexánicos e sécanse no rotavapor. O extracto seco obtido disólvese en acetónitrilo:auga (1:1) e posteriormente sepáranse a través de cromatografía de columna.

Elaboración das SLN

As SLN elaboráronse mediante o método de evaporación de solvente. Elaborouse unha emulsión cunha fase lipídica composta de mestura de lípidos sólidos e líquidos os cales se disolveron en diclorometano (DCM). Posteriormente incorporouse como fase acuosa unha disolución de Tween 80 ao 1% (p/v) e procedeuse a homoxeneizar mediante axitación magnética. A emulsión obtida someteuse a homoxeneización por ultrasóns durante 5 min. (Bandelin Sonoplus® HD3200, Germany) coa finalidade de diminuír o tamaño dos glóbulos. Posteriormente as formulacións mantivéronse en axitación magnética suave ata a evaporación completa do DCM.

Caracterización estrutural por dispersión de luz dinámica (DLS)

Mediante DLS (ZEN3600, Malvern Instruments Ltd., UK) determináronse os parámetros de tamaño, índice de polidispersividade (PDI) e potencial ζ .

Caracterización estrutural por microscopia electrónica de transmisión (TEM)

As SLN analizáronse mediante un microscopio de transmisión (JEOL®. Peabody, MA, USA)

Eficacia de encapsulación (EE)

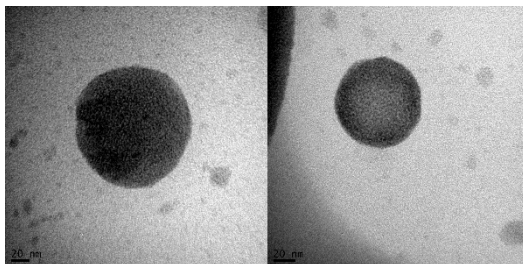
A eficacia de encapsulación foi determinada de maneira indirecta. 5mL da suspensión de SLN centrifugáronse en tubos Amicon (Merk) a 5000 rpm durante 30 min. O subnadante foi analizado mediante UPLC Waters HClass Plus (Waters, Francia).

Resultados e discusión

Caracterización estrutural por DLS e TEM

Formulación	Tamaño (nm)		PDI		Potencial ζ (mV)	
	MEDIA	SD	MEDIA	SD	MEDIA	SD
F1	325.59	35.49	0.452	0.06	-36.711	7.5
F2	244.54	5.93	0.321	0.04	-40.267	1.72
F3	239.356	19.6	0.36	0.03	-37.789	1.8

Os resultados demostraron que non existen diferenzas significativas ($\alpha > 0.05$) entre as formulacións en canto ao potencial ζ . Doutra banda, as formulacións F2 e F3 mostraron unha gran diferenza significativa respecto a F1 en canto a tamaño e PDI. Entre as formulacións F2 e F3 non existen diferenzas significativas respecto aos últimos dous parámetros citados. A imaxe TEM, doutra banda, móstranos que existe concordancia entre as imaxes e os tamaños obtidos por DLS.



Eficacia de encapsulación

Os resultados de EE son os seguintes:

<i>Formulación</i>	<i>Eficacia de encapsulación (%)</i>	
	<i>MEDIA</i>	<i>SD</i>
<i>F1</i>	<i>89.3</i>	<i>0.2</i>
<i>F2</i>	<i>89.6</i>	<i>0.07</i>
<i>F3</i>	<i>73.13</i>	<i>0.15</i>

Non existe unha concordancia aparente entre a composición e a eficacia de encapsulación.

Referencias:

- [1] Ferreira, B.I.R.C., Abreu, J.L.P.D.C., Reis, J.P.G.D. and Figueiredo, A.M.D.C. (2016). Psoriasis and Associated Psychiatric Disorders. The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology, [online] 9(6), pp.36–43. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4928455/>.
- [2] Viviana di Giacomo, Recinella, L., Chiavaroli, A., Orlando, G., Cataldi, A., Rapino, M., Valentina Di Valerio, Politi, M., Marco Daniel Antolini, Acquaviva, A., Bacchin, F., Massimo Di Mascio, Leone, S., Brunetti, L., Menghini, L., Carradori, S., Gökhan Zengin, Güneş Ak and Ferrante, C. (2021). Metabolomic Profile and Antioxidant/Anti-Inflammatory Effects of Industrial Hemp Water Extract in Fibroblasts, Keratinocytes and Isolated Mouse Skin Specimens. Antioxidants, [online] 10(1), pp.44–44. doi:<https://doi.org/10.3390/antiox10010044>.

BUSCA DE BIOMARCADORES PREDITIVOS DE RESPONSA AO TRATAMENTO EN MOSTRAS DE COLON DE PACIENTES CON COLITE ULCEROSA

Mariña Durán Rubi¹, Antón Leandro Martínez Rodríguez^{1,2}, José Manuel Brea Floriani^{1,2},
María Isabel Loza García^{1,2}

¹Centro Singular de Investigación en Medicina Molecular e Enfermedades Crónicas (CiMUS), Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Galicia, España

²Departamento de Farmacoloxía, Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, Galicia, España

marina.duran@rai.usc.gal

A colite ulcerosa, a forma máis recorrente da enfermidade inflamatoria intestinal, caracterízase por inflamación continua do colon. Actualmente, a patoloxía é crónica, e non se coñece a remisión completa con fármacos (1,2). Para o control dos seus síntomas existen varios tipos de tratamentos; non obstante, a variabilidade na eficacia destes fármacos nos pacientes é moi alta, con taxas de remisión que apenas superan o 40%, polo que a taxa de fracaso do tratamento é relativamente alta (3,4).

A heteroxeneidade na resposta ao tratamento débese á etioloxía multifactorial da colite ulcerosa, que implica a activación principalmente de catro vías inflamatorias (TNF α , α 4 β 7 integrina, IL12- 23 e JAK) cuxa activación e implicación na enfermidade difiren entre os pacientes (5). Por iso, a pesar de que actualmente se conta con fármacos dirixidos a dianas que participan nestas vías, non existen criterios que permitan seleccionar para que pacientes sería máis beneficioso un tratamento ou outro, polo que se segue un método de proba e erro, baseado na experiencia clínica, que provoca unha perda de tempo na cal se produce un agravamento da enfermidade e efectos adversos que poderían evitarse (6).

O obxectivo último desta investigación é a estratificación dos pacientes por un perfil de activación (pegada biolóxica) da vía JAK/STAT. Deste xeito, poderíase prever, en función desta marca, que pacientes se verían máis beneficiados cos inhibidores JAK, abrindo camiño á implantación da medicina personalizada nesta patoloxía. Para logralo, o noso traballo é por a punto un método para caracterizar a activación da vía JAK/STAT nos pacientes con colite ulcerosa, empregando a técnica Western Blot, a partir do cal se poida analizar o patrón de activación de quinases da vía JAK/STAT e comparalo na rexión inflamada e non inflamada do colon de cada paciente, xa que é o estudo deste patrón o que se presenta como unha posible vía de estratificación de pacientes.

Aínda que todos os pacientes estudados mostran un aumento significativo da media da activación das proteínas a estudo (polo menos, dunha das quinases da vía JAK/STAT) na rexión inflamada en comparación coa non inflamada, o patrón e a intensidade da fosforilación difiren entre uns pacientes e outros. Esta información está relacionada co coñecemento de que as diversas vías inflamatorias non contribúen coa mesma potencia, nin da mesma maneira, en todos os pacientes (1). Suxírese que esta heteroxeneidade podería ser a responsable da alta variación na resposta aos tratamentos anti-JAK nos diferentes subgrupos de pacientes (7). Debido á observación de que a activación da vía difire entre os pacientes, fórmulase a posibilidade de que as citoquinas que estimulan a vía JAK/STAT sexan moi relevantes na etioloxía da

enfermidade nun amplo subconxunto de pacientes, mentres que outras citoquinas, ou outros factores que non implican a activación desta vía, poden ser máis importantes para outros subgrupos. Estes resultados abren a porta á estratificación diferencial dos pacientes de colite ulcerosa en base ao cadoiro JAK/STAT e supoñen un avance cara á medicina personalizada desta enfermidade.

Referencias:

- [1] Vanhove W, Nys K, Vermeire S. Therapeutic innovations in inflammatory bowel diseases. *Clinical pharmacology and therapeutics*. **2016**; 99(1):49-58.
- [2] Kumar V, Abbas A, Aster J. *Robbins y Cotran Patología estructural y funcional*. 9ª edición. Barcelona: Elsevier; **2015**.
- [3] Segal JP, LeBlanc J, Hart AL. Ulcerative colitis: an update. *Clinical Medicine*. **2021**; 21(2):135- 9.
- [4] Lee SH, Kwon JE, Cho M. Immunological pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Intestinal Research*. **2018**; 16(1):26-42.
- [5] Du L, Ha C. Epidemiology and Pathogenesis of Ulcerative Colitis. *Gastroenterology Clinics of North America*. **2020**; 49(4):643-54.
- [6] Torres-Carpio DA, Lanas-Mendoza ES, Rueda-Barragán FE, Vélez Páez PA, Torres Cabezas PR, Jara González FE, et al. Importancia de la ruta de señalización JAK/STAT en la sepsis. *Acta Médica Peruana*. **2022**; 39(2):151-65.
- [7] Soendergaard C, Bergenheim FH, Bjerrum JT, Nielsen OH. Targeting JAK-STAT signal transduction in IBD. *Pharmacology & Therapeutics*. **2018**; 192:100-11.

DESCIFRANDO O IMPACTO DE LNCRNA ALTERADOS NO ENVELLECIMENTO NA TECNOLOXÍA DA PLURIPOTENCIA INDUCIDA

Celia Fernandez,¹ Tiago Moreira,¹ David Martínez,¹ Miguel Fidalgo¹

¹Centro de Investigación en Medicina Molecular e Enfermedades Crónicas (CiMUS)

celia.fernandez.ria@rai.usc.gal

Un dos avances máis fascinantes das últimas décadas é a posibilidade de manipular os programas de diferenciación celular para xerar calquera tipo de célula desexada. Isto representa unha promesa importante para a medicina rexenerativa. Probablemente, o descubrimento máis relevante que destaca a plasticidade das células somáticas adultas foi feito polo grupo do Dr. Shinya Yamanaka, cando proporcionou a proba do concepto de que é posible reproducir células diferenciadas en células nai pluripotentes inducidas (iPSC, polas súas siglas en inglés) que son moi semellantes ás células nai embrionarias [1,2] (o que lle valeu o Premio Nobel de Fisioloxía ou Medicina en 2012).

Só coa sobreexpresión de catro factores de transcrición (OCT4, KLF4, SOX2 e cMYC; a partir de agora OSKM), pode recuperarse a pluripotencia xunto co potencial de autorrenovación ilimitada en cultivo e a capacidade de diferenciación en todos os tipos celulares do organismo adulto. A conversión de células diferenciadas en iPSC a través da expresión de OSKM tamén é amplamente recoñecida como unha ferramenta poderosa na investigación e no cribado de fármacos.

A pesar dos avances significativos na reprogramación de células somáticas, os mecanismos moleculares subxacentes á xeración de iPSC aínda son pouco coñecidos, o que limita o seu potencial terapéutico. A reprogramación mediante os factores OSKM para obter iPSC mostrou ser ineficiente, especialmente con células de doadores de idade avanzada, que representan unha poboación con alta demanda na medicina rexenerativa. Por tanto, o noso estudo tivo como principal obxectivo investigar o impacto dos ARN longos non codificantes (lncRNA, polas súas siglas en inglés) na xeración de iPSC, que se ven alterados co envellecemento celular.

No noso estudo identificamos 323 lncRNA cos seus niveis de expresión significativamente alterados en fibroblastos procedentes de ratos de idade avanzada en comparación con aqueles procedentes de ratos novos. Entre estes lncRNA, descubrimos que a perda do lncRNA H19 especificamente interfere na transición mesenquimal-a-epitelial (MET) durante a xeración de iPSC. Ademais, os nosos achados amosan o papel esencial de H19 na reprogramación directa de fibroblastos novos en neuronas maduras inducidas. A nivel molecular, identificamos o lncRNA H19 como un regulador clave no axuste fino da activación de xenes epiteliais durante a MET.

Estes resultados destacan a H19 como un regulador novo e crucial na reprogramación de células somáticas, con posibles implicacións no envellecemento celular. O enfoque no lncRNA H19 podería levar ao desenvolvemento de novas estratexias farmacolóxicas para aumentar a eficiencia na xeración de iPSC, especialmente no contexto do envellecemento.

Agradecementos:

Á Axencia Estatal de Investigación (AEI) polos fondos que permiten ao laboratorio de M.F. levar a cabo a súa investigación (PID2019-105739GB-I00/AEI/10.13039/501100011033 e EQC2019-006657-P/AEI/FEDER). T.M dispón dun contrato predoutoral financiado pola Fundação para a Ciência e Tecnologia de Portugal (2021.07526.B).

Referencias:

- [1] Takahashi, K., Yamanaka, S., Cell, **2006**, 126, 663-676.
- [2] Takahashi, K., Tanabe, K., Ohnuki, M., Narita, M., Ichisaka, T., Tomoda, K., Yamanaka S. Cell, **2007**, 131, 861-872.

AVALIACIÓN DE EXTRACTOS NATURAIS DE FLORA GALEGA COMO POTENCIAIS NUTRACÉUTICOS

Lorena G. Calvo,¹ Ana G. Abril,¹ Trinidad De Miguel¹

¹Universidade de Santiago de Compostela – Facultade de Farmacia – Departamento de Microbioloxía e Parasitoloxía – España

lorenagomez.calvo@usc.gal

O termo nutracéutico fai referencia a aqueles produtos obtidos a partir de alimentos con efectos beneficiosos para a saúde. Os alimentos funcionais de orixe vexetal gañaron atención nos últimos anos grazas aos seus beneficios para a saúde, sendo os seus polifenois un compoñente destacado. Os polifenois presentan diversas propiedades biolóxicas, incluíndo efectos antioxidantes e antiinflamatorios, polo que son valiosos para previr enfermidades crónicas como a arteriosclerose, a diabetes e o cancro. Así mesmo, tamén apoian a saúde intestinal actuando como prebióticos e como potenciais antimicrobianos, regulando a microbiota intestinal. O obxectivo deste proxecto é avaliar o potencial prebiótico e nutracéutico de diferentes extractos naturais ricos en polifenois obtidos de *Cytisus scoparius* e *Vitis vinifera*, dous referentes na flora endémica de Galicia.

