

REVISTA COLOMBIANA DE CIENCIAS QUÍMICO-FARMACÉUTICAS

Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia.

ISSN 0034-7418, Fax: 3165060, Cra. 30 No. 45-03, Bogotá, D. C., Colombia.

Correo electrónico: rcciquifa_fcbog@unal.edu.co

<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rcciquifa>

http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_serial&pid=0034-7418&rep=

<https://scholar.google.com/citations?user=TvBT68sAAAAJ&hl=es>

Rector Universidad Nacional de Colombia: Leopoldo Múnera Ruiz, Ph. D.

Vicerrectora sede Bogotá: Andrea Carolina Jiménez Martín, Ph. D.

Decana Facultad de Ciencias: Lucy Gabriela Delgado Murcia, Ph. D.

Director Departamento de Farmacia: Jaiver Eduardo Rosas Pérez, Ph. D.

Directora Área Curricular de Farmacia: Bibiana Margarita Rosa Vallejo Díaz, Ph. D.

Director-Editor Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas: Fleming Martínez Rodríguez, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, correo electrónico: fmartinezr@unal.edu.co

Comité Científico:

Alejandro Sosnik, Ph. D., Department of Materials Science and Engineering, Israel Institute of Technology (Technion), Haifa, Israel.

Carlos Bregni, Ph. D., Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Carlos A. Calderón, Ph. D., Unidad de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá, D. C., Colombia.

Fátima R. M. Barreto-Silva, Ph. D., Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis – SC, Brasil.

Juan M. Irache, Ph. D., Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia, Universidad de Navarra, España.

Juan R. Perilla, Ph. D., Department of Chemistry and Biochemistry, College of Arts and Sciences, University of Delaware, Newark, Delaware, U.S.A.

Mario F. Guerrero, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D. C., Colombia.

Mario G. de Carvalho, Ph. D., Departamento de Farmácia, Instituto de Ciências Naturais, Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Brasil.

Martha R. Fontanilla, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D. C., Colombia.

Rubén H. Manzo, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Victor Romanowski, Ph. D., Facultad de Ciencias Exactas, Universidad Nacional de La Plata, Argentina.

William E. Acree, Jr., Ph. D., Department of Chemistry, University of North Texas, Denton, Texas, U.S.A.

Comité Editorial:

Abolghasem Jouyban, Ph. D., Faculty of Pharmacy, Tabriz University of Medical Sciences, Tabriz, Iran.

Álvaro F. Jiménez-Kairuz, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina.

Daniel R. Delgado, Ph. D., Facultad de Ingeniería, Universidad Cooperativa de Colombia, Neiva, Colombia.

Diego A. Chiappetta, Ph. D., Departamento de Tecnología Farmacéutica, Facultad de Farmacia y Bioquímica, Universidad de Buenos Aires, Argentina.

Fernão Castro Braga, Ph. D., Departamento de Produtos Farmacêuticos, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Brasil.

Marcela Aragón, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, D. C., Colombia.

María A. Peña, Ph. D., Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid, España.

Marta Concheiro, Ph. D., National Institute on Drug Abuse, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, U.S.A.

Paulo R. de Oliveira, Ph. D., Universidade Estadual do Centro-Oeste, Unicentro, Brasil.

Evalúadores:

Antonio Peña, Ph. D., Departamento de Cirugía, Ciencias Médicas y Sociales, Facultad de Medicina y Ciencias de la Salud, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid, España.

Carlos A. Calderón, Ph. D., Unidad de Farmacología, Facultad de Medicina, Universidad del Rosario, Bogotá, D. C., Colombia.

Claudia P. Ortiz, M. Sc., Ciencias de la Salud, Corporación Universitaria Iberoamericana, Neiva, Huila, Colombia.

Daniel R. Delgado, Ph. D., Facultad de Ingeniería, Universidad Cooperativa de Colombia, Neiva, Colombia.

Darío A. Tinjaca, Ph. D., Facultad de Ciencias, Universidad El Bosque, Bogotá D. C., Colombia.

Diego I. Caviedes, Ph. D., Facultad de Ingeniería, Universidad Cooperativa de Colombia, Neiva, Huila, Colombia.

Fleming Martínez, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, D. C., Colombia.

Jorge E. Hernández, Ph. D., Facultad de Ciencias Básicas, Universidad Santiago de Cali, Cali, Colombia.

José J. López, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, D. C., Colombia.

Luis F. Ospina, Ph. D., Departamento de Farmacia, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, Sede Bogotá, D. C., Colombia.

María A. Peña, Ph. D., Facultad de Farmacia, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid, España.

Olga E. García, Ph. D. (C), Facultad de Ciencias de la Salud, Corporación Universitaria Adventista, Medellín, Colombia.

Omar Calderón, Ph. D., Departamento de Física, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad del Valle, Santiago de Cali, Colombia.

Reinaldo G. Sotomayor, M. Sc., Programa de Farmacia, Facultad de Química y Farmacia, Universidad del Atlántico, Puerto Colombia, Atlántico, Colombia.

Rosember E. Cárdenas, M. Sc., Facultad de Ciencias y Humanidades, Universidad de América, Bogotá D. C., Colombia.

MISIÓN

La *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* es un órgano de difusión en el cual se publican investigaciones científicas, comunicaciones técnicas y revisiones temáticas originales en las áreas de las ciencias farmacéuticas (véanse Normas para publicación). La revista está destinada principalmente a químicos farmacéuticos, químicos, ingenieros químicos, médicos cirujanos, médicos veterinarios, y a otros profesionales de las ciencias físicas y naturales, de la ingeniería y de las profesiones sanitarias relacionadas con el uso de medicamentos.

VISIÓN

En pro de la difusión de las investigaciones, los contenidos de la *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas* son de acceso libre, con ello se espera llegar a un número mayor de lectores, propiciando la consolidación de comunidades académicas. Además, se proyecta que los contenidos publicados contribuyan al desarrollo e innovación de las ciencias farmacéuticas.

ÉTICA

La responsabilidad de lo expresado en cada artículo es exclusiva de los autores y no representa ni compromete posiciones de la revista ni del cuerpo editorial. Los contenidos publicados pueden reproducirse siempre que se cite la fuente respectiva. Esta revista sigue los lineamientos del COPE (Committee on Publication Ethics), que pueden ser consultados en <http://publicationethics.org/>

LICENCIA CREATIVE COMMONS



Todo el contenido de esta revista, excepto donde está identificado, está bajo una Licencia Creative Commons de atribución aprobada en Colombia. Consulte la normativa en http://co.creativecommons.org/?page_id=13

La totalidad de los números anteriores se encuentran disponibles en el sitio web:

<http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa>



Contenido

Observaciones metodológicas a considerar en “Effect of caffeine consumption on the academic performance among students of University of Kalamoon (UOK)”	
Salvador Alonso Panta Castro & Harold Jean Puente Espinoza.....	571
El mercado de protectores solares en Brasil y América latina: impactos en la salud y el camino hacia la sostenibilidad	
Míria Dantas Pereira & Neila de Paula Pereira.....	573
Evaluación del riesgo en personal de salud expuestos a casos sospechosos o confirmados con Covid-19 en instituciones de baja, mediana y alta complejidad en Chía, Facatativá y Bogotá D.C., Colombia	
José Ricardo Urrego Novoa, Karol Andrea Méndez Leguizamón, Nancy Yaneth Portela Escandón, Lorena Martínez Delgado, Nelson Rolando Campos Guzman & Danny Wilson Sanjuanelo.....	577
Prediction of diseases using transformers for gene expression dataset	
Immaculate Mercy A. & M. Chidambaram.....	591
Drug design and discovery with bioinformatics tools	
Amjad I. Oraibi, Ahmed Mohammed Zheoat, Hayder Naji Sameer, Mohammed Ayad Alboreadi & Hayder M. Abdulhamza.....	621
Beneficial effect of <i>Centella asiatica</i> : Synthesis of the last two decades	
Carolina Takahashi, Hector Vilchez & Jorge Poemape.....	643
Popular Brazilian medicinal plants for therapeutic use in combating Diabetes	
André G. P. de Paula, Jordana D. de Lima, Camila Peitz, Rafael U. Veiga, Rebeca Bosso dos Santos Luz, Leonel W. Junior, Victor H. Q. Bordenowski, Andressa K. da Fontoura, Amanda G. Somensi, Thalita S. Uada, Natália P. Fernandes, Juliana B.B. Maurer & Tarcio Teodoro Braga.....	658
Exploring the therapeutic benefits of <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.: A five-year pharmacological review	
Carolina Takahashi, Julio Chavez & Jorge Poemape	679
Estimation of monosodium glutamate (MSG) added to some food products in Syrian markets	
Farah Bitar, Mohammed Adel Jawad & Adnan Odeh.....	689
Annulment and amelioration of cadmium toxicity through dietary countermeasures	
Saha Rajsekhar, Thakur Alok Singh & Kaur Chanchal Deep.....	705
Historia de la hemofilia: una enfermedad que afecta a más de uno	
Ivo Heyerdahl-Viau.....	719
Optimización de un método analítico para la separación y cuantificación de flavonoides totales expresados en equivalentes de quercetina, en un extracto del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	
Diego Fernando Nope Páez, Lina María Ortiz Ulloa, Juliana Racines González & Emerson Eliecer León Ávila.....	739
Polifarmacia, enfermedades y deprescripción en el adulto mayor. Una revisión exploratoria	
Eliezer Alemán Fernández, Dany Siverio Mota, Liliana Vicet Muro & René Delgado Hernández.....	760

Análisis de las dimensiones legales y problemática social de automedicación en Colombia Andrés Felipe González-Ogliastri, Oscar Yesid Céspedes Gutiérrez, Julián Andrés Gaitán Reyes, Claudia Patricia Ortiz, Henry Rubiano Daza & Daniel Ricardo Delgado.....	775
Evaluation of AI models for predicting drug solubility in cosolvent systems Mateo Vergara-Roa, Rogelio Manuel Alvarado-Martinez, Angelica Chappe-Chappe, Rossember Edén Cardenas-Torres, Cristian Rincón-Guio, María Paz Saavedra- Saavedra, Carlos Francisco Trujillo-Trujillo & Julian David Aristizabal-Yusty.....	804
Contexto das infecções causadas por bactérias gram-negativas resistentes aos carbapenêmicos em pacientes com doença renal crônica: uma revisão sistemática Sabrina Paula Pereira, Magna Cristina de Paiva & Caroline Pereira Domingueti.....	821
Índice general por tipo de artículos en 2025.....	837
Índice general de autores en 2025.....	842
Normas para publicación.....	845

Observaciones metodológicas a considerar en “Effect of caffeine consumption on the academic performance among students of University of Kalamoon (UOK)”

Salvador Alonso Panta Castro* & Harold Jean Puente Espinoza

Escuela Profesional de Medicina Humana, Universidad Privada San Juan Bautista, Lima - Perú

*Correo electrónico: salvador.panta@upsjb.edu.pe

Recibido: 8 de julio de 2025

Aceptado: 21 de julio de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.121460>

Señor Editor,

Nos dirigimos a usted para expresar nuestro reconocimiento por la publicación del artículo “Effect of caffeine consumption on the academic performance among students of University of Kalamoon (UOK)”, el cual aborda un tema de gran interés para la salud estudiantil y la percepción sobre el uso de sustancias psicoactivas como la cafeína [1]. La consideración de los patrones de consumo entre estudiantes universitarios y su posible repercusión en el rendimiento académico reviste una relevancia notable, tanto en el ámbito clínico como en el educativo. Sin embargo, es pertinente señalar algunas consideraciones metodológicas que podrían optimizar futuras investigaciones sobre esta temática.

Una limitante es el potencial sesgo de autoselección proveniente de la participación voluntaria en el estudio. Este ocurre cuando las características de los participantes no se distinguen sistemáticamente de la población de estudio, afectando la validez externa de los resultados [2]. En la investigación, los estudiantes que tienen un alto consumo de cafeína o muestran cierto interés en el tema, podrían estar sobrerrepresentados. En adición, la ausencia de información sobre la distribución de los participantes por facultad o área académica limita el análisis. Además, al estar conformada la población por diferentes carreras universitarias, en el que la exigencia académica es variada, los patrones de consumo de cafeína son heterogéneos.

En cuanto al análisis de datos, específicamente sobre las variables, se observa una categorización contradictoria del GPA. Primero, la variable GPA se presenta como variable dicotómica ($GPA < 3$ y $GPA > 3$), y luego, en la Tabla 1, aparece categorizada en subrangos (0-1, 1-2, 2-3, 3-4) generando ambigüedad. Asimismo, la variable consumo de cafeína se categoriza también como variable dicotómica (sí/no), sin mencionar una justificación por qué no se emplea como una variable continua. Finalmente, en el análisis estadístico se emplea la prueba de correlación de Rho Spearman sin una justificación metodológica explícita, pese a que, para la comparación entre dos grupos con variables dicotómicas, las guías recomiendan el uso de la prueba de Chi-Cuadrado o la prueba exacta de Fisher [3]. Estas pruebas permiten evaluar de

manera apropiada la asociación entre dos variables categóricas. Una correcta elección del análisis permite evaluar de manera precisa la relación entre las variables y sustentar conclusiones confiables.

Para finalizar, en la discusión, se observa que los hallazgos del estudio no se contrastan con investigaciones previas. A modo de ejemplo está la investigación realizada con estudiantes de medicina, en la cual se identificó una alta prevalencia del consumo de productos que contienen cafeína con la finalidad de mejorar el rendimiento académico. Sin embargo, no se llegó a evidenciar una relación significativa entre ambas variables [4]. El considerar este tipo de antecedentes permitiría una mejor interpretación y contextualización de los hallazgos.

El objetivo de las observaciones planteadas es contribuir de manera constructiva a la consolidación a futuro del diseño y análisis de investigaciones relacionadas a esta línea de estudio. La aplicación de un enfoque metodológico más claro y bien fundamentado permitirá obtener hallazgos más sólidos y significativos, especialmente en un área de creciente interés, como lo es la relación entre el consumo de cafeína y el rendimiento académico entre universitarios.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. F. Bitar. Effect of caffeine consumption on the academic performance among students of University of Kalamoon (UOK). *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **54**(1), 104–112 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n1.119552>
2. A. Martín-Conejero & V. Quirós-González. Methodological errors. Biases, *Angiologia*, **76**(4), 233–240 (2024). Doi: <https://doi.org/10.20960/angiologia.00665>
3. K.V.S. Sarma, A. Mohan & S.S. Vedururu. Statistical methods in clinical studies: An overview. *J. Clin. Sci. Res.*, **11**(1), 34–39 (2022). Doi: https://doi.org/10.4103/jcsr.jcsr_69_20
4. D. Tahir, I.U. Rehman & T. Zahra. Assessing the correlation between caffeine consumption and its effect on the academic performance of medical students of Shifa College of Medicine, Islamabad, Pakistan: A cross-sectional study. *J. Rawalpindi Med. Coll.*, **26**(1), 5–10 (2022). Doi: <https://doi.org/10.37939/jrmc.v26i1.1559>

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

S.A. Panta-Castro & H.J. Puente-Espinoza. Observaciones metodológicas a considerar en “Effect of caffeine consumption on the academic performance among students of University of Kalamoon (UOK)”. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **54**(3), 571–572 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.121460>

El mercado de protectores solares en Brasil y América latina: impactos en la salud y el camino hacia la sostenibilidad

Míria Dantas Pereira* & Neila de Paula Pereira

Facultad de Farmacia, Laboratorio de Investigaciones en Medicamentos y Cosméticos (LAPEMEC), Universidad Federal de Bahía, Calle Barão de Jeremoabo, 40170-115, S/N, Ondina, Salvador, Bahía, Brasil.

* Correo electrónico: miriadantaspereira@gmail.com

Recibido: 16 de julio de 2025

Aceptado: 31 de julio de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.121650>

Estimado Editor,

Brasil, debido a su ubicación en una región tropical, es uno de los países más afectados por la elevada irradiación solar a lo largo de las cuatro estaciones del año, lo que se traduce en un aumento del riesgo de fotoenvejecimiento y cáncer de piel. Entre 2023 y 2025, se estima que habrá 220.490 nuevos casos anuales de cáncer de piel no melanoma, lo que representa un aumento del riesgo de 101,95 casos por cada 100.000 habitantes, 101.920 en hombres y 118.570 en mujeres [1].

En este contexto, el mercado brasileño de fotoprotectores se ha disparado, con un importante crecimiento del 28,8% en 2023 y alcanzando los 902 millones de dólares, la cifra más alta hasta la fecha. Tras un periodo de retracción en 2020 y 2021, marcado por las restricciones sanitarias y la reducción del poder adquisitivo de la población, el sector inició su recuperación en 2022 con un aumento del 13%. Este avance convierte a Brasil en el tercer mayor mercado mundial de productos de protección solar, solo por detrás de Estados Unidos y China, según Euromonitor International [2].

El análisis del crecimiento del mercado de protectores solares en Brasil revela tendencias significativas que reflejan no sólo la demanda de protección solar, sino también la relación entre el clima y la salud. Según un estudio realizado por InterPlayers, las farmacias brasileñas han registrado un aumento del 50% en las ventas de protectores solares en los últimos 12 meses, con un crecimiento aún mayor, del 56% entre enero y noviembre de 2023, en comparación con el mismo período del año anterior [3].

El aumento de las ventas de productos de protección solar puede atribuirse en parte a las altas temperaturas y las olas de calor, que aumentan la preocupación por los daños causados por el sol. Con la Ley Federal brasileña 14.539/23, que crea la Campaña Nacional de Prevención de la Exposición Indevida al Sol, se espera una mayor demanda de protección solar, especialmente durante las vacaciones escolares, cuando la exposición al sol es más intensa. Este escenario pone de relieve la necesidad de estrategias de marketing dirigidas y acciones educativas por parte de los farmacéuticos y profesionales sanitarios, teniendo en cuenta las condiciones climáticas y dermatológicas imperantes.

Este escenario se hace aún más evidente al analizar los datos sobre el mercado de la protección solar en Sudamérica en 2024. La Figura 1 revela información significativa sobre los ingresos y las tasas de crecimiento (2024-2029) de diferentes países de la región. Destaca Brasil, con unos ingresos de 210 millones de dólares y una tasa de crecimiento anual del 7,54% [4]. La creciente concienciación sobre los efectos nocivos de la radiación ultravioleta (UV), combinada con el clima tropical del país, ha impulsado una importante demanda de productos de protección solar.

En comparación, Argentina, Chile y Colombia también mostraron unos resultados notables, con unos ingresos de 208,3 millones de dólares, 58,21 millones de dólares y 32,97 millones de dólares, y unas tasas de crecimiento del 6,81%, el 8,35% y el 5,91%, respectivamente. En el caso de Colombia, este crecimiento puede atribuirse a una mayor concienciación sobre los efectos nocivos de la radiación UV, lo cual ha impulsado el consumo de protectores solares, especialmente en regiones como la Costa Caribe y otras zonas del norte del país, donde la exposición solar es más intensa durante todo el año. Perú destaca con una tasa de crecimiento del 7,77%, lo que pone de relieve el aumento de la demanda debido a la elevada altitud del país y a la fuerte radiación ultravioleta. Por el contrario, países como Bolivia y Uruguay presentan unos ingresos considerablemente inferiores, con 6,27 y 2,63 millones de dólares, y unas tasas de crecimiento que oscilan entre el 2,56% y el 5,91% [4] (Figura 1).

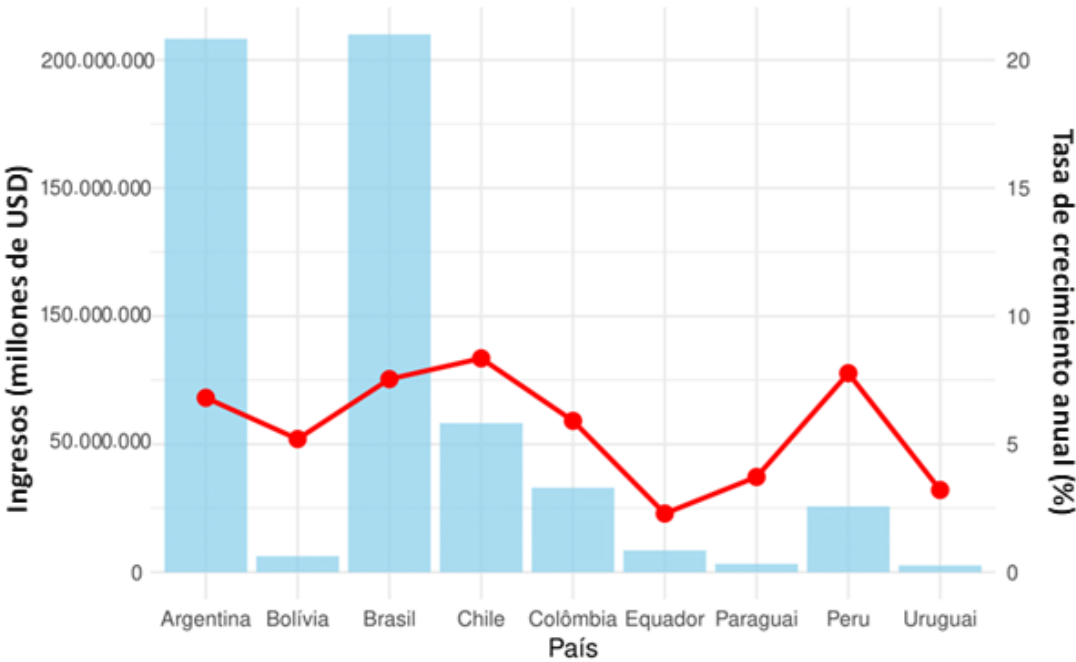


Figura 1. Relación entre los ingresos (en millones) y la tasa de crecimiento (%) del mercado de protección solar en Sudamérica en 2024. Fuente: Elaboración propia con datos de Statista [4].

Con el sólido desempeño de Brasil y las competitivas tasas de crecimiento de Colombia, Chile, Argentina y Perú, la protección solar en América Latina presenta un escenario prometededor. Esta dinámica es esencial a nivel mundial, ya que la región se vuelve cada vez más influyente e innovadora, impactando en las tendencias mundiales de fotoprotección como fórmulas sostenibles, nanotecnología, multifuncionalidad, entre otras. Además, el análisis del mercado latinoamericano indica una mayor concienciación sobre los riesgos de la radiación UV, características geográficas que aumentan la demanda de estos productos y la creciente

relevancia económica de la región, acompañada de la evolución de las expectativas de los consumidores.

Según datos de Mintel [2], el 61% de los brasileños que utilizan protectores solares faciales buscan productos que no sólo protejan contra los daños del sol, sino que también hidraten la piel y ofrezcan beneficios adicionales como resistencia al sudor (51%), enriquecimiento vitamínico (44%) y propiedades antienvjecimiento (43%). Este comportamiento sugiere un cambio en la percepción de la fotoprotección por parte de los consumidores, que ahora la ven no sólo como una medida preventiva contra los efectos nocivos del sol, sino como parte de una rutina más amplia de cuidado de la piel en busca de productos multifuncionales.

Por otro lado, este movimiento también está en consonancia con una tendencia al alza en el mercado de los cosméticos, en el que los consumidores muestran un creciente interés por los productos naturales y sostenibles (aquellos que no contienen parabenos, sulfatos, ftalatos, colorantes y fragancias artificiales, además de otros 600 ingredientes). Una investigación de Factor Kline estimó que, en 2022, el mercado de cosméticos naturales en Brasil alcanzó los 1.730 millones de dólares y se espera que crezca hasta los 2.940 millones en 2025. Además, la investigación indica que mientras que el mercado de cosméticos tradicionales creció una media del 5%, el segmento de cosméticos naturales creció un 10% [5].

Este mercado se está expandiendo y cambiando, especialmente entre los jóvenes de la Generación Z (nacidos entre 1997 y 2012). Existe una creciente preferencia por los productos que incorporan prácticas sostenibles, y muchos están dispuestos a pagar más por esta característica. La creciente concienciación de los jóvenes sobre el calentamiento global y los derechos de los animales ha impulsado la preferencia por productos seguros, éticos y no tóxicos. Además, los factores internos, sociales y culturales desempeñan un papel importante en la decisión de comprar cosméticos sostenibles.

En una encuesta reciente, aunque sólo el 21,7% de los participantes indicó que la «belleza limpia» influye mucho en su elección de cosméticos, el 56,7% estaba dispuesto a pagar más por envases respetuosos con el medio ambiente. El estudio también reveló que, si bien el 36,7% de los consumidores comprueba ingredientes específicos, más de la mitad (56,7%) examina la lista completa, lo que refleja un cauteloso interés por la composición de los productos y la transparencia de las empresas [6]. Este cambio de comportamiento no solo representa una oportunidad para el mercado, sino que también refuerza la importancia de tener en cuenta estas preferencias en los debates actuales sobre salud y bienestar.

El mercado de protectores solares y cosméticos sostenibles en Brasil y América Latina tiene un gran potencial, especialmente dado su posicionamiento global. La creciente demanda de productos ecológicos, especialmente entre los consumidores más jóvenes como la Generación Z, que valoran tanto la protección solar eficaz como las prácticas sostenibles, crea un entorno fértil para que las marcas innoven y se adapten. Para los farmacéuticos y profesionales sanitarios, es importante comprender estos cambios, integrando enfoques que respondan a las necesidades de los pacientes, las exigencias de la salud pública y la preservación del medio ambiente. De este modo, refuerzan el papel de la farmacodermatología, dermatología y de la asistencia sanitaria en su conjunto en la promoción de una fotoprotección más consciente y sostenible.

CONFLICTO DE INTERESES

Las autoras no declaran conflicto de interés

REFERENCIAS

1. Ministério de Saúde do Brasil. *ESTIMATIVA 2023: Incidência de Câncer no Brasil, 2023*. Instituto Nacional de Câncer (inca), Rio de Janeiro, 2023; 162 p. URL: <https://www.inca.gov.br/sites/ufu.sti.inca.local/files/media/document/estimativa-2023.pdf>
2. Cosmetic Innovation. *Crescimento de 28,8% nas vendas de sun care no Brasil em 2023 surpreende*. São Paulo, 2024. URL: <https://cosmeticinnovation.com.br/crescimento-de-288-nas-vendas-de-sun-care-no-brasil-em-2023-surpreende/>
3. Guia da Farmácia. *Vendas de protetores solares aumentam 50% no Brasil, revela pesquisa*. Sindusfarma, São Paulo, 2024. URL: <https://guiadafarmacia.com.br/vendas-de-protetores-solares-aumentam-50-no-brasil/>
4. Statista. *Sun Protection – Worldwide*. Hamburg, 2024. URL: <https://www.statista.com/outlook/cmo/beauty-personal-care/skin-care/sun-protection/worldwide>
5. Cetrot. *Cosméticos Naturais: o Futuro da Indústria da Beleza*. São Paulo, 2023. URL: <https://blog.cetro.com.br/blog/2023/02/27/cosmeticos-naturais-o-futuro-da-industria-da-beleza/>
6. J. Shim, J. Woo, H. Yeo, S. Kang, B. Kwon, E.J. Lee, J. Oh, E. Jeong, J. Lim & S.G. Park. The clean beauty trend among millennial and generation z consumers: Assessing the safety, ethicality, and sustainability attributes of cosmetic products. *SAGE Open*, **14**(2), 1–18 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1177/21582440241255430>

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

M. Dantas-Pereira & N.d.P. Pereira. El mercado de protectores solares en Brasil y América latina: impactos en la salud y el camino hacia la sostenibilidad. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 573–576 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.121650>

Evaluación del riesgo en personal de salud expuestos a casos sospechosos o confirmados con Covid-19 en instituciones de baja, mediana y alta complejidad en Chía, Facatativá y Bogotá D.C., Colombia

José Ricardo Urrego Novoa ^{1*a}, Karol Andrea Méndez Leguizamón ^{1b}, Nancy Yaneth Portela Escandón ^{2c}, Lorena Martínez Delgado ^{2d}, Nelson Rolando Campos Guzman ^{2e} & Danny Wilson Sanjuanelo ^{1f}

¹ Programa Química Farmacéutica, Facultad de Ciencias, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A., Campus Universitario Calle 222 No 55-37, Bogotá D.C., Colombia

² Programa Enfermería, Facultad Ciencias de la Salud, Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales U.D.C.A., Campus Universitario Calle 222 No 55-37, Bogotá D.C., Colombia

*Correo electrónico: jurrego@udca.edu.co

ORCID ID:

^a <https://orcid.org/0000-0002-1496-6610>, ^b <https://orcid.org/0000-0003-4181-584X>

^c <https://orcid.org/0000-0001-5177-3634>, ^d <https://orcid.org/0000-0002-4513-1835>

^e <https://orcid.org/0000-0002-1102-7116>, ^f <https://orcid.org/0000-0003-2729-1234>

Recibido: 16 de febrero de 2024

Corregido: 10 de junio de 2025

Aceptado: 17 de junio de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n2.113010>

RESUMEN

Objetivo: Evaluar el riesgo relacionado con el lugar de trabajo, la fuerza laboral y el individuo en personal de salud expuesto a casos sospechosos o confirmados con Covid-19 en instituciones de II, III y IV nivel de complejidad en Bogotá D.C., Chía y Facatativá-Colombia. **Métodos:** Realizado en el período de agosto de 2020 a mayo de 2021, con personal de salud que atendió casos sospechosos o confirmados con Covid-19. Se identificaron modos de falla en procesos de atención por medio de un análisis matriz de modo falla efecto (AMFE) para cuantificación de ocurrencia, detectabilidad y gravedad por riesgo de exposición a casos sospechosos y confirmados. **Resultados:** Se incluyeron cinco procesos y se identificaron 25 modos de fallo, cuantificados mediante el número prioritario de riesgo (NPR) y clasificados según probabilidad de ocurrencia y severidad en bajo, medio y alto. **Conclusión:** Durante el periodo de tiempo del estudio, el riesgo de contagio en trabajadores de la salud expuestos por atención ambulatoria e intramural de casos sospechosos o confirmados por Covid-19 en las instituciones participantes, se caracterizó por poseer modos de fallo con una ocurrencia media-alta y una severidad moderada a catastrófica.

Palabras-clave: Covid-19, Personal de salud, Evaluación de riesgo, Análisis de modo efecto de fallas en el cuidado de la salud.

SUMMARY

Risk assessment of healthcare personnel exposed to suspected or confirmed cases of COVID-19 in low-, medium-, and high-complexity institutions in Chía, Facatativá, and Bogotá D.C., Colombia

Objetivo: Evaluate the risk related to the workplace, the workforce and the individual in health personnel exposed to suspected or confirmed cases with Covid-19 in institutions of II, III and IV level of complexity in Bogotá D.C., Chía and Facatativá-Colombia. **Methods:** Carried out in the period from August 2020 to May 2021, with health personnel who treated suspected or confirmed cases with Covid-19. Failure modes in care processes were identified through a failure mode effect matrix analysis (FMEA) to quantify occurrence, detectability, and severity by risk of exposure to suspected and confirmed cases. **Results:** Five processes were included, and 25 failure modes were identified, quantified by the risk priority number (NPR) and classified according to probability of occurrence and severity in low, medium and high. **Conclusion:** During the study period, the risk of contagion in health workers exposed by ambulatory and intramural care of suspected or confirmed cases of Covid-19 in the participating institutions was characterized by failure modes with a medium-high occurrence and moderate to catastrophic severity.

Keywords: Covid-19, Health personnel, Risk assessment, Healthcare failure mode and effect analysis.

RESUMO

Avaliação de risco de profissionais de saúde expostos a casos suspeitos ou confirmados de COVID-19 em instituições de baixa, média e alta complexidade em Chía, Facatativá e Bogotá, Colômbia

Objetivo: Avaliar o risco no local de trabalho, na força de trabalho e individual de profissionais de saúde expostos a casos suspeitos ou confirmados de COVID-19 em instituições de complexidade nível II, III e IV em Bogotá, Chía e Facatativá, Colômbia. **Métodos:** Realizado de agosto de 2020 a maio de 2021, com profissionais de saúde que atenderam casos suspeitos ou confirmados de COVID-19. Os modos de falha nos processos de cuidado foram identificados por meio de uma análise de matriz de modo-efeito de falha (FMEA) para quantificar a ocorrência, a detectabilidade e a gravidade por risco de exposição a casos suspeitos e confirmados. **Resultados:** Cinco processos foram incluídos e 25 modos de falha foram identificados, quantificados usando o número de risco prioritário (PRN) e classificados de acordo com a probabilidade de ocorrência e gravidade em baixa, média e alta. **Conclusão:** Durante o período do estudo, o risco de infecção entre profissionais de saúde expostos a casos suspeitos ou confirmados de COVID-19 por meio de atendimento ambulatorial e hospitalar nas instituições participantes foi caracterizado por modos de falha com ocorrência média-alta e gravidade moderada a catastrófica.

Palavras-chave: COVID-19, Profissionais de saúde, Avaliação de risco, Análise de modo e efeito de falha em saúde.

1. INTRODUCCIÓN

El Covid-19 causado por SARS-Cov-2 ocasionó en Colombia 80.909 casos confirmados y 355 fallecidos en personal de salud para el periodo de tiempo comprendido entre el 10 de marzo de 2020 y el 12 julio de 2022 [1]. El personal de salud que se encuentra en la primera línea de respuesta con pacientes que sean casos sospechosos o confirmados por Covid-19, presentan un mayor riesgo de contraer la enfermedad si tiene contacto cercano en un espacio relativamente reducido y, posteriormente, exponer a otros pacientes y a personas fuera del contexto de salud, que sean cercanas. Con el brote global de coronavirus, hay cada vez más evidencia de que muchas infecciones de COVID-19 son asintomáticas, pero pueden transmitir el virus a otros. El término asintomático se refiere a la detección positiva de ARN de SARS-CoV-2 en muestras de pacientes mediante prueba molecular de reacción en cadena de polimerasa con transcriptasa inversa (RT.PCR) pero sin la presencia de síntomas o signos clínicos, y sin anomalías aparentes en imágenes, incluida la tomografía computarizada (TC) de pulmón [2]. El personal de salud que realiza intervenciones representa una población importante dentro de

los portadores asintomáticos, para lo cual mediante la evaluación del riesgo es posible la identificación de fallas en la atención de casos sospechosos o confirmados con Covid-19 que representa un aspecto importante pero poco [3]. De otra parte, esta población puede experimentar un mayor riesgo de infección por SARS-CoV-2 debido a su contacto cercano con pacientes altamente infecciosos, pero también debido a la exposición a casos infecciosos subclínicos o no diagnosticados. Esto podría ser aún más problemático, considerando posibles fallas en procedimientos de atención realizados de forma rutinaria [4].

2. METODOLOGIA

Se trata de un estudio descriptivo de corte transversal para cuantificar el riesgo de contagio del personal de salud expuesto. El universo de estudio fue conformado por todos los procesos para atención de casos sospechosos o confirmados con Covid-19 en tres instituciones de atención en salud de II, III y IV nivel de complejidad en Chía, Facatativá y Bogotá D.C. respectivamente, entre el 06 de marzo de 2020 y el 06 de marzo de 2021.

La evaluación de riesgo relacionado con el lugar de trabajo, la fuerza laboral y el individuo fue obtenido a partir de la utilización de matrices de modo falla efecto AMFE y la posterior obtención de mapas de calor de riesgo teniendo en cuenta la aplicación de la secuencia de trabajo presentada en la figura 1.

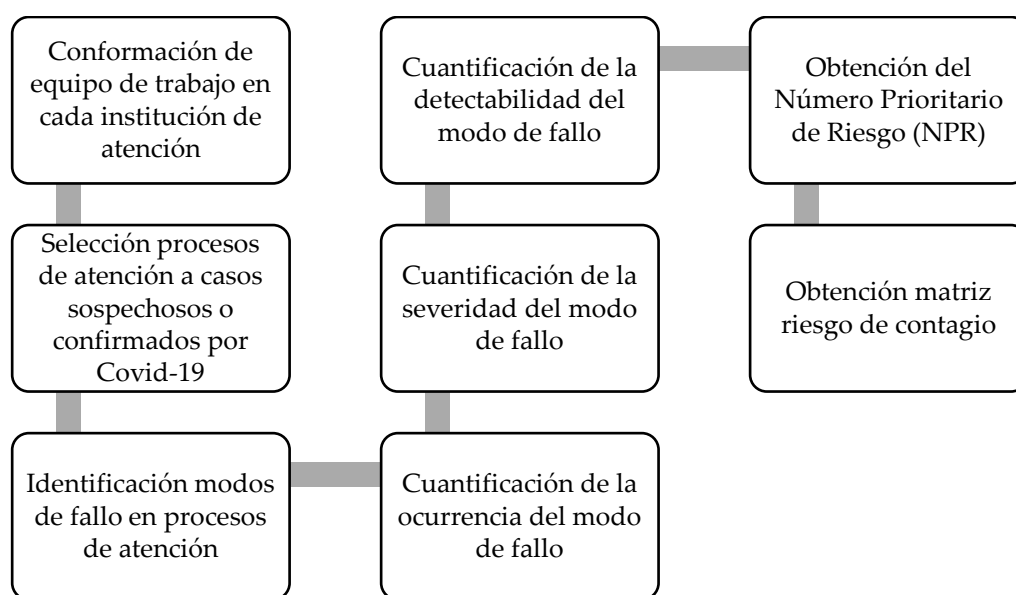


Figura 1. Secuencia de trabajo para valoración de riesgo de contagio en personal de salud por atención a casos sospechosos o confirmados con Covid-19

El equipo de trabajo fue conformado por personal de salud encargado de procesos en áreas de atención, responsables de epidemiología, seguridad y salud en el trabajo (SST), administración y educación en las instituciones de II, III y IV nivel de atención respectivamente.

La cuantificación del riesgo del modo de fallo en relación con aspectos para ocurrencia, severidad y detectabilidad fueron obtenidos a partir de la utilización de escalas de medición establecidas para cada aspecto en particular [5]. El número prioritario de riesgo (NPR) fue obtenido a partir del producto de los valores de cada aspecto en particular para modos de fallo identificados.

El mapa de calor de riesgo para cada área y procesos de atención fue obtenido con base en la detección, ocurrencia y la gravedad del modo de fallo identificado por el grupo de trabajo respectivo en cada institución de atención. Para la identificación del nivel de los aspectos anteriormente mencionados se utilizaron tablas de ponderación del mismo, como se muestra a continuación.

Tabla 1. Ponderación de la detectabilidad de riesgo en salud.

Tabla de Detectabilidad	
Escala	Detectabilidad
1	El mecanismo de control permite detectar inmediatamente la causa de la falla, antes de que esta se genere.
2	El mecanismo de control permite detectar después de un tiempo la causa de la falla, antes de que esta se genere.
3	El mecanismo de control permite detectar la causa de la falla cuando ya se generó la falla.
4	El mecanismo de control existe, pero no es efectivo en la detección de la causa de la falla.
5	No existe ningún mecanismo que permita detectar la causa de la falla.

Tabla 2. Ponderación de la ocurrencia de riesgo en salud.

Tabla de Ocurrencia	
Escala	Ocurrencia
1	Remota, la falla sucede al menos una vez cada 6 meses
2	Muy poca, la falla sucede al menos una vez al mes
3	Intermedia, la falla sucede al menos una vez cada semana
4	Frecuente, la falla sucede al menos una vez cada día.
5	Muy frecuente, la falla sucede casi todo el tiempo

Tabla 3. Ponderación de la ocurrencia de riesgo en salud.

Tabla de Severidad	
Escala	Severidad
1	El efecto de la falla no alcanza ni genera ningún daño al paciente o al personal involucrado en el proceso.
2	El efecto de la falla alcanza al paciente o al personal involucrado en el proceso, sin generar daño.
3	El efecto de la falla alcanza al paciente o el personal involucrado en el proceso generando un daño parcial que se puede solucionar en un corto plazo.
4	El efecto de la falla alcanza al paciente o al personal involucrado en el proceso generando una pérdida funcional, física y/o emocional.
5	El efecto de la falla impacta directamente al paciente o al personal involucrado en el proceso y le ocasiona un daño permanente e irreversible o la muerte/La falla ocasiona incumplimiento a política.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Selección procesos de atención

En cada institución participante se priorizaron los procesos de atención por Covid-19 (Tabla 4). La selección de los procesos de atención referenciados se basó en fue basada en el grado de complejidad de cada institución, el estado de salud de los casos sospechosos o confirmados y la frecuencia de utilización de procesos en estas poblaciones específicas.

Tabla 4. Procesos de atención para paciente sospechoso o confirmado por Covid-19

Grado complejidad institución de atención en salud	Procesos de atención
II	Triage en pandemia por Covid-19
	Realización de pruebas Covid-19 en el ámbito ambulatorio o domiciliario
III	Atención intramural de paciente confirmado Covid-19 en servicio de hospitalización
	Manejo, traslado y disposición final de cadáveres por Covid-19
IV	Atención de enfermería en unidad de cuidado intensivo

3.2. Procesos de atención para paciente sospechoso o confirmado Covid-19 en segundo nivel de atención

La alta transmisibilidad del coronavirus se ha informado anteriormente tanto para el SARS-1 como para el MERS, con proporciones de trabajadores sanitarios infectados que oscilan entre el 13 y el 43 %, según datos específicos de cada país. Para brotes individuales, hasta el 59 % de las personas afectadas eran trabajadores sanitarios [6].

La tabla 5 evidencia actividades de atención en triage en la cuales se identificaron cuatro modos de fallo ocasionados por el uso no adecuado de EPP ocasionado un riesgo de contagio por SARS CoV-2 debido a la presencia de gotitas infecciosas expulsadas al toser o estornudar en una membrana mucosa (boca, nariz, ojos) y aerosoles referentes a colecciones de partículas cargadas de patógenos en el aire. El patógeno permanece en el aire durante un período de tiempo y este puede alcanzar los tejidos diana en los que se inicia la infección [7]. El grado de severidad asignado contempla daños parciales y pérdida funcional, física y/o emocional, debidos a la contaminación por SARS-CoV-2, lo anterior conlleva a que personal sanitario se haya visto sometido a cargas laborales agobiantes debido al miedo por la probabilidad de contagio y afectación del núcleo familiar o compañeros. De igual manera se ha evidenciado que la mitad del personal sanitario presentó riesgo alto de padecer un trastorno mental, siendo las patologías más frecuentes los trastornos de depresión, ansiedad, pánico, estrés postraumático y el abuso de sustancias [8].

Tabla 5. Triage en pandemia Covid-19

No. Actividad	Actividad	Modo de fallo	Severidad	Probabilidad de ocurrencia	Detectabilidad	NPR
1	Atención en sala de reanimación, triage I	Traslado de pacientes a sala de RCP, sin uso adecuado de los EPP.	4	3	3	36
2	Encuestas pacientes sospechosos o confirmados COVID-19, en las zonas de pre-triage y triage respiratorio	Recepción de paciente en las áreas de pre-triage y triage, sin uso adecuado EPP por parte del profesional en el área	3	3	3	27
3	Atención en sala de reanimación triage I	Atención de pacientes en sala de RCP, sin uso adecuado de los EPP.	4	2	2	16

4	Atención médica, en el área externa de urgencias para pacientes triage III	Toma de muestras de pacientes triage III	3	2	2	12
5	Atención médica en consultorio designado para pacientes en Triage II	Recepción del paciente en el área de consulta para Triage II, en Atención Médica en Consultorio, sin los EPP adecuados	2	2	2	8

EPP: Elementos de protección personal, RCP: Rehabilitación cardiopulmonar

La figura 2 muestra el comportamiento de los riesgos en donde se evidencia con relación al NPR un 60,00% de las actividades en un nivel medio, seguido por 20,00% en riesgo alto y un 20% en riesgo bajo respectivamente. Estos hallazgos concuerdan con otros estudios en los cuales un punto crítico para la transmisión de SARS CoV-2 es el Triage [9].

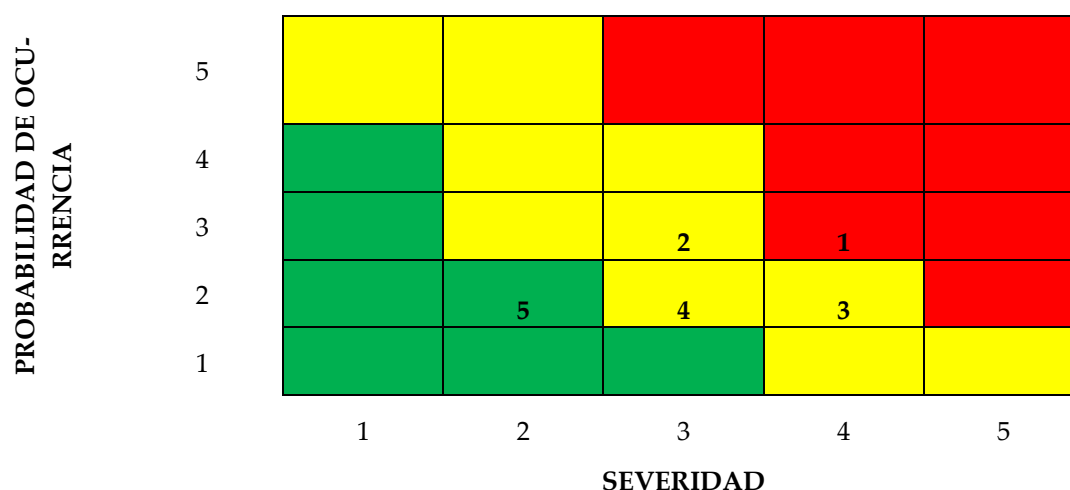


Figura 2. Triage en pandemia Covid-19

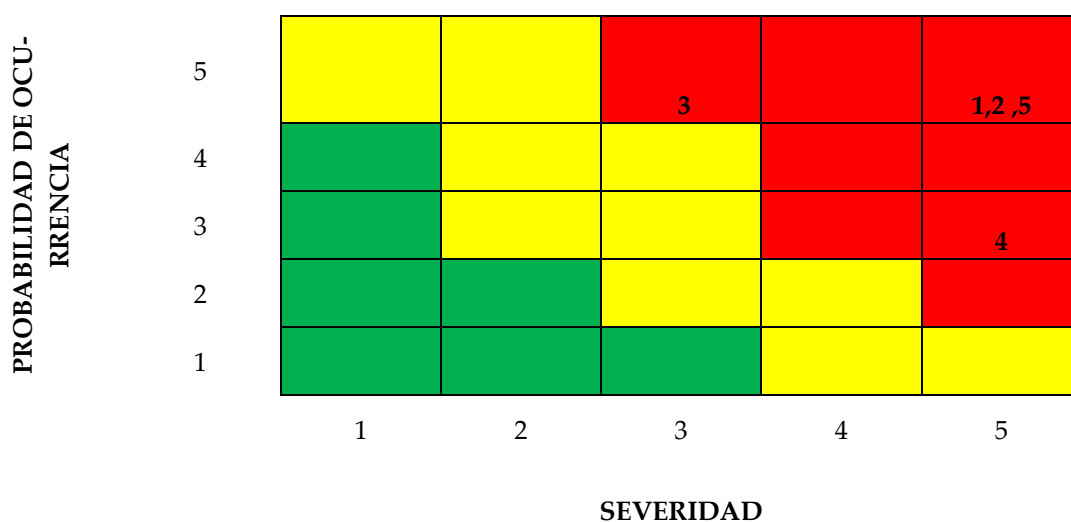
La Tabla 6 muestra la cuantificación del riesgo de contagio acorde con la obtención del NPR para realización de pruebas de Covid-19 en ámbitos ambulatorios o domiciliarios. Se evidenció un mayor riesgo para recolección de muestras biológicas, realización de consulta general debido al no cumplimiento de utilización de EPP, distanciamiento y realización de procesos de limpieza inadecuados de elementos que han tenido contacto con pacientes. Lo anterior ha sido reportado como aspectos críticos en el trabajo de Ağalar y Engin [10]. En el trabajo de Ríos-Bracamontes *et al.* [11], el personal de laboratorio representó un pequeño porcentaje (1,5%) de la población del estudio (n=2163), pero presentó la tasa de incidencia observada más alta de COVID-19 (46,9%) en comparación con el segundo grupo de mayor incidencia representado por profesionales en medicina y enfermería (36,8%). Estas personas son responsables de manipular y procesar muestras, lo que puede implicar un mayor riesgo de exposición al virus. La elevada tasa de incidencia observada entre el personal de laboratorio resalta la necesidad de medidas de seguridad estrictas y protocolos de prueba regulares dentro del laboratorio para minimizar el riesgo de transmisión y proteger a este grupo vulnerable de trabajadores.

Tabla 6. Realización de pruebas Covid-19 en el ámbito ambulatorio o domiciliario

No. Actividad	Actividad	Modo de fallo	Severidad	Probabilidad de ocurrencia	Detectabilidad	NPR
1	Recolección de información y muestras biológicas de casos sospechoso o confirmado por Covid-19	No cumplimiento con distanciamiento requerido ni utilización de EPP debido a la aglomeración en salas de espera	5	5	5	125
2	Consulta medicina general-interrogatorio respiratorio según lineamientos y definición de caso	Portar los elementos de protección personal, de manera incompleta o inadecuada.	5	5	5	125
3	Caso sospechoso en aislamiento domiciliario con signos y síntomas	Procedimientos de limpieza inadecuados de elementos que han tenido contacto con fluidos biológicos de casos sospechosos en el ámbito domiciliario.	3	5	5	75
4	Hospitalización	Atención del paciente en áreas no demarcadas para manejo intrahospitalario.	5	3	5	75
5	Observación en Urgencias	Atención del paciente fuera de cubículos designados debido a aglomeración de pacientes.	5	5	3	75

EPP: Elementos de protección persona

En la Figura 3 se observa que las actividades relacionadas con la realización de pruebas en el ámbito ambulatorio y hospitalario fueron evaluadas como un riesgo alto de contagio para personal de salud debido a las características evaluadas por los equipos de trabajos, bajo las cuales la presencia de fluidos biológicos de un caso sospechoso o confirmado representa un riesgo de contagio para todas aquellas personas que no utilizan o hacen uso inadecuado EPP.

**Figura 3.** Realización de pruebas Covid-19 en el ámbito ambulatorio o domiciliario

3.3. Procesos de atención para paciente sospechoso o confirmado Covid-19 en tercer nivel de atención

En la tabla 7 se presenta la cuantificación del riesgo en actividades desarrolladas dentro de la atención intramural de pacientes confirmados por Covid-19. El uso inadecuado de EPP, la no observancia de espacios físicos para atención de pacientes, las medidas deficientes en procesos de limpieza y desinfección de equipos y espacios y la aglomeración en sitios de atención fueron las causas de fallo de mayor frecuencia y riesgo de contagio para personal de salud, lo anterior ha sido evaluado por otros autores en el caso de personal de salud [12].

Tabla 7. Atención intramural de paciente confirmado Covid-19 en servicio de hospitalización

No. Actividad	Actividad	Modo de fallo	Severidad	Probabilidad de ocurrencia	Detectabilidad	NPR
1	Consulta medicina general	Portar los elementos de protección personal, de manera incompleta o inadecuada.	5	5	5	125
2	Hospitalización	Atención del paciente en área no designada para manejo intrahospitalario.	5	5	5	125
3	Paciente en aislamiento domiciliario con signos y síntomas	La no limpieza de sillas de ruedas (equipos médicos), para el transporte de los pacientes.	3	5	5	75
4	Toma de datos por parte de personal sanitario	Aglomeración en la sala de espera	5	5	1	25
5	Interconsulta	Uso de ascensores, no institucionales covid-19 para llegar a interconsulta	1	3	5	15
6	Atención en consulta médica	No adherencia al instructivo de higiene de manos.	1	1	5	5
7	Transporte o direccionamiento de pacientes Covid-19 a la zona de aislamiento	No uso de la ruta institucional	1	1	1	1

La figura 4 presenta el comportamiento de los riesgos en relación con la frecuencia y la severidad encontrándose dos actividades de bajo riesgo, relacionadas con el transporte de pacientes dentro de las instituciones. Se clasificaron cinco modos de fallos de alto riesgo relacionadas con uso inadecuado de EPP, la no observancia de espacios físicos para atención de pacientes, las medidas deficientes en procesos de limpieza y desinfección de equipos y espacios y la aglomeración en sitios de atención como se presentó en la cuantificación del riesgo anteriormente.

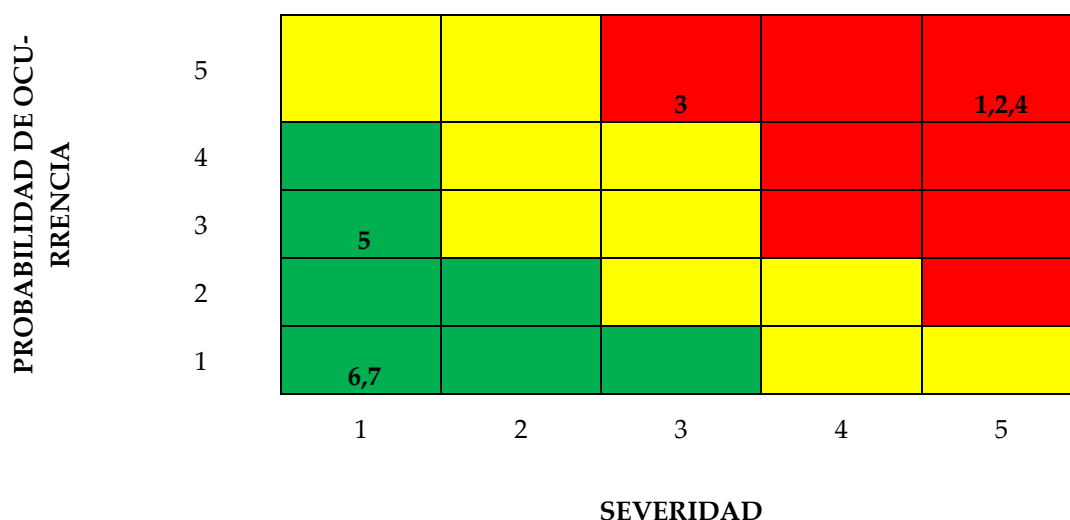


Figura 4. Atención intramural de paciente confirmado Covid-19 en servicio de hospitalización

En la tabla 8 se presenta la cuantificación del riesgo en el manejo, traslado y disposición final de cadáveres por Covid-19 evidenciándose que la ausencia en la disposición de cápsulas de traslado o la presencia de fisuras en las mismas fueron los modos de fallos con mayor riesgo de posible contagio por SARS-CoV-2. Según El riesgo de contagio de SARS-CoV-2 en personal de salud de primera línea de atención que manipula cuerpos fallecidos debido a Covid-19, ha sido estudiado encontrándose factores de riesgo relacionados con la exposición de superficies contaminadas, gotículas respiratorias o fluidos corporales de fallecidos contagiados, así como un mayor riesgo del personal de salud en autopsias u otros procedimientos invasivos [13].

Entre otros Putra *et al.* reportaron tasa de persistencia y rango máximo del intervalo post-mortem (PMI) para SARS-CoV-2 en los pulmones (138/155, 89,0 %; 4 meses), seguido del humor vítreo (7/37, 18,9 %; 3 meses), nasofaringe/orofaringe (156/248, 62,9%; 41 días), órganos abdominales (67/110, 60,9%; 17 días), piel (14/24, 58,3%; 17 días), cerebro (14/31, 45,2%; 17 días), médula ósea (2/2, 100%; 12 días), corazón (31/69, 44,9%; 6 días), tejidos musculares (9/83, 10,8%; 6 días), tráquea (9/20, 45,0%; 5 días) y tejidos periorales (21/24, 87,5%; 3,5 días) [14].

Las tasas de infectividad del SARS-CoV-2 en estudios de cultivo viral se detectaron en los pulmones (9/15, 60%), la tráquea (2/4, 50%), la orofaringe (1/4, 25%) y perioral (1/4, 25%) en un rango máximo del PMI de 17 días. El SARS-CoV-2 persiste en el cuerpo humano meses después de la muerte y debería ser infeccioso durante semanas.

La persistencia del ARN del SARS-CoV-2 y de las proteínas estructurales se observa en la mayoría de los cadáveres de COVID-19. El sitio principal es el tracto respiratorio, particularmente los pulmones y la faringe [15].

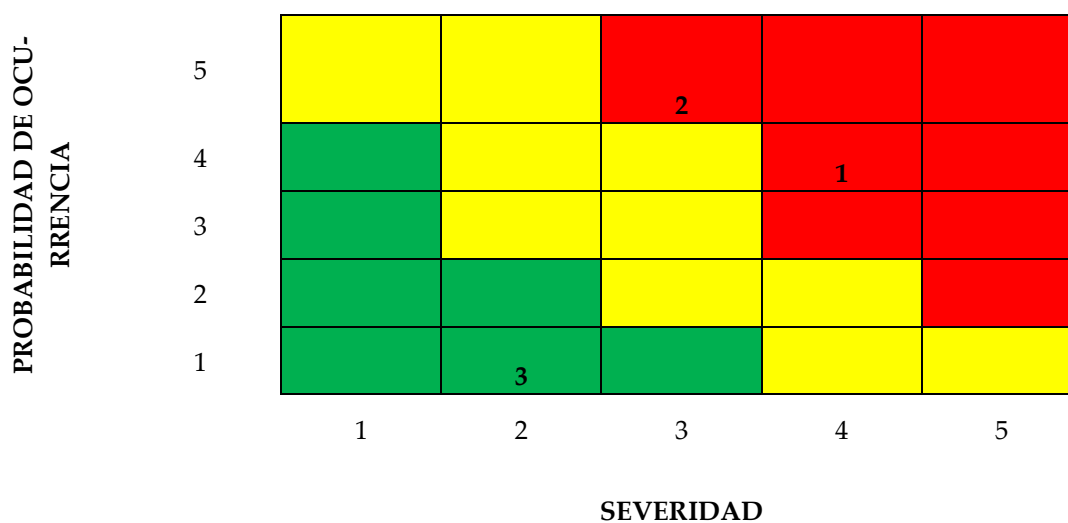
Sin embargo, el ARN o la proteína viral por sí solos no pueden infectar otra célula humana. La detección del ARN post mortem restante se explica por las tasas de replicación del ARN residual, su degradación catabólica y la actividad citotóxica de las células infectadas anteriormente vivas [16].

La infectividad del SARS-CoV-2 todavía se detecta hasta 17 días después de la muerte, particularmente en el pulmón, la tráquea [17].

Tabla 8. Manejo, traslado y disposición final de cadáveres por Covid-19

No. Actividad	Actividad	Modo de fallo	Severidad	Probabilidad de ocurrencia	Detectabilidad	NPR
1	Manejo capsula de traslado pacientes confirmados Covid-19	No disponibilidad de cápsula y/o presencia de fisuras o aperturas en el cuerpo de la misma	4	4	2	32
2	Manejo cadáveres causa muerte por SARS – CoV-2	No observancia del procedimiento para retiro catéteres, sondas o tubos que pueden contener fluidos corporales	3	5	1	15
3	Manejo cadáveres causa muerte por SARS – CoV-2	Observancia no adecuada del protocolo para limpieza de equipos de traslado.	2	1	1	2

En la Figura 5 se observa la clasificación de los riesgos identificados y cuantificados, evidenciándose que los modos de fallo relacionados directamente con la disposición del cadáver y su traslado representan un riesgo alto de posible contagio.

**Figura 5.** Manejo, traslado y disposición final de cadáveres con diagnóstico COVID-19

3.4. Procesos de atención para paciente sospechoso o confirmado Covid-19 en cuarto nivel de atención

La Tabla 9 evidencia fallas en seguimiento de protocolos de lavado de manos y uso adecuado de EPP en reanimación cardiopulmonar; siendo esta actividad frecuente por enfermería en unidad de cuidado intensivo para pacientes Covid-19 como ha sido reportado por otros autores [18].

De otra parte, actividades relacionadas con el baño del paciente, cambio de dispositivos médicos que tienen contacto con fluidos y obtención de muestras para realización de exámenes paraclínicos son consideradas de alto riesgo al identificar modos de fallo relacionados con se-

guimiento de protocolos de bioseguridad para el profesional de enfermería. Lo anterior conlleva a un elevado riesgo de afectación en el personal de enfermería, ocasionado afectación a la salud e incapacidades y presencia de Síndrome de Bournout [19].

Tabla 9. Atención de enfermería en unidad de cuidado intensivo

No. Actividad	Actividad	Modo de fallo	Severidad	Probabilidad de ocurrencia	Detectabilidad	NPR
1	Reanimación cardio pulmonar	No realización lavado de manos ni cambio de guantes.	5	5	3	75
2	Reanimación cardio pulmonar	No usar todos los Elementos de Protección Personal de manera correcta.	5	2	3	30
3	Baño de paciente	No realizar el lavado de manos y cambio de guantes	3	3	3	27
4	Cambio de dispositivos médicos que tienen contacto con fluidos biológicos	No realizar lavado de manos y cambio de guantes al realizar la actividad	3	3	3	27
5	Pruebas de biomarcadores o exámenes de laboratorio	Uso inadecuado de los elementos de protección personal o no uso de estos en su totalidad	3	3	2	18

La Figura 6 presenta el comportamiento del riesgo en relación con la frecuencia y la gravedad del efecto, acorde con el NPR, las actividades de reanimación cardiopulmonar son consideradas de alto riesgo (59.32%), seguidas por actividades de baño de paciente, cambio de dispositivos y pruebas de laboratorio en riesgo medio (40.68%). La OMS ha considerado la reanimación cardiopulmonar un procedimiento generador de aerosoles [20].

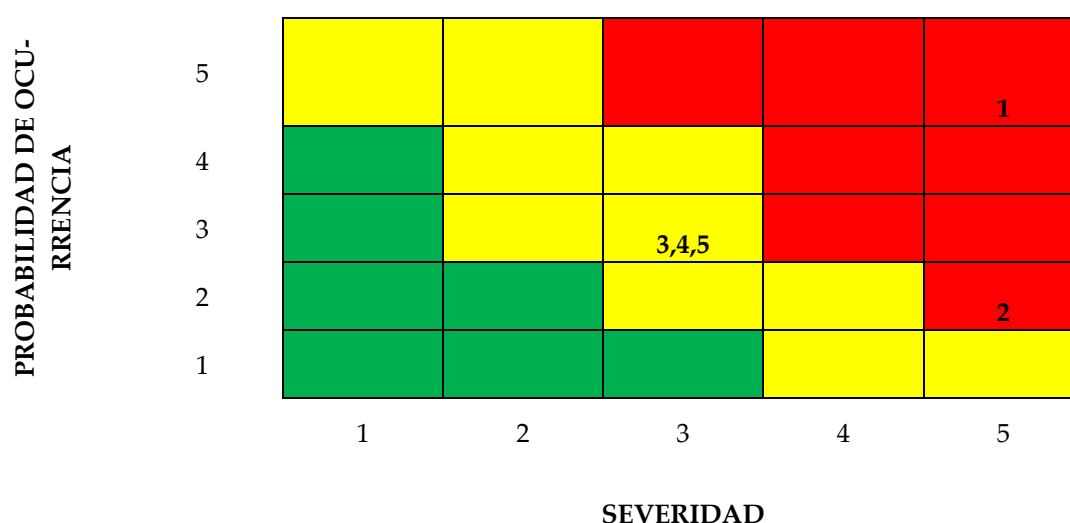


Figura 6. Atención de enfermería en unidad de cuidado intensivo

4. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

En los procesos de atención durante la pandemia de Covid-19 se identificaron actividades de mayor riesgo de contagio para el personal sanitario en relación con el uso inadecuado de equipos de protección personal EPP, aglomeración de personas en zonas de atención y manipulación de fluidos biológicos en procedimientos invasivos, por lo que es prioritario tener en cuenta el nivel de complejidad de la institución para fortalecer las medidas de bioseguridad, la generación de intervenciones para el correcto uso de los elementos de protección personal y así la reducción del contagio.

La metodología de evaluación de riesgo a través de la obtención del NPR permitió identificar los riesgos potenciales para el contagio del personal sanitario en los procesos de atención en salud a pacientes Covid-19, siendo los procesos de atención intramural, manejo de cadáveres y procedimientos de reanimación cardiopulmonar, donde se presenta el mayor riesgo de contagio por fallas en el cumplimiento de los protocolos de bioseguridad y atención en salud.

Debido a la naturaleza del virus SARS-CoV-2 y su persistencia en superficies y fómites se deben generar protocolos estrictos y adecuados para la atención de pacientes Covid-19 y el manejo de cadáveres fallecidos por este virus, para la mitigación del riesgo de contagio en personal de salud de primera línea.

Los protocolos de uso de elementos de protección personal, limpieza y desinfección en áreas críticas deben garantizar adherencia del personal sanitario, para lo cual se deben generar estrategias de educación y control.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen la participación activa de los equipos de trabajo pertenecientes a las instituciones de atención en salud de II, III, y IV nivel de complejidad en Chía, Facatativá y Bogotá D.C. respectivamente.

DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no tener conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. República de Colombia, Instituto Nacional de Salud (INS). COVID-19 en Colombia. Bogotá D.C. URL: <https://www.ins.gov.co/Noticias/Paginas/Coronavirus.aspx>, consultado en junio de 2023.
2. Z. Gao, Y. Xu, C. Sun, X. Wang, Y. Guo, S. Qiu & K. Ma. A systematic review of asymptomatic infections with COVID-19. *J. Microbiol. Immunol. Infect.*, **54**(1), 12–16 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.05.001>
3. S.A. Gómez, O.H. Franco, L.Z. Rojas, P.F. Ranguindin, Z. M. Roa, B.M. Wyssmann, S.L. Romero, L.E. Echeverría, M. Glisic & T. Muka. COVID-19 in health-care workers: A living systematic review and meta-analysis of prevalence, risk factors, clinical characteristics, and outcomes. *Am. J. Epidemiol.*, **190**(1), 161–175 (2021) Doi: <https://doi.org/10.1093/aje/kwaa191>
4. C. Paris, E. Tadié, C. Heslan, P. Gary-Bobo, S. Oumary, A. Saade, A. Sitruk, P. Wild, V. Thibault, P. Tattevin & R. Garlantezec. Risk factors for SARS-CoV-2 infection among health care workers. *Am. J. Infect. Control*, **50**(4), 375–382 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2021.11.001>
5. B. Teklewold, D. Anteneh, D. Kebede & W. Gezahegn. Use of failure mode and effect analysis to reduce admission of asymptomatic COVID-19 patients to the Adult Emergency Department: An

-
- institutional experience. *Risk Managem. Healthcare Policy*, **14**, 273–282 (2021). Doi: <https://doi.org/10.2147/rmhp.s284835>
6. G. Chowell, F. Abdirizak, S. Lee, J. Lee, E. Jung, H. Nishiura & C. Vibout. Transmission characteristics of MERS and SARS in the healthcare setting: a comparative study. *BMC Medicine*, **13**, 210 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12916-015-0450-0>
 7. R. Sommertein, C. Andreas Fux, D. Vuichard-Gysin, M. Abbas, J. Marschall, C. Balmelli, N. Troillet, S. Harbath, M. Schlegel & A. Widmer. Risk of SARS-CoV-2 transmission by aerosols, the rational use of masks, and protection of healthcare workers from COVID-19. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, **9**(1), 100 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1186/s13756-020-00763-0>
 8. B. Montes-Verges & E. Fernández-García. The effect of pandemic on health and Burnout Syndrome in ICU nursing professionals. *Enfermería Global*, **66**, 15–27 (2022). Doi: <https://doi.org/10.6018/eglobal.483261>
 9. G. Ye, H. Lin, S. Chen, S. Wang, Z. Zeng, W. Wang, S. Zhang, T. Rebmman, Y. Li, Z. Pan, Z. Yang, Y. Wang, F. Wang, Z. Qian & X. Wang. Environmental contamination of SARS-CoV-2 in healthcare premises. *J. Infect.*, **81**(2), e1–e5 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.04.034>
 10. C. Ağalar & D.Ö. Engin. Protective measures for COVID-19 for healthcare providers and laboratory personnel. *Turk. J. Med. Sci.*, **50**(9), 578–584 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3906/sag-2004-132>
 11. E.F. Ríos-Bracamontes, L.E. Iñiguez-Arias, R.J. Ochoa-Jiménez, J. Guzmán-Esquivel, M.I. Cárdenas-Rojas & E. Murillo-Zamora. Risk of testing positive for COVID-19 among healthcare and healthcare-related workers. *Vaccines*, **11**(7), 1260 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/vaccines11071260>
 12. L.H. Nguyen, D.A. Drew, M.S. Graham, A.D. Joshi, C.G. Guo, W. Ma, R.S. Mehta, E.T. Warner, D.R. Sikavi, C.H. Lo, *et al.* Risk of COVID-19 among front-line health-care workers and the general community: a prospective cohort study. *Lancet, Public Health*, **5**(9), e475–e483 (2020). Doi: [https://doi.org/10.1016/S2468-2667\(20\)30164-X](https://doi.org/10.1016/S2468-2667(20)30164-X)
 13. J. O’Keffe. Field inquiry: COVID-19 risks from handling the deceased. National Collaborating Centre for Environmental Health, Vancouver (BC), 2021; 12 p. URL: <https://ncceh.ca/resources/evidence-briefs/covid-19-risks-handling-deceased>
 14. S.P. Putra, T. Hidayat & R.T. Zhuhra. SARS-CoV-2 persistence and infectivity in COVID-19 corpses: a systematic review. *Forensic Sci. Med. Pathol.*, **19**(1), 94–102 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1007/s12024-022-00518-w>
 15. G. Kampf, D. Todt, S. Pfaender & E. Steinmann. Persistence of coronaviruses on inanimate surfaces and their inactivation with biocidal agents. *J. Hosp. Infect.*, **104**(3), 246–251 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2020.01.022>
 16. J. León-Molina & E. Abad-Corpa. Desinfectantes y antisépticos frente al coronavirus: Síntesis de evidencias y recomendaciones. *Enfermería Clínica*, **31**(Suppl. 1), S84–S88 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2020.05.013>
 17. A. Gaspar-Rodríguez, A. Padilla-González & E. Rivera-Toledo. Coronavirus persistence in human respiratory tract and cell culture: An overview. *Braz. J. Infect. Dis.*, **25**(5), 101632 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2021.101632>
 18. S. Plenzig, D. Bojkova, H. Held, A. Berger, F. Holz, J. Cinatl, E. Gradhand, M. Kettner, A. Pfeiffer, M.A. Verhoff & S. Ciesek. Infectivity of deceased COVID-19 patients. *Int. J. Legal Med.*, **135**(5), 2055–2060 (2021). DOI: <https://doi.org/10.1007/s00414-021-02546-7>
 19. C.G. Murphy, M.S. Nishikawa, S.T. Char, S.K. Nemeth, M. Parekh, W.A. Bulman, C. Wu, G.W. Neuberger, I.K. Louh, N.W. Schluger, *et al.* In COVID-19 patients who suffer in-hospital cardiac arrest, cardiopulmonary resuscitation outcomes may be impacted by arrest etiology and local pandemic conditions. *Crit. Care Explor.*, **4**(2), e0605 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1097/cce.0000000000000605>
 20. A.P. Kulkarni, Y. Singh, H. Garg & S. Jha. Cardiopulmonary resuscitation during COVID-19 pandemic: outcomes, risks, and protective strategies for the healthcare workers and ethical considerations. *Indian J. Crit. Care Med.*, **24**(9), 868–872 (2020). URL: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33132575/>
-

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

J.R. Urrego-Novoa, K.A. Méndez-Leguizamón, N.Y. Portela-Escandón, L. Martínez-Delgado, N.R. Campos-Guzman & D.W. Sanjuanelo. Evaluación del riesgo en personal de salud expuestos a casos sospechosos o confirmados con Covid-19 en instituciones de baja, mediana y alta complejidad en Chía, Facatativá y Bogotá D.C., Colombia. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, 54(3), 577–590 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.113010>

Prediction of diseases using transformers for gene expression dataset

Immaculate Mercy^{1*} & M. Chidambaram²

¹Department of Computer Science and Applications, Periyar Maniammai Institute of Science & Technology (Deemed to be University), Thanjavur, India

²Department of Computer Science, Rajah Serfoji Govt College, (Auto), Thanjavur, Affiliated to Bharathidasan University, Tiruchirappalli, India

*Corresponding author E-mail: immaculatemercy@pmu.edu.ss

Received: February 11, 2025

Corrected: June 10, 2025

Accepted: June 17, 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.118814>

SUMMARY

Introduction: Gene expression is a significant process which bridges the gap between information encoded within a gene and the final functional product of a gene. Therefore, evaluating gene expression is a vital process in terms of developing treatment and monitoring of disease, as diseases can result in unforeseen consequences. **Objectives:** Various studies have incorporated the Deep Learning (DL) concept with gene datasets for prediction of disease. However, prevailing DL methods are considered to be extremely ineffective in terms of accuracy and other aspects of disease prediction. Therefore, DL with transformers are applied for predicting the disease with gene dataset. As transformers are self-attention mechanisms, this permits the use of contextual information for any location in the input sequence and aids in capturing long range dependencies, which aids in delivering better accuracy and effective model for predicting disease. **Methods:** This paper focuses on the applications of gene expression with different DL algorithms along with transformers for prediction of diseases. Some of the applications of transformers with gene expression dataset include prediction of cancer such as lung cancer, stomach cancer and drug discovery, a focus of this paper. **Results:** Crucial analysis is undertaken by considering certain aspects such as architecture, dataset, process. This analysis helps in finding the aspects of the DL algorithms with and without transformers. Finally, gaps are identified through the analysis of transitional researchers and could be considered as future recommendations by overcoming the gaps that are intended to create promising work in this area. **Conclusion:** Despite having several advantages, there have been limited studies in terms of prediction of disease. Different applications such as cancer prediction, drug discovery are looked at in the present study. It has been observed that incorporation of transformers in DL algorithms were implemented more beginning from the year 2021; still there are a few complications which needs to be overcome for prediction of diseases. DL using transformers alongside gene datasets will be helpful in disease prediction. This study would aid researchers in their innovations in this area for enhancing the effectiveness and efficiency in prediction of disease.

Keywords: Gene expression; transformers; deep learning; gene datasets; applications.

RESUMEN

Predicción de enfermedades mediante transformadores para conjuntos de datos de expresión génica

Introducción: La expresión génica es un proceso importante que conecta la información codificada en un gen con su producto funcional final. Por lo tanto, evaluar la expresión génica es vital para el desarrollo de tratamientos y el seguimiento de enfermedades, ya que estas pueden tener consecuencias imprevistas. **Objetivos:** Diversos estudios han incorporado el concepto de aprendizaje profundo (ADP) con conjuntos de datos genéticos para la predicción de enfermedades. Sin embargo, los métodos de ADP predominantes se consideran extremadamente ineficaces en términos de precisión y otros aspectos de la predicción de enfermedades. Por lo tanto, se aplica el ADP con transformadores para la predicción de enfermedades con conjuntos de datos genéticos. Dado que los transformadores son mecanismos de autoatención, esto permite el uso de información contextual para cualquier ubicación en la secuencia de entrada y ayuda a capturar dependencias de largo alcance, lo que contribuye a obtener una mayor precisión y un modelo eficaz para la predicción de enfermedades. **Métodos:** Este artículo se centra en las aplicaciones de la expresión génica con diferentes algoritmos de ADP junto con transformadores para la predicción de enfermedades. Algunas de las aplicaciones de los transformadores con conjuntos de datos de expresión génica incluyen la predicción de cánceres como el de pulmón y el de estómago, y el descubrimiento de fármacos, temas centrales de este artículo. **Resultados:** Se realiza un análisis crucial considerando aspectos como la arquitectura, el conjunto de datos y el proceso. Este análisis ayuda a identificar los aspectos de los algoritmos de aprendizaje automático con y sin transformadores. Finalmente, se identifican lagunas mediante el análisis de investigadores en transición, las cuales podrían considerarse como recomendaciones futuras para superarlas y generar trabajos prometedores en esta área. **Conclusión:** A pesar de sus numerosas ventajas, los estudios sobre predicción de enfermedades son limitados. En el presente estudio se analizan diferentes aplicaciones, como la predicción del cáncer y el descubrimiento de fármacos. Se ha observado que la incorporación de transformadores en los algoritmos de aprendizaje automático se ha implementado con mayor frecuencia a partir de 2021; sin embargo, existen algunas complicaciones que deben superarse para la predicción de enfermedades. El aprendizaje automático que utiliza transformadores junto con conjuntos de datos genéticos será útil en la predicción de enfermedades. Este estudio ayudará a los investigadores en sus innovaciones en esta área para mejorar la eficacia y la eficiencia en la predicción de enfermedades.

Palabras clave: expresión génica; transformadores; aprendizaje profundo; conjuntos de datos genéticos; aplicaciones.

RESUMO

Predição de doenças usando transformadores para conjunto de dados de expressão gênica

Introdução: A expressão gênica é um processo significativo que preenche a lacuna entre a informação codificada em um gene e o produto funcional final de um gene. Portanto, avaliar a expressão gênica é um processo vital em termos de desenvolvimento de tratamento e monitoramento de doenças, visto que doenças podem resultar em consequências imprevistas. **Objetivos:** Diversos estudos incorporaram o conceito de Aprendizado Profundo (APL) com conjuntos de dados genéticos para a predição de doenças. No entanto, os métodos de APL predominantes são considerados extremamente ineficazes em termos de precisão e outros aspectos da predição de doenças. Portanto, APL com transformadores é aplicada para a predição de doenças com conjuntos de dados genéticos. Como os transformadores são mecanismos de autoatenção, isso permite o uso de informações contextuais para qualquer local na sequência de entrada e auxilia na captura de dependências de longo alcance, o que contribui para fornecer maior precisão e um modelo eficaz para a predição de doenças. **Métodos:** Este artigo foca nas aplicações da expressão gênica com diferentes algoritmos de APL, juntamente com transformadores, para a predição de doenças. Algumas das aplicações de transformadores com conjunto de dados de expressão gênica incluem a previsão de cânceres como câncer de pulmão, câncer de estômago e a descoberta de medicamentos, foco deste artigo. **Resultados:** Uma análise crucial é realizada considerando certos as-

pectos como arquitetura, conjunto de dados e processos. Essa análise auxilia na identificação dos aspectos dos algoritmos de DL com e sem transformadores. Por fim, lacunas são identificadas por meio da análise de pesquisadores em transição e podem ser consideradas recomendações futuras, superando-as, visando gerar trabalhos promissores nessa área. **Conclusão:** Apesar de apresentar diversas vantagens, estudos em termos de previsão de doenças são limitados. Diferentes aplicações, como previsão de câncer e descoberta de medicamentos, são analisadas no presente estudo. Observou-se que a incorporação de transformadores em algoritmos de DL foi implementada com mais frequência a partir de 2021; ainda existem algumas complicações que precisam ser superadas para a previsão de doenças. DL utilizando transformadores juntamente com conjuntos de dados de genes será útil na previsão de doenças. Este estudo auxiliará pesquisadores em suas inovações nessa área para aumentar a eficácia e a eficiência na previsão de doenças.

Palavras-chave: expressão gênica; transformadores; aprendizado profundo; conjuntos de dados genéticos; aplicações.

1. INTRODUCTION

Gene expression (GE) is a significant idea in molecular biology as it is frequently characterized by cell specificity and timing and regulation. The significance to control of gene expression for the progressive biologist is made noticeable by just seeing the nature of the field. Development refers to is utilized to define the coordination in space and time of various cellular undertakings, which includes migration, apoptosis, mitosis and differentiation [1].

Assessing the expression of gene is a fundamental process for developing treatments and monitoring of human diseases. Therefore, in order to increase the accessibility and approachability of the process, different DL methods can be used in this task [2]. The analysis of gene expression data is gaining attention due to its applications in prognosis, diagnosis of cancer and various other domains [3]. Gene functions, comprehending the regulation of gene, homology detection, subtypes of cells can be understood by employing gene expression data. Therefore, various clustering methods are employed for the analysis of gene expression data, however, the performance of the traditional techniques were considered to be poor and abridged as a result of high dimensionality of gene expression data. Hence, suggested study incorporates auto-encoder network, which aids in transforming high dimensions to low dimensions. Unsupervised feature selection methods were also employed in the suggested study for analyzing the gene expression data [4]. The researchers have employed various mathematical as well as statistical approaches in order to examine the gene expression data for various tenacities, including detection of informative pathways, enhanced classification of disease, and prediction of disease, drug discovery and personalized therapy. Therefore, different approaches have been developed with the aim to encounter these areas. Intricacy and high dimensionality of the GE data present significant challenges. Furthermore, the tools implemented for assessing the gene expression genome-wide was continuing to progress, which ultimately leads to enhanced accuracy in values of GE. Gene expression patterns are detected using RNA-seq instead of employing DNA-micro arrays [5]. Consequently, technology development required new mathematical and statistical approach with the aim to examine the heterogeneous data. Further difficulty includes, the interacting factors such as diet and environmental factors, asbestos can interact and influence the genes associated with the specific cancer [6]. While various ML techniques exist for application of gene expression, DL is more effective and aids in delivering

precise prediction based on gene expression data. In DL, different ways of networks are employed for prediction however, transformers are utilized in minimum studies. Therefore, the present study focuses on projecting DL and DL with transformers for predicting the disease with gene datasets.

Transformer entirely relies on self-attention to handle long-range dependencies of sequence data. It was first proposed for NLP tasks [7, 8]. In order to apply transformers on image data, Dosovitskiy *et al.* [9] split an image into patches and treated them as tokens. Hence, a pure transformer can be adopted. Further it has been identified that, the transformer has high computational efficiency and scalability to train models of large sizes with more than 100 B parameters [10], which makes it even more compatible and vital for various fields. The generative model designed to improve disease outcome prediction from longitudinal electronic health records (EHRs). The objective is to utilize a transformer architecture that pertains on extensive HER data to predict future disease outcomes based on patients data, enhancing the model's ability to capture complex temporal relationships. The data enhancing employs an encoder-decoder framework, where the encoder processes input embedding and the decoder generates predictions for future clinical visits, effectively leveraging the self-attention mechanism to capture long range dependencies in the data [11].

Transformers are described as network architectures which are depended on multi head self-attention mechanism (SAM) that permits capturing the lengthy-range dependencies between items a sequence [12]. Transformer data are used for processing the sequential data, which includes genomic sequence, NL data, time series data or acoustic signals. Transformer Neural network (TNN) is considered as appealing choice of network for analysis of gene expression, owing to its capability to conjointly appear the information from several demonstration subspaces at various places in genomic data. Gene transformer is [13] uses multi-head self-attention modules with the aim to encounter the difficulty of the high dimensional GE by identifying the appropriate biomarkers across multiple subtypes of cancer. Similarly, suggested study has employed multi-omic transformer so as to distinguish complex phenotype depending on the 4 omic data types [14]. Correspondingly, recommended study implemented transformer based fusion network (T-FN) [15] or analysis of cancer survival by incorporating genomic data and pathological images. TFN module permitted the researchers to leverage the intramodality relations between the patches in various domains for multiple pathological slides. Similarly by leveraging a multi head self-attention mechanism, the model effectively captures complex gene interaction and long range dependencies, enhancing the identifications of relevant biomarkers. The outcome demonstrates the DeepGene outperforms traditional classification algorithm across various metrics, achieving higher accuracy and fewer misclassification errors. This approach underscores the potential of transformer architectures in advancing precision [16].

It has been revealed that, transformer models have demonstrated increased robustness and sturdiness more than just CNN and RNN models which delivered competitive performance on standards with different formats of data. One of the advantages of employing Transformers is that, the self-attention mechanism permits to use contextual information for any position in the input sequence and aids in capturing long range dependencies when compared to other models and further, it allows higher parallelization when compared to RNN model [17]. However, there are few drawbacks of Transformers which needs to be considered, that includes, need of huge amount of data, therefore the performance of the model can be sub-

standard when compared to other NN models for genetic data with minimum number of input samples [18].

Therefore the objectives of the paper include reviewing the research works related to predictive DL classifiers for gene expression dataset, analyzing the existing DL algorithm using transformers for the prediction of diseases, discussing the application of gene expression in different aspects, addressing challenges in current methodologies, and identifying research gap. Additionally, this review aims to bridge the gap between emerging transformer based model and their practical application in bioinformatics, summarizing the current state of research while providing actionable insights for future studies, such as integrating transformers with data and high throughput techniques in genomics.

1.1. Paper organization

The paper is organized in the following way. Section 2, describes the survey methodology of the paper, overall vision about gene expression is focused on section 3. Evolution and applications of DL classifiers for gene expressions is elucidated in section 4, different DL based algorithms for gene expression datasets is explained in section 5, comparative analysis is depicted in section 7, critical analysis is illustrated in section 7, research gaps are depicted in section 8, future recommendations in section 9 and conclusion is depicted in section 10.

2. SURVEY METHODOLOGY

The survey methodology is divided into 5 stages/steps for reviewing the paper which includes review plan, research questions identification, data sources, search criteria and finally inclusion/exclusion criteria. In-depth description of the above mentioned steps are described as follows.

Initially, the proposed survey was done systematically by reviewing the papers such as identification of possible research questions, identification of data sources, effective search strings/criteria, and inclusion and exclusion criteria for articles. To perform this study there is a need for some pre-planning. The identification of relevant publications in DL with transformers has been considered for this survey that proved helpful for the proposed survey.

After the process of preplanning, research questions were framed accordingly. Table-1 shows the possible research questions the authors have identified in carrying out the proposed survey along with their objectives.

Table 1. Research Questions and Objectives

Q.No	Research Questions	Objectives
RQ 1	Why to choose transformers for predicting disease over other models	To get an overview of Transformers and its advantages for predicting the disease.
RQ 2	What are the solutions that were beneficial in the past	Through this question, more related literature could be identified related to that area.
RQ 3	What do past survey paper have concluded?	It aimed in comparing the proposed survey with existing papers

After framing research questions with objectives, appropriate sources should for the paper were selected. Therefore, Broad number of reputed and trusted literature have been considered for writing a detailed survey on DL using transformers. Standard digital libraries and databases like IEEEExplore, Springer, Frontier, Science Direct (Elsevier), Bioinformatics, IET,

Wiley online library, Research gate etc. Electronic data sources are also recommended for the literature survey such as articles.

Further, the search criteria was carried out by considering specific keywords like “Gene Expression”, “Transformers”, “Deep Learning using transformers”, “Gene Expression Dataset”, “Applications of gene expression using DL with transformers”, “Hybrid transformers”, and other related keywords. Majorly considered the papers that provide a survey on DL model as well as the centralized model in Transformers.

Eventually, after fetching many papers, the papers that were relevant to the topic (by analyzing title, abstract, introduction, and conclusion) were only considered. The papers that included an introduction to DL and a centralized system and which have the same topic were taken into consideration. To make the survey interactive and effective, we preferred to include recent papers of the year 2019, 2020, 2021, 2022, 2023 and early access articles. The filtering of papers and articles are based on the parameters mentioned above. Finally, we identified and focused on some papers having good citations. The procedures followed in studying these approaches has been shown in the Figure 1.

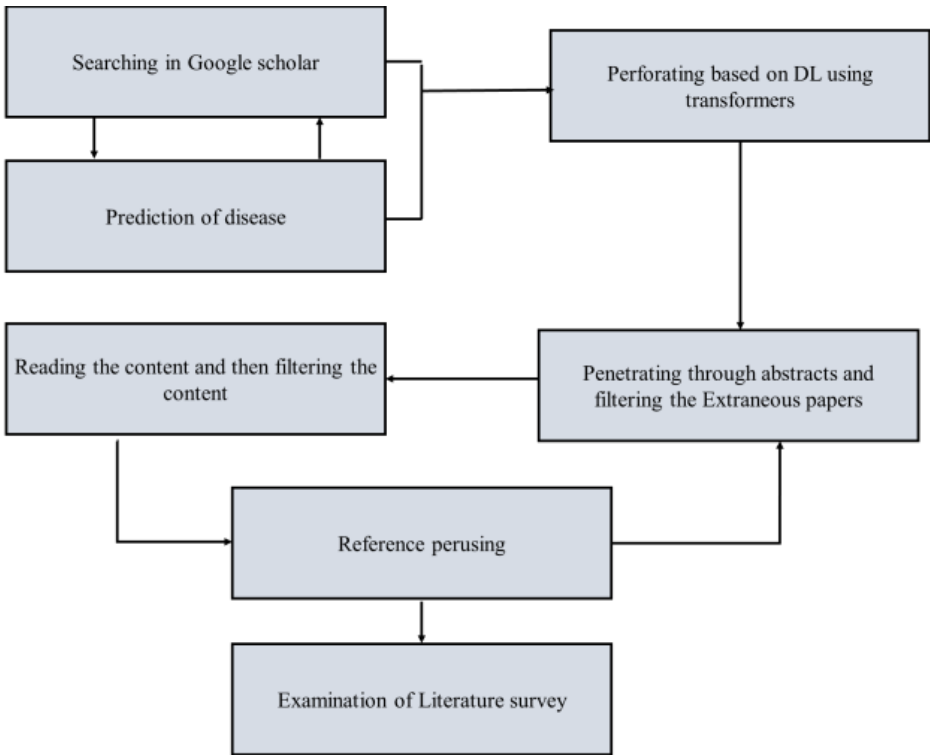


Figure 1. Survey methodology

3. OVERALL VISION ABOUT GENE EXPRESSION

Gene expression (GE) is the practice by which the information comprised in DNA is transmuted into instructions for creating the proteins or additional molecules [19]. This process encompasses, transcription of DNA into mRAN (messenger RNA), then subsequently translated into proteins. The GE Analysis (GEA) is utilized to evaluate the directive of genetic modifications that occurs under specific circumstances, in tissue or a single cells [20]. A component of GE quantification is a contrast of the reads that are subsequent, associated with the amount of base pairs sequenced from a fragment of DNA to a familiar transcriptome or genomic

source. Therefore, predominant techniques for assessing GE include NGS methods (Next Generation Sequencing) and DNA microarray. The DNA microarray technique uses a 2D array with infinitesimal spots, whereas the NGS technique delivers high speed, scalability and throughput analysis [21, 22]. RNA-seq is considered as NGS technique which involves the transformation of molecules of RNA to cDNA (complementary DNA). However, when compared to DNA microarrays, RNA-seq delivered various advantages which includes greater resolution, higher dynamic range, increased sensitivity and greater specificity. Transcriptome for any species can be examined by employing RNA-seq with the aim to control the sum of RNA at a precise time [23, 24].

GEA needs different computational approaches in order to comprehend the regulation of genes and the part in functioning of tissues and cells. Therefore, various ML and DL methods have been employed to attain the perceptions on how disparities in regulatory regions and genes results in phenotypic variations namely, health, wellness and traits [25]. Further, early computational methods for GEA has been depended on different ML and DL approaches for predicting the function and structure of genomic components [26]. Moreover, feature engineering is considered as one of the methods, which is used for handling the difficulty of high dimensionality and moderately smaller number of samples in GE data.

3.1. Gene Expression Data

GEA is the practice of detecting the amount of transcripts exist in specific tissue or cells in order to assess the level of expressed genes [27]. Some of the gene GED are demonstrated.

3.1.1. Microarray data

Microarray data are attained via a lab procedure, in which a sequence of DNA is comprised in a tool which comprises of 2D array with hundreds and thousands of microscopic spots [28]. The Microarray data are employed with the aim to find the DNA or RNA [29]. Microarray data permits for understanding of cellular process for genome-wide expression profile, which are based on particular conditions or diseases such as cancer. one of the advantages of employing DNA microarray is that, they permit the evaluate the expressional level of 1000 genes, however, there are few drawbacks, which includes poor accuracy and specificity.

Training transformer model for gene expression analysis present presents several analysis present various implementation challenges, particularly in computational requirements. These model are memory-intensive and requires significant GPU resources to manage high-dimensional datasets effectively. Strategies such as gradient check pointing can help optimize memory usage. Effective data pre-processing is also critical for improving model performance, with key steps including normalization techniques like quintile normalization and log transformation to stabilize variance, as well as feature selection methods such as variance thresholding and statistical tests to identify relevant genes. Handling missing data through imputation and applying dimensionality reduction techniques like PCA can further enhance dataset robustness. Addressing these challenges and pre-processing steps will provide valuable insights into the practical application of transformer models in bioinformatics. This version is more concise while preserving the original meaning and key details.

3.1.2. RNA-Seq Data

RNA-Seq method fit into NGS techniques as they possess the ability for rapid profiling [30]. RNA-Seq is utilized for measuring the expressions of gene ad aids in scrutinizing the variations in GE. The applications of RNA-Seq is according to the capacity and examine all molecules of RNA in tissues and cells, which includes mRNA, miRNA, siRNA or rRNA [30]. One

of the significant qualities of RNA seq- includes huge dynamic range and high resolution, which resulted in huge volume of attained data and contributed to significant improvements in transcriptomics research [29].

4. SIGNIFICANT EVOLUTION AND APPLICATIONS OF DEEP LEARNING (DL) CLASSIFIERS FOR GENE EXPRESSION

Different methods have been used in the past decades for gene expression, which includes both ML and DL methods, however, in most studies, DL techniques are employed as DL possess unbelievable potential for backing medical and paramedical specialists by minimizing the human error rate, by aiding in diagnosing cancer and assist in analyzing the difficult data. Further, different applications are employed for gene expressions which includes classification of cancer. Therefore, suggested paper has employed DL methods for classification of cancer by employing CNN, as CNN is appropriate for analyzing the variety of unstructured data, in addition GE data consist of large number of genes and numerous researchers analyzed and evaluated the classification of cancer by utilizing different DM, ML and statistical approaches [31, 32]. Though, ML methods have attained decent accuracy in terms of classification, there are some of the issue like inability of the ML algorithms to employ unstructured data has restricted the utility of ML algorithms for classification tasks. Therefore, DL algorithms are used for classification as they possess the ability to comprehend complex data. Hyper parameters are essential setting that govern the learning process and significantly influence model performance, with learning rate, this parameters controls how much to change the model in response to the estimated error each time the model weights are updated. The capability of the DL algorithms aids in identifying the cancer. Further, hybrid DL model is employed in the suggested study and the hybrid model includes LS-CNN (Laplacian score-CNN), which aided in classification of cancer data [33]. The paper investigates the impact of activation function on transformer based models by utilizing rational activation functions (RAFTs), which can adaptively learn optimal activation functions from data. The influences model performance and can reduce the topological complexity of input data. Their experimental demonstration that the RAF-based Transformer model (RAFT) outperforms traditional fixed activation functional models, achieving better result on GLUE and SQuAD [34]. Well the epochs of 0.001 and 2000 by achieving 99.4% accuracy, refers to the number of complete passes through the training dataset. Selecting an appropriate number of epochs is crucial since too few may lead to under fitting, while too many can result in over fitting.

Similarly, search results indicates that DL based methods have generally outperformed conventional ML methods, with many approaches employing MLP or CNN networks achieving test accuracies upwards of 90%. However the performance of current methods is sensitive to various parameters, necessitating future improvements for generalization and robustness. Other limitations includes a lack of interpretability and limited integration with other data types. Table-2 shows different NN which can be used.

Table 2. Different Neural networks

Network	Features	Pros	Cons
CNN	No manual extraction was needed as CNN learn features themselves image image/data and perform the extraction directly from images [35]	The model learns rapidly and steadily Performance of the model is good Possess strong ability to extract the features	Label is needed for classification The time required for training is long
RNN	Possess the ability to learn sequences and the weights are shared across all steps and neurons [36]	It learns sequential events It performs significantly better performance	Issues to vanishing gradient is possible
AE	It is significantly employed reduction of dimensionality and extraction of features, the number of the inputs will be equal to number of output.	Labeled data is not required.	Training may be disappeared It require a pre-training step
DBN	This is considered to be a uni-directional connection and it is performed for both supervised and unsupervised [37]	Over-fitting can be minimized It is effective in terms of usage of hidden layers [38]	Process can be computationally expensive due to initialization process [39]
TNN (Transformers Neural Network)	Transformers are NN which learns context and understanding via sequential data analysis [40]	Possess the capability to pass various words via NN concurrently.	Sometimes, Transformers can be difficult to interpret and comprehend, since they are trained end to end [41]

Similarly, recommended study focused on classification of cancer using gene expression data. Different datasets employed in the suggested paper includes prostate tumor, colon tumor, DLBCL and leukemia. Classification of gene expression data divides the cancer samples from health samples. However, the ML techniques were not capable enough to perform cancer classification due to the small number of samples with huge number of samples in GE data. Hence DL algorithm has been employed by the existing paper for classification of cancer. Different DL algorithms such as DNN, RNN, CNN and I-DNN were employed, in which I-DNN delivered better outcome than the rest of the algorithms [42]. The choice optimization algorithm affects how quickly and effectively a model learns. Different optimizers have unique strengths and weakness depending on the specific characteristics of the datasets achieved 90% in test accuracy. Correspondingly, a scalable and robust DL method is used in the existing study. The model is defined as GNE model which has been aided to perform a gene network embedding. Further, gene interactions can be predicted precisely by incorporating ML classifiers [43]. Likewise, a regression based MLP- SAE model was incorporated for predicting the gene expression from SNP genotypes [44]. A semi-supervised DL method was employed for target gene expression inference. Therefore, GAN model has been employed. Existing model incorporated the profiles with only landmark genes into the training process. The datasets incorporated in the recommended paper were GEO dataset, GTEx dataset [45]. Though existing methods delivered better outcome for prediction of diseases, it still lagged in delivering effective outcome for prediction and classification of diseases.

4.1. Transformers

The transformer model represents a watershed moment in the evolution of deep learning models. Distinct from conventional sequence transduction models, which typically involve recurrent or convolutional layers, the transformer model solely harnesses attention mechanisms, setting a new precedent in tasks such as machine translation and natural language processing (NLP). The principal component of a transformer model is the attention mechanism, and it comes in two forms: self-attention (also referred to as intra-attention) and multi-head attention. The attention mechanism's core function is to model interactions between different elements in a sequence, thereby capturing the dependencies among them without regard to their positions in the sequence. In essence, it determines the extent to which to pay attention to various parts of the input when producing a particular output.

Self-attention mechanisms operate by creating a representation of each element in a sequence that captures the impact of all other elements in the sequence. This is achieved by computing a score for each pair of elements, applying a Softmax function to obtain weights, and then using these weights to form a weighted sum of the original element representations. Consequently, it allows each element in the sequence to interact with all other elements, providing a more holistic picture of the entire sequence. The multi-head attention mechanism, on the other hand, is essentially multiple self-attention mechanisms, or heads, operating in parallel. Each head independently computes a different learned linear transformation of the input, and their outputs are concatenated and linearly transformed to result in the final output. This enables the model to capture various types of relationships and dependencies in the data. The self-attention mechanism in transformers significantly improves performance in handling gene expression data by enabling the model to capture long range dependencies and relationships between genes. Unlike, the traditional methods that process sequences in a sequential manner, self-attention allows for parallel processing, which enhances computational efficiency and scalability. This capability ensures that relevant interactions among gene are effectively modelled, leading to more accurate predictions and insights in gene expression, by advancing the field of genomics and personalized medicine by the self-mechanism. The capability ensures that relevant interactions among genes are effectively modelled, leading to more accurate prediction and insights in gene expression. Various existing studies have focused on employing transformers for attaining results. The training process for transformer model can be source intensive, often requiring substantial GPU memory and time. For example, the model with millions of parameters can demand upward of 40 GB of GPU memory due to their complex architecture and high dimensional data processing requirements. As sequence length increases, memory usage grown quadratically, necessitating careful management of batch size and input dimensions to optimize GPU utilizations. Hence, various existing studies have focused on employing transformers for attaining effective results.

Hence, the suggested paper has used a transformer-based neural network framework for prokaryotic genome annotation, primarily focusing on *Escherichia coli*. The study emphasized that a substantial part of the model's subunits or attention heads were attuned to identify transcription factors and characterize their binding sites and consensus sequences. With the specialization of the attention heads occurring automatically, it has been believed that transformer models to be of high interest towards the creation of explainable neural networks in this field. Further, this method opened the door to understanding well-known and possibly novel elements involved in transcription initiation [46].

Cell type identification by analyzing scRNA-seq data is mostly limited by time-consuming and irreproducible manual annotation. As scRNA-seq technology scales to thousands of cells per experiment, the exponential increase in the number of cell samples makes manual annotation more difficult. Therefore, suggested paper focused on Cell type identification by analyzing scRNA-seq data is mostly limited by time-consuming and irreproducible manual annotation. As scRNA-seq technology scales to thousands of cells per experiment, the exponential increase in the number of cell samples makes manual annotation more difficult. Hence, a scTransSort, a cell-type annotation method pre-trained with single-cell transcriptomics data has been used. The scTransSort incorporates a method of representing genes as gene expression embedding blocks to reduce the sparsity of data used for cell type identification and reduce the computational complexity. The feature of scTransSort is that its implementation of intelligent information extraction for unordered data, automatically extracting valid features of cell types without the need for manually labelled features and additional references. Experiments were conducted using a large number of scRNA-seq datasets from different species, different tissues, and different platforms. All scRNA sequence datasets used in this paper are published and publicly available datasets from multiple high-quality reports and the Gene Expression Omnibus (GEO) [47].

Similarly, a Transformer-based deep learning method, GPTransformer, that uses genotypic and phenotypic data to predict FHB (Fusarium head blight) severity and DON (Deoxynivalenol) levels in a two-row barley population, in addition, effect of feature selection on genomic prediction using mutual information was investigated and examine the biological relevance of the top markers identified by the mutual information method. Further, the Transformer network is trained using a graphical processing unit (GPU). As the internal mechanism of the Transformer creates a four dimensional matrix of size (batch size, number of heads, number of markers, number of markers) at certain point, which requires a large amount of GPU memory, the feature selection process also helps us to solve the GPU memory issue of the Transformer. This study suggests the potential of the Transformer based method as an alternative to the popular BLUP model for genomic prediction of complex traits such as FHB or DON, having performed equally or better than existing machine learning and statistical methods [48].

The suggested study has incorporated Hierarchical Multi Head Self Attention (H-MHSA) to make self-attention computation in transformer flexible and efficient. Specifically, we first split an image into patches, each of which is treated in the same way as a token. Instead of computing attention across all patches, we further group patches into small grids and compute attention within each grid. This step captures local relationships and yields more discriminative local representations. Then, merge these small grids into larger ones and compute attention within each new grid by viewing small grids at the preceding step as tokens. In this way, we essentially capture feature relationships in the larger region. This process is iterated to reduce the number of tokens gradually. Throughout this procedure, our H-MHSA computes self-attention in the increasing region sizes step by step and naturally models the global relationship in a hierarchical manner. Since each grid at each step only has a small number of tokens, we can reduce the computational/space complexity of vision transformer dramatically. We empirically observe that this strategy brings us better generalization results [49].

Though, there are various DL algorithms which is used for gene expression, DL with transformer provides additional advantages which makes the prediction accurately and the model effectively. Some of the reasons of implementing TNN over other approaches includes,

they can be more precise as they can comprehend the relationship between the sequential elements which are far from each other and they are quick at handling a sequence since lot of attention is paid for its most vital parts.

The study found that while Vision Transformers (ViTs) achieved a high accuracy of 95.3% for lung cancer classification, CNN like ResNet50 performed comparably at 94.5%, suggesting that both architectures can be effective but may excel under different conditions, particularly with varying dataset sizes. However, the inherent complexity of transformers complicates performance assessment; their ability to capture long range dependencies offers advantages in understanding intricate patterns, yet this benefit is not clearly delineated against the strength of CNN and RNNs in handling local features. Thus, while transformers shows the efficiency, the transition from the traditional models raises questions about the clinical significance of the performance improvements [50].

Therefore, transformers are considered as a type of ANN which is utilized to unravel the concerns of transformation or transduction of input sequences into output sequences in DL applications. One of the significant merits of employing the transformer architecture over other NN is that, transformers are efficient and unlike RNN, the input data do not have the need to be processed sequentially which permit the parallelization [51]. The attention mechanism is defined mathematically as:

4.1.1. Scaled Dot Product Attention:

$$Attention(Q, K, V) = softmax(\frac{QK^t}{\sqrt{d_o}})V$$

Where Q the matrix of queries, K is the matrix of Keys, V is the matrix of values, and d_k is the dimension of the key. The attention mechanism computes a score for each query against all keys, normalized these scores using Softmax, and then uses these probabilities to weigh the corresponding values. This allows the model to focus on relevant parts of the input sequence when generating outputs.

4.1.2. Multi-Head Attention:

The multi-head attention function allows the model to jointly attend to information from different representation subspaces at different positions:

$$MultiHead(Q, K, V) = Concat(head_1, \dots, head_h)W^O$$

Where each head is computed as:

$$head_i = Attention(QW_i^Q, KW_i^K, VW_i^V)$$

Multi head attention allows the model to attend to different parts of the input sequence simultaneously. By having multiple heads, the model can capture various relationships and dependencies within the data more effectively than a single attention mechanism.

4.1.3. Feed forward Neural Network:

Each position is processed independently through a feed forward neural network:

$$FFN(x) = ReLU(xW_1 + b_1)W_2 + b_2$$

The feedback network processes each position independently after the attention mechanism has been applied.

4.1.4. Layer Normalization:

Layer normalization is applied as follows:

$$\text{LayerNorm}(z; \gamma, \beta) = \gamma \frac{(z - \mu)}{\sigma} + \beta$$

Where μ and σ are the mean and standard deviation of the layer inputs. The layer normalization helps stabilized training by normalizing inputs across features rather than across batches. This ensures consistent performance across different layers and helps mitigate issues related to internal covariate shift.

4.1.5. Positional Encoding:

The position encoding used to inject information about the position of tokens in the sequence is defined as:

$$pk, 2i = \sin\left(\frac{k}{10000^{2i/d}}\right), \quad pk, 2i + 1 = \cos\left(\frac{k}{10000^{2i/d}}\right)$$

Since, transformers do not have a built in notion of sequence order, positional encoding injects information about token position into their embedding. This helps the model understanding the relative positions of tokens in sequences, which is crucial for task like language modelling or sequence prediction. The transformer outperforms traditional model by providing a global contextual understanding, enhancing predictive power, and offering improved interpretability for disease prediction, so transformer model is efficient than traditional disease prediction model.

Self-attention mechanism is considered as the core of transformer, which learnt the dependencies of global features. Limitations of the self-attention addresses the existing DL techniques with the aim to model the genomics of the data. Unlike CNN, self-attention possess the capability to unordered the input which includes genes in gene expression data [23]. Table 3 depicts the utilization of transformers in existing studies.

Table 3. Utilization of Transformers in Existing Studies

Sl. No	Purpose	Findings	Reference
1.	A transformer-based neural network framework for prokaryotic genome annotation, primarily focusing on <i>Escherichia coli</i>	The study emphasized that a substantial part of the model's subunits or attention heads were attuned to identify transcription factors and characterize their binding sites and consensus sequences. With the specialization of the attention heads occurring automatically, it has been believed that transformer models to be of high interest towards the creation of explainable neural networks in this field	[46]
2.	To incorporate scTransSort method for representing genes as gene expression embedding blocks to reduce the sparsity of data used for cell type identification and reduce the computational complexity	A scTransSort, a cell-type annotation method pretrained with single-cell transcriptomics data has been used. The scTransSort incorporates a method of representing genes as gene expression embedding blocks to reduce the sparsity of data used for cell type identification and reduce the computational complexity. The feature of scTransSort is that its implementation of intelligent information extraction for unordered data, automatically	[47]

		extracting valid features of cell types without the need for manually labeled features and additional references.	
3.	To predict FHB severity and DON levels in a two-row barley population, in addition, effect of feature selection on genomic prediction using GPTransformer	The effect of feature selection on genomic prediction using mutual information was investigated and examine the biological relevance of the top markers identified by the mutual information method. Further, the Transformer network is trained using a graphical processing unit (GPU). As the internal mechanism of the Transformer creates a four dimensional matrix of size (batch size, number of heads, number of markers, number of markers) at certain point, which requires a large amount of GPU memory, the feature selection process also helps us to solve the GPU memory issue of the Transformer	[48]
4.	In order to make self-attention computation in transformer flexible and efficient by employing Hierarchical Multi Head Self Attention (H-MHSA)	Specifically, we first split an image into patches, each of which is treated in the same way as a token. Instead of computing attention across all patches, we further group patches into small grids and compute attention within each grid. This step captures local relationships and yields more discriminative local representations. Then, merge these small grids into larger ones and compute attention within each new grid by viewing small grids at the preceding step as tokens. In this way, features can be captured in larger region. Further, this process is iterated to reduce the number of tokens gradually. Throughout this procedure, the H-MHSA computes self-attention in the increasing region sizes step by step and naturally models the global relationship in a hierarchical manner. Since each grid at each step only has a small number of tokens, we can reduce the computational/space complexity of vision transformer dramatically.	[49]

Usually, a transformer is a NN architecture which exploits the idea of attention as well self-attention in a stack of decoders and encoders. Author, in the suggested paper has employed an architecture which has 6 encoders and 6 decoders. Initially, the input vectors are taken by the encoder and practice them with self-attention layer afore passing it to the forward NN. In standard architecture, each encoder will be comprised of 2 segments which includes Self-attention layer (SAL) and feed forward NN. Correspondingly, the every encoder is comprised of 3 segments which includes SAL Decoder Attention layer (DAL) and feed forward NN. Once the network of the first encoder has been done, then the outcome is passed to the next encoder and son on, until the final encoder sends the information to the decoders and a similar process supervenes [51].

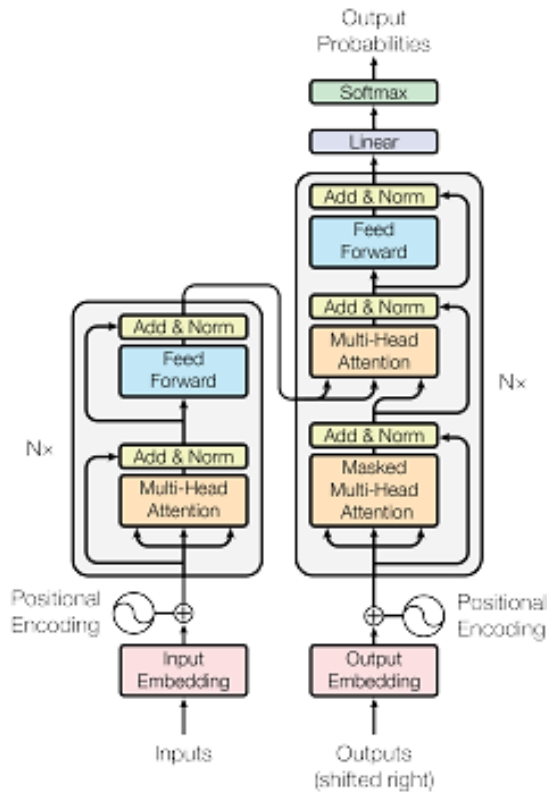


Figure 2. Transformer architecture [51].

Figure 2 shows the architecture of transformer employed in the recommended paper. Transformers 19, 23 and 24 received lot of consideration for biological sequence data pre-processing. These transformed are considered as a prevailing learners of data which are sequential. Moderately attributable to the employment of the SAM, which take cares the pairwise interdependencies among the elements, which in turn, are sequence in nature. Lately, the transformers are also assessed as the prevalent selections for self-supervised learning on biological sequences [52]. Transformers are DN (deep networks) with consist of self-attention mechanism in each layer, which permits attaining numerous enhancements pertaining to RNN and CNN models [53]. Like transformer, suggested paper has employed R-Transformer, which utilizes the advantages of both RNNs and the multi-head attention mechanism. This model aids in capture both local structures and global long term dependencies in sequences without any use of position embedding [54].

5. DIFFERENT DL BASED ALGORITHMS FOR GENE EXPRESSION DATASETS

5.1. Prediction of Disease

Author, have identified the genes demonstrated cancer tissues or 32 normal tissues, which was employed to examine the functional differences between the genes widely and complete outcome of the gene expression was exemplified rarely. The recommended outcome was aided in detecting the landscape of gene expression and comprehending the influence of gene expression and the microenvironment of cancer [55].

Identifying disease-related miRNA is essential for disease diagnosis and treatment. However, traditional biological experiments are highly uncertain and time-consuming. Hence, advanced intelligent computational models are needed to address this problem. Therefore, a dual-channel transformer graph model, named DCTGM, to learn multi-scale representations for miRNA-disease association prediction. Specifically, DCTGM includes a transformer encoder (TE) and GraphSAGE encoder (GE). The TE intensely captures the important interaction information between miRNA-disease pairs, and the GE aggregates multi-hop neighbor information of miRNA-disease association heterography to enrich node features. Then, an attention module is proposed to aggregate the dual-channel interactive representations, and we adopt a multi-layer perceptron (MLP) to predict the miRNA-disease association scores. For gene expression dataset, statistical analysis is crucial in identifying differentially expressed genes. Pre-processing steps, typically involves normalization to remove systematic biases while preserving biologically relevant variations. Techniques such as log transformation and quantile normalization are often employed to ensure comparability across samples. Additionally, methods like the Two-stage Poisson model can be utilized to account for over-dispersion in RNA-seq data, enhancing the accuracy of differential expression analyses [56].

Classification of cancer using gene expression is considered as one of the tremendously stimulating aspects, as the dimensionality and complexity of the data is high. Existing classification models were typically depend on samples which was gathered from a distinct tissue type and aided in performing a pre-requisite of gene feature selection, in order to prevent the processing the full set of genes. However, these technologies lacked in captivating benefits of genome-wise subsequent generation sequencing technologies, which delivered an image of the entire transcriptomics. Therefore, the recommended model aided DL structure for diagnosis of cancer by evolving a multi-class cancer classifier which was according to entire transcriptome GE that was gathered from numerous types of tumor which covered the multiple organ sites. Hence, suggested study employed a CNN architecture, termed as Gene Xpression Network (GeneXNet). This model was specifically designed for addressing the complicated nature of gene expressions. The recommended GeneXNet model provided abilities of identifying the alterations in genetics, driving the progression of cancer by learning genomic similarities across various kinds of tissues without craving any precondition of gene feature selection. Due to these reasons, GeneXNet model was capable of classifying the multi-tissues of cancer. From, the experimental outcome it was identified that recommended model delivered accuracy rate of 98.9% on human samples which represented 33 various type of cancer tumor across 26 organ sites [57].

A neuro-fuzzy approach was employed for examining the expression of gene data from microarray experiments. Analyzing the expression of gene led to detection and classification of cancer, which facilitated appropriate treatment selection and improvement of drug. The existing technique was tested on 3 benchmark cancer gene expression datasets. From the experimental outcome, it was identified that, neuro-fuzzy technique could be employed as an effective tool for computation of microarray data examination. The neuro classification system was according to the built-clustering algorithm, which got acknowledgement rate than the other classifiers. GE dataset for liver cancer was used in the existing study. The quality of the images were trained and tested for each dataset in order to enhance the quality of the genes [58].

Molecular subtyping of cancer is considered as a crucial stage towards more individualized therapy and delivers more significant biological understandings into cancer assortment.

Though in last decade, gene expression signature was widely demonstrated as one of the effective approaches for classification, pervasive implementation has been inadequate by batch effects, metamorphoses in platform and the trouble to classify the individual patients' samples. Therefore, a supervised method for classification of cancer was used. The model incorporated was DeepCC model (deep cancer subtype classification). DeepCC was based on DL. DeepCC classifiers were used for achieving higher specificity, sensitivity, accuracy when compared to the existing models like RF, SVM, XGBoost, GBM and multinomial LR algorithms. Robustness of the DeepCC model was demonstrated on simulation analysis. Moreover, DF (Deep Features) learnt by DeepCC apprehended the biological features, which was based on biological characteristics that was related to different molecular subtypes, which enabled more compressed distribution of subtypes. Hence, recommended paper aided in reducing the amount of unclassifiable samples earlier. Therefore, it was identified that, DeepCC model was beneficial for classification, which was platform independent, robust of omitted data and can be employed for single sample calculation which enabled clinical application of molecular subtyping of cancer [59].

5.1.1. Lung cancer

A different method for attaining tailored biomarker scores explained the prominence of every gene in detecting the subtype of the cancer for every sample by utilizing an AM. This modified significance score was employed for PCA (post classification analysis). NMF and PCA were both performed with the aim to identify the developing patterns within the scores of biomarkers. Nevertheless, the NMF and PCA were independent of task which are associated to classification, as there was no necessity for an end to end technique which could be implemented openly for countless real time applications. Further PET images contained information which were metabolic as they have been utilized for sub-classification of lung cancer. Nevertheless, it was challenging to mine massive PET images of carcinoma patients for DL associated applications [60].

Likewise, different type of cancer was classified according to the RNA sequence GE data by implementing DL technique which was based on BPSO-DT (Binary Particle with Decision Tree) and CNN. Different types of cancers, which could be identified were BRCA (Breast Invasive Carcinoma), LUAD (lung adenocarcinoma), UCEC (Uterine Corpus Endometrial Carcinoma), and LUSC (Lung Squamous Cell Carcinoma). The recommended model comprised of 3 stages. The first phase includes pre-processing. This step aided in optimizing the high dimensional RNA-seq and picked the only the ideal features by utilizing BPSO-DT. Further enhanced RNA-seq was transformed to 2D images. Stage 2 dealt with augmentation, which increased the dataset of 2086 samples to 5 times greater. Augmentation methods were picked according to achieving the least impact on deploying the features of the images. Augmentation phase, helped in overcoming the over-fitting issue and trained the model with the aim to accomplish better accuracy. Eventually, stage 3 dealt with Deep CNN architecture. 2 CL for feature extraction and 2 FCL was employed for classifying five different types of cancer. From the outcome, accuracy obtained was 96% [61].

Though, traditional DL based methods deliver decent performance, accuracy in terms of prediction of disease is lacking. Therefore, transformer based DL methods were employed for prediction the disease more accurately and effectively.

Transformer based architecture leveraged SAM which encoded high throughput GE and learnt demonstration which were computationally complicated and affluent. Nevertheless, when compared to different datasets for applications of NLP, GE comprised of several 100 of

1000s gene from the restricted amount of interpretations, which made it hard to proficiently train the transformers for different applications of bioinformatics. Therefore, end to end DL method utilized. A gene transformer (GT) was used, as it addressed the difficulty of high dimensional GE with a multi-head SA component by detecting the appropriate biomarkers across the various multiple cancer subtypes without needing feature selection as a condition for the existing algorithms. The recommended paper enhanced the overall performance of the model. The outcome of the classification aided that gene transformer could be considered as an effective method for classifying the subtypes of the cancer, which indicated that any enhancement in DL model in computational biology could be reflected. GT architecture was motivated from transformer encoder architecture which used the idea of multi-head SAM with 1D CL as a hybrid architecture with the aim to evaluate the HD GE datasets and explored whether the demonstration learnt from the AM which achieved better than the many prevailing methods. Gene transformer was considered as an end-to-end method which prioritized features during the testing phase and outperformed the prevailing techniques for both binary and multiclass issues. Gene transformer technique, was considered as a preliminary challenge in order to investigate the attention mechanism which was employed to predict the subtypes of lung cancer. In gene expression dataset, the sample of patients were oriented in 1D array. Hence, conventional CNN model was not considered as a viable technique for classification of tumor. Hence, suggested paper employed improvised version of 2D CNN model, which was termed as 1D-CNN model [16].

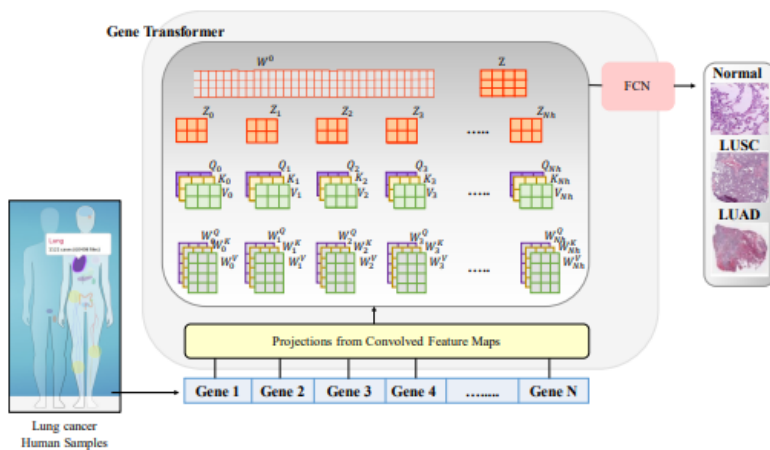


Figure 3. Graphical representations of the end to end DL for lung cancer subtype classification [16].

Recommended paper, employed miRe2e, which was the end – end DL technique for pre-miRNA prediction. miR2e approach was based on transformers, which is a neural architecture that employed AM (Attention Mechanism) with the aim to deduce the global dependencies between various inputs and outputs. It possessed the ability of getting the raw genome-wide data as input without any need of feature engineering or pre-processing process. This model aided in delivering more enhanced outcome [62].

CNN + Transformer hybrid architecture for GE level as well as epigenetic feature prediction was employed in enformer46, as enformer 46 was considered to be the first to do so. Thus, the model possess the potential to capture improved biological phenomenon, which includes enhancers that aided in controlling the promoters regardless of distance between the huge sequences of DNA. Therefore, it led to upsurge of significant performance in cell-type specific

gene expression prediction correlations [63]. Similarly, a DL technique has been employed for single cell category prediction by amalgamation of CNN with transformer with the aim to extract the powerful features. I-TM is used for extraction of features of the gene expression matrix. Further, features were extracted using CNN model [64].

The unique characteristics of the gene expression aids the interpretable DL models which was personalized for transcriptomics study using different DL models. However, there are few encounters in evolving the DL techniques for modelling the expression of genes, hence suggested study employed T-GEM model for modelling the interactions of gene-gene and confirmed the usefulness for GE based prediction of the cancer associated phenotypes which included prediction of types of cancer and immune cell type classification. Hence, the mechanism of T-GEM was examined carefully and demonstrated that higher layer focused on phenotype related genes, whereas the first layer focused on broader attention. Therefore, the ability of T-GEM on the prediction of cancer type was demonstrated by utilizing TCGA data and the immune cell type of identified using scRNA-seq data [13].

The objective of the study was to classify the subtypes of the tumor and determining the significant gene in each subtype. This aided in evolving an amalgamated technique with the aim to detect the early-stage of cancer or distinguish the subtypes of the tumor. Over the past decade, both DL and ML techniques have been employed for classifying the subtypes of cancer from the GE dataset. However, these techniques were theoretically biased toward the detection of biomarkers of cancer. Therefore, DeepGene transformer, which was considered as an end- to-end DL method, addressed the complications of high dimensional gene expression with the multi-head self-attention module (MHSA). This module aided by detecting the relevant biomarkers across multiple-subtypes of cancer without any need of feature selection as a precondition for the classification of the algorithm [65].

In the last few years, different traditional ML and DL algorithms were used for disease classification using gene expressions. However, in recent days, VTN (Vision Transformer Networks) have delivered favorable performance in countless fields owing to prevailing AM (Attention Mechanism) which provided restored perception into data features. Still the network models have not been reconnoitered for analysis of gene expression. Therefore, suggested paper performed dimensionality reduction using a stacked auto-encoder which was followed by using an improved deep insight (I-DI) algorithm which converted the data into image format. The recommended study performed three techniques which comprised of 3 stages, which includes pre-processing, conversion of the data to image and classification. Further, classification model was built by feeding the data to the vision transformer. I-DI worked on principle of t-SNE (t-distributed Stochastic Neighbor Embedding). Further, all relevant genes, which was picked by the stacked auto-encoder were preserved by employing channel expansion algorithm, with the aim to serve the vision of the transformer in image format. Hence, the existing algorithm outperformed the prevailing algorithms in terms of selection of gene and cancer classification approaches. The dataset which was incorporated was GeneViT dataset, which was available for both binary and multiclass classification [66].

5.1.2. Stomach cancer

Stomach cancer which was associated of genes are associated for treatment of cancer and aided in serving as significant biological markers in order to evaluate diagnosis or prognosis, but also helped in giving reaction for the treatment. Consequently, it is significant to identify the candidate genes (CG) and examine the data for stomach cancer. Hence, suggested study amalgamated RNA-Seq gene expression data for stomach cancer which was acquired from TCGA

(An Open DB with Clinical Data), which examined for CG and examined these genes using a DL algorithm. In specific, candidate genes were chosen, as they could be distinguished between the patients between the cancer and healthy patients by PCA. A classification was attained by PCA method and the accuracy of the value was predicted, however, the accuracy was predicted to be lower than the other methods [67].

Auto-encoder was used for reducing the count of features. Further, recommended paper focused on feature reconstruction and aided in eliminating the noise within the data and the features with 0 variance across samples. This model facilitated in feature extraction with highest variances, which influenced the probabilities of survival, moreover, it estimated the probability of the survival for each patient by applying cox regression and random survival forest. Then, GPU (Graphical processing unit) was applied for speeding up the process. Eventually, the model was assessed and compared with various prevailing models on 3 different datasets on the basis of calibration curve, concordance index and run time. Eventually, GO molecular functions and biological pathways were evaluated for important genes [68].

Author has stated that, cancer have been diagnosed depending on the expression of genes through DNA microarray technology. The critical tactic for detecting the tumor are delivered by clustering the genes expression data. Nonetheless, the expression of gene data is accustomed as high-proportionate and substantial scale. Nearly, a tiny quantity of genes are required for diagnosis of cancer, even though the search space could be high. In the course of the process of classification, repetition and proportion of the gene expression data was minimized by feature selection. Hence, an organized and dominant feature selection algorithm was employed for fastening the learning function of the classifiers and aided in regulating the classification correctness [69]. Similarly, Experts aided in discovering the likelihood of the diseases, with the help of large amount of gene expression data, which has been identified via DNA microarray technique. This technique aided in providing optimistic outcome during the last few years. Though, there are few challenges which needs to be addressed. The dataset employed in the study was gene dataset and the model which was implemented in the recommended paper was DNN algorithm. From, the experimental outcome, it was identified that DNN algorithm delivered accuracy rate of 72.5%, when compared to the prevailing algorithms [1].

5.2. Drug discovery

The detection and enlargement of drug is a long, expensive, daunting and ineffective procedure. Regardless of advancements in technology in last 2 years, there has been some issues related to discovery of drugs with gene expression. Therefore, in the past data, it has been identified that, advancements in the information technology and growth of automation has led to production and collection of huge quantity of compound activity and biomedical data. Therefore, improvement in the realm of DL has should be employed for discovery of drug. Hence, recommended paper utilized a deep neural model termed DTSyn (Dual Transformer model for drug pair Synergy prediction) based on multi-head attention mechanism to identify different drug combinations. Hence, the paper focused on designing a fine-granularity transformer for capturing chemical substructure-gene and gene-gene associations and a coarse-granularity transformer for extracting chemical-chemical and chemical-cell line interactions. DTSyn can extract interactions among chemicals and cell lines, which may represent the mechanisms of drug action. Different existing methods only consider extracting chemical-cell line associations from one granularity, neglecting other dimensional interactions. To address the

aforementioned problems, recommended paper implemented a dual-transformer based deep neural network named DTSyn (Dual-Transformer neural network predicting Synergistic pairs) for predicting potential drug synergies. From the experimental outcome, it was identified that DTSyn utilizing dual-transformers has the great potential in identifying novel synergistic drug pairs and also providing possible interpretability in mechanisms of drug actions [70].

Likewise, DeepCE utilized transformer, which can learn about biological relations between chemical substructures and genes, to predict drug-induced expression profiles. Moreover, DeepCE utilizes a graph neural network and multihead attention mechanism to model chemical substructure–gene and gene–gene associations—for predicting the differential gene expression profile perturbed by de novo chemicals. Furthermore, data augmentation method that extracts useful information from unreliable experiments in the dataset has been used in the suggested paper [71].

Correspondingly, suggested study has employed 2 discrete datasets, which is induced for gene expression profiles by from open TG-GATEs and existence of information from FAERS DB, which could be applied for various ADRs. It incorporated data cleaning and data filtering along with hyper parameter tuning and feature selection. By employing DNN, 14 predictive approaches were built with a validation accuracy of 89.4%, which displayed the predicted ADRs reliably and steadily. From the findings it was assumed that recommended model was beneficial for detection of drug discovery [72].

The prediction of sensitivity and selection of drug responsive biomarker was considered as one of the key steps in discovery of drug. Different computational approaches have been established to assist the purpose, comprising various DNN techniques. Nevertheless, the modular relations among the genomic features was hugely unnoticed in the models. Therefore, with the aim to overcome the limitations, the role of the gene co-expression network on prediction of drug sensitivity was explored in the suggested study. Therefore, network based approach was first detected for representative feature for prediction of drug response by employing the gene co-expression network. Further, 2 Graph based NN techniques were employed and both these models were integrated for gene network information straight into NN for prediction of outcome. Further, the model was compared with other existing techniques such as SVR, RF, Elastic Net, and Partial Least Square Regression and other DNN approaches for prediction of the drug sensitivity. The relation between the genomic features are considered to be robust and steady when compared to correlation between each individual genomic features and drug response in more dimension and low size of sample in genomic datasets [73].

Suggested study has employed DeepTTA model which utilized transformer for representation of drug and learning and MNN for transcriptomic data prediction of anti-cancer drug responses. DeepTTA model transcriptomic GE data and substructures of drugs for the prediction of drug response [74]. From the experimental outcome, it was identified that, DeepTTA model achieved better performance in terms of all RMSE, PCCE (Pearson correlation co-efficient) and SRCC (Spearman's Rank Correlation Co-Efficient). Therefore, it was identified that, DeepTTA model was considered as an effective method for cancer drug design.

Similarly, response of drug was identified by integrating the DL graph regularized matrix factorization (Deep GRMF) along with graph models, NN, matrix factorization method with the aim to apply the diverse information from chemical structure of drug. Control of cellular signaling system and cancer cell states to forecast the response to drug. DeepGRMF learnt the

embedding's of the drugs so that the sharing of drug edifices as well as the mechanism of the actions which are correspondingly related in the embedding the space. Prediction performance of the model was enhanced by evaluating the DeepGRME model. Further, the model was effective for predicting the chemotherapy for lung cancer patients. The dataset implemented was TCGA dataset. Moreover, CCLE and GDSC dataset was retained as these datasets contained GE data of 2,758 genes in 954 and 477 cell lines distinctly. The DeepGRMF approach only utilized gene expression profiling data and additionally incorporating the genomic variations and epigenetic information, which will possibly enhance the performance of the model. The drug sensitivity forecasting was considered to be not as good as cell line prediction [75]. Table-4 shows the drug discovery employed using different architecture.

Table 4. Drug discovery using DL with Transformers

Year	Model	Architecture	Find-ings
2019	Multi Head Attention Molecular Transformer (BioNavi-NP) [76]	Transformer	89%
2021	DNN [72]	N/A	89.4%
2020	Molecular transformer [77]	Transformer	N/A
2022	SCROP [78]	Transformer	N/A
2022	DeepTTA [74]	Transformer	N/A
N/A – Not Available			

6. COMPARATIVE ANALYSIS

Various DL using transformers are used for prediction diseases based on their type, dataset, process are tabulated in the Table 5.

Table 5. Comparative analysis

Refer-ences	Year	Model	Type	Dataset	Process
[16]	2021	Gene Trans-former	Transformer	The Cancer Genomic Atlas (TCGA)	A gene transformer was used, as it addressed the difficulty of high dimensional gene expression with a multi-head SA module by detecting the appropriate biomarkers across the various several subtypes of cancer without needing feature selection as a pre-requisite for the existing classification algorithms. The outcome of the classification aided that gene transformer could be considered as an effective method for classifying the subtypes of the cancer, which indicated that any enhancement in DL model
[62]	2022	miRe2e	Transformer	Gene ex-pression	miRe2e, which was the end – end DL technique for pre-miRNA prediction. miR2e approach was based on transformers, which is a neural architecture that employed AM (Attention Mechanism) with the aim to deduce the global dependencies between various inputs and outputs

[25]	2022	DeepTTA	Transformer	Gene expression	DeepTTA model utilized transformer for representation of drug and learning and MNN for transcriptomic data prediction of anti-cancer drug responses. DeepTTA model transcriptomic GE data and substructures of drugs for the prediction of drug response. From the experimental outcome, it was identified that, DeepTTA model achieved better performance in terms of all RMSE, PCCE (Pearson correlation co-efficient) and SRCC (Spearman's Rank Correlation Co-Efficient).
[66]	2023	Improved deep insight (I-DI)	Transformer	10 Benchmark Datasets	I-DI worked on principle of t-SNE (t-distributed stochastic neighbor embedding). Model performed three techniques which comprised of 3 stages, which includes pre-processing, conversion of the data to image and classification.
[65]	2023	DeepGene	Transformer	Gene Expression Dataset	DeepGene transformer, which was considered as an end- to-end DL method, addressed the complications of high dimensional gene expression with the multi-head self-attention module (MHSA). This module aided by detecting the relevant biomarkers across multiple-subtypes of cancer without any need of feature selection as a precondition for the classification of the algorithm

From the table, it can be interpreted that, transformers are used more from the year 2021. Different existing studies from 2021 has started using transformers in their model along with different datasets. Various models such as gene transformer, miRe2e, DeepTTA, Improved deep insight (I-DI), DeepGene models are implemented by various existing studies.

7. CRITICAL ANALYSIS

An analysis is carried out with respect to various aspects used by different traditional works prediction of diseases. 13 paper are considered for analysis. Applications of transformers for gene expression dataset have been mentioned in the Fig. 4. The obtained results are graphically presented in Fig. 4 have been considered.