Os extractos foron producidos e caracterizados por i-Grape Laboratory mediante extracción MSAT (*medium scale ambient temperature*) usando diferentes solventes como extractantes. Realizáronse ensaios de viabilidade dos compostos contra algúns dos principais contaminantes e patóxenos alimentarios, como *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* e *Salmonella enterica*. Así mesmo avaliou-se a capacidade prebiótica dos extractos e o posible efecto modulador destes sobre a microbiota intestinal. Co obxectivo de comprobar a estabilidade e o comportamento dos extractos ante as condicións gastrointestinais realizáronse simulacións de dixestións *in vitro* seguindo o protocolo INFOGEST.

Strain	<i>Cytisus scoparius</i>		<i>Vitis vinifera</i>
EL 50% (IC50/MIC)	PG 50% (IC50/MIC)		A100% (IC50/MIC)
<i>Escherichia coli</i>	2.09 / ≥ 10	18.12 / ≥ 20	11.11/ ≥ 20
<i>Staphylococcus aureus</i>	3.27 / ≥ 5	19.5 / ≥ 20	0.32/ ≤ 0.625
<i>Salmonella enterica</i>	1.2 / ≥ 10	1.48 / ≥ 10	4.98/ ≥ 20
<i>Listeria monocytogenes</i>	3 / ≥ 5	20 / ≥ 20	0.32/ ≤ 0.625

Táboa 1. Valores de IC50 (mínima concentración necesaria para a eliminación do 50% da poboación patóxena) e MIC (mínima concentración inhibitoria) obtidos mediante os estudos de viabilidade con resazurina. Valores expresados en % de extracto. Todos os ensaios foron realizados por triplicado.

A caracterización mediante cromatografía líquida-espectrometría de masas (LC-MS), permitiu identificar o perfil polifenólico de cada un dos extractos, así como o potencial de cada extractante, destacando o extracto procedente de *Vitis vinifera* como aquel cunha maior concentración de polifenois (21959mgGAE/L). Todos os extractos mostraron actividade antimicrobiana contra os patóxenos alimentarios testados, sendo o extracto de *Vitis vinifera* e o de *Cytisus scoparius* EL50%, aqueles cunha mellor actividade. En canto ó extracto PG50%, hipotetizouse que podería ter unha actividade antimicrobiana indirecta, mediante modula-

ción da microbiota probiótica. Avaliouse o seu potencial como prebiótico e o seu efecto na actividade antipatóxena dos probióticos.

Como se recolle na Figura 1, o extracto mostrou un potencial poder prebiótico promovendo o crecemento de *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus plantarum* e *Bifidobacterium longum*.

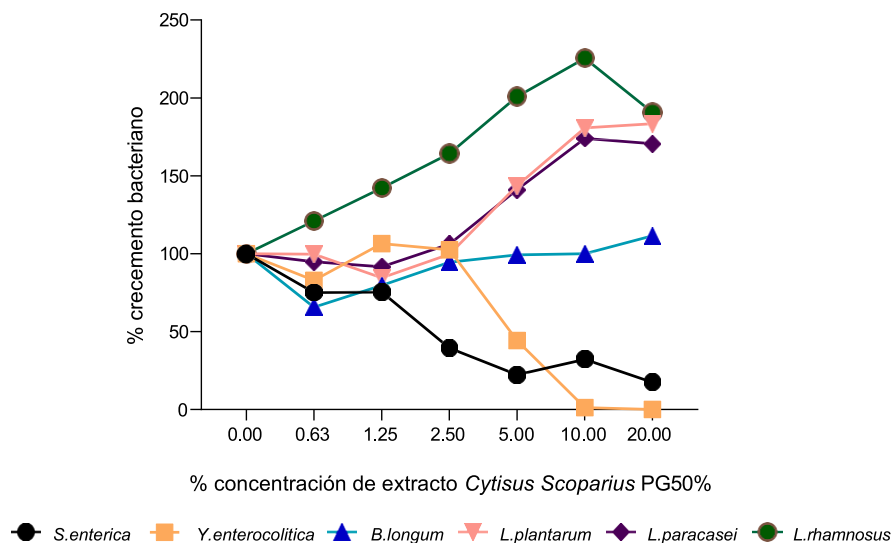


Figura 1. Efecto de diferentes concentracións do extracto PG50% no crecemento e viabilidade.

Finalmente os ensaios de % concentración de extracto *Cytisus scoparius* PG50% bioaccesibilidade *in vitro* realizados co extracto de *Vitis vinifera* demostraron que as condicións dixestivas teñen un importante papel na bioaccesibilidade dos polifenóis, influenciando as súas concentracións, perfís e bioactividades.

Conclúese que todos os ensaios realizados contribuíron á demostración da actividade moduladora dos extractos, tanto a nivel antimicrobiano como prebiótico. O seguimento das simulacións *in vitro* permitiu comprobar como se comportan os polifenóis durante o proceso dixestivo, así como o potencial mantemento das súas bioactividades.

Finalmente, planéase realizar estudos para dilucidar o papel nutracéutico dos extractos/polifenóis nas patoloxías metabólicas, así como determinar o seus mecanismos de interacción coa microbiota.

Agradecementos:

Esta investigación desenvolveuse dentro do marco do proxecto NeoGiANT financiado polo programa Horizon 2020 coa participación de i-Grape Laboratory e o grupo de microbioloxía e parasitoloxía - Grupo de Investigación en Biotecnoloxía (GI-1208).

Referencias:

- [1] Lores M, Pájaro M, Álvarez-Casas M, Domínguez J, García-Jares C. *Talanta*. **2015**, 140, 134- 142.
- [2] Rama JR, Mallo N, Biddau M, et al. *Environ Sci Pollut Res Int*. **2021**, 28, 24270-24278.

COASOCIACIÓN DE FÁRMACOS ANTI-TB EN NANOCÁPSULAS BASEADAS EN QUITOSANO

Ángela González-Baizán,^{1,*} Patricia Díaz-Rodríguez,² Carmen Remuñan-López^{1,3,*}

¹Grupo Nanobiofar, Departamento de Farmacología, Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, Campus Vida, 15782- Santiago de Compostela (España).

²R+D Pharma Group (GI-1645), Departamento de Farmacología, Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, Campus Vida, 15782-Santiago de Compostela (España).

³Instituto de Materiais (IMATUS), Universidade de Santiago de Compostela, Campus Vida, 15782-Santiago de Compostela, España.

*angela.gonzalez.baizan@rai.usc.gal; mdelcarmen.remunan@usc.gal

A tuberculose (TB) pulmonar é unha enfermidade causada pola bacteria *Mycobacterium tuberculosis*. Na actualidade, esta doenza atópase moi distribuída polo planeta, sen importar a situación sociosanitaria do país ou o rango de idade do doente, considerándose un problema de saúde pública. En España, a Rede de Vixilancia Epidemiolóxica (RENAVE) notificou no ano 2021 unha taxa de notificación (TN) de TB pulmonar de 5,36 por cada 100.000 habitantes, sendo Galicia a segunda comunidade mais afectada (TN=8.48-19.33) [1]. O tratamento convencional da patoloxía consiste na administración oral dunha combinación de varios antibióticos durante longos períodos de tempo, con numerosos efectos secundarios asociados, que provocan unha baixa adherencia ao tratamento por parte do doente e facilita a aparición de cepas resistentes da bacteria. A Organización Mundial da Saúde (OMS) estima que, na actualidade, un de cada tres contaxiados conta con algunha das cepas multirresistentes.

É por iso que o obxectivo desta investigación céntrase na procura de novas estratexias terapéuticas, por exemplo a formulación dos antibióticos anti-TB en nanosistemas biocompatibles que sexan administrados por vía pulmonar, co fin de eliminar os inconvenientes asociados ao tratamento actual. Desta maneira conseguiranse alcanzar concentracións terapéuticas nos macrófagos alveolares (MA), onde se atopa aloxado principalmente o bacilo da TB, ao mesmo tempo que permitirá unha redución da toxicidade e das doses necesarias e, por tanto, unha maior eficacia terapéutica.

Neste traballo propónse o emprego de nanocápsulas de quitosano (CS NC) e de ácido hialurónico/quitosano (HA/CS NC) que foron preparadas utilizando un método previamente desenvolvido no noso grupo de investigación, baseado no desprazamento do disolvente nun só paso [2]. As NC presentan un tamaño entre 158-185 nm, unha morfoloxía esférica e unha gran versatilidade que permite a asociación de principios activos de distinta natureza cunha elevada eficacia de carga. No presente traballo, empréganse a isoniazida (INH) e a rifabutina (RFB) como fármacos antiTB modelo, presentando unha eficacia de carga por separado e en conxunto de máis do 80 % (p/p). Ademais, fixéronse estudos *in vitro* de citotoxicidade e de captación dos nanosistemas por macrófagos alveolares Raw 264.7. Este estudo xustifícase pola importancia que comporta que estes fármacos alcancen os MA, por ser o lugar onde se aloxan os bacilos cando ocorre a infección por TB. Comprobase que os nanosistemas ofrecían unha baixa toxicidade, o que era esperable ao ser preparados utilizando compostos biocompatibles, ademais a súa captación ocorría nunha porcentaxe superior ao 80 %.

Agradecementos:

I+D+I Grant PID2019-107500RB-I00 (Plataformas biomórficas para a liberación pulmonar de nanomedicamentos – RETOS 2019), PID2021-127493OA-C22 (Herramientas biológicas para el control de la distribución sistémico e intracelular de nanopartículas lípido-poliméricas) e Xunta de Galicia (Grupos de Referencia Competitiva, ED431C 2021/17-FEDER).

Referencias:

- [1] Centro Nacional de Epidemiología. Instituto de Salud Carlos III, Informe epidemiológico sobre la situación de la tuberculosis en España, **2021**.
- [2] Fernández-Paz, E., Fernández-Paz, C., Barrios-Esteban, S., Santalices, I., Csaba, N., Remuñán-López, C., Powder Technology, **2022**, 399, 117149.

UNHA PLATAFORMA DE CONJUGACIÓN VERSÁTIL PARA O DESENVOLVEMENTO DE PROTAC E SONDAS MOLECULARES PARA A SÚA CARACTERIZACIÓN

Lucía González,^{1,2} Maria Majellaro,² Thomas Webb,³ Olliver Hsia,³ Alessio Ciulli,³

Eddy Sotelo¹

¹Centro Singular de Investigación en Química Biolóxica e Materiais Moleculares (CIQUS) Universidade de Santiago de Compostela, 15706 Santiago de Compostela, España,

²Celtarys Research, spin-off da Universidade de Santiago de Compostela, 15706, Santiago de Compostela, España

³Centre For Protein Degradation (CeTPD), University of Dundee, DD14HN Dundee, Scotland, United Kingdom

luciagonzalez.pico@usc.gal

Os PROTAC (*PRO*teolysis *T*argeting *C*himera) son moléculas heterobifuncionais capaces de secuestrar ligases E3 para degradar unha proteína específica de interese (PoI). Este mecanismo de acción único levou ao desenvolvemento dun gran número de PROTAC dirixidos a diferentes PoI, utilizando sempre un conxunto limitado de ligases E3. De feito, a maioría dos PROTAC desenvolvidos ata agora secuestran CRLCRBN e CRLVHL, utilizando derivados de talidomida e variantes de VH 032.^{1,2}

A expansión limitada da caixa de ferramentas das ligases E3 crea a necesidade de deseñar ferramentas farmacolóxicas dedicadas á busca de novos ligandos de ligases E3. Neste contexto, a experiencia de Celtarys Research no desenvolvemento de ferramentas fluorescentes utilizando unha tecnoloxía de conjugación propietaria eficiente e converxente é un encaixe perfecto para deseñar e sintetizar novas sondas fluorescentes para diferentes ligases.³

Neste proxecto ensinamos os datos obtidos durante unha proba de concepto usando a tecnoloxía de Celtarys para obter un total de 10 PROTAC, así como o proceso detrás do desenvolvemento e síntese de novas sondas fluorescentes VHL e CRBN, e por último os datos preliminares de afinidade de 8 ligandos fluorescentes de VHL.

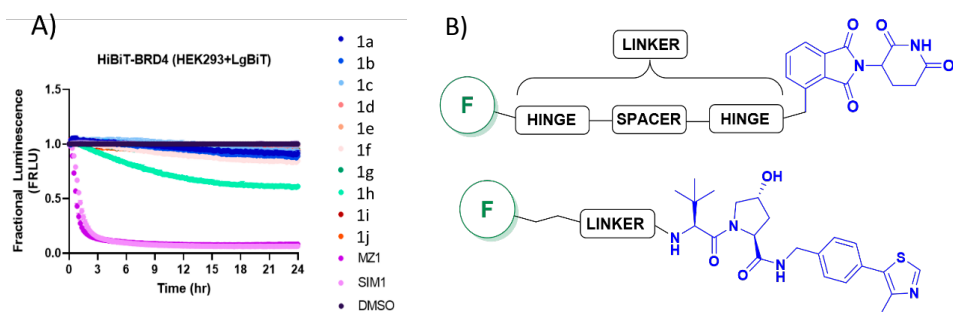


Figura 1. A) Actividade dos 10 PROTAC sintetizados comparando cos modelos MZ1 e SIM1. B) Estrutura xeral dos fluoróforos sintetizados.

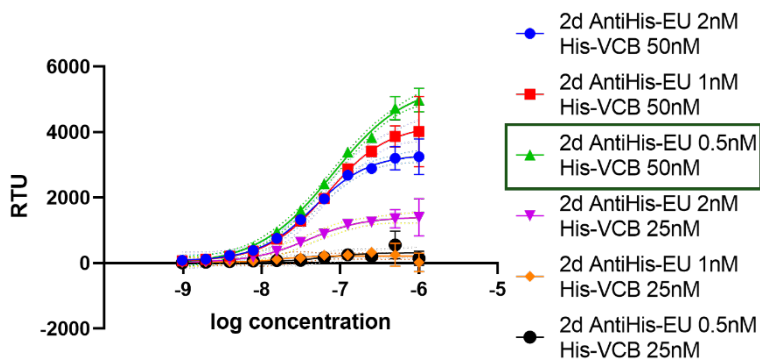


Figura 2. Curvas de optimización do fluoróforo válido para o seu uso en ensaios tipo TR-FRET.

Agradecementos:

A Celtarys Research e o seu equipo, especialmente á Dra. Maria Majellaro, ó grupo ComBioMed, especialmente ó prof. Eddy Sotelo e ó grupo do prof. Alessio Ciulli.

Referencias:

- [1] Shanique B. Alabi and Craig M. Crews. J. Biol. Chem. **2021**, 296, 100647
- [2] Michael Zengerle, Kwok-Ho Chan, and Alessio Ciulli ACS Chemical Biology **2015** 10 (8), 1770-1777.
- [3] T. Yao, H. Xiao, H. Wang, X. Xu. Int. J. Mol. Sci. **2022**, 23, 10328.

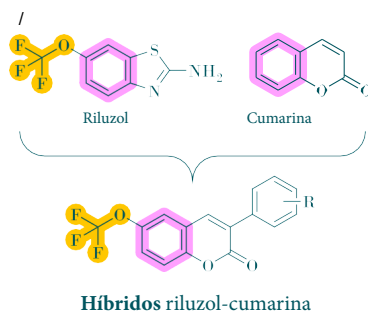
DESEÑO E SÍNTESE DE HÍBRIDOS RILUZOL-CUMARINA PARA A ESCLEROSE LATERAL AMIOTRÓFICA

Sela Gonzalez,¹ Dheyaa M. Dhahir,¹ Elena Cabaleiro,¹ Lourdes Santana,¹ Eugenio Uriarte,¹ Maria João Matos¹

¹ Departamento de Química Orgánica, Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España.

sela.gonzalez@rai.usc.gal

A esclerose lateral amiotrófica (ELA) é unha enfermidade neurodexenerativa, progresiva e fatal de etioloxía multifactorial. Esta enfermidade caracterízase pola dexeneración paulatina das neuronas motoras do sistema nervioso central (SNC), o que desemboca na perda gradual sobre o control dos movementos voluntarios dos músculos. Para o seu tratamento só está comercializado en España o riluzol (RLZ), fármaco neuroprotector que bloquea a neurotransmisión glutamatérxica do SNC. Porén, o RLZ presenta eficacia limitada, conseguindo estender a supervivencia dos pacientes en aproximadamente seis meses. Esta limitación pode relacionarse cos transportadores de fluxo de xenobióticos (P-gp e BCRP) dos que é substrato. Ademais atribúenselle efectos adversos como discinesia, trastornos gastrointestinais e cambios na función hepática.



Recentemente describíronse híbridos do RLZ que tratan de reducir estes inconvenientes, co fin de maximizar o seu potencial fronte a ELA [1]. Seguindo esta liña deseñamos e sintetizamos unha serie de híbridos inspirados na cumarina, un esqueleto coñecido na química medicinal polas súas propiedades neuroprotectoras, antioxidantes antiinflamatorias e iMAO. Así, obtivemos unha serie de híbridos con estrutura de cumarina cun substituínte trifluorometoxi na súa posición 6. A substitución da posición 3, baseándonos en previos resultados positivos obtidos polo grupo, deu lugar a unha serie de compostos que está a ser estudada na actualidade co fin de ampliar o coñecemento da relación estrutura-actividade fronte a dianas farmacolóxicas relacionadas coa ELA.

Agradecementos:

Os autores agradecen ao Ministerio de Ciencia e Innovación, Axencia Estatal de Investigación (PID2020-116076RJ-I00/AEI/10.13039/501100011033) polo financiamento.

References:

- [1] Bolognesi, M. L. *et al.*, *ACS Chem. Neurosci.*, **2022**, 13, 15, 2252–2260.

ESTUDO FITOQUÍMICO DE *ASPARAGUS SETACEUS* (KUNTH) JESSUP EMPREGADO NO TRATAMENTO DA DEMENCIA EN MANICA (MOZAMBIQUE)

Lucio Jasse, Elías Quezada, Dolores Viña, Reyes Laguna

Departamento de Farmacología, Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, USC

lucio.jose@rai.usc.gal

Asparagus setaceus (Kunth) Jessup da familia Asparagaceae (**Fig.1**), é unha planta nativa de África. A súa raíz é empregada tradicionalmente como diurético, no tratamento da disentería e diarrea, e como anticonceptivo para o home [1]. As raíces conteñen saponinas esteroides de tipo furostanol e espirostanol [2,3].

En Mozambique, a planta coñécese como cabelo branco ou *mivuzi* e utilízase para o tratamento de enfermidades neurolóxicas como a demencia. Recolectáronse mostras de raíces na provincia de Manica (coordenadas 18°57'24"S 32°52'24"E) que se secaron á sombra e se trituraron (25,44 g). A mostra extraeuse por maceración en metanol (2,58 g extracto metanólico, 10,14% rendemento). O extracto metanólico fraccionouse por cromatografía en minicolumna de fase reversa (C18) acadando 4 fraccións: As1, As2, As3 e As4. Nas fraccións As3 e As4 identificouse a presenza de diferentes alcaloides por cromatografía de capa fina empregando o reactivo de Dragendorf.

Realizaranse estudos farmacolóxicos das catro fraccións para relacionar a súa composición coa súa potencial actividade no tratamento da demencia.



Figura 1

Referencias:

- [1] a) Usman, A., Uzair, M., Wazir, M.A., Sial, A.S. Pak. J. Pharm. Res., **2018**, 4, 15. b) Kunth, J. *Bothalia* **1966**, 9, 51.
- [2] a) Döll, S., Djalali, R., Farahani-Kofoet, R., Zrenner, R. et al. *Hortic. Res.* **2021**, 8, 86. b) Jaiswal, Y., Liang, Z., Ho, A., Chen, H., Zhao, Z. *Phytochem. Anal.*, **2013**, 25, 514.
- [3] Sarah E. Edwards, Inês da Costa Rocha, Elizabeth M. Williamson and Michael Heinrich. An evidence-based guide to herbal medicinal products, First Edition. John Wiley & Sons. **2015**.

ACTIVIDADE ANTIBACTERIANA FRONTE A CEPAS CLÍNICAS DUN EXTRACTO DE BAGAZO DE UVA RICO EN POLIFENOIS

Tamara Manso^{1,3}, Marta Lores², Trinidad de Miguel³

¹ Complexo Hospitalario Arquitecto Marcide-Profesor Novoa Santos, Ferrol,

² Laboratorio de Investigación e Desenvolvemento de Solucións Analíticas. Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía. Facultade de Química. Universidade de Santiago de Compostela

³ Departamento de Microbioloxía e Parasitoloxía. Facultade de Farmacia. Universidade de Santiago de Compostela

tamara.manso@rai.usc.gal

A resistencia bacteriana é un problema a nivel mundial que supón unha ameaza para a saúde pública. A falta de novos antibióticos acrecenta o problema, facendo necesario o desenvolvemento de novas alternativas para tratar infeccións causadas por patóxenos resistentes. Compostos bioactivos das plantas como os polifenóis poderían converterse nunha solución a este problema grazas ás súas propiedades antimicrobianas.

Neste estudo determínase o potencial antimicrobiano dun extracto natural rico en polifenóis de uva branca galega fronte a cepas procedentes de mostras clínicas, presentando algúns destes illados relevantes resistencias antimicrobianas. As cepas clínicas proceden dos laboratorios de Microbioloxía do Hospital Público da Mariña (Burela, Lugo) e do Complexo Hospitalario Universitario de Ferrol (Ferrol, A Coruña).

Para coñecer a riqueza polifenólica do extracto realízase unha extracción polifenólica, que emprega un sistema de temperatura ambiente a media escala (MSAT), baseado nos principios da química verde, un proceso respectuoso co medio ambiente que utiliza condicións de procesamento suaves e disolventes recoñecidos como seguros (GRAS). Selecciónase unha mestura extractora isovolumétrica composta por lactato de etilo e auga. A estimación do contido en polifenóis do extracto realízase determinando o índice de polifenóis totais (IPT). Emprégase a cromatografía líquida con espectrometría de masas en tándem (LC-MS/MS) para a caracterización analítica detallada destas moléculas, o que permite obter o seu perfil polifenólico individualizado así como a súa composición cuantitativa.

Para coñecer a capacidade antimicrobiana do extracto calcúlase a concentración bactericida mínima (CBM) e a metade da concentración inhibitoria máxima (IC₅₀), empregando un rango de concentracións do extracto entre 0 e 20% (v/v). Os valores obtidos demostran que pequenas concentracións do extracto son capaces de inhibir o crecemento das bacterias analizadas, o que significa que o extracto de uva é eficaz fronte a elas. Estes resultados son moi prometedores debido a que suxiren que o extracto ensaiado, potencialmente e a falta de estudos *in vivo*, podería axudar a reducir o uso de antibióticos no tratamento de infeccións bacterianas, independentemente das resistencias antibióticas que presenten as cepas patóxenas.

Referencias:

- [1] Tamara Manso, Marta Lores, Trinidad de Miguel, “Antimicrobial activity of polyphenols and natural polyphenolic extracts on clinical isolates”, *Antibiotics*, Xaneiro 2022; 11(1), 46. doi: 10.3390/antibiotics11010046.
- [2] Tamara Manso, Marta Lores, José-Luis R. Rama, Rosa Antía Villarino, Lorena G Calvo, Aly Castillo, María Celeiro, Trinidad de Miguel, “Antibacterial Activity against Clinical Strains of a Natural Polyphenolic Extract from Albariño White Grape Marc”, *Pharmaceuticals*. Xullo 2023;16(7):950. doi: 10.3390/ph16070950.

FILMES ACTIVOS PARA APLICACIÓNS ALIMENTARIAS A BASE DE SUBPRODUTOS DA INDUSTRIA

Sandra Mariño-Cortegoso^{1,2}, Ana Isabel Bourbon³, Ana Rodríguez Bernaldo de Quirós^{1,2},
Raquel Sendón^{1,2}, Letricia Barbosa-Pereira^{1,2}

¹FoodChemPack, Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía, Facultade de Farmacia,
Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

²Instituto de Materiais (iMATUS), Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

³International Iberian Nanotechnology Laboratory, Av. Mestre José Veiga, 4715-330, Braga,
Portugal

sandra.marino.cortegoso@usc.gal

A industria alimentaria orixina gran cantidade de residuos, como poden ser todos os desperdicios resultado do procesamento da froita. Estes subprodutos son unha fonte de compostos activos como os polifenóis, coñecidos pola súa capacidade antioxidante e antimicrobiana [1]. Polo tanto, estes subprodutos pódense reintroducir na cadea alimentaria como ingredientes funcionais ou aditivos alimentarios, cos que desenvolver envases activos e comestibles [2]. Neste traballo estudouse a elaboración de filmes activos a base de pectina de cítricos e extractos ricos en compostos antioxidantes obtidos a partir de subprodutos de laranxa e limón.

Os compostos de tipo fenólico foron obtidos dos subprodutos de limón e laranxa mediante axitación, empregando etanol puro como solvente. A partir destes extractos elaboráronse nanoemulsións aceite/auga ao 5% e 10%, que foron depositadas en filmes de pectina ao 2% empregando a tecnoloxía de atomización ultrasónica. Ademais, incorporouse unha última cobertura de zeína ao 6,25% coa intención de incrementar as propiedades barreira.

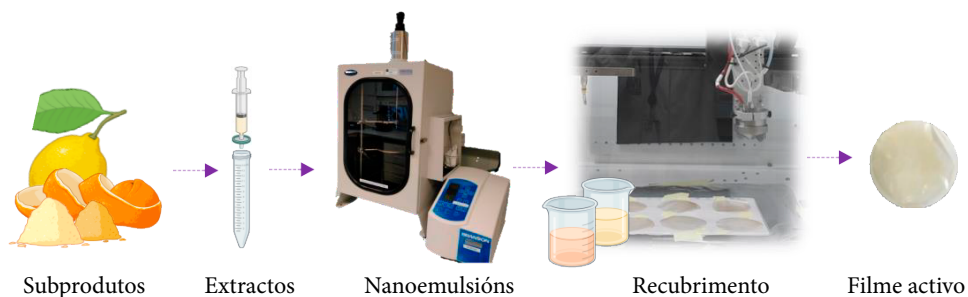


Figura 1. Proceso de obtención dos filmes activos.

Realizáronse ensaios de migración específica de acordo co Regulamento (UE) 10/2011 da Comisión para materiais e obxectos plásticos destinados a entrar en contacto con alimentos. Así, avalíouse a liberación dos compostos con capacidade antioxidante no simulante alimentario etanol ao 95% v/v, indicado para materiais que entren en contacto con alimentos cun alto contido graxo. Tamén se determinou a permeabilidade ao vapor de auga dos filmes, seguindo o método estandarizado para materiais ASTM-E0096-00, así como se empregou a microscopia electrónica de varrido (SEM) para observar a disposición das diferentes capas e materiais dos filmes. Por último, os compostos fenólicos maioritarios foron identificados e cuantificados por cromatografía líquida de alta resolución acoplada a unha matriz de díodos

e un espectrómetro de masas (HPLC- PDA-ESI-MS/MS). Así mesmo, determinouse a capacidade antioxidante co método de captación do radical libre DPPH e ABTS.

Os extractos de limón e laranxa demostraron alta capacidade antioxidante, cuns CE50 de 2,64 e 3,12 mg/mL no ensaio co radical DPPH, respectivamente. A eriocitrina foi o composto fenólico maioritario no extracto de limón, cunha concentración de 2,68 mg/mL. No extracto de laranxa o polifenol máis abundante foi a hesperidina, acadando 4,68 mg/mL. Os filmes a base de extracto de limón liberaron altas concentracións de eriocitrina, mentres que non se atoparon diferenzas significativas nas concentracións de hesperidina dos filmes de laranxa ao 5% e 10% de extracto. Todos os filmes recubertos coas nanoemulsións e a zeína presentaron unha maior resistencia á permeabilidade á auga en comparación cos controis, atinxindo a maior resistencia aqueles filmes que posuían a nanoemulsión de limón ao 10%.