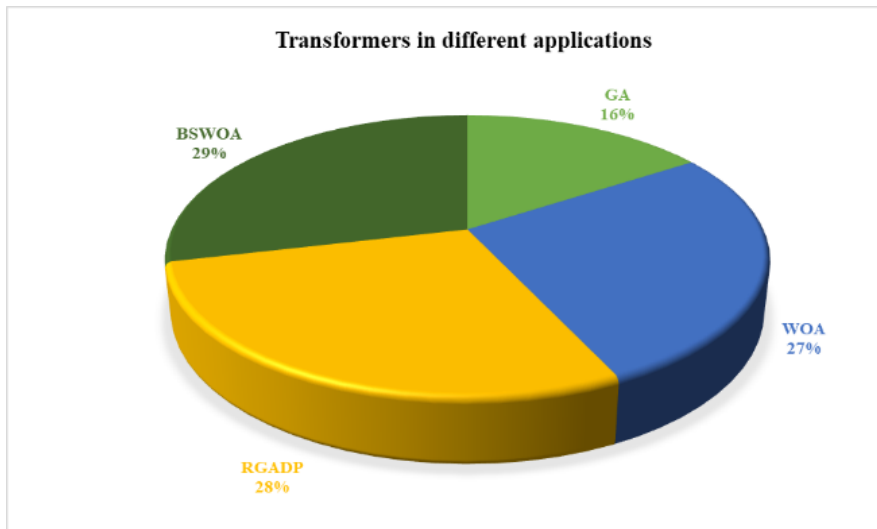


Figure 4. Transformers in different application.

Figure 4 shows the classification of different papers employed based on the topic. 46% shows the paper which dealt with prediction of lung cancer, 15% of papers dealt with stomach cancer and rest of the 8% papers dealt with prediction of other diseases and finally, rest of the, 31% of the papers dealt with drug discovery. Figure 5 shows the analysis of papers which involves DL models with transformers and without transformers.

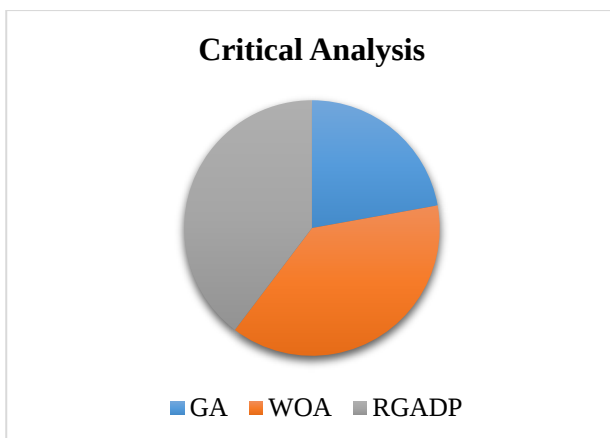


Figure 5. DL methods with transformers and without transformers.

8. FUTURE RECOMMENDATIONS

Various gaps identified through analysis of the existing works are listed below.

- Future work of the recommended paper focused on employing CNN for cancer multi-class classification [79].
- Future work of the suggested study focused on analyzing the function of the candidate genes and correlations in the expression depending on DL and incorporation of big data has the possibility to assist the detection of stomach cancer in early stage along with the development of treatment techniques and approaches with the aim to predict the prognosis [67].

- Though, ML has the potential to deliver satisfactory accuracy there are some of the issues like inability of the ML algorithms to employ unstructured data has restricted the utility of ML algorithms for classification tasks. Therefore, DL algorithms are preferred over ML, as they possess the ability to comprehend complex data.

Though there are various NN in DL, Transformers is utilized very less, therefore as a part of future work, disease can be predicted by employing various DL algorithm along with transformers, with the aim to predict accurate value for disease prediction, as Transformers models have demonstrated increased robustness and sturdiness more than models which delivered competitive performance on standards with different formats of data. One of the advantages of employing Transformer is that, the self-attention mechanism permits to use contextual information for any location in the input sequence and aids in capturing long range dependencies when compared to existing models and further, it allows higher parallelization when compared to RNN model.

9. CONCLUSION

The present study reviewed different experimenters work using DL for prediction of disease. Different DL algorithms and DL algorithms using transformers were examined in the present study. The corresponding features of related methods based on DL algorithms using transformers along with related datasets were presented. Based on DL algorithms and DL with transformers, prediction of diseases were found effectively. These transformers aids in delivering great accuracy and are efficient in terms of prediction of diseases. Since transformers possess different advantages such as increased capacity of the model, which allows to capture the complex relationships in sequential data, its ability to process the sequences in parallel, which makes it efficient and faster than conventional models. However, despite having several advantages, there have been limited studies in terms of using it prediction of diseases. Further, different applications like cancer prediction, drug discovery are mentioned in the present study. In addition, it has been observed that, incorporation of transformers in DL algorithms were implemented more from the year 2021, still there are few complications which needs to be overcome for prediction of diseases. Therefore, DL using transformers along with gene datasets will be helps in predicting the diseases. Additionally, this study would aids the researchers for their innovations in this area for enhancing the effectiveness and efficiency in prediction of disease.

CONFLICT OF INTEREST

All authors report that they do not have any conflicts of interest.

REFERENCES

1. V. Chandrasekar, V. Sureshkumar, T.S. Kumar & S. Shanmugapriya. Disease prediction based on micro array classification using deep learning techniques (Retracted). *Microprocessors and Microsystems*, **77**, 103189 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.micpro.2020.103189>
2. Y. Yang, M.Z. Hossain, E.A. Stone & S. Rahman. Exemplar guided deep neural network for spatial transcriptomics analysis of gene expression prediction. 2023 IEEE/CVF Winter Conference on Applications of Computer Vision (WACV). URL: <https://ieeexplore.ieee.org/document/10030793>

3. G. Lopez-Garcia, J.M. Jerez, L. Franco & F.J. Veredas. Transfer learning with convolutional neural networks for cancer survival prediction using gene-expression data. *PLoS One*, **15**(3), e0230536 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230536>
4. Uzma, F. Al-Obeidat, A. Tubaishat, B. Shah & Z. Halim. Gene encoder: a feature selection technique through unsupervised deep learning-based clustering for large gene expression data. *Neural Computing and Applications*, **34**, 8309–8331 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1007/s00521-020-05101-4>
5. S. Chowdhury. *Cell type classification via deep learning on single-cell gene expression data*. Ph. D. thesis. Prairie View A&M University, Prairie View (TX), 2023; 147 p. URL: <https://digitalcommons.pvamu.edu/pvamu-dissertations/15/>
6. M.B. Schabath & M.L. Cote. Cancer progress and priorities: Lung cancer. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, **28**(10), 1563–1579 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1158/1055-9965.epi-19-0221>
7. J. Devlin, M.-W. Chang, K. Lee & K. Toutanova. BERT: Pre-training of deep bidirectional transformers for language understanding. Proceedings of NAACL-HLT 2019, pp. 4171–4186. Minneapolis, Minnesota, June 2 - June 7, 2019. URL: <https://aclanthology.org/N19-1423.pdf>
8. Z. Dai, Z. Yang, Y. Yang, J. Carbonell, Q.V. Le & R. Salakhutdinov. Transformer-XL: Attentive language models beyond a fixed-length context. Proceedings of the 57th Annual Meeting of the Association for Computational Linguistics, pp. 2978–2988. Florence, Italy, July 28 - August 2, 2019. URL: <https://aclanthology.org/P19-1285.pdf>
9. A. Kolesnikov, A. Dosovitskiy, D. Weissenborn, G. Heigold, J. Uszkoreit, L. Beyer, *et al.* An image is worth 16x16 words: Transformers for image recognition at scale. Preprint, 2021. URL: <https://arxiv.org/pdf/2010.11929v1>
10. T. Brown, B. Mann, N. Ryder, M. Subbiah, J.D. Kaplan, P. Dhariwal, *et al.* Language models are few-shot learners. Preprint, 2020; 75 p. URL: <https://arxiv.org/pdf/2005.14165>
11. Z. Yang, A. Mitra, W. Liu, D. Berlowitz & H. Yu. TransformEHR: transformer-based encoder-decoder generative model to enhance prediction of disease outcomes using electronic health records. *Nat. Commun.*, **14**, 7857 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43715-z>
12. Q. Xu, L. Zhu, T. Dai & C. Yan. Aspect-based sentiment classification with multi-attention network. *Neurocomputing*, **388**, 135–143 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2020.01.024>
13. T.-H. Zhang, M. M. Hasib, Y.-C. Chiu, Z.-F. Han, Y.-F. Jin, M. Flores, *et al.* Transformer for gene expression modeling (T-GEM): An interpretable deep learning model for gene expression-based phenotype predictions. *Cancers*, **14**(19), 4763 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/cancers14194763>
14. M.A. Osseni, P. Tossou, F. Laviolette & J. Corbeil. MOT: a Multi-Omics Transformer for multiclass classification tumour types predictions. Proceedings of the 16th International Joint Conference on Biomedical Engineering Systems and Technologies - Volume 3: BIOSTEC, pp. 252–261, 2023, Lisbon, Portugal. Doi: <https://doi.org/10.5220/0011780100003414>
15. Z. Lv, Y. Lin, R. Yan, Z. Yang, Y. Wang & F. Zhang. PG-TFNet: Transformer-based fusion network integrating pathological images and genomic data for cancer survival analysis. IEEE International Conference on Bioinformatics and Biomedicine (BIBM), 2021. URL: <https://ieeexplore.ieee.org/document/9669445>
16. A. Khan & B. Lee. DeepGene Transformer: Transformer for the gene expression-based classification of cancer subtypes. *Expert Systems with Applications*, **226**, 120047 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2023.120047>
17. J. Wensel, H. Ullah & A. Munir. ViT-ReT: Vision and recurrent transformer neural networks for human activity recognition in videos. *IEEE Access*, **11**, 72227–72249 2023. URL: <https://ieeexplore.ieee.org/abstract/document/10177697>
18. I.D. Luptáková, M. Kubovčík & J. Pospíchal. Wearable sensor-based human activity recognition with transformer model. *Sensors*, **22**(5), 1911 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/s22051911>
19. D. Huang, P.Z. Kosentka & W. Liu. Synthetic biology approaches in regulation of targeted gene expression. *Current Opinion in Plant Biology*, **63**, 102036 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2021.102036>

20. A. Anna & G. Monika. Splicing mutations in human genetic disorders: examples, detection, and confirmation. *J. Appl. Genet.*, **59**(3), 253–268, (2018). Doi: <https://doi.org/10.1007/s13353-018-0444-7>
 21. B.E. Slatko, A.F. Gardner & F.M. Ausubel. Overview of next-generation sequencing technologies. *Curr. Protoc. Mol. Biol.*, **122**, e59 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1002/cpmb.59>
 22. N. Briglia, A. Petrozza, F.A. Hoeberichts, N. Verhoef & G. Povero. Investigating the impact of biostimulants on the row crops corn and soybean using high-efficiency phenotyping and next generation sequencing. *Agronomy*, **9**(11), 761 (2019). Doi: <https://doi.org/10.3390/agronomy9110761>
 23. T. Phan, E.J. Fay, Z. Lee, S. Aron, W.-S. Hu & R.A. Langlois. Segment-specific kinetics of mRNA, cRNA, and vRNA accumulation during influenza virus infection. *J. Virol.*, **95**(10), e02102-20 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1128/JVI.02102-20>
 24. G. Monaco, B. Lee, W. Xu, S. Mustafah, Y.Y. Hwang, C. Carré, *et al.* RNA-Seq signatures normalized by mRNA abundance allow absolute deconvolution of human immune cell types. *Cell Reports*, **26**(6), 1627–1640.E7 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2019.01.041>
 25. M.F. Khan, T.M. Ghazal, R.A. Said, A. Fatima, S. Abbas, M. Khan, *et al.* An iomt-enabled smart healthcare model to monitor elderly people using machine learning technique. *Comput. Intell. Neurosci.*, **2021**, 487759 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1155/2021/2487759>
 26. S.B. Bhonde & J.R. Prasad. Deep learning techniques in cancer prediction using genomic profiles. 2021 6th International Conference for Convergence in Technology (I2CT), Maharashtra, India, 2021; pp. 1-9. Doi: <https://doi.org/10.1109/i2ct51068.2021.9417985>
 27. L.N. Waylen, H.T. Nim, L.G. Martelotto & M. Ramialison. From whole-mount to single-cell spatial assessment of gene expression in 3D. *Commun. Biol.*, **3**, 602 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1038/s42003-020-01341-1>
 28. S. Kumar, K. Dhial & T. Bhati. DNA microarray: Gene expression and analysis technology. *The Science World: A Monthly e-Magazine*, **1**(06), 24–29 (2021). URL: https://www.researchgate.net/publication/361485777_DNA_Microarray_Gene_Expression_and_Analysis_Technology
 29. Y. Wang, M. Mashock, Z. Tong, X. Mu, H. Chen, X. Zhou, *et al.* Changing technologies of RNA sequencing and their applications in clinical oncology. *Frontiers in Oncology*, **10**, 447 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3389/fonc.2020.00447>
 30. A. Negi, A. Shukla, A. Jaiswar, J. Shrinet & R.S. Jasrotia. Applications and challenges of microarray and RNA-sequencing. In: D.B. Singh & R.K. Pathak (editors). *Bioinformatics: Methods and Applications*. Academic Press, 2022; pp. 91–103. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89775-4.00016-X>
 31. S. Dang, M. Wen, S. Mumtaz, J. Li & C. Li. Enabling multicarrier relay selection by sensing fusion and cascaded ANN for intelligent vehicular communications. *IEEE Sensors J.*, **21**(14), 15614–15625 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1109/JSEN.2020.2986322>
 32. T. Matsubara, T. Ochiai, M. Hayashida, T. Akutsu & J.C. Nacher. Convolutional neural network approach to lung cancer classification integrating protein interaction network and gene expression profiles. *J. Bioinform. Comput. Biol.*, **17**(03), 1940007 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1142/S0219720019400079>
 33. S.H. Shah, M.J. Iqbal, I. Ahmad, S. Khan & J.J. Rodrigues. Optimized gene selection and classification of cancer from microarray gene expression data using deep learning. *Neural Comput. Applicat.*, 1-12 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1007/s00521-020-05367-8>
 34. H. Fang, J.-U. Lee, N.S. Moosavi & I. Gurevych. Transformers with learnable activation functions. Findings of the Association for Computational Linguistics: EACL 2023, pp. 2382–2398, May 2-6, 2023. Doi: <https://doi.org/10.18653/v1/2023.findings-eacl.181>
 35. M. Tripathi. Analysis of convolutional neural network based image classification techniques. *Journal of Innovative Image Processing*, **3**, 100–117 (2021). Doi: <https://doi.org/10.36548/jiip.2021.2.003>
 36. A.K. Tyagi & A. Abraham (editors). *Recurrent Neural Networks: Concepts and Applications*. CRC Press, Boca Raton (FL), 2022. Doi: <https://doi.org/10.1201/9781003307822>
-

37. D. Deshwal & P. Sangwan. A comprehensive study of deep neural networks for unsupervised deep learning. In: A.E. Hassanien, R. Bhatnagar & A. Darwish (editors). *Artificial intelligence for sustainable development: Theory, practice and future applications*. Springer Cham, 2021; pp. 101–126. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-51920-9_7
38. C. Qiao, L. Yang, Y. Shi, H. Fang & Y. Kang. Deep belief networks with self-adaptive sparsity. *Applied Intelligence*, **52**, 237–253 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10489-021-02361-y>
39. X. Chen, T.-H. Li, Y. Zhao, C.-C. Wang & C.-C. Zhu. Deep-belief network for predicting potential miRNA-disease associations. *Briefings in Bioinformatics*, **22**(3), bbaa186 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa186>
40. S. Garg, D. Tsipras, P. S. Liang & G. Valiant. What can transformers learn in-context? A case study of simple function classes. 31 p. URL: <https://arxiv.org/pdf/2208.01066>
41. S. Mehta, X. Lu, W. Wu, D. Weaver, H. Hajishirzi, J.G. Elmore, *et al.* End-to-End diagnosis of breast biopsy images with transformers. *Medical Image Analysis*, **79**, 102466 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.media.2022.102466>
42. O. Ahmed & A. Brifcani. Gene expression classification based on deep learning. 4th Scientific International Conference, Najaf, IRAQ (4th SICN-2019). URL: <https://ieeexplore.ieee.org/document/9019357>
43. K. KC, R. Li, F. Cui, Q. Yu & A.R. Haake. GNE: a deep learning framework for gene network inference by aggregating biological information. *BMC Systems Biology*, **13**, 38 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12918-019-0694-y>
44. R. Xie, J. Wen, A. Quitadamo, J. Cheng & X. Shi. A deep auto-encoder model for gene expression prediction. *BMC Genomics*, **18**, 845 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12864-017-4226-0>
45. K.G. Dizaji, X. Wang & H. Huang. Semi-supervised generative adversarial network for gene expression inference. KDD '18: Proceedings of the 24th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery & Data Mining, 2018; pp. 1435–1444. Doi: <https://doi.org/10.1145/3219819.3220114>
46. J. Clauwaert, G. Menschaert & W. Waegeman. Explainability in transformer models for functional genomics. *Briefings in Bioinformatics*, **22**(5), bbab060 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbab060>
47. L. Jiao, G. Wang, H. Dai, X. Li, S. Wang & T. Song. scTransSort: Transformers for intelligent annotation of cell types by gene embeddings. *Biomolecules*, **13**(4), 611 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/biom13040611>
48. S. Jubair, J.R. Tucker, N. Henderson, C.W. Hiebert, A. Badea, M. Domaratzki, *et al.* "GPTransformer: A transformer-based deep learning method for predicting Fusarium related traits in barley. *Frontiers in Plant Science*, **12**, 761402 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3389/fpls.2021.761402>
49. Y. Liu, G. Sun, Y. Qiu, L. Zhang, A. Chhatkuli & L.V. Gool. Transformer in convolutional neural networks. URL: <https://arxiv.org/pdf/2106.03180v2>
50. L. Gai, M. Xing, W. Chen, Y. Zhang & X. Qiao. Comparing CNN-based and transformer-based models for identifying lung cancer: which is more effective?. *Multimedia Tools and Applications*, **83**, 59253–59269 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11042-023-17644-4>
51. A. Vaswani, N. Shazeer, N. Parmar, J. Uszkoreit, L. Jones, A.N. Gomez, *et al.* Attention is all you need. 31st Conference on Neural Information Processing Systems (NIPS 2017), Long Beach, CA, USA; 11 p. URL: <https://dl.acm.org/doi/pdf/10.5555/3295222.3295349>
52. A. Rives, S. Goyal, J. Meier, D. Guo, M. Ott, C.L. Zitnick, *et al.* Biological structure and function emerge from scaling unsupervised learning to 250 million protein sequences. *Proceedings of the National Academy of Sciences* (PNAS), **118**(15), e2016239118 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1073/pnas.2016239118>
53. A. Dosovitskiy, L. Beyer, A. Kolesnikov, D. Weissenborn, X. Zhai, T. Unterthiner, *et al.* An image is worth 16x16 words: Transformers for image recognition at scale. Published as a conference paper at ICLR 2021; arXiv: 2010.11929v2; 22 p.. Doi: <https://doi.org/10.48550/arXiv.2010.11929>
54. Z. Wang, Y. Ma, Z. Liu & J. Tang. R-Transformer: Recurrent neural network enhanced transformer. arXiv: 1907.05572v1, 2019; 11 p. Doi: <https://doi.org/10.48550/arXiv.1907.05572>

55. L. Chen, X. Pan, Y.-H. Zhang, M. Liu, T. Huang & Y.-D. Cai. Classification of widely and rarely expressed genes with recurrent neural network. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, **17**, 49–60 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2018.12.002>
 56. S. Pang, Y. Zhuang, S. Qiao, F. Wang, S. Wang & Z. Lv. DCTGM: A novel dual-channel transformer graph model for miRNA-disease association prediction. *Cognitive Computation*, **16**, 2009–2018 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s12559-022-10092-6>
 57. T. Khorshed, M.N. Moustafa & A. Rafea. Deep learning for multi-tissue cancer classification of gene expressions (GeneXNet). *IEEE Access*, **8**, 90615–90629 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1109/access.2020.2992907>
 58. S. Parvathavardhini & S. Manju. Cancer gene detection using neuro fuzzy classification algorithm. *Int. J. Sci. Res. Comput. Sci., Eng. Inf. Technol.*, **3**(3), 1223–1229 (2018). URL: <https://ijsrcseit.com/paper/CSEIT1833478.pdf>
 59. F. Gao, W. Wang, M. Tan, L. Zhu, Y. Zhang, E. Fessler, *et al.* DeepCC: a novel deep learning-based framework for cancer molecular subtype classification. *Oncogenesis*, **8**, 44 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41389-019-0157-8>
 60. M. Bicaçci, O. Ayyildiz, Z. Aydin, A. Basturk, S. Karacavus & B. Yilmaz. Metabolic imaging based sub-classification of lung cancer. *IEEE Access*, **8**, 218470–218476 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1109/access.2020.3040155>
 61. N.E.M. Khalifa, M.H.N. Taha, D.E. Ali, A. Slowik & A.E. Hassanien. Artificial intelligence technique for gene expression by tumor RNA-Seq data: a novel optimized deep learning approach. *IEEE Access*, **8**, 22874–22883 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1109/access.2020.2970210>
 62. J. Raad, L.A. Bugnon, D.H. Milone & G. Stegmayer. miRe2e: a full end-to-end deep model based on transformers for prediction of pre-miRNAs. *Bioinformatics*, **38**(5), 1191–1197 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btab823>
 63. Ž. Avsec, V. Agarwal, D. Visentin, J.R. Ledsam, A. Grabska-Barwinska, K.R. Taylor, *et al.* Effective gene expression prediction from sequence by integrating long-range interactions. *Nature Methods*, **18**, 1196–1203 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41592-021-01252-x>
 64. T. Song, H. Dai, S. Wang, G. Wang, X. Zhang, Y. Zhang, *et al.*, "TransCluster: A cell-type identification method for single-cell RNA-Seq data using deep learning based on transformer. *Frontiers in Genetics*, **13**, 1038919 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2022.1038919>
 65. A. Khan & B. Lee. DeepGene Transformer: Transformer for the gene expression-based classification of cancer subtypes. *Expert Systems with Applications*, **226**, 120047 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2023.120047>
 66. M. Gokhale, S.K. Mohanty & A. Ojha. GeneViT: Gene vision transformer with improved DeepInsight for cancer classification. *Computers in Biology and Medicine*, **155**, 106643 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.combiomed.2023.106643>
 67. J. Xu, P. Wu, Y. Chen, Q. Meng, H. Dawood & H. Dawood. A hierarchical integration deep flexible neural forest framework for cancer subtype classification by integrating multi-omics data. *BMC Bioinformatics*, **20**, 527 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12859-019-3116-7>
 68. H. Torkey, M. Atlam, N. El-Fishawy & H. Salem. A novel deep autoencoder based survival analysis approach for microarray dataset. *PeerJ Computer Science*, **7**, e492 (2021). Doi: <https://doi.org/10.7717/peerj-cs.492>
 69. H. Lu, J. Chen, K. Yan, Q. Jin, Y. Xue & Z. Gao. A hybrid feature selection algorithm for gene expression data classification. *Neurocomputing*, **256**, 56–62 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.neucom.2016.07.080>
 70. J. Hu, J. Gao, X. Fang, Z. Liu, F. Wang, W. Huang, *et al.* DTSyn: a dual-transformer-based neural network to predict synergistic drug combinations. *Briefings in Bioinformatics*, **23**(5), bbac302 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbac302>
-

71. T.-H. Pham, Y. Qiu, J. Zeng, L. Xie & P. Zhang. A deep learning framework for high-throughput mechanism-driven phenotype compound screening and its application to COVID-19 drug repurposing. *Nature Machine Intelligence*, **3**, 247–257 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1038/s42256-020-00285-9>
72. A. Mohsen, L.P. Tripathi & K. Mizuguchi. Deep learning prediction of adverse drug reactions in drug discovery using open TG–GATEs and FAERS databases. *Front. Drug Discov.*, **1**, 768792 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3389/fddsv.2021.768792>
73. K.T. Ahmed, S. Park, Q. Jiang, Y. Yeu, T. Hwang & W. Zhang. Network-based drug sensitivity prediction. *BMC Medical Genomics*, **13**, 193 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12920-020-00829-3>
74. L. Jiang, C. Jiang, X. Yu, R. Fu, S. Jin & X. Liu. DeepTTA: a transformer-based model for predicting cancer drug response. *Briefings in Bioinformatics*, **23**(3), bbac100 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbac100>
75. S. Ren, Y. Tao, K. Yu, Y. Xue, R. Schwartz & X. Lu. *De novo* prediction of cell-drug sensitivities using deep learning-based graph regularized matrix factorization. *Biocomputing*, **27**, 278–289 (2022). Doi: https://doi.org/10.1142/9789811250477_0026
76. S. Zheng, T. Zeng, C. Li, B. Chen, C. W. Coley, Y. Yang, *et al.* Deep learning driven biosynthetic pathways navigation for natural products with BioNavi-NP. *Nature Communications*, **13**, 3342 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-022-30970-9>
77. G. Pesciullesi, P. Schwaller, T. Laino & J.-L. Reymond. Transfer learning enables the molecular transformer to predict regio- and stereoselective reactions on carbohydrates. *Nature Communications*, **11**, 4874 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-020-18671-7>
78. S. Zheng, J. Rao, Z. Zhang, J. Xu & Y. Yang. Predicting retrosynthetic reactions using self-corrected transformer neural networks. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **60**(1), 47–55 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00949>
79. M.K. Elbashir, M. Ezz, M. Mohammed & S.S. Saloum. Lightweight convolutional neural network for breast cancer classification using RNA-seq gene expression data. *IEEE Access*, **7**, 185338–185348 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1109/access.2019.2960722>

HOW TO CITE THIS ARTICLE

I. Mercy & M. Chidambaram. Prediction of diseases using transformers for gene expression dataset. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 591–620 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.118814>

Drug design and discovery with bioinformatics tools

Amjad I. Oraibi^{1*}, Ahmed Mohammed Zheoat¹, Hayder Naji Sameer², Mohammed Ayad Al-boreadi¹ & Hayder M. Abdulhamza³

¹Department of Pharmacy, Al-Manara College for Medical Sciences University, Misan, Iraq

²Ministry of Health and Environment, Thiqr Health Directorate, Nasiriya, Iraq

³Department of Pharmacy, Al-Kut University College, Alkut, Wasit, Iraq, 52001

*Corresponding author E-mail: amjadibrahim@uomanara.edu.iq, Orcid ID: <https://orcid.org/0009-0009-0879-8380>

Received: January 20, 2025

Corrected: June 13, 2025

Accepted: June 18, 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.118428>

SUMMARY

Context: Bioinformatics is a combination of different fields including computer science, biology, information technology and statistics which is used to analyze and interpret the biological data. It is used to design and discover novel drugs through biological data analysis and potential target identification. With increasing drug resistance among bacterial species, there is a need to develop new drugs. **Aims:** However, the drug discovery procedure is laborious, expensive and time-consuming. The new drug identification consists of various steps including target identification, target protein structure analysis, potential drug candidate identification, detecting the safety and efficacy of drug, optimizing them and finally validating the drug. Bioinformatics has a vital role in all these steps. Bioinformatics has emerged as a powerful tool in the field of drug design and discovery, enabling the rapid identification of potential drug targets, optimization of lead compounds, and prediction of drug interactions. For instance, analysis of protein sequences and genetic data enables target identification. **Methods:** Once the target protein is recognized, its structure can be investigated using bioinformatics tools. Identification of potential ligand binding sites allows for screening of compound databases to find drug candidates. A review of the relevant literature highlights that the identification of potential ligand binding sites allows for screening of compound databases to find drug candidates. Simulations of target protein and biomolecule interactions aid in predicting drug safety and efficacy. **Results:** Bioinformatics is utilized for drug optimization to improve safety and efficacy. Recently pharmacophore and molecular docking process are used for screening of thousands of candidate molecules to a few promising leads. In this paper, drug design and discovery has been done with the use of bioinformatics tool in the field of network pharmacology. This paper reviews the application of bioinformatics tools within the field of network pharmacology, focusing on methodologies for drug design and discovery. It aims to clarify existing approaches and propose future directions in the context of drug development, rather than suggesting that original drug design and discovery work has been conducted by the authors.

Keywords: bioinformatics; target protein; ligand binding site; biomolecule interaction; pharmacophore; docking; pharmacology.

RESUMEN

Diseño y descubrimiento de fármacos con herramientas bioinformáticas

Contexto: La bioinformática es una combinación de diferentes campos, como la informática, la biología, las tecnologías de la información y la estadística, que se utiliza para analizar e interpretar datos biológicos. Se utiliza para diseñar y descubrir nuevos fármacos mediante el análisis de datos biológicos y la identificación de posibles dianas. Debido al aumento de la resistencia a los fármacos en las especies bacterianas, surge la necesidad de desarrollar nuevos fármacos. **Objetivos:** Sin embargo, el proceso de descubrimiento de fármacos es laborioso, costoso y requiere mucho tiempo. La identificación de nuevos fármacos consta de varios pasos: la identificación de la diana, el análisis de la estructura de la proteína diana, la identificación de posibles candidatos a fármacos, la detección de la seguridad y la eficacia de los fármacos, su optimización y, finalmente, la validación del fármaco. La bioinformática desempeña un papel fundamental en todos estos pasos. La bioinformática se ha convertido en una herramienta poderosa en el campo del diseño y descubrimiento de fármacos, permitiendo la rápida identificación de posibles dianas farmacológicas, la optimización de compuestos clave y la predicción de interacciones farmacológicas. Por ejemplo, el análisis de secuencias de proteínas y datos genéticos permite la identificación de la diana. **Métodos:** Una vez reconocida la proteína diana, se puede investigar su estructura mediante herramientas bioinformáticas. La identificación de posibles sitios de unión de ligandos permite el cribado de bases de datos de compuestos para encontrar fármacos candidatos. Una revisión de la literatura relevante destaca que la identificación de posibles sitios de unión de ligandos permite el cribado de bases de datos de compuestos para encontrar fármacos candidatos. Las simulaciones de proteínas diana e interacciones biomoleculares ayudan a predecir la seguridad y eficacia de los fármacos. **Resultados:** La bioinformática se utiliza para la optimización de fármacos con el fin de mejorar la seguridad y eficacia. Recientemente, el farmacóforo y el proceso de acoplamiento molecular se han utilizado para el cribado de miles de moléculas candidatas hasta encontrar unas pocas líneas prometedoras. En este artículo, se ha realizado el diseño y descubrimiento de fármacos mediante herramientas bioinformáticas en el campo de la farmacología de redes. Este artículo revisa la aplicación de herramientas bioinformáticas en el campo de la farmacología de redes, centrándose en las metodologías para el diseño y descubrimiento de fármacos. Su objetivo es aclarar los enfoques existentes y proponer futuras direcciones en el contexto del desarrollo de fármacos, en lugar de sugerir que el trabajo original de diseño y descubrimiento de fármacos haya sido realizado por los autores.

Palabras clave: bioinformática; proteínas diana; sitio de unión de ligando; interacción biomolecular; farmacóforo; acoplamiento; farmacología.

RESUMO

Projeto e descoberta de fármacos com ferramentas de bioinformática

Contexto: A bioinformática é uma combinação de diferentes áreas, incluindo ciência da computação, biologia, tecnologia da informação e estatística, utilizada para analisar e interpretar dados biológicos. É utilizada para projetar e descobrir novos fármacos por meio da análise de dados biológicos e da identificação de potenciais alvos. Com o aumento da resistência a fármacos entre espécies bacterianas, surge a necessidade de desenvolver novos fármacos. **Objetivos:** No entanto, o procedimento de descoberta de fármacos é trabalhoso, caro e demorado. A identificação de novos fármacos consiste em várias etapas, incluindo a identificação do alvo, a análise da estrutura da proteína alvo, a identificação de potenciais candidatos a fármacos, a detecção da segurança e eficácia dos fármacos, a otimização dos mesmos e, finalmente, a validação do fármaco. A bioinformática desempenha um papel vital em todas essas etapas. A bioinformática emergiu como uma ferramenta poderosa no campo do projeto e descoberta de fármacos, permitindo a rápida identificação de potenciais alvos, a otimização de compostos líderes e a previsão de interações medicamentosas. Por exemplo, a análise de sequências de proteínas e dados genéticos permite a identificação do alvo. **Métodos:** Uma vez reconhecida a proteína alvo, sua estrutura pode ser investigada utilizando ferramentas de bioinformática. A identificação de potenciais sítios de ligação de ligantes permite a triagem de bancos de dados de compostos para encontrar candidatos a fármacos. Uma revisão da literatura relevante destaca que a identificação de potenciais sítios de ligação de ligantes

permite a triagem de bancos de dados de compostos para encontrar candidatos a fármacos. Simulações de interações entre proteínas-alvo e biomoléculas auxiliam na previsão da segurança e eficácia de fármacos. **Resultados:** A bioinformática é utilizada na otimização de fármacos para melhorar a segurança e a eficácia. Recentemente, o farmacóforo e o processo de docking molecular têm sido utilizados para a triagem de milhares de moléculas candidatas a algumas pistas promissoras. Neste artigo, o projeto e a descoberta de fármacos foram realizados com o uso de ferramentas de bioinformática na área de farmacologia de redes. Este artigo analisa a aplicação de ferramentas de bioinformática na área de farmacologia de redes, com foco em metodologias para projeto e descoberta de fármacos. O objetivo é esclarecer as abordagens existentes e propor direções futuras no contexto do desenvolvimento de fármacos, em vez de sugerir que o trabalho original de projeto e descoberta de fármacos foi conduzido pelos autores.

Palavras-chave: bioinformática; proteína-alvo; sítio de ligação de ligantes; interação com biomoléculas; farmacóforo; docking; farmacologia.

1. INTRODUCTION

Bioinformatics is defined as the process of computational technique to evaluate the data related to the biomolecule. It is the technique of storing, fetching, organizing and evaluating as well as interpreting and usage of information from sequences and biomolecules [1]. The three main reason for incorporating Bioinformatics tools are as follows [2], 1) It organizes data in the form that the researchers can fetch information and submit the new data entries they produced. The protein data bank is the best example for storing 3D macromolecular structures. 2) It develops resources as well as tools which helps in evaluating the data. The selected protein is sequenced and analyzed with the existing sequences. Example such as FASTA and PSI BLAST programs [3] will analyze the resemblance of biological data. It requires both the knowledge of computational theory as well as biology. 3) Finally, it makes use of tools to evaluate the biological data and interpret the outcomes in a biologically significant manner. The biological systems investigate an individual in broad view, and compare with the less that are similar. In the tool of bioinformatics, the data analysis is performed globally with the existing data and it signifies the features that are identical.

The two main principles underlying in the analysis of bioinformatics tools are as follows [4], 1) Comparing and evaluating the data in specification with the biological similarities. 2) Analyzing single mode of data to interpret and evaluation for another set of data.

Margaret Dayhoff referred to the “mother as well as father of bioinformatics” pioneered the bioinformatics application in the biochemistry field. She created a new software “COSMO-PROTEIN” working associated with Robert. S. Ledley. They analyzed the biological problems through computational methodology. In the application, the input as well as output data are the sequences of amino acid and is represented by three letter abbreviation. For example, Lysine-Lys, and Serine-Ser. Dayhoff simplified the methodology and transformed it to one-letter code which is used today [5].

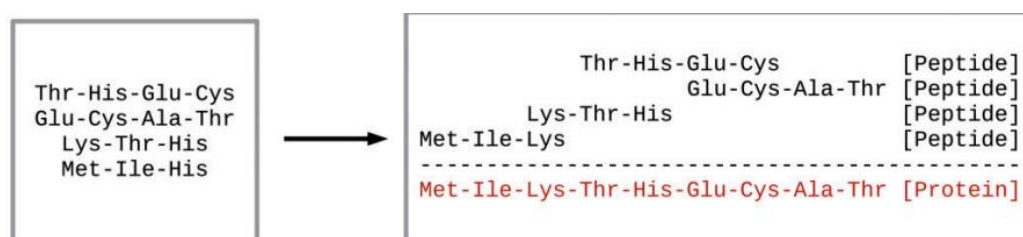


Figure 1. Example of COSMOPROTEIN input and output of protein sequences.

In Figure 1, resembles the input and output data of the protein sequence of COSMOPROTEIN software. The input is the Edman sequence of peptide and it is abbreviated by the three letter words. The output is nothing but the consensus sequence of protein and it is also represented by three letter words. The software referred to as “IBM 7090 – a complete computer application” and it is constructed to demonstrate the primary structure of protein. It is evaluated by the utilization of Edman peptide sequencing. It is coded in FORTRAN which is called as de novo assembler of sequences.

Life scientists are not involving directly in accessing the bioinformatics tool and require adequate skill in understanding the significance of bioinformatics to prevent misuse and interpretation error in the outcome. This leads to significant increase of availability of user friendly application such as Galaxy and the communities such as Bio Star and SEQ answers. It also require skilled bio-informatician to operate this application. Hence, the university adopt bioinformatics in their curriculum of biological science departments [6].

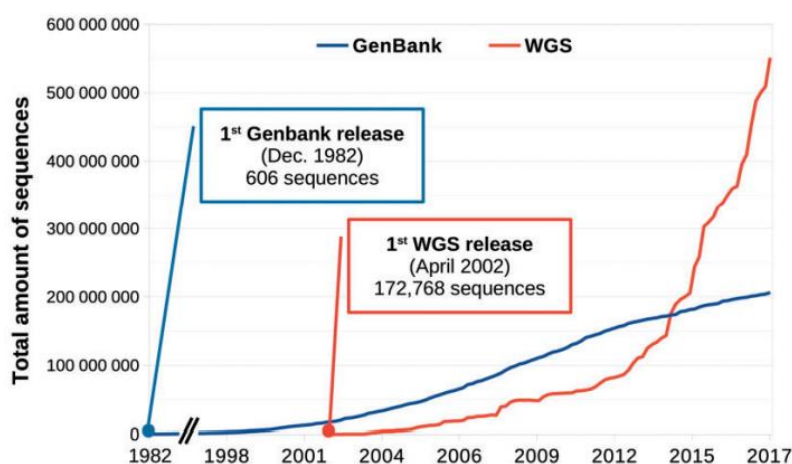


Figure 2. Databases of NCBI Gen Bank, Whole Genome Shotgun (WGS) genome sequences correlate with the time.

In the year 2008, Moore’s law became less accurate in determining the DNA sequencing. The magnitude of the outcome falls rapidly in emerging technologies. Therefore, it resulted in the drastic increase of sequences in the databases of GenBank as well as WGS-Whole-Genome Shotgun. It has produced data beyond the level of Exabyte - 10^8 . The computational resources are needed for the proper storage and organization for their ease of access and usability [7]. Bioinformatics is the intertwined field that comprises of computer in the biology field. In the Brown’s theory of hypothetical future, biology as well as bioinformatics are inter-related with one another and commonly referred to as simply biology. There is no distinction of two fields. The graph is the easiest method of explaining a complex system that comprises of collection of objects and their associations. As the machine learning is succeeded in the bioinformatics system, its outcome is represented by the Euclidean domain. Therefore for complex data analysis, graphical methodology is used to compress the graph in low-dimension which occupies less space preserving node properties and topology.

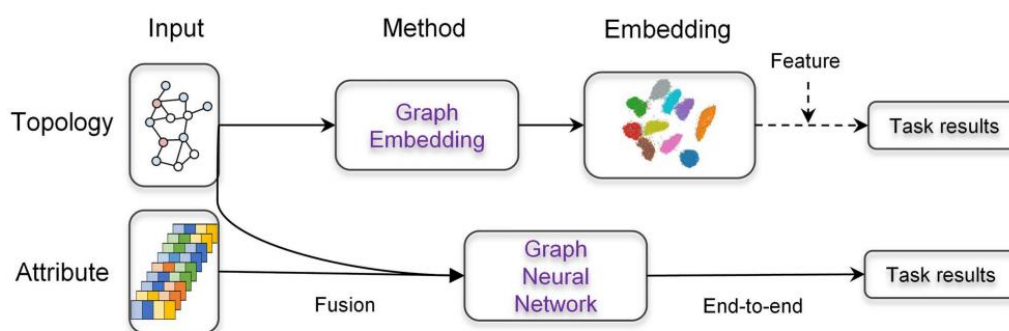


Figure 3. Graphical embedded and neural methods comparative analysis.

There are two major classification in the graphical methodologies of bioinformatics process. They are listed as follows, 1) Graphical Embedding Methods (GEM), 2) Graphical Neural Networks (GNN)

The graphical embedding aims to observe low-dimensional significance of nodes that preserve graphical topology. GNN not only observes the embedding but also completes the work on graphs at the end process. These techniques are widely used for analysis in bioinformatics tool. Figure 3 represents the comparison of graphical embedding methods and neural networks which had its significance in the field of bioinformatics. The GEM produce node representation which can be linked together with the machine learning methodologies to operate downstream task. GNN combines the topology as well as attributes to work on end to end tasks [8].

The development of physiology, molecular biology and other fields leads to the awareness of biomolecule process and their role in performing biochemical activities [9]. The modelling and evaluating of the biological graphs to resolve the issues of complication can be classified into three phases. They are, 1) Bipartite graph [10] and it is significant in the drug indication process such as drug-target association graph [11]. 2) Multi relational graph [12] and it is significant for analyzing drug discovery and its remedies. It focusses on the drug-disease, drug-gene, and drug-drug associations. 3) Biomedical graph also referred to as knowledge graph [13] and it is used in the database of PharmGKB, Gene Ontology and DrugBank for treatment of diseases [14].

1.1. Drug Discovery On The Basis Of Computational Tools

In traditional method, drug design and discovery is tedious as well as time consuming technique and also an expensive process. It will take an average of ten to fifteen years for the drug to reach market. It leads to the generation of CADD (Computer Aided Drug Design) systems which are ligand-based, structure-based as well as system based. The process is carried out in five stages [15].

Stage 1. Identification of target. It reveals the target protein which identify the diseases at the first stage of process.

Stage 2. At the second stage, the screening of identical compound that inhibits the target protein. These compounds are segregated.

Stage 3. At the third stage, the transformation of identical compounds to lead compound will take place. The optimization of the lead compound used for the treatment of disease will be identified.

Stage 4. Next, the evaluation of pharmacokinetic properties of the optimized drug compound. It will provide the complete information regarding the drug and target association.

Stage 5. Finally, the adverse effects of the drug can be determined by the process of AD-MET – Adsorption, Distribution, Metabolism, Excretion and Toxicity. This process is carried out in the initial stage of drug development to increase the success rate as well as minimization of time consuming process.

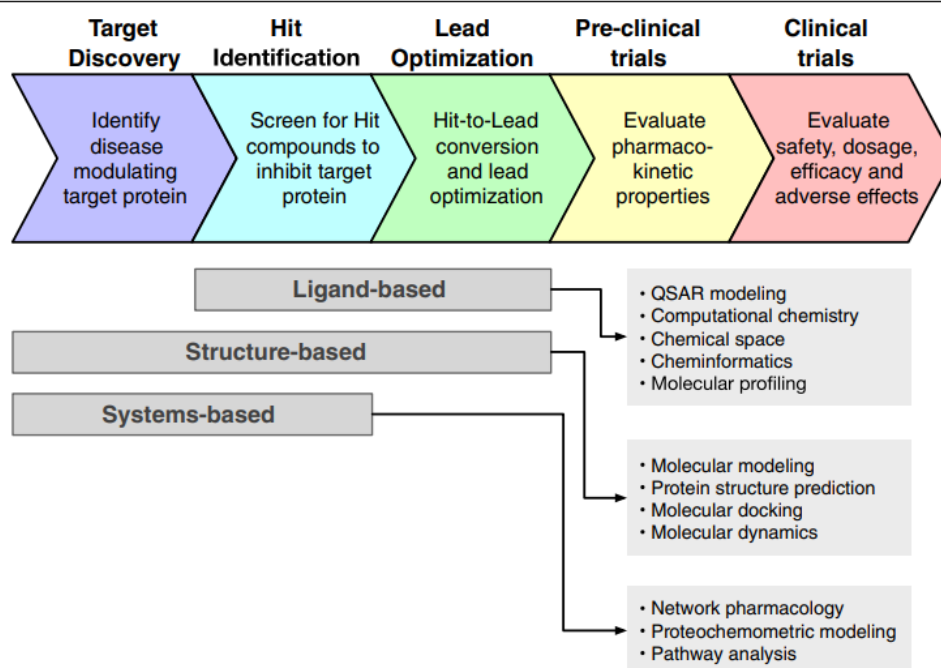


Figure 4. Drug discover methodology through computational tools.

Figure 4 demonstrates the complete drug discovery process, which is categorized into five critical stages namely the Target Discovery, Hit Identification, Lead Optimization, Pre-clinical Trials, and Clinical Trials. In the initial stage, Target Discovery used to recognize the disease moderating target proteins that is utilized in numerous diseases. The next phase, Lead Optimization, is utilized in converting identified hits into lead compounds by rigorous refinement to enrich their pharmacological properties. The Pre-clinical Trials, where the pharmacokinetic properties of optimized leads are estimated, evaluating their ADME (absorption, distribution, metabolism and excretion) features. Finally, Clinical Trials are conducted to evaluate the safety, dosage, efficacy and adverse effects of the drug in humans. Additionally, there are three approaches namely Ligand-based methods, which used the techniques such as QSAR (Quantitative Structure-Activity Relationship) modeling and molecular profiling, Structure-based methods, which mainly involves the molecular modeling and Systems-based approaches that incorporate network pharmacology and which is used to understand the biological associations of drug candidates. This structured framework guarantees a systematic transition from identifying targets to the development of secure and efficient pharmaceuticals.

The implementation of CADD in the system at the stage of target identification through experiments in wet-lab and followed by HTS-high throughput screening [16]. Due to huge requirement of resources with the extensive cost leads to the generation of molecular docking process [17]. It makes use of known target screened against the virtual library. This process is a highly efficient one but it requires crystal structure of the compounds. If the crystal structure is not available, de novo prediction technique will be used for screening process. It will determine the compound with the high degree of binding affinity (Figure 4).

The huge number of bioactivity sets will be analyzed by QSAR- Quantitative Structure Activity Relationship [18]. It predicts the activity of compounds through their structures. Those predictions are used in the process of target identification, ADMET-Adsorption and Metabolism prediction and drug repurposing process. In the available computational tools, it is important to focus on the quality of data rather than the quantity. Many analysis has been performed to illustrate the quality of data but the outcome is the prediction of the compounds which provide false positive result during analysis [19]. Therefore, proper workflows as well as pipelines are needed for ensuring the computational research to be more accurate.

Due to high level of data sets, the utilization of shared as well as public in the form of cloud or HPC-High performance Computing infrastructure of computational tool is required [20]. It added next level of complexity for the reproducibility of computational analysis. To obtain the portability between the systems, tools such as virtual machines and also virtual containers are utilized. High level of automation can be obtained through connection of containers with the virtual machines. It facilitates highly reliable as well as replicable services such as deploying models acts as a services compared to networks.

1.2. Problem Statement

In drug design and discovery, merging bioinformatics tools offers a hopeful strategy to speed up the finding of new drug targets, improving lead compounds, and forecasting drug interactions. Nevertheless, even with the progress made in bioinformatics, there are still obstacles and deficiencies that must be resolved in order to improve the efficiency and effectiveness of drug discovery processes. The complexity of biological systems makes it difficult to accurately model drug interactions and predict drug effectiveness. Bioinformatics tools must consider the intricacy of biological processes in order to enhance the precision of drug design and discovery. The wealth of data from genomics, proteomics, and other omics areas requires reliable tools for data integration and analysis to uncover valuable insights for drug discovery.

Bioinformatics tools need to efficiently manage and analyze various data sets in order to support well-informed decision-making. The designing of new drugs involves the development of innovative medication that communicates with the target. It comprises of proteomics, genomics and bioinformatics process resulted in the discovery of novel drugs through mechanism of action. The drug discovery process is crucial step and it is a time consuming process. It depends on several factor such as detection of drug targets, 3-D structure of protein and computational power in bioinformatics tool to detect protein and drug interactions. In modern world, the innovation in technologies has provide the pathway for drug designing process to be simpler in the pharmaceutical industry.

Forecasting drug-target interactions is essential in order to discover possible drug candidates with accuracy. Bioinformatics tools must improve their predictive abilities to simplify the lead optimization and drug development process. Integration of multiple omics data poses a considerable challenge when attempting to gain a thorough understanding of disease mechanisms and drug responses. Bioinformatics tools must create strong methods for combining and examining multi-omics data to support precision medicine efforts in drug discovery. Thus, the current study targets to improve drug development processes by using bioinformatics tools to tackle existing challenges and gaps in the field of drug design and discovery.

The significance of this research lies in its potential to revolutionize the drug discovery process by providing a more efficient and effective approach to identifying new drug targets,

optimizing lead compounds, and predicting drug interactions. By addressing the existing challenges and gaps in the field, this study hopes to contribute to the development of innovative and effective drugs that can improve patient outcomes and enhance the overall quality of life.

1.3. Research Objectives

The main aim of the study is to investigate the process of drug designing and discovery with the support of bioinformatics tool

The study has been instigated with the following objectives such as, 1) Analyze the challenges faced in the designing process of novel drug compounds. 2) Discussion on the existing technologies to overcome the challenges in drug discovery process. 3) Proposing the framework to avail the production of new drug compounds in the bioinformatics tool

1.4. Paper Organization

The paper is organized in the following manner in which Section 1 provides the brief introduction about the bioinformatics tool and the process involved in the drug discovery. The existing research works associated to the present study is presented in Section 2. Various process involved in the drug designing and its discovery is elucidated in Section 3. Finally, in Section 4, the paper is concluded with the suggestion to overcome the challenges faced by the pharmaceutical industry in the drug designing process.

2. LITERATURE REVIEW

The below section enumerates the review of different existing studies, stating the various bioinformatics tools in the analysis of drug design and development in the field of pharmacology.

In the early nineties, efforts are put on to construct the software which will evaluate the aspects in the process of drug discovery such as protein-ligand interactions, QSAR – Quantitative Structure Activity Relationship models, pharmacophore and molecular dynamics. The existing study analyses the various computational tools involved in the process of drug discovery [21]. CADD method is used for target identification, which is developed from single thread to multiple threads to maximize the computational power. Due to the complexity of analyzing large volume of data, the HPC – High Performance Computing infrastructure is used for the designing purposes. It not only analyses large number of data but also requires only less computing time. HPC helped at the time of pandemic situation in finding the solution to the infectious diseases. It makes use of diverse field such as grid and cloud computing. Cloud computing is considered to be more efficient and cost effective for providing solutions to access quickly and perform research with lower economic resources. Virtual Screening (VS) also gain its importance in the screening of large data sets and extracting smaller datasets. It is a more efficient technique. Machine learning techniques in the VS, leads to the capability of designing new molecules. Deep learning (DL) is also achieving impressive outcomes. Due to inexpensive and short time duration, ML and DL proved to be more efficient when working in cloud or clusters. Web server supports the researchers to perform experiments using database and software more economically.

The generation of new drug requires several number of compounds to be produced and it is time consuming process. It also needed biological evaluations. Therefore, the pharmaceutical industry implemented CADD for drug designing purposes. QSAR is a popular method used in CADD, which can be used for virtual screening of lead drugs and its optimization. It analyses large quantity of compounds, minimizing the time duration and labor cost for the

synthesis of chemical. It improves the efficiency of drug discovery. To cope up the requirement of researchers to handle the technology, several QSAR associated servers such as web-4D-QSAR as well as DPubChem have been established. QSAR modeling cannot be performed appropriately in the existing servers. Hence, the existing study generated a new model of Cloud 3D QSAR [22]. It combines the tasks of generation of molecular structures, configuration and MIF-Molecular Interaction Field analysis and outcome will be evaluated to provide a solution in one step. Since non-expert user find difficult in using QSAR for the drug designing process. This gives the motivation to construct the model as it automates all the existing process and generates prediction function. It facilitates the generation of appropriate QSAR model in the drug designing process.

The development and discovery of the drug requires the combination of various scientific as well as technological fields such as biology, chemistry and information technology. The existing study demonstrate the utilization of various technologies in the drug designing process. CADD techniques is used with numerous work process [23]. VS is one of the most frequent methods of CADD and is used in the drug designing process. It processes the initial stage of drug development. Several requirements of VS can meet up with the improvement of cloud based platforms. Those platforms support the researchers with the applications to make and monitor the process of drug discovery and their development pipeline. It enhances the performance of VS and helps to detect the commercially available drugs and compounds for testing purposes. The process will be classified into various stages such as constructing the chemical data sets, analyzing the libraries and the ligand-based or structure-based can be conducted in the cloud technologies. These type of platforms are best at its utilization in the pharmaceutical industry and R&D process in the generation of re-purposing of drugs with several computational options.

The Big data is defined as a large volume of data comprising both unstructured as well as structured huge data to be resolved by the conventional application software. The outburst of data is due to three main reasons. There are several progressive information collected from wide applications such as mobile sensors, social media and other associated devices. Availability of storage space at the cheaper prices and acquisition of knowledge strategies have been developed with the effective retrieval process. Due to drastic increasing of data in the bioinformatics, there is a demand in the data storage for the vast information. The conventional study suggests that the cloud computing will resolve the problem of big data issue in bioinformatics and other challenges in the bioinformatics sector [24]. It is a cost effective technique to develop and collect the large quantity of data with the support from parallel processing tools. The framework so called "Hadoop parallel" programming is frequently used. This pave the way to incorporation of the economical Bioinformatics clouds for the Big data [25]. The existing paper suggest the perspective of cloud computing services in supplementation with the Bioinformatics tools. Fog server will compare the trust values of various cloud providers. For future improvements, efforts are being made to build an effective cloud data storage system to ensure security in the bioinformatics system so that various pharmaceutical industries are benefited by this methodology.

Structure oriented design as well as computational chemistry has accelerated the process of drug discovery. It does not act as driving force of the discovery of small molecule. The existing study suggests the improvement of computational tool in the drug discovery process from the last decades [26]. The development of technology in the accurate prediction of drug from the initial process of potency to final stage of dissolving characteristics. Next, in terms of enhancement in the artificial intelligence as well as deep learning methods and finally sudden

increase of computational tool with the emergence of GPU and also cloud computing. It leads to the capability to identify and predict accurately the chemical compound similar to drugs in silico. Due to the generation of cryogenic electron microscopy as well as prediction of protein structure through the computational tool in the field of structural biology, leads to the access of several three dimensional structures of the de novo complexes of drug and receptors. The continual advancement in the sector of computational chemistry structural biology and also machine learning with the accelerated computational power leads to the safe, novel and effective medicine generation for the patients.

The traditional research has attempted to explore the recent applications of computational drug discovery methods specifically, virtual screening (VS) [27]. It employs deep learning and machine learning approaches to forecast drug-target communication for detecting new drugs. The research has been described the main elements of VS techniques incorporating compound and protein descriptors/features, libraries and toolkits for VS. Further, bioactivity databases and gold standard datasets are also used for benchmarking and training. The results have been detected that deep learning approaches especially DNN have expressed higher performance in forecasting drug-target interactions related to other techniques. DNNs are perfect fit for investigating the association among compounds and targets. DL is applied to other drug-discovery based tasks like aqueous solubility prediction, therapeutic effect prediction and compound toxicity prediction. Finally, it has been detected that DL has significant potential to develop the field of computational drug discovery.

The conventional study has aimed to offer a summary of how bioinformatics tools can speed up the process of identifying drug targets, analyzing and adjusting drug candidates, and categorizing potential side effects and drug resistance during drug discovery [28]. It has investigated the present scenario of utilizing bioinformatics in the field of drug design and discovery. They investigated how different high-throughput data types such as genomics, epigenetics, transcriptomics, proteomics, etc. can be utilized for drug repurposing and mechanism-based drug development. The research also examined how improvements in modeling protein and RNA structures, databases of small molecules, and computational methods such as protein-ligand docking and virtual screening are facilitating the process of drug discovery through computer simulations.

Further, the outcomes have been identified that bioinformatics tools play a key role in speeding up drug discovery via facilitating target identification, lead optimization, and predicting side effects. Data from multiple omic disciplines offers valuable data for identifying novel drug targets and reusing current medications. Additionally, the outcomes have been detected that, progress in predicting protein structures and utilizing small molecule databases, along with methods like docking and virtual screening, are improving the efficacy of virtual screening for potential drug candidates. Nevertheless, existing computational techniques still have constraints and need cycles of designing, producing, and examining to identify the best drug compounds.

Deep learning has its advantages of image classification and speech recognition over machine learning. As the DL theory focused on the Euclidean data and had its better outcomes. The existing study concentrates on the non-Euclidean data such as graphical representation of data [29]. More researchers are performed in processing the graphical data to determine complex relationship among objects. GEM can be performed for mapping the graphical data to simple depictions. Although, this method loses topological characteristics in the initial stage thereby affecting the final outcomes. GNN a sub division of DL in non-Euclidean data perform well in various operation which process data in graphical form. GNN plays a vital role in the

field of bioinformatics. GNN are classified into three main models such as classification of nodes, link identification and generation of graphs. It has its wide application in the process of identification of diseases, drug discovery and finally biomedical imaging. GNN has attained excellent outcomes in many biological process yet still faces issues regarding poor quality of data processing, procedure and interpretability. Despite of many challenges, GNN proves to be highly efficient in solving numerous problems in the research of bioinformatics.

Deep neural network is the general and successful methodology of machine learning process. Graph comprises of edges and nodes. Entities is represented by the nodes and interaction as well as relationship among entities is represented by the edges. The essential part of the graph is edges. GCN - graph convolutional networks and GAT- graph attention networks are some of the neural models which make use of utilized features of edges. It also includes edges of multi dimension. The proposed framework in the conventional study comprises of both the models of neural network such as GCN as well as GAT [30]. This proposed framework has the following innovative criteria such as 1. It use particularly stochastic graph edge as an alternative to the generally used normalization methodology in GNN. 2. It builds new formulas for the process in each layer to handle the edge of multi-dimensional characteristics. 3. In the layers of network, there is adaptability of edge features. 4. It encode the directions in multi-dimensional features of edges. The outcome will be the exploitation of the sources of information regarding the graph edges. The new model can be applied to the classification of graphical nodes and whole graphs and finally regression on datasets. The proposed model provide enhanced performance when comparing with the traditional model to exploit the edge features in GNN. It eradicates the limitation of GAT as it handle only one binary edge and also GCN which can capable to handle one dimensional edge. The model is effective in learning directed graphs.

3. DESIGNING AND DEVELOPMENT OF DRUGS

3.1. Graphical representation of learning in the field of pharmaceuticals

In the modern pharmaceutical sector, finding and creating new medications is a difficult and intricate procedure. The procedure requires substantial financial commitments, repetitive stages, and considerable chances of not succeeding. In order to tackle these obstacles, scientists have resorted to using visual representation as an effective method to speed up the process of finding and repurposing drugs. Using visual aids like graphs, charts, and diagrams is a way to represent complicated data clearly and succinctly. Graphical representation can be utilized in pharmaceutical research to merge chemical information of compounds with their interactions with targets. This enables researchers to visualize the connections between various compounds and their possible therapeutic benefits. Using visuals in pharmaceutical research has multiple advantages. First and foremost, it allows scientists to rapidly pinpoint patterns and trends in vast datasets, which can speed up the process of finding new drugs. Additionally, it enables to observe how compounds interact with targets, aiding in the detection of possible side effects and improving the development of new drugs.

Graphical representation can be utilized not only to speed up drug discovery and repositioning, but also to evaluate side effects of current drugs. By visualizing how different compounds are related and their possible side effects, it can pinpoint potential dangers and enhance the development of new drugs to reduce these risks. In general, the utilization of visual aids in pharmaceutical research could greatly transform the process of finding and creating

new medications. The use of visual aids in representing intricate data can speed up the identification of new medications, improve the development of new drugs, and reduce the dangers linked to adverse reactions [31].

3.1.1. Prediction of drug-target interaction

The connection between medications and targets is a vital element of the process of discovering and developing drugs. Scientists have come up with a new method to forecast these interactions by using tripartite graphs that illustrate the connections between drugs, targets, and diseases [32]. This method entails examining the correlations among drug-target connections and drug-protein pairs by utilizing Graph Convolutional Networks (GCN) to outline the characteristics of drug and protein pairs [33].

The GCN method is employed for assessing the relationship between drugs and targets, utilizing end-to-end learning approach to forecast the binding affinity of drugs and targets [34]. This method uses visual nodes to study drugs and targets, assessing the resemblances between target-target, drug-drug, and drug-target pairs [35]. Graph DTA is a new approach that represents drugs graphically and utilizes GNN to assess the binding affinity between drugs and targets. This method utilizes graph neural networks to understand the intricate connections between drugs and targets, allowing for the anticipation of drug-target interactions [36].

Tripartite graphs and graph neural networks can aid in making precise forecasts about the relationships between drugs and targets. It can enhance the identification of new drugs and the improvement of current ones. This method could completely transform drug discovery by allowing the creation of better and more precise treatments for different illnesses.

3.1.2. Prediction of drug-disease association

The identification of novel applications for current drugs, known as drug repositioning, has become a more significant approach in the field of drug development. Successful drug repositioning relies on precise identification of drug-disease associations [37]. Graphical techniques have become a strong tool for recognizing these connections. Methods like Deepwalk, SDNE, LINE, and HOPE are employed for the purpose of depicting drugs and diseases in a graph by using graph embedding techniques. The graph that is produced assists in grasping the complex relationships between diseases and drugs, aiding in understanding their embedding. Heterogeneous graphs are built to depict similarities between pairs of drugs and diseases [38].

Graph Convolutional Networks (GCNs) are used to understand the characteristics of diseases and drugs, enabling the discovery of potential connections between them. The GCN layer considers the graph's structural information, enabling better detection of drug-disease connections [39]. Through the use of graph embedding and GCNs, scientists are able to quickly discover fresh uses for current medications, speeding up the process of drug repositioning [40]. This method could greatly lessen the time and expenses linked to conventional drug discovery techniques, ultimately resulting in the creation of better treatments for different diseases [41].

3.1.3. Prediction of drug-drug interaction

Identifying drug-drug associations is crucial in preventing harm and minimizing costs by avoiding potential adverse effects caused by the interaction of different medications [42]. By utilizing a knowledge graph approach, data is extracted from databases such as Drugbank,

KEGG, and PharmGKB to improve the comprehension of drug interactions and possible negative effects [43]. Precise forecasting of drug interactions helps to prevent negative reactions and also supports the creation of novel medications for treating different illnesses [44].

Visualization of learning acts as a connection between biomedical information and advanced machine learning methods, enabling investigation from molecular level interactions to healthcare systems [45].

This method is crucial in the field of bioinformatics as it provides understanding of intricate connections in biological systems. The main types of Graph Embedding Models (GEM) - homogeneous and heterogeneous - facilitate network embedding to enhance understanding of drug interactions and disease mechanisms [46]. The use of visual learning tools extends to molecules, pharmaceuticals, genomics, and healthcare systems, providing a detailed understanding of intricate biological processes [47]. The existence of open resource platforms and libraries for graph representation learning boosts its usefulness, encouraging progress in this field and supporting creativity in biomedical research. This comprehensive method not only boosts our comprehension of drug interactions but also drives biomedical research towards better treatments and healthcare results [48].

3.2. Concept of digital twin

A digital twin is referred to a virtual demonstration of an object or else the system that spans its lifecycle. It is upgraded from real time data. It uses simulation, machine learning, deep learning and reasoning to support decision making process [49]. It gains more interest for its capability and impact in the fields of manufacturing, medicine and health cares. The concept of DT has been established in the year 2002 for the presentation of PLM-Product Lifecycle Management by Michael Grieves. The model has been referred to as "Grieves' DT model" [50]. It comprises of three elements. They are, 1) Physical object in the real place, 2) Virtual object in the virtual place, and 3) Link connecting the (a) data flow in the real space and virtual space, (b) information flow from virtual and real space. It is considered to be the enabler for the data transformation and allows the synchronization and convergence of both physical and virtual systems [51]. Digital twins (DT) are intelligent systems but are not autonomous totally. Both the DT and AI related application requires several human intervention regarding the validation of new characteristics and alteration of physical assets. It also exploited to provide detection and treatment of diseases [52]. In the medicinal field, the combination of both DT and AI or DL will be more efficient and DL boost up the analyses, identification and suggestion of DT. For this reason, the combination of DT and DL is incorporated in the various medicinal researches and added its advantageous properties in the process of drug discovery [53]. DT is varied from the CADD model in obtaining the simulations [54].

The digital and physical twins are equipped with the devices to provide a seamless connection as well as progressive data exchange through physical communication or indirectly by means of cloud computing. DT progressively receive twin data that describe twin status of physical space and varied with respect to time and also its lifecycle. The environmental data refers to the status of the environment. It continuously go back to its physical twin, to the expert of the domain, and to the other DT for the optimization [49].

Three main types of communication process involved in the system are as follows [55], 1) Interconnecting physical and virtual twin, 2) Interrelating DT and several DT in the environment, and 3) Among the DT and expert domain which will interact and work with the DT through the interfaces.

It has the capability to handle high-dimensional data and includes efficient decoding and analysis process for the high dimensional data. It comprises of data fusion process for combining the several data sources and generate accurate, consistent and useful information compared to individual data provided. DT technology comprises of progressive improvement in AI which includes learning algorithms of either supervised or unsupervised [56]. It has high predicting capability which obtain sensed data from the physical twin and environment.

The parameters of digital twin technology are described as follows, Digital twins combine information from different sources such as electronic health records, wearable devices, and imaging technologies to develop a complete virtual model of a drug, process, or system. Digital twin has the capacity to monitor the physical component in real-time, allowing researchers to observe how a drug behaves in the body and forecast its effectiveness and safety. Simulation and Digital twins have the ability to imitate how a drug acts in the body, predict its effectiveness and safety, and enhance drug formulations and dosages before clinical trials. Digital twins enable the development of individualized patient models, leading to customized treatment and better patient results. Quality of data is crucial for accurate performance of digital twins. Low-quality data may result in incorrect forecasts and modeling.

Digital twins have the potential to cut down the expenses and time linked with conventional drug development methods through the use of in silico testing and simulation. Flexibility in digital twins enables modeling and simulation of diverse scenarios in biological systems and processes. Digital twins require precise data and simulations to offer trustworthy forecasts and understandings, making sure the virtual replica faithfully mirrors the real-world equivalent.