Os resultados amosados promoven a valorización dos subprodutos da industria agroalimentaria como unha fonte natural de compostos antioxidantes cos que elaborar envases activos e comestibles que poidan incrementar o tempo de vida útil dos alimentos, potenciando novas perspectivas e oportunidades de mercado dentro do marco da sustentabilidade medioambiental e a economía circular.

Agradecementos:

Este estudo foi financiado polo proxecto ValICET do programa PRIMA (Partnership for research and innovation in the Mediterranean area, Section 2 Funded Projects 2020, Agri-Food Value Chain), financiado en España polo Ministerio de Ciencia e Innovación e a Axencia Estatal de Investigación, referencia PCI2021-121965 (MCIN/AEI/10.13039/501100011033 e pola Unión Europea “NextGenerationEU”/PRTR).

Referencias:

- [1] Campos, D.A *et al.*, *Molecules*, **2020**, 25(2), 320.
- [2] Szabo, K. *et al.*, *Coatings*, **2020**, 10(2), 141.

MELLORANDO A DESINFECCIÓN SOLAR DA AUGA DE BEBIDA FRONTE A *CRYPTOSPORIDIUM*: AVALIACIÓN DO MONOPERSULFATO E DISTINTOS MATERIAIS PLÁSTICOS

Sandra Martín-García,¹ Seila Couso-Pérez,^{1,2} Anabel Isabel Vidal-Varela,¹
Hipólito Gómez-Couso^{1,3}

¹Laboratorio de Parasitoxía, Departamento de Microbioloxía e Parasitoxía, Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, 15782, Santiago de Compostela, España.

²School of Engineering, BC Building, Ulster University, BT15 1AP, Belfast, Reino Unido.

³Instituto de Investigación en Análises Químicas e Biolóxicas (IAQBUS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782, Santiago de Compostela, España.

sandra.martin.garcia@rai.usc.gal

As enfermidades diarreicas de etiología infecciosa representan a principal causa de mortalidade infantil, ocasionando anualmente máis de medio millón de mortes en nenos menores de 5 anos [1]. Estas enfermidades son consecuencia do consumo de auga contaminada, da falta de saneamento e de medidas hixiénico-sanitarias inherentes á pobreza e falta de recursos de países en vías de desenvolvemento [2]. A desinfección solar da auga de bebida (SODIS) é un tratamento a nivel domiciliario que permite mellorar a calidade microbiolóxica da auga antes do seu consumo, sendo un método simple, barato e sostible que emprega a radiación solar, un recurso gratuíto e renovable, como axente desinfectante [3]. O método SODIS consiste en encher botellas de plástico transparente de tereftalato de polietileno (PET) de 1,5-2 L de capacidade e expoñelas ao sol durante 6 horas. Trátase dunha metodoloxía recomendada pola Organización Mundial da Saúde (OMS) en países en vías de desenvolvemento e tras desastres naturais ou en crises humanitarias [4]. Non obstante, presenta unha serie de limitacións que afectan directamente á efectividade do proceso de desinfección. Entre elas, destaca a influencia do material dos recipientes sobre a transmisión da radiación solar e a resistencia dalgúns microorganismos a este método. Un deles é *Cryptosporidium*, un enteroparasito de transmisión hídrica, elixido pola OMS como un protozoo de referencia na avaliación dos sistemas de tratamento da auga de bebida a nivel domiciliario, debido á súa alta resistencia ás condicións ambientais e aos tratamentos de auga convencionais [5-7].

No presente estudo avalíase a adición de monopersulfato (PMS), un oxidante compatíbel coa auga de bebida para o consumo humano, como mellora do método SODIS fronte a *Cryptosporidium* e a influencia no proceso de desinfección de distintos tipos de plásticos [PET, polipropileno (PP) e polimetilmetacrilato (PMMA)]. Para iso, frascos de cuarzo que contiñan 3 mL de auga bidestilada con distintas concentracións de PMS (0,1; 0,5; 2,5 e 5 mM) e/ou Fe²⁺ (1,8 µM) contamináronse con ooquistes de *Cryptosporidium parvum* e expuxéronse á radiación solar simulada (40 W/m², 290-390 nm) a unha temperatura de 40 °C. A tempos de exposición de 1, 2, 4 e 6 horas, avalíouse a supervivencia ooquistica cuantificando o ARNm do xene *hsp70* mediante unha técnica de RT-qPCR, previa indución a 42 °C durante 20 minutos e extracción del. Co fin de avaliar a influencia do material do recipiente, os mesmos frascos de cuarzo anteriormente citados, que contiñan 3 mL de auga bidestilada e concentracións de PMS de 0; 0,5 e 1 mM e/ou Fe²⁺ (1,8 µM), contamináronse con ooquistes de *C. parvum*, cubríronse cunha lámina de PET, PP ou PMMA e expuxéronse á radiación solar simulada nas mesmas condicións anteriormente descritas (40 W/m², 290-390 nm; temperatura da auga de 40 °C).

Os resultados obtidos mostraron unha forte diminución da viabilidade ooquistica de ≥ 4 reducións logarítmicas a concentracións de PMS de $\geq 0,5$ mM tras un tempo de exposición de 4 horas. En canto ao material do recipiente, o PMMA foi o material plástico que revelou unha maior eficiencia no método SODIS, seguido do PP e o PET. En conclusión, a adición de PMS mellora e acelera a inactivación de ooquistes de *C. parvum* mediante o método SODIS independentemente do material plástico do que estea feito o recipiente, ofrecendo unha alta protección fronte ás enfermidades protozoarias adquiridas polo consumo da auga.

Agradecementos:

Os autores agradecen o apoio financeiro do programa de Investigación e Innovación Horizonte 2020 da Unión Europea para o proxecto PANIWATER (acordo de subvención 820718), financiado conxuntamente pola Comisión Europea e o Departamento de Ciencia e Tecnoloxía da India.

Referencias:

- [1] Organización Mundial da Saúde (OMS), **2017**. Diarrhoeal disease. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/diarrhoeal-disease>.
- [2] Organización Mundial da Saúde (OMS), **2022**. Drinking-water. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/drinking-water>.
- [3] Rodríguez-Chueca, J., Giannakis, S., Marjanovic, M., Kohantorabi, M., Gholami, M.R., Grandjean, D., de Alencastro, L.F., Pulgarín, C., Appl. Catal. B Environ., **2019**, 248, 62– 72.
- [4] Organización Mundial da Saúde (OMS), **2013**. Emergency treatment of drinking water at point-of-use. WHO-Technical notes for emergencies No. 5, Ginebra.
- [5] Organización Mundial da Saúde (OMS), **2020**. International scheme to evaluate household water treatment technologies. Solar disinfection batch systems (with or without pre- filtration and/or disinfection addition) Version 3.0. Ginebra, 15 pp.
- [6] Organización Mundial da Saúde (OMS), **2021**. International scheme to evaluate household water treatment technologies. Harmonized testing protocol: technology non-specific. Version 4.0, Ginebra, 26 pp.
- [7] García-Gil, A., García-Muñoz, R.A., McGuigan, K.G., Marugán, J., Molecules, **2021**, 26, 3431.

DESENVOLVEMENTO DE FORMULACIÓNS NANOPARTICULADAS DE IL-4 PARA ADMINISTRACIÓN INTRAARTICULAR NO TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE

Rebeca Martínez-Borrajo¹, Celia Anton¹, Patricia Díaz-Rodríguez¹, Mariana Landin¹

¹I+D FARMA, Departamento de Farmacología, Farmacia e Tecnología Farmacéutica, I+D Farma (GI-1645),
Universidade de Santiago de Compostela, 15706, Santiago de Compostela, España

rebeca.martinez.borrajo@rai.usc.gal

Introdución. A osteoartrite é unha doenza musculoesquelética dexenerativa que afecta á totalidade do espesor da unidade osteocondral. Esta patoloxía cursa cunha destrución progresiva da cartilaxe debida, en gran medida, ao desequilibrio na homeostase do tecido asociada á instauración dunha inflamación crónica nas articulacións afectadas [1]. Este proceso inflamatorio está controlado principalmente por macrófagos sinoviais e, por iso, estas células poderían ser unha diana a tratar para previr a progresión da patoloxía [2]. A utilización de mediadores parácrinos como citocinas ou patróns de dano no tecido é capaz de modificar a resposta celular de numerosos tipos celulares, especialmente de macrófagos. Neste sentido, a interleucina 4 (IL-4) é unha citocina inmunomoduladora que se demostrou capaz de inducir unha resposta antiinflamatoria en macrófagos inflamatorios [3]. Con todo, esta proteína presenta unha baixa estabilidade en disolución e unha ausencia de vectorización ás células diana. Polo tanto, neste traballo búscase desenvolver nanopartículas capaces de encapsular a IL-4 e vectorizala a macrófagos.

Materiais e métodos. Elaboráronse nanopartículas híbridas mediante nanoprecipitación formadas por un núcleo polimérico Poli (D, L-láctico-co-glicólico (PLGA) e unha cuberta lipídica que contén lecitina e dous fosfolípidos pexilados. Empregouse 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-[metoxi(polietilenglicol)-2000] (DSPE-PEG2000), e 1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina-N-[amino(polietilenglicol)-2000] (DSPE-PEG2000-NH₂), este último para a funcionalización dos nanosistemas con manosa. Desta maneira, en *buffer* acetato, o amino terminal do lípido modificado reacciona co grupo aldehído da manosa, obtendo as nanopartículas funcionalizadas. Para obter as nanopartículas, 3 mg/ml de PLGA disolvéronse en acetona, e vertéronse gota a gota sobre unha disolución de etanol ao 4% que contiña 200 µg de lecitina, 477 µg de DSPE-PEG e 159 µg de DSPE-PEG-NH₂. Para obter as nanopartículas cargadas, engadiuse 1 ng de IL-4 na fase polimérica e inmediatamente verteuse na mestura de lípidos. Por outra banda, para a marcaxe das nanopartículas engadiuse 10 µg de DiIC18(5); 1,1'-DiIC18(5); 1,1'-dioctadecil-3,3',3'-tetrametilindodicarbocianina, sal de 4-clorobenzenosulfonato (DiD) na solución polimérica. As NP purificáronse mediante ultrafiltración a 10.000 rpm e 4 °C durante 10 minutos empregando Amicon 10KDa e a cantidade de IL-4 non encapsulada cuantificouse mediante ELISA (ThermoFisher Sci). As NP obtidas caracterizáronse en termos de tamaño, índice de polidispersión (PdI) e potencial Z (ZP) utilizando un Zetasizer Nano-ZS. Así mesmo, avaliouse a citocompatibilidade dos sistemas obtidos a diferentes concentracións en macrófagos e fibroblastos murinos. A capacidade de internalización dos sistemas por parte dos macrófagos foi avaliada empregando microscopia confocal.

Resultados. O tamaño das formulacións sen manosa foi de $124,23 \pm 1,20$ nm, e con manosa de $162,37 \pm 2,23$ nm. Por outra banda, o PDI das formulacións sen manosa foi de $0,23 \pm 0,01$, e con manosa de $0,23 \pm 0,03$, sendo igual para ambas as formulacións. Ademais, o ZP das formulacións foi lixeiramente superior na formulación sen manosa, cun valor de $-14,77 \pm 3,23$ mV, mentres que con manosa obtivéronse valores de $-19,30 \pm 2,23$ mV. As nanopartículas encapsularon IL-4 de maneira satisfactoria mantendo a actividade da proteína. Os sistemas mostraron unha elevada citocompatibilidade, tanto en macrófagos como en fibroblastos, véndose incluso incrementada a proliferación coa incorporación da IL-4. As imaxes de microscopia confocal confirman a maior internalización dos sistemas funcionalizados en macrófagos en comparación cos sistemas sen funcionalizar.

Conclusiones. Os resultados obtidos mostran que o desenvolvemento de formulacións funcionalizadas para a internalización en macrófagos e cargadas con IL-4 foron capaces de mostrar propiedades fisicoquímicas adecuadas e resultados de internalización prometedores. Futuros estudos centraranse na avaliación da resposta celular causada pola internalización das nanopartículas.

Agradecementos:

Bolsas FEIOMM investigación 2021 (2021-PO060), Consolidación 2020 GRC. Xunta de Galicia (EB 431C2020/17) e Herramientas biológicas para el control de la distribución sistémico e intracelular de nanopartículas lípido-poliméricas-Generación de conocimiento 2021-Proyectos de investigación orientada (PDI2021-1274930A-C22).

Referencias:

- [1] Díaz-Rodríguez P, Mariño C, Vázquez JA, et. al. *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl.* **2021.** 128:112-254.
- [2] Mao L, Wu W, Wang M, et al. *Drug Deliv.* **2021.** 28(1):1861-1876.
- [3] He, Y., Gao, Y., Zhang, Q., Zhou, G., Cao, F., & Yao, S. *Neuroscience.*, **2020.** 437, 161–171.

SÍNTESE E DESCUBRIMENTO DE NOVOS ANTAGONISTAS A₃ PARA O TRATAMENTO DO CANCRO VÍA REACCIÓN DE UGI

Darío Miranda-Pastoriza,^{1,2} Rodrigo Bernardez,^{1,2} Jhonny Azuaje,^{1,2} Rubén Prieto-Díaz,^{1,2} María Majellaro,^{1,2} Aitor García-Rey,^{1,2} Ana Mallo-Abreu,^{1,2} Claudia Gioé-Gallo,^{1,2} Alejandro González,³ José Brea,³ M. Isabel Loza,³ María Majellaro,⁴ Xerardo García-Mera,² Hugo Gutiérrez-de-Terán,⁵ Eddy Sotelo^{1,2,4*}

¹Centro de Investigación en Química Biológica e Materiais Moleculares (CIQUS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España

²Departamento de Química Orgánica, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

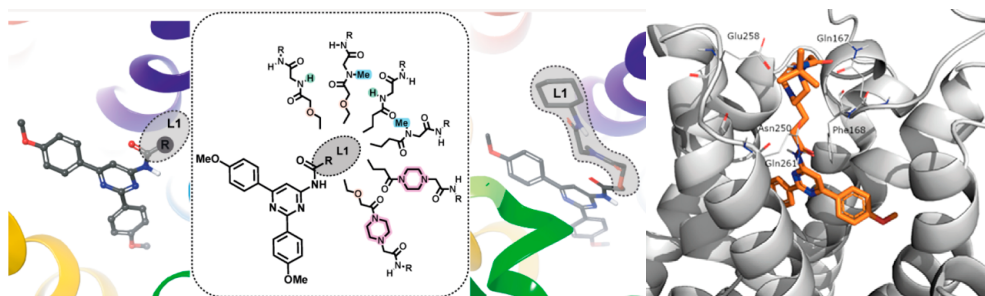
³Centro Singular de Investigación en Medicina Molecular e Enfermedades Crónicas (CIMUS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España

⁴Celtarys Research, Edificio Emprendia, Campus Vida, Santiago de Compostela, España

⁵Departamento de Biología Molecular e Celular, Universidade de Uppsala, Centro Biomédico, 75124 Uppsala, Suecia

dario.miranda.pastoriza@usc.gal

O receptor A₃ de adenosina (A₃AR) é o subtipo caracterizado máis recentemente,¹ mais non a nivel estrutural. Está implicado activamente en numerosas enfermidades cardiovasculares e neurolóxicas, ademais de estar sobreexpresado no microambiente tumoral de numerosas células cancerixenas (inducindo ou atenuando o proceso apoptótico). Debido á súa contraditoria sinalización e comportamento dual en varias condicións patolóxicas, só un reducido número de ligandos A₃AR alcanzaron os ensaios clínicos. Por iso, o descubrimento de moduladores A₃AR e ferramentas farmacolóxicas específicas son cruciais para describir mellor o seu papel fisiopatolóxico e validar o seu potencial terapéutico. Neste traballo amosamos a exploración de interaccións non ortostéricas na rexión L₁ (figura 1) cunha serie de antagonistas selectivos A₃AR derivados do núcleo 4-amido-2,6-diarilpirimidina.² O estudo inclúe o deseño, a síntese, a caracterización estrutural e a avaliación *in silico* de novidosas series sintetizadas mediante dúas reaccións multicomponente derivadas da reacción de Ugi. A biblioteca obtida permitiu identificar ligandos A₃AR moi potentes e selectivos con mellora da solubilidad acuosa.³ Tamén proporcionou unha imaxe completa do relevante papel e potencial das interaccións non ortostéricas na rexión L₁, achandando o camiño para o descubrimento e obtención de novos ligandos A₃AR de carácter covalente e bitópico.



Agradecementos:

Ao prof. Eddy Sotelo e a todos os integrantes do grupo **ComBioMed** pola axuda e apoio proporcionados ao longo deste proxecto. Aos investigadores colaboradores do grupo **Biofarma** e da **Universidade de Uppsala** pola implicación para completar este traballo. Á Xunta de Galicia por financiar esta investigación.

Referencias:

- [1] Zhou, Q. Y.; Chuanyu, L. I.; Olah, M. E.; Johnson, R. A.; Stiles, G. L.; Civelli, O. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **1992**, 89 (16), 7432-7436.
- [2] Yaziji, V.; Rodríguez, D.; Gutiérrez-De-Terán, H.; Coelho, A.; Caamaño, O.; García-Mera, X.; Brea, J.; Loza, M. I.; Cadavid, M. I.; Sotelo, E. *J. Med. Chem.* **2011**, 54 (2), 457-471.
- [3] Miranda-Pastoriza, D.; Bernárdez, R.; Azuaje, J.; Prieto-Díaz, R.; Majellaro, M.; Tamhankar, A. V.; Koenekoop, L.; González, A.; Gioé-Gallo, C.; Mallo-Abreu, A.; Brea, J.; Loza, M. I.; García-Rey, A.; García-Mera, X.; Gutiérrez-De-Terán, H.; Sotelo, E. *ACS Med. Chem. Lett.* **2022**, 13(2), 243–249.

AVALIACIÓN DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO E INHIBIDOR DE B-LACTAMASE DE EXTRACTOS DE *SCHINUS TEREBINTHIFOLIUS* FRONTE A CEPAS RESISTENTES A BETALACTÁMICOS

Fatima Mourabiti,^{1,2,3} Trinidad de Miguel,³ José Luis R. Rama,³ Yassine Zouheir,² Abdelaziz Soukri,¹ Bouchra El Khalfi¹

¹ Laboratory of Physiopathology, Molecular Genetics & Biotechnology, Faculty of Sciences Ain Chock, Research center of Health & Biotechnology, Hassan II University of Casablanca, 20100 Casablanca, (Morocco)

² Laboratory of molecular bacteriology, Pasteur Institute of Morocco, Casablanca, (Morocco)

³ Departamento de Microbioloxía e Parasitoloxía, Universidade de Santiago de Compostela, E-15782 Santiago de Compostela, (España)

fatimaamourabiti@gmail.com

Introdución: Nas bacterias, o método crucial de resistencia aos antibióticos β -lactámicos é a produción de β -lactamase, que actúa destruindo o enlace amida do seu anel β -lactámico. En xeral, as plantas medicinais son coñecidas polos seus metabolitos bioactivos como alcaloides, taninos, flavonoides, terpenoides, compostos fenólicos e saponinas que son inhibidores da β -lactamase.

Obxectivo: O obxectivo deste estudo foi determinar o efecto antibacteriano de dous extractos da planta *Schinus terebinthifolius* sobre cepas patóxenas gramnegativas e o efecto inhibidor de betalactamases.

Materiais e métodos: Neste estudo empregamos dous extractos etanólicos, un obtido por maceración e outro obtido con soxhlet, da planta *Schinus terebinthifolius*. Primeiro avaliamos o efecto antibacteriano dos dous extractos fronte a seis cepas de *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* e *Pseudomonas aeruginosa*, incluídas tres cepas ATCC e tres cepas clínicas. A seguir, determinamos o efecto da combinación dos extractos con cefotaxima mediante o método Checkerboard. Por último, examinamos o efecto inhibidor da actividade β -lactamase utilizando un método colorimétrico.

Resultados: Os resultados do presente traballo revelaron que ámbolos dous extractos presentaban actividade antibacteriana fronte ás seis cepas utilizadas, con valores de IC₅₀ de 0,07mg/ml contra *P. aeruginosa* ATCC e 0,49 contra *E. coli* clínica para o extracto obtido con soxhlet, e valores de 0,07 mg/ml contra *P. aeruginosa* ATCC e 0,38 contra *K. pneumoniae* para o extracto obtido por maceración. Con respecto á proba de sinerxía, observouse que a combinación de extracto de soxhlet e cefotaxima amosou un efecto sinérxico contra todas as cepas, agás *K. pneumoniae*, na que se observou un efecto aditivo. No que respecta á combinación de cefotaxima con extracto de maceración, observouse efecto sinérxico contra todas as cepas agás *E. coli* clínica, onde a combinación tivo un efecto aditivo. Por último, na proba colorimétrica de inhibición da β -lactamase, ámbolos dous extractos presentaron actividade inhibidora da β -lactamase. No entanto, o extracto obtido por maceración tivo un IC₅₀ menor (1,38mg/ml) que o extracto obtido con soxhlet (1,96mg/ml)

Conclusións: Os resultados do presente traballo revelaron que os extractos de *Schinus terebinthifolius* presentan unha actividade antibacteriana e inhibidora de β -lactamases moi in-

interesante. Precísanse máis estudos para avaliar a toxicidade dos extractos sobre células eucariotas co fin de recomendalos como enfoques alternativos que axudarían a reducir o problema das resistencias bacterianas.

Referencias:

- [1] Dawan, J. Ahn, J., *Korean. Journal. Of Plant. Resources*. Assessment of β -Lactamase Inhibitor Potential of Medicinal Plant Extracts against Antibiotic-resistant *Staphylococcus aureus*., **2020**, 6, 578-585.
- [2] Sohail, S., Rajiv, L., Praneeta, K., Tandon, G. D., *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*. Beta lactamase Inhibitors from Indigenous Herbs and Spices., **2014**, 2, 275-285.

**DESEÑO E SÍNTESE DE NOVAS
3-HETEROARILCUMARINAS COMO POTENCIAIS
AXENTES NEUROPROTECTORES**

Cynthia N. Pereira,^{1,2} Manuel Novas González,¹ Ana Fernández Pozo,¹ Víctor Gamas Bello,¹
Giulio Dettori,¹ Davide Crucitti,^{3,4} Maria João Matos¹

¹ Departamento de Química Orgánica, Faculdade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela

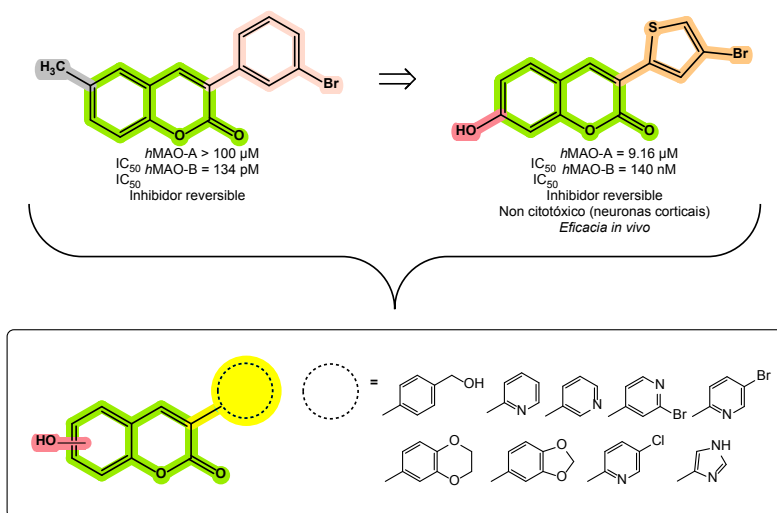
²Institute of Physics and Chemistry, Federal University of Itajubá, Itajubá, Brasil

^{3,4} Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela; Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela

manuel.novas.gonzalez@rai.usc.gal

As enfermidades neurodexenerativas como o alzhéimer e o párkinson son consideradas un dos retos máis importantes en medicina, principalmente pola súa complexidade e prevalencia.¹ Polo de agora, o tratamento destas enfermidades é só sintomático. Estudos anteriores do noso grupo centráronse na síntese de compostos híbridos cumarina-resveratrol con selectiva e potente actividade inhibitoria da monoaminoxidase B (MAO-B), sendo a maioría deles inhibidores reversibles deste enzima (Figura). A inclusión do grupo hidroxilo en diferentes posicións do esqueleto químico incrementa o seu potencial como antioxidante, unha actividade que tamén é importante neste tipo de patoloxías.^{2,3}

Baseándonos nos resultados previos, e co obxectivo de estudar novas relacións estrutura-actividade, así como mellorar algúns parámetros farmacocinéticos, deseñáronse e sintetizáronse novas moléculas con diferentes heterociclos na posición 3 da estrutura cumarínica. Esta comunicación ten como propósito informar das tendencias observadas no noso grupo para a inhibición da MAO, proporcionando información sobre a versatilidade sintética deste esqueleto químico. Ademais, incluírase a predición dos modos de unión destes potenciais inhibidores usando *docking* e dinámica molecular.



Agradecementos:

Os autores agradecen ao Ministerio de Ciencia e Innovación, Axencia Estatal de Investigación (PID2020-116076RJ-I00/AEI/10.13039/501100011033) polo financiamento.

Referencias:

- [1] Matos, M. J., Future Med. Chem., **2022**, 14(12), 847-850.
- [2] Mellado, M., Mella, J., González, C., Viña, D., Uriarte, E., Matos, M. J., Bioorg. Chem., **2020**, 101, 103964.
- [3] Enríquez, F. R., Viña, D., Uriarte, E., Fontenla, J. A., Matos, M. J., Bioorg. Chem., **2020**, 101, 103986.

RECRUTAMENTO DE TRANSDUTORES E TRÁFICO DE RECEPTORES DA VARIANTE XENÉTICA RARA DO RECEPTOR DE FRACTALQUINA CX₃CR1-A55T ASOCIADO Á ESQUIZOFRENIA

Alba Paz-Castro,^{1,2} Pablo Blázquez,^{1,2} Marián Castro^{1,2}

¹Grupo de investigación en Farmacología Molecular dos GPCR, Centro Singular de Investigación en Medicina Molecular e Enfermedades Crónicas (CIMUS), Universidade de Santiago de Compostela

²Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Spain

albapaz.castro@usc.gal

O CX₃CR1 é o único receptor humano para a quimiocina fractalquina (CX₃CL1), o cal xoga un papel crítico na inflamación, na inmunidade e na comunicación neurona-microglía¹. Unha variante xenética natural rara do CX₃CR1, o CX₃CR1-A55T, foi recentemente asociada á esquizofrenia². Esta mutación altera a fosforilación de Akt por parte da fractalquina nas células HEK293, o que suxire o posible papel do CX₃CR1 na fisiopatoloxía deste trastorno. A modelación estrutural indicou que o A55T, situado na hélice transmembrana I (TMI) do receptor, podería desestabilizar a conformación da hélice 8, afectando a interacción do receptor cunha proteína G. Con todo, a farmacoloxía desta rara variante de receptor en relación con outros transdutores e reguladores dos receptores ancorados á proteína G aínda se entende de xeito limitado, o mesmo que os mecanismos de regulación do receptor.

O obxectivo do noso traballo é investigar o recrutamento de β -arrestinas e GRK2, así como o tráfico do receptor, tanto para o CX₃CR1 como para o CX₃CR1-A55T en resposta á fractalquina, mediante ensaios baseados en BRET en células HEK293 transfectadas de forma transitoria.

A estimulación coa fractalquina conducía ao recrutamento de β -arrestina 1, β -arrestina 2 e GRK2 polo CX₃CR1 nas células HEK293. A variante CX₃CR1-A55T, previamente indicada como deficiente no ancoramento á proteína G, aínda retiña unha certa capacidade para recrutar β -arrestinas, especialmente β -arrestina 1, mentres que a súa capacidade para recrutar GRK2 estaba moi diminuída.

O CX₃CR1 sufriu unha internalización sostida en resposta á fractalquina, avaliado por BRET co marcador da membrana plasmática KRAS, mentres que a rara variante do receptor CX₃CR1-A55T amosou un patrón de tráfico consistente cunha reciclaxe máis rápida á membrana que o receptor de tipo salvaxe.

Os nosos resultados indican un compromiso diferencial dos transdutores de sinal e o tráfico da variante de receptor CX₃CR1-A55T. Isto podería afectar á regulación da funcionalidade do receptor con potenciais implicacións fisiopatolóxicas.