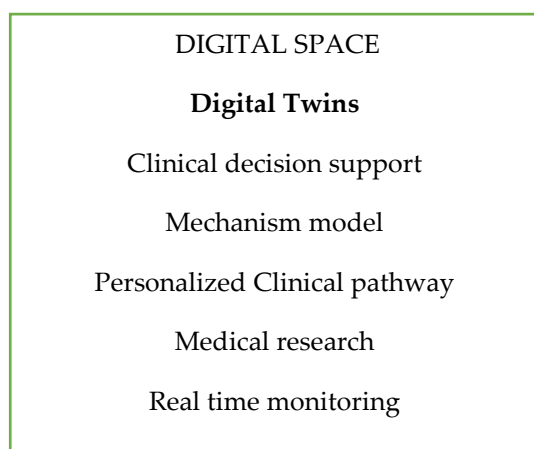


Figure 5. Digital twin technology in the pharmaceutical field.

In the pharmaceutical field, the DT has its wide applications. It had its exploration with the diverse technologies of big data, DL, IoT (Internet of Things). All the nation has spending billions of dollars in the Iot in the field of research in pharmaceutical industry [57]. DT is the only solution for generating the precision drugs and requires integrating as well as processing huge volume of data. IoT acts as a technical support for the data collection process through 2D codes, cards and sensors [58]. It collect the real-time data and feedback the processed data and controls the operation through IT (Information Technology). By integrating the DT of equipment of the industry and auxiliary equipment will provide a new platform for the health care management and services. By incorporating DT as well as big data processing, simulation can be fetched with the help of high resolution systems of patients for the accurate determination of target and their appropriate drugs. It also illustrate the proper treatment methods for the

patients at the aim of attaining precision medical procedures. Thus, the implementation of DT in the pharmaceutical industry, will pave the way of accurate designing of drugs with the limited usage of medical resources [59]. As a field make new evolutions, a more understanding of ability and limitations of DT has been vital for the developed incorporation in the pharmacological workflows.

3.3. Deep learning in the bioinformatics

DL has gain its exponential growth in the application of bioinformatics and became a promising power in determining the complex relationship of huge scale biomedical and biological data [60]. Due to arise of several issues in the Machine Learning (ML) pave the way to emergence of DL in the bioinformatics sector [61]. It is the time to develop the architecture of DL in the scope of drug discovery in the bioinformatics tool [62].

ML is the main contributor of AI. The modernized ML technology lead to the emergence of DL. It is founded of ANN – Artificial Neural Network. It has the capability of operating on any nonlinear function with any level of accuracy. Though, it has solve the issues in the computational task, it is termed as “black boxes” due to lack of interpretability. The performance level also reduced when compared to other ML methods [63].

The improvements in the technology of ANN via DL leads to minimize the issues in the computational task [64]. The complex information derived from the data of modern life has been well handled by ANN compared to the other methods [65]. The computational power has also increased with the reasonable cost and these devices are appropriate for ideal models [66]. Optimized algorithm has proposed to the introduction of deep ANN for the ideal technique of analyzing big data [67].

The challenges faced by the bioinformatics in the drug discovery process are addressed as follows, 1) The model interpretability is essential in the designing process and it support the researcher to aware of the model that solve the biological problems. For Example, DNA-protein binding. 2) The accuracy of the computational model should be in the range of 98-99% and it is much difficult to attain the high level of accuracy

The two major classification of ANN are convolution neural network (CNN) which process imaging data and recurrent neural network (RNN) which process language data. Image is highly approached by DL [68]. CNN are commonly used in the bioinformatics when compared to RNN [69]. As CNN can easily detect local features and solving the basic issues such as identification and sequencing of motifs.

Attention mechanism was first proposed to minimize the issues faced by RNN in the application of bioinformatics [70]. It has capability to handle issues of bio sequence analysis [71], such as RNA sequence evaluation and prediction, protein structure from the sequence of amino acid and detection of EPI- Enhancer-Promoter Interactions [72]. EPI reveals the gene expression thereby identifying the disease occurrences. Though experimental methods of determining EPI is tedious process, time consuming and expensive. EPIVAN has been constructed to identify long-range EPI through DL methods as well as attention mechanism [73].

Reinforcement learning (RL) is the method of successive action to happen while providing the present state of the partial solution to obtain the cumulative reward. The state will be change as the action changes. It will become the guiding action of future paradigms. This type of RL is executed in the DL process referred as Deep reinforcement learning [74]. It has the advantageous of less computational complications and does not require external supervision when compares with supervised approach and genetic algorithm [75].

Numerous data are available in the field of bioinformatics. There exist a case of data scarcity in the sector of biology and also biomedicine. There might be possibility of single data availability in the categories. Standard DL algorithm cannot be used in such cases. Hence, proposed few shot learning model for DL to handle such cases effectively [76]. As the name suggest it make use of few number of data. If there is training of one data, then the process is termed to be on-shot learning. In case of zero shot learning, there will be no sample [77]. This type of process used in the prediction of protein function and process of drug discovery. Due to availability of small biological data it is difficult to predict the novel drug compounds. Therefore the use of few shot learning process in the limited data and accurately determine the precise drug compounds.

The emergence of long short term memory model (LSTM) has attained its excellence in various task and specifically sequential issues. RNN has the limitation of working in the long term dependencies [78]. The LSTM is nothing but the extension of RNN. It can minimize the problem of internal memory and gate networks. It is used in the field of language processing in terms of classification of sentence and language modeling. It helps to construct more complicated neural network for the problems of answering task and translational task [79].

The integration of LSTM and graphical CNN will enhance the learning process of reasonable distance metrics when compared with the small molecules. The continuous refinement of LSTM results in the generation of new related assays which is not similar to those assays in the training collection sets [80]. GNN are effectively used in the conversion of small molecules into vectorial representation [81]. The outcomes of the process shows stronger performance when compared with other methodology such as CNN and random forest process. It has the potential to transfer information among related but the unique learning task [82].

From the analysis of the above discussion, it gave the suggestion of the new framework in the field of bioinformatics. The proposed framework involves the integration of DT with the incorporation of LSTM related DL methods in the drug designing process. The model make use of attention mechanism with the LSTM model. It has the advantageous properties of determining the long distance correlation with the provided input sequences. DT helps in isolating the similarities of the compounds in the tool and with the support of DL will help in constructing the novel drug. The proposed model of DT-Att-LSTM-DL has been integrated with LSTM for more effective than the conventional approach and has better prediction accuracy. Moreover, the empirical evidence examinations has been included to compare the overall performance of the DT-Att-LSTM-DL model with the conventional methodologies. The examination has been effectively provide the required information mainly to validate and enhance the models efficiency. The LSTM will model the text accurately hence it pave the way to determine the novel drugs in the bioinformatics tool.

4. DISCUSSION

The above review deliberates the incorporation of bioinformatics which considerably transforms the drug design procedure by permitting more effective and operative identification of drug targets, optimization of lead compounds and prediction of drug interactions. Bioinformatics tools support to encounter the issue in conventional drug discovery by using the computational methods for examining biological data, protein structures and ligand binding sites utilizing the techniques namely molecular docking, QSAR modeling and virtual screening. The above review highlights the role of advanced computational frameworks, comprising of DL and GNN, to manage and understand complex biological information and predict drug

target attractions, drug disease relations and drug-drug connections. The combination of DT technology further complements bioinformatics, providing virtual models that simulate drug behavior in real-time, aiding tailored medicine and exactness in the drug development. Despite these developments, the discussion recognizes prevailing issues namely data quality, biological system difficulty and model interpretability, which bioinformatics tools must address to optimize drug discovery outcomes. The proposed integration of DT with attention-based LSTM DL techniques replicates a promising approach to develop accuracy and effectiveness in novel drug design, possibly streamlining pharmaceutical research with the reduction in the time and cost.

5. CONCLUSION

The drug designing process is time-consuming and affluent in the pharmacological industry. Scientists are in examination of novel drug compounds for disease treatment. The estimation of diseases, operational drug treatment and identification of genetic codes gives an effective approach for the generation of novel drugs. The above review focuses on bioinformatics tools and expands on the current trends in the DL process. The digital twin also advances the significance in the drug discovery process as it diminishes the issues faced by the pharmacological industry. The proposed model establishes major efficiency by streamlining drug discovery, enhancing predictive accuracy, using digital twins, enabling tailored medicine, elevating resources, incorporating multi-omics information, permitting real-time information handling, aiding collaboration among researchers, guaranteeing regulatory compliance and stimulating sustainability in research practices. Future the proposed model is essential for the application of applicable technologies in the bioinformatics field to save time and resources in the drug discovery process.

DECLARATION

Conflict of interest: The author reports that there is no conflict of interest

Funding: This research received no external funding.

Acknowledgement: None

Data availability: Data sharing not applicable to this article as no datasets were generated.

Ethical statement for human participant: Not applicable for this research

REFERENCES

1. S. Menon. Bioinformatics approaches to understand gene looping in human genome. *EPRA International Journal of Research & Development (IJRD)*, **6**, 170–173 (2021). Doi: <https://doi.org/10.36713/epra7666>
2. Y.L. Orlov, A.V. Baranova & T.V. Tatarinova. Bioinformatics methods in medical genetics and genomics. *Int. J. Mol. Sci.*, **21**(17), 6224 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms21176224>
3. J. K. Eng & E.W. Deutsch. Extending Comet for global amino acid variant and post-translational modification analysis using the PSI extended FASTA format. *Proteomics*, **20**(21–22), 1900362 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1002/pmic.201900362>
4. M. Afzal, S.R. Islam, M. Hussain & S. Lee. Precision medicine informatics: principles, prospects, and challenges. *IEEE Access*, **8**, 13593–13612 (2020). Doi: <https://doi.org/2020.10.1109/ACCESS.2020.2965955>

5. J. Gauthier, A.T. Vincent, S.J. Charette & N. Derome. A brief history of bioinformatics. *Briefings in Bioinformatics*, **20**(6), 1981–1996 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bby063>
6. R.Z. Sangeda, A.D. Mwakilili, U. Masamu, S. Nkya, L.A. Mwita, D.P. Massawe, *et al.* Baseline evaluation of bioinformatics capacity in Tanzania. *Frontiers in Education*, **6**, 665313 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3389/feduc.2021.665313>
7. National Human Genome Research Institute (NHGRI). DNA Sequencing Costs: Data. 2018. URL: <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/DNA-Sequencing-Costs-Data>
8. M. Liu, J. Liu, Y. Chen, M. Wang, H. Chen & Q. Zheng. AHNG: representation learning on attributed heterogeneous network. *Information Fusion*, **50**, 221–230 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.inffus.2019.01.005>
9. S. Vascon, M. Frasca, R. Tripodi, G. Valentini & M. Pelillo. Protein function prediction as a graph-transduction game. *Pattern Recognition Letters*, **134**, 96–105 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.patrec.2018.04.002>
10. Z.-C. Zhang, X.-F. Zhang, M. Wu, L. Ou-Yang, X.-M. Zhao & X.-L. Li. A graph regularized generalized matrix factorization model for predicting links in biomedical bipartite networks. *Bioinformatics*, **36**(11), 3474–3481 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa157>
11. L. Wang, Z.-H. You, Y.-M. Li, K. Zheng & Y.-A. Huang. GCNCDA: A new method for predicting circRNA-disease associations based on graph convolutional network algorithm. *PLoS Computational Biology*, **16**(5), e1007568 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1007568>
12. N. Zong, R.S.N. Wong, Y. Yu, A. Wen, M. Huang & N. Li. Drug–target prediction utilizing heterogeneous bio-linked network embeddings. *Briefings in Bioinformatics*, **22**(1), 568–580 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbz147>
13. H.-C. Yi, Z.-H. You, D.-S. Huang, Z.-H. Guo, K.C. Chan & Y. Li. Learning representations to predict intermolecular interactions on large-scale heterogeneous molecular association network. *iScience*, **23**(7), 101261 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.isci.2020.101261>
14. Y. Cen, X. Zou, J. Zhang, H. Yang, J. Zhou & J. Tang. Representation learning for attributed multiplex heterogeneous network. *Proceedings of the 25th ACM SIGKDD International Conference on Knowledge Discovery & Data Mining*, 2019; pp. 1358–1368. Doi: <https://doi.org/10.1145/3292500.3330964>
15. N. Schaduengrat, S. Lampa, S. Simeon, M.P. Gleeson, O. Spjuth & C. Nantasenamat. Towards reproducible computational drug discovery. *Journal of Cheminformatics*, **12**, 9 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1186/s13321-020-0408-x>
16. M.R. Javed. CADD and molecular dynamic simulations: potential impacts to conventional medicines. *Combinatorial Chemistry & High Throughput Screening*, **25**(4), 658–659 (2022). Doi: <https://doi.org/10.2174/1386207325666220104231827>
17. L. Pinzi & G. Rastelli. Molecular docking: shifting paradigms in drug discovery. *International Journal of Molecular Sciences*, **20**(18), 4331 (2019). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms20184331>
18. M. Rudrapal & D. Chetia. Virtual screening, molecular docking and QSAR studies in drug discovery and development programme. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, **10**(4), 225–233 (2020). Doi: <https://doi.org/10.22270/jddt.v10i4.4218>
19. L. Zhao, H.L. Ciallella, L.M. Aleksunes & H. Zhu. Advancing computer-aided drug discovery (CADD) by big data and data-driven machine learning modeling. *Drug Discovery Today*, **25**(9), 1624–1638 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2020.07.005>
20. S. Namasudra. Data access control in the cloud computing environment for bioinformatics. *International Journal of Applied Research in Bioinformatics (IJARB)*, **11**(1), 40–50 (2021). Doi: <https://doi.org/10.4018/IJARB.2021010105>
21. S. Puertas-Martín, A.J. Banegas-Luna, M. Paredes-Ramos, J.L. Redondo, P.M. Ortigosa, O'h.O. Brovarets', *et al.* Is high performance computing a requirement for novel drug discovery and how will this impact academic efforts?. *Expert Opinion on Drug Discovery*, **15**(9), 981–985 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1080/17460441.2020.1758664>

22. Y.-L. Wang, F. Wang, X.-X. Shi, C.-Y. Jia, F.-X. Wu, G.-F. Hao, *et al.* Cloud 3D-QSAR: a web tool for the development of quantitative structure–activity relationship models in drug discovery. *Briefings in Bioinformatics*, **22**(4), bbaa276 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa276>
23. A. Olğaç, A. Türe, S. Olğaç & S. Möller. Cloud-based high throughput virtual screening in novel drug discovery. In: J. Kołodziej & H. González-Vélez (editors). *High-Performance Modelling and Simulation for Big Data Applications*. Lecture Notes in Computer Science, vol. 11400. Springer, Cham, 2019; pp. 250–278. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-16272-6_9
24. B. Seth, S. Dalal & R. Kumar. Securing bioinformatics cloud for big data: Budding buzzword or a glance of the future. In: R. Kumar & U. Wiil (editors). *Recent Advances in Computational Intelligence*. Studies in Computational Intelligence, vol. 823. Springer, Cham, 2019; pp. 121–147. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-12500-4_8
25. S. Armoogum & X. Li. Big data analytics and deep learning in bioinformatics with Hadoop. In: A.K. Sangaiah (editor). *Deep Learning and Parallel Computing Environment for Bioengineering Systems*. Academic Press, 2019; pp. 17–36. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816718-2.00009-9>
26. L. Frye, S. Bhat, K. Akinsanya & R. Abel. From computer-aided drug discovery to computer-driven drug discovery. *Drug Discovery Today: Technologies*, **39**, 111–117 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ddtec.2021.08.001>
27. A.S. Rifaioğlu, H. Atas, M.J. Martin, R. Cetin-Atalay, V. Atalay & T. Doğan. Recent applications of deep learning and machine intelligence on *in silico* drug discovery: Methods, tools and databases. *Briefings in Bioinformatics*, **20**(5), 1878–1912 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bby061>
28. H. Khawar, M.M. Zaheer, H. Khan, U. Akhtar, L. Bukhari, R. Zamir, *et al.* Drug design assisted by computers: New tools in bioinformatics. *Journal of Survey in Fisheries Sciences*, **10**(3), 2998–3035 (2023). Doi: <https://doi.org/10.53555/sfs.v10i3.2179>
29. X.-M. Zhang, L. Liang, L. Liu & M.-J. Tang. Graph neural networks and their current applications in bioinformatics. *Frontiers in Genetics*, **12**, 690049 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2021.690049>
30. L. Gong & Q. Cheng. Exploiting edge features for graph neural networks. *Proceedings of the IEEE/CVF Conference on Computer Vision and Pattern Recognition (CVPR)*, 2019; pp. 9211–9219. Doi: <https://doi.org/10.1109/CVPR.2019.00943>
31. T. Nguyen, H. Le, T.P. Quinn, T. Nguyen, T.D. Le & S. Venkatesh. GraphDTA: Predicting drug–target binding affinity with graph neural networks. *Bioinformatics*, **37**(8), 1140–1147 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa921>
32. N. Sheng, H. Cui, T. Zhang & P. Xuan. Attentional multi-level representation encoding based on convolutional and variance autoencoders for lncRNA–disease association prediction. *Briefings in Bioinformatics*, **22**(3), bbaa067 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa067>
33. H.E. Manoochehri & M. Nourani. Drug-target interaction prediction using semi-bipartite graph model and deep learning. *BMC Bioinformatics*, **21**, 248 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12859-020-3518-6>
34. T. Zhao, Y. Hu, L. R. Valsdottir, T. Zang & J. Peng. Identifying drug–target interactions based on graph convolutional network and deep neural network. *Briefings in Bioinformatics*, **22**(2), 2141–2150 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa044>
35. J. Peng, Y. Wang, J. Guan, J. Li, R. Han, J. Hao, *et al.* An end-to-end heterogeneous graph representation learning-based framework for drug–target interaction prediction. *Briefings in Bioinformatics*, **22**(5), bbaa430 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbaa430>
36. Z. Wu, S. Pan, F. Chen, G. Long, C. Zhang & S.Y. Philip. A comprehensive survey on graph neural networks. *IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems*, **32**(1), 4–24 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1109/TNNLS.2020.2978386>
37. H. Tan, Q. Sun, G. Li, Q. Xiao, P. Ding, J. Luo, *et al.* Multiview consensus graph learning for lncRNA–disease association prediction. *Frontiers in Genetics*, **11**, 89 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2020.00089>
38. A.C. Mara, J. Lijffijt, S. Günnemann & T.D. Bie. A systematic evaluation of node embedding robustness. *Proceedings of the First Learning on Graphs Conference (LoG 2022)*, PMLR 198, Virtual

- Event, December 9–12, 2022. 2022; 42 p. URL: <https://proceedings.mlr.press/v198/mara22a/mara22a.pdf>
39. M.A. Thafar, R.S. Olayan, H. Ashoor, S. Albaradei, V.B. Bajic, X. Gao, *et al.* DTiGEMS+: drug–target interaction prediction using graph embedding, graph mining, and similarity-based techniques. *Journal of Cheminformatics*, **12**, 44 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1186/s13321-020-00447-2>
40. X. Tang, J. Luo, C. Shen & Z. Lai. Multi-view multichannel attention graph convolutional network for miRNA–disease association prediction. *Briefings in Bioinformatics*, **22**(6), bbab174 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbab174>
41. W. Zhang, X. Yue, W. Lin, W. Wu, R. Liu, F. Huang, *et al.* Predicting drug–disease associations by using similarity constrained matrix factorization. *BMC Bioinformatics*, **19**, 233 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12859-018-2220-4>
42. C. Ruiz, M. Zitnik & J. Leskovec. Identification of disease treatment mechanisms through the multiscale interactome. *Nature Communications*, **12**, p. 1796 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41467-021-21770-8>
43. R. Celebi, H. Uyar, E. Yasar, O. Gumus, O. Dikenelli & M. Dumontier. Evaluation of knowledge graph embedding approaches for drug–drug interaction prediction in realistic settings. *BMC Bioinformatics*, **20**, 726 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12859-019-3284-5>
44. M.R. Karim, M. Cochez, J.B. Jares, M. Uddin, O. Beyan & S. Decker. Drug–drug interaction prediction based on knowledge graph embeddings and convolutional-LSTM network. *Proceedings of the 10th ACM International Conference on Bioinformatics, Computational Biology and Health Informatics*, 2019; pp. 113–123. Doi: <https://doi.org/10.1145/3307339.3342161>
45. C. Park, J. Park & S. Park. AGCN: Attention-based graph convolutional networks for drug–drug interaction extraction. *Expert Systems with Applications*, **159**, 113538 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.eswa.2020.113538>
46. S. Pan, R. Hu, S.-f. Fung, G. Long, J. Jiang & C. Zhang. Learning graph embedding with adversarial training methods. *IEEE Transactions on Cybernetics*, **50**, 2475–2487 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1109/TCYB.2019.2932096>
47. M. Sun, S. Zhao, C. Gilvary, O. Elemento, J. Zhou & F. Wang. Graph convolutional networks for computational drug development and discovery. *Briefings in Bioinformatics*, **21**(3), 919–935 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbz042>
48. T. Wu, Y. Wang, Y. Wang, E. Zhao & Y. Yuan. Leveraging graph-based hierarchical medical entity embedding for healthcare applications. *Scientific Reports*, **11**, 5858 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-85255-w>
49. L. Wright & S. Davidson. How to tell the difference between a model and a digital twin. *Advanced Modeling and Simulation in Engineering Sciences*, **7**, 13 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1186/s40323-020-00147-4>
50. M.N. Kamel-Boulos & P. Zhang. Digital twins: From personalised medicine to precision public health. *Journal of Personalized Medicine*, **11**(8), 745 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/jpm11080745>
51. H. Garg. Digital twin technology: Revolutionary to improve personalized healthcare. *Science Progress and Research (SPR)*, **1**, 32–34 (2021). Doi: <https://doi.org/10.52152/spr/2021.105>
52. K. Bruynseels, F. Santoni de Sio & J. Van den Hoven. Digital twins in health care: ethical implications of an emerging engineering paradigm. *Frontiers in Genetics*, **9**, 31 (2018). Doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2018.00031>
53. R.M. Portela, C. Varsakelis, A. Richelle, N. Giannelos, J. Pence, S. Dessoy, *et al.* When is an *in silico* representation a digital twin? A biopharmaceutical industry approach to the digital twin concept. In: C. Herwig, R. Pörtner & J. Möller (editores). *Digital Twins: Tools and Concepts for Smart Biomanufacturing*. Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology, vol 176. Springer, Cham, 2021; pp. 35–55. Doi: https://doi.org/10.1007/10_2020_138
54. E.O. Popa, M. van Hilten, E. Oosterkamp & M.-J. Bogaardt. The use of digital twins in healthcare: Socio-ethical benefits and socio-ethical risks. *Life Sciences, Society and Policy*, **17**, 6 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1186/s40504-021-00113-x>

-
55. S. Nargund, K. Guenther & K. Mauch. The move toward biopharma 4.0: insilico biotechnology develops “smart” processes that benefit biomanufacturing through digital twins. *Genetic Engineering & Biotechnology News*, **39**(6), 53–55 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1089/gen.39.06.18>
 56. Z. Huang, Y. Shen, J. Li, M. Fey & C. Brecher. A survey on AI-driven digital twins in industry 4.0: Smart manufacturing and advanced robotics. *Sensors*, **21**(19), 6340 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/s21196340>
 57. B.R. Barricelli, E. Casiraghi & D. Fogli. A survey on digital twin: Definitions, characteristics, applications, and design implications. *IEEE Access*, **7**, 167653–167671 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1109/ACCESS.2019.2953499>
 58. R. Kaul, C. Ossai, A.R.M. Forkan, P.P. Jayaraman, J. Zelcer, S. Vaughan, *et al.* The role of AI for developing digital twins in healthcare: The case of cancer care. *WIREs: Data Mining and Knowledge Discovery*, **13**(1), e1480 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1002/widm.1480>
 59. T. Sun, X. He & Z. Li. Digital twin in healthcare: Recent updates and challenges. *Digital Health*, **9**, 20552076221149651 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1177/20552076221149651>
 60. H. Li, S. Tian, Y. Li, Q. Fang, R. Tan, Y. Pan, *et al.* Modern deep learning in bioinformatics. *Journal of Molecular Cell Biology*, **12**(11), 823–827 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1093/jmcb/mjaa030>
 61. V.D. Mouchlis, A. Afantitis, A. Serra, M. Fratello, A.G. Papadiamantis, V. Aidinis, *et al.* Advances in de novo drug design: from conventional to machine learning methods. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**(4), 1676 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22041676>
 62. W. Wang & X. Gao. Deep learning in bioinformatics and biomedicine. *Methods*, **209**, 39–39 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2022.12.001>
 63. R. Vijayan, J. Kihlberg, J.B. Cross & V. Poongavanam. Enhancing preclinical drug discovery with artificial intelligence. *Drug Discovery Today*, **27**(4), 967–984 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.dru-dis.2021.11.023>
 64. Y. Li, C. Huang, L. Ding, Z. Li, Y. Pan & X. Gao. Deep learning in bioinformatics: Introduction, application, and perspective in the big data era. *Methods*, **166**, 4–21 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2019.04.008>
 65. S. Quazi & Z. Fatima. Role of artificial intelligence and machine learning in bioinformatics: Drug discovery and drug repurposing. In: Information Resources Management Association. *Research Anthology on Bioinformatics, Genomics, and Computational Biology*. IGI Global, 2024; 1394–1405. Doi: <https://doi.org/10.4018/979-8-3693-3026-5.ch062>
 66. N. Auslander, A.B. Gussow & E.V. Koonin. Incorporating machine learning into established bioinformatics frameworks. *International Journal of Molecular Sciences*, **22**(6), 2903 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms22062903>
 67. B. Tang, Z. Pan, K. Yin & A. Khateeb. Recent advances of deep learning in bioinformatics and computational biology. *Frontiers in Genetics*, **10**, 214 (2019). Doi: <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00214>
 68. S.M. Kandathil, J.G. Greener & D.T. Jones. Recent developments in deep learning applied to protein structure prediction. *Proteins: Structure, Function, and Bioinformatics*, **87**(12), 1179–1189 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1002/prot.25824>
 69. Y. Cao, T.A. Geddes, J.Y.H. Yang & P. Yang. Ensemble deep learning in bioinformatics. *Nature Machine Intelligence*, **2**, 500–508 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1038/s42256-020-0217-y>
 70. L. Chen, X. Tan, D. Wang, F. Zhong, X. Liu, T. Yang, *et al.* TransformerCPI: improving compound–protein interaction prediction by sequence-based deep learning with self-attention mechanism and label reversal experiments. *Bioinformatics*, **36**(16), 4406–4414 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btaa524>
 71. J. Wang, X. Liu, S. Shen, L. Deng & H. Liu. DeepDDS: deep graph neural network with attention mechanism to predict synergistic drug combinations. *Briefings in Bioinformatics*, **23**(1), bbab390 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbab390>
 72. S. Liu, X. Xu, Z. Yang, X. Zhao, S. Liu & W. Zhang. EPIHC: Improving enhancer-promoter interaction prediction by using hybrid features and communicative learning. *IEEE/ACM Trans. Comput. Biol. Bioinform.*, **19**(6), 3435–3443 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1109/TCBB.2021.3109488>
-

73. M.M. Fareed. Impact of deep learning-DL in the modern computational biology. *European Journal of Volunteering and Community-Based Projects*, **1**(4), 35–48 (2021). URL: <https://journal.odvcasarcobaleno.it/index.php/ejvcbp/article/view/56>
74. N. Ståhl, G. Falkman, A. Karlsson, G. Mathiason & J. Bostrom. Deep reinforcement learning for multiparameter optimization in *de novo* drug design. *Journal of Chemical Information and Modeling*, **59**(7), 3166–3176 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00325>
75. L. Patel, T. Shukla, X. Huang, D.W. Ussery & S. Wang. Machine learning methods in drug discovery. *Molecules*, **25**(22), 5277 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25225277>
76. Y. Deng, Y. Qiu, X. Xu, S. Liu, Z. Zhang, S. Zhu, *et al.* META-DDIE: predicting drug–drug interaction events with few-shot learning. *Brief. Bioinform.*, **23**(1), bbab514 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1093/bib/bbab514>
77. S. Gull & F. Minhas. AMP 0: Species-specific prediction of anti-microbial peptides using zero and few shot learning. *IEEE/ACM Trans. Comput. Biol. Bioinform.*, **19**(1), 275–283 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1109/TCBB.2020.2999399>
78. S. Sen, R. Das, S. Dasgupta & U. Maulik. Application of deep architecture in bioinformatics. In: S. Dash, B. Acharya, M. Mittal, A. Abraham & A. Kelemen (editors). *Deep Learning Techniques for Biomedical and Health Informatics*. Studies in Big Data, vol 68. Springer, Cham, 2020; pp. 167-186. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-33966-1_9
79. L. Rundo, A. Tangherloni & C. Militello. Artificial intelligence applied to medical imaging and computational biology. *Appl. Sci.*, **12**(18), 9052 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/app12189052>
80. H.-C. Yi, Z.-H. You, X. Zhou, L. Cheng, X. Li, T.-H. Jiang, *et al.* ACP-DL: a deep learning long short-term memory model to predict anticancer peptides using high-efficiency feature representation. *Molecular Therapy: Nucleic Acids*, **17**, 1–9, 2019. Doi: <https://doi.org/10.1016/j.omtn.2019.04.025>
81. L.A. Bugnon, C. Yones, D.H. Milone & G. Stegmayer. Deep neural architectures for highly imbalanced data in bioinformatics. *IEEE Transactions on Neural Networks and Learning Systems*, **31**(8), 2857–2867 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1109/TNNLS.2019.2914471>
82. B. Pfeifer, A. Saranti & A. Holzinger. GNN-SubNet: disease subnetwork detection with explainable graph neural networks. *Bioinformatics*, **38**(Suppl. 2), ii120–ii126 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1093/bioinformatics/btac478>

HOW TO CITE THIS ARTICLE

A.I. Oraibi, A.M. Zheoat, H.N. Sameer, M.A. Alboreadi & H.M. Abdulhamza. Drug design and discovery with bioinformatics tools. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 621–642 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.118428>

Beneficial effect of *Centella asiatica*: Synthesis of the last two decades

Carolina Takahashi ^{1*}, Hector Vílchez ² & Jorge Poemape ³

¹ Norbert Wiener University, Investigation area, Lima, Peru. *E-mail: asesoratakahashi@gmail.com ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0002-9441-0056>

² Southern Scientific University, Investigation area, Lima, Peru. ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7094-0821>

³ Cesar Vallejos University, Investigation area, Lima, Peru. ORCID ID: <https://orcid.org/0009-0001-8782-0620>

Received: January 20, 2025

Corrected: June 13, 2025

Accepted: June 18, 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.114481>

SUMMARY

Introduction: In Asia, *Centella asiatica* is widely known, used, and consumed as a medicinal plant. This plant has been used for a long time in traditional Chinese and Indian medicine, for its numerous beneficial health properties. **Objectives:** The present study compiles all the pharmacological activities of *Centella asiatica* (CA) described during the last 2 decades. **Methodology:** The present study carried out a review of the bibliography in PubMed, Springer Journals, Web of Science, and Scopus, to select studies published between 2000 and 2024 (01/01/2000 - 01/01/2024). **Results:** A comprehensive review of the pharmacological activity of CA has been conducted over the past 24 years, and studies have conclusively demonstrated its potential to treat a wide variety of diseases and disorders. These findings support the efficacy of CA as a therapeutic option. **Conclusion:** It has been concluded that this plant has promising medicinal properties for health. This research further supports the traditional use of CA in herbal medicine, paving the way for future research and therapeutic applications.

Keywords: *Centella asiatica*; gotu kola; pharmacological activity.

RESUMEN

Efecto benéfico de *Centella asiática*: Síntesis de las últimas dos décadas

Introducción: En Asia, la *Centella asiática* es ampliamente conocida, utilizada y consumida como planta medicinal. Esta planta se utiliza desde hace mucho tiempo en la medicina tradicional china e india, por sus numerosas propiedades beneficiosas para la salud. **Objetivo:** Por tanto, el presente estudio recopila todas las actividades farmacológicas de *Centella asiatica* (CA) descritas durante los últimos 20 años. **Metodología:** El presente estudio realizó una revisión de la bibliografía en PubMed, Springer Journals, Web of Science y Scopus, para seleccionar estudios publicados entre 2000 y 2024 (01/01/2000 - 01/01/2024). **Resultados:** Durante los últimos 24 años se ha realizado una revisión exhaustiva de la actividad farmacológica de la CA y los estudios han demostrado de manera concluyente su potencial para tratar una amplia variedad de enfermedades y trastornos. Estos hallazgos respaldan la eficacia de la CA como opción terapéutica. **Conclusión:** Se ha concluido que esta planta tiene propiedades medicinales prometedoras para la salud. Esta investigación respalda aún más el uso tradicional de la CA en la medicina herbaria, allanando el camino para futuras investigaciones y aplicaciones terapéuticas.

Palabras clave: *Centella asiatica*; gotu kola; actividad farmacológica.

RESUMO

Efeito benéfico da *Centella asiatica*: Síntese das últimas duas décadas

Introdução: Na Ásia, a *Centella asiatica* é amplamente conhecida, utilizada e consumida como planta medicinal. Esta planta é utilizada há muito tempo na medicina tradicional chinesa e indiana, pelas suas inúmeras propriedades benéficas para a saúde. **Objetivo:** O presente estudo compila todas as atividades farmacológicas da *Centella asiatica* (CA) descritas durante os últimos 24 anos. **Métodos:** O presente estudo realizou uma revisão da literatura no PubMed, Springer Journals, Web of Science e Scopus, para selecionar estudos publicados entre 2000 e 2024 (01/01/2000 - 01/01/2004). **Resultados:** Nos últimos 24 anos, houve uma revisão abrangente da atividade farmacológica do CA e estudos demonstraram conclusivamente o seu potencial para tratar uma ampla variedade de doenças e distúrbios. Esses achados apoiam a eficácia da CA como opção terapêutica. **Conclusão:** Concluiu-se que esta planta possui propriedades medicinais promissoras para a saúde. Esta pesquisa apoia ainda mais o uso tradicional de CA na fitoterapia, abrindo caminho para futuras pesquisas e aplicações terapêuticas.

Palavras-chave: *Centella asiatica*; gotu kola; atividade farmacológica.

1. INTRODUCTION

Due to their recognized effectiveness and more natural approach to health care, the use of medicinal plants has seen a significant resurgence today [1]. An increase in the use of medicinal plants as an alternative to conventional medicines has been observed globally [2, 3]. For many centuries, *Centella asiatica* (CA), also known as Gotu Kola, is a perennial herbaceous plant native to the Asian continent that has been appreciated for its various healing properties and health benefits [4, 5]. It is popularly known by several names, including: Indian pennywort, Asiatic pennywort, spadeleaf, coinwort, vallaarai, brahmi, Antanan, Pegaga, cica, herb de tiger, among others [6-9].

This plant lives mainly in tropical and subtropical areas of Asia [10]. They can be found naturally in places such as India, Indonesia, China, Japan, and Sri Lanka [11, 12]. In addition, it has spread to other places on the planet, such as Australia and areas of the United States, where it has adapted to suitable growing conditions, such as moist soils and shading, such as the banks of rivers, lakes, and ponds [13]. CA has stems up to one and a half meters high that can be creeping or climbing [14]. It has fan-shaped leaves with crenate edges and pink or white flowers [15]. The smooth and compressed diakenium with a discoid appearance is the fruit of CA [16]. Below, Table 1 shows the taxonomic classification of the CA.

Table 1. Taxonomic classification CA [17].

Kingdom	Plantae
Phylum	Magnoliophyta
Clase	Equisetopsida
Class	Magnoliopsida
Order	Apiales
Family	Apiaceae
Genus	Centella
Species	<i>Centella asiatica</i>

The leaves, stems, and roots of CA are used as medicine due to the phytoconstituents (Table 2) of this plant [18]. These leaves are glabrous and ruffled in shape, entire or with rounded protuberances on the edges [15]. Due to its beneficial properties for the skin and other therapeutic uses, CA is used in both traditional medicine and the cosmetic industry [19].

Table 2. Main phytoconstituents of the CA.

Main phytoconstituents	Chemical constituent
Essential oil	Betacaryophyllene, transbetafarnesene, and germacrene D.
Free amino acids	Alanine, serine, aminobutyrate, aspartate, glutamate, lysine, and threonine.
	Quercetin, kampferol, 3-glucosyl-quercetin, 3-glucosyl-kampferol.
Fatty acids	Linoleic acid, lignoceric acid, linolenic acid, oleic acid, palmitic acid, eladic acid, and stearic acid.
Triterpene saponins	Asiaticoside, madecassoside, brahmosid, brahminoside, centellosaponins B, C, and D.
Mucilage	---
Resin	---
Phytosterols	Sitosterol.
Tannins	Condensed tannins.
Alkaloids	Hydrocotiline, vallerina.

2. METHODOLOGY

In the month of April 2024, a bibliographic search was carried out searching Pubmed, Scopus, Web of Science, and Springer journals. The words used for the search were (*Centella* and *asiatica* or Gotu and kola), (*Centella asiatica* and pharmacological activity), (Gotu kola and pharmacological activity) in all databases except Pubmed. In Pubmed it was used ("*Centella asiatica*" [MeSH] OR "Gotu kola" [MeSH]), ("*Centella asiatica*" [MeSH] OR "Pharmacological activity" [MeSH]), ("Gotu kola" [MeSH] OR "Pharmacological activity" [MeSH]).

This study will consider the publication date of the documents, which must be from January 1, 2000 to January 1, 2024. The rest of the documents that were published before the year 2000 will be excluded. Another criterion to consider is the type of study, which means that only review articles and systematic review articles with or without meta-analysis are included in this study, the rest of the studies will be excluded.

Likewise, studies that are only published in English and Spanish will be included in this study, the rest of the documents will be excluded. Finally, studies that do not mention pharmacological activities of *Centella asiatica* (CA) or Gotu kola in the content will be excluded. A flow chart was used to facilitate the selection of studies for the next review. At the end of the search, a total of 28 articles were selected.

3. RESULTS

3.1. Search results

From an initial 29,041 documents found from 2000 to 2024, a total of 28 articles were obtained after following a search flow including inclusion and exclusion criteria (Fig. 1).

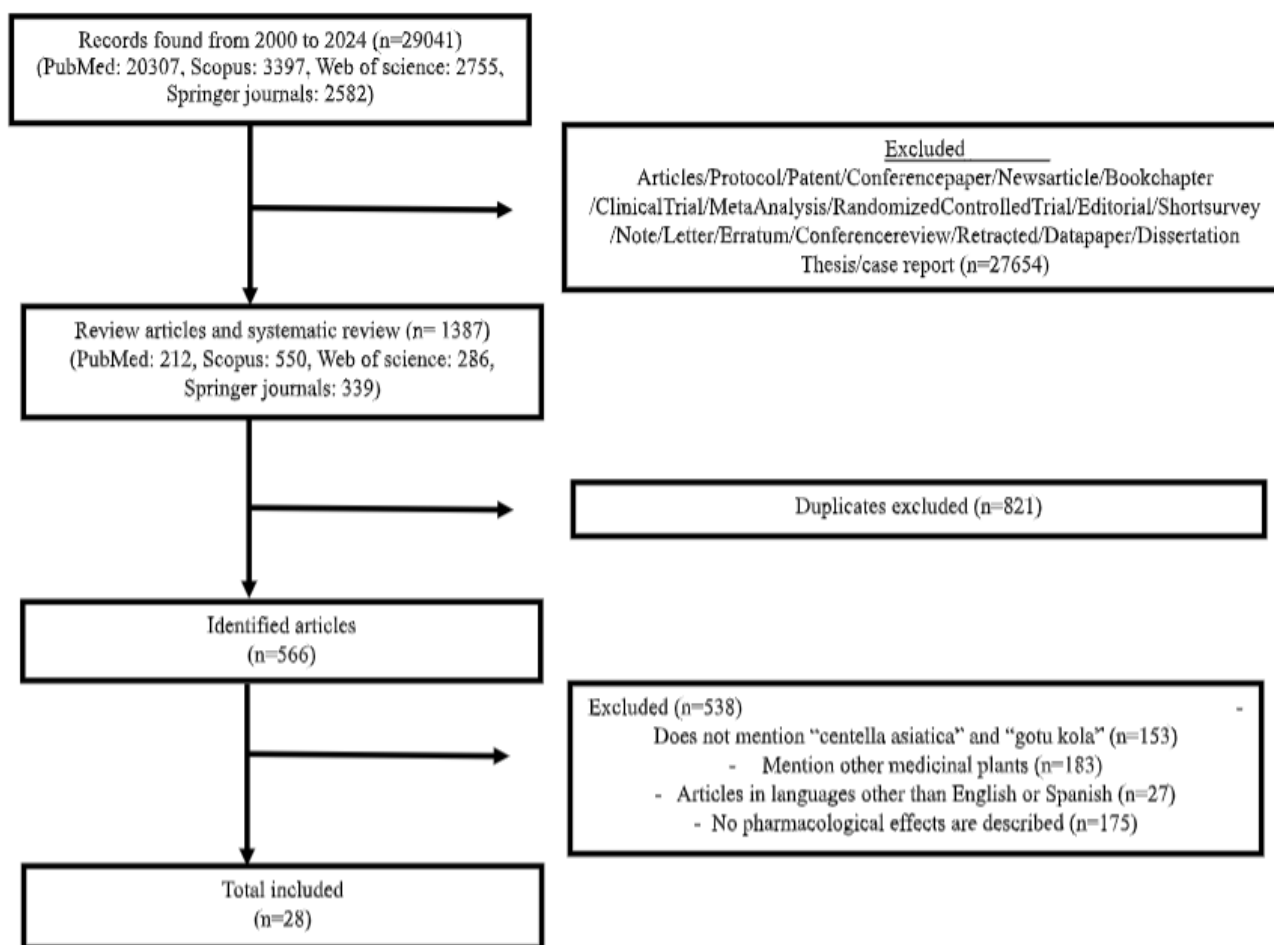


Figure 1. Flow chart of the study selection process

Table 3. Extraction of all selected studies

Study (Year)	Type of study	Databases	Search period	Pharmacological activity
Brinkhaus <i>et al.</i> (2000) [20]	Review	German Institute of Medical Documentation and Information (DIMDI), Embase, Medline, Natural Products Alert (NAPRALERT), and Phytodoc.	Not specific	Antimicrobial, antiviral, immunomodulatory effects, spasmolytic, gastrointestinal, dermatological, infectious, venous, nephrological, urogenital, neurological, psychiatric diseases, chronic venous insufficiency, striae, wound healing disorders, treatment of leprosy and effects on varicose veins.
Incandela <i>et al.</i> (2001) [21]	Review	Not specific	Not specific	Vascular, venous, and arterial diseases.
James and Dubery (2009) [22]	Review	Not specific	Not specific	Treatment of skin disorders such as eczema, psoriasis, wound healing, burn, and scar. Revitalising connective tissue, cleaning up skin infections, leprosy, arthritis, rheumatism, memory enhancement, circulation, bronchitis, asthma, cancer, detoxifying the body, slimming, diuretic, treatment of liver, kidneys and antifungal, antibacterial activity.
Gohil <i>et al.</i> (2010) [23]	Review	Not specific	Not specific	Wound healing, venous insufficiency, sedative, anxiolytic, antidepressant, antiepileptic, cognitive, antioxidant, gastric ulcer, antinociceptive,

				antiinflammatory, and radioprotection properties.
Orhan (2012) [24]	Review	ScienceDirect, Web of Science, Scopus, PubMed, and Google Scholar.	Not specific	Neuroprotective activity.
Bylka <i>et al.</i> (2013) [25]	Review	Not specific	Not specific	Treatment of small wounds, hypertrophic wounds, burns, psoriasis, scleroderma, photoaging skin, cellulite, and striae.
Bylka <i>et al.</i> (2014) [26]	Review	Ovid Medline, PubMed, and The Cochrane Library.	From 1988 up to March 2013	Wound healing, antimicrobial, antioxidant, and anti-psoriatic activity.
Chandrika and Prasad-Kumarab (2015) [27]	Review	Not specific	Not specific	Antioxidant, antimicrobial, cytotoxic, neuroprotective, antibacterial, antioxidant, antiulcer, antidiabetic, anti-inflammatory, cytotoxic, cardio, neuro, and skin protective activities, radioprotective activity, immunomodulatory effect.
Yogeswaran <i>et al.</i> (2016) [28]	Review	Not specific	Not specific	Treat neurodegenerative diseases, increase memory performance, alzheimer and parkinson disease.
Sabaragamuwa <i>et al.</i> (2018) [29]	Review	Not specific	Not specific	Anti-oxidative properties to attenuate oxidative stress, a high anti-inflammatory potent, neuron regenerative ability, potential for neuron damage prevention, neurotoxicity inhibition effect, anti-anxiety, anti-depressive properties, and ability to reduce the accumulation of amyloid plaques.
Gray <i>et al.</i> (2018) [30]	Review	Not specific	Not specific	Cognitive enhancer, anxiolytic, anticonvulsant, anxiolytic, anti-ischemic effect.
Razali <i>et al.</i> (2019) [31]	Review	PubMed and Google Scholar	From 2004 up to March 2018	Cardioprotective, anti-atherosclerotic, antihypertensive, antihyperlipidemic, antidiabetic, antioxidant, anti-inflammatory activities, neurological, dermatological, and metabolic diseases.
Archana <i>et al.</i> (2019) [32]	Review	PubMed, Scopus, Google Scholar, SciFinder, Medline, and ScienceDirect.	Not specific	Memory loss, platelets aggregation, insomnia, psoriasis, burn wounds, hypertonic scars, and skin cell reconstruction.
Kant <i>et al.</i> (2019) [33]	Review	Not specific	Not specific	Wound healing, antimicrobial, antifungal, antioxidant, antiviral, antiprotozoal, antifilarial, memory enhancement, cardiovascular, antiulcer, antidiabetic, hepaprotective, antiproliferant, antidepressant, autoimmune, anticancer, liver protection, gastric ulcer, dermatologic, and radioprotective activity.
Sun <i>et al.</i> (2020) [34]	Review	PubMed	Between January 1, 2015, and October 19, 2019	Neurological, endocrine, skin, cardiovascular, digestive, respiratory, gynecological, and rheumatoid arthritis effects.
Park (2021) [35]	Review	PubMed, Web of Science, Scopus, ScienceDirect, and SciFinder.	Not specific	Skin Diseases (acne, burns, atopic dermatitis, and wound effects).
Wong <i>et al.</i> (2021) [36]	Review	Not specific	Not specific	Anti-inflammatory, neuroprotective, neuroactive effects.
Biswas <i>et al.</i> (2021) [37]	Review	Not specific	Not specific	Neuroprotective, antidiabetic, wound healing, cardiovascular, pulmonary, hepatic, renal, gastrointestinal, skin, endocrine system effects, and treatment of venous insufficiency.
Torbati <i>et al.</i>	Review	Google Scholar, Scopus,	Not specific	Neuroprotective, wound healing, and treatment

(2021) [38]		PubMed, and Web of Science.		of venous insufficiency, and antidiabetic activity.
Arribas-Lopez <i>et al.</i> (2022) [39]	Systematic Review and Meta-analysis	PubMed, ScienceDirect, Medline, grey literature research with Google Scholar.	From 2017 up to March 2019	Anti-inflammatory and wound healing effects.
Diniz <i>et al.</i> (2023) [40]	Review	PubMed.	Until December 2022	Wound healing activity.
He <i>et al.</i> (2023) [41]	Review	Google Scholar, PubMed, Web of Science, Elsevier.	Up to 2022	Anti-neural inflammation, anti-cancer, protective properties for the skin, cardiovascular, and pulmonary system.
Bandopadhyay <i>et al.</i> (2023) [42]	Review	Not specific	Between 2005 and 2022	Neuroprotective, cardioprotective, hepatoprotective, wound healing, anti-inflammatory, antioxidant, anti-allergic, anti-depressant, anxiolytic, antifibrotic, antibacterial, anti-arthritis, anti-tumour, and immunomodulatory activity.
Shafin <i>et al.</i> (2023) [43]	Review	Scopus	Between 1857 and 2022	Healing, antimicrobial, anti-inflammatory antioxidant, anti-cancer, anti-diabetic, immunomodulatory, hepatoprotective, cardioprotective and neuroprotective activity.
Yang <i>et al.</i> (2023) [44]	Review	Google Scholar, PubMed, and China National Knowledge Infrastructure (CNKI)		Treatment of chronic kidney diseases, malignant intestinal obstruction, radiation dermatitis, precancerous lesions, chronic prostatitis, alzheimer, and other diseases.
Wiciński <i>et al.</i> (2024) [45]	Review	Not specific	Not specific	Treatment of chronic kidney diseases, malignant bowel obstruction, radiodermatitis, precancerous lesions, chronic prostatitis, medical cosmetology, and the production and processing of skin care products.
Adline <i>et al.</i> (2024) [46]	Review	Not specific	Not specific	Anti-inflammatory, anti-fibrotic, antioxidant, and neuroprotective effects.
Min <i>et al.</i> (2024) [47]	Review	PubMed and Google Scholar	Since the year 2000 up to the latest information	Anti-inflammatory effects, skin wounds, scar treatments, and cosmetics agents.

3.2. Pharmacological effects

3.2.1. Anti-inflammatory effect

Studies on *Centella Asiatica* (CA) have demonstrated its anti-inflammatory capacity [23, 27, 29, 31, 48-50]. Several active components, such as Asiatic acid and CA asiaticosides, have been found to have anti-inflammatory effects [51, 52]. In addition to its anti-inflammatory properties, CA has also been successfully used to treat conditions such as phlebitis, varicose veins, hemorrhoids, surgical wounds, burns, and insect bites due to its dermoprotective properties [39, 42, 53, 54]. Other studies have found that CA contains triterpenes, such as ursane- and olean-type compounds, which also have anti-inflammatory effects [43, 46, 47, 55-57].

3.2.2. Cardiovascular effect

Asiaticoside is the active ingredient in CA that has effects on the heart [27, 31, 33, 42, 43, 58]. The beneficial effects of asiaticoside on the cardiovascular system include antihypertensive, antiatherosclerotic, and antihyperlipidemic properties [29, 30, 59, 60]. In addition, asiaticoside

has anti-ischemic and antiplatelet effects, which helps protect the heart and improve blood circulation [37, 41, 61-63].

3.2.3. Effects on skin

CA asiaticoside has an effect on the skin, treating disorders such as eczema, psoriasis, cellulite, and stretch marks [22, 26, 34, 64, 65]. This compound has been shown to have healing, soothing, and collagen formation-stimulating properties, which improves the appearance of the skin and promotes wound healing, such as small wounds, hypertrophic wounds, burns, scars, and reconstruction of skin cells [25, 32, 35, 37, 66, 67].

In addition, thanks to its content of asiaticoside and antioxidant components (ascorbic acid), CA protects the skin against skin photoaging [27, 41, 42, 46, 47, 68]. These antioxidants protect the skin from damage caused by free radicals and help combat oxidative stress [38-40, 69, 70].

3.2.4. Effect on infections

Asiaticoside is the active ingredient in *centella asiatica* that acts against infections [33, 71, 72]. It has antimicrobial, antiviral, antifungal, antibacterial (such as leprosy), antiprotozoal and antifilarial effects [20, 27, 42, 73]. This compound is found in *centella asiatica* and has been shown to act against a variety of microorganisms [26, 74-76].

3.2.5. Effect on the respiratory system

The active ingredient of CA that affects the respiratory system, such as bronchitis and asthma, is not specified in the literature search. However, it is mentioned that *centella asiatica* contains active ingredients such as asiaticoside and madecasside, which are triterpene pentacyclic saponosides [34, 77, 78]. These compounds have therapeutic properties, but their effects on the respiratory system are not mentioned [41, 79].

3.2.6. Endocrine effect

The active ingredients of CA have antidiabetic properties and endocrine effects [37, 38, 80]. Asiaticoside is an active ingredient that has an antidiabetic effect [27, 31, 33, 81].

3.2.7. Effect on the urinary system and gynecological system

The results regarding the effect on the urinary and gynecological system of CA do not contain specific evidence. However, CA has been investigated for its healing properties and traditional use in herbal medicine to treat a variety of diseases of the urinary and gynecological system [20, 34].

3.2.8. Effect on cancer

CA has been studied for its immunomodulatory properties and has been found to help the immune system destroy cancer cells [27, 42-45, 78]. According to some studies, CA has antiproliferative effects in some types of cancer, such as breast cancer, and can enhance the action of other antitumor treatments [41, 82]. At the same time, there is no specific evidence on *Centella asiatica* regarding the radioprotective effect.

According to some studies, Asiatic acid is the active ingredient in gotu kola, which has been studied for its effects on cancer [22, 83]. Several studies have shown that Asiatic acid has properties that can stop the growth of tumors and fight cancer cells in the colon, liver, prostate, and breast, among others [84]. Additionally, Asiatic acid has been found to inhibit cell growth and apoptosis in colon cancer cells through a mitochondrial death cascade [23, 82, 85].

3.2.9. Gastrointestinal effects

Traditionally, CA has been used to detoxify the body. However, no precise evidence of this effect was found [37, 86]. There was also no clear evidence of a slimming effect. It has been suggested that CA may have diuretic characteristics, meaning that it may help increase urine production and promote the elimination of toxins through the urinary system [20, 87].

AC has been found to have hepatoprotective properties in relation to gastric protection, meaning it can protect the liver from damage and improve its health [44, 45, 82]. It also has gastroprotective properties, which can protect the stomach lining and prevent the formation of ulcers [23, 86]. Likewise, it has antispasmodic properties, which means that it can help relieve muscle spasms from ingestion [88-90].

3.2.10. Neurological effect

Progressive loss of memory and cognitive function is a symptom of a neurodegenerative disease known as Alzheimer's disease [91]. Research has been carried out on the neuroprotective effects of some natural compounds, such as verbascoside and echinoside, in Alzheimer's disease [20, 24, 28, 31, 44, 91, 92]. These substances have been shown to have antioxidant and neuroprotective properties, and have been shown to improve Alzheimer's disease and other neurological disorders. Research has been carried out on the neuroprotective effects of some natural compounds, such as verbascoside, in Parkinson's disease [30, 36-38, 42, 93]. No specific evidence was found regarding the neuroprotective effect in epilepsy or insomnia.

3.2.11. Psychiatric effect

Some of the active ingredients of CA have been investigated for the treatment of psychiatric disorders, but there is not enough scientific evidence to conclusively support the specific psychiatric effects of CA. Triterpenes, such as Asiatic acid, madecassic acid, have been studied for their anxiolytic and antidepressant effects. These chemicals can calm, relieve anxiety and depression [20, 30, 42, 94, 95].

3.2.12. Rheumatology effect

There is limited evidence on the specific effects of CA in rheumatological diseases, its potential benefit in some related disorders has been investigated. The active ingredients present are triterpenes such as Asiatic acid and madecassic acid, these elements can reduce inflammation and protect against oxidative stress, which is crucial for many rheumatological diseases [34, 96]. Contains saponins, which are chemicals with anti-inflammatory and analgesic effects, which relieve pain and inflammation of rheumatological diseases [22, 97, 98].

4. CONCLUSION

Centella asiatica (CA) has demonstrated significant therapeutic potential as an alternative to conventional pharmacological treatments for various diseases. However, there are still areas of research that require more evidence, such as its effect on the rheumatological system, respiratory system, psychiatric system, urinary and gynecological system, as well as its disinfectant capacity and radioprotective effect on the body. This review highlights the need for further pharmacological research on CA, especially concerning contagious, venereal, fatal, rare and orphan diseases. Likewise, future studies are required to evaluate its pharmacological properties, including possible toxic effects of this plant and environmental impact. In summary, we trust that this review will be a valuable tool for researchers in their future explorations.

CONFLICT OF INTERESTS

The authors of this research have no conflict of interest.

FINANCING INFORMATION

This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

REFERENCES

1. P.M. Leite, R.O. Castilho, A.L. Ribeiro & M.A. Martins. Consumption of medicinal plants by patients with heart diseases at a pharmacist-managed anticoagulation clinic in Brazil. *Int. J. Clin. Pharm.*, **38**(2), 223–227 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11096-016-0270-0>
2. H.C. Smith, H.O. Larsen & M. Pouliot. People, plants and health: a conceptual framework for assessing changes in medicinal plant consumption. *J. Ethnobiol. Ethnomed.*, **8**(1), 43 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1186/1746-4269-8-43>
3. D.M. Ćwieląg, A. Piekut, I. Szymala, K. Oleksiuk, M. Razzaghi, W. Osmala, *et al.* Health risks from consumption of medicinal plant dietary supplements. *Food Sci. Nutr.*, **8**(7), 3535–3544 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1636>
4. I. Vicen-Carbó, E. Corretger-Bobis, C. García-del-Cerro, L. Sotelo-Prats, B. Barturen-Echeverria, E. García-Marqueta, *et al.* Efecto de unas gotas a base de ácido hialurónico, *Aloe vera* y *Centella asiatica* en la calidad de vida de pacientes con ojo seco. *Farmacéuticos Comunitarios*, **15**(1), 56–63 (2023). URL: <https://www.raco.cat/index.php/FC/article/view/412519>
5. V. Seevaratnam, P. Banumathi, M.R. Premalatha, S.P. Sundaram & T. Arumugam. Functional properties of *Centella asiatica* (L.): A review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **4**(Suppl. 5), 8–14 (2012). URL: <https://pinellinutraceuticals.com/wp-content/uploads/2023/01/FUNCTIONAL-PROPERTIES-OF-CENTELLA-ASIATICA-L.-A-REVIEW.pdf>
6. N. Techen, V.C. Joshi, C.S. Rumalla & I.A. Khan. Validation of the medicinal plant *Centella asiatica* (L.) Urb. and detection of its possible substitutes. *Planta Med.*, **77**(05), 10 (2011). <https://doi.org/10.1055/s-0031-1273539>
7. W. Simka. *Centella asiatica* (L.) Urb. and its application in cosmetology. *Aesth. Cosmetol. Med.*, **12**(5), 175–179 (2023). Doi: <https://doi.org/10.52336/acm.2023.022>
8. A.J. Das. Review on nutritional, medicinal and pharmacological properties of *Centella asiatica* (Indian pennywort). *J. Biol. Act. Prod. Nat.*, **1**(4), 216–228 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1080/22311866.2011.10719089>
9. S. Akbar. *Handbook of 200 Medicinal Plants. A Comprehensive Review of Their Traditional Medical Uses and Scientific Justifications*. Springer Cham, 2020; pp. 573–588. Doi: <https://doi.org/10.1007/978-3-030-16807-0>
10. S. Singh, A. Gautam, A. Sharma & A. Batra. *Centella asiatica* (L.): A plant with immense medical potential but threatened. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, **4**(2), 003 (2010). URL: <https://www.globalresearchonline.net/journalcontents/volume4issue2/Article%20003.pdf>
11. L.R. Singh & K. Singh. Holistic health potential of Indian pennywort (*Centella asiatica* (L.) urban): a review. *International Journal of Development Research*, **07**(12), 17725–17728 (2017). URL: https://www.researchgate.net/publication/341443302_1_Holistic_Health_Potential_of_Indian_Pennywort_Centella_asiatica_LUrban_A_review
12. V. Agme-Ghodke, R.N. Agme & S.S. Makone. Study of *Centella asiatica* as a potential source of active metabolites. *Int. J. Adv. Res. Sci. Eng.*, **05**(09), 500–503 (2016). URL: https://www.ijarse.com/images/fullpdf/1475234265_1105_IJARSE.pdf

13. M.F. Díaz, J. Larraín, G. Zegers & C. Tapia. Caracterización florística e hidrológica de turberas de la Isla Grande de Chiloé, Chile. *Rev. Chil. Hist. Nat.*, **81**(4), 455–468 (2008). <https://doi.org/10.4067/S0716-078X2008000400002>
 14. D.K. Patel. Growth pattern study on *Centella asiatica* (L.) Urban in herbal garden. *International Journal of Herbal Medicine*, **3**(5), 09-12 (2015). URL: <https://www.florajournal.com/vol3issue5/Dec2015/3-4-5.1.pdf>
 15. E.F. Rakotoniriana, F. Munaut, C. Decock, D. Randriamampionona, M. Andriambololoniaina, T. Rakotomalala, *et al.*, Endophytic fungi from leaves of *Centella asiatica*: Occurrence and potential interactions within leaves. *Antonie Van Leeuwenhoek*, **93**(1–2), 27–36 (2008). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10482-007-9176-0>
 16. J.X. Wong, S. Ramli, S. Desa & S.N. Chen. Use of *Centella asiatica* extract in reducing microbial contamination and browning effect in fresh cut fruits and vegetables during storage: A potential alternative of synthetic preservatives. *LTW – Food Sci. Technol.*, **151**, 112229 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.112229>
 17. Método de Evaluación Rápida de Invasividad (MERI) para especies exóticas en México: *Centella asiatica* (L.) Urb. 2024; 8 p. URL: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/220994/Centella_asiatica.pdf
 18. A. Garcia-Baeza, M.A. Alcalde-Alvites, A. Ponce-Rivera, J. Palazon-Barandela & K. Ramirez-Estrada. Obtención y caracterización de hairy roots de *Centella asiatica* (L.) Urban: Un resultado preliminar hacia la producción biotecnológica de compuestos naturales ansiolíticos. (Memoria del VII Simposio Nacional de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina y el V Simposio Nacional de Microbiología Aplicada 2020). *Revista de Ciencias Farmacéuticas y Biomedicina*, **Edición especial 1**, 72 (2020). URL: <https://rcfb.uanl.mx/index.php/rcfb/article/view/334/323>
 19. M.E. Lopes-Consolaro, L.C. Marques & J.C. Palazzo De Mello. Análisis farmacognóstico de *Centella asiatica* (L.) Urban: Aspectos botánicos, físico-químicos y enfoque químico preliminar. *Acta Farm. Bonaerense*, **18**(2), 115–120 (1999). URL: https://www.latamjpharm.org/trabajos/18/2/LA-JOP_18_2_1_7_47167475HU.pdf
 20. B. Brinkhaus, M. Lindner, D. Schuppan & E.G. Hahn. Chemical, pharmacological and clinical profile of the East Asian medical plant *Centella asiatica*. *Phytomedicine*, **7**(5), 427–448 (2000). doi: [https://doi.org/10.1016/s0944-7113\(00\)80065-3](https://doi.org/10.1016/s0944-7113(00)80065-3)
 21. L. Incandela, M.R. Cesarone, M. Cacchio, M.T. De Sanctis, C. Santavenere, M.G. D'Auro, *et al.* Total triterpenic fraction of *Centella asiatica* in chronic venous insufficiency and in high-perfusion microangiopathy. *Angiology*, **52**(Suppl. 2), S9–S13 (2001). Doi: <https://doi.org/10.1177/000331970105202S03>
 22. J.T. James & I.A. Dubery. Pentacyclic triterpenoids from the medicinal herb, *Centella asiatica* (L.) Urban. *Molecules*, **14**(10), 3922–3941 (2009). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules14103922>
 23. K.J. Gohil, J.A. Patel & A.K. Gajjar. Pharmacological review on *Centella asiatica*: A potential herbal cure-all. *Indian J. Pharm. Sci.*, **72**(5), 546–556 (2010). URL: <https://www.ijpsonline.com/articles/pharmacological-review-on-centella-asiatica-a-potential-herbal-cureall.pdf>
 24. I.E. Orhan. *Centella asiatica* (L.) Urban: From traditional medicine to modern medicine with neuroprotective potential. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2012**, 946259 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1155/2012/946259>
 25. W. Bylka, P. Znajdek-Awizeń, E. Studzińska-Sroka & M. Brzezińska. *Centella asiatica* in cosmetology. *Advances in Dermatology and Allergology / Postępy Dermatologii i Alergologii*, **30**(1), 46–49 (2013). Doi: <https://doi.org/10.5114/pdia.2013.33378>
 26. W. Bylka, P. Znajdek-Awizeń, E. Studzińska-Sroka, A. Dańczak-Pazdrowska & M. Brzezińska. *Centella asiatica* in dermatology: an overview. *Phytother. Res.*, **28**(8), 1117–1124 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1002/ptr.5110>
 27. U.G. Chandrika & P.A.A.S. Prasad-Kumarab. Gotu Kola (*Centella asiatica*): Nutritional properties and plausible health benefits. *Adv. Food Nutr. Res.*, **76**, 125–157 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2015.08.001>
-

28. Y. Lokanathan, N. Omar, N.N.A. Puzi, A. Saim & R.H. Idrus. Recent updates in neuroprotective and neuroregenerative potential of *Centella asiatica*. *Malays. J. Med. Sci.*, **23**(1), 4–14 (2016). URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC4975583/pdf/2ramjms231.pdf>
29. R. Sabaragamuwa, C.O. Perera & B. Fedrizzi. *Centella asiatica* (Gotu kola) as a neuroprotectant and its potential role in healthy ageing. *Trends in Food Science & Technology*, **79**, 88–97 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.07.024>
30. N.E. Gray, A. Alcazar-Magana, P. Lak, K.M. Wright, J. Quinn, J.F. Stevens, C.S. Maier & A. Soumyanath. *Centella asiatica*: Phytochemistry and mechanisms of neuroprotection and cognitive enhancement. *Phytochem. Rev.*, **17**(1), 161–194 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9528-y>
31. N.N.M. Razali, C.T. Ng & L.Y. Fong. Cardiovascular protective effects of *Centella asiatica* and its triterpenes: A review. *Planta Med.*, **85**(16), 1203–1215 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1055/a-1008-6138>
32. P. Archana, A. Mathur & M. Archana. Advances and emerging research trends for modulation of centelloside biosynthesis in *Centella asiatica* (L.) Urban- A review. *Industrial Crops and Products*, **141**, 111768 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.111768>
33. R. Kant, P.P. Srivastav & A.K. Datta. The medicinal role of *Centella asiatica* and its applications in the Dahi: A research review. *Journal of Pharmaceutical Research International*, **28**(6), 1–9 (2019). Doi: <https://doi.org/10.9734/jpri/2019/v28i630220>
34. B. Sun, L. Wu, Y. Wu, C. Zhang, L. Qin, M. Hayashi, *et al.* Therapeutic potential of *Centella asiatica* and its triterpenes: A review. *Front. Pharmacol.*, **11**, 568032 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.568032>
35. K.S. Park. Pharmacological effects of *Centella asiatica* on skin diseases: Evidence and possible mechanisms. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2021**, 5462633 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1155/2021/5462633>
36. J.H. Wong, A.M. Barron & J.M. Abdullah. Mitoprotective effects of *Centella asiatica* (L.) Urb.: Anti-inflammatory and neuroprotective opportunities in neurodegenerative disease. *Front. Pharmacol.*, **12**, 687935 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.687935>
37. D. Biswas, S. Mandal, S.C. Saha, C.K. Tudu, S. Nandy, G.E. Batiha, *et al.* Ethnobotany, phytochemistry, pharmacology, and toxicity of *Centella asiatica* (L.) Urban: A comprehensive review. *Phytother. Res.*, **35**(12), 6624–6654 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1002/ptr.7248>
38. F.A. Torbati, M. Ramezani, R. Dehghan, M.S. Amiri, A.T. Moghadam, N. Shakour, *et al.* Ethnobotany, phytochemistry and pharmacological features of *Centella asiatica*: A comprehensive review. In: G.E. Barreto & A. Sahebkar (editors). *Pharmacological Properties of Plant-Derived Natural Products and Implications for Human Health*. Advances in Experimental Medicine and Biology, vol 1308. Springer, Cham, 2021; pp. 451–499. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-64872-5_25
39. E. Arribas-López, N. Zand, O. Ojo, M.J. Snowden & T. Kochhar. A systematic review of the effect of *Centella asiatica* on wound healing. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **19**(6), 3266 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph19063266>
40. L.R.L. Diniz, L.L. Calado, A.B.S. Duarte & D.P. de Sousa. *Centella asiatica* and its metabolite Asiatic acid: Wound healing effects and therapeutic potential. *Metabolites*, **13**(2), 276 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/metabo13020276>
41. Z. He, Y. Hu, Z. Niu, K. Zhong, T. Liu, M. Yang, *et al.* A review of pharmacokinetic and pharmacological properties of asiaticoside, a major active constituent of *Centella asiatica* (L.) Urb. *J. Ethnopharmacol.*, **302**(Part A), 115865–115876 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2022.115865>
42. S. Bandopadhyay, S. Mandal, M. Ghorai, N.K. Jha, M. Kumar, Radha, *et al.* Therapeutic properties and pharmacological activities of asiaticoside and madecassoside: A review. *J. Cell. Mol. Med.*, **27**(5), 593–608 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1111/jcmm.17635>
43. N. Shafin, N.N. Zulkipli, S.F. Sulaiman, N. Omar, N. Al-Sowayan, R. Ahmad, *et al.* *Centella asiatica* (L.) Urb: A comprehensive bibliometric analysis of published studies between 1857 and 2022. *Plant Sci. Today*, **10**(2), 281–288 (2023). Doi: <https://doi.org/10.14719/pst.2136>