Agradecementos:

Este traballo foi financiado polo MICINN (PID2020-119754GB-I00 a M.C.) e pola Bolsa de Investigación en Ciencias da Saúde da Deputación da Coruña (Exp nº2023000020572 a A.P.C.)

Referencias:

- [1] Bachelierie, F. et al., Pharmacol. Rev., 2014, 66, 1–79.
- [2] Ishizuka, K. et al., Transl Psychiatry., 2017,7, e1184.

ESTABILIDADE E BIOACCESIBILIDADE DE DERIVADOS DO BISFENOL A PRESENTES EN MATERIAIS DE ENVASE ALIMENTARIOS

Lara Pazos-Soto,^{1,2} Patricia Vázquez Loureiro,^{1,2} Sandra Mariño-Cortegoso,^{1,2} Antía Lestido-Cardama,¹ Juana Bustos³, Perfecto Paseiro-Losada¹, Ana Rodríguez-Bernaldo de Quirós,^{1,2} Raquel Sendón,^{1,2} Letricia Barbosa-Pereira^{1,2}

¹ FoodChemPack, Departamento de Química Analítica, Nutrición e Bromatoloxía. Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, Campus Vida, 15782 Santiago de Compostela, España

² Instituto de Materiais (IMATUS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España

³ Centro Nacional de Alimentación, Axencia Española de Seguridade Alimentaria e Nutrición, 28220, Majadahonda, España

lara.pazos@rai.usc.gal

O bisfenol A e os seus derivados, que conforman o grupo de substancias denominadas resinas epoxi, empréganse amplamente no recubrimento dos envases dos alimentos. Fórmanse mediante reaccións de polimerización entre epiclorhidrinas e o citado composto fenólico, dando lugar, entre outros, ao bisfenol A diglicidil éter (BADGE) [1]. A pesar da súa común utilización polas excelentes propiedades que posúen, non están exentos de riscos. Coñécese a migración de produtos incompletos da polimerización cara aos alimentos, así como a actividade estroxénica do seu precursor [2].

O obxectivo deste traballo foi a avaliación da bioaccesibilidade *in vitro* tras a inxesta do BADGE, así como un estudo da súa estabilidade química durante o proceso de dixestión gastrointestinal. Para conseguilo, aplicouse un protocolo estandarizado e validado pola comunidade científica, o modelo INFOGEST [3]. Desenvolveuse un método cromatográfico adecuado para a identificación dos principais produtos de hidrólise e de reacción con clorhidrinas do bisfenol A. Desta forma, avalíouse a influencia de diferentes aminoácidos, como parte da matriz alimentaria, así como a acción das enzimas na bioaccesibilidade do BADGE.

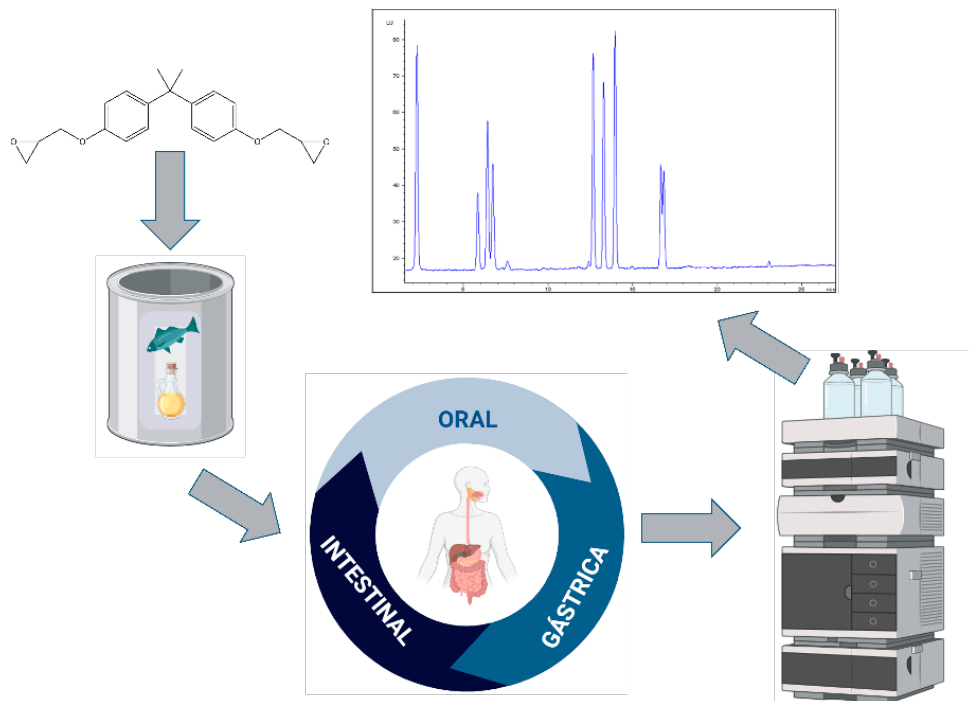
No estudo de estabilidade en aceite de xirasol, observouse a formación de BADGE·2HCl e BADGE·HCl en presenza de lisina. A cantidade máxima destes compostos nos alimentos estaría estritamente rexida segundo o Regulamento (CE) no 1895/2005.

Os resultados da dixestión *in vitro* tras o ensaio de interacción entre as mostras de aceite sobrecargadas con BADGE e os diferentes aminoácidos mostraron que aproximadamente o 60% do BADGE está bioaccesible para ser absorbido. Observáronse interaccións entre o citado contaminante e os diferentes aminoácidos, como se reflicte nas diferentes porcentaxes de bioaccesibilidade despois de estar en contacto co ácido aspártico (55,5%) e a histidina (18,2%), por exemplo.

Finalmente, identificouse a formación do produto BADGE·HCl na fase gástrica da dixestión, a pH 2, pero a súa solubilidade e polo tanto, a súa bioaccesibilidade, redúcense na fase intestinal.

Atendendo aos datos obtidos neste estudo preliminar, pódese afirmar que se establecen interaccións entre os diferentes aminoácidos presentes na matriz alimentaria e a molécula de BADGE, en condicións que simulan os procesos de esterilización e conservación dos produtos enlatados. Despois da inxestión do alimento, e especificamente durante a etapa de dixestión gástrica, pódese observar a formación de compostos de coñecido carácter tóxico, como os produtos de reacción do BADGE coas clorhidrinas.

Polo tanto, sería importante proseguir coa investigación da bioaccesibilidade destes compostos presentes nos recubrimentos das latas empregadas para o envasado de alimentos.



Agradecementos:

BACFood4Expo project (PID2020-114569RJ-I00) financiado polo Ministerio de Ciencia e Innovación, incluído nos “Proxectos I+D+i” 2020-Modalidades “Retos Investigación” e “Xeración de Coñecemento”.

Referencias:

- [1] Lestido-Cardama A, Sendón R, Bustos J, Nieto MT, Paseiro-Losada P, Rodríguez-Bernaldo de Quirós A. *Compr. Rev. Food. Sci. Food. Saf.*, **2022**, 21(4), 3558–611.
- [2] Rochester JR. *Reprod. Toxicol.*, **2013**, 42, 132–55.
- [3] Brodkorb A, Egger L, Alming M, Alvito P, Assunção R, Ballance S, et al. *Nat. Protoc.*, **2019**, 14(4), 991–1014.

DESCUBRIMIENTO DE FÁRMACOS MULTIDIANA ASISTIDO POR REACCIÓN MULTICOMPONENTE: DESEÑO, OPTIMIZACIÓN E ENSAIOS TUMORAIS *EX VIVO*

Iván Rodríguez-Pampín,¹ Rubén Prieto-Díaz,¹ Hugo Fojo-Carballo,¹ Jhonny Azuaje,¹ María Majellaro,¹ Apple Tay,² Carlos Carbajales,¹ María I. Loza,³ José Brea³, Andreas Lundqvist², Eddy Sotelo¹

¹Centro Singular de Investigación en Química Biolóxica e Materiais Moleculares (CIQUS), Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España

²Departamento de Oncoloxía-Patoloxía, Instituto Karolinska, Estocolmo

³Centro de Investigación en Medicina Molecular e Enfermedades Crónicas (CIMUS). Universidade de Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, España

ivan.rodriquez.pampin@rai.usc.gal

A adenosina é un metabolito que suprime a resposta inmune antitumoral das células T e NK mediante a unión extracelular aos receptores A2A e A2B de adenosina. Mentres que o bloqueo dos receptores A2A rescata eficazmente a actividade dos linfocitos, con catro antagonistas do receptor A2A en ensaios clínicos anticancerixenos, sábese menos sobre o potencial terapéutico do receptor A2B na inmunoterapia do cancro. Baseándonos nos nosos mellores antagonistas A2B, deseñamos compostos accesibles sinteticamente a través da química multicomponente (Figura 1A), sintetizados nunha ou dúas etapas, para mellorar as propiedades farmacocinéticas e xerar novos perfís farmacodinámicos.

Un antagonista dual A2A/A2B sintetizado neste traballo (Figura 1A, **ISAM-M89A**) e os nosos mellores antagonistas selectivos do receptor A2B (Figura 1A, **ISAM-140** e **ISAM-R56A**) avaliáronse en modelos de esferoides tumorais derivados do paciente (crecemento de esferoides, proliferación de células inmunes, produción de citocinas e infiltración de linfocitos), en comparación co candidato clínico antagonista do receptor A2A **AZD4635**. O tratamento cun antagonismo dual prevén o crecemento dos esferoides do cancro de mama derivados dos pacientes (Figura 1B). A maiores, rescátase a proliferación das células T e NK, aumenta a produción de citocinas e a infiltración de linfocitos nos esferoides tumorais (Figura 1C). Estes resultados demostran que o receptor A2B é unha diana prometedora na inmunoterapia, identificando **ISAM-M89A** (antagonista dual dos receptores A2A/A2B) e **ISAM-R56A** (antagonista selectivo do receptor A2B) como candidatos potentes na inmunoterapia do cancro.^[1]

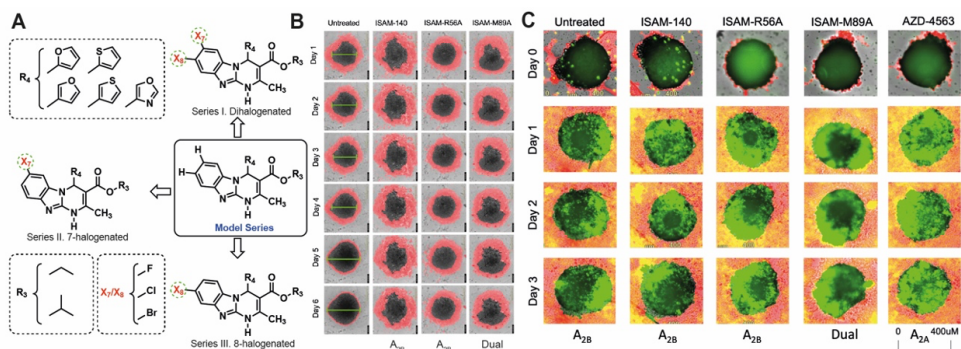


Figura 1. A) Diseño de antagonistas haloxenados. B) Ensaio *ex vivo* do crecemento de esferoides de cancro de mama derivados de pacientes. C) Ensaio *ex vivo* da infiltración de linfocitos nos esferoides.

Agradecementos:

Ao profesor Eddy Sotelo e a todos os colaboradores por facer posible este traballo.

Referencias:

- [1] Hui, A.; Tay, M.; Prieto-Díaz, R.; Neo, S.; Tong, L.; Chen, X.; Carannante, V.; Önfelt, B.; Hartman, J.; Haglund, F.; Majellaro, M.; Azuaje, J.; Garcia-Mera, X.; Brea, J. M.; Loza, M. I.; Jespers, W.; Gutierrez-De-Teran, H.; Sotelo, E.; Lundqvist, A. *Immunother Cancer*, **2022**, 10, 4592–4592.

IMPRESIÓN 3D DE MEDICAMENTOS PERSONALIZADOS NO ÁMBITO HOSPITALARIO PARA NENOS AFECTADOS POR ENFERMIDADES METABÓLICAS RARAS

Lucía Rodríguez-Pombo,¹ María José de Castro-López,² Paula Sánchez Pintos,² Jose Maria Giraldez-Montero,³ Patricija Januskaite,⁴ Goretti Duran-Piñeiro,³ M. Dolores Bóveda,² Carmen Alvarez-Lorenzo,¹ Abdul W. Basit,⁴ Alvaro Goyanes,^{1,4} Maria L. Couce Pico²

¹Departamento de Farmacología, Farmacia e Tecnoloxía Farmacéutica, I+D Farma (GI-1645), Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela

²Servizo de Neonatoloxía, Unidade de Diagnóstico e Tratamento de Enfermidades Metabólicas Conxénitas, Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela

³Servizo de Farmacia, Xerencia de Xestión Integrada de Santiago de Compostela, SERGAS

⁴Department of Pharmaceutics, UCL School of Pharmacy, University College London

lucia.rodriquez.pombo@rai.usc.gal

1. Introducción

As enfermidades raras son comúns, xa que en conxunto afectan ao 6-10% da poboación, especialmente a nenos. Estes pacientes necesitan un tratamento moi preciso, de doses cambiantes e cun estrito cumprimento terapéutico para evitar consecuencias fatais [1]. Actualmente, os medicamentos son limitados e deben prepararse de forma manual nos hospitais para adaptalos aos requirimentos de cada neno. A extrusión de semisólidos (SSE) é unha tecnoloxía de impresión 3D que permite a fabricación sinxela e rápida de pequenos lotes de medicamentos personalizados e mastigables tipo xel, que conteñen un ou varios fármacos na mesma forma farmacéutica, automatizando o proceso e evitando erros [2].

O obxectivo deste estudo foi implementar a tecnoloxía de impresión 3D nun hospital para preparar medicamentos personalizados para nenos afectados por enfermidades metabólicas raras. Comparouse a eficacia e aceptabilidade dos medicamentos 3D mastigables que contiñan isoleucina, valina e citrulina, sós ou en combinación, coa medicación convencional.

2. Materiais e métodos

2.1 Deseño do estudo e participantes

Estudo observacional, prospectivo, cruzado, unicéntrico, no que 6 nenos (6-14 anos) recibiron a medicación convencional (po ou cápsula) durante 3 meses e o medicamento mastigable durante outros 3 meses.

2.2 Preparación da medicación convencional e a formulación 3D mastigable

O medicamento convencional preparouse pesando a cantidade individual de aminoácidos en po e dispersando (en auga ou iogur) ou preparando cápsulas no hospital. Os medicamentos innovadores preparáronse coa tecnoloxía de SSE e variouse a cor e o sabor cada 15 días para avaliar as preferencias de cada neno.

2.3 Avaliación da eficacia e aceptabilidade

Comparáronse os niveis sanguíneos de aminoácidos obtidos con ambos os medicamentos para determinar a eficacia. A aceptabilidade avaliouuse coa escala hedónico-facial e respon-

dendo un cuestionario a través dunha aplicación instalada no móbil dos pacientes. Realizouse unha análise estatística dos resultados ($P < 0.05$).

3. Resultados e discusión

Preparáronse 6 tipos de formulacións 3D mastigables con doses personalizadas e diferentes cores e sabores (vermello-amorodo; verde-laranxa; amarelo-limón; azul-vainilla; amarelo claro- plátano; rosa-melocotón) coa técnica de SSE (Figura 1).

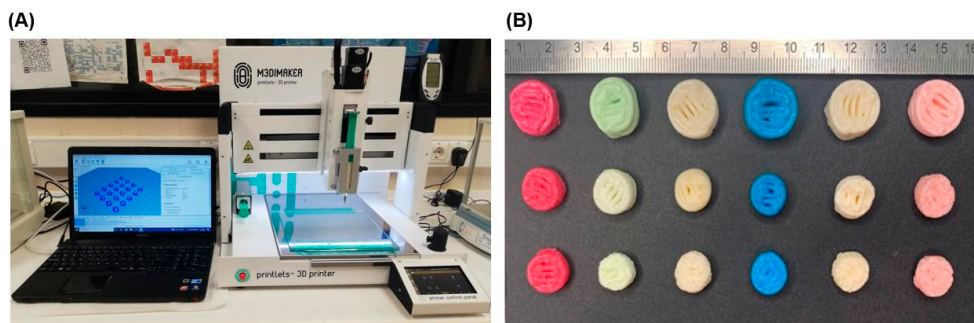


Figura 1. Imaxes de (A) Impresora 3D no hospital Clínico de Santiago de Compostela e (B) Formulacións 3D mastigables administradas aos pacientes.

Os medicamentos 3D foron igual de eficaces que os convencionais xa que mantiveron os niveis de aminoácidos dentro dos valores obxectivo. Notablemente, a desviación dos niveis de citrulina foi menor e máis próxima á concentración obxectivo cos medicamentos innovadores. Segundo as respostas dos participantes, as formulacións mastigables foron ben aceptadas e melloraron o cumprimento terapéutico e a calidade de vida xa que se facilitou a administración. Os resultados de aceptabilidade en canto ao sabor foron variados e dependeron da idade e das preferencias de cada neno.

3. Conclusións

Este estudo demostrou os beneficios de preparar tratamentos personalizados impresos en 3D para nenos diagnosticados con enfermidades raras utilizando unha tecnoloxía novidosa na práctica clínica real sobre o enfoque actual. Por primeira vez, a impresión 3D permitiu combinar dous tratamentos nunha mesma formulación, reducindo o número de administracións.

Agradecementos:

LRP agradece o contrato predoutoral [FPU20/01245] do Ministerio de Universidades. O traballo financiose coa XXIX Edición Ayudas Merck de Investigación Clínica en Enfermedades Raras.

Referencias:

- [1] Protocolos de diagnóstico y tratamiento de los Errores Congénitos del Metabolismo. 2ª ed. Madrid: Ergón; 2018.
- [2] Seoane-Viano, I. e col. *J. Control. Release.*, 2021; 332: 367-89.

O AMPC PROTEXE FRONTE Ó DANO NA BARREIRA HEMATOENCEFÁLICA INDUCIDO POR INFLAMACIÓN

Nuria Seoane¹, Aitor Picos¹, Manuel Campos-Toimil¹, Dolores Viña¹

¹ Fisioloxía e Farmacoloxía das Enfermidades Crónicas (FIFAEC), Centro Singular de Investigación en Medicina Molecular e Enfermidades Crónicas (CiMUS), Universidade de Santiago de Compostela (USC), España

nuria.seoane@usc.gal

As enfermidades neurodexenerativas, coma a enfermidade de Alzheimer, a esclerose múltiple e a enfermidade de Parkinson, caracterízanse por unha perda progresiva de poboacións selectivas de neuronas. Malia ser unha causa común e crecente de mortalidade e morbilidade a nivel mundial, o seu mecanismo patoxénico aínda se descoñece. Varios autores relacionaron os factores de risco vasculares co desenvolvemento das enfermidades neurodexenerativas¹. Unha resposta inflamatoria esaxerada e a liberación de citocinas proinflamatorias poden comprometer a integridade da barreira hematoencefálica (BHE)², a barreira endotelial altamente especializada que separa o sistema nervioso central da circulación periférica. Polo tanto, o mantemento da súa integridade resulta crucial para a homeostase do parénquima cerebral.

O adenosinmonofosfato cíclico (AMPC) é un segundo mensaxeiro involucrado na regulación de moitos procesos biolóxicos coma o metabolismo, regulación xénica, proliferación e supervivencia³. O AMPC participa no mantemento da permeabilidade da barreira endotelial, polo que a activación da ruta de sinalización do AMPC preséntase coma unha estratexia prometedora para mellorar a función endotelial⁴.

Polo tanto, o obxectivo deste estudo foi avaliar o efecto que unha combinación de forskolina e rolipram (fármacos que incrementan os niveis de AMPC) ten fronte á inflamación inducida polo lipopolisacárido (LPS) en células endoteliais de microvasculatura cerebral murina (bEnd.3).

A combinación de forskolina e rolipram preveu a perda da integridade da barreira endotelial inducida polo LPS, incrementando a resistencia eléctrica transendotelial (TEER) e os niveis de claudina-5, unha proteína de unión estreita, baixo condicións inflamatorias. O tratamento de forskolina e rolipram tamén mellorou o estado inflamatorio das células bEnd.3 tras unha exposición a LPS durante 24 horas ó diminuír a produción de especies reactivas de osíxeno e a expresión de varios marcadores de inflamación como VCAM-1 ICAM-1 e iNOS. Con todo, precísanse máis estudos para determinar que efectores son os responsables deste efecto protector.

Agradecementos:

Este traballo foi financiado polo Ministerio de Ciencia e Innovación (PID2020-119178GB-I00). NS agradece persoalmente ó proxecto Axudas á etapa predoutoral (ED481A 2021/102) polo apoio económico.

Referencias:

- [1] Sweeney et al., *Nat. Rev. Neurol.*, **2018**, 14 (3): 133-150.
- [2] Yang et al., *Exp. Ther. Med.*, **2019**, 17 (3): 2397-2404.
- [3] Yan et al., *Mol. Med. Rep.*, **2016**, 13 (5): 3715-3723.
- [4] Viña et al., *Cells*, **2021**, 10 (8): 1951.

APLICACIÓN DUN CULTIVO DE CÉLULAS DE FLUXO E ESTUDOS DE ACTIVIDADE ANTIMICROBIANA PARA AVALIACIÓN *IN VITRO* DUN SISTEMA BASEADO EN POLE PARA A ADMINISTRACIÓN PULMONAR DE RIFABUTINA

Lorena Valverde-Fraga,¹ Sandra Sanchez,² Carmen Remuñán,³ Noemi Csaba¹

¹Centro de Investigación en Medicina Moléculas e Enfermedades Crónicas (CiMUS), Santiago de Compostela, España

²Departamento de Farmacología e Tecnoloxía Farmacéutica, Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, España

³Departamento de Microbioloxía e Parasitoloxía, Facultade de Farmacia, Universidade de Santiago de Compostela

lorena.valverde@rai.usc.gal

A tuberculose é una enfermidade potencialmente mortal e é una das principais causas de morte en todo o mundo causadas por un único axente infeccioso. Afecta principalmente aos pulmóns e atribúese a *Mycobacterium tuberculosis* (MTB). Os tratamentos actuais consisten na administración oral de combinacións de antibióticos, incluído rifabutina, en doses elevadas e durante longos períodos. Dirixir o tratamento directamente aos pulmóns ofrece o beneficio terapéutico dun inicio de acción máis rápido, una maior eficacia e uns efectos secundarios reducidos. Neste contexto as micropartículas de máis de 5 μm e de baixa densidade mostran interese na entrega pulmonar de fármacos. Estudos preliminares demostran que as microcápsulas de esporopolenina (grans de pole purificados) cumpren estas características, o que as converte nunha alternativa interesante. Este estudo ten como obxectivo desenvolver un sistema micro/nano para a mellora da administración de antibióticos, con potencial aplicación na vía pulmonar, utilizando diferentes composicións de quitosano para a súa futura microencapsulación en esporopolenina.

A estrutura das nanocapsulas consiste nunha casca de quitosano e un núcleo lipídico cunha combinación de diferentes aceites e surfactantes para permitir una asociación óptima do fármaco hidrófobo rifabutina. Estes nanoportadores caracterizáronse en termos de tamaño, índice de polidispersidade, carga superficial, morfoloxía, eficiencia de encapsulación e estabilidade biolóxica. A cinética de liberación das nanoestruturas cargadas con fármacos foi avaliada en medios pulmonares simulados. Ademais, estudos *in vitro* en diferentes modelos celulares (células A549 e Raw 264.7) demostraron a seguridade das nanocápsulas así como a súa interiorización eficiente.

Nunha segunda etapa, cultivouse macrófagos Raw 264.7 e células epiteliais pulmonares da liña A549 nunha cámara fluídica μ -Slide I Luer para simular a interacción de células e nanoportadores en condicións de fluxo, unha situación similar á do fluxo respiratorio. As células foron sometidas a cultivo de fluxo durante 24 h proporcionando pole purificado, pole purificado cargado con nanocápsulas de quitosano marcadas con DiD e só nanocápsulas. Os grans de pole puideron interactuar coas células, sendo retidos por ambas as liñas celulares mesmo despois de 24 h de fluxo. Pola contra, cando se realizou o mesmo experimento coas nanocápsulas en solución, estas non se conservaron ao lavar co medio de perfusión e non se observou fluorescencia visible. Por outra banda, as nanocápsulas cargadas en microcápsulas de esporopolenina mostraron un comportamento similar ao dos grans de pole purificados ba-

leiros e foron retidas pola capa celular. Esta interacción prolongada permitiu a interiorización das nanocápsulas polas células, con fluorescencia vermella observada no interior das células arredor das microcápsulas de pole cargadas con nanocápsulas. Estes resultados son consistentes coas observacións sobre o cultivo estático, que indican que o pole cargado actuou como un dispositivo de entrega en varias etapas, primeiro aumentando a interacción coas células, seguido dunha liberación posterior das nanocápsulas.

Realizouse unha proba de susceptibilidade antimicrobiana para avaliar a eficacia do sistema contra dúas especies de *Mycobacterium*, *Mycobacterium phlei*, unha especie de crecemento rápido, e *Mycobacterium smegmatis*, unha variante de *Mycobacterium* cun crecemento máis lento, similar ao de *M. tuberculosis*. Este estudo indicou unha inhibición completa das concentracións de antibióticos dentro do intervalo de susceptibilidade esperado de *Mycobacterium* ($\leq 0,25$ -16 mg/L) para o fármaco rifabutina.

En xeral, este micro/nano sistema podería ser un candidato interesante como sistema de entrega á mucosa pulmonar para o tratamento pulmonar local de enfermidades infecciosas combinando os beneficios da nanotecnoloxía co poder para ancorarse á mucosa do pole creando unha plataforma de entrega multi-etapa.

Referencias:

- [1] Csaba et al. US20200129575A1. Purified Pollen Particles And Use Thereof For Administering Nanosystems.
- [2] Valverde-Fraga, L. et al. Design and in vitro assessment of chitosan nanocapsules for the pulmonary delivery of rifabutin. *In press*
- [3] Ageitos, J.M. et al. Purification of Hollow Sporopollenin Microcapsules from Sunflower and Chamomile Pollen Grains. *Polymers* 2021, 13, 2094

AVALIACIÓN DE DIFERENTES ESTRATEXIAS PARA DIMINUÍR AS RESISTENCIAS ANTIMICROBIANAS

Rosa Antía Villarino Fernández¹, Lorena Gómez Calvo¹, José Luís Rodríguez Rama¹,
Sandra Sánchez Poza¹

¹Departamento de Microbioloxía e Parasitoloxía. Facultade de Farmacia. Universidade de Santiago de Compostela (USC)

rosaantia.villarino@rai.usc.gal

Aínda que a resistencia aos antibióticos acontece de modo natural a través de cambios xenéticos, o seu uso abusivo e inadecuado está acelerando este proceso. Actualmente en Europa existe unha forte restrición á hora de tratar as enfermidades dos animais con antibióticos, deixando o uso destes compostos químicos só para as ocasións onde non existe outra alternativa mellor. Por iso é moi importante desenvolver proxectos de investigación onde se busque unha alternativa aos antibióticos convencionais. Un deses proxectos é NeoGIANT, no que participa o noso grupo de investigación. Neste proxecto europeo avalíanse as propiedades antimicrobianas de extractos naturais que presentan un alto contido en polifenóis. Un deses extractos obtense a partir do bagazo que non se utiliza durante a fermentación da uva branca da variedade Albariño, polo que estamos a colaborar co ODS (Obxectivo de Desenvolvemento Sostible) 12.5 (reducir considerablemente a xeración de refugallo mediante actividades de prevención, redución, reciclaxe e reutilización).

En termos xerais e en base a resultados previos obtidos no grupo, as bacterias Gram-negativas mostraron ser máis resistentes aos efectos dos extractos que as Gram-positivas. As bacterias Gram-negativas conteñen na súa membrana externa diversos canais (como por exemplo as porinas) que permiten o paso de distintas substancias cara ao interior e ao exterior de forma selectiva e que poderían estar dificultando o paso dos extractos polifenólicos proporcionándolles maior tolerancia. No entanto, atopamos que a bacteria Gram-negativa *Neisseria meningitidis* foi sensible aos extractos, sensibilidade que decrece en mutantes deficientes das súas porinas (PorA e PorB), sendo máis destacado o efecto no mutante defectivo en PorA. Nun artigo publicado no ano 2017 na revista *American Society for Microbiology* (ASM) indícase que un dos principais mecanismos de penetración dos antibióticos nas bacterias Gram-negativas (polo xeral máis resistentes aos antibióticos que as Gram-positivas) é a presenza de porinas específicas na membrana externa [1], o que apoia a nosa hipótese.