44. Z.-H. Yan, X.-Y. Shi & H. Jiang. Phytochemistry, pharmacology, and clinical applications of *Centella asiatica* (L.) Urban. *World Journal of Traditional Chinese Medicine*, **9**(4), 369–398 (2023). Doi: <https://doi.org/10.4103/2311-8571.376900>
 45. M. Wiciński, M.A. Fajkiel, Z. Kurant, S. Gajewska, D. Kurant, M. Kurant, *et al.* Can Asiatic acid from *Centella asiatica* be a potential remedy in cancer therapy?—A review. *Cancers* (Basel), **16**(7), 1317 (2024). Doi: <https://doi.org/10.3390/cancers16071317>
 46. F. Adline, R. Prastyani & I. Wahyuni. Potential therapy of Asiatic acid to prevent scar remodeling post-strabismus surgery. *J. Med. Pharm. Chem. Res.*, **6**(2), (2024) 183–194 (2024). Doi: <https://doi.org/10.48309/jmpcr.2024.183798>
 47. D.-H. Min, Y.-B. Yu, T.-H. Kim, H. Kim & S. Lee. Pharmacological effects of pentacyclic triterpenoids isolated from *Centella asiatica*. *Hortic. Environ. Biotechnol.*, **65**(2), 189–197 (2024). <https://doi.org/10.1007/s13580-023-00561-8>
 48. E. Vásquez-Rodríguez. *Actividades biológicas de extractos de plantas y de sus combinaciones*. Ph. D. thesis. Universidad Autónoma de Madrid, 2015; 319 p. URL: <https://digital.csic.es/handle/10261/152164>
 49. F.M. Rodríguez-Pérez. *Estudio fitoquímico de especies de la familia Celastraceae (Flora Panameña): Maytenus blepharodes y Crossopetalum lobatum*. Ph.D. thesis. Universidad de La Laguna, Canary Islands, Spain, 2000; 255 p. URI: <http://riull.ull.es/xmlui/handle/915/12321>
 50. N.I. Rodríguez-Perestelo. *Metabolitos secundarios aislados de clínica (Celastraceae): Estudio de relación estructura-actividad*. Universidad de La Laguna, Canary Islands, Spain, 2010; 372 p. URI: <http://riull.ull.es/xmlui/handle/915/21113>
 51. C.L. Cheng, J.S. GuoS, J. Luk & M.W. Koo. The healing effects of *Centella* extract and asiaticoside on acetic acid induced gastric ulcers in rats. *Life Sci.*, **74**(18), 2237–2249 (2004). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2003.09.055>
 52. M.N. Somchit, M.R. Sulaiman, A. Zuraini, L. Samsuddin, N. Somchit, D.A. Israfi, *et al.* Antinociceptive and antiinflammatory effects of *Centella asiatica*. *Indian J. Pharmacol.*, **36**(6), 377 (2004). URL: https://journals.lww.com/iphr/fulltext/2004/36060/antinociceptive_and_antiinflammatory_effects_of.11.aspx
 53. A. Ratz-lyko, J. Arct & K. Pytkowska. Moisturizing and antiinflammatory properties of cosmetic formulations containing *Centella asiatica* extract. *Indian J. Pharm. Sci.*, **78**(1), 27–33 (2016). URL: <https://www.ijpsonline.com/articles/moisturizing-and-antiinflammatory-properties-of-cosmetic-formulations-containing-centella-asiatica-extract.html>
 54. M.C. Kwon, W.Y. Choi, Y.C. Seo, J.S. Kim, C.S. Yoon, H.W. Lim, *et al.* Enhancement of the skin-protective activities of *Centella asiatica* L. urban by a nano-encapsulation process. *J. Biotechnol.*, **157**(1), 100–106 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2011.08.025>
 55. A. Garcia-Baeza. *Metabolomics-derived insights into the metabolic regulation and control of centellosides in hairy root cultures of Centella asiatica*. Ph.D. thesis. Nantes Université / Universidad autónoma de Nuevo León, 2023; 274 p. URL: <https://theses.hal.science/tel-04373672/>
 56. P.J. Ho, J.J. Sung, K.K. Cheon & H.J. Tae. Anti-inflammatory effect of *Centella asiatica* phytosome in a mouse model of phthalic anhydride-induced atopic dermatitis. *Phytomedicine*, **43**, 110–119 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2018.04.013>
 57. J.H. Park, J.Y. Choi, D.J. Son, E.K. Park, M.J. Song, M. Hellström, *et al.* Anti-inflammatory effect of titrated extract of *Centella asiatica* in phthalic anhydride-induced allergic dermatitis animal model. *Int. J. Mol. Sci.*, **18**(4), 738 (2017). doi: <https://doi.org/10.3390/ijms18040738>
 58. Harwoko, S. Pramono & A. Nugroho. Triterpenoid-rich fraction of *Centella asiatica* leaves and *in vivo* antihypertensive activity. *International Food Research Journal*, **21**(1), 149–154 (2014). URL: https://www.researchgate.net/publication/286043016_Triterpenoid-rich_fraction_of_centella_asiatica_leaves_and_in_vivo_antihypertensive_activity ink%3Ascholar&id=eb-sco%3A94948082&crl=c
 59. X.B. Wang, W. Wang, X.C. Zhu, W.J. Ye, H. Cai, P.L. Wu, *et al.* The potential of asiaticoside for TGF- β 1/Smad signaling inhibition in prevention and progression of hypoxia-induced pulmonary hypertension. *Life Sci.*, **137**, 56–64 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2015.07.016>
-

-
60. P.N. Giradkar. Herbal drugs used in the treatment of stroke. *International Journal of Research in Pharmacy and Allied Science (IJRPAS)*, **2**(2), 15–34 (2023). URL: <https://idealpublication.in/wp-content/uploads/2023/05/3-Herbal-Drugs-Used-in-The-Treatment-of-Stroke.pdf>
61. S. Halder, U. Anand, S. Nandy, P. Oleksak, S. Qusti, E.M. Alshammari, *et al.* Herbal drugs and natural bioactive products as potential therapeutics: A review on pro-cognitives and brain boosters perspectives. *Saudi Pharm. J.*, **29**(8), 879–907 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2021.07.003>
62. A.H. Mota A review of medicinal plants used in therapy of cardiovascular diseases. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, **8**(4), 572–591 (2016). URL: https://www.researchgate.net/publication/301746893_A_Review_of_Medicinal_Plants_Used_in_Therapy_of_Cardiovascular_Diseases
63. E. Omara, A. Kam, A.K. Alqahtania, N.V. Razmovski, S. Nammi, *et al.* Herbal medicines and nutraceuticals for diabetic vascular complications: Mechanisms of action and bioactive phytochemicals. *Curr. Pharm. Des.*, **16**(34), 3776–3807 (2010). URL: <https://www.ingentaconnect.com/content/ben/cpd/2010/00000016/00000034/art00003>
64. L. Bevege. *Centella asiatica*: a review. *Australian Journal of Medical Herbalism*, **16**(1), 15–27 (2004). URL: <https://search.informit.org/doi/abs/10.3316/INFORMIT.407696078933571>
65. A. Ratz-Lyko & Jacek Arct. Cosmetic and dermatological properties of *Centella asiatica* in Polish). *Pol. J. Cosmetol.*, **18**(1), 25–30 (2015). URL: https://www.researchgate.net/profile/Anna-Ratz-Lyko/publication/273446134_Kosmetyczne_i_dermatologiczne_wlasciwosci_Centella_asiatica_Cosmetic_and_dermatological_properties_of_Centella_asiatica
66. D.M. Kousik & K. Baldev. Ancient and pharmacological review on *Centella asiatica* (mandukparni): a potential herbal panacea. *International Journal of Research and Reviews in Pharmacy and Applied Science*, **2**(6) 1062–1072 (2012). URL: <http://ijrrpas.com/sites/default/files/2019-05/10.pdf>
67. R. Ghiulai, O.J. Roşca, D.S. Antal, M. Mioc, A. Mioc, R. Racoviceanu, *et al.* Tetracyclic and pentacyclic triterpenes with high therapeutic efficiency in wound healing approaches. *Molecules*, **25**(23), 5557 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules25235557>
68. N. Srichaiyo, S. Tongsir, S.H. Hoseinifar, M.A.O. Dawood, S. Jaturasitha, M.Á. Esteban, *et al.* The effects gotu kola (*Centella asiatica*) powder on growth performance, skin mucus, and serum immunity of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) fingerlings. *Aquacult. Rep.*, **16**, 100239 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aqrep.2019.100239>
69. C. Castaño-Amores & P.J. Hernández-Benavides. Activos antioxidantes en la formulación de productos cosméticos antienvjecimiento. *Ars Pharm.*, **59**(2), 77–84 (2018). URL: https://scielo.isciii.es/scielo.php?pid=S2340-98942018000200003&script=sci_arttext&tlng=en
70. G.I. Castellanos-Ramos & D. Alcalá-Pérez. Antioxidantes en dermatología. *Dermatología Cosmética, Médica y Quirúrgica*, **8**(4), 272–277 (2010). URL: <https://www.medigraphic.com/pdfs/cosmetica/dcm-2010/dcm104j.pdf>
71. G. Jia & X. Lu. Enrichment and purification of madecassoside and asiaticoside from *Centella asiatica* extracts with macroporous resins. *J. Chromatogr. A*, **1193**(1–2), 136–141 (2008). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2008.04.024>
72. O. Suwantong, U. Ruktanonchai & P. Supaphol. Electrospun cellulose acetate fiber mats containing asiaticoside or *Centella asiatica* crude extract and the release characteristics of asiaticoside. *Polymer*, **49**(19), 4239–4247 (2008). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.07.020>
73. M.F.N. Meeran, S.N. Goyal, K. Suchal, C. Sharma, C.R. Patil & S.K. Ojha. Pharmacological properties, molecular mechanisms, and pharmaceutical development of Asiatic acid: A pentacyclic triterpenoid of therapeutic promise. *Front. Pharmacol.*, **9**, 892 (2018). Doi: <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.00892>
74. R.K. Verma, K.G. Bhartariya, M.M. Gupta & S. Kumar. Reverse-phase high performance liquid chromatography of asiaticoside in *Centella asiatica*. *Phytochem. Anal.*, **10**(4), 191–193 (1999). Doi: [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1565\(199907/08\)10:4<191::aid-pca456>3.0.co;2-r](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1565(199907/08)10:4<191::aid-pca456>3.0.co;2-r)
75. F.M. Fuad & M.M. Nadzir. Ultrasound-assisted extraction of asiaticoside from *Centella asiatica* using betaine-based natural deep eutectic solvent. *Ind. Crops Prod.*, **192**, 116069 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.116069>
-

76. N.H. Loc & N.T.D. Nhat. Production of asiaticoside from centella (*Centella asiatica* L. Urban) cells in bioreactor. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **3**(10), 806–810 (2013). Doi: [https://doi.org/10.1016/s2221-1691\(13\)60159-8](https://doi.org/10.1016/s2221-1691(13)60159-8)
77. L. Salas-Campos, T. Pastor-Amoros, R. Martin-Campos, A. Martinez de la Chica, A. de Haro-Barríos. Usos terapéuticos de la *Centella asiatica*. El caso de blastoestimulina® / Therapeutic uses for Asian yellow-flowered crowfoot, genus *Ranunculus*: the case of Blastoestimulina. *Rev. Rol Enferm.*, **28**(1), 59–62 (2005). URL: <https://pesquisa.bvsalud.org/portal/resource/pt/ibc-039527>
78. O.A. Jorge & A.D. Jorge. Hepatotoxicity associated with the ingestion of *Centella asiatica*. *Rev. Esp. Enferm. Dig.*, **97**(2), 115–124 (2005). URL: <https://scielo.isciii.es/pdf/diges/v97n2/original5.pdf>
79. L. Cerda, V. Villanueva, A. Román & J. Contreras. Manejo de cicatrices patológicas excesivas en el Servicio de Rehabilitación. *Rev. Hosp. Clín. Univ. Chile*, **29**, 34–47 (2018). URL: <https://www.red-clinica.cl/Portals/0/Users/014/14/14/1379.pdf>
80. A.A. Estrada-González. *Utilización de Centella asiatica en el tratamiento de la cistitis intersticial*. Specialist thesis. Universidad Autónoma de Nuevo León, 2017; 71 p. URL: <http://eprints.uanl.mx/18078/>
81. D.S. Lacovara & R.A. Beleña. Ensayo clínico usando *Centella asiatica* intralesional en la escleroderma circunscrita. *Dermatología Venezolana*, **32**(2), 83–87 (1994). URL: <https://revista.svderma.org/index.php/ojs/article/view/670>
82. J. Gomes de Melo, J.D. Guilherme da Rocha-Martins, E.L. Cavalcanti de Amorim & U.P. de Albuquerque. Qualidade de produtos a base de plantas medicinais comercializados no Brasil: castanha-da-índia (*Aesculus hippocastanum* L.), capim-limão (*Cymbopogon citratus* (DC.) Stapf) e centela (*Centella asiatica* (L.) Urban). *Acta Bot. Bras.*, **21**(1), 27–36 (2007). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-33062007000100004>
83. R.A. Beleña & D.S. Lacovara. Ensayo experimental con *Centella asiatica* intralesional queloides y cicatrices hipertróficas. *Dermatología Venezolana*, **31**(1), 19–22 (1993). URL: <https://revista.svderma.org/index.php/ojs/article/viewFile/726/707>
84. P. Saiz de Cos & E. Pérez-Urria-Carril. Cúrcuma I (*Curcuma longa* L.). *Reduca* (Biología). Serie Botánica, **7**(2), 84–99 (2014). URL: <https://docta.ucm.es/rest/api/core/bitstreams/abdc6b15-a0a0-45f6-b53d-054735502289/content>
85. C.S. Carrillo-Gómez, L.D. Molina-Noyola & O. Torres-Bugarín. Ácido fólico: económico modulador de la estabilidad genómica, epigenética y el cáncer; deficiencias, fuentes, efectos adversos por exceso y recomendaciones gubernamentales. *El Residente*, **12**(3), 89–103 (2017). URL: <https://www.medigraphic.com/pdfs/residente/rr-2017/rr173c.pdf>
86. A.T. Eduviere, M.T. Enaohwo, P.E. Awhin, L.O. Otomewo & O. Iwalio. Gotu kola supplement ameliorates stress-induced liver injury in mice. *Trop. J. Nat. Prod. Res.*, **6**(6), 969–973 (2022). URL: <https://tjnpr.org/index.php/home/article/view/35>
87. F.E.F. Astutik, D.F. Zuhroh & M.R.L. Ramadhan. The effect of gotu kola (*Centella asiatica* L.) tea on blood pressure of hypertension. *Enferm. Clin.*, **31**, S195–S198 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2020.12.021>
88. M.S. Bandara, E.L. Lee & J.E. Thomas. Gotu kola (*Centella asiatica* L.): An under-utilized herb. *The Americas Journal of Plant Science and Biotechnology*, **5**(Spec. iss. 2), 20–31 (2011). URL: [https://globalsciencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2011/AmJPSB_5\(SI2\)/AmJPSB_5\(SI2\)20-31o.pdf](https://globalsciencebooks.info/Online/GSBOonline/images/2011/AmJPSB_5(SI2)/AmJPSB_5(SI2)20-31o.pdf)
89. D. Pal, A. Anil & M.K. Chanchal. *Centella asiatica* (Brahmi): A herbal medicine plant. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, **7**(7), 21–29 (2018). URL: <https://paper.research-bib.com/view/paper/300016>
90. B. Sini, A. Varghese, J. Biniya & J. Deepa. Phytochemical screening and *in vitro* anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Centella asiatica*. *World Journal of Current Medical and Pharmaceutical Research*, **2**(2), 181–183 (2020). URL: <https://wjcmpr.org/index.php/journal/article/view/109/89>
91. A.L. Maciel-Rodrigues, E.S. Costa-Ribeiro, S. de Araújo-Neves, F. Gomes-Figueredo, F.d.C Fernandes-Fernandes, T. Parente-Bezerra, *et al.* Avaliação do potencial antidepressivo e ansiolítico do látex de *Himatanthus drasticus* (Mart.) Plumel e fração isolada, através do teste de campo aberto. In: A.V. Peña (organizadora). *Fronteiras das ciências da saúde: tópicos atuais e perspectivas*, Volume I. Pantanal Editora, Mato Grosso, Brasil, 2023.

92. P. Hashim. *Centella asiatica* in food and beverage applications and its potential antioxidant and neuroprotective effect. *International Food Research Journal*, **18**(4), 1215–1222 (2011). URL: [http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20\(04\)%202011/\(1\)IFRJ-2011-013.pdf](http://www.ifrj.upm.edu.my/18%20(04)%202011/(1)IFRJ-2011-013.pdf)
93. H.J. Barrales-Cureño. Cultivo *in vitro* de raíces en matraces y biorreactores: alternativas biotecnológicas para la producción de fármacos. *Agro Productividad*, **11**(10), 3–9 (2018). Doi: <https://doi.org/10.32854/agrop.v11i10.1236>
94. Z. Mando, H. Mando, A. Afzan, K. Shaari, Z. Hassan, M.N.A.M. Taib, *et al.* Biomarker triterpenoids of *Centella asiatica* as potential antidepressant agents: Combining *in vivo* and *in silico* studies. *Behav. Brain Res.*, **466**, 114976 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbr.2024.114976>
95. A.G. Bertollo, M.E.D. Mingoti, J. de Medeiros, G.B. da Silva, G.T. Caponi, H. Lindemann, *et al.* Hydroalcoholic extract of *Centella asiatica* and madecassic acid reverse depressive-like behaviors, inflammation and oxidative stress in adult rats submitted to stress in early life. *Mol. Neurobiol.*, **61**, 10182–10197 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s12035-024-04198-1>
96. H. Sivak. *Boswellia serrata* y *Centella asiatica*: aprendé sobre estas plantas tan antiguas y poderosas. 2022. URL: <https://hannahsivak.com/blog/boswellia-serrata-y-centella-asiatica-aprende-sobre-estas-plantas-tan-antiguas-y-poderosas/>
97. N.C. Villena & A.J. Arroyo. Efecto antiinflamatorio del extracto hidroalcohólico de *Oenothera rosea* (Yawar Socco) en ratas con inducción a la inflamación aguda y crónica. *Ciencia e Investigación*, **15**(1), 15–19 (2012). URL: https://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/ciencia/v15_n1/pdf/a03v15n1.pdf
98. M.A. Boerisa & R.E. Toso. Comparación de la acción antiinflamatoria y analgésica del polvo de *Salpichroa organifolia* con AINEs utilizados en medicina veterinaria. *Rev. Soc. Quím. Perú*, **75**(3), 310–319 (2009). URL: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X20090003000006&script=sci_arttext&tlng=pt

HOW TO CITE THIS ARTICLE

C. Takahashi, H. Vélchez & J. Poemape. Beneficial effect of *Centella asiatica*: Synthesis of the last two decades. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **54**(3), 643–657 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.114481>

Popular Brazilian medicinal plants for therapeutic use in combat- ing Diabetes

André G. P. de Paula^{1*}, Jordana D. de Lima^{1*}, Camila Peitz³, Rafael U. Veiga¹, Rebeca Bosso dos Santos Luz^{1*}, Leonel W. Junior¹, Victor H. Q. Bordenowski⁴, Andressa K. da Fontoura¹, Amanda G. Somensi¹, Thalita S. Uada¹, Natália P. Fernandes¹, Juliana B.B. Maurer³ & Tarcio Teodoro Braga^{1,2**}

¹ Department of Pathology, Federal University of Parana, Brazil

² Graduate Program in Biosciences and Biotechnology, Institute Carlos Chagas, Fiocruz-Parana, Brazil

³ Department of Biochemistry and Molecular Biology, Federal University of Parana, Brazil.

⁴ University Tuiuti of Parana, Brazil

*These authors contributed equally

**Corresponding author E-mail: tarcio.braga@ufpr.br

Received: June 17, 2025

Corrected: July 5, 2025

Accepted: July 8, 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.120983>

SUMMARY

Introduction: Type 2 diabetes (T2D) is a chronic metabolic disorder characterized by persistent hyperglycemia. This condition is associated with a range of complications, including cardiovascular disease, nephropathy, and neuropathy, all of which arise due to the dysregulation of glucose and lipid metabolism. Plant-derived compounds have emerged as a promising source of novel therapeutic agents for the management of T2D. Their action dwells mainly in three key mechanisms: reduction of blood glucose levels, modulation of inflammation, and attenuation of lipid mobilization. Among the active constituents identified in various plant species, compounds such as terpenes, flavonoids, alkaloids, and phenolic acids have been recognized as important candidates for mitigating mechanisms that result in diabetic complications. However, many plant species, particularly those native to tropical regions such as Brazil, remain insufficiently studied, limiting the full exploration of their therapeutic potential. **Objectives:** This review highlights five Brazilian plant species that have demonstrated traditional use in the treatment of T2D: *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski Astereaceae, *Salvia officinalis* Linneaus Lamiaceae, *Myrcia sphaerocarpa* DC Myrtaceae, *Eugenia jambolana* Lam., Myrtaceae, and *Bauhinia forficata* Link Fabaceae, as well as the compounds that might be responsible for their beneficial effects. **Conclusion:** Traditional Brazilian medicinal plants have been shown to exhibit a hypoglycemic effect, as well as increased insulin sensitivity, in tested animal models. Its low cost makes it an interesting research topic for Diabetes treatment.

Keywords: Brazilian plants; diabetes; traditional medicine; alternative therapies.

RESUMEN

Plantas medicinales brasileñas populares para uso terapéutico en la diabetes

Introducción: La diabetes tipo 2 (DT2) es un trastorno metabólico crónico caracterizado por hiperglucemia persistente. Esta afección se asocia con diversas complicaciones, como enfermedades cardiovasculares, nefropatía y neuropatía, afecciones que surgen debido a la desregulación del metabolismo de

la glucosa y los lípidos. Se ha demostrado que los compuestos derivados de plantas constituyen una fuente prometedora de nuevos agentes terapéuticos para el tratamiento de la DT2. Estos compuestos actúan mediante tres mecanismos principales: reducción de la glucemia, modulación de la inflamación y atenuación de la movilización de lípidos. Los componentes caracterizados pertenecen a las clases de flavonoides, alcaloides y ácidos fenólicos, y son candidatos potenciales para el tratamiento de las complicaciones de la diabetes. Sin embargo, varias especies de plantas, en particular las nativas de regiones tropicales como Brasil, han sido poco estudiadas. **Objetivos:** Esta revisión destaca cinco especies de plantas brasileñas de uso tradicional en el tratamiento de la diabetes tipo 2: *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski Astereaceae, *Salvia officinalis* Linneaus Laminaceae, *Myrcia sphaerocarpa* DC Myrtaceae, *Eugenia jambolana* Lam., Myrtaceae y *Bauhinia forficata* Link Fabaceae, así como sus componentes que podrían ser responsables del beneficio terapéutico. **Conclusión:** Las plantas tradicionales brasileñas mostraron un efecto hipoglucemiante y un aumento de la sensibilidad a la insulina en modelos animales evaluados. Se requieren más estudios para explorar el potencial terapéutico de estas plantas, principalmente por su bajo costo.

Palavras chave: Plantas brasileñas; diabetes; medicina tradicional; terapias alternativas.

RESUMO

Plantas medicinais brasileiras populares, para o uso terapêutico na Diabetes

Diabetes tipo 2 (DT2) é um distúrbio metabólico crônico caracterizado por hiperglicemia persistente. Essa condição é associada com uma variedade de complicações, incluindo doenças cardiovasculares, nefropatia, e neuropatia, condições que surgem por conta da desregulação da glicose e do metabolismo lipídico. Compostos derivados de plantas têm sido uma fonte promissora de novos agentes terapêuticos para o tratamento da DT2. Estes compostos atuam em 3 mecanismos principais: redução da glicemia, modulação da inflamação e atenuação da mobilização lipídica. Os componentes caracterizados são pertencentes das classes de flavonoides, alcaloides e ácidos fenólicos, são potenciais candidatos para o tratamento das complicações da diabetes. No entanto, várias espécies de plantas, particularmente nativas de regiões tropicais como o Brasil, são pouco estudadas. **Objetivos:** Essa revisão destaca cinco espécies de plantas brasileiras que possuem uso tradicional no tratamento da DT2: *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski Astereaceae, *Salvia officinalis* Linneaus Laminaceae, *Myrcia sphaerocarpa* DC Myrtaceae, *Eugenia jambolana* Lam., Myrtaceae e *Bauhinia forficata* Link Fabaceae, assim como seus componentes que podem ser responsáveis pelo benefício terapêutico. **Conclusão:** Plantas tradicionais brasileiras mostraram um efeito hipoglicêmico e um aumento da sensibilidade da insulina, em modelos animais testados. Mais estudos são essenciais para explorar o potencial terapêutico destas plantas, principalmente por possuírem um baixo custo.

Palavras-chave: Plantas brasileiras; diabetes; medicina tradicional; terapias alternativas.

1. INTRODUCTION

Type 2 diabetes (T2D) is a condition characterized by an excess of glucose in the bloodstream, which can lead to various diseases. The incidence and prevalence of T2D have reached high levels, causing the disease to be categorized as an epidemic. In the current scenario, it is estimated that by 2045, around 629 million people will be diabetic [1]. Moreover, the life-threatening risk of T2D does not result directly from the condition itself but rather from the complications it triggers [2]. Among them, elevated glucose levels lead to endothelial dysfunction, contributing to cardiovascular and renal diseases. Also, insulin resistance exacerbates glucose uptake inefficiency, leading to hyperglucagonemia. Increased lipid mobilization, in turn, results in hypertriglyceridemia and inflammasome activation, which drive the production of IL-

1 β in the context of T2D [3]. A direct consequence is the synthesis of other pro-inflammatory mediators, increasing IL-6 and TNF- α , further amplifying inflammation.

At the molecular level, prolonged glucose exposure can lead to the formation of advanced glycation end products (AGEs), which are linked to tissue damage and chronic inflammation. Hyperglycemia also stimulates the production of reactive oxygen species (ROS), negatively affecting mitochondrial metabolism [4]. Additionally, the shift from glucose to lipid metabolism, common in advanced diabetes, increases blood concentrations of ketone bodies, byproducts of lipid breakdown, among many other affected pathways [5]. While genetic predisposition plays a significant role in the development of T2D [6], environmental factors can reduce this risk. Beyond the traditional strategies, such as limited carbohydrate intake and regular physical exercise, the use of plant compounds shows potential in modulating the metabolic and inflammatory responses associated with T2D [7].

Accordingly, many plants have been described as influencing different mechanisms of T2D [8], and represent high accessibility due to their low cost [9, 10]. However, Brazilian plants show off an immense diversity and still lack studies regarding their impact on T2D mitigation. In this sense, this review described the cellular and molecular mechanisms influenced by the five commonly used plant extracts for treating T2D in Brazil: *Sphagneticola trilobata*, *Salvia officinalis*, *Myrcia sphaerocarpa*, *Eugenia jambolana*, and *Bauhinia forficata* (Table 1), with a focus on the active compounds present in each extract.

2. BRAZILIAN MEDICINAL PLANTS USED IN COMBATING DIABETES

2.1. *Sphagneticola trilobata*

The species *Sphagneticola trilobata*, described by L. Pruski, of the Asteraceae family, is also known as *Wedelia brasiliensis* (Spreng.) S.F. Blake, or *Wedelia paludosa* DC., or even *Wedelia trilobata* A.St. -Hil, and is commonly found in various parts of the world, such as South America and Asia [11]. In Brazil, it is known as *arnica-do-brejo*, *arnica-do-mato*, *vedélia*, *mal-me-quer do brejo*, *margaridão* and *insulina* vegetal [12, 13]. The literature highlights several popular uses of *S. trilobata* due to its broad biological activity, including antioxidant, anti-inflammatory, antimicrobial, hypoglycemic, analgesic, and larvicidal activities. These biological activities are attributed to its abundance in secondary metabolites, which include phenolic compounds, flavonoids, saponins, terpenoids, diterpenes, triterpenes, sesquiterpenes, cycloterpenes, benzene derivatives, and phytosterols such as stigmasterol [14-16], mainly in the leaves [17].

Popularly, *S. trilobata* is used as a complementary treatment for diabetes, by drinking its leaves tea [18-23]. The most widely cited characteristic of *S. trilobata* in diabetes is its hypoglycemic potential [18, 23-25], although this plant can present a very long list of promising pharmacological effects, ranging from antiviral, antibacterial, and antiparasitic activity to antioxidant, anti-inflammatory, and even antitumor activity [16, 26]. It was observed that oral administration of the ethanolic extract of *Wedelia trilobata* flowers in diabetic rats for 8 weeks reduced blood glucose levels [24]. The aqueous extract from the dried and ground leaves of *S. trilobata* administered to rats with induced diabetes for 30 days also showed a reduction in blood glucose levels [27].

The first antidiabetic mechanism observed in the use of *S. trilobata* extracts is related to the inhibitory potential of the α -amylase and α -glucosidase enzymes. Inhibition of these enzymes results in impaired digestion of carbohydrates, which consequently reduces glucose absorption and lowers blood glucose levels [28-34]. Extracts produced from the solvents ethyl acetate,

methanol, and water obtained α -amylase inhibition rates of 52.29%, 88.38%, and 63.57%, respectively [35]. The concentration of 40 $\mu\text{g.mL}^{-1}$ of the extract produced from the whole plant in different solvents resulted in inhibition of 75% of the α -glucosidase enzyme [36]. Although it is not clear which compounds are responsible for the enzymatic inhibition in *S. trilobata*, the study on another plant, *Withania somnifera*, which shares the 3-hydroxycavicol 1-[rhamnosyl-(1 $\rightarrow$ 6)-glucoside], suggested that this compound is responsible for such inhibition [34]. Bioinformatic studies suggests that camelianin A, also present in the composition of *S. trilobata*, may interact directly with α -glucosidase, acting as a competitor for carbohydrate binding [37].

A second mechanism of action of *S. trilobata* extracts on glucose metabolism is the possibility of influencing insulin production or sensitivity. Unfortunately, most of the studies that have tested this herbal extract have induced diabetes through streptozotocin, a compound that selectively ablates pancreatic β -cells [24, 27]; while very few induce diabetes through a metabolic disorder, by using high glucose or high-fat diet, which will closely resemble type 2 diabetes [38]. Here, *S. trilobata* diminished glycemia by avoiding apoptosis of β -pancreatic cells by the action of a compound called 3,4-dicaffeoyl-1,5-quinolactone, tested in *Pluchea indica* extracts, shared with *S. trilobata* [39]. Still focusing on compounds that are present in *S. trilobata* but were tested in other plant extracts, the action of terpenes was described to decrease glycogenolysis by the liver and muscles, which was tested in herbal extracts from *Byrsonima crassifolia* [40]. Importantly, synergic effects should be considered for the investigation regarding the mechanism of action of these compounds, which still highlights the importance of testing if the previously cited mechanisms are also found when cells or animals are exposed to diabetic conditions together with *S. trilobata* extracts.

Another mechanism influenced by *S. trilobata* extracts is related to reduced damage caused by hyperglycemia, such as inflammatory and oxidative processes. A compound called (3 α)-3-(tiglinoyloxy)-ent-kaur-16-en-19-oic acid (WT-29) was described as able to modulate inflammation in LPS-stimulated macrophages by decreasing iNOS and COX-2 [41], and altering the Nrf2/Nf κ B balance [41, 42]. In addition to WT-29 decreasing cytokine production, probably the compound (+)-7-epi-Syringaresinol 4'-glucoside is contributing to this effect, being the decrease of TNF- α , IL-1 β , and IL-6 is reported in experiments testing another plant that shares this compound with *S. trilobata*, the *Mitragyna speciosa* [38]. Still, the presence of *S. trilobata* extract performed an anti-proteinase activity [43], which might indicate why this extract was related to wound healing [44] and indicate its role in diminishing glucotoxicity-induced tissue damage. In animal models, *S. trilobata* ethanolic extracts performed an antioxidant role [24], while other experiments report inhibition of catalase, delta aminolevulinic acid dehydratase, and isoforms of lactate dehydrogenase [27].

2.2. *Salvia officinalis*

Salvia officinalis is a plant from the Lamiaceae family, native to the Middle East and Mediterranean regions, now is distributed worldwide [45]. The main phytochemicals extracted from the plant are primarily obtained from its flowers, leaves, and stems, presenting a diverse composition of chemical compounds with pharmacological potential [46]. Numerous extraction techniques are employed, with essential oils, alcoholic and aqueous extracts, and infusions being the most prominent [47]. The essential oil extracted from the leaves contains a high concentration of bicyclic terpenes such as α -thujone, β -thujone, camphor, and α -pinene [48, 49]. This extract has demonstrated antibacterial, antioxidant, anti-inflammatory, and hypoglycemic properties [50, 51].

Alcoholic and aqueous extracts from the leaves have resulted in high concentrations of phenolic compounds and flavonoids, as well as the presence of anthraquinones, saponins, steroids, tannins, and resins. Together, these substances have exhibited antioxidant, antifungal, anti-inflammatory, hypoglycemic, and analgesic properties [52-55]. On the other hand, infusions have demonstrated concentrations of phenolic acids, flavonoids, terpenes, hydroxybenzoic acids, and hydroxycinnamic acids [56]. These extracts have shown an antioxidative profile, enhancing GST and γ -GCS in mice [57]. Moreover, infusions have been found to prevent increases in body weight while decreasing total cholesterol (TC), triglycerides (TG), and LDL cholesterol (LDL-C) in mice [58].

In *in vitro* models, the sequential crude extraction of the stems and leaves of *Salvia officinalis* was assessed for its activation of the PPAR γ pathway. It was demonstrated that different extracts, such as α -linolenic acid and 12-O-methyl carnosic acid, act as PPAR γ agonists, mainly favoring the release of adiponectin, which enhances insulin sensitivity (**Figure 1**) [59]. Furthermore, *in vitro* studies revealed that its leaves and stems extracts, obtained through decoction in a hydro-methanolic mixture, exhibited antidiabetic activity by inhibiting the enzymes α -amylase and α -glucosidase, which are responsible for carbohydrate digestion and monosaccharide hydrolysis, respectively [60].

Salvia officinalis is a plant recognized for its broad spectrum of chemical components, with antioxidant to antibacterial actions. Studies in mice have shown that oral administration of an aqueous extract of leaves increased the activity of oxidizing enzymes while reducing inflammatory mediators [61]. Additionally, its effects give the plant notable properties, especially its hypoglycemic effects in T2D individuals [62]. Several studies have shown that *Salvia officinalis* is a viable option for reducing glycemic indices in T2D models [63]. In a murine model of T2D associated with obesity, oral supplementation with an aqueous extract of leaves at two different doses (150 mg/kg and 300 mg/kg) resulted in an 8.18% and 19.16% reduction in glucose levels, respectively. In addition, insulin levels decreased by 30.88% and 49.26%, while adiponectin levels and antioxidant enzymes such as GSH and SOD increased. A reduction in inflammatory cytokines, including TNF- α , IL-6, and MCP-1, along with an increase in GLUT-4 expression, was also observed [64].

In humans, a randomized, double-blind, placebo-controlled, parallel-group study was conducted to evaluate the efficacy of *Salvia officinalis* in the treatment of T2D. The aqueous extract of leaves was concentrated, completely evaporated, and encapsulated at a dosage of 500 mg, while the placebo group received capsules containing toast powder [65]. Both groups were using metformin, glyburide, and atorvastatin in addition to the treatment with *Salvia officinalis* extract and placebo. A significant reduction in glycemic indices was observed in patients treated with the extract compared to placebo, including an 11% decrease in fasting glucose levels, a 23% decrease in postprandial glucose, and a 6.9% decrease in glycated hemoglobin [66, 67].

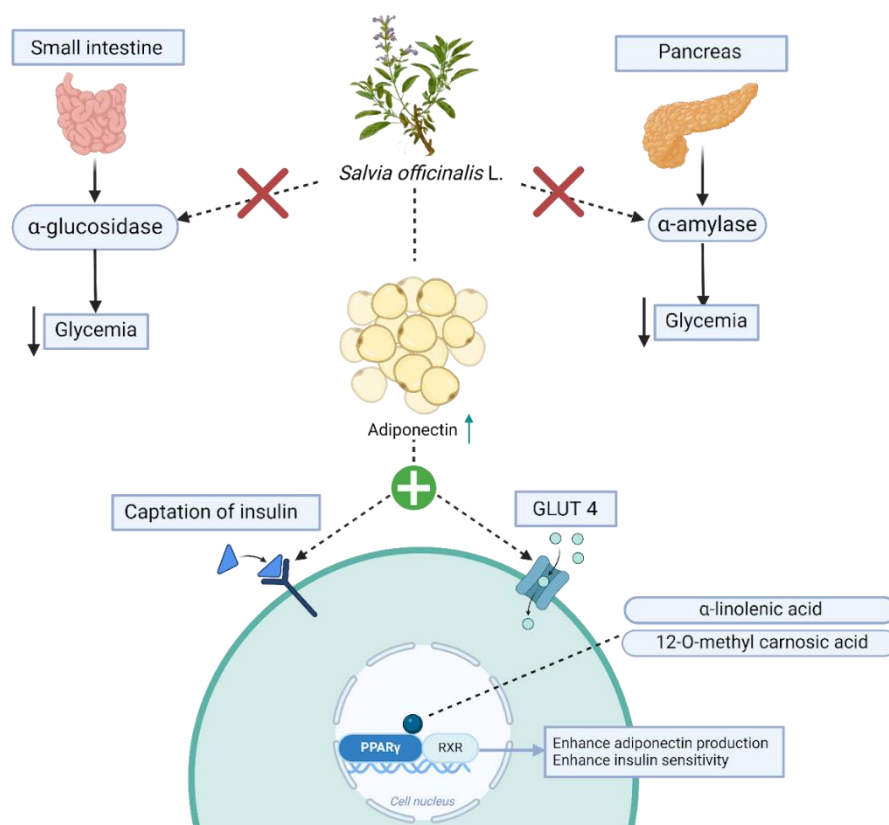


Figure 1. Hypoglycemic effects of *Salvia officinalis*. Inhibition of α -glucosidase and α -amylase leads to reduced glucose absorption, activation of PPAR γ , enhanced insulin sensitivity, and increased production of adiponectin, which promotes glucose regulation and fatty acid oxidation. These pathways contribute to improved glycemic control.

In conclusion, *Salvia officinalis* exhibits a diverse profile of molecules with a wide spectrum of biological activities, ranging from anti-inflammatory to hypoglycemic effects. Its various extracts have shown similar activities, warranting further research to describe their mechanisms and potential stabilization for future treatments.

2.3. *Myrcia sphaerocarpa*

Myrcia sphaerocarpa is a shrub widely used in the treatment of diabetes by indigenous tribes in the Amazon region of Brazil. *Myrcia sphaerocarpa*, scientifically also known as *Myrcia multiflora* or *Eugenia multiflora*, has the popular name of “pedra hume caá” and is a plant species rich in phytochemicals with therapeutic potential for T2D [68]. Among the phytochemicals present in *Myrcia sphaerocarpa* extracts are flavonoids, antioxidants capable of reducing the damage caused by reactive oxygen species during cell metabolism [69]. Leaves are the parts of the plant most used for medicinal purposes, and aqueous/methanolic extracts can be produced by maceration, sonication, filtration, and infusion methods [70]. The molecular composition of *Myrcia sphaerocarpa* leaf extracts can induce hypoglycemic and antioxidant effects. The compounds that stand out are flavanone myrciacitrins I-II, the flavonols myrciacitrins, mearnsitrin, quercetin, desmantin-1, guajaverin, and the acetophenone glycoside myrciaphenone.

The glycosides are molecules whose presence in the extract also may explain the medicinal function of this plant due to their ability to inhibit aldose reductase and α -glucosidase [71]. The α -glucosidase enzyme is a digestive enzyme and is present in the human intestine, acting in the degradation of carbohydrates [72], producing monosaccharides that can be absorbed by

the intestine, such as glucose, fructose, and galactose [73]. By inhibiting its activity, there is a reduction in glucose uptake and post-prandial hyperglycemia [74]. Therefore, the inhibition of these enzymes from the aqueous extracts of the plant may be the main factor responsible for the therapeutic potential of *Myrcia sphaerocarpa* [75], since it exhibited more inhibitory behavior than acarbose, an intestinal alpha-glucosidase inhibitor drug [70].

Oliveira and colleagues observed that after administering dried extracts of the leaves, mice showed a 74.7% reduction in glycemic levels when compared to animals without the treatment, in a streptozocin-induced diabetes model. Long-term administration of the extract showed that the antidiabetic function was preserved, and further analysis showed a synergistic nephroprotective and hepatoprotective effect [76]. In addition to hypoglycemic effects, compounds isolated from *M. sphaerocarpa*, such as phloroacetophenone (THA), may have hypolipidemic and anti-obesity effects by reducing triglyceride absorption and inhibiting pancreatic lipase [71]. THA has effects related to increased activity of cholesterol 7 α -hydroxylase, a fundamental enzyme in lipid regulation by converting cholesterol into bile acid [77]. Reductions in oxidative damage related to this compound were also observed, which was able to normalize the activity of antioxidant enzymes, such as catalase, glutathione peroxidase, and superoxide dismutase in mice with oxidative liver damage induced by carbon tetrachloride (CCl₄) [78].

2.4. *Eugenia jambolana*

The plant known as Jamun (*Eugenia jambolana*), belonging to the Myrtaceae family and native to India, has a rich and diverse constitution. This plant is constituted by minerals, carbohydrates, and phytochemicals with broad pharmacological properties, such as flavonoids, terpenes, and anthocyanins [79]. Its fruits, which can be round, oblong, or ellipsoidal, are highly nutritious and an excellent source of sodium, calcium, phosphorus, iron, and zinc, as well as water-soluble vitamins like vitamin C, thiamine, and niacin [80]. The Jamun plant, popularly known as jambul, is recognized for its numerous properties, including antioxidant, antibacterial, and antifungal potential, as well as contributing to the supplementation of vitamins and minerals [79]. In addition to these qualities, Jamun possesses significant immunomodulatory potential, exhibiting anti-inflammatory, gastroprotective, and hypoglycemic characteristics. These aspects highlight the medical and therapeutic potential of the plant in treating various pathologies that affect many individuals [81].

The traditional use of Jamun involves processing various parts of the plant. The hydroalcoholic, aqueous, or methanolic extract of the leaves is frequently utilized for its antibacterial properties [82]. Methanolic and ethyl acetate extracts from the seeds also exhibit antibacterial activity, while aqueous, ethanolic, and acetone extracts from the bark demonstrate immunomodulatory and antibacterial effects, as well as antifungal properties [83]. Additionally, the essential oil extracted from the leaves shows a direct impact on bacteria such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* [84].

The pharmacological effects of the plant are varied: studies show that the antioxidant potential of the pulp extract inhibited iron-induced lipid peroxidation (FeSO₄) in the brain, liver, and testes of rats [85]. In addition, *Eugenia jambolana* was reported as presenting an antioxidant, metal chelating, and cytoprotective activity through chromatographic analysis, metal chelation assays, allelopathy, and cytoprotection tests both in eukaryotic and prokaryotic models. Therefore, it could be used as a new strategy against toxic metal pollution [81].

Its anti-inflammatory pharmacological potential was evidenced by the compound kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside isolated from the leaves, which, at doses of 3, 10, and

30 mg.kg⁻¹, attenuated edema and reduced the levels of MPO, TNF- α , and IL-1 β in mice with carrageenan-induced edema [86]. This compound also demonstrated significant antinociceptive effects in mice, inhibiting acetic acid-induced writhing and paw licking behavior in the formalin test, without presenting analgesic activity in central pain models. Additionally, it reduced the levels of TNF- α and IL-1 β in cultures of RAW 264.7 cells stimulated with LPS, corroborating its potential as a valuable analgesic agent and supporting its use in traditional medicine for the treatment of inflammatory pain [87].

Some effects, not yet widely explored, have already been reported in the literature, i.e., Jamun extract improved diet-induced obesity, hepatic steatosis, and insulin resistance in HFD fed mice, in addition to modulating the intestinal microbiota to reduce the ratio of Firmicutes:Bacteroidetes and increase the relative abundance of beneficial genera, such as Alistipes, Prevotella, Bacteroides, Alloprevotella, and Clostridium XIVb [88]. The methanolic extract of *Eugenia jambolana* seeds demonstrated hepatoprotective effects in Wistar rats treated with carbon tetrachloride (CCl₄), significantly preventing the increase in serum levels of SGOT, SGPT, ALP, ACP and bilirubin, in addition to promoting liver regeneration in a dose-dependent process, a fact that reveals its potential as a therapeutic agent for liver protection and recovery against induced toxicity [89].

Eugenia jambolana directly impacts glycemic levels, especially in patients with T2D. Aqueous extracts of the plant, administered to severely diabetic rabbits, resulted in a 37.1% reduction in fasting blood glucose, demonstrating a significant effect in critical conditions [90]. Furthermore, the study indicated an increase in plasma insulin levels following the administration of the seed extract, which may be attributed to the conversion of proinsulin to insulin, presumably mediated by the functionality of pancreatic cathepsin B. The extract also demonstrated a reduction in ceruloplasmin levels in diabetic rats, promoting a decrease in circulating unbound Fe²⁺, resulting in reduced lipid peroxidation and attenuation of inflammatory damage and complications associated with T2D [91].

Additionally, the plant *Eugenia jambolana* exhibits important immunomodulatory properties, effectively providing therapeutic action against inflammatory and metabolic alterations. The use of the extract derived from its bark promotes a reduction in the secretion of inflammatory mediators, such as cytokines, prostaglandins, bradykinin, and others, aiding in a pro-resolutive immune response in adverse situations [92]. Therefore, *Eugenia jambolana* stands out not only for its antibacterial, antifungal, and antioxidant properties but also as a potential therapeutic agent in immune modulation, functioning as an analgesic and anti-inflammatory source (**Figure 2**). Further research is needed to fully elucidate the underlying mechanisms of these effects, establishing a solid foundation for future clinical applications.

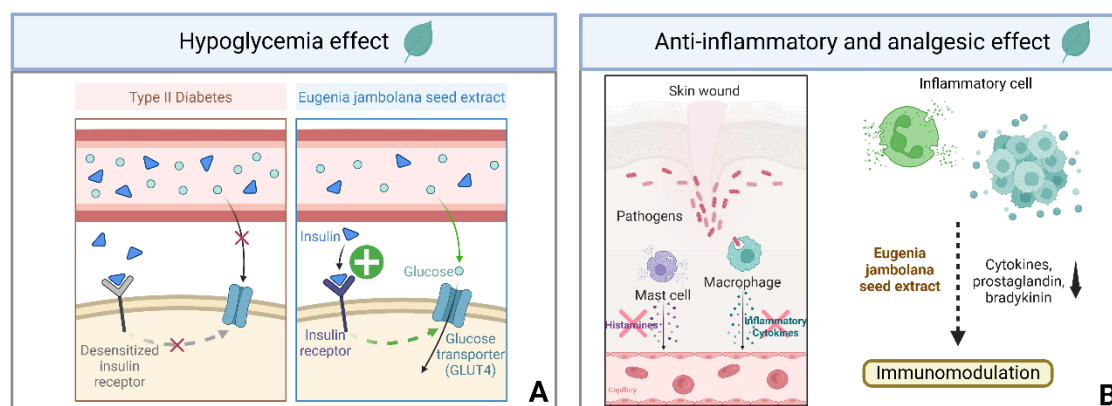


Figure 2. Pharmacological action of compounds present in *Eugenia jambolana* extract. *Eugenia jambolana* exhibits multiple therapeutic effects, as illustrated in the figure. A) The hypoglycemic effect of the plant is emphasized, leading to increased insulin secretion and improved glucose uptake, contributing to the regulation of blood glucose levels. B) The plant shows anti-inflammatory and analgesic action, reflected in the decrease of inflammatory cytokines and the reduction of inflammatory cell presence, supporting its potential as a therapeutic agent in inflammatory conditions. Source: Biorender.

2.5. *Bauhinia forficata*

Bauhinia forficata, popularly known as “cow’s foot” due to the shape of its leaves, composed of two leaflets joined at the base [93], is a plant of the Fabaceae subfamily, whose leaves are popularly used in Brazil and Mexico for T2D treatment [94-100].

The anti-diabetic effects of the leaf extract of *B. forficata* are associated with the presence of polyphenols and flavonoids, which would contribute to the antioxidant, anti-glycation, and enzymatic inhibition capabilities observed [98, 101, 102]. The main polyphenol compounds are kaempferol derivatives, such as kaempferol-3-O-arabinoiside, kaempferol-3-O-(2-rhamnosyl) rutinoside, kaempferol-3-O-rutinoside, astragalin, and specially kaempferitrin (kaempferol-3,7-O-(α)-dirhamnoside) [97, 98, 101, 102]. Myricetin and quercetin (like quercetin-3-O-(2-rhamnosyl) rutinoside and quercetin-3-O-rutinoside) derivatives are other anti-diabetes secondary metabolites found in high concentrations, where the last one results in enzymatic inhibition [96, 101-103]. In addition, it presents predominantly alkaloids, saponins, quinones, reducing sugars, and tannins, which can also contribute to the effects associated [97]. When separating the leaves fractions (dichloromethane, hexane, water, ethyl acetate, and n-butanol), the last two fractions (and water to some extent) have most of the phenolic, condensed tannins, and flavonoid composition, both with quercetin (like isorhamnetin-3-o-glucoside) and kaempferol derivatives. The two fractions have the best anti-diabetes activity [96]. Nevertheless, the contents of the leaf extracts can vary depending on the region. Extracts from two different regions in the south of Brazil had different flavonoid concentrations, including the kaempferitrin composition [94].

Studies involving *Bauhinia forficata* mainly use rodent models, such as rats and mice, to evaluate the therapeutic effects of the extracts. The streptozotocin (STZ)-induced diabetes model in rats is commonly used to test the hypoglycemic and antioxidant effects of the plant’s extracts [98, 104]. *Bauhinia forficata* extracts are usually administered orally in animal models, reflecting their traditional use as infusions or decoctions of the plants’ leaves [105]. Studies generally use standardized doses of the aqueous and hydroalcoholic extracts, administered daily for periods ranging from days to weeks [106].

In some cases, it is administered intraperitoneally, especially in studies that require a more direct and rapid action of the extract. The doses administered can vary, but the most common range is between 100 and 500 mg.kg⁻¹ of body weight, depending on the objective of the experiment [97, 107, 108]. Treatment with the extract results in a lower conversion rate of food intake into body weight in mice. This is associated with its predominantly polyphenol composition, which increases thermogenesis and fat oxidation. In addition, *Bauhinia forficata* leaves slowly down the development of T2D in mice. However, the extract is unable to reverse the low functional capacity of β -cells in these mice [98]. There are also promising results in patients with T2D. Ninety-two patients, aged between 18 and 75, were treated with *Bauhinia forficata* leaves capsules (2% flavonoids), using a placebo as a control. Those who received the capsules had lower plasma levels of fasting glucose, glycated hemoglobin, C-reactive protein, and IL-6. However, the plant used in this clinical trial did not contain kaempferitrin, due to the plant's regional origin [103].

The compounds present in *Bauhinia forficata* act differently to insulin and sulphonylurea drugs, which stimulate insulin secretion by pancreatic β -cells. This supports the hypothesis that this plant has substances with anti-insulin action, capable of increasing the effectiveness of residual insulin in diabetic patients [99]. The mechanism of action of the plant's extracts, widely used in the treatment of T2D, is closely linked to the inhibition of digestive enzymes, such as α -amylase, α -glucosidase, and lipase [96]. By inhibiting these enzymes, the plant's bioactive compounds, especially flavonoids such as quercetin, kaempferol, and isoquercetin, slow down the digestion of carbohydrates and lipids, limiting the absorption of glucose and fatty acids, which directly contributes to the control of postprandial hyperglycemia and hyperlipidemia [96, 100].

Bauhinia forficata has proven hypoglycemic activity in pharmacological studies, mainly due to the action of compounds such as kaempferitrin, rutin, and trigonelline. Kaempferitrin plays a central role in promoting glucose uptake in skeletal muscle by stimulating the translocation of the GLUT4 glucose transporter to the cell membrane [109]. This process is associated with the reactivation of the classic insulin transduction pathway, which not only facilitates GLUT4 translocation but also promotes the secretion of adiponectin, a protein hormone that suppresses the pathophysiological events associated with the development of T2D [105].

In addition, the activation of several insulin signaling pathways, including phosphoinositide 3-kinase (PI3K), protein kinase B (PKB), atypical protein kinase C (PKC) and the mitogen-activated protein kinase (p38 MAPK) pathway, plays a crucial role in regulating glucose uptake and glycogen synthesis in skeletal muscle and liver [109, 110]. Given the mechanism of action observed, *Bauhinia forficata* can be classified as a partial agonist of the insulin signaling pathway. Although it does not replace the action of endogenous insulin, kaempferitrin improves its function by stimulating the pathways related to glucose uptake and metabolism. This effect aids glycemic control in patients with T2D, especially those with insulin resistance, without directly competing with insulin at the receptors, but by optimizing the natural processes of glycolysis and gluconeogenesis [109].

Bauhinia forficata has also demonstrated immunomodulatory effects that play an important role in controlling T2D, one of the main mechanisms being its ability to reduce systemic inflammation, a common characteristic of diabetic patients, often associated with insulin resistance [105]. The bioactive compounds in *Bauhinia forficata*, such as flavonoids, can reduce the production of pro-inflammatory cytokines, such as TNF- α and IL-1, which are known to promote inflammation, contributing to insulin resistance and the deterioration of pancreatic β cells [111].

The plant's anti-inflammatory potential extends to the modulation of cellular components of the immune system, such as the proliferation of T lymphocytes and the activity of enzymes involved in the arachidonic acid pathway, such as phospholipase A2, cyclooxygenase, and lipoxygenase, favoring glycemic control and combating the chronic inflammation associated with the disease [111]. Therefore, the modulation of these inflammatory mediators suggests that the plant can improve insulin sensitivity and promote more effective glycemic control, preventing the worsening of chronic inflammation associated with T2D [112]. In addition, its antioxidant compounds, such as quercetin, neutralize ROS generated by chronic hyperglycemia, protecting pancreatic β -cells, which are essential for insulin production, and reducing oxidative stress, a key factor in cell dysfunction and the development of complications such as neuropathies and cardiovascular diseases [99].

Table 1. Mechanism of action of the molecules present in medicinal plant extracts.

Plant	Chemical compound	Part obtained	Extract	Model	Route of administration	Mechanism of action	Reference
<i>Sphagnetocola trilobata</i>	9 β -hydroxy-ent-kaur-16-en-19-oic acid, Pterokaurene L3 and 3 α -tigloyloxy-9 β -hydroxy-ent-kaur-16-en-19-oic acid	whole plant	high polarity solvents	<i>In vitro</i> test	addition to the reaction	α -glucosidase inhibitory activity	[113]
	Wedtriloside A, Wedtriloside B, and 3,4-dihydroxy-cinnamic acid	dry leaves	methanol	<i>In vitro</i> test	addition to the reaction	α -amylase inhibitory activity	[33]
	camelianin A	-	-	<i>In silico</i> test	bioinformatic studies	α -glucosidase receptor agonist in carbohydrates	[37]
<i>Salvia officinalis</i> L.	phenolic acids, flavonoids, terpenes, hydroxybenzoic acids, and hydroxycinnamic acids	leaves	aqueous	mice	oral administration	Prevent increases in body weight while decreasing total cholesterol, triglycerides, and LDL cholesterol	[52, 56, 58]

<i>Eugenia jambolana</i> Lam.	<i>Myrcia sphaerocarpa</i>				
kaempferol-7-O- α -L-rhamnopyranoside	Flavanone myricitrins I-II, the flavonols myricitrins, quercetin, desmantine, guaijaverin and the acetone	-	-	-	α -linolenic acid and 12-O-methyl carnolic acid
leaves	leaves	leaves	leaves	Stem and leaves	stem and leaves
-	aqueous/methanol	aqueous	aqueous	methanol	aqueous
mice	-	human	murine	<i>In vitro</i> test	<i>In vitro</i> test
-	-	oral administration	oral administration	addition to the reaction	addition to the reaction
Attenuated edema and reduced the levels of MPO, TNF- α and IL-1 β	Inhibit aldose reductase and α -glucosidase	Reduction in glycemic indices, decrease in fasting glucose levels, decrease in postprandial glucose and decrease in glycosylated hemoglobin	Reduction in glucose levels, insulin levels decreased adiponectin levels and antioxidant enzymes such as GSH and SOD increased. A reduction in inflammatory cytokines, including TNF- α , IL-6, and MCP-1, along with an increase in GLUT-4 expression	Inhibiting the enzymes α -amylase and α -glucosidase, which are responsible for carbohydrate digestion and monosaccharide hydrolysis, respectively	Act as PPAR γ agonists, mainly favoring the release of adiponectin, which enhances insulin sensitivity
[86]	[71]	[65-67]	[64]	[60]	[59]

<i>Bauhinia forficata</i> Link	quercetin	-	-	-	-	Neutralize ROS generated by chronic hyperglycemia, protecting pancreatic β -cells	[99]
	kaempferitin, rutin and trigonelline	-	-	-	-	Promoting glucose uptake in skeletal muscle by stimulating the translocation of the GLUT4 glucose transporter to the cell membrane	[105, 109]
	flavonoids	leaves	aqueous	human	oral administration	Lower plasma levels of fasting glucose, glycated hemoglobin, C-reactive protein and IL-6	[103]
	-	seed	aqueous	rabbit, rat	-	Reduction in fasting blood glucose, increase in plasma insulin levels and reduction in ceruloplasmin levels	[90, 91]

All the plants covered in the study, defining the main molecules observed in the works cited, and their actions against T2D.

3. CONCLUSION

Medicinal plants stand out as alternative forms of therapy for T2D due to their accessibility and are options for regions where access to conventional medicine is precarious. Extracts obtained from plants have bioactive properties with promising potential for metabolic regulation, inflammatory and antioxidant modulation. Extracts of *Sphagneticola trilobata*, *Salvia officinalis*, *Myrcia sphaerocarpa*, *Eugenia jambolana*, and *Bauhinia forficata* have been shown to have a hypoglycemic effect in various animal models, an effect resulting from the inhibition of digestive enzymes or increased insulin sensitivity. Further studies into the effects of medicinal plant extracts on humans are necessary in order to demonstrate their efficacy and safety in therapeutic use.

The accessibility and low cost of these plants are advantages for the development of new phytotherapeutic drugs, increasing access to patients in need of public health, as well as valuing traditional knowledge. Despite the advances in the knowledge about these plants, the development of new drugs requires robust clinical studies to guarantee the efficacy and safety of medicinal plants. The present review sheds light on the field of plants that can be used in the T2D treatment. A better understanding of the plant-derived compounds could, therefore, be applied for diabetic treatment.

STATEMENT DECLARATIONS

Competing interest: The authors declare that there is no conflict of interest.

Data availability: Data availability not applicable to the manuscript.

Founding statement: No foundings were received for this manuscript.

Ethics statement: Not applicable to the manuscript.

Dual publication: This manuscript is not published or under consideration elsewhere.

Authorship: All authors read the journal policies and are in accordance with it.

REFERENCES

1. M. Laakso. Biomarkers for Type 2 Diabetes. *Mol. Metab.*, **27**, S139–S146 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molmet.2019.06.016>
2. G.M. Samgir, G.A. Gaikwad & P. Yewale. Costus Ignus: Insulin plant and it's preparations as remedial approach for diabetes mellitus. *Int. J. Pharm. Sci.*, **2**(7), 976–983 (2024). URL: <https://www.ijpsjournal.com/assetsbackoffice/uploads/article/Costus+Ignus+Insulin+Plant+And+Its+Preparations+As+Remedial+Approach+For+Diabetes+Mellitus.pdf>
3. X. Chen, D. Zhang, Y. Li, W. Wang, W. Bei & J. Guo. NLRP3 inflammasome and IL-1 β pathway in type 2 diabetes and atherosclerosis: Friend or foe? *Pharmacol. Res.*, **173**, 105885 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.phrs.2021.105885>
4. A. Singh, R. Kukreti, L. Saso & S. Kukreti. Pathways and type 2 diabetes. *Molecules*, **27**(3), 950 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27030950>
5. X. Lu, Q. Xie, X. Pan, R. Zhang, X. Zhang, G. Peng, Y. Zhang, S. Shen & N. Tong. Type 2 diabetes mellitus in adults: Pathogenesis, prevention and therapy. *Signal Transduct. Target. Ther.*, **9**(1), 262 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41392-024-01951-9>
6. J.B. Meigs. The genetic epidemiology of type 2 diabetes: Opportunities for health translation. *Curr. Diab. Rep.*, **19**(8), 62 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11892-019-1173-y>
7. Brasil. Ministério da Saúde. *Cadernos de Atenção Básica - Práticas Integrativas e Complementares: Plantas Medicinais e Fitoterapia Na Atenção Básica*. Brasília (DF), 2012; 154 p. URL: <https://www.gov.br/saude/pt-br/composicao/saps/pics/publicacoes/cab-pics/view>
8. J. Lee, S. Noh, S. Lim & B. Kim. Plant extracts for type 2 diabetes: From traditional medicine to modern drug discovery. *Antioxidants*, **10**(1), 81 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/antiox10010081>
9. C.M. Carvalho-Lopes, S.M.R.R. Lima, E.C. de Arruda-Veiga, J.M. Soares-Jr & E.C. Baracat. Phytotherapeutic medicines: Reality or myth? *Rev. Assoc. Med. Bras.*, **65**(3), 292–294 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1590/1806-9282.65.3.292>
10. C.C. Falzon & A. Balabanova. Phytotherapy: An introduction to herbal medicine. *Prim. Care: Clin. Off. Pract.*, **44**(2), 217–227 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pop.2017.02.001>
11. V.P. Lawane, R. Dipti & P.H. Chaudhary. A comprehensive review on *Sphagneticola trilobata*. *International Journal of Pharmaceutical Research and Applications*, **9**(2), 1378–1389 (2024). URL: https://www.researchgate.net/publication/379993013_A_Comprehensive_Review_on_Sphagneticola_Trilobata
12. K. Lang, J. Corrêa, F. Wolff, G.F. da Silva, A. Malheiros, V.C. Filho, *et al.* Biomonitoring UHPLC-ESI-QTOF-MS² and HPLC-UV thermostability study of the aerial parts of *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski, Asteraceae. *Talanta*, **167**, 302–309 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.02.024>

13. C.A. Araújo, C.S.A. Morgado, A.K.C. Gomes, A.C.C. Gomes & N.K. Simas. Asteraceae family: A review of its allelopathic potential and the case of *Acmella oleracea* and *Sphagneticola trilobata*. *Rodriguésia*, **72**, e01622020 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1590/2175-7860202172137>
14. N. Balekar, T. Nakpheng & T. Srichana. *Wedelia trilobata* L.: A phytochemical and pharmacological review. *Chiang Mai J. Sci.*, **41**(3), 590–605 (2014). URL: <https://www.thaiscience.info/journals/Article/CMJS/10932829.pdf>
15. A.G.B. Leite, E.T.N. Farias, A.P. de Oliveira, R.E.F. de Abreu, M.M. da Costa, J.R.G. Almeida, *et al.* Phytochemical screening and antimicrobial activity testing of crude hydroalcoholic extract from leaves of *Sphagneticola trilobata* (Asteraceae). *Cienc. Rural* (Santa Maria), **49**(4), e20180639 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20180639>
16. M.T. Ali, D.A. Al-Mahdy, A.M.E. Fishawy & A.M. Otify. *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski: An updated exploration of its traditional applications, taxonomy, phytochemical profile and pharmacological properties. *South African J. Bot.*, **174**, 183–207 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2024.08.060>
17. S. Labhade, S. Jain, S. Chitlange & S. Sharma. LC/MS characterization of secondary metabolites of *Sphagneticola trilobata* J. F Pruski leaves. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*, **14**(3), 1278–1283 (2023). Doi: <https://doi.org/10.47750/pnr.2023.14.03.171>
18. A. Balkrishna, R. Shankar, V. Arya, L. Mohammad, A. Kumar, H. Sharma, *et al.* Medicinal plants from Gangetic plains of West Bengal and Yoga for the management of lifestyle diseases. *Plants J.*, **12**(2), 11–18 (2024). Doi: <https://doi.org/10.22271/plants.2024.v12.i2a.1648>
19. A. Ghosh, S. Das, K. Jana, B. Debnath, J. Das & S. Mondal. The power of nature in managing diabetes: A database of ethno indigenous plants in India. *J. Nat. Remedies*, **24**(3), 475–521 (2024). Doi: <https://doi.org/10.18311/jnr/2024/33431>
20. M. Trojan-Rodrigues, T.L.S. Alves, G.L.G. Soares & M.R. Ritter. Plants used as antidiabetics in popular medicine in Rio Grande Do Sul, southern Brazil. *J. Ethnopharmacol.*, **139**(1), 155–163 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.10.034>
21. A.P. Schmitz, P. Weimer, A.M. Weschenfelder, A.W. Hansen, R.W. Maluf, R.C. Rossi, *et al.* *In vitro* cytotoxic and genotoxic effects of *Cissus verticillata* and *Sphagneticola trilobata* used for treatment of diabetes mellitus in Brazilian folk medicine. *Acta Scientiarum - Biol. Sci.*, **43**, e56549 (2021). Doi: <https://doi.org/10.4025/actascibiolsci.v43i1.56549>
22. A.M. Feijó, M.E.N. Bueno, T. Ceolin, C.L. Linck, E. Schwartz, C. Lange, *et al.* Plantas medicinais utilizadas por idosos com diagnóstico de diabetes mellitus no tratamento dos sintomas da doença. *Rev. Bras. Plantas Med.*, **14**(1), 50–56 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1590/S1516-05722012000100008>
23. M.A.M. Lemões, M. Jacondino, T. Ceolin, R.M. Heck, R.L. Brabieri & R.A. Machado. The use of the plant *Sphagneticola trilobata* farmers affected by diabetes mellitus. *Rev. Pesq.: Cuid. Fundam. Online*, **6**(2), 776–784 (2012). URL: https://seer.unirio.br/cuidadofundamental/article/view/1592/pdf_485
24. N. Buddhakala & C. Talubmook. Toxicity and antidiabetic activity of ethanolic extract of *Sphagneticola trilobata* (L.) Pruski flower in rats. *J. Ethnopharmacol.*, **262**, 113128 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113128>
25. M.R. Faisal, N.W.O. Amanda, D.A. Mursidah, D. Mahdiah & B.H. Mukti. Antidiabetic potential screening of ulin fruit extract (*Eusideroxylon Zwageri*) against streptozotocin-induced diabetic rats. *Indones. J. Pharm. Sci. Technol.*, **1**(1), 1–8 (2022). Doi: <https://doi.org/10.24198/ijpst.v1i1.36621>
26. N. Villa-Ruano, E. Lozoya-Gloria & Y. Pacheco-Hernández. Kaurenoic acid: A diterpene with a wide range of biological activities. *Stud. Nat. Prod. Chem.*, **51**, 151–174 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-63932-5.00003-6>
27. I.J. Kade, N.B.V. Barbosa, E.O. Ibukun, A.P. Igbakin, C.W. Nogueira & J.B.T. Rocha. Aqueous extracts of *Sphagneticola trilobata* attenuates streptozotocin-induced hyperglycaemia in rat models by modulating oxidative stress parameters. *Biol. Med.*, **2**(3), 1–13 (2010). URL: https://www.researchgate.net/publication/286266434_Aqueous_extracts_of_Sphagneticola_trilobata_attenuates_streptozotocin-induced_hyperglycaemia_in_rat_models_by_modulating_oxidative_stress_parameters

28. L. Gong, D. Feng, T. Wang, Y. Ren, Y. Liu & J. Wang. Inhibitors of α -amylase and α -glucosidase: Potential linkage for whole cereal foods on prevention of hyperglycemia. *Food Sci. Nutr.*, **8**(12), 6320–6337 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1002/fsn3.1987>
29. H. Kashtoh & K.-H. Baek. New insights into the latest advancement in α -amylase. *Plants*, **12**(16), 2944 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/plants12162944>
30. N. Kaur, V. Kumar, S.K. Nayak, P. Wadhwa, P. Kaur & S.K. Sahu. Alpha-amylase as molecular target for treatment of diabetes mellitus: A comprehensive review. *Chem. Biol. Drug Des.*, **98**(4), 539–560 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1111/cbdd.13909>
31. T.-P. Lam, N.-V.N. Tran, L.-H.D. Pham, N.V.-T. Lai, B.-T.N. Dang, N.-L.N. Truong, *et al.* Flavonoids as dual-target inhibitors against α -glucosidase and α -amylase: A systematic review of *in vitro* studies. *Nat. Products Bioprospect.*, **14**(1), 4 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s13659-023-00424-w>
32. R. Tundis, M.R. Loizzo & F. Menichini. Natural products as α -amylase and α -glucosidase inhibitors and their hypoglycaemic potential in the treatment of diabetes: An update. *Mini-Rev. Med. Chem.*, **10**(4), 315–331 (2010). Doi: <https://doi.org/10.2174/138955710791331007>
33. N.T. Luyen, P.T. Binh, P.T. Tham, T.M. Hung, N.H. Dang, N.T. Dat & N.P. Thao. Wedtrilosides A and B, two new diterpenoid glycosides from the leaves of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. with α -amylase and α -glucosidase inhibitory activities. *Bioorg. Chem.*, **85**, 319–324 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2019.01.010>
34. A.S. Ponath, D.R. Volz, E.S. Suyenaga, A.L. Ziulkoski & M.S. Perassolo. Assessment of potential *in vitro* toxicity of *Cissus sicyoides* L. and *Wedelia paludosa* DC. leaves water extracts. *Toxicol. Res. (Camb)*, **11**(5), 881–890 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1093/toxres/tfac066>
35. S. Kurapati, R.K. Pallapatti, S. Kanikaram & H.B. Bollikolla. A quantitative estimation of phytochemicals, anti-diabetic and anti-oxidant activities of crude extracts of *Sphagneticola trilobata* (L.) and *Adathoda vasica* Linn., *Journal of Natural Products and Resources*, **4**(1), 155–159 (2018). Doi: <https://doi.org/10.30799/jnpr.054.18040101>
36. J. Chethan, P.M. Pradeep-Kumar & H.S. Prakash. Antidiabetic and antihypertensive potential of selected *Asteraceae* plant species. *Am. J. Adv. Drug Deliv.*, **2–3**, 355–363 (2014). URL: <https://www.primescholars.com/articles/antidiabetic-and-antihypertensive-potential-of-selected-asteraceae-plant-species.pdf>
37. J. Jia, L. Bai, Y. Chen & B. Liu. Inhibitory mechanism of Camellianin A against α -glucosidase: *In vitro* and molecular simulation studies. *Foods*, **13**(17), 2835 (2024). Doi: <https://doi.org/10.3390/foods13172835>
38. L. Chen, S. Fei & O.J. Olatunji. LC/ESI/TOF-MS characterization, anxiolytic and antidepressant-like effects of *Mitragyna speciosa* Korth extract in diabetic rats. *Molecules*, **27**(7), 2208 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27072208>
39. J. Nopparat, A. Nualla-Ong & A. Phongdara. Ethanolic extracts of *Pluchea indica* (L.) leaf pretreatment attenuates cytokine-induced β -cell apoptosis in multiple low-dose streptozotocin-induced diabetic mice. *PLoS One*, **14**(2), e0212133 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212133>
40. R.M. Pérez-Gutiérrez & A. Muñoz-Ramírez. Hypoglycemic effects of sesquiterpene lactones from *Byrsonima crassifolia*. *Food Sci. Biotechnol.*, **25**(4), 1135–1145 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10068-016-0182-8>
41. J. Xu, Z. Wang, L. Sun, Y. Wang, Y. Wang & X. He. (3 α)-3-(Tiglinoyloxy)-ent-kaur-16-en-19-oic acid, isolated from *Wedelia trilobata* L., exerts an anti-inflammatory effect via the modulation of NF-KB, MAPK and MTOR pathway and autophagy in LPS-stimulated macrophages. *Toxicology in vitro*, **73**, 105139 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2021.105139>
42. R. Wang, J. Zeng, L. Chen, L. Sun, Y. Wang, J. Xu & X. He. Diterpenoid WT-29 isolated from *Wedelia* exerted anti-inflammatory and anti-allergic activities. *J. Ethnopharmacol.*, **319**(Part 2), 117265 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117265>
43. M. Govindappa, S. Naga-Sravva, M.N. Poojashri, T.S. Sadananda, C.P. Chandrappa, G. Santoyo, *et al.* Antimicrobial, antioxidant and in vitro anti-inflammatory activity and phytochemical screening of water extract of *Wedelia trilobata* (L.) Hitchc. *J. Med. Plant Res.*, **5**(24), 5718–5729 (2011). URL: https://academicjournals.org/article/article1381318404_Govindappa%20et%20al.pdf

44. A. Shedoeva, D. Leavesley, Z. Upton & C. Fan. Wound healing and the use of medicinal plants. *Evidence-based Complement. Altern. Med.*, **2019**, 684108 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1155/2019/2684108>
45. M. Jug-Dujaković, M. Ristić, D. Pljevljakušić, Z. Dajić-Stevanović, Z. Liber, K. Hančević, *et al.* High diversity of indigenous populations of Dalmatian sage (*Salvia officinalis* L.) in essential-oil composition. *Chem. Biodivers.*, **9**(10), 2309–2323 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1002/cbdv.201200131>
46. M. Mohammadhosseini. Chemical composition of the volatile fractions from flowers, leaves and stems of *Salvia mirzayanii* by HS-SPME-GC-MS. *J. Essent. Oil-Bearing Plants*, **18**(2), 464–476 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.1001185>
47. A. Ghorbani & M. Esmaeilzadeh. Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J. Tradit. Complement. Med.*, **7**(4), 433–440 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2016.12.014>
48. A. Porte, R.L.O. Godoy & L.H. Maia-Porte. Chemical composition of Sage (*Salvia officinalis* L.) essential oil from the Rio de Janeiro State (Brazil). *Rev. Bras. Pl. Med. (Campinas)*, **15**(3), 438–441 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1590/s1516-05722013000300018>
49. Z. Jažo, M. Glumac, V. Paštar, S. Bektić, M. Radan & I. Carev. Chemical composition and biological activity of *Salvia officinalis* L. essential oil. *Plants*, **12**(9), 1794 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/plants12091794>
50. S. Maache, L. Zbadi, A. El-Ghouizi, N. Soulo, H. Saghrouchni, F. Siddique, *et al.* Antioxidant and antimicrobial effects of essential oils from two salvia species with *in vitro* and *in silico* analysis targeting 1A1J6 and 1R4U proteins. *Sci. Rep.*, **13**(1), 14038 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-41178-2>
51. G. Zhumaliyeva, A. Zhussupova, G.E. Zhussupova, E. Błońska-Sikora, A. Cerreto, N. Omirbekova, *et al.* Natural compounds of *Salvia* L. genus and molecular mechanism of their biological activity. *Biomedicines*, **11**(12), 3151 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11123151>
52. C.F. Lima, P.C.R. Valentao, P.B. Andrade, R.M. Seabra, M. Fernandes-Ferreira & C. Pereira-Wilson. Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from T-BHP induced oxidative damage. *Chem.-Biol. Interact.*, **167**(2), 107–115 (2007). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2007.01.020>
53. M.S. Abu-Darwish, C. Cabral, I.V. Ferreira, M.J. Gonçalves, C. Cavaleiro, M.T. Cruz, T.H. Al-Bdour & L. Salgueiro. Essential oil of common sage (*Salvia officinalis* L.) from Jordan: Assessment of safety in mammalian cells and its antifungal and anti-inflammatory potential. *BioMed Res. Int.*, **2013**, 538940 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1155/2013/538940>
54. R. Kadhim, N.H. Ali & D. Aziz-Ibrahim. Enzymatic effectiveness of alcoholic and aqueous extract of *Salvia officinalis* in mice poisoned with tetrachloride. *Arch. Razi Inst.*, **76**(6), 1777–1786 (2021). Doi: <https://doi.org/10.22092/ARI.2021.356239.1812>
55. A.N.A. Abad, M.H.K. Nouri & F. Tavakkoli. Effect of *Salvia officinalis* hydroalcoholic extract on vincristine-induced neuropathy in mice. *Chin. J. Nat. Med.*, **9**(5), 354–358 (2011). Doi: <https://doi.org/10.3724/SP.J.1009.2011.00354>
56. B.F. Zimmermann, S.G. Walch, L.N. Tinzoh, W. Stühlinger & D.W. Lachenmeier. Rapid UHPLC determination of polyphenols in aqueous infusions of *Salvia officinalis* L. (Sage tea). *J. Chromatogr. B: Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, **879**(24), 2459–2464 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.06.038>
57. C.F. Lima, P.B. Andrade, R.M. Seabra, M. Fernandes-Ferreira & C. Pereira-Wilson. The drinking of a *Salvia officinalis* infusion improves liver antioxidant status in mice and rats. *J. Ethnopharmacol.*, **97**(2), 383–389 (2005). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2004.11.029>
58. D. Hernández-Saavedra, I.F. Pérez-Ramírez, M. Ramos-Gómez, S. Mendoza-Díaz, G. Loarca-Piña & R. Reynoso-Camacho. Phytochemical characterization and effect of *Calendula officinalis*, *Hypericum perforatum*, and *Salvia officinalis* infusions on obesity-associated cardiovascular risk. *Med. Chem. Res.*, **25**(1), 163–172 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1007/s00044-015-1454-1>

59. K.B. Christensen, M. Jørgensen, D. Kotowska, R.K. Petersen, K. Kristiansen & L.P. Christensen. Activation of the nuclear receptor PPAR γ by metabolites isolated from sage (*Salvia officinalis* L.). *J. Ethnopharmacol.*, **132**(1), 127–133 (2010). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.07.054>
60. S. Mahdi, R. Azzi & F.B. Lahfa. Evaluation of *in vitro* α -amylase and α -glucosidase inhibitory potential and hemolytic effect of phenolic enriched fractions of the aerial part of *Salvia officinalis* L. *Diabetes Metab. Syndr. Clin. Res. Rev.*, **14**(4), 689–694 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.05.002>
61. U.K. Kolac, M.C. Ustuner, N. Tekin, D. Ustuner, E. Colak & E. Entok. The anti-inflammatory and antioxidant effects of *Salvia officinalis* on lipopolysaccharide-induced inflammation in rats. *J. Med. Food*, **20**(12), 1193–1200 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1089/jmf.2017.0035>
62. S. Behradmanesh, F. Derees & M. Rafieian-Kopaei. Effect of *Salvia officinalis* on diabetic patients. *J. Renal Inj. Prev.*, **2**(2), 51–54 (2013). Doi: <https://doi.org/10.12861/jrip.2013.18>
63. A.A. Rashed & D.-N.G. Rath. Bioactive components of *Salvia* and their potential antidiabetic properties: A review. *Molecules*, **26**(10), 3042 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26103042>
64. D.A. Alsharif, M.A. Hussein & S.S. Abuelkasem. *Salvia officinalis* improves glycemia and suppresses pro-inflammatory features in obese rats with metabolic syndrome. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **25**(5), 390–399 (2023). Doi: <https://doi.org/10.2174/1389201024666230811104740>
65. S. Kianbakht & F.H. Dabaghian. Improved glycemic control and lipid profile in hyperlipidemic type 2 diabetic patients consuming *Salvia officinalis* L. leaf extract: a randomized placebo. Controlled clinical trial. *Complement. Therap. Med.*, **21**(5), 441–446 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2013.07.004>
66. S. Kianbakht, F. Nabati & B. Abasi. *Salvia officinalis* (Sage) leaf extract as add-on to statin therapy in hypercholesterolemic type 2 diabetic patients: A randomized clinical trial. *Int. J. Mol. Cell. Med.*, **5**(3), 141–148 (2016). URL: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC5125366/>
67. C. Liu, W. Wang & J. Gu. Targeting ferroptosis: New perspectives of Chinese herbal medicine in the treatment of diabetes and its complications. *Heliyon*, **9**(12), e22250 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e22250>
68. C. Ulbricht. Focus: Diabetes. *J. Diet. Suppl.*, **8**(3), 239–256 (2011). Doi: <https://doi.org/10.3109/19390211.2011.597975>
69. M. Machado-Pereira & G.D. Piovezana-Bossolani. O uso de flavonoides no tratamento do diabetes mellitus tipo 2. *RevisAJES: Revista Saúde Viva Multidisciplinar da AJES*, **3**(4), jul/dez (2020). URL: <https://revista.ajes.edu.br/revistas-noroeste/index.php/revisajes/article/view/25>
70. M. Figueiredo-González, C. Grosso, P. Valentão & P.B. Andrade. α -Glucosidase and α -amylase inhibitors from *Myrcia* Spp.: A stronger alternative to acarbose? *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **118**, 322–327 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2015.10.042>
71. M.M. Cascaes, G.M.S.P. Guilhon, E.H. de Aguiar-Andrade, M.d.G. Bichara-Zoghbi & L. da Silva-Santos. Constituents and pharmacological activities of *Myrcia* (Myrtaceae): A review of an aromatic and medicinal group of plants. *Int. J. Mol. Sci.*, **16**(10), 23881–23904 (2015). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms161023881>
72. J. Vinholes & M. Vizzotto. Synergisms in alpha-glucosidase inhibition and antioxidant activity of *Camellia sinensis* L. Kuntze and *Eugenia uniflora* L. ethanolic extracts. *Pharmacog. Res.*, **9**(1), 101–107 (2017). Doi: <https://doi.org/10.4103/0974-8490.197797>
73. S.A. Tucci, E.J. Boyland & J.C.G. Halford. The role of lipid and carbohydrate digestive enzyme inhibitors in the management of obesity: A review of current and emerging therapeutic agents. *Diabetes, Metab. Syndr. Obes. Targets Ther.*, **3**, 125–143 (2010). Doi: <https://doi.org/10.2147/dmso.s7005>
74. W. Guo, J. Yun, B. Wang, S. Xu, C. Ye, X. Wang, *et al.* Comparative study on physicochemical properties and hypoglycemic activities of intracellular and extracellular polysaccharides from submerged fermentation of *Morchella esculenta*. *Int. J. Biol. Macromol.*, **278**(Part 2), 134759 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.134759>

75. A.R. de Oliveira & C.A. Pereira. Inhibition of alpha-amylase by "insulin plant" (*Myrcia sphaerocarpa* DC) extracts: An alternative for the treatment of diabetes mellitus? *J. Appl. Pharm. Sci.*, **5**(5), 89–93 (2015). Doi: <https://doi.org/10.7324/JAPS.2015.50517>
76. E.S.C. Oliveira, L.D.R. Acho, R.D. Morales-Gamba, A.S. do Rosário, J.F.M. Barcellos, E.S. Lima & M.B. Machado. Hypoglycemic effect of the dry leaf extract of *Myrcia multiflora* in streptozotocin-induced diabetic mice. *J. Ethnopharmacol.*, **307**, 116241 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.116241>
77. E.A. Ferreira, E.F. Gris, J.M. Rebello, J.F.G. Correia, L.F.S. de Oliveira, D. Filho & R.C. Pedrosa. The 2',4',6'-trihydroxyacetophenone isolated from *Myrcia multiflora* has antiobesity and mixed hypolipidemic effects with the reduction of lipid intestinal absorption. *Planta Med.*, **77**(14), 1569–1574 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1055/s-0030-1270956>
78. E.A. Ferreira, E.F. Gris, K.B. Felipe, J.F.G. Correia, E. Cargnin-Ferreira, D.W. Filho & R.C. Pedrosa. Potent hepatoprotective effect in CCl₄-induced hepatic injury in mice of phloracetophenone from *Myrcia multiflora*. *Libyan J. Med.*, **5**(1), 4891 (2010). Doi: <https://doi.org/10.3402/ljm.v5i0.4891>
79. M.S. Baliga, H.P. Bhat, B.R.V. Baliga, R. Wilson & P.L. Palatty. Phytochemistry, traditional uses and pharmacology of *Eugenia jambolana* Lam. (black plum): A review. *Food Res. Int.*, **44**(7), 1776–1789 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.02.007>
80. D.K. Paul & R.K. Shaha. Nutrients, vitamins and minerals content in common citrus fruits in the northern region of Bangladesh. *Pakistan J. Biol. Sci.*, **7**(2), 238–242 (2004). Doi: <https://doi.org/10.3923/pjbs.2004.238.242>
81. C.E. Sobral de Souza, A.R. Pereira da Silva, J.E. Rocha, M.C. Vega-Gomez, M. Rolóm, C. Coronel, *et al.* LC–MS characterization, anti-kinetoplastide and cytotoxic activities of natural products from *Eugenia jambolana* Lam. and *Eugenia uniflora*. *Asian Pac. J. Trop. Biomed.*, **7**(9), 836–841 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2017.08.007>
82. A. Sharma, V.K. Patel & A.N. Chaturvedi. Vibriocidal activity of certain medicinal plants used in Indian folklore medicine by tribals of Mahakoshal region of central India. *Indian J. Pharmacol.*, **41**(3), 129–133 (2009). Doi: <https://doi.org/10.4103/0253-7613.55212>
83. J.P. Singh, A. Kaur, N. Singh, L. Nim, K. Shevkani, H. Kaur & D.S. Arora. *In vitro* antioxidant and antimicrobial properties of jambolan (*Syzygium cumini*) fruit polyphenols. *LWT*, **65**, 1025–1030 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2015.09.038>
84. P.M. Shafi, M.K. Rosamma, K. Jamil & P.S. Reddy. Antibacterial activity of *Syzygium cumini* and *Syzygium travancoricum* leaf essential oils. *Fitoterapia*, **73**(5), 414–416 (2002). Doi: [https://doi.org/10.1016/S0367-326X\(02\)00131-4](https://doi.org/10.1016/S0367-326X(02)00131-4)
85. J.M. Veigas, M.S. Narayan, P.M. Laxman & B. Neelwarne. Chemical nature, stability and bioefficiencies of anthocyanins from fruit peel of *Syzygium cumini* Skeels. *Food Chem.*, **105**(2), 619–627 (2007). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.04.022>
86. M.C. Lingaraju, S. Anand, J. Begum, V. Balaganur, R.R. Kumari, R.A. Bhat, *et al.* Anti-inflammatory effect of dikaempferol rhamnopyranoside, a diflavonoid from *Eugenia jambolana* Lam. leaves. *Indian J. Exp. Biol.*, **54**(12), 801–807 (2016). URL: <https://core.ac.uk/download/pdf/297984373.pdf>
87. M.C. Lingaraju, S. Anand, V. Balaganur, R.R. Kumari, A.S. More, D. Kumar, B.K. Bhadoria & S.K. Tandan. Analgesic activity of *Eugenia jambolana* leave constituent: A dikaempferol rhamnopyranoside from ethyl acetate soluble fraction. *Pharm. Biol.*, **52**(8), 1069–1078 (2014). Doi: <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.885060>
88. J. Xu, T. Liu, Y. Li, W. Liu, Z. Ding, H. Ma, *et al.* Jamun (*Eugenia jambolana* Lam.) fruit extract prevents obesity by modulating the gut microbiome in high-fat-diet-fed mice. *Mol. Nutr. Food Res.*, **63**(9), 1801307 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1002/mnfr.201801307>
89. S.S. Sisodia & M. Bhatnagar. Hepatoprotective activity of *Eugenia jambolana* Lam. in carbon tetrachloride treated rats. *Indian J. Pharmacol.*, **41**(1), 23–27 (2009). Doi: <https://doi.org/10.4103/0253-7613.48888>
90. S.B. Sharma, A. Nasir, K.M. Prabhu & P.S. Murthy. Antihyperglycemic effect of the fruit-pulp of *Eugenia jambolana* in experimental diabetes mellitus. *J. Ethnopharmacol.*, **104**(3), 367–373 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.10.033>

91. K. Ravi, B. Ramachandran & S. Subramanian. Effect of *Eugenia jambolana* seed kernel on antioxidant defense system in streptozotocin-induced diabetes in rats. *Life Sci.*, **75**(22), 2717–2731 (2004). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2004.08.005>
92. S. Saha, E.V.S. Subrahmanyam, C. Kodangala, S.C. Mandal & S.C. Shastri. Evaluation of antinociceptive and anti-inflammatory activities of extract and fractions of *Eugenia jambolana* root bark and isolation of phytoconstituents. *Rev. Bras. Farmacogn.*, **23**(4), 651–661 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2013005000055>
93. R.E. Silva-López & B.C. Santos. *Bauhinia forficata* Link (Fabaceae). *Revista Fitos* (Rio de Janeiro), **9**(3), 217–232 (2015). Doi: <https://doi.org/10.5935/2446-4775.20150018>
94. T.S.D.B. Pinheiro, L.A.P. Johansson, M.G. Pizzolatti & M.W. Biavatti. Comparative assessment of kaempferitrin from medicinal extracts of *Bauhinia forficata* Link. *J. Pharm. Biomed. Anal.*, **41**(2), 431–436 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2005.12.010>
95. N.M. Khalil, M.T. Pepato & I.L. Brunetti. Free radical scavenging profile and myeloperoxidase inhibition of extracts from antidiabetic plants: *Bauhinia forficata* and *Cissus sicyoides*. *Biol. Res.*, **41**(2), 165–171 (2008). Doi: <https://doi.org/10.4067/S0716-97602008000200006>
96. R.R. Franco, V.H. Mota-Alves, L.F. Ribeiro-Zabisky, A.B. Justino, M.M. Martins, *et al.* Antidiabetic potential of *Bauhinia forficata* Link leaves: A non-cytotoxic source of lipase and glycoside hydrolases inhibitors and molecules with antioxidant and antiglycation properties. *Biomed. Pharmacother.*, **123**, 109798 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109798>
97. E.A. Chávez-Bustos, A. Morales-González, L. Anguiano-Robledo, O.E. Madrigal-Santillán, C. Valadez-Vega, O. Lugo-Magaña, *et al.* *Bauhinia forficata* Link, antioxidant, genoprotective, and hypoglycemic activity in a murine model. *Plants*, **11**(12), 3052 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/plants11223052>
98. P. Gasparini, I.C. Garofolo, M. Marques-Telles, L.M. Oyama, V. de Mello-Veneza, T.A. Moura-Veiga, *et al.* *Bauhinia forficata* Link extract attenuates insulin resistance by preserving glucose uptake in gastrocnemius muscle. *Nat. Prod. Res.*, **37**(12), 2031–2036 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1080/14786419.2022.2113875>
99. P.A. Palsikowski. *Avaliação de métodos de extração de compostos bioativos das folhas de pata de vaca (Bauhinia forficata subespécie pruinosa)*. Ph.D. thesis. Universidade Estadual do Oeste do Paraná (Unioeste). Toledo, PR, 2020; 175 p. URL: https://tede.unioeste.br/bitstream/tede/4880/2/Paula_Palsikowski_2020.pdf
100. E.P. Jung, B.P. de Freitas, C.N. Kunigami, D.d.L. Moreira, N.G. de Figueiredo, L.d.O. Ribeiro & R.F.A. Moreira. *Bauhinia forficata* Link infusions: Chemical and bioactivity of volatile and non-volatile fractions. *Molecules*, **27**(17), 5415 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27175415>
101. A.C.F. Salgueiro, C.Q. Leal, M.C. Bianchini, I.O. Prado, A.S.L. Mendez, R.L. Puntel, *et al.* The influence of *Bauhinia forficata* Link subsp. *pruinosa* tea on lipid peroxidation and non-protein SH groups in human erythrocytes exposed to high glucose concentrations. *J. Ethnopharmacol.*, **148**(1), 81–87 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2013.03.070>
102. R.R. Franco, D. da Silva-Carvalho, F.B.R. de Moura, A.B. Justino, H.C.G. Silva, L.G. Peixoto & F.S. Espindola. Antioxidant and anti-glycation capacities of some medicinal plants and their potential inhibitory against digestive enzymes related to type 2 diabetes mellitus. *J. Ethnopharmacol.*, **215**, 140–146 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.12.032>
103. C.A. Tonelli, S.Q. de Oliveira, A.A. de Silva-Vieira, M.W. Biavatti, C. Ritter, F.H. Reginatto, A.M. de Campos & F. Dal-Pizzol. Clinical efficacy of capsules containing standardized extract of *Bauhinia forficata* Link (pata-de-vaca) as adjuvant treatment in type 2 diabetes patients: A randomized, double blind clinical trial. *J. Ethnopharmacol.*, **282**, 114616 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114616>
104. A.P. Gupta, R. Garg, P. Singh, U.K. Goand, A.A. Syed, G.R. Valicherla, *et al.* Pancreastatin inhibitor PSTi8 protects the obesity associated skeletal muscle insulin resistance in diet induced streptozotocin-treated diabetic mice. *Eur. J. Pharmacol.*, **881**, 173204 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2020.173204>

105. B. Gilbert, L.F. Alves & R.d.F. Favoreto. *Monografias de Plantas Medicinais Brasileiras e Aclimatadas: Volume II*. Editora Fiocruz, Rio de Janeiro, 2022; 191 p. Doi: <https://doi.org/10.7476/9786557081778>
106. C.C. Cechinel-Zanchett, S.F. De Andrade & V. Cechinel-Filho. Ethnopharmacological, phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of *Bauhinia forficata*: A mini-review covering the last five years. *Nat. Prod. Commun.*, **13**(7), 911–916 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X1801300>
107. M.S. Pinafo, P.R. Benedetti, L.B. Gaiotte, F.G. Costa, J.P.F. Schoffen, G.S.A. Fernandes, L.G.A. Chuffa & F.R.F. Seiva. Effects of *Bauhinia forficata* on glycaemia, lipid profile, hepatic glycogen content and oxidative stress in rats exposed to bisphenol A. *Toxicol. Reports*, **6**, 244–252 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.toxrep.2019.03.001>
108. P. Pereira da Silva-Dias, F.E. Ferreira-Alves, J.D. Oliveira-Alves, K. Pereira da Silva & M.I. Silva-Magalhães. Ação hipoglicemiante do extrato aquoso do caule da *Bauhinia forficata* (Mororó) em modelos experimentais diabéticos. *Revista Interdisciplinar em Saúde (Cajazeiras)*, **8**(único), 88–106 (2021). Doi: <https://doi.org/10.35621/23587490.v8.n1.p88-106>
109. R.H. Fortunato & M.J. Nores. “Cow’s hoof” (*Bauhinia* L., Leguminosae): A review on pharmacological properties of austral South American species. *Plants*, **12**(1), 31 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/plants12010031>
110. H. Kurose & S.G. Kim. Pharmacology of antagonism of GPCR. *Biol. Pharm. Bull.*, **245**(6), 669–674 (2022). <https://doi.org/10.1248/bpb.b22-00143>
111. L. Rodrigues da Silva, L.D.V. Martins, I. Bantim-Felicio-Calou, M.d.S. Meireles de Deus, P.M.P. Ferreira & A.P. Peron. Flavonóides: constituição química, ações medicinais e potencial tóxico. *Acta Toxicológica Argentina*, **23**(1), 36–43 (2015). URL: <https://www.scielo.org.ar/pdf/ata/v23n1/v23n1a04.pdf>
112. B.R. Rocha, E.A. Maciel, S.R.M. Oliveira, Y.S. Terence & B.A. Silva. Influência dos alimentos funcionais na incidência das doenças crônicas transmissíveis (DCNT). *Intercont. J. Phys. Educ.*, **3**(1), e2020021 (2021). URL: <https://app.periodikos.com.br/journal/ijpe/article/60274ea60e8825b8147e523a>
113. H. Ren, S.B. Liu, T. Lou, F.Y. Fu, Q.L. Xu, S.X. Zhang & J.W. Tan. Two new ent-kaurane diterpenoids from the leaves of *Sphagneticola trilobata*. *Phytochem. Lett.*, **49**, 177–181 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.phytol.2022.04.001>

HOW TO CITE THIS ARTICLE

A.G.P. de Paula, J.D. de Lima, C. Peitz, R.U. Veiga, R.B. dos Santos-Luz, L.W. Junior, V.H.Q. Bordenowski, A.K. da Fontoura, A.G. Somensi, T.S. Uada, N.P. Fernandes, J.B.B. Maurer & T.T. Braga. Popular Brazilian medicinal plants for therapeutic use in combating Diabetes. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 658–678 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciq-uifa.v54n3.120983>

Exploring the therapeutic benefits of *Eucalyptus globulus* Labill.: A five-year pharmacological review

Carolina Takahashi^{1*}, Julio Chavez^{2b} & Jorge Poemape^{3c}

¹ Norbert Wiener University, Investigation area, Lima, Peru. <https://orcid.org/0000-0002-9441-0056>

² Lima University, Investigation area, Lima, Peru. <https://orcid.org/0009-0001-5450-4613>

³ Cesar Vallejos University, Investigation area, Lima, Peru. <https://orcid.org/0009-0001-8782-0620>

*Corresponding author E-mail: asesoratakahashi@gmail.com

ORCID IDs: ^a <https://orcid.org/0000-0002-9441-0056>, ^b <https://orcid.org/0009-0001-5450-4613>,

^c <https://orcid.org/0009-0001-8782-0620>

Received: November 6, 2024

Corrected: July 2, 2025

Accepted: July 7, 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.117462>

SUMMARY

Introduction: In recent years, *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalyptus) has emerged as a protagonist in pharmacological research, revealing surprising antimicrobial and anti-inflammatory properties that promise to revolutionize its application in natural medicine and public health. The **objective** of this literature review is to highlight the importance of eucalyptus as a source of various chemical components and benefits for the body. This literature review conducted a bibliographic search on the pharmacological activity and bioactive compounds of eucalyptus in the following electronic databases: PubMed, Scopus, Web of Science and Google Scholar, published from 2020 to 2024. **Result:** A total of 15 documents were selected that meet the study objectives, highlighting the relevance of eucalyptus in the pharmacological field. It is **concluded** that eucalyptus is a valuable resource in traditional and modern medicine, as well as in the pharmaceutical industry. However, there is still much to be investigated. It is essential to continue exploring its properties in order to develop a drug based on a metabolite present in this medicinal plant in the future.

Keywords: *Eucalyptus globulus* Labill.; therapeutic potential; pharmacological advances.

RESUMO

Explorando os benefícios terapêuticos do *Eucalyptus globulus* Labill.: Uma revisão farmacológica de cinco anos

Introdução: Nos últimos anos, o *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto) tem emergido como protagonista nas pesquisas farmacológicas, revelando surpreendentes propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias que prometem revolucionar sua aplicação na medicina natural e na saúde pública. O **objetivo** desta revisão de literatura é destacar a importância do eucalipto como fonte de diversos componentes químicos e benefícios para o organismo. Esta revisão de literatura realizou uma pesquisa bibliográfica sobre a atividade farmacológica e compostos bioativos do eucalipto nas seguintes bases de dados eletrônicas: PubMed, Scopus, Web of Science e Google Scholar, publicadas no período de 2020 a 2024. **Resultado:** Foram selecionados 15 documentos que atendem os objetivos do estudo, destacando a relevância do eucalipto na área farmacológica. Conclui-se que o eucalipto é um recurso valioso na medicina

tradicional e moderna, bem como na indústria farmacêutica. Porém, ainda há muito a ser investigado. É fundamental continuar a explorar as suas propriedades para no futuro desenvolver um medicamento baseado num metabolito presente nesta planta medicinal.

Palavras-chave: *Eucalyptus globulus* Labill.; potencial terapêutico; avanços farmacológicos.

RESUMEN

Explorando los beneficios terapéuticos de *Eucalyptus globulus* Labill.: Una revisión farmacológica de cinco años

Introducción: En los últimos años, *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalipto) ha surgido como protagonista en la investigación farmacológica, revelando sorprendentes propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias que prometen revolucionar su aplicación en la medicina natural y la salud pública. El **objetivo** de esta revisión bibliográfica es resaltar la importancia del eucalipto como fuente de diversos componentes químicos y beneficios para el organismo. En esta revisión bibliográfica se realizó una búsqueda bibliográfica sobre la actividad farmacológica y compuestos bioactivos del eucalipto en las siguientes bases de datos electrónicas: PubMed, Scopus, Web of Science y Google Scholar, publicadas del 2020 al 2024. **Resultado:** Se seleccionaron un total de 15 documentos que cumplen los objetivos del estudio, destacando la relevancia del eucalipto en el campo farmacológico. Se **concluye** que el eucalipto es un recurso valioso en la medicina tradicional y moderna, así como en la industria farmacéutica. Sin embargo, aún queda mucho por investigar. Es fundamental seguir explorando sus propiedades para poder desarrollar en el futuro un fármaco basado en un metabolito presente en esta planta medicinal.

Palabras clave: *Eucalyptus globulus* Labill; potencial terapéutico; avances farmacológicos.

1. INTRODUCTION

Worldwide, *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalyptus), commonly known as eucalyptus, has attracted the attention of researchers and health professionals due to its multiple therapeutic applications [1, 2]. In the last five years, advances in pharmacological research have shown its potential as a source of bioactive compounds, which has led to a significant increase in its consumption and use in various regions of the world [3, 4]. In America, eucalyptus has been widely cultivated in countries such as Brazil and Argentina, where its use has expanded from the timber industry to the pharmaceutical industry [5, 6].

In Europe, especially in Spain and Portugal, research has been carried out highlighting its anti-inflammatory and antioxidant properties [7, 8]. In Asia, Australia continues to be its main producer and center of origin, contributing significantly to the knowledge about its benefits and applications [9, 10]. In Africa, countries such as South Africa have begun to explore the traditional use of eucalyptus, incorporating it into local medicinal practices [11, 12].

Originally from Australia, eucalyptus has been introduced to various parts of the world due to its rapid growth and adaptability to different climates [13-15]. Harvests are mainly carried out for the production of essential oils, which are used in aromatherapy and pharmaceutical products [16, 17]. It is estimated that around 10% of the world's population consumes products derived from eucalyptus, either in the form of infusions, essential oils or extracts, reflecting its growing popularity in alternative medicine [18, 19].

Research has highlighted benefits such as its antimicrobial, anti-inflammatory and analgesic properties, consolidating its place in the therapeutic arsenal [20, 21]. The main producing and trading countries of eucalyptus include Brazil, China, Spain and Australia, where cultivation has intensified to meet global demand [22, 23]. The most common forms of consumption

include infusions, steam inhalations, and topical applications of essential oils, which allow their properties to be effectively exploited [24-27]. The objective of this research is to highlight the relevance of eucalyptus as a provider of multiple chemical compounds and its health benefits, offering a compendium of pharmacological advances in the last five years that validate its use in the therapeutic field.

2. METHODOLOGY

A bibliographic review was carried out through an electronic search of original articles in databases such as: PubMed, Web of science, Scopus and Google Scholar, published during the period from January 2020 to September 2024. The search was carried out with the following combined terms: “*Eucalyptus globulus* Labill.,” “eucalyptus”, “chemical components”, “pharmacological activity”. Studies detailing the chemical composition and biological activity of *Eucalyptus globulus* Labill. (eucalyptus) were included, such as: antimicrobial, anti-inflammatory, expectorant, analgesic, antispasmodic, antioxidant, insecticidal properties, among others.

3. RESULTS

Table 1 summarizes the different key chemical components and therapeutic properties reported in the papers located.

Table 1. Key chemical components and therapeutic properties

Year	Chemical components	Pharmacological activity under study/Instrument
2024	In this study, <i>Eucalyptus globulus</i> leaves were used for the extraction of the essential oil. Essential oils (EO), α -pinene, α -terpinyl acetate, globulol, γ -terpinene [28].	Activity: Powerful anti-SARS-CoV-2 potential <i>in vitro</i> and <i>in silico</i> . Instrument: Analysis of the phytochemical composition of the EOs determined by the GC/MS system.
2024	In this study, leaves and bark from <i>Eucalyptus globulus</i> were used for essential oil extraction. Essential oils, volatile essential oils, 1,8-cineole, p-cymene, α and β -pinene, limonene, citronellal, citral, eudesmol, terpinen-4-ol, terpinol, α -phelandrene, 9 β -sitos-terol, flavonoids, antioxidants, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) [29].	Activity: Eucalyptus plants have several medical benefits (such as antioxidant, anti-inflammatory, antinociceptive and antimicrobial), polyphenols and flavonoids, antiviral and anticancer. Instrument: Analysis of antioxidant and antibacterial activity of selected eucalyptus species, extraction of various phenolic chemicals from eucalyptus.
2023	In this study, leaves and bark from <i>Eucalyptus globulus</i> were used for essential oil extraction. Terpenoids, flavonoids, phenolic acids, essential oils (EOs), <i>Eucalyptus globulus</i> [30].	Activity: Discussion of recent advances in bioactive molecules from eucalyptus, essential oils (EOs) and eucalyptus extracts present multiple biological effects (in particular with antidiabetic, antibacterial, anti-inflammatory and anticancer activities). Instrument: Analysis of recent advances in relation to bioactive compounds and biological properties of EOs and extracts of <i>E. globulus</i> .

2023	In this study, <i>Eucalyptus globulus</i> leaves were used. Essential oil, mono-terpenoids, sesqui-terpenoids, eucalyptol (60,327), D-limonene (6,964), terpinyl acetate (3,564), gamma gurjunene (2,505%), γ -gurjunine [31].	Activity: <i>In vitro</i> and <i>in silico</i> antibacterial activity study of <i>Eucalyptus globulus</i> essential oil, the antibacterial activity was predicted in silico using Autodock vina, the essential oil exhibited antibacterial activity (against <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> and <i>Staphylococcus aureus</i>). Instrument: Extraction of essential oil from <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. leaves was performed using the agar diffusion and broth microdilution method, Gamma-Gurjunene MD simulation in complex with 3VSL, GROMACS software.
2023	In this study, <i>Eucalyptus globulus</i> leaves were used for the extraction of the essential oil. <i>Eucalyptus globulus</i> essential oil (EGEO), 1,8-cineole (63.1%), p -cymene (7.7%), α -pinene (7.3%), α -limonene (6.9%), monoterpenes, <i>C. albicans</i> (14.00 $\pm$ 1.00 mm), microscopic fungi (11.00 $\pm$ 0.00 mm–12.33 $\pm$ 0.58 mm) [32].	Activity: The antioxidant potential of EGEO and the results indicate that 10 μ L of this sample can neutralize 55.44 $\pm$ 0.99% of ABTS •+, the antimicrobial activity was determined by two methods: disk diffusion and minimum inhibitory concentration. Instrument: Analysis of the chemical composition of AEGEAN, <i>in vitro</i> and <i>in situ</i> antimicrobial activity, antibiofilm activity, antioxidant activity and insecticidal activity, gas chromatography (GC) and gas chromatography/mass spectrometry (GC/MS).
2022	The study primarily focuses on the leaves of <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. Enothein B, polyphenol, hydrolyzable tannin, ellagitannin, eucalyptus leaf (ELE), abdominal visceral fat (VFA) [33].	Activity: Antiobesity effect of eucalyptus leaf extract containing oenothien B in healthy Japanese adults. Oenothien B-containing ELEs may be effective against obesity and related diseases by reducing VFA levels. Instrument: Randomized, placebo-controlled, double-blind, parallel-group study evaluating the effect of ELE consumption for 12 weeks at a dose of 3.38 mg/day of enothein B on the abdominal visceral fat area (AGV).
2021	The study exclusively used fresh leaves of <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. collected from mature trees. <i>Eucalyptus globulus</i> essential oil, 1,8-cineole, ultra-violet B (UVB) light, vascular endothelial growth factor (VEGF) [34].	Activity: Topical administration of <i>Eucalyptus globulus</i> EO increased neovascularization and VEGF expression in the skin of injured and UVB-exposed male Wistar rats, efficacy under evaluation. Instrument: Post-test control group study in 36 male Wistar rats, 3-4 months old, weighing 150-200 grams, UVB exposure in rats, 10 mm punch biopsy.
2021	The study specifically utilized: Mature leaves of <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. Collected from healthy trees during the dry season (to maximize essential oil content). Polyphenols, flavonoids, <i>Eucalyptus globulus</i> Labill., <i>Trigonella foenum-greacum</i> L., aqueous extract (EGAE, TFAE) [35].	Activity: Antioxidant and antibacterial activities of aqueous extracts of <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. and <i>Trigonella foenum-greacum</i> Labill., very strong antiradical activity against DPPH radical, antibacterial activity against Gram-positive bacteria of varying degrees. Instrument: Analysis of aqueous extract (EGAE, TFAE) from the leaves and seeds of the plants for the evaluation of free radical scavenging, antibacterial activities of the aqueous extract and antioxidant activity was evaluated using DPPH test, agar disk diffusion method against three bacterial strains.
2021	The researchers exclusively used: Fresh, mature leaves collected from 5-7 year old <i>Euca-</i>	Activity: Evaluation of antimalarial activity of crude leaf extract of <i>E. globulus</i> Labill. in Swiss albino mice infected with <i>P. berghei</i> , antimalarial activity of the crude extract was tested in suppressive, curative (Rane) and prophylactic (depot) tests, the

	<i>lyptus globulus</i> trees. <i>E. globulus</i> , parasitemia, <i>P. falciparum</i> , <i>P. vivax</i> , artemisinin, chloroquine, quinine, eucalyptol (1,8-cineole), α -pinene, (-)-globulol [36].	crude extract of the plant showed promising antimalarial activity. Instrument: Fresh leaves of <i>E. globulus</i> were collected, then washed, air dried and made into a coarse powder of 750 g, data analysis was performed using SPSS version 20 with 95% confidence interval in one-way ANOVA followed by Tukey post hoc test.
2021	Primary Material: Fresh leaves collected from mature trees (3-5 years old) Secondary Material: Twigs (<1cm diameter) and floral buds (for comparative analysis). <i>Eucalyptus globulus</i> Labill., allelochemicals, concentrated essential oils, globulus, <i>Portulaca oleracea</i> L., aqueous extracts of fresh leaves (FLE; 617 g FW L ⁻¹), oven-dried leaves (DLE; 250 g DW L ⁻¹) [37].	Activity: Effects of herbicidal activity and cellular targets of aqueous extracts of young leaves of <i>Eucalyptus globulus</i> Labill., evaluate the herbicidal potential of post-fire regenerated <i>E. globulus</i> leaves against <i>Portulaca oleracea</i> L., DLE at the highest dose stopped the greatest herbicidal activity, affecting the growth and cell viability of purslane, recognized allelopathic activity of <i>E. globulus</i> attributed to its leaves. Instrument: Processing of the leaves, they were sprayed foliarly on purslane seedlings at different dilutions for 5 weeks, extraction process of concentrated essential oils, hydrodistillation.
2021	Leaves harvested from 4-year-old trees. Eucalyptol, 1,8-cineole, essential oil (EO), α -phellandrene, herbicide, oxygenated monoterpenes (80.65–87.32%), monoterpene hydrocarbons (18.33–12.45%) [38].	Activity: Biological activities attributed to the diversity of phytochemical components in the plant parts, review of the <i>E. globulus</i> plant and its bioactive, antioxidant, antimicrobial, phytoremedial and herbicidal components. Instrument: Review of recent information on the phytochemical properties of <i>E. globulus</i> , hydrodistillation process for obtaining the EO components.
2021	Leaves collected from certified <i>E. globulus</i> trees (10-15 years old). Tyrosyl-DNA phosphodiesterase 2 (TDP2), topoisomerase 2, Robustadia A and B, <i>Eucalyptus globulus</i> Labill. [39].	Activity: Robustadial compounds A and B possess anticancer activity. Instrument: TDP2 inhibition analysis, biological experiments, isolation of compounds, robustadial A and B from an acetate fraction of <i>E. Globulus</i> labill.
2021	Leaves collected from 8-year-old trees in Artemisa province, Cuba. 3-heptadecene, 1-tridicene, 1,8-cineole, chlorhexidine, minimum bactericidal concentration (MBC), minimum inhibitory concentration (MIC), essential oil, <i>Eucalyptus globulus</i> Labill [40].	Activity: Antibacterial activity of an experimental <i>Eucalyptus globulus</i> Labill gel against <i>Porphyromonas gingivalis</i> . Instrument: Experimental <i>in vitro</i> , EPI InfoTM program, vapor entrainment method, minimum inhibitory concentration (MIC), Agar diffusion test.
2020	Leaves collected from 6 distinct Mediterranean regions (Turkey, Greece, Spain, etc. <i>Eucalyptus globulus</i> essential oil, 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH), lipoxygenase enzyme (5-LOX), 1,8-cineole	Activity: Antimicrobial, antioxidant, anti-inflammatory, inhibitory. Instrument: <i>Eucalyptus globulus</i> essential oil of pharmacopoeia grade (PhEur) was evaluated against human pathogenic species such as <i>P. acnes</i> ATCC 6919, <i>P. acnes</i> ATCC 11827, <i>S. aureus</i> ATCC 6538 and <i>S. epidermidis</i> ATCC 12228 using an <i>in vitro</i> microdilution method employing the photometric radical assay.

	(80.2%), p-cymene (6.6%), limonene (5%), <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>S. epidermidis</i> [41].	
2020	Roots harvested from 10-year-old trees during dormancy period. Phenolic compounds, flavonoids, <i>E. globulus</i> Labill, ethanol root (EtE), ethyl acetate (EaE) and aqueous (AqE) [42].	Activity: Antioxidant of EtE, EaE, AqE extracts of <i>E. globulus</i> Labill., measuring their DPPH, ABTS radical scavenging, H ₂ O ₂ scavenging, reducing power and metal chelating activities. Instrument: Plant samples roots of <i>E. globulus</i> , evaluation of antioxidant activity, evaluation of DPPH activity, evaluation of ABTS activity, removal of hydrogen peroxide.

3.1. Application in traditional medicine

Eucalyptus globulus, commonly known as eucalyptus, has been used in traditional medicine practices by various cultures throughout history [43]. The leaves and essential oils of eucalyptus have been used to treat respiratory conditions, such as colds and coughs, thanks to their expectorant properties [44]. In addition, it has been used in folk medicine to relieve muscle and joint pain, as well as in oral hygiene due to its antimicrobial effects [45].

3.2. Phytochemicals

This tree contains a variety of phytochemical compounds that are responsible for its medicinal properties. Among the most prominent are terpenes, such as eucalyptol (1,8-cineole), which will confer its anti-inflammatory and analgesic characteristics [46]. Flavonoids and tannins have also been identified that contribute to its antioxidant and antimicrobial activity, offering a broad spectrum of health benefits [47].

3.3. Therapeutic activity

Eucalyptus has demonstrated various therapeutic activities in scientific studies [48]. Its efficacy in the treatment of respiratory infections has been demonstrated, due to its ability to facilitate the expulsion of mucus and reduce inflammation of the airways [49]. In addition, its topical application has shown analgesic and anti-inflammatory properties, making it a valuable resource for the management of pain and inflammation [50].

4. CONCLUSIONS

In conclusion, this study has highlighted the significant therapeutic potential of *Eucalyptus globulus* Labill., evidencing its growing relevance in the pharmacological field over the last five years. Through an exhaustive analysis of recent literature, it has been shown that this plant not only possesses antimicrobial and anti-inflammatory properties, but also harbors a variety of bioactive compounds that could be exploited in the development of innovative treatments. The 15 documents selected for this review underline the diversity of applications of eucalyptus, from its use in traditional medicine to its potential in the formulation of new drugs. However, it is important to recognize that, despite the progress made, there is still a long way to go in the research of its metabolites and its mechanisms of action. Future studies are essential to fully unravel the benefits of eucalyptus and to firmly establish it as a valuable resource in modern medicine, which could culminate in the development of effective treatments that improve public health.

CONFLICT OF INTEREST

The authors of this research declare that they have no conflict of interest.

REFERENCES

1. N. Chandorkar, S. Tambe, P. Amin & C. Madankar. A systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions, molecular mechanisms, and clinical implications of the genus *Eucalyptus*. *Phytomed. Plus*, **1**(4), 100089 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2021.100089>
2. L.C. Becker, A. Akinsulie, W.F. Bergfeld, D.V. Belsito, R.A. Hill, C.D. Klaassen, *et al.* Safety assessment of *Eucalyptus globulus* (eucalyptus)-derived ingredients as used in cosmetics. *Int. J. Toxicol.*, **42**(1_suppl), 57S–92S (2023). Doi: <https://doi.org/10.1177/10915818231164354>
3. A. Kaur & R. Monga. Eucalyptus trees plantation: A review on suitability and their beneficial role. *International Journal of Bio-resource and Stress Management*, **12**(1), 016–025 (2021). Doi: <https://doi.org/10.23910/1.2021.2174>
4. Y. Zhang & X. Wang. Geographical spatial distribution and productivity dynamic change of eucalyptus plantations in China. *Sci Rep.*, **11**(1), 19764 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-021-97089-7>
5. J.M. da Rocha, N.S. da Rocha, P.S. Käfer & R.C. Cruz. Eucalyptus forestry in Brazilian Pampa biome: between developmental illusion and sustainable inefficacy. *Ciênc. Nat.*, **42**, e35 (2020). Doi: <https://doi.org/10.5902/2179460X40990>
6. X. Silva & F.O. Asiegbu. Chapter 15 - Eucalyptus fungal diseases. In: F.O. Asiegbu & A. Kovalchuk (editors). *Forest Microbiology: Tree Diseases and Pests. Volume 3 in Forest Microbiology*. Academic Press, 2023; pp. 313–337. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-443-18694-3.00016-X>
7. D. Cianciosi, T.Y. Forbes-Hernandez, J.M. Alvarez-Suarez, J. Ansary, D. Quinzi, A. Amici, *et al.* Anti-inflammatory activities of Italian Chestnut and Eucalyptus honeys on murine RAW 264.7 macrophages. *J. Funct. Foods*, **87**, 104752 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104752>
8. P. Moreira, F.J. Sousa, P. Matos, G.S. Brites, M.J. Gonçalves, C. Cavaleiro, *et al.* Chemical composition and effect against skin alterations of bioactive extracts obtained by the hydrodistillation of *Eucalyptus globulus* leaves. *Pharmaceutics*, **14**(3), 561 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics14030561>
9. M.G.K. Jones, J. Fosu-Nyarko, S. Iqbal, M. Adeel, R. Romero-Aldemita, M. Arujanan, *et al.* Enabling trade in gene-edited produce in Asia and Australasia: The developing regulatory landscape and future perspectives. *Plants*, **11**(19), 2538 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/plants11192538>
10. F. Humphries, J.A.H. Benzie, C. Lawson & C. Morrison. A review of access and benefit-sharing measures and literature in key aquaculture-producing countries. *Rev. Aquac.*, **13**(3), 1531–1548 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1111/raq.12532>
11. M.M. Mofokeng, C.P. Du Plooy, H.T. Araya, S.O. Amoo, S.N. Mokgehle, K.M. Pofu, *et al.* Medicinal plant cultivation for sustainable use and commercialisation of high-value crops. *S. Afr. J. Sci.*, **118**(7/8), 12190 (2022). URL: <https://www.scielo.org.za/pdf/sajs/v118n7-8/09.pdf>
12. N. Khan, S. Fahad, S. Faisal, A. Akbar & M. Naushad. *Socio-Economic and Medicinal Review of Eucalyptus Tree in the World*. SSRN, July 6, 2020; 41 p. Doi: <https://doi.org/10.2139/ssrn.3644215>
13. G.W.L. Florêncio, F.B. Martins & F.F.A. Fagundes. Climate change on Eucalyptus plantations and adaptive measures for sustainable forestry development across Brazil. *Ind. Crops Prod.*, **188**, 115538 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2022.115538>
14. M. Kasaye, G. Abebe, G. Nigusie & M. Eshte. Adaptability of different Eucalyptus species in Lasta-Lalibela District Northeastern Highland of Ethiopia. *J. Forest Res.*, **9**(3), 233 (2020). Doi: <https://doi.org/10.35248/2168-9776.20.9.233>

15. M. Tomé, M.H. Almeida, S. Barreiro, M.R. Branco, E. Deus, G. Pinto, *et al.* Opportunities and challenges of *Eucalyptus* plantations in Europe: the Iberian Peninsula experience. *Eur. J. Forest Res.*, **140**(3), 489–510 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10342-021-01358-z>
16. S. Baptista-Silva, S. Borges, O.L. Ramos, M. Pintado & B. Sarmiento. The progress of essential oils as potential therapeutic agents: a review. *J. Essent. Oil Res.*, **32**(4), 279–295 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1746698>
17. L. Abate, A. Bachheti, R.K. Bachheti, A. Husen, M. Getachew & D.P. Pandey. Potential role of forest-based plants in essential oil production: An approach to cosmetic and personal health care applications. In: A. Husen, R.K. Bachheti & A. Bachheti (editors). *Non-Timber Forest Products*. Springer, Cham, 2021: pp. 1–18. Doi: https://doi.org/10.1007/978-3-030-73077-2_1
18. J.C. Doran, P.F. Macdonell, J.J. Brophy & R. Davis. *Eucalyptus bakeri*: a potential source species for eucalyptus oil production in the subtropics. *Austr. Forest.*, **84**(4), 182–190 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1080/00049158.2021.1973225>
19. A. Alemayehu & Y. Melka. Small scale eucalyptus cultivation and its socioeconomic impacts in Ethiopia: A review of practices and conditions. *Trees Forest People*, **8**, 100269 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.tfp.2022.100269>
20. H.M. Assaggaf, H.N. Mrabti, B.S. Rajab, A.A. Attar, M. Hamed, R.A. Sheikh, *et al.* Singular and combined effects of essential oil and honey of *Eucalyptus globulus* on anti-inflammatory, antioxidant, dermatoprotective, and antimicrobial properties: *In vitro* and *in vivo* findings. *Molecules*, **27**(16), 5121 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules27165121>
21. M. Mondal, C. Quispe, C. Sarkar, T.C. Bepari, M.J. Alam, S. Saha, *et al.* Analgesic and anti-inflammatory potential of essential oil of *Eucalyptus camaldulensis* leaf: *In vivo* and *in silico* studies. *Nat. Prod. Commun.*, **16**(4), 1934578X2110076 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1177/1934578x211007634>
22. F. Cubbage, B. Kanieski, R. Rubilar, A. Bussoni, V.M. Olmos, G. Balmelli, *et al.* Global timber investments, 2005 to 2017. *Forest Policy Econ.*, **112**, 102082 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.forpol.2019.102082>
23. F. Di Fulvio, M. Acuna, P. Ackerman, S. Ackerman, R. Spinelli, D. Abbas, *et al.* Benchmarking operational conditions, productivity, and costs of harvesting from industrial plantations in different global regions. *Int. J. Forest Eng.*, **35**(2), 225–250 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1080/14942119.2023.2296789>
24. D. Jini. Biological applications of essential oil. In: Inamuddin (editor). *Essential Oils: Extraction Methods and Applications*. Wiley, 2023; pp. 361–380. Doi: <https://doi.org/10.1002/9781119829614.ch16>
25. D.M. Galan, N.E. Ezeudu, J. Garcia, C.A. Geronimo, N.M. Berry & B.J. Malcolm. Eucalyptol (1,8-cineole): an underutilized ally in respiratory disorders? *J. Essent. Oil Res.*, **32**(2):103–110 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1080/10412905.2020.1716867>
26. S. Vishali, E. Kavitha & S. Selvalakshmi. Therapeutic role of essential oils. In: Inamuddin (editor). *Essential Oils: Extraction Methods and Applications*. Wiley, 2023; pp. 953–976. Doi: <https://doi.org/10.1002/9781119829614.ch41>
27. C. Cimino, O.M. Maurel, T. Musumeci, A. Bonaccorso, F. Drago, E.M.B. Souto, *et al.* Essential oils: Pharmaceutical applications and encapsulation strategies into lipid-based delivery systems. *Pharmaceutics*, **13**(3), 327 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13030327>
28. R.A. El-Shiekh, M.M. Okba, A.A. Mandour, O. Kutkat, R. Elshimy, H.A. Nagaty, *et al.* *Eucalyptus* oils phytochemical composition in correlation with their newly explored anti-SARS-CoV-2 potential: *In vitro* and *in silico* approaches. *Plant Foods Hum. Nutr.*, **79**(2), 410–416 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11130-024-01159-w>
29. G.W. Moges, G.M. Manahelohe & M.A. Asegie. Phenolic, flavonoid contents, antioxidant, and antibacterial activity of selected *Eucalyptus* species: Review. *Biology, Medicine, & Natural Product Chemistry*, **13**(1), 147–157 (2024). Doi: <https://doi.org/10.14421/biomedich.2024.131.147-157>
30. B. Abdelaali, D. Taha, Z. Hannou, E.H. Ayoub, N. El Menyiy, A. Bouyahya & M.S. Mubarak. Bioactive compounds and antidiabetic and other health benefits of *Eucalyptus globulus*. In: A. Husen (editor). *Antidiabetic Medicinal Plants and Herbal Treatments*, CRC Press, 2023; chapter 31, 12 p. Doi: <https://doi.org/10.1201/b23347>

31. D. Salaria, R. Rolta, A. Prakash, O.A. Fadare, S. Jachak & B. Medhi. *In silico* and *in vitro* antibacterial activity of essential oil of *Eucalyptus globulus* Labill. *Research Square*, 11 October, 2023; 20 p. Doi: <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3415356/v1>
32. N. Čmiková, L. Galovičová, M. Schwarzová, M.D. Vukic, N.L. Vukovic, PŁ, Kowalczewski, L. Bakay, M.I. Kluz, C. Puchalski & M. Kačániová. Chemical composition and biological activities of *Eucalyptus globulus* essential oil. *Plants*, **12**(5), 1076 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/plants12051076>
33. K. Sugimoto, H. Fujisawa, H. Takeuchi, K. Nakagawa, K. Yamamoto, N. Suzuki, *et al.* Anti-obesity effect of eucalyptus leaf extract containing oenothien B in healthy Japanese adults: a randomized, placebo-controlled, double-blind, parallel-group study. *Functional Foods in Health and Disease*, **12**(5), 242–263 (2022). Doi: <https://doi.org/10.31989/ffhd.v12i5.927>
34. N. Indrawati, I.S. Iswari & N.W. Winarti. *Eucalyptus globulus* essential oil increases neovascularization and vascular endothelial growth factor expression in male Wistar rats exposed to UVB. *Neurologico Spinale Medico Chirurgico*, **4**(3), 119–124 (2021). Doi: <https://doi.org/10.36444/nsmc.v4i3.187>
35. D. Bencheikh, A. Gueddah, K. Soualat, H. Ben-aissi, A. Benslama, A. Harrar & S. Khennouf. Polyphenolic contents, antioxidant and antibacterial activities of aqueous extracts of *Eucalyptus globulus* Labill. and *Trigonella foenum-graecum* L. *Journal of Applied Biological Sciences*, **15**(1), 53–63 (2021). URL: <https://www.jabsonline.org/index.php/jabs/article/view/833>
36. M. Ayalew & A. Bekele. Evaluation of the antimalarial activity of crude extract of *Eucalyptus globulus* Labill. leaf against *Plasmodium berghei* in mice. *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **2021**, 7068999 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1155/2021/7068999>
37. M. Pinto, C. Soares, M. Martins, B. Sousa, L. Valente, R. Pereira & F. Fidalgo. Herbicidal effects and cellular targets of aqueous extracts from young *Eucalyptus globulus* Labill. leaves. *Plants*, **10**(6), 1159 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/plants10061159>
38. A.Y. Shala & M.A. Gururani. Phytochemical properties and diverse beneficial roles of *Eucalyptus globulus* Labill.: A review. *Horticulturae*, **7**(11), 450 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/horticulturae7110450>
39. Y. Zhang, X.-Z. He, H. Yang, H.-Y. Liu & L.-K. An. Robustadiol A and B from *Eucalyptus globulus* Labill. and their anticancer activity as selective tyrosyl-DNA phosphodiesterase 2 inhibitors. *Phytother. Res.*, **35**(9), 5282–5289 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1002/ptr.7207>
40. M. Sánchez-Tito & J. Araujo-Hanco. Actividad antibacteriana de un gel experimental de *Eucalyptus globulus* Labill. frente a *Porphyromonas gingivalis*. *Rev. Cubana Investig. Bioméd.*, **40**(2), e1104 (2021). URL: <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v40n2/1561-3011-ibi-40-02-e1104.pdf>
41. G. Göger, N. Karaca, B.B. Altınbaşak, B. Demirci & F. Demirci. *In vitro* antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory evaluation of *Eucalyptus globulus* essential oil. *Nat. Volatiles & Essent. Oils*, **7**(3), 1–11 (2020). URL: <https://www.nveo.org/index.php/journal/article/view/103/98>
42. B.N. Ita. Antioxidant activity of *Eucalyptus globulus* Labill. root extracts. *J. Pharmacogn. Phytochem.*, **9**(3), 190–194 (2020). URL: <https://www.phytojournal.com/archives/2020/vol9issue3/PartC/9-2-376-547.pdf>
43. C. Maldonado, N. Paniagua-Zambrana, R.W. Bussmann, F.S. Zenteno-Ruiz & A.F. Fuentes. La importancia de las plantas medicinales, su taxonomía y la búsqueda de la cura a la enfermedad que causa el coronavirus (COVID-19). *Ecología en Bolivia*, **55**(1), 1-5 (2020). URL: http://scielo.org.bo/pdf/reb/v55n1/v55n1_a01.pdf
44. D.S. Guayamabe-Sánchez & M.N. Ramírez-Abril. Beneficios del uso de las plantas medicinales para el tratamiento de patologías respiratorias en adultos de 40 a 60 años en la Parroquia Barreiro Nuevo – cantón Babahoyo en el periodo junio – octubre 2023. B.Sc. thesis. Universidad Técnica de Babahoyo Babahoyo, Babahoyo, Los Ríos, Ecuador, 2023; 83 p. URL: <https://dspace.utb.edu.ec/handle/49000/15384>
45. L. Bazán, A. Antacle & M.J. Pacheco. Conociendo las propiedades del Eucalipto, ¿un alivio para la tos? *Archivos de Medicina Familiar y General*, **20**(3), 48–52 (2023). URL: <https://www.revista.famfyg.com.ar/index.php/AMFG/article/view/247>

46. L.N. Pinheiro, P.H.C.P. Ornelas, J.P.C. Tavares, T.F.C. dos Santos, A.B.F. da Silva, P.H.A. de Souza, D.M.S. Pereira & C.S.S.e.S. Figueiredo. Análise farmacocinética e farmacodinâmica *in silico* do eucaliptol. *Revista Foco*, **16**(6), e2402 (2023). Doi: <https://doi.org/10.54751/revistafoco.v16n6-158>
47. W.E. Camba-Ramirez, D.J. Petroche-Torres, L.A. Cortez-Suarez & W.E. Mariscal-Santi. Tamizaje fitoquímico, fenoles totales y actividad antioxidante de *Citrus aurantium*. *RECIAMUC*, **6**(3), 470–479 (2022). [https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.\(3\).julio.2022.470-479](https://doi.org/10.26820/reciamuc/6.(3).julio.2022.470-479)
48. R. Espinosa-Cervantes. Etnoveterinaria, uso de plantas medicinales y sus subproductos en la ganadería extensiva. *Sociedades Rurales, Producción y Medio Ambiente*, **22**(43), 143–159 (2022). URL: <https://sociedadesruralesojs.xoc.uam.mx/index.php/srpma/article/view/462>
49. Y. Dueñas-Rodríguez, R. Rodríguez-Puga, Y. Pérez-Díaz & A.A. Pérez-Ramírez. Uso y efectividad de la fitoterapia en el tratamiento de pacientes con infecciones respiratorias. *Revista Electrónica Dr. Zoilo E. Marinello Vidaurreta*, **48**, e3377 (2023). URL: <https://revzoilomarinellosld.sld.cu/index.php/zmv/article/view/3377>
50. P.A. Amaya-Sanchez & J.J. Sandoval-Jaime. *Evaluación de la obtención y uso del aceite esencial de eucalipto (Eucalyptus globulus) como fungicida*. B.Sc. thesis. Fundación Universidad de América, Bogotá, D.C., 2020; 133 p. URL: <https://repository.uamerica.edu.co/handle/20.500.11839/8101>

HOW TO CITE THIS ARTICLE

C. Takahashi, H. Vélchez & J. Poemape. Beneficial effect of *Centella asiatica*: Synthesis of the last two decades. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 679–688 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.117462>

Estimation of monosodium glutamate (MSG) added to some food products in Syrian markets

Farah Bitar^{a*}, Mohammed Adel Jawad^b & Adnan Odeh^c

Faculty of Pharmacy, University of Kalamoon (UOK), Deratiah, Syria

E-mail addresses: ^a farah.bitar707@gmail.com, ^b adel.jawad@uok.edu.sy, ^c adnan.odeh96363@gmail.com

*Corresponding author: farah.bitar707@gmail.com, Tel: +963117833999, Fax: +963117833990

Received: January 3, 2025

Corrected: July 10, 2025

Accepted: July 14, 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.122679>

SUMMARY

Introduction: Monosodium Glutamate (MSG) is one of the world's most extensively used food additives which is ingested as part of commercially processed foods. MSG is used as a flavor enhancer and it increases the sapidity of food. MSG produces a flavor that can't be provided by other foods. It elicits a taste described in Japanese as umami. The toxic effects of MSG have raised the increasing interest in MSG intake as flavor enhancer. It causes many toxic effects on the health. It causes neurotoxicity (it causes Chinese Restaurant Syndrome), obesity, renal toxicity, cardiovascular toxicity, metabolic effects and other health effects. **Objective:** This study aimed to determine concentration of MSG in some foods products sold in Syrian Markets. **Methodology:** 40 samples of widely consumed food products were randomly selected from local markets in Damascus and Deratiah as follows: 12 samples chicken luncheon, 5 samples of instant soup, 6 samples of potato chips, 6 samples of chicken broth stocks, 5 samples of instant noodles and 6 samples of meat broth powder (each powder sachet is equivalent to one stock). A simple HPLC-UV method, based on a derivatization procedure with o-phthaldialdehyde (OPA) was used for determination of MSG in the samples. And a cross-sectional study was performed by using SPSS program. **Results:** Results revealed that the levels of monosodium glutamate (g/100 g) were varied in the examined foodstuffs. Chicken broth stocks samples had the highest levels of MSG with an average of (13.98), followed by (10.60) in samples of meat broth powders, followed by (10.16) in samples of chicken luncheon, followed by (8.9722) in samples of instant noodles, followed by (8.96) in samples of instant soup, while potato chips samples had the lowest levels with an average of (8.53). **Conclusions:** There was a significant variation in concentrations of MSG between samples of chicken broth stocks and samples of the other categories of food products.