Un dos obxectivos do grupo é o estudo de diferentes estratexias para incrementar a sensibilidade das bacterias Gram-negativas aos polifenóis e, en base ao resultado obtido con *N. meningitidis*, decidimos engadir entre estas estratexias o uso da porina. Para iso, e aproveitando a dispoñibilidade no cepario do grupo dunha cepa de *E. coli* cun vector que contiña o xene que codifica para a porina A, induciuse a súa expresión e posterior purificación mediante cromatografía de afinidade a ións metálicos inmovilizados (IMAC), empregando columnas de níquel-ácido nitriloacético (Ni-NTA). Unha vez realizada a purificación, comprobouse a pureza deste procedemento mediante electroforeses de SDS-PAGE seguindo o protocolo descrito por Laemli [2]. Con esta técnica puidemos visualizar a nosa proteína de interese, aproximadamente a unha altura correspondente á masa molecular da porina A nativa, que é duns 45 kDa en electroforese desnaturalizante (Figura 1). Posteriormente, levouse a cabo a síntese de proteoliposomas mediante a inclusión da PorA para a súa renaturalización e para a análise da capacidade de mobilización dos extractos polifenólicos a través delas. Finalmente,

realizaranse ensaios antimicrobianos coas bacterias “enriquecidas en porinas” para comprobar o efecto das porinas na eficacia dos extractos.

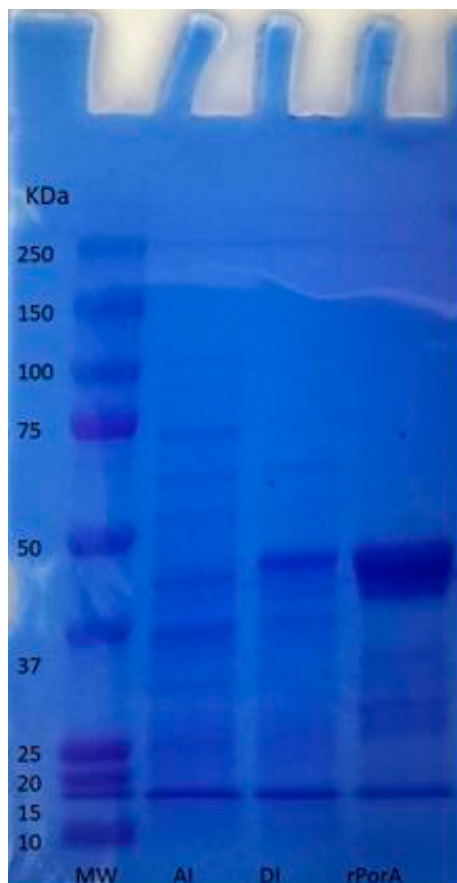


Figura1. Gel de electroforesis de SDS-PAGE (10% de acrilamida). Peso molecular (MW), antes da indución (AI), despois da indución (DI) e PorA recombinante purificada (rPorA).

Outra das liñas que se está a estudar é a análise da capacidade antibacteriana e de anti-biofilme (habilidadade de dispersar o biofilme ou biopelícula formada por unha bacteria como mecanismo de resistencia) doutro extracto polifenólico, neste caso obtido da xesta (*Cytisus scoparius*), fronte a *Listeria monocytogenes*. Para a realización do ensaio do antibiofilme, seguiuuse o protocolo descrito por Wilson e colaboradores [3] onde utilizan o cristal violeta para pigmentar a biopelícula e alcohol ao 99% para solubilizar o biofilme e poder medir a biomasa no fluorímetro. Este ensaio demostrounos que a totalidade do biofilme se pode dispersar a unha concentración de 2.5% de extracto. Ademais, realizouse unha análise do efecto sinérxico que exerce o extracto coa ampicilina. Os resultados da capacidade antimicrobiana móstranse na táboa 1. Tal e como se reflicte na táboa 2, a administración conxunta do extracto de xesta e ampicilina produce un efecto aditivo ao ser o Índice de Concentración Inhibitoria Fraccional (FICI) igual a 1.

<i>Composto</i>	<i>IC50</i>	<i>MIC</i>
<i>Extracto polifenólico</i>	2.33 %	5%
<i>Ampicilina</i>	0.56 µg/ml	1µg/ml
<i>Ampicilina+2.5% extracto</i>	0.45 µg/ml	0.5 µg/ml

Táboa 1. Valores de IC50 (concentración na que morre o 50% da poboación bacteriana) e MIC (concentración mínima inhibitoria) do extracto, antibiótico e antibiótico cun 2.5% de extracto.

<i>FICI</i>	
<i>FIC extracto</i>	0.5
<i>FIC ampicilina</i>	0.5
<i>FICI ampicilina e extracto</i>	1

Táboa 2. Efecto aditivo entre o extracto de xesta (2.5%) e a ampicilina expresado co FIC (concentración inhibitoria fraccional) de cada un dos compostos e de ambos os dous xuntos expresado como FICI (índice de concentración inhibitoria fraccional).

Agradecementos:

Ao grupo de investigación de Biotecnoloxía (GI-1208) da Universidade de Santiago de Compostela (USC), en especial, ao Departamento de Microbioloxía e Parasitoloxía da Facultade de Farmacia onde teño a oportunidade de realizar a miña tese de doutoramento dende o ano 2022.

Referencias:

- [1] Anjum, M., Zankari, E. *ASM*. **2017**. 5,6.
- [2] Laemmli UK. *Nature*. **1970**; 227: 680-685.
- [3] Wilson, C., Lukowicz, R. *J. Eng. Techno*. **2017**. 6,4.

USO CRÓNICO DE ATORVASTATINA E GRAVIDADE DA COVID-19: UN ESTUDO DE BASE POBOACIONAL

Irene Visos-Varela¹, Maruxa Zapata-Cachafeiro^{1,2,3}, María Piñeiro-Lamas^{2,3}, Adolfo Figueiras^{1,2,3}, Ángel Salgado-Barreira^{1,2,3}

¹Departamento de Saúde Pública, Universidade de Santiago de Compostela, España

²Consorcio de Investigación Biomédica en Epidemiología y Salud Pública (CIBERESP), Madrid, España

³Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela (IDIS), Santiago de Compostela, España

irene.visos@rai.usc.gal

As consecuencias da falta de recursos na loita contra a COVID-19 destacaron a importancia de dispoñer de medios adecuados para prepararse ante futuras ameazas para a saúde pública. Nesta liña, a Organización Mundial da Saúde (OMS) aborda tres estratexias clave para combater eficazmente pandemias presentes e futuras: diagnóstico rápido, vacinación e tratamento terapéutico [1].

Durante a pandemia, diversos medicamentos indicados para enfermidades crónicas despertaron interese debido á súa posible influencia na susceptibilidade e gravidade da COVID-19 [2,3]. En particular, varios estudos suxeriron que as estatinas, amplamente utilizadas en persoas de idade avanzada e con comorbilidades, poderían ter un impacto positivo no pronóstico da COVID-19 [4,5]. A explicación deste posible efecto protector das estatinas radica nos seus diversos efectos pleiotrópicos (ou non colesterol-dependentes), que inclúen propiedades antiinflamatorias, inmunomoduladoras, antitrombóticas e antivirais [6,7].

Con todo, ata a data, os estudos sobre o uso de estatinas en pacientes con COVID-19 lanzaron resultados inconsistentes, posiblemente debido ás diferenzas estruturais entre as estatinas e á falta de análises individualizadas dos seus principios activos. Por tanto, o noso estudo propúxose avaliar a relación entre o uso crónico de estatinas, tanto no seu conxunto como por principio activo, e (1) os resultados graves de COVID-19 (risco de hospitalización e mortalidade); (2) a progresión a resultados graves de COVID-19; e (3) a susceptibilidade ao virus.

Para levar a cabo esta análise, realizamos un estudo de casos e controis utilizando datos de rexistros electrónicos. Isto permitiunos avaliar o risco de (1) hospitalización, comparando pacientes hospitalizados por COVID-19 con suxeitos non infectados; (2) mortalidade, comparando pacientes hospitalizados que faleceron por COVID-19 con suxeitos non infectados; (3) progresión, comparando pacientes hospitalizados por COVID-19 con pacientes non hospitalizados pola enfermidade; e (4) susceptibilidade, comparando pacientes con COVID-19 (tanto hospitalizados como non hospitalizados) con suxeitos sen a enfermidade. As razóns de probabilidade (*odds ratio*) axustadas (ORa) e os intervalos de confianza do 95% (IC95%) estimáronse mediante regresión loxística multinivel.

A nosa análise baseouse en datos de 2821 casos hospitalizados, 26 996 casos non hospitalizados e 52 318 suxeitos non infectados. O uso crónico de atorvastatina asociouse cun menor risco de hospitalización (ORa=0,83; IC95%: 0,74-0,92) e mortalidade (ORa=0,70; IC95%: 0,53-0,93), atribuíble en parte a un menor risco de susceptibilidade ao virus (ORa=0,91; IC95%: 0,86-0,96). A simvastatina asociouse cun menor risco de mortalidade (ORa=0,59; IC95%: 0,40-0,87). O amplo grao de heteroxeneidade observado nas ORa das distintas estatinas suxire que non existe un efecto de clase.

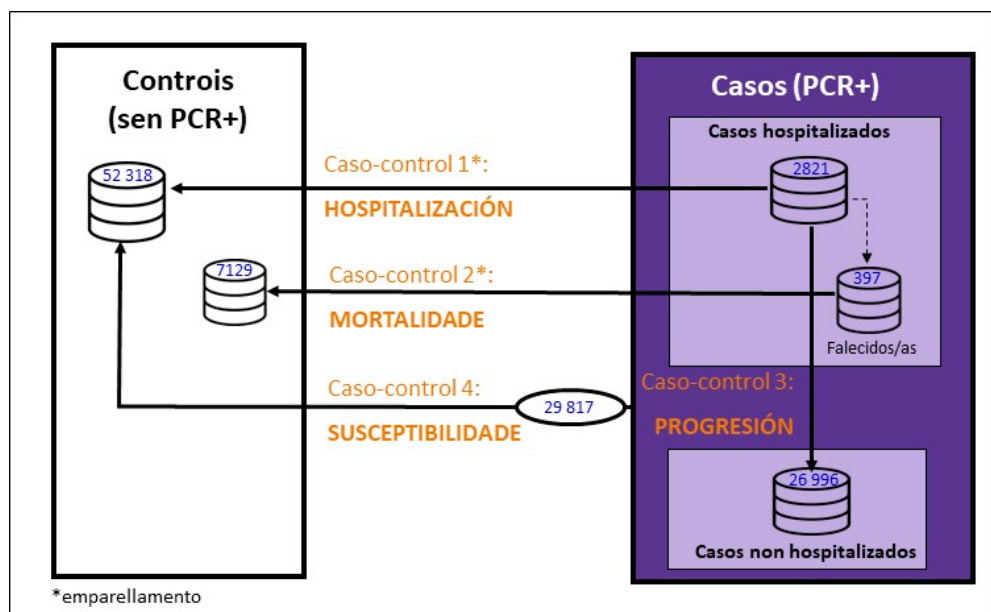


Figura 1. Deseño de casos e controis múltiples de base poboacional

A pesar dos avances científicos e médicos, a COVID-19 continúa sendo unha ameaza para a saúde pública. En pandemias presentes e futuras, é crucial identificar rapidamente terapias eficaces coñecidas. Os nosos resultados suxiren que o uso crónico de atorvastatina (e posiblemente simvastatina) está relacionado cunha diminución de resultados graves da COVID-19. Dado que o uso de estatinas é común nos países desenvolvidos, isto podería beneficiar significativamente a un gran número de persoas, proporcionando unha dobre protección: contra a COVID-19 e contra problemas cardiovasculares.

Agradecementos:

Queremos agradecer á Dirección Xeral de Sanidade do SERGAS por facilitar os datos necesarios para realizar este estudo e a DXC Technology polo seu traballo na extracción dos datos do estudo.

Referencias:

- [1] World Health Organization. Diagnostics, therapeutics, vaccine readiness, and other health products for COVID-19. 2021. https://www.who.int/publications-detail-redirect/WHO-2019-nCoV-HCF_assessment-Products-2021.1
- [2] Yan H, Valdes AM, Vijay A, et al. Role of drugs used for chronic disease management on susceptibility and severity of COVID-19: a large case-Control study. Clin Pharmacol Ther. 2020; 108(6): 1185-1194. doi:10.1002/cpt.2047.
- [3] Fung KW, Baik SH, Baye F, Zheng Z, Huser V, McDonald CJ. Effect of common maintenance drugs on the risk and severity of COVID-19 in elderly patients. PLoS One. 2022; 17(4):e0266922. doi:10.1371/journal.pone.0266922.
- [4] Kow CS, Hasan SS. Meta-analysis of effect of statins in patients with COVID-19. Am J Cardiol. 2020; 134: 153-155. doi:10.1016/j.amjcard.2020.08.004.
- [5] Pal R, Banerjee M, Yadav U, Bhattacharjee S. Statin use and clinical outcomes in patients with COVID-19: an updated systematic review and meta-analysis. Postgrad Med J. 2022; 98(1159): 354-359. doi:10.1136/

postgradmedj-2020-139172.

- [6] Schönbeck U, Libby P. Inflammation, immunity, and HMG-CoA reductase inhibitors: statins as antiinflammatory agents? *Circulation*. 2004; 109(21 suppl 1): 18-26. doi:10.1161/01.CIR.0000129505.34151.23.
- [7] Kočar E, Režen T, Rozman D. Cholesterol, lipoproteins, and COVID-19: basic concepts and clinical applications. *Biochim Biophys Acta Mol Cell Biol Lipids*. 2021; 1866(2):158849. doi:10.1016/j.bbalip.2020.158849.

C U R S O S E C O N G R E S O S

Nº 2 7 6