Keywords: Monosodium glutamate (MSG); food products; derivatization; o-phthaldialdehyde (OPA); HPLC-UV.

RESUMEN

Estimación del glutamato monosódico (GMS) añadido a algunos productos alimenticios en los mercados sirios

Introducción: El glutamato monosódico (GMS) es uno de los aditivos alimentarios más utilizados a nivel mundial y se ingiere en alimentos procesados comercialmente. Se utiliza como potenciador del sabor y aumenta la sapidez de los alimentos. El GMS produce un sabor que otros alimentos no pueden

proporcionar, lo que se conoce en japonés como umami. Los efectos tóxicos del GMS han despertado un creciente interés en su consumo como potenciador del sabor. Provoca numerosos efectos tóxicos para la salud, como neurotoxicidad (causando el síndrome del restaurante chino), obesidad, toxicidad renal, toxicidad cardiovascular, efectos metabólicos y otros efectos sobre la salud. **Objetivo:** Este estudio tuvo como objetivo determinar la concentración de GMS en algunos productos alimenticios vendidos en los mercados sirios. **Metodología:** Se seleccionaron aleatoriamente 40 muestras de productos alimenticios de amplio consumo de los mercados locales de Damasco y Deratiah de la siguiente manera: 12 muestras de almuerzo de pollo, 5 muestras de sopa instantánea, 6 muestras de papas fritas, 6 muestras de caldos de pollo, 5 muestras de fideos instantáneos y 6 muestras de caldo de carne en polvo (cada sobre de polvo es equivalente a un caldo). Se utilizó un método simple de HPLC-UV, basado en un procedimiento de derivatización con o-ftaldialdeído (OPA) para la determinación de MSG en las muestras. Y se realizó un estudio transversal utilizando el programa SPSS. **Resultados:** Los resultados revelaron que los niveles de glutamato monosódico (g/100 g) variaron en los productos alimenticios examinados. Las muestras de caldo de pollo presentaron los niveles más altos de GMS, con un promedio de (13,98), seguido de (10,60) en las muestras de caldo de carne en polvo, seguido de (10,16) en las muestras de pollo enlatado, seguido de (8,9722) en las muestras de fideos instantáneos, seguido de (8,96) en las muestras de sopa instantánea, mientras que las muestras de papas fritas presentaron los niveles más bajos, con un promedio de (8,53). **Conclusiones:** Se observó una variación significativa en las concentraciones de GMS entre las muestras de caldo de pollo y las muestras de otras categorías de productos alimenticios.

Palabras clave: Glutamato monosódico (GMS); productos alimenticios; derivatización; o-ftaldialdeído (OPA); HPLC-UV.

RESUMO

Estimativa de glutamato monossódico (MSG) adicionado a alguns produtos alimentícios em mercados sírios

Introdução: O glutamato monossódico (MSG) é um dos aditivos alimentares mais utilizados no mundo, sendo ingerido como parte de alimentos processados comercialmente. O MSG é usado como intensificador de sabor e aumenta o sabor dos alimentos. O MSG produz um sabor que não pode ser fornecido por outros alimentos. Ele provoca um sabor descrito em japonês como umami. Os efeitos tóxicos do MSG têm aumentado o interesse na ingestão de MSG como intensificador de sabor. Ele causa muitos efeitos tóxicos à saúde. Causa neurotoxicidade (causando a Síndrome do Restaurante Chinês), obesidade, toxicidade renal, toxicidade cardiovascular, efeitos metabólicos e outros efeitos à saúde. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo determinar a concentração de MSG em alguns produtos alimentícios vendidos em mercados sírios. **Metodologia:** 40 amostras de produtos alimentícios amplamente consumidos foram selecionadas aleatoriamente de mercados locais em Damasco e Deratiah da seguinte forma: 12 amostras de frango para almoço, 5 amostras de sopa instantânea, 6 amostras de batata frita, 6 amostras de caldo de galinha, 5 amostras de macarrão instantâneo e 6 amostras de caldo de carne em pó (cada sachê de pó é equivalente a um caldo). Um método simples de HPLC-UV, baseado em um procedimento de derivatização com o-ftaldialdeído (OPA), foi usado para determinação de MSG nas amostras. E um estudo transversal foi realizado usando o programa SPSS. **Resultados:** Os resultados revelaram que os níveis de glutamato monossódico (g/100 g) foram variados nos alimentos examinados. Amostras de caldo de galinha apresentaram os maiores níveis de MSG, com uma média de (13,98), seguidas por (10,60) em amostras de caldo de carne em pó, (10,16) em amostras de frango para almoço, (8,9722) em amostras de macarrão instantâneo, (8,96) em amostras de sopa instantânea, enquanto amostras de batata frita apresentaram os menores níveis, com uma média de (8,53). **Conclusões:** Houve uma variação significativa nas concentrações de MSG entre amostras de caldo de galinha e amostras das demais categorias de produtos alimentícios.

Palavras-chave: Glutamato monossódico (MSG); produtos alimentícios; derivatização; o-ftaldialdeído (OPA); HPLC-UV.

1. INTRODUCTION

Monosodium glutamate (MSG) is the sodium salt of the non-essential amino acid, L-glutamic acid (Figure 1). It is widely used in food industry as a flavor enhancer (E621) due to its ability to modulate umami taste and improve overall food palatability. It is one of the world's most extensively used food additives which is ingested as part of commercially processed foods [1-6].

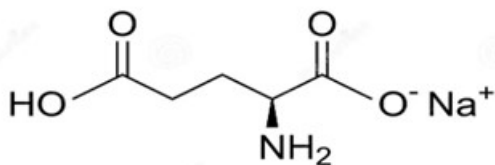


Figure 1. Structure of monosodium glutamate.

In 2017 the European Food Safety Authority set that the permissible amount of glutamic acid per day is (30 mg/kg) of body weight. European Food Safety Authority also clarified the quantities that, when used daily, can cause symptoms such as: headache (85.8 mg/kg), insulin increase (>143 mg/kg) and blood pressure increase (150 mg/kg) [7]. World Health Organization stated that the daily consumption of MSG per person should not exceed the safe limit of 120 mg/kg/day [8].

Consumption of 1.5-3 g of MSG is resulting in acute toxicity of MSG, which is also called "The Chinese restaurant syndrome" (CRS). CRS was described for the first time more than 40 years ago. The original description of symptoms having their onset about 20 minutes after starting the meal and included numbness or burning at the back of the neck, radiating into both arms and sometimes into the anterior thorax, which was associated with a feeling of general weakness and palpitations. In addition to other symptoms that may appear later such as flushing, dizziness, syncope and facial pressure [9-11].

Consumption of food products rich in MSG can result in chronic toxicity of MSG that include many health disorders such as obesity, diabetes, neurotoxicity, hepatotoxicity, nephrotoxicity, reproductive toxicity, oxidative stress and genotoxicity [12-34]. The major chronic toxic effects of MSG are summarized as shown in the following figures (Figure 2) and (Figure 3) [35-37].

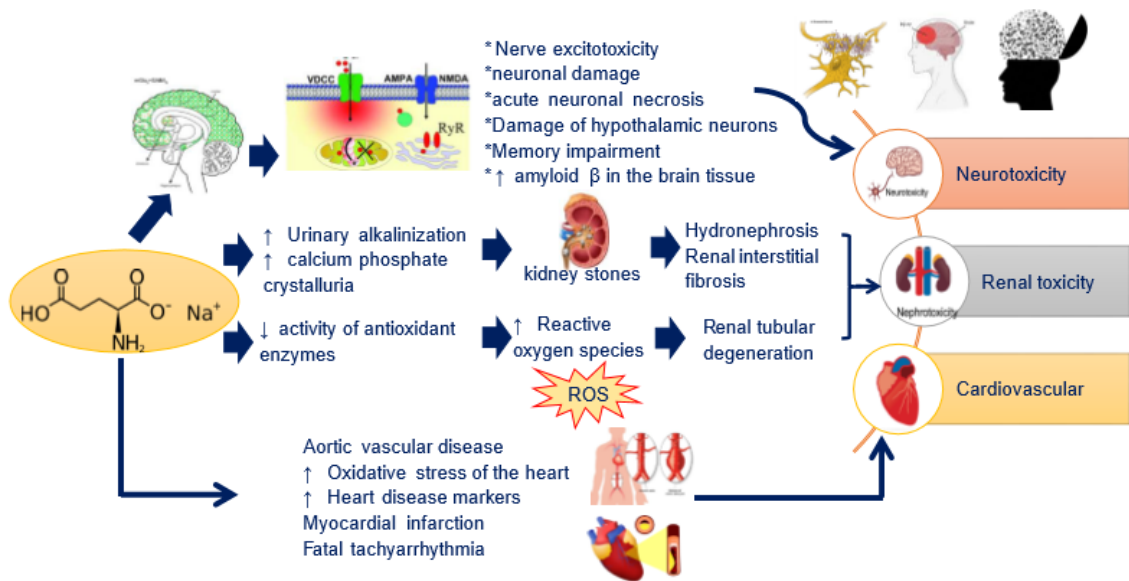


Figure 2. Major toxic effects of MSG on human functions.

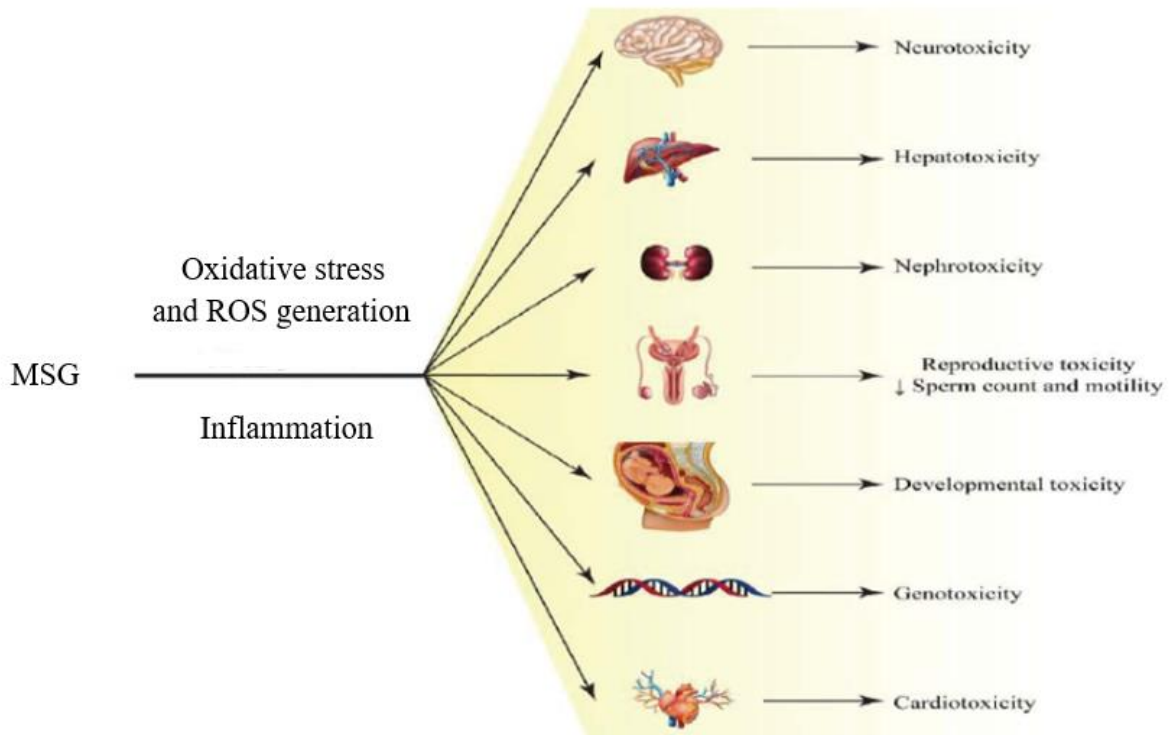


Figure 3. A schematic representation of MSG toxicity and the organs may be affected by MSG.

1.1. The specific contribution of the research:

Nowadays, MSG is added as a flavor to food and food products without taking into consideration the added concentration and there is increasing in consumption of food-containing MSG among all age groups especially university students.

MSG has many toxic effects on health especially after long-term of exposure. In addition, there is no local or international standardization for allowable concentration of MSG in food products. Also, the global studies on this subject are very limited. This is the first study in Syria which used HPLC-UV method based on a derivatization procedure with o-phthaldialdehyde

(OPA). Therefore, the aim of the study is to determine levels of MSG in 40 samples of randomly selected food products and to find out if there is a statistical variation between analyzed food categories or not by performing a cross-sectional study and analyzing data by using SPSS program. This study found a significant variation in concentrations of MSG between samples of chicken broth stocks and samples of the other categories of food products.

2. METHODOLOGY

A simple HPLC-UV method, based on a derivatization procedure with o-phthaldialdehyde (OPA), was used for determination of MSG in food products. This procedure is effective, simple and rapid analytical method. Also, it is simple to operate and is relatively inexpensive [38].

2.1. Food selection

The samples were randomly selected from local markets in Damascus and Deratiah. A total of 40 samples of widely consumed food products were randomly selected as follows: 12 samples of chicken luncheon, 5 samples of instant soup, 6 samples of potato chips, 6 samples of chicken broth stocks, 5 samples of instant noodles and 6 samples of meat broth powder (each powder sachet is equivalent to one stock).

2.2. Additional samples (spiked samples)

3 samples of chicken luncheon were prepared at the laboratory, and known concentrations of MSG standard solutions were added to them. The purpose is to ensure that the extraction procedure of MSG is effective.

2.2.1. Preparation of chicken luncheon samples (spiked samples)

The samples were prepared by taking 600 g of minced chicken (200 g for each sample), then salt was added to them. After that known concentrations of MSG (8 mg, 10 mg and 15 mg) were added to the samples respectively (where 40, 50 and 75 µg of MSG was added for each gram of Minced chicken respectively). Then each sample was wrapped by a sheet of cellophane and a sheet of foil and were placed in a water bath (K.F.T LAB Equipment) with 75 °C for 1 hour. Then the samples were left in the same conditions of the samples in the market. They were stored in room temperature and away from moisture.

2.3. Apparatus

1) Smartline HPLC device (Knauer, Germany) with C18 (internal diameter 4.6 mm, particles dimensions 5 µm and length 250 mm) which is connected to a Smartline UV – Detector 2500. 2) Centrifugator (Hettich, EBA 20). 3) Water bath (K.F.T LAB Equipment). 4) Ultrasonic bath (Lab Tech).

2.4. Reagents and chemicals

The following reagents and chemicals: HPLC grade water, analytical grade monosodium glutamate (MSG) reference standard (Fluka) with 95% purity, 0.10 N Hydrochloride acid (HCl), o-phthaldialdehyde powder (OPA) (Agilent) and methanol gradient grade for HPLC (Merck) were used [38].

2.5. Extraction of MSG from samples

2.5.1. Samples preparation and derivatization

Each sample was ground and well homogenized. 5 g of each sample was homogenized with 50 ml of 0.10 N HCl solution and then placed in an ultrasonic bath for 60 minutes. Then it was

filtered (0.45 μm filter). The resulted filtration was placed in a centrifuge 5000 rpm for 15 minutes. The resulted suspension was extracted with 20 ml of hexane 99% in order to remove the fatty substances. Then 1800 μL was mixed with 200 μL of OPA and filtered through a syringe filter (0.22 μm). The spiked samples were prepared and spiked as samples from local markets [39, 40].

2.5.2. Chromatographic conditions

Smartline HPLC device (Knauer, Germany) connected to a Smartline UV – Detector 2500 was used. Chromatographic conditions (Table 1) were carried out on a C18 column (internal diameter 4.6 mm, particles dimensions 5 μm and length 250 mm) with a mobile phase consisting of A= Phosphate Buffer Solution (pH = 5.35) and B= Methanol (75:25 v/v) at a flow rate of 0.7 mL/min. The injection volume was 20 μL , the needle was washed with Water-Methanol (70:30 v/v), and the detection was performed at 254 nm. The column's temperature was stable at 30 $^{\circ}\text{C}$.

Table 1. Chromatographic conditions.

Time (minutes)	A= Phosphate Buffer	B= Methanol	Flow rate (mL/min)
0.0	92.0	8.0	0.7
11.0	75.0	25.0	0.7
14.0	75.0	25.0	0.7
14.1	92.0	8.0	0.7
15.0	92.0	8.0	0.7

2.6. Validation of the method

Validation of the method was based on ICH standards. Method validation was performed as recommended by Center for Drug Evaluation and Research (CDER). The validation characteristics considered in this study were: linearity, range, and limit of detection (LOQ), limit of quantification (LOD), repeatability and recovery.

Five different standards of MSG solutions of 40-60-80-100-120-ppm were taken to evaluate the plot of signal as a function of analyte concentration. For precision, the intraday and inter-day repeatability was performed by taking 10 ppm standard solution for 6 determinations. LOQ and LOD were determined by observing the signal-to-noise ratio and comparing the measured signals from samples with known concentrations. A signal to noise ratio between 2:1 and 10:1 was considered for LOD and LOQ. Recovery was tested by adding blank samples with different MSG standard concentrations and analyzing their content.

2.6.1. Linearity

Five different concentrations of standard MSG solution were analyzed, which would represent the sample well. The calibration curve was generated using 20 μL injection loop and the curve was established according to the response (peak area) and the concentration of MSG in standard solutions. The results obtained showed a linear relationship. Each standard concentration response was the average of three determinations. The calibration curve showed a strong positive correlation between the instrumental signal and the concentration of the MSG standards. The linearity studies showed that MSG content was found to be linear in the following concentration range (40-60-80-100-120-ppm) where R^2 value was 0.9993 as shown in the following figures (Figure 4) and (Figure 5).

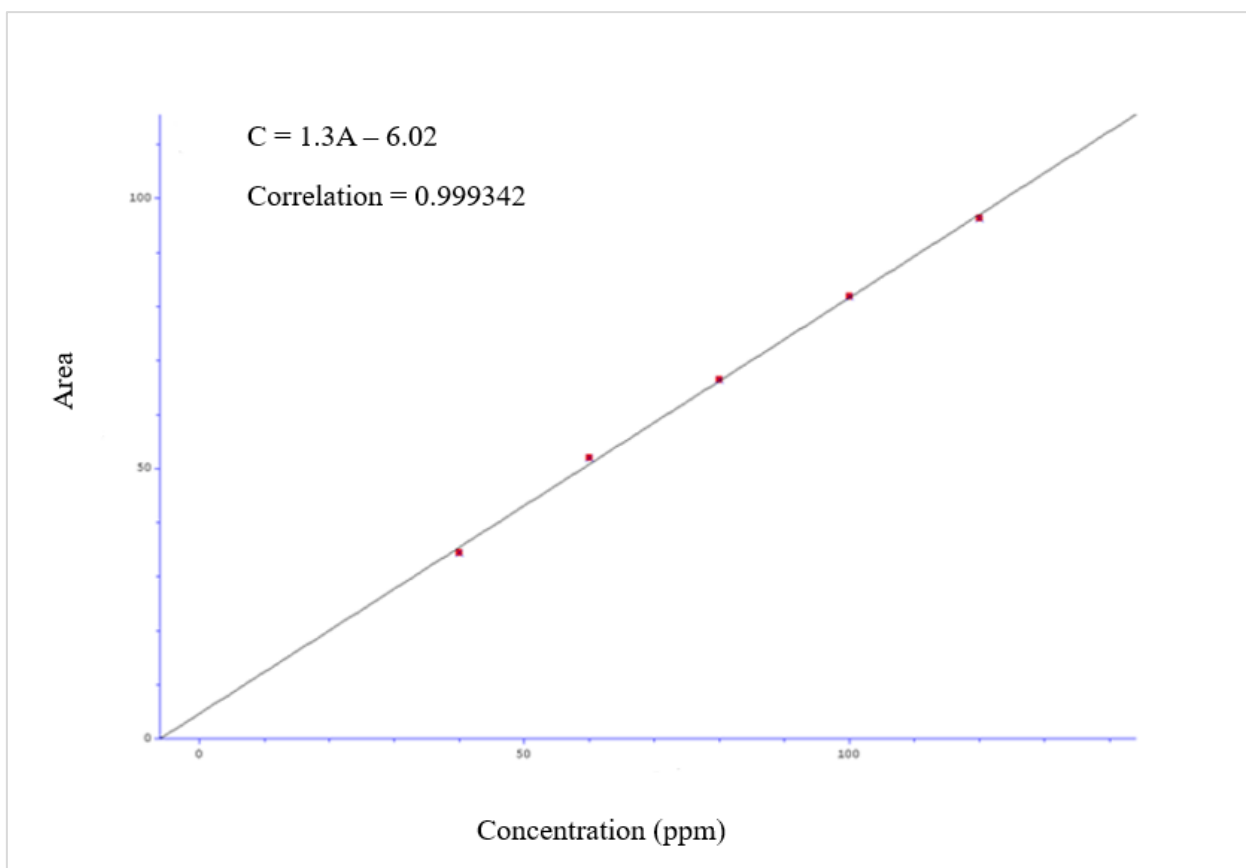


Figure 4. Standard curve of MSG standard solutions (40-60-80-100-120 ppm).

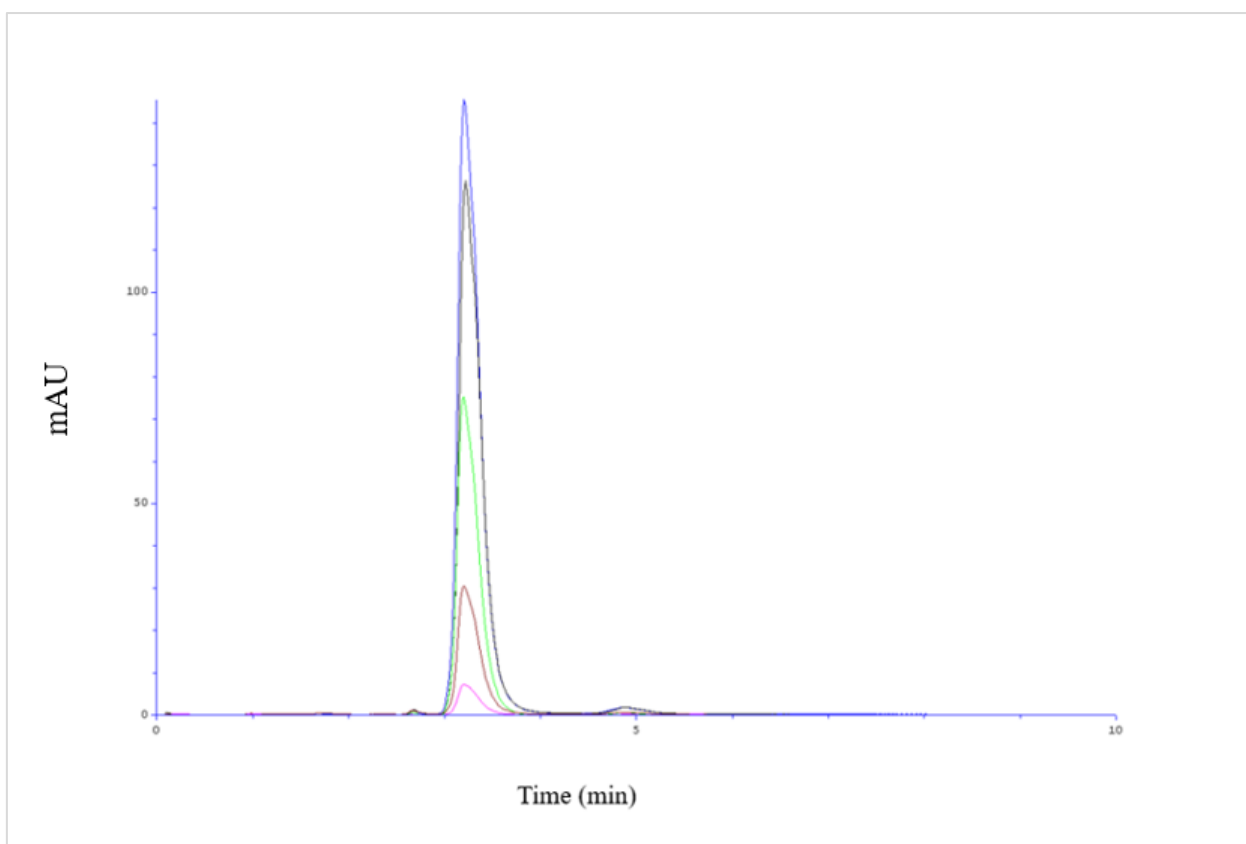


Figure 5. Corresponding of retention times of standard solutions.

2.6.2. System suitability test

System suitability test is necessary to be sure about quality of HPLC apparatus. Center for Drug Evaluation and Research (CDER) recommended to determine Capacity Factor (Retention Factor). Capacity Factor was determined by injection of standard solution of MSG with concentration 20 ppm and the resulted Capacity Factor k factor = 2.83 (according to the recommendations of CDER) is good.

2.6.3. Determination of HPLC accuracy and precision

The process of preparing and derivatization of samples was highly effective and its frequency was studied by repeating the derivatization of the same sample three times and the Relative Standard Deviation (RSD%) was less than 2%. Repeatability of injection (precision) was determined by repeating injection of the same standard solution of MSG (20 ppm) five times and RSD% was 0.4805% (Table 2). Therefore, the system is accurate according to the recommendations of CDER.

Table 2. Determination of HPLC injection accuracy and precision.

Concentration (ppm)	Area
Concentration 1 (20 ppm)	17.188
Concentration 2 (20 ppm)	17.192
Concentration 3 (20 ppm)	17.094
Concentration 4 (20 ppm)	17.242
Concentration 5 (20 ppm)	17.320
$\bar{x}$	17.207
RSD	0.4805

2.6.4. Results of relevance of HPLC system for MSG analysis

The following table (Table 3) shows results of relevance of HPLC system for MSG analysis. Theoretical plate numbers: when the standard solution of MSG was 20 ppm then the theoretical plate numbers were $N=3670$. Therefore, the ability of the column for analysis was good according to the recommendations of CDER.

Table 3. Results of relevance of HPLC system for MSG analysis.

Parameters	Obtained value	Recommended value
Retention time	4.8	-----
Tailing factor	1.28T	$T < 2.00$
Resolution (R_s)	5.10	$R_s > 2.00$
Capacity factor	2.83	$K > 2.00$
Selectivity (α)	1.90	$\alpha > 1.00$
Theoretical plate number	$N = 3670$	$N > 2000$
Repeatability of peak	$(RSD \%) < 0.4805$	$(RSD \%) < 1.50$

Tailing factor: peak's tailing factor of a standard solution of MSG (20 ppm) was 1.28. Therefore, symmetry of the peak was good. Then it can be integrated and gives a good quantity.

Retention time of a standard solution of MSG was 4.8 minutes. Also, using of the mobile phase (PBS and Methanol) showed a good efficacy in analysis of MSG as a symmetrical peak. On the other hand, trying to increase flow rate to decrease retention time was not successful due to the increase of tailing factor and a significant increase in baseline noise.

Quantitation limit (Table 4) is the quantity or the lowest concentration of the studied substance which can be measured by a good accuracy and precision. To determine the quantitation limit, standard solutions of decreasing concentrations was prepared and the measurement of concentration which gives the lowest action was repeated 6 times and then RSD% was measured. RSD% (Relative Standard Deviation) must not exceed 20% and the limit = SD (standard deviation) $\times$ 10.

Table 4. Limit of quantification is 0.5 mg/L and limit of detection is 0.2 mg/L.

Concentration (ppm)	Area 1	Area 2	Area 3	Area 4	Area 5	Area 6	SD	$\bar{x}$	RSD %
1	3.31	3.14	2.98	3.29	3.32	2.34	0.202	3.26	6.194
0.8	2.42	2.46	2.48	2.47	2.49	2.51	0.0314	2.47	1.271
0.6	1.84	2.11	1.99	2.12	1.89	1.86	0.119	1.96	6.09
0.4	1.22	1.24	1.26	1.19	1.25	1.23	0.0248	1.231	0.0432
0.2	0.62	0.54	0.61	0.55	0.52	0.61	0.0432	0.575	7.520
0.05	-	-	-	-	-	-	-	-	-

3. RESULTS

3.1. Results for the spiked samples

The following table (Table 5) showed concentrations of MSG added to the spiked samples and yield concentrations after analysis (recovery). In all cases, the value of recovery was 95.4 ± 1.4 % as shown in the following table.

Table 5. Recovery of MSG and its concentrations in the spiked samples.

Concentration	Number of the spiked samples		
	Spiked sample 1	Spiked sample 2	Spiked sample 3
Original concentration of MSG in the sample ($\mu\text{g/g}$ or ppm)	0	0	0
Quantity of standard MSG (μg) added to 1 g of the sample	40	50	75
Total concentration of MSG expected to found in 1 g of the spiked sample ($\mu\text{g/g}$ or ppm)	40	50	75
Concentration of MSG found in 1g of the spiked sample $\mu\text{g/g}$ (ppm) $\pm$ SD	38.48 ± 0.2	46.80 ± 0.2	72.3 ± 0.3
Recovery $\pm$ SD	96.2 ± 1.6	93.6 ± 1.0	96.4 ± 1.4

3.2. Results for samples of food products

As shown in (Table 6), results revealed that the levels of monosodium glutamate (g/100 g) were varied in the examined foodstuffs. Chicken broth stocks samples had the highest levels of MSG with an average of (13.98) in a range of (11.30) to (16.70) followed by (10.60) in a range of (8.50) to (12.30) in samples of meat broth powders, followed by (10.16) in a range of (6.60) to (13.60) in samples of chicken luncheon, followed by (8.9722) in a range of (6.20) to (10.70) in samples

of instant noodles, followed by (8.96) in a range of (6.30) to (11.30) in samples of instant soup and followed by (8.53) in a range of (6.60) to (10.80) in samples of potato chips.

Table 6. Concentration of MSG (g/100g) in the examined food products.

Descriptive (Statistic)	Chicken Luncheon	Potato Chips	Instant Soup	Instant Noodles	Chicken Broth Stocks	Meat Broth Powders
Mean	10.16	8.53	8.96	8.9722	13.98	10.60
Std. Deviation	2.32	1.45	2.10	1.79360	2.26	1.41
Minimum	6.60	6.60	6.30	6.20	11.30	8.50
Maximum	13.60	10.80	11.30	10.70	16.70	12.30

3.3. Statistical analysis

A cross-sectional study was performed by using SPSS program. (Table 6) showed concentrations of MSG (g/100 g) in the examined food products. Tests of Normality (Kolmogorov-Smirnov and Shapiro-Wilk Tests) were performed as shown in (Table 7) which revealed that the results were normal.

Table 7. Tests of Normality.

Type of sample		Kolmogorov-Smirnov ^a			Shapiro-Wilk		
		Statistic	df	Sig.	Statistic	df	Sig.
Concentration of MSG (g/100g)	Chicken Luncheon	0.160	12	.200*	0.947	12	0.588
	Potato Chips	0.180	6	.200*	0.983	6	0.964
	Instant Soup	0.187	5	.200*	0.943	5	0.690
	Instant Noodles	0.184	5	.200*	0.938	5	0.649
	Chicken Broth Stocks	0.215	6	.200*	0.893	6	0.333
	Meat Broth Powders	0.228	6	.200*	0.929	6	0.571
*. This is a lower bound of the true significance.							
a. Lilliefors Significance Correction							

Test of homogeneity of variances (Levene Statistic) was shown in (Table 8) and revealed that the results were homogenized.

Table 8. Test of Homogeneity of Variances.

Concentration of MSG (g/100 g)			
Levene Statistic	df1	df2	Sig.
0.972	5	34	0.449

The results of the study were homogenized; therefore, ANOVA test was performed as shown in (Table 9). ANOVA test showed that the significance value was 0.000 which is less than 0.05.

Table 9. ANOVA Test.

Concentration of MSG (g/100 g)					
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	119.177	5	23.835	5.960	0.000
Within Groups	135.982	34	3.999		
Total	255.159	39			

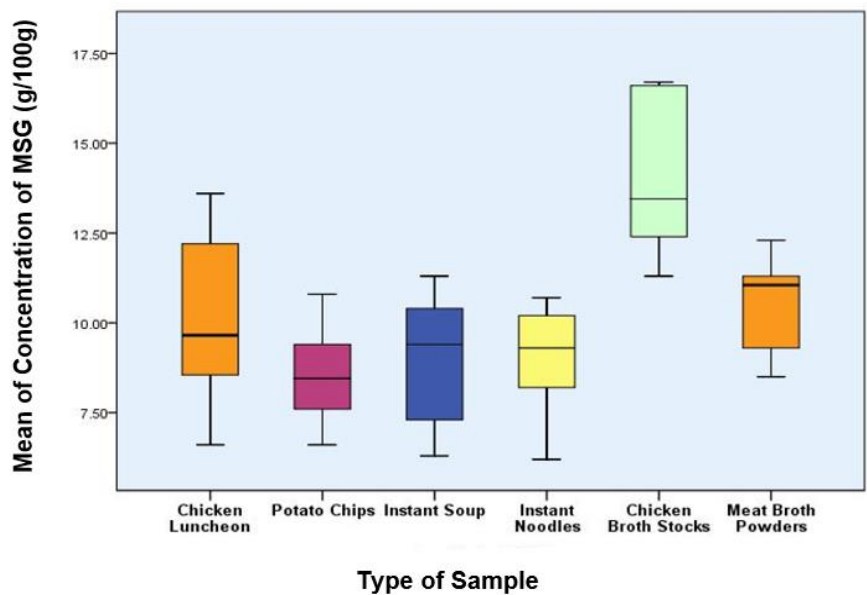
As a result, there was a significant variation between samples of the categories. According to the obtained results in (Table 10) and (Figure 6), there was a significant variation between samples of chicken broth stocks and the samples of the other categories.

Table 10. Statistical comparisons between samples categories.

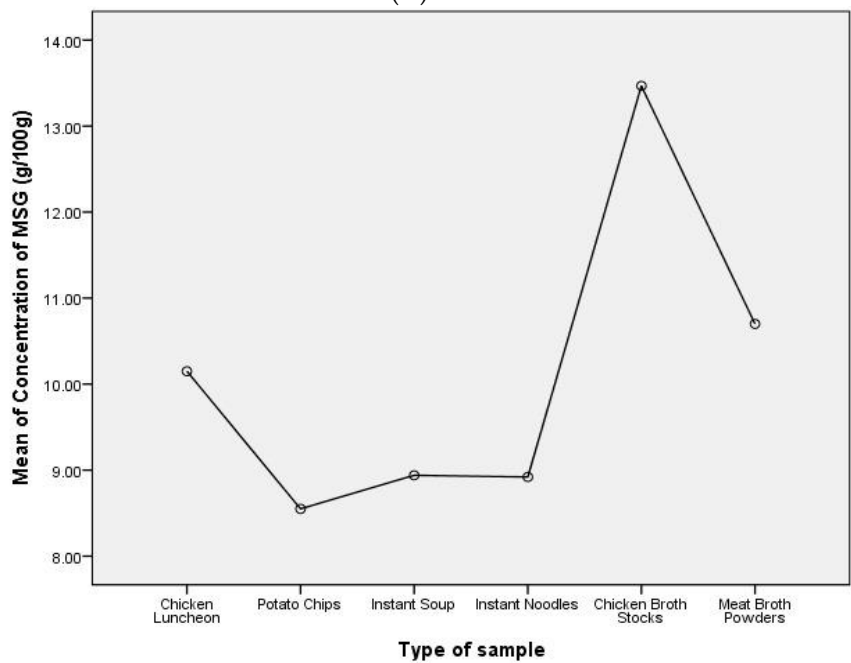
Multiple Comparisons						
Dependent Variable: LSD						
(I) Type of sample		Mean Dif- ference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Inter- val	
					Lower Bound	Upper Bound
Chicken Luncheon	Potato Chips	1.60000	0.99993	0.119	-0.4321	3.6321
	Instant Soup	1.21000	1.06451	0.264	-0.9533	3.3733
	Instant Noodles	1.23000	1.06451	0.256	-0.9333	3.3933
	Chicken Broth Stocks	-3.83333*	0.99993	0.001	-5.8654	-1.8012
	Meat Broth Pow- ders	-0.43333	0.99993	0.667	-2.4654	1.5988
Potato Chips	Chicken Luncheon	-1.60000	0.99993	0.119	-3.6321	0.4321
	Instant Soup	-0.39000	1.21098	0.749	-2.8510	2.0710
	Instant Noodles	-0.37000	1.21098	0.762	-2.8310	2.0910
	Chicken Broth Stocks	-5.43333*	1.15462	0.000	-7.7798	-3.0869
	Meat Broth Pow- ders	-2.03333	1.15462	0.087	-4.3798	0.3131
Instant Soup	Chicken Luncheon	-1.21000	1.06451	0.264	-3.3733	0.9533
	Potato Chips	0.39000	1.21098	0.749	-2.0710	2.8510
	Instant Noodles	0.02000	1.26483	0.987	-2.5504	2.5904
	Chicken Broth Stocks	-5.04333*	1.21098	0.000	-7.5043	-2.5823
	Meat Broth Pow- ders	-1.64333	1.21098	0.184	-4.1043	0.8177
Instant Noodles	Chicken Luncheon	-1.23000	1.06451	0.256	-3.3933	0.9333
	Potato Chips	0.37000	1.21098	0.762	-2.0910	2.8310
	Instant Soup	-0.02000	1.26483	0.987	-2.5904	2.5504
	Chicken Broth Stocks	-5.06333*	1.21098	0.000	-7.5243	-2.6023
	Meat Broth Pow- ders	-1.66333	1.21098	0.179	-4.1243	0.7977
Chicken Broth Stocks	Chicken Luncheon	3.83333*	0.99993	0.001	1.8012	5.8654
	Potato Chips	5.43333*	1.15462	0.000	3.0869	7.7798
	Instant Soup	5.04333*	1.21098	0.000	2.5823	7.5043
	Instant Noodles	5.06333*	1.21098	0.000	2.6023	7.5243
	Meat Broth Pow- ders	3.40000*	1.15462	0.006	1.0535	5.7465
	Chicken Luncheon	0.43333	0.99993	0.667	-1.5988	2.4654

Meat Broth Powders	Potato Chips	2.03333	1.15462	0.087	-0.3131	4.3798
	Instant Soup	1.64333	1.21098	0.184	-0.8177	4.1043
	Instant Noodles	1.66333	1.21098	0.179	-0.7977	4.1243
	Chicken Broth Stocks	-3.40000*	1.15462	0.006	-5.7465	-1.0535

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.



(A)



(B)

Figure 6. Statistical variation between samples of chicken broth stocks and the samples of the other categories.

4. DISCUSSION

The validated HPLC- UV method was successfully applied for the analysis of MSG in all of the analyzed food samples.

According to the statistical study as shown in Table 10, there was a significant variation in MSG concentration between samples of chicken broth stocks and samples of the other categories (chicken luncheon, potato chips, instant soup, instant noodles and meat broth powders) where P-values (significance values) were less than 0.05 (0.001, 0.000, 0.000, 0.000 and 0.006, respectively). Concentration of MSG in samples of chicken broth stocks was the highest because it is widely used to make taste of food more palatable and more delicious. Also, there are no local or international standardizations for the allowable concentration of MSG added to food and food products. In addition, there were no limits to the amount of MSG (Chinese Salt) that can be purchased from local markets.

Therefore, local and international standardizations must be regulated to determine the allowable concentration of MSG added to food and food products.

5. CONCLUSIONS

The highest level of MSG was in chicken broth stocks samples and the lowest one was in potato chips samples. MSG has many health risks if food-containing MSG is consumed in large quantities. Upon acute exposure it causes symptoms of CRS and upon chronic exposure it causes many toxic effects such as: neurotoxicity, obesity, renal toxicity, cardiovascular toxicity, metabolic effects and other health effects [41]. Local and international regulations and recommendations about allowed levels of MSG are required. Also, more attention is required to reduce the risk of health hazards of this additive with accumulative exposure. It is recommended that students should adopt healthy life style and use food-containing MSG in moderation. It is also recommended that awareness programs on the side-effects and symptoms of MSG must be carried out.

CONFLICTS OF INTEREST

All authors declare that there are no conflicts of interest.

REFERENCES

1. L.N. Thuy, L.C. Salanță, M. Tofană, S.A. Socaci, A.C. Fărcaș & C.R. Pop. A mini review about monosodium glutamate. *Bull. UASVM Food Sci. Technol.*, **77**(1), 1–12 (2020). URL: <https://journals.usamvcluj.ro/index.php/fst/article/view/13717>
2. K. Kurihara. Glutamate: from discovery as a food flavor to role as a basic taste (umami). *Am. J. Clin. Nutr.*, **90**(3), 719S–722S (2009). Doi: <https://doi.org/10.3945/ajcn.2009.27462D>
3. R. Naveen-Kumar, P. Uday-kumar & R. Hemalatha. Monosodium glutamate (MSG) - A food additive. *Indian J. Nutr. Diet.*, **57**(1), 98-107 (2020). URL: <https://www.i-scholar.in/index.php/Ijnd/article/view/193603>
4. H.M. Bayram, H.F. Akgoz, O. Kizildemir & A. Ozturkcan. Monosodium glutamate: review on pre-clinical and clinical reports, *Biointerface Res. Appl. Chem.*, **13**(2), 149 (2023). Doi: <https://doi.org/10.33263/briac132.149>
5. Y. Zhang, C. Venkitasamy, Z. Pan, W. Liu & L. Zhao. Novel umami ingredients: Umami peptides and their taste. *J. Food Sci.*, **82**(1), 16-23 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1111/1750-3841.13576>

6. Z. Kazmi, I. Fatima, S. Perveen & S.S. Malik. Monosodium glutamate: Review on clinical reports. *Int. J. Food Propert.*, **20**(S2), 1807S-1815S (2017). Doi: <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295260>
7. A. Mortensen, F. Aguilar, R. Crebelli, A. Di Domenico, B. Dusemund, M.J. Frutos, *et al.* Re-evaluation of glutamic acid (E 620), sodium glutamate (E 621), potassium glutamate (E 622), calcium glutamate (E 623), ammonium glutamate (E 624) and magnesium glutamate (E 625) as food additives. *Eur. Food Saf. Author.*, **15**(7), e04910 (2017). Doi: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2017.4910>
8. F.A. Rachma & T. Saptawati. Analysis tolerance of monosodium glutamate (MSG) in instant noodles with UV-Vis spectrophotometry. *J. Sci. Technol. Res. Pharm.*, **1**(1), 20–24 (2021). Doi: <https://doi.org/10.15294/JSTRP.V1i1.43568>
9. G.R. Kerr, M. Wu-Lee, M. El-Lozy, R. McGandy & F.J. Stare. Prevalence of the "Chinese Restaurant Syndrome". *J. Am. Diet. Assoc.*, **75**(1), 29–33 (1979). Doi: [https://doi.org/10.1016/S0002-8223\(21\)05277-9](https://doi.org/10.1016/S0002-8223(21)05277-9)
10. R. Geha, A. Beiser, C. Ren, R. Patterson, P. Greenberger, L.C. Grammer, *et al.* Review of alleged reaction to monosodium glutamate and outcome of a multicenter double-blind placebo-controlled study. *J. Nutr.*, **130**(4S Suppl.), 1058S–1063S (2000). Doi: <https://doi.org/10.1093/jn/130.4.1058S>
11. M. Shastri, D. Raval & V. Rathod. Monosodium glutamate (MSG) symptom complex (Chinese Restaurant Syndrome): Nightmare of Chinese food lovers! *J. Assoc. Physicians India*, **71**(6), 93–95 (2023). URL: <https://journal-api.s3.ap-south-1.amazonaws.com/issues/August2023.pdf>
12. A. Zangfirescu, A. Ungurianu, A.M. Tsatsakis, G.M. Nițulescu, D. Kouretas, A. Veskoukis, D. Tsoukalas, A.B. Engin, M. Aschner & D. Margină. A review of the alleged health hazards of monosodium glutamate. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, **18**(4), 1111–1134 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12448>
13. M.C. Rivera-Cervantes, J.S. Torres, A. Feria-Velasco, J. Armendariz-Borunda & C. Beas-Zárate. NMDA and AMPA receptor expression and cortical neuronal death are associated with p38 in glutamate-induced excitotoxicity *in vivo*. *J. Neurosci. Res.*, **76**(5), 678–687 (2004). Doi: <https://doi.org/10.1002/jnr.20103>
14. H.S.A. Ezza & Y.A. Khadrawy. Glutamate excitotoxicity and neurodegeneration. *J. Mol. Genet. Med.*, **8**(4), 1000141 (2014). URL: <https://www.hilarispublisher.com/open-access/glutamate-excitotoxicity-and-neurodegeneration-1747-0862-1000141.pdf>
15. Y. Zhang & B.R. Bhavnani. Glutamate-induced apoptosis in neuronal cells is mediated via caspase-dependent and independent mechanisms involving calpain and caspase-3 proteases as well as apoptosis inducing factor (AIF) and this process is inhibited by equine estrogens. *BMC Neurosci.*, **7**(49), 49 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1186/1471-2202-7-49>
16. K. Sadek, T. Abouzed & S. Nasr. Lycopene modulates cholinergic dysfunction, Bcl-2/Bax balance, and antioxidant enzymes gene transcripts in monosodium glutamate (E621) induced neurotoxicity in a rat model. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **94**(4), 394–401 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1139/cjpp-2015-0388>
17. M.P. Mattson, Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **1144**, 97–112 (2008). Doi: <https://doi.org/10.1196/annals.1418.005>
18. A. Baskys & M. Blaabjerg. Understanding regulation of nerve cell death by mGluRs as a method for development of successful neuroprotective strategies. *J. Neurol. Sci.*, **229-230**, 201–209 (2005). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jns.2004.11.028>
19. O.J. Onaolapo, A.Y. Onaolapo, M.A. Akanmu & O. Gbola. Evidence of alterations in brain structure and antioxidant status following 'low-dose' monosodium glutamate ingestion, *Pathophysiology*, **23**(3), 147–156 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2016.05.001>
20. A.M. El-Mahalaway & N.E. El-Azab. The potential neuroprotective role of mesenchymal stem cell-derived exosomes in cerebellar cortex lipopolysaccharide-induced neuroinflammation in rats: a histological and immunohistochemical study, *Ultrastruct. Pathol.*, **44**(2), 159–173 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1080/01913123.2020.1726547>
21. H. Ka, D. Shufa, X. Pengcheng, S. Sangita, W. Huijun, Z. Fengying & P. Barry. Consumption of monosodium glutamate in relation to incidence of overweight in Chinese adults: China Health and

- Nutrition Survey (CHNS). *Am. J. Clin. Nutr.*, **93**(6), 1328–1336 (2011). Doi: <https://doi.org/10.3945/ajcn.110.008870>
22. R. Roman-Ramos, J.C. Almanza-Perez, R. Garcia-Macedo, G. Blancas-Flores, A. Fortis-Barrera, E.I. Jasso, *et al.* Monosodium glutamate neonatal intoxication associated with obesity in adult stage is characterized by chronic inflammation and increased mRNA expression of peroxisome proliferator-activated receptors in mice. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, **108**(6), 406–413 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1742-7843.2011.00671.x>
23. A.D. Alalwani. Monosodium glutamate induced testicular lesions in rats (histological study). *Middle East Fertil. Soc. J.*, **19**(4), 174–280 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.mefs.2013.09.003>
24. D.T. Oluwole, O.S. Ebiwonjumi, L.O. Ajayi, O.D. Alabi, V. Amos, G. Akanbi, *et al.* Disruptive consequences of monosodium glutamate on male reproductive function: A review. *Curr. Res. Toxicol.*, **6**, 100148 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.crttox.2024.100148>
25. L. Yu, Y. Zhang, R. Ma, L. Bao, J. Fang & T. Yu. Potent protection of ferulic acid against excitotoxic effects of maternal intragastric administration of monosodium glutamate at a late stage of pregnancy on developing mouse fetal brain. *Eur. Neuropsychopharmacol.*, **16**(3), 170–177 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.euroneuro.2005.08.006>
26. I. Mukherjee, S. Biswas, S. Singh, J. Talukdar, M.S. Alqahtani, M. Abbas, *et al.* Monosodium glutamate perturbs human trophoblast invasion and differentiation through a reactive oxygen species-mediated pathway: An in-vitro assessment. *Antioxidants*, **12**(3), 634 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/antiox12030634>
27. S. Umukoro, G.O. Oluwole, H.E. Olamijowon, A.I. Omogbiya & A.T. Eduviere. Effect of monosodium glutamate on behavioral phenotypes, biomarkers of oxidative stress in brain tissues and liver enzymes in mice. *World J. Neurosci.*, **5**(5), 339 (2015). Doi: <https://doi.org/10.4236/wjns.2015.55033>
28. C. Dow, B. Balkau, F. Bonnet, F. Mancini, K. Rajaobelina, J. Shaw, D.J. Magliano & G. Fagherazzi. Strong adherence to dietary and lifestyle recommendations is associated with decreased type 2 diabetes risk in the AusDiab cohort study. *Prev. Med.*, **123**, 208–216 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ypmed.2019.03.006>
29. S. Saeidnia & M. Abdollahi. Toxicological and pharmacological concerns on oxidative stress and related diseases. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, **273**(3), 442–455 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.taap.2013.09.031>
30. E.A. Elbassuoni, M.M. Ragy & S.M. Ahmed. Evidence of the protective effect of l-arginine and vitamin D against monosodium glutamate-induced liver and kidney dysfunction in rats. *Biomed. Pharmacother.*, **108**, 799–808 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.09.093>
31. A. Sharma. Monosodium glutamate-induced oxidative kidney damage and possible mechanisms: A mini-review. *J. Biomed. Sci.*, **22**(1), 93 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12929-015-0192-5>
32. O.A. Ikebunwa. Evaluation of the cardiac effect of monosodium glutamate (Ajinomoto) in albino rats. *Open Access Res. J. Life Sci.*, **5**(2), 57–62 (2023). Doi: <https://doi.org/10.53022/oarjls.2023.5.2.0036>
33. S.M. Hazzaa, E.S. El-Roghy, M.A. Abd-Eldaim & G.E. Elgarawany. Monosodium glutamate induces cardiac toxicity via oxidative stress, fibrosis, and P53 proapoptotic protein expression in rats. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.*, **27**(16), 20014–20024 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11356-020-08436-6>
34. S.J. Dumas, G. Bru-Mercier, A. Courboulon, M. Quatrederieniers, C. Rücker-Martin, F. Antigny, *et al.* NMDA-type glutamate receptor activation promotes vascular remodeling and pulmonary arterial hypertension. *Circulation*, **137**(22), 2371–2389 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1161/circulationaha.117.029930>
35. K. Niaz, E. Zaplatic & J. Spoor. Extensive use of monosodium glutamate: A threat to public health? *EXCLI J.*, **17**, 273–278 (2018). Doi: <https://doi.org/10.17179/excli2018-1092>
36. L. Yang, Y. Gao, J. Gong, L. Peng, H.R. El-Seedi, M.A. Farag, Y. Zhao & J. Xiao. A multifaceted review of monosodium glutamate effects on human health and its natural remedies. *Food Mater. Res.*, **3**, 16 (2023). Doi: <https://doi.org/10.48130/fmr-2023-0016>

37. S. Çakmakçı & M.A. Salik. Monosodium glutamate (MSG) as a food additive and comments on its use. *4th International Conference on Advanced Engineering Technologies*, 28-30 September 2022, Bayburt, Turkey, 2022; pp. 298–295. URL: https://www.researchgate.net/publication/365345207_Monosodium_Glutamate_MSG_as_a_Food_Additive_and_Comments_on_Its_Use
38. M. Soyseven, H.Y. Aboul-Enein & G. Arli. Development of a HPLC method combined with ultraviolet/diode array detection for determination of monosodium glutamate in various food samples. *Int. J. Food Sci. Technol.*, **56**(1), 461–467 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1111/ijfs.14661>
39. S.L. Zandy, J.M. Doherty, N.D. Wibisono & R.A. Gonzales. High sensitivity HPLC method for analysis of in vivo extracellular GABA using optimized fluorescence parameters for o-phthalaldehyde OPA/sulfite derivatives. *J. Chromatogr. B, Anal. Technol. Biomed. Life Sci.*, **1055–1056**, 1–7 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2017.04.003>
40. B.E. Demirhan, B. Demirhan, C. Sönmez, H. Torul, U. Tamer & G. Yentür. Monosodium glutamate in chicken and beef stock cubes using high-performance liquid chromatography. *Food Addit. Contam. Part B Surveill.*, **8**(1), 63–66 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1080/19393210.2014.991355>
41. V. Husarova & D. Ostatnikova. Monosodium glutamate toxic effects and their implications for human intake: A review. *JMED Res.*, **2013**, 608765 (2013). Doi: <https://doi.org/10.5171/2013.608765>

HOW TO CITE THIS ARTICLE

F. Bitar, M.A. Jawad & A. Odeh. Estimation of monosodium glutamate (MSG) added to some food products in Syrian markets. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 689–704 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.122679>

Annulment and amelioration of cadmium toxicity through dietary countermeasures

Saha Rajsekhar^{1*}, Thakur Alok Singh² & Kaur Chanchal Deep³

¹Shri Rawatpura Sarkar Institute of Pharmacy, Kumhari, Durg, India

²Shri Shankaracharya Institute of Pharmaceutical Sciences, Junwani, Durg, India

³Rungta College of Pharmaceutical Sciences, Nandanvan, Raipur, India

*Corresponding author E-mail: rajsekhsaha86@gmail.com

Received: December 24, 2024

Corrected: July 22, 2025

Accepted: July 29, 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.122701>

SUMMARY

Background: Cadmium (Cd) is an environmental toxin that penetrates most parts of the environment and causes significant health hazards when it accumulates in the human body. Chronic Cd exposure, particularly in individuals with metabolic disorders like diabetes, leads to oxidative stress, inflammation, and organ damage. **Purpose:** This study aimed to establish whether dietary herbs, present in the polluted regions, can neutralize and reverse Cd-induced toxicity. **Methodology:** Main focus to assess the efficiency of the herbs in reducing Cd toxicity and enhancing biological health indices. *Enhydra fluctuans* (Lour) is the dietary herb used. Using 20 rats of either sex exposed to Cd and then treated with selected edible herbs known for their detoxifying properties, a controlled laboratory experiment was conducted. Compared to controls, the treated groups' Cd levels significantly decreased, and the related harmful effects improved. **Results:** *E. fluctuans*-treatment group showed significant decreases in blood glucose levels and normalization of liver enzymes (AST, ALT, ALP, bilirubin). Kidney function tests showed improvement in serum creatinine, BUN, uric acid, and urine protein levels. Histological studies confirmed preserved cellular architecture of the liver, kidney, and pancreas. **Conclusion:** *E. fluctuans* presents potent antidiabetic, antioxidant, hepatoprotective, and nephroprotective effects to help ameliorate systemic toxicity from Cd exposure. **Contribution:** The finding of the study supports the potential of *E. fluctuans* as an affordable, natural dietary response to heavy metal contamination, especially in environmentally exposed and metabolically compromised and metabolic stress, as well as providing meaningful contributions to the specific area of herbal toxicology and public health nutrition.

Keywords: Cadmium toxicity; dietary herb; *Enhydra fluctuans*; detoxification.

RESUMEN

Anulación y mejora de la toxicidad del cadmio mediante medidas dietéticas

Antecedentes: El cadmio (Cd) es una toxina ambiental que penetra en la mayor parte del medio ambiente y causa importantes riesgos para la salud al acumularse en el cuerpo humano. La exposición crónica al Cd, especialmente en personas con trastornos metabólicos como la diabetes, provoca estrés oxidativo, inflamación y daño orgánico. **Objetivo:** Este estudio tuvo como objetivo determinar si las hierbas dietéticas presentes en regiones contaminadas pueden neutralizar y revertir la toxicidad inducida por Cd. **Metodología:** El objetivo principal fue evaluar la eficacia de las hierbas para reducir la toxicidad del Cd y mejorar los indicadores de salud biológica. La hierba dietética utilizada fue *Enhydra*

fluctuans (Lour). Se realizó un experimento de laboratorio controlado con 20 ratas de ambos sexos expuestas al Cd y posteriormente tratadas con hierbas comestibles seleccionadas conocidas por sus propiedades desintoxicantes. En comparación con los controles, los niveles de Cd de los grupos tratados disminuyeron significativamente y los efectos nocivos relacionados mejoraron. **Resultados:** El grupo tratado con *E. fluctuans* mostró una disminución significativa de los niveles de glucosa en sangre y la normalización de las enzimas hepáticas (AST, ALT, ALP, bilirrubina). Las pruebas de función renal mostraron una mejoría en los niveles de creatinina sérica, nitrógeno ureico en sangre (BUN), ácido úrico y proteínas en orina. Los estudios histológicos confirmaron la conservación de la arquitectura celular del hígado, el riñón y el páncreas. **Conclusión:** *E. fluctuans* presenta potentes efectos antidiabéticos, antioxidantes, hepatoprotectores y nefroprotectores que ayudan a mejorar la toxicidad sistémica por exposición al Cd. **Contribución:** Los hallazgos del estudio respaldan el potencial de *E. fluctuans* como una respuesta dietética natural y asequible a la contaminación por metales pesados, especialmente en personas con exposición ambiental y metabolismo comprometido, así como en personas con estrés metabólico, además de realizar contribuciones significativas al área específica de la toxicología herbaria y la nutrición en salud pública.

Palabras clave: Toxicidad por cadmio; hierba dietética; *Enhydra fluctuans*; desintoxicación.

RESUMO

Anulação e melhora da toxicidade do cádmio por meio de medidas dietéticas

Contexto: O cádmio (Cd) é uma toxina ambiental que penetra na maior parte do ambiente e causa riscos significativos à saúde quando se acumula no corpo humano. A exposição crônica ao Cd, particularmente em indivíduos com distúrbios metabólicos como diabetes, leva ao estresse oxidativo, inflamação e danos aos órgãos. **Objetivo:** Este estudo teve como objetivo estabelecer se as ervas dietéticas, presentes em regiões poluídas, podem neutralizar e reverter a toxicidade induzida pelo Cd. **Metodologia:** O foco principal foi avaliar a eficiência das ervas na redução da toxicidade do Cd e na melhoria dos índices biológicos de saúde. *Enhydra fluctuans* (Lour) é a erva dietética utilizada. Utilizando 20 ratos de ambos os sexos expostos ao Cd e posteriormente tratados com ervas comestíveis selecionadas, conhecidas por suas propriedades desintoxicantes, foi conduzido um experimento controlado em laboratório. Em comparação com os controles, os níveis de Cd dos grupos tratados diminuíram significativamente e os efeitos nocivos relacionados diminuíram. **Resultados:** O grupo tratado com *E. fluctuans* apresentou reduções significativas nos níveis de glicemia e normalização das enzimas hepáticas (AST, ALT, ALP, bilirrubina). Os testes de função renal mostraram melhora nos níveis séricos de creatinina, ureia, ácido úrico e proteína na urina. Estudos histológicos confirmaram a preservação da arquitetura celular do fígado, rins e pâncreas. **Conclusão:** *E. fluctuans* apresenta potentes efeitos antidiabéticos, antioxidantes, hepatoprotetores e nefroprotetores para ajudar a amenizar a toxicidade sistêmica da exposição ao Cd. **Contribuição:** Os achados do estudo corroboram o potencial de *E. fluctuans* como uma resposta dietética natural e acessível à contaminação por metais pesados, especialmente em indivíduos expostos ao ambiente e com comprometimento metabólico, além de fornecer contribuições significativas para a área específica de toxicologia de ervas e nutrição em saúde pública.

Palavras-chave: Toxicidade por cádmio; erva dietética; *Enhydra fluctuans*; desintoxicação.

1. INTRODUCTION

Cadmium (Cd) is a metallic compound that belongs to the XIIth group of the periodic table. It is a soft, silvery-white metal that is similar to zinc and mercury in both chemical and physical properties [1]. Over the past century, exposure to Cd has been determined to take place in an extensive number of ways as a result of several human activities [2]. Cd is widely utilized in

several industrial sectors as a corrosive reagent and as a stabilizing agent in PVC products, dyes, and Ni-Cd batteries. Activities like this are the main causes of cadmium pollution [3]. Cd is also present in facilities for recycling electronic waste and non-ferrous metallic smelters. The increase in Cd concentration in soil, water, and atmosphere is also due to the gradual erosion and abrasion of rocks, volcanic activities, and forest fires. This metal contaminates soil and is released into the environment by even zinc, lead, and copper miners [4].

Absorption through the epidermis is quite rare; the respiratory and gastrointestinal systems absorb Cd to a lesser extent. Through albumin and erythrocytes, Cd enters the bloodstream and is then deposited in the kidneys [5], liver, and intestines [6]. Cd is gradually removed from the body through the kidneys, milk, saliva, and urine when nursing. Human exposure to Cd can cause several adverse effects, such as testicular damage, osteomalacia, renal and hepatic dysfunction, pulmonary edema, and damage to the adrenal glands and hemopoietic system [7]. Urine and Blood Additionally connected to atherogenic lipid profile changes, peripheral artery disease, coronary heart disease, and stroke were levels of Cd exposure. Cd has cytotoxic effects that can result in necrotic or apoptotic processes, and it is also known to cause cancer in humans [8].

Cd is known to exhibit strong environmental toxicity, an agent significantly known to induce diabetes and other metabolic disorders. It exerts its harmful effects through oxidative stress, inflammation, and disruption of cellular functions, impairing especially pancreatic β -cells and insulin signaling pathways [9]. In contrast to in-depth studies related to the adversities of its impacts, lesser attention has been paid to natural dietary remedies that can counterbalance these impacts. In the most contaminated areas of water, soil, and air with high Cd toxicity, humans and animals are frequently exposed to chronic Cd toxicity [10]. However, several individuals living in such contaminated areas remain healthy, probably due to their unintentional intake of dietary bioactive compounds that may neutralize Cd toxicity [11]. Among the promising natural remedial measures, one is the aquatic herb *Enhydra fluctuans* (Lour), largely consumed by several populations. Bioactive phytochemicals and antioxidants are abundant in *E. fluctuans* plants. Therefore, this study analyses the variations that might be a viable dietary intervention that helps remove Cd, reduce oxidative stress, and preserve metabolic efficiency.

1.1. Pharmacology of *Enhydra fluctuans* (Lour)

Marshy terrain is where *Enhydra fluctuans* (Lour) has been reported to grow. India, Nepal, Bangladesh, Sri Lanka, Myanmar, Thailand, Vietnam, and Malaysia are among the nations that use the plant as food. *E. fluctuans* occurs natively in India on ponds, riverbanks, wetlands, and marshes throughout the country [12]. It is noteworthy that it occurs in the Sundarbans of West Bengal, the marshy lands of Kerala, and Assam's marshes. In Sri Lanka, it grows in wetlands, paddy fields, and along riverbanks among the aquatic and marshy habitats [13]. Particular places are the wetlands of Anuradhapura and Polonnaruwa, as well as the coastal areas of Mannar and Jaffna. *E. fluctuans* can also be found in Southeast Asian countries such as Bangladesh, Myanmar, and Thailand. It blooms in wetland conditions, such as riverine, marshy, and swampy environments. The following are some specific locations the Brahmaputra River in Bangladesh and the Ayeyarwady River in Myanmar [14].

1.1.1. Botanical classification of *E. fluctuans* [14]

Kingdom: Plantae. Division: Magnoliophyta. Class: Magnoliopsida. Order: Asterales. Family: Asteraceae. Genus: *Enhydra*. Species: *fluctuans*.

1.1.2. Vernacular names used for *E. fluctuans* [14]

Table 1 shows the common vernacular names of *E. fluctuans*

Table 1. Common vernacular names of *E. fluctuans*

Languages	Names
Hindi	Raktakarabi, Harkuch, Matsayaakshi
English	Marsh herb, Watercress
Sanskrit	Achari, Jalabramhi, Bramhi, Shankhadhara, Chakrangi, Helanchi, Hilamochika, Vishaghni, Himamocika, Mambi, Trinittaparni, Matsyakshi, Matsyangi, Mochi, Rochi, Sasasrutih
Tamil	Karunkal Nerunjil
Malaya-lam	Kanakanti
Gujarati	Jalkand
Punjabi	Raktakarabi
Urdu	Raktakarabi
Bengali	Jalkarabi, Hingcha, Hinchha

1.2. Pharmacological action of *E. fluctuans*

1.2.1. Analgesic and anti-inflammatory action

The analgesic activity of *E. fluctuans* extract is studied by Patra *et al.* on the experimental models. A researched the analgesic activity of *E. fluctuans* extract on experimental models utilizing a variety of pain assessment tests [15], such as the acetic acid-induced writhing test, the tail immersion test, the hot plate test, and the formalin-induced paw-licking test. Because of the reduced paw-licking reaction in the formalin test, raised pain tolerance in heat tests, and fewer trembles, the results showed a substantial decrease in discomfort. These findings, therefore, indicate that *E. fluctuans* influences the pain pathways through its analgesic activity [16]. In the same way, further supported these results as they showed that the extract possessed a great level of acetic acid-induced writhing inhibition [17], which might mean it would modulate pain perception. Besides, the extract is anti-inflammatory and could be a mechanism of how it mediates analgesia through the prevention of pain induction by inflammation as illustrated by its inhibition of carrageenan-induced paw edema [18].

1.2.2. Anti-diarrheal activity

Numerous investigations have examined the pharmacological characteristics of *E. fluctuans* and its application as a treatment for diarrhea. In an investigation by Uddin *et al.*, aqueous and methanolic extracts of *E. fluctuans* proved to have highly significant anti-diarrheal efficacy against castor oil-induced diarrhea in mice. During the test, both the methanolic and aqueous extracts were administered orally at 250 mg/kg body weight in mice. An inhibition rate of 67.07% is shown in the methanolic extract and an inhibition rate of 41.18% is shown in the aqueous extract of *E. fluctuans*. As compared to this, an 84.70% inhibition rate was found in the standard medicine loperamide. Also, the methanolic extract has shown its action against *Shigella flexneri*, *Shigella dysenteriae*, and *Shigella boydii*. The anti-diarrheal action of methanolic extract may be related to prostaglandin inhibition [19].

1.2.3. Anticancer activity

The presence of *E. fluctuans* has been attributed to antioxidant activity from flavonoids such as baicalein 7-O-diglucoside and baicalein 7-O-glucoside. High ROS levels result in cellular damage, which includes mitosis, hence raising the possibility of DNA mutation [20]. The suppression of Ehrlich's ascites carcinoma (EAC) in Swiss albino mice provides evidence of this

plant's anticancer properties. By measuring the tumor's size, number of cells, and proportion of viable and non-viable cells, Sannigrahi *et al.* evaluated the anticancer efficacy. The flavonoids improved life expectancy, restored hematological indicators such as malondialdehyde concentration and antioxidant enzyme activity, and dramatically reduced tumor volume [21]. Stefani *et al.*, from their experiment, have recommended that flavonoids are effective in cancer prevention either through modulation of the defense enzyme system or lipid peroxidation [22].

1.2.4. Cytoprotective activity

The cytoprotective activity demonstrated by *E. fluctuans* aqueous extracts protected against heavy metal toxicity [23]. In particular, the aqueous extract restored lead acetate-induced cell viability reduction in hepatocytes and defended against cytotoxic effects caused by NaAsO₂ in hepatocytes. These effects included the counteraction of protein carboxylation, alterations in transcription protein levels, lipid peroxidation, and a decrease in glutathione levels in hepatocytes. Besides, the water extract was proven to have cytoprotective potential against arsenic bioaccumulation, relieving arsenic-induced abnormalities in hematological constraints and redox imbalance in mouse liver. Moreover, exposure to the water extract considerably reverses CdCl₂-induced decreased cell viability. Studies show that the aqueous extract of *E. fluctuans* has remarkable anti-oxidant properties against oxidative stress and Cd bioaccumulation in the kidney, liver, heart, brain, testes of mice, and brain [24].

1.2.5. Hepatoprotective activity

Phytoconstituents present in the plant *E. fluctuans* conferred hepatoprotective activity. Assays against carbon-tetrachloride-induced oxidative damage in rats significantly reduced the levels of alkaline phosphatase, total bilirubin, SGOT, and SGPT with ethyl acetate, petroleum ether, chloroform, and extracts of ethanol from the aerial parts of the plant. It also caused protection against extensive necrosis and steatosis that occurred after exposure to carbon tetrachloride [25]. Protection mechanisms include the enhancement of the enzymatic defense mechanism towards a restorative biological parameter, the inhibition of lipid peroxidation, and tissue integrity.

1.2.6. Anti-helminthic activity

Kuri *et al.* analyzed the anti-helminthic activity of *E. Fluctuans* via methanolic extraction, exhibiting its paralytic action on the earthworm species *Pheretima posthuma*. The extract's various concentrations were assessed and contrasted with the common anti-helminthic medication albendazole. The findings indicated that *E. fluctuans* extract significantly exceeded that of Albendazole by length of paralysis and time to death of the earthworms, illustrating that *E. Fluctuans* is a rich source of active compounds that could act as an excellent anti-helminthic drug besides providing an alternative to parasitic infestations without conventional treatments.

1.2.7. Anti-microbial activity

Bhakta *et al.* have demonstrated the promising antimicrobial activity of a methanolic extract from *E. Fluctuans.*, most importantly against *Staphylococcus aureus* [26]. In addition, the extract shows moderate antibacterial effects towards numerous Gram-negative and Gram-positive bacteria, which could indicate broad-spectrum antibacterial potential [27]. Moreover, *E. fluctuans* presented strong antifungal activity by inhibiting *Aspergillus niger*, *Fusarium sp.*, and *Aspergillus fumigatus*; this, therefore has the use as a potential natural antifungal agent. Besides, bioactive phytochemicals isolated from *E. fluctuans* using High-Performance Liquid Chroma-

tography (HPLC) were studied for their antibacterial activity [28]. Certain compounds identified as responsible for the inhibition of growth in extracts show antibacterial properties; thus, expanding knowledge of the bioactive properties of the plant and how it could be used to fight microbial diseases. These results support the development of natural antimicrobial agents from *E. fluctuans* [29].

1.2.8. Thrombolytic activity

E. fluctuans methanolic extract has shown high thrombolytic activity, which may act as a plasminogen activator. According to Kuri *et al.*, at a concentration of 10 mg/mL, the extract showed 31% thrombolytic activity than that of streptokinase, the standard thrombolytic agent. The thrombolytic impact increased in tandem with the methanolic extract's dosage rise, according to their study. This means that *E. fluctuans* could have potential therapeutic applications for disorders that require a breakdown, such as in the treatment of thromboembolic disorders. The extract may also have the capacity to activate the plasminogen to become part of the natural alternative thrombolytic agents [30].

1.2.9. Antioxidant activity

E. fluctuans' antioxidant activity has significant therapeutic potential because it has been demonstrated to guard against illnesses linked to oxidative stress. The action results from the abundance of phenolic substances, including flavonoids and phenolic acids, which are strong scavengers of free radicals and decrease oxidative stress [31]. Flavonoids like apigenin, luteolin, kaempferol, and quercetin can act as powerful antioxidants since they are known to suppress lipid peroxidation, thus protecting cells from oxidative damage [32]. Besides the inhibitory effect on oxidative stress-related enzymes such as xanthine oxidase and acetylcholinesterase which minimized the production of reactive oxygen species, the *E. fluctuans* extracts showed appreciable total antioxidant capacity through DPPH and FRAP assays in neutralizing free radicals [33]. In addition, *E. fluctuans* extracts have demonstrated cytoprotective effects, protecting the cells against oxidative damage and antioxidant enzyme function in cellular models.

2. MATERIALS AND METHODS

This study uses a rat model of diabetes to investigate how dietary treatments protect against Cd-induced damage. Induced diabetes in the rat model is done specifically with streptozotocin (STZ) and nicotinamide-induced diabetes. The experiment was conducted using twenty rats of both sexes that weighed between 160 g and 210 g, bred in the animal facility of Shri Pharmaceutical Institute Rawatpura, Kumhari, Durg, Chhattisgarh, India. According to earlier methods, STZ was administered intra-peritoneally at a dosage of 40 mg/kg to cause diabetes. To guarantee successful induction of diabetes, nicotinamide was directed at a dosage of 80 mg/kg before the administration of STZ. HI Media, Thane, Maharashtra, was the source of STZ, while Molychem, Mumbai, provided nicotinamide and Cd chloride. The study will evaluate diabetic rats exposed to Cd and assess possible protective impacts from dietary treatments. For this purpose, the work will monitor all the mentioned bioindicators of oxidative stress, inflammation, and organ functionality throughout the study to assess the therapeutic outcome.

Rats were first split up into four groups to assess the impacts of Cd poisoning and the effectiveness of a protective therapy. Group 1 was taken as diabetic control, only STZ and

nicotinamide were given to them to induce diabetes. In group 2, the treatment of STZ, nicotinamide, and the effect of Cd toxicity was assessed using Cd chloride in a diabetic model. Group 3 was administered STZ, nicotinamide, and Cd chloride. A protective treatment, aimed at reducing Cd toxicity, was given to all of them. Finally, Group 4 was taken as the reference control where metformin was administered as an antidiabetic drug. All groups received STZ and nicotinamide on day 0 to induce diabetes. Cd chloride 8 mg/kg was administered intraperitoneally from day 1 to day 7, prepared in saline, and given to Groups 2 and 3. Meanwhile, Group 3 had the protective treatment on the same schedule. This experimental set-up allowed a comparative study of the effects of Cd versus the protective treatment on toxicity induced by diabetes.

The experimental rats' blood glucose levels were monitored using the GLUCO-One BG-03 Blood Glucose Meter by Dr. Morepen, New Delhi, on days 1, 4, and 7 of the study to track glycemic changes associated with treatments. On day 7, the rats were euthanized to enable organ harvesting for blood sampling and analysis. The kidneys and livers were dissected meticulously with care and preserved in 10% formalin solution, as this would ensure effective fixing for histopathological studies. The experiments aimed at explaining the structural changes and pathological alterations caused by diabetes and Cd toxicity. The treatment given to protect the rats was also indicated in the study. Blood samples were taken for a comprehensive biochemical evaluation, which included liver function tests, renal function tests, and amylase tests to determine the systemic effects of the treatments. These evaluations provide crucial information regarding the physiological and biochemical effects of Cd toxicity and whether there is any protective efficacy of the tested intervention.

Assessing the consequences of Cd-induced toxicity in a diabetic rat model and figuring out if the preventive medication successfully lessens the harmful effects of Cd are the goals of the study. Comparison will be drawn between Group 2 which received only Cd chloride, Group 3 which received Cd chloride, STZ, and nicotinamide oral administration of *Enhydra fluctuans* ethanol extract, which was administered. This dose was established based on toxicity studies and evidence in the literature. And Group 4 is treated with Metformin, used here as a positive control for antidiabetic response by serving as a standard against which the glycemic effects of *E. fluctuans* could be assessed, and does not serve as a control for Cd toxicity. The study aims to investigate the potential of protective treatment in reducing Cd-induced toxicity and its associated complications in diabetic conditions through analysis of differences in biochemical, histopathological, and physiological parameters. This investigation mainly deals with the capability of protective treatment in disease progression prevention, vital organ protection, and counteraction of oxidative stress and inflammation caused by Cd exposure. This work is likely to provide important insights into Cd toxicity management strategies within diabetic models, leading eventually to therapeutic approaches protecting from heavy metal-induced damage in at-risk populations.

The test plant used for this study is *Enhydra fluctuans* (Lour) which is identified from the herbal garden of Mahaveer College of Ayurvedic Sciences, Rajnandgaon, Chhattisgarh. Dry plant material was powdered under shades at the Rasayanshala of the same institute. Cold maceration with defatting as an initial step was the process that was followed for extraction. In this, the powdered material was treated with petroleum ether to remove the fats and impurities. The ethanol extract was obtained by macerating the plant powder in ethanol for seven days with continuous stirring involved in the process to completely extract the bioactive compounds present in the plants. This mixture was then filtered at the end of the extraction time to separate the plant residue, and the solvent was left to evaporate to gain the dried ethanol

extract. This was screened for phytochemical content to identify the active constituents present, thus providing key information for an understanding of the plant's therapeutic potential.

3. RESULTS

3.1. Microscopic images

The images represent histological sections of normal cells, Streptozotocin and nicotinamide-induced Rat cells, and Cd-induced Rat cells of (liver, kidney, and pancreas). Various experimental conditions, stained with hematoxylin and eosin (H&E) at appropriate magnification. These panels depict structural alterations across control and treated groups. Figures 1 to 3 show histopathological examination of liver, kidney, and pancreas in rat models.

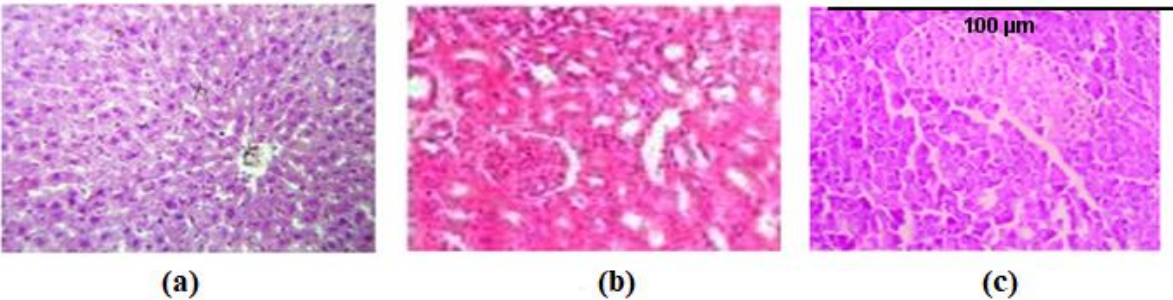


Figure 1. Normal cells of rat models: a) liver, b) kidney, c) pancreas.

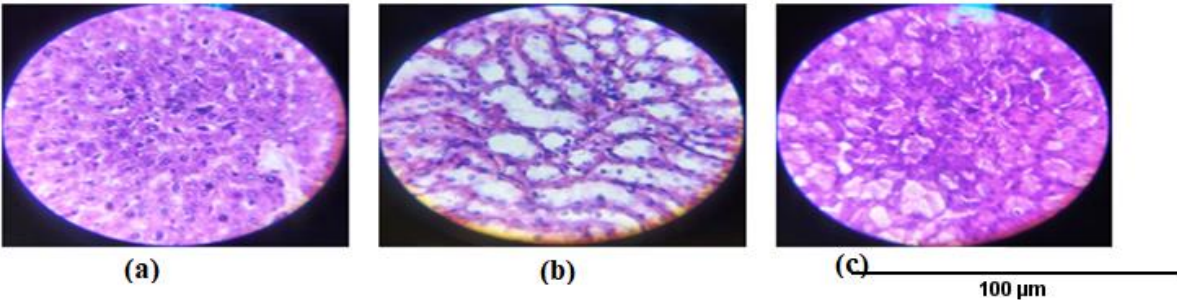


Figure 2. Streptozotocin and nicotinamide-induced rat cells: a) liver, b) kidney, c) pancreas.

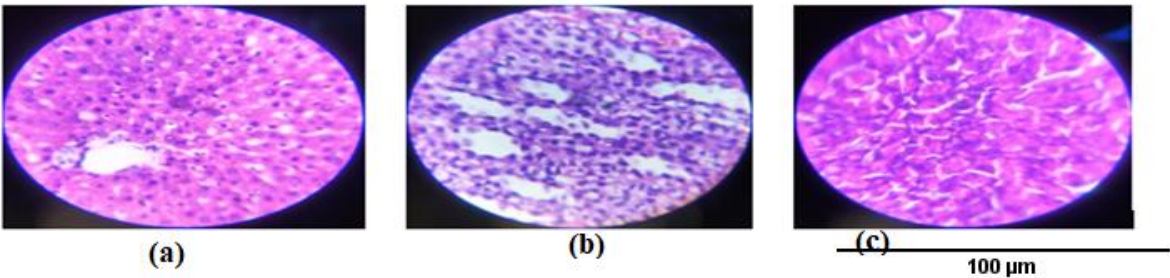


Figure 3. Cd-induced rat cells: a) liver, b) kidney, c) pancreas

3.2. Blood glucose level test

Table 2 shows Group 1 (STZ + Nicotinamide): The blood glucose levels in this group were significantly elevated (400-450 mg/dL), confirming the induction of diabetes by STZ in combination with nicotinamide. This increase is attributed to the destruction of pancreatic β -cells by STZ, leading to insulin deficiency and hyperglycemia.

Table 2. Blood glucose level test results

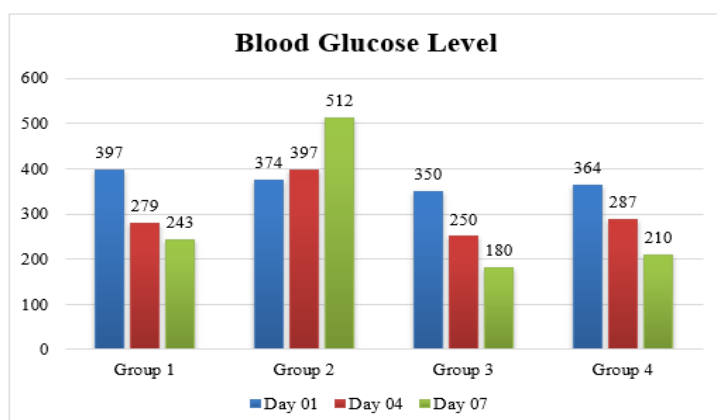
Group	Treatment	Blood glucose levels (mg/dL, mean $\pm$ SD)
Group 1	Streptozotocin + Nicotinamide	425 $\pm$ 12.5
Group 2	Streptozotocin + Nicotinamide + Cd Chloride	475 $\pm$ 12.5
Group 3	Streptozotocin + Nicotinamide + Cd Chloride + Protective treatment (<i>E. fluctuans</i>)	325 $\pm$ 12.5
Group 4	Metformin (Control)	110 $\pm$ 5.0

Group 2 (STZ + Nicotinamide + CdCl₂): This group exhibited even higher blood glucose levels (450-500 mg/dL) compared to Group 1, indicating the exacerbation of hyperglycemia due to Cd chloride toxicity. CdCl₂ is known to induce oxidative stress and further damage β -cells, leading to aggravated hyperglycemia.

Group 3 (STZ + Nicotinamide + CdCl₂ + *E. fluctuans*): Notably, the rats in this group displayed significantly lower blood glucose levels (300-350 mg/dL) compared to Group 2. This suggests that *E. fluctuans* has a protective effect against Cd-induced toxicity, likely due to its antioxidant properties, which help to preserve β -cell function and reduce hyperglycemia.

Group 4 (Metformin control): As expected, the control group treated with metformin, a standard antidiabetic drug, maintained normal blood glucose levels (100-120 mg/dL), serving as a benchmark for effective glucose regulation.

Figure 4 shows the impact of various treatments on blood glucose levels in different experimental groups. Diabetes was induced with streptozotocin in combination with nicotinamide, and the effects revealed significant hyperglycemia. The further addition of Cd chloride worsened these effects, thus suggesting that the metal aggravates oxidative damage and β -cell injury. Notably, in terms of the group that received a combination of *E. fluctuans* along with Cd chloride, they manifested lower blood glucose levels, meaning there existed a protective as well as antihyperglycemic potential of this herb. The control receiving metformin had normal levels of blood glucose, setting it at par for standard glucose handling. These observations, hence, indicate *E. fluctuans* as a potentially good defensive agent against Cd-induced hyperglycemia.

**Figure 4.** Graph of blood glucose level

3.3. Liver Function Test

Hepatotoxicity caused by Cd Cl₂ was shown by the drastically elevated levels of liver enzymes (AST, ALT, and ALP) in Group 2. On the other hand, Group 3, which was given *E. fluctuans*,

had lower levels of these enzymes, indicating that the preventive therapy lessened liver damage. *E. fluctuans* hepatoprotective impact is demonstrated by Group 3's near-normal enzyme levels when compared to Group 4's control is shown above the table 3.

Table 3. Liver function test results

Group	AST (U/L)	ALT (U/L)	ALP (U/L)	Total bilirubin (mg/dL)
Group 1	150-180	70-90	200-250	0.8-1.2
Group 2	200-250	100-130	300-350	1.5-2.0
Group 3	130-160	60-80	180-220	0.7-1.0
Group 4	80-100	30-50	100-150	0.3-0.7

3.3.1. Total Bilirubin: Similarly, total bilirubin levels were highest in Group 2, reflecting impaired liver function due to CdCl₂. The reduction in bilirubin levels in Group 3 indicates the restoration of liver function, further supporting the protective role of *E. fluctuans*.

3.4. Kidney Function Test

Table 4 explains the Group 2 exhibited elevated serum creatinine and BUN levels, indicating renal impairment due to CdCl₂ toxicity. The reduced levels observed in Group 3 suggest that *E. fluctuans* offers renal protection, likely by combating oxidative stress and preserving renal function.

Table 4. Serum-based kidney function parameters

Group	Serum creatinine (mg/dL)	BUN (mg/dL)	Uric acid (mg/dL)
Group 1	1.0-1.2	25-35	2.0-2.5
Group 2	1.5-2.0	40-50	3.0-4.0
Group 3	0.8-1.0	20-30	1.5-2.0
Group 4	0.5-0.7	15-25	1.0-1.5

Uric Acid: Elevated uric acid levels in Group 2 further indicate renal dysfunction, while the reduction in Group 3 points to the efficacy of *E. fluctuans* in ameliorating CdCl₂-induced nephrotoxicity.

3.5. Renal Function Test

Table 5 explains the Group 2 showed increased proteinuria, a sign of kidney damage, which was significantly reduced in Group 3, indicating the shielding effect of *E. fluctuans* on renal function.

Table 5. Urine-based renal function parameters

Group	Urine protein (mg/24h)	Urine volume (mL/24h)	Creatinine clearance (mL/min)
Group 1	20-30	15-20	1.2-1.5
Group 2	40-50	10-15	0.8-1.0
Group 3	15-25	18-22	1.3-1.6
Group 4	10-15	20-25	1.5-1.8

Urine volume and creatinine clearance: Reduced urine volume and creatinine clearance in Group 2 reflect impaired renal function, whereas Group 3 showed near-normal values, further confirming the renoprotective role of *E. fluctuans*.

4. DISCUSSION

The current study's results match previous studies showing the ability of antioxidants derived from plants to reduce toxicity caused by Cd. For instance, a study on the efficacy of *Phyllanthus emblica* against Cd-induced oxidative stress and hyperglycemia in diabetic models with special emphasis on the potential of phenolic compounds to preserve pancreatic beta-cell functions and reduce oxidative stress [34]. Similarly, the outcomes found in Group 3 of the present study, wherein the *E. fluctuans* drastically decreased the concentration of blood glucose in contrast to the Cd-treated Group 2, imply that bioactive compounds from the plant flavonoids and phenolic acids are of vital significance in searching free radicals and defending the beta cells from oxidative injury.

The hepatoprotective effects noted in this study are also associated with research studies conducted on other antioxidant-rich plants. A study showed that extracts of *Curcuma longa* reduce Cd-induced liver injury through decreases in the levels of hepatic enzymes and markers of oxidative stress [35]. The present investigation showed that there was a significant reduction in alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, alkaline phosphatase, and total bilirubin levels of Group 3 treated with *E. fluctuans* which suggests similar mechanisms of action that may involve inhibition of lipid peroxidation and stabilization of cellular membranes. This leads to the fact that the action of *E. fluctuans* might involve pathways similar to other well-established plants for hepatoprotection [36].

The reno-protective findings of this study are reliable with that research done before indicating that *Moringa oleifera* reduces renal damage induced by Cd when its antioxidant enzyme activity and serum creatinine and urea levels were enhanced. In the current study, group 3 showed improved kidney function markers by lowering blood urea nitrogen, serum creatinine, and uric acid, with normalization of urine volume and creatinine clearance. These findings are similar to those that have been demonstrated by *Moringa oleifera*. The antioxidant and anti-inflammatory properties of *E. fluctuans* probably mediate the above effects, as the same herb has been demonstrated to reduce oxidative stress in several tissues.

These comparisons strengthen the potential of *E. fluctuans* as a natural protective agent against Cd toxicity. The similarity in effectiveness to other medicinal plants of well-studied medicines underscores the significance of exploiting bioactive compounds in less utilized herbs. This work adds to a growing number of evidence indicating that plant-based therapies offer multilevel protection against heavy metal-induced injury, especially under conditions of co-existing metabolic disorders such as diabetes. Further studies, especially on the molecular level and clinical levels, are required to further elucidate its therapeutic mechanisms and validate its clinical utility in *E. fluctuans*.

5. CONCLUSION

This study thus revealed that *Enhydra fluctuans* (Lour) has significant promise as a defensive agent in combating Cd-induced toxicity in a rat model with diabetics. It reduced the elevated blood glucose level due to Cd toxicity and improved critical biochemical markers of liver and kidney function in animals treated with *E. fluctuans*. These results further emphasize that the herb has the potential to counteract the toxic actions of Cd, in particular its ability to mediate oxidative stress, considered one of the major damage mechanisms due to Cd. Antioxidant, hepatoprotective, and cytoprotective characteristics of *E. fluctuans* seem to be the focal point for protection, through improved function of organs with reduced levels of toxicity in treated

groups in comparison to those given Cd alone. The research points towards the possibility of this herbal remedy as a natural food intervention, particularly for residents in areas of high exposure to environmental Cd exposure.

In addition to discussing Cd toxicity, this research provides broader implications within the public health and toxicology environment. The alleviation of oxidative damage in the body and the preservation of critical organ functions make *E. fluctuans* a good prospect for further research in a detoxification process involving heavy metals. The results lead the way to the performance of clinical trials with human subjects to assess the human subjects' efficacy and tolerance toward the bacteria. Identification and characterization of bioactive compounds could result in the discovery of novel therapeutic agents for managing heavy metal toxicity. This research contributes to the significance of herbal remedies in addressing environmental health issues and recommends integrative studies to harness their complete and affordable utilization for better health worldwide.

CONFLICTS OF INTEREST

All authors declare that there are no conflicts of interest.

REFERENCES

1. F.K. Akhe, M.M. Khatun, S. Ray, S.T. Arafat, S.J. Uddin, H. Hossain, M.N. Siddiqui & M.G. Sarker. Profiling of bioactive compounds in water cress (*Enhydra fluctuans* Lour) by high performance liquid chromatography. *PharmacologyOnline*, **1**, 65–75 (2019). URL: https://pharmacologyonline.silae.it/files/newsletter/2019/vol1/PhOL_2019_1_NL008_Akhe_F.pdf
2. M.S. Ali, M.R. Amin, C.M.I. Kamal & M.A. Hossain. *In vitro* antioxidant, cytotoxic, thrombolytic activities and phytochemical evaluation of methanol extract of the *A. philippense* L. leaves. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **3**(6), 464–469 (2013). Doi: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60097-0](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60097-0)
3. M.R. Amin, R. Mondol, M.R. Habib & M.T. Hossain. Antimicrobial and cytotoxic activity of three bitter plants *Enhydra fluctuans*, *Andrographis peniculata* and *Clerodendrum viscosum*. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, **2**(2), 207–211 (2012). Doi: <https://doi.org/10.5681/apb.2012.032>
4. A. Bala, B. Kar, P.K. Halder, U.K. Mazumder & S. Bera. Evaluation of anticancer activity of *Cleome gynandra* on Ehrlich's Ascites Carcinoma treated mice. *Journal of Ethnopharmacology*, **129**(1), 131–134 (2010). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.03.010>
5. A. Barua, M.S. Alam, M.D. Junaid, Y. Akter, S.S. Afrose, T. Sharmin, R. Akter & S.Z. Hosen. Phytochemistry, traditional uses and pharmacological properties of *Enhydra fluctuans* Lour: a comprehensive review. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, **22**(8), 1061–1068 (2021). Doi: <https://doi.org/10.2174/1389201021666200922161529>
6. M. Boulanouar, O. Aouacheri & S. Saka. Potential protective effects of turmeric (*Curcuma longa*) supplementation on cadmium-induced toxicity in albinos Wistar rat. *Phytothérapie*, **21**(2-3), 137–149 (2023). URL: https://www.jle.com/fr/revues/phy/e-docs/potential_protective_effects_of_turmeric_curcuma_longa_supplementation_on_cadmium_induced_toxicity_in_albinos_wistar_rat_343487/article.phtml
7. A. Carocci, A. Catalano, G. Lauria, M.S. Sinicropi & G. Genchi. , G., 2016. Lead toxicity, antioxidant defense and environment. In: P. de Voogt (editor). *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, vol 238. Springer, Cham, 2016; pp. 45–67. Doi: https://doi.org/10.1007/398_2015_5003
8. B. Chattaraj, A. Nandi, A. Das, A. Baidya, S. Mahata, A. Chowdhury, S. Mitra, S. Roy, S. Chakraborty & Y.N. Dey. *Enhydra fluctuans* Lour. aqueous extract inhibited the growth of calcium phosphate crystals: An *in vitro* study. *Food Chemistry Advances*, **2**, 100287 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.focha.2023.100287>

9. Z.G. Cui, K. Ahmed, S.F. Zaidi & J.S. Muhammad. Ins and outs of cadmium-induced carcinogenesis: Mechanism and prevention. *Cancer Treatment and Research Communications*, **27**, 100372 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ctarc.2021.100372>
10. R. Dasiman & E.A. Bahari. Malaysian *Phyllanthus* sp: An updated review of their impacts on the reproductive functions and fertility. *Malaysian Journal of Medicine & Health Sciences*, **17**(Suppl. 3), 344–351 (2021). URL: https://medic.upm.edu.my/upload/dokumen/2021061417384645_2020_1152.pdf
11. E. De Stefani, P. Boffetta, H. Deneo-Pellegrini, M. Mendilaharsu, J.C. Carzoglio, A. Ronco & L. Olivera. Dietary antioxidants and lung cancer risk: a case-control study in Uruguay. *Nutrition and Cancer*, **34**(1), 100–110 (1999). Doi: <https://doi.org/10.1207/S15327914nc340114>
12. T.K. Dua, S. Dewanjee & R. Khanra. Prophylactic role of *Enhydra fluctuans* against arsenic-induced hepatotoxicity via anti-apoptotic and antioxidant mechanisms. *Redox Report*, **21**(4), 147–154 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1179/1351000215Y.0000000021>
13. T.K. Dua, S. Dewanjee, R. Khanra, N. Bhattacharya, B. Bhaskar, M. Zia-Ul-Haq & V. De Feo. The effects of two common edible herbs, *Ipomoea aquatica* and *Enhydra fluctuans*, on cadmium-induced pathophysiology: a focus on oxidative defence and anti-apoptotic mechanism. *Journal of Translational Medicine*, **13**, 245 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12967-015-0598-6>
14. T.K. Dua, S. Dewanjee, R. Khanra, S. Joardar, S. Barma, S. Das, M. Zia-Ul-Haq & V. De Feo. Cytoprotective and antioxidant effects of an edible herb, *Enhydra fluctuans* Lour. (Asteraceae), against experimentally induced lead acetate intoxication. *PLoS One*, **11**(2), e0148757 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0148757>
15. K.K. Roy, M.K.L. Mollah, M.M. Reja, D. Shil & R.K. Maji. Evaluation of analgesic and anti-inflammatory activity of ethanolic extract of *Enhydra fluctuans* on male wistar rats. *Journal of Applied Pharmaceutical Research*, **9**(1), 37–42 (2021). Doi: <https://doi.org/10.18231/joapr.2021.9.1.37.42>
16. G. Genchi, A. Carocci, G. Lauria, M.S. Sinicropi & A. Catalano. Nickel: Human health and environmental toxicology. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**(3), 679 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph17030679>
17. M.R. Amin, R. Mondol, M.R. Habib & M.T. Hossain. Antimicrobial and cytotoxic activity of three bitter plants-*Enhydra fluctuans*, *Andrographis peniculata* and *Clerodendrum viscosum*. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, **2**(2), 207–211 (2012). Doi: <https://doi.org/10.5681/apb.2012.032>
18. G. Genchi, M.S. Sinicropi, G. Lauria, A. Carocci & A. Catalano. The effects of cadmium toxicity. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**(11), 3782 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph17113782>
19. R. Hao, F. Li, D. Sun-Waterhouse & D. Li. The roles of MicroRNAs in cadmium toxicity and in the protection offered by plant food-derived dietary phenolic bioactive substances against cadmium-induced toxicity. *Food Chemistry*, **460**(Part 1), 140483 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2024.140483>
20. H. Hong, Y. Xu, J. Xu, J. Zhang, Y. Xi, H. Pi, *et al.* Cadmium exposure impairs pancreatic β -cell function and exaggerates diabetes by disrupting lipid metabolism. *Environment International*, **149**, 106406 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envint.2021.106406>
21. G. Kumar, L. Dahiya & B. Behera. Review on pharmaco-therapeutic potential of wetland herb *Enhydra fluctuans* Lour (Hilamochika). *International Journal of Ayurveda and Pharma Research*, **11**(5), 111–119 (2023). Doi: <https://doi.org/10.47070/ijapr.v11i5.2803>
22. S. Kuri, M.M. Billah, S.M. Rana, Z. Naim, M.M. Islam, M. Hasanuzzaman, M.R. Ali & R. Banik. Phytochemical and *in vitro* biological investigations of methanolic extracts of *Enhydra fluctuans* Lour. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **4**(4), 299–305 (2014). Doi: <https://doi.org/10.12980/apjtb.4.2014c677>
23. U. Okereafor, M. Makhatha, L. Mekuto, N. Uche-Okereafor, T. Sebola & V. Mavumengwana. Toxic metal implications on agricultural soils, plants, animals, aquatic life and human health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, **17**(7), 2204 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph17072204>

24. R. Panigrahi & S. Bhatnagar. Cytotoxic, phytochemical and antioxidant potential of marshy herb *Enhydra fluctuans* Lour. *International Journal of Ethnobiology & Ethnomedicine*, **1**(1), 1–6 (2015). URL: https://www.researchgate.net/publication/280483030_Cytotoxic_phytochemical_and_antioxidant_potential_of_marshy_herb_Enhydra_fluctuans_Lour
25. M. Parcheta, R. Świsłocka, S. Orzechowska, M. Akimowicz, R. Choińska & W. Lewandowski. Recent developments in effective antioxidants: The structure and antioxidant properties. *Materials*, **14**(8), 1984 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/ma14081984>
26. M.R. Rahimzadeh, M.R. Rahimzadeh, S. Kazemi & A.A. Moghadamnia. Cadmium toxicity and treatment: An update. *Caspian Journal of Internal Medicine*, **8**(3), 135–145 (2017). Doi: <https://doi.org/10.22088/cjim.8.3.135>
27. A. Rojas, L. Hernandez, R. Pereda-Miranda & R. Mata. Screening for antimicrobial activity of crude drug extracts and pure natural products from Mexican medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, **35**(3), 275–283 (1992). Doi: [https://doi.org/10.1016/0378-8741\(92\)90025-M](https://doi.org/10.1016/0378-8741(92)90025-M)
28. A.S. Saleh. Evaluation of the hepatorenal protective activity of *Moringa oleifera* on histological and biochemical parameters in cadmium intoxicated rats. *Toxin Reviews*, **38**(4), 338–345 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1080/15569543.2018.1478859>
29. S. Sannigrahi, U.K. Mazumder, A. Mondal, D. Pal, S.L. Mishra & S. Roy. Flavonoids of *Enhydra fluctuans* exhibit anticancer activity against Ehrlich's ascites carcinoma in mice. *Natural Product Communications*, **5**(8), 1239–1242 (2010). Doi: <https://doi.org/10.1177/1934578X1000500818>
30. S. Sannigrahi, U.K. Mazumder, D.K. Pal, A. Mondal & S. Roy. Hepatoprotective potential of flavonoid-rich fraction of *Enhydra fluctuans* against CCl₄-induced oxidative damage in rats. *PharmacologyOnLine*, **2**, 575–586 (2009). URL: <https://pharmacologyonline.silae.it/files/archives/2009/vol2/058.Santanu.pdf>
31. S. Satarug. Dietary cadmium intake and its effects on kidneys. *Toxics*, **6**(1), 15 (2018). Doi: <https://doi.org/10.3390/toxics6010015>
32. P.K. Swain, V.J. Patro, S.C. Dinda & D.P. Nayak. Hepatoprotective activity of *Enhydra fluctuans* Lour. aerial parts against CCl₄ induced hepatotoxicity in rats. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, **3**(5), 893–896 (2012). Doi: <https://doi.org/10.7897/2277-4343.03646>
33. A.A. Tinkov, T. Filippini, O.P. Ajsuvakova, M.G. Skalnaya, J. Aaseth, G. Bjørklund, E.R. Gatiatulina, E.V. Popova, O.N. Nemereshina, P.T. Huang & M. Vinceti. Cadmium and atherosclerosis: A review of toxicological mechanisms and a meta-analysis of epidemiologic studies. *Environmental Research*, **162**, 240–260 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.01.008>
34. A.A. Tinkov, V.A. Gritsenko, M.G. Skalnaya, S.V. Cherkasov, J. Aaseth & A.V. Skalny. Gut as a target for cadmium toxicity. *Environmental Pollution*, **235**, 429–434 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2017.12.114>
35. S.J. Uddin, M.M. Ferdous, R. Rouf, M.S. Alam, M.A.M. Sarkar & J.A. Shilpi. Evaluation of anti-diarrhoeal activity of *Enhydra fluctuans*. *Journal of Medical Sciences (Pakistan)*, **5**(4), 324–327 (2005). Doi: <https://doi.org/10.3923/jms.2005.324.327>
36. M.O. Ullah, M. Haque, K.F. Urmi, A.H.M. Zulfiker, E.S. Anita, M. Begum & K. Hamid. Anti-bacterial activity and brine shrimp lethality bioassay of methanolic extracts of fourteen different edible vegetables from Bangladesh. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, **3**(1), 1–7 (2013). Doi: [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(13\)60015-5](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(13)60015-5)

HOW TO CITE THIS ARTICLE

S. Rajsekhar, T.A. Singh & K.C. Deep. Annulment and amelioration of cadmium toxicity through dietary countermeasures. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 705–718 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.122701>

Historia de la hemofilia: una enfermedad que afecta a más de uno

Ivo Heyerdahl-Viau

Departamento de Sistemas Biológicos, Universidad Autónoma Metropolitana Unidad Xochimilco. Calz. del Hueso 1100, Coapa, Villa Quietud, Coyoacán, 04960 Ciudad de México, CDMX. Correo electrónico: ivoheyerdahl@gmail.com

Recibido: 19 de mayo de 2025

Corregido: 27 de julio de 2025

Aceptado: 31 de julio de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.120474>

RESUMEN

Introducción: La hemofilia es una enfermedad rara que, en general, afecta a más de un millón de personas. Su atención ha presentado históricamente muchos retos, y aún lo hace, por lo cual es de importancia para la población general conocer la historia de esta patología. **Objetivo:** Describir los hitos más importantes en el entendimiento y la atención médica de la hemofilia, por lo cual se realizó una búsqueda bibliográfica en artículos científicos y sitios web institucionales o especializados con autoridad reconocida en hemofilia y salud pública. Con esta información, se construyó una revisión narrativa sobre la historia de la hemofilia. **Resultados:** La hemofilia ha sido estudiada desde la edad antigua, pero sólo cobró conciencia popular cuando se dio a conocer que era una enfermedad que afectaba a la realeza inglesa. A partir de ahí, su atención médica ha evolucionado, teniendo que superar diversos retos. Hoy en día los retos persisten, siendo la aparición de inhibidores uno de los más importantes, pero también existen muchas más opciones terapéuticas, como las terapias génicas, que se alzan como tratamientos que prometen por primera vez en la historia curar la enfermedad, y no simplemente tratarla. **Conclusiones:** La atención a la hemofilia ha presentado diversos retos a lo largo de la historia, y a pesar de que hoy existen grandes avances tecnológicos, no está garantizado que todos los afectados puedan tener acceso a ellos.

Palabras clave: Hematopatología; episodios de sangrado; factores de coagulación; enfermedad rara; terapia génica.

SUMMARY

History of hemophilia: a disease that affects more than one

Introduction: Hemophilia is a rare disease that, overall, affects more than a million people. Its care has historically presented many challenges, and still does, which is why it is important for the general population to know the history of this pathology. **Objective:** Describe the most important milestones in the understanding and medical care of hemophilia, for which a bibliographic search was carried out in scientific articles and institutional or specialized websites with recognized authority in hemophilia and public health. With this information, a narrative review of the history of hemophilia was constructed. **Results:** hemophilia has been studied since ancient times, but it only gained popular awareness when it became known that it was a disease that affected the English culture. From there, medical care has evolved, having to overcome various challenges. Today the challenges persist, with the appearance of inhibitors being one of the most important, but there are also many more therapeutic options, such as gene therapies, which stand as treatments that promise for the first time in history to cure the disease,

and not just treat it. **Conclusions:** Hemophilia care has presented various challenges throughout history, and despite significant technological advances today, it is not guaranteed that all those affected will have access to them.

Keywords: Hematopathology; bleeding episodes; coagulation factors; rare disease; gene therapy.

RESUMO

História da hemofilia: uma doença que afeta mais de um

Introdução: A hemofilia é uma doença rara que, em geral, afeta mais de um milhão de pessoas. Sua atenção historicamente apresentou muitos desafios e ainda assim, por isso é importante para a população em geral conhecer a história dessa patologia. **Objetivo:** Descreva os marcos mais importantes no entendimento e no atendimento médico da hemofilia; portanto, uma pesquisa bibliográfica foi realizada em artigos e sites científicos institucionais ou especializados com autoridade autorizada em hemofilia e saúde pública. Com essas informações, foi construída uma revisão narrativa da história da hemofilia. **Resultados:** A hemofilia foi estudada desde a idade antiga, mas só se tornou popular quando foi anunciado que era uma doença que afetou o inglês. A partir daí seus cuidados médicos evoluíram, tendo que superar vários desafios. Hoje, os desafios persistem, sendo a aparência dos inibidores um dos mais importantes, mas também existem muitas opções terapêuticas, como terapias genéticas, que são levantadas como tratamentos que prometem pela primeira vez na história a curar a doença e não simplesmente tratá-la. **Conclusões:** A atenção da hemofilia apresentou vários desafios ao longo da história e, embora existam grandes avanços tecnológicos hoje, não é garantido que todos os afetados possam ter acesso a eles.

Palavras-chave: hematopatologia; episódios de sangramento; fatores de coagulação; doença rara; terapia genética.

1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades raras son aquellas con muy baja frecuencia con respecto a una región. Debido a la baja prevalencia de estas enfermedades, existen muchos retos para llevar a cabo una correcta atención a las personas que las padecen. Por ello, los diagnósticos y tratamientos suelen ser difíciles de llevar a cabo [1]. Además, las enfermedades raras no suelen tener cura, sino que hay que tratarlas o llevar cuidados especiales de por vida [2]. Por ello, el tratamiento para estos padecimientos suele ser muy costosos. Por ejemplo, se estima que, en países desarrollados, el gasto en enfermedades raras representa alrededor del 10% de los gastos médicos directos, lo cual es muy alto considerando que la población atendida es tan sólo del 5 – 7% del total [3].

Se estima que existen alrededor de 7,000 enfermedades raras, y que se descubren 250 nuevas anualmente [1]. Alrededor del 80% de las enfermedades raras tienen una causa genética [3], y, lamentablemente, también son congénitas, por lo que la mayoría de personas que viven con enfermedades raras son infantes [2]; se estima que hasta el 75% de las enfermedades raras comprenden pacientes pediátricos [4].

La hemofilia es una enfermedad rara congénita que se caracteriza por la aparición de episodios de sangrado, frecuentes y espontáneos. Se debe a mutaciones en genes que codifican factores de coagulación. Estos genes en concreto, se localizan en el cromosoma X, y dado que las mujeres tienen dos pares de cromosomas X, y el varón sólo tiene uno, se trata de un desorden que los afecta casi exclusivamente a ellos, aunque las mujeres se consideran portadoras [5]. Existen dos principales tipos de hemofilia. La hemofilia A se debe a una mutación en el

gen *F8* que codifica para el factor de coagulación VIII (FVIII), afecta a 1:5,000 recién nacidos y es el tipo de hemofilia más severo. Por otro lado, la hemofilia B se debe a una mutación en el gen *F9* que codifica para el factor de coagulación IX (FIX). Es más rara que la hemofilia A, afectando a sólo 1:30,000 recién nacidos, pero también es mucho menos severa. Aunque se trata de enfermedades raras, se estima que alrededor del mundo existen más de 1.1 millones de personas que viven con hemofilia, de los cuales 400,000 son casos graves [6].

La hemofilia se ha intentado estudiar desde la edad antigua y siempre se han presentado retos para que las personas que la padecen tengan una mejor calidad de vida. Hasta la fecha, los retos no han terminado, simplemente han cambiado. Por eso, el presente trabajo construye una revisión narrativa de la historia de la hemofilia, resaltando hitos importantes para su entendimiento y su atención. A diferencia de otras revisiones disponibles, este trabajo no sólo aborda los hitos médicos del entendimiento y el tratamiento de la hemofilia, sino que los integra con una descripción de las barreras en el manejo y acceso a la atención de la enfermedad y de la percepción del padecimiento, cubriendo desde la antigüedad hasta los avances más recientes en terapia génica, permitiendo una visión integral de la historia de la hemofilia.

2. METODOLOGÍA

Se realizó una búsqueda bibliográfica en bases de datos científicas como PubMed, Scopus, SciELO, Web of Science y Google Scholar, empleando palabras clave como “hemophilia”, “history”, “evolution”, “coagulation factors” y “treatment”. Se incluyeron artículos originales y revisiones arbitradas y publicadas en idioma inglés o español. Debido a que se trata de una revisión con enfoque histórico, no hubo restricción estricta con respecto al año de publicación de los trabajos, aunque se priorizaron fuentes de los últimos 5 años. También se emplearon páginas de internet oficiales que contuvieran información importante sobre hitos históricos en el entendimiento de la hemofilia, por ejemplo, de agencias gubernamentales de salud (como NHS), las industrias productoras de tratamientos contra esta enfermedad o de asociaciones y fundaciones de pacientes con hemofilia. Estas entidades participan directamente en la regulación, atención y documentación de la enfermedad, y han recopilado datos que ofrecen información retrospectiva confiable y contextualizada. Su inclusión complementa la literatura académica y permite una visión integral, especialmente en una revisión histórica.

3. DESARROLLO CONCEPTUAL

3.1. La hemofilia en la edad antigua y medieval

Alrededor del quinto siglo a.C., los griegos intentaron explicar la fisiología humana desde una perspectiva médica, y desarrollaron diferentes teorías para explicar el proceso de aparición de enfermedades. Una de las más aceptadas en ese entonces era la teoría de los cuatro humores, que dictaba que el organismo humano estaba compuesto por cuatro humores o fluidos, y la sangre era uno de ellos. Se suponía que un exceso de ellos podía causar enfermedad debido a su volumen o a su coagulación. De hecho, los médicos y filósofos de la antigua Grecia estaban muy interesados en estudiar la coagulación sanguínea; Hipócrates, quien desarrolló la teoría de los humores, fue aparentemente el primero en comprender que la sangre podía coagularse, pues en uno de sus textos describió la sangre espesa y densa como “sangre dura”, lo que aparentemente hacía referencia a sangre coagulada. Asimismo, en uno de sus textos introdujo por primera vez el término “trombo” para describir la coagulación. Por otro lado, Aristóteles es-

tudió la viscosidad y coagulación de la sangre en diferentes animales y en personas de diferente edad y sexo. En general, se llegó a pensar que la sangre coagulaba sólo cuando salía del organismo debido a que se enfriaba cuando entraba en contacto con el aire [7].

A pesar del gran interés en la coagulación sanguínea por los antiguos griegos, no se cuenta con muestra alguna que sugiera el estudio o aparición de hemofilia en esas épocas; la evidencia más antigua de casos de hemofilia data de escritos en papiro del antiguo Egipto. Asimismo, se cuenta con textos hebreos del Talmud de Babilonia del siglo II d.C. en el que se describen problemas hereditarios de hemorragias en varones después de la circuncisión [8].

Ya en el siglo XI, el famoso médico Al-Zahrawi – Albucasis escribió su segunda enciclopedia médica en la cual describió una enfermedad que, si se traduce al español, la nombró como “enfermedad de la sangre”, la cual tiene mucha similitud con lo que hoy se conoce como hemofilia, pues se caracterizaba por hemorragias provocadas por lesiones menores y que sólo afectaba a varones, los cuales incluso podían morir a causa del padecimiento. Albucasis admitió no conocer la causa de la enfermedad, lo cual a día de hoy agranda su estatus como el mejor médico de la época, pues el origen de la enfermedad era imposible de conocer en su medioevo. Asimismo, sugirió la cauterización como mejor tratamiento para los episodios de sangrado. En ese entonces, una enfermedad como esa no se había descrito anteriormente en ningún libro médico, por lo que se considera la primera descripción de la enfermedad [9].

Posteriormente, ya en el siglo XII, y, teniendo en cuenta los antecedentes del Talmud, el médico hebreo Moisés Ben Maimón (Maimónides), aplicó la norma para la circuncisión que establece que, si una mujer había tenido dos hijos varones que habían muerto por hemorragia después la circuncisión, este proceso quedaba exento para un tercer hijo. Esto se interpreta a día de hoy como el primer señalamiento médico oficial de que las madres son en realidad las portadoras de la enfermedad [10].

Como se verá más adelante, si bien es evidente que hubo casos de hemofilia a lo largo de la historia, no fue hasta el siglo XIX que comenzó a darse importancia a este padecimiento.

3.2. Siglo XIX: La primera descripción médica de la enfermedad, la popularización de la “Enfermedad Real” y el establecimiento del término “hemofilia”

En Inglaterra, en 1739, nació William Hewson, un cirujano y anatomista, considerado como el padre de la hematología, ya que aportó grandes avances en el estudio de glóbulos rojos y blancos. En 1759, este científico asistió a clases de anatomía con los hermanos William y John Hunter. Uno de ellos, John Hunter, había refutado una de las teorías de los antiguos griegos que dictaba que la sangre coagulaba al entrar en contacto con aire, pues demostró que también podía hacerlo al vacío, por lo que tenía que tratarse de algo intrínseco del fluido, y se pensó en que tal vez las propias células sanguíneas eran responsables de este proceso fisiológico. Más tarde, en 1770, Hewson describió el proceso de coagulación de la sangre llevado a cabo por el fibrinógeno, una proteína que funge como factor de coagulación, y con ello, demostró que el proceso de coagulación de la sangre no es llevado a cabo por células en sí, sino por factores de coagulación. Además, dejó el camino abierto para que más tarde se descubrieran otros factores de coagulación como la trombina y la protrombina, y que después se describiera la cascada de coagulación que lleva a cabo el organismo durante el proceso de cicatrización de heridas [11].

Por otra parte, el siglo XIX fue muy importante para el estudio y el entendimiento del impacto de la hemofilia en la sociedad. En 1803, el médico norteamericano John Conrad Otto publicó un texto en el que describió una enfermedad hemorrágica que se extendía por generaciones de familias, en las cuales las mujeres eran sanas, pero parecía que transmitían la enfer-

medad a su descendencia, de la cual sólo los varones se veían afectados por episodios hemorrágicos provocados por lesiones menores. Por lo tanto, comenzó a establecerse que se trataba de una enfermedad hereditaria en la que las mujeres eran portadoras, pero los varones la padecían, y la mayoría ni siquiera sobrevivía a la adultez. El Dr. Otto llamó a estos pacientes “sangradores”, y fue la primera descripción médica de esta enfermedad en tiempos modernos [12, 13].

En 1813, John Hay publicó el primer análisis de un árbol genealógico de una familia con hemofilia. En años posteriores se publicaron más análisis hasta que en 1820, Nasse publicó un artículo en el que se establece que este padecimiento es transmitido por mujeres no afectadas hacia sus hijos, que sí se veían afectados. A esto se le conoció como la Ley de Nasse. Ocho años más tarde, en 1828, se publicó la tesis de Frederick Hopff, estudiante de la Universidad de Zurich, en Suiza. La tesis se llamaba “Sobre la hemofilia o la predisposición hereditaria de sangrado fatal”, haciendo énfasis en la naturaleza hereditaria de este padecimiento y, además, haciendo uso del término “hemofilia” por primera vez en la historia [14], aunque, como se discutirá más adelante, todavía habría otros nombres para este padecimiento antes de que éste fuera plenamente aceptado.

Ya a mediados del siglo XIX, la hemofilia se popularizó; en aquel entonces se le conocía como la “Enfermedad Real” debido a que la Reina Victoria de Inglaterra, quien gobernó desde 1837 hasta 1901, era portadora de la enfermedad, por lo que algunas sus descendientes femeninas eran portadoras también, y algunos de sus descendientes varones la padecieron, incluyendo a su hijo Leopoldo, a quien se le conoció como el “Príncipe Sangrador”, pues desde los dos años de edad tuvo una vida marcada por episodios de hemorragias en diversos órganos y el dolor que eso conllevaba. El Dr. James Clark, quien atendía a Leopoldo, llamó a esta enfermedad “hematofilia”. Este término también fue adoptado por el periódico *The Lancet*, que reportaba el estado de salud del príncipe bajo la supervisión de la Reina Victoria [12, 13].

En 1883, Leopoldo, a los 31 años de edad y poco después del nacimiento de su hija, cayó por unas escaleras, ocasionándose un traumatismo leve en una rodilla, lo que le ocasionó dolor y un sangrado considerable. Para aliviar el dolor, Leopoldo recurrió a la morfina y, al día siguiente, sufrió un ataque epiléptico y murió. La Reina Victoria se encargó de difundir el sufrimiento de su hijo ante los medios, recalcando que su familia estaba siendo perseguida por “la peor enfermedad” que ella conocía. Cabe recalcar que durante la época Victoriana, los periódicos comenzaron a tener una popularidad sin precedentes gracias a los esfuerzos de la reina, por lo que la “Enfermedad Real” se popularizó mucho en esa sociedad como una enfermedad exclusiva de la realeza. Para ese entonces, ya se aceptaba el término “hemofilia” (“amor por la sangre”), que, como se mencionó anteriormente, ya se había empleado en diferentes tesis y trabajos de investigación entre 1828 y 1854 [12].

Por otro lado, la descendencia de la Reina Victoria se relacionó con familias reales de otros países, generando más descendencia real con la enfermedad, por lo cual el término “Enfermedad Real” adquirió más fuerza. Por ejemplo, Alexandra, la nieta de la Reina Victoria, se casó con Nicholas, el Tsar de Rusia. Tuvieron un hijo en el verano de 1904, Alexei Nicolaievich, quien en algún momento de su infancia padeció de síntomas parecidos a los de la hemofilia, incluyendo episodios de sangrado. Cuando el niño tenía ocho años, presentó episodios de sangrado abdominal, dolor y fiebre, por lo que su madre, la emperatriz Alexandra, desesperada en busca de auxilio, mandó un telegrama pidiendo los rezos del entonces famoso “monje loco” Grigory Rasputin, quien se encontraba a kilómetros de distancia en su hogar en Pokrovskoe. Unos días después, el niño se curó milagrosamente, y su familia recibió una carta del monje diciendo que el niño se iba a recuperar. Esto hizo más legendaria la figura de Rasputin, pero a

día de hoy, se teoriza que el niño sólo presentó una enfermedad aguda, y no una hemofilia como se conoce hoy en día [15], pues se sabe que cuando se recurrió al monje, el niño había sufrido fiebre durante esos días, lo cual no es característico de la hemofilia. Alexei fue asesinado en 1918, a los trece años de edad, tan sólo cinco años después de ese suceso [13], y sus restos están desaparecidos, por lo que es imposible hacer un análisis molecular sobre ellos y confirmar el diagnóstico [15]. Cabe señalar que, a día de hoy, la Familia Real Británica no tiene rastro alguno de hemofilia [13]

Estos son sólo algunos de los episodios históricos más populares, pero cabe mencionar que la hemofilia también se presentó en más familias reales de Europa provenientes de España, Alemania, entre otras [9]. En la Figura 1 se muestra un árbol genealógico con algunos personajes de la realeza con hemofilia.

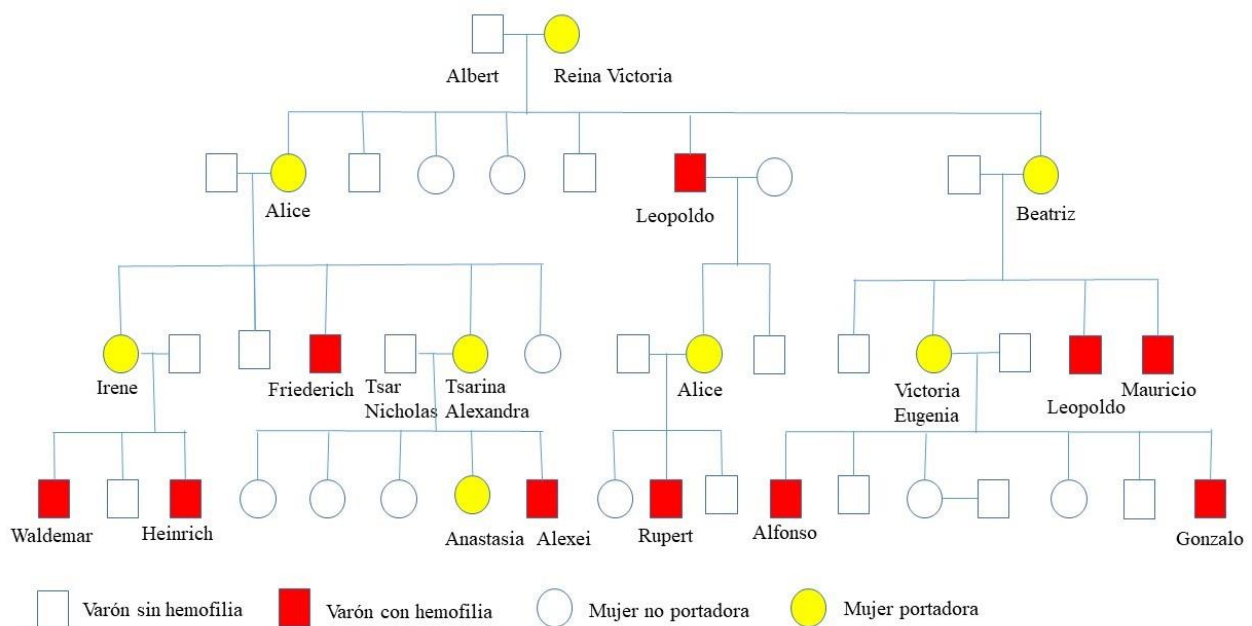


Figura 1. Árbol genealógico de las Familias Reales con hemofilia. Elaboración propia, basado en Rogaev (2009) [16].

3.3. Primera mitad del siglo XX: Primeros avances en el entendimiento y tratamiento de la hemofilia y distinción entre hemofilia A y B

En 1905, un año después del nacimiento de Alexei, el hematólogo alemán Paul Oskar Morawitz presentó un modelo del proceso de coagulación que a día de hoy se conoce como la “teoría clásica” de dicho proceso: la protrombina es activada por el factor tisular y calcio para producir trombina, que convierte al fibrinógeno en fibrina, generando así la coagulación. Esta teoría se sostuvo por más de cuarenta años hasta que más tarde, en la década de 1950, se encontró que existen factores de coagulación que circulan de forma inactivada y que son a su vez activados por otros factores (factores V, VII, VIII, IX, XI, VWF), generando una cascada de coagulación que, de ser interrumpida, generaría una patología, como las hemofilias [8].

La década de 1930 vio grandes avances para comprender la hemofilia. Por ejemplo, en 1934 se observó que el empleo del veneno de algunas serpientes mejoraba la coagulación de pacientes con hemofilia [17]. Posteriormente, en 1937 se realizó uno de los más grandes hallazgos, pues los investigadores norteamericanos Patek y Taylor descubrieron el factor de coagulación VIII (FVIII), y que la administración intravenosa de precipitados plasmáticos mejoraba la coagulación [9]. Dos años después, en 1939, el patólogo norteamericano Kenneth Brinkhous

descubrió que los pacientes hemofílicos carecían de un factor plasmático, al cual llamó “factor antihemofílico”, que más tarde se determinó que se trataba precisamente de FVIII [17]. Esto fue muy importante, pues en esos años, se debatía sobre si la causa de la hemofilia era la ausencia o no de protrombina, pero Brinkhous había notado que sí había protrombina, pero su producción era lenta [14].

Un año más tarde, en 1940 se publicó el primer tratamiento exitoso para la hemofilia. Se trataba de un caso presentado en *The Lancet* en el que un niño de once años que había sufrido una hemorragia severa después de una cirugía, pero que había sobrevivido gracias a una transfusión sanguínea, por lo que comenzaron a emplearse transfusiones sanguíneas para tratar a los pacientes hemofílicos cuando estos presentaran episodios de sangrado, lo cual hizo que la esperanza de vida alcanzara una media de 39.7 años de edad [18]. Esto supuso el inicio de la concepción de la terapia de reemplazo para tratar la hemofilia.

Por otro lado, en Argentina se contaba con la Academia Nacional de Medicina, que, desde 1929 contaba con una sección de hemoterapia que brindaba atención a los hemofílicos. El director de este centro era el Médico argentino Alfredo Pavlosky, quien en 1944 creó la Fundación de Hemofilia [19], cuya tarea era generar grandes campañas para obtener donadores de sangre para llevar a cabo las transfusiones. Ese mismo año, Pavlosky descubrió que la sangre de un hemofílico podía curar el padecimiento de otro hemofílico. Lo que había hecho en realidad era hacer una transfusión entre un hemofílico carente de FVIII con la de uno carente de FIX [20], lo que lo llevó a distinguir entre dos tipos de hemofilia en 1947 [21]. En 1952, la hematóloga Rosemary Biggs del Reino Unido atendió al primer paciente oficialmente detectado de hemofilia por deficiencia del factor IX, por lo que a esta enfermedad se le llamó “enfermedad de Christmas”, que hoy se conoce como hemofilia B. En 1953 esta hemofilia se describió mejor y se reconoció como una variante mucho más rara y menos severa que la hemofilia por deficiencia de factor VIII, que hoy se distingue como hemofilia A [9].

Cabe mencionar que, a día de hoy, se sabe que la hemofilia que afectó a las familias reales en el siglo XX era específicamente hemofilia B [14].

3.4. Segunda mitad del siglo XX: Obtención de los primeros factores de coagulación para el tratamiento de la hemofilia y el descubrimiento de los inhibidores

En 1953, Rosenthal y sus colaboradores describieron un reporte de caso en el que tres judíos con parentesco presentaron hemorragia excesiva tras una extracción dental. Las muestras sanguíneas de estas tres personas coagulaban más lentamente que lo normal, pero de manera menos severa que los casos de hemofilia A y B. A esto se le conoció como el síndrome de Rosenthal, y hoy se conoce como hemofilia C, que se presenta cuando hay una alteración genética que afecta la expresión del factor de coagulación XI. Lo interesante de este padecimiento es que sí puede afectar a mujeres, y, de hecho, una de las tres personas judías del caso original de Rosenthal era una mujer [22]. Esto se debe a que la mutación en cuestión no está asociada a cromosoma X. Se trata de una hemofilia más rara, pero también de menor importancia clínica y los episodios de sangrado son muy raros, por lo que muchos individuos pueden tardar mucho en ser diagnosticados, y sólo suele ser de importancia cuando la persona va a someterse a cirugías [23]. Cabe mencionar que esta hemofilia tiene una prevalencia de 1 en 1 millón, y es más frecuente en judíos Ashkenazi [22].

Por otro lado, durante casi toda la década de 1950, los episodios de sangrado de los pacientes hemofílicos se trataban con transfusiones sanguíneas, y, aunque, como se mencionó anteriormente, esto mejoró un poco la esperanza de vida, lo cierto es que no había suficientes factores de coagulación presentes en sangre o plasma fresco con fines terapéuticos, por lo que

aún había muchos casos de muerte cuando los hemofílicos presentaban un traumatismo o se sometían a cirugía. Por ello, para comenzar con una nueva estrategia, la médica sueca Inga Marie Nelson en 1958 comenzó a experimentar con un régimen de profilaxis, el cual consistía en administrar infusiones regulares, lo cual tuvo mucho éxito, pues ya no se trataban y atendían los episodios de sangrado, sino que se prevenían, logrando una notable reducción [24]. Este hito es importante, pues, aunque tardó muchos años en consolidarse, a día de hoy, la profilaxis es la mejor estrategia de atención médica para los pacientes con hemofilia [8]. Sin embargo, en ese punto todavía faltaba tener un producto lo suficientemente práctico y efectivo para llevar a cabo una mejor atención médica.

En 1964, la Dra. Judith Graham Pool y su equipo de trabajo obtuvieron un preparado conocido como crioprecipitado. Para obtenerlo, congelaban una muestra de plasma y luego, la descongelaban lentamente a 1 – 6 °C. El producto resultante contenía una cantidad considerable de FVIII, por lo que era muy útil para tratar a los pacientes con hemofilia. Este tipo de productos es conocido como FVIII derivado de plasma (pdFVIII). Esta primera generación de pdFVIII también contenía otros factores como XIII, VWF y fibrinógeno. Desgraciadamente, este preparado también tenía muchas desventajas, pues se requerían grandes cantidades de muestra plasmática para obtener concentraciones adecuadas. Además, la producción, almacenamiento y transportes eran costoso. Esto cambió en la década de 1970, ya que comenzaron a producirse los concentrados a partir de plasma liofilizado, que era más práctico, pues eran de fácil reconstitución, haciendo posible que la terapia de reemplazo se llevara a cabo en casa, lo que representó la primera era dorada del tratamiento de la hemofilia [25].

A inicios de la década de 1970, se comenzó a comercializar la desmaprosina, un fármaco indicado para tratar la diabetes insípida central. A finales de esa misma década, este fármaco comenzó a emplearse para tratar la hemofilia A, ya que se observó que puede estimular la producción de FVIII. Sin embargo, nunca se empleó mucho con este propósito ya que no era lo suficientemente efectiva [26].

Por otro lado, ya en ese entonces se había dado a notar un fenómeno preocupante: en algunos pacientes, la terapia de reemplazo comenzó a fallar. Esta resistencia se debía a la aparición de aloanticuerpos; anticuerpos generados por el organismo contra los factores de coagulación exógenos administrados como terapia de reemplazo. A estos aloanticuerpos se les conoce como “inhibidores”, y a día de hoy siguen representando una complicación de importancia clínica para los pacientes con hemofilia A y B [26].

Entre 1974 y 1975, en el Centro de Hemofilia de la Universidad de Bonn, en Alemania, se llevó a cabo una nueva estrategia para evitar la aparición de inhibidores. Esta consistía en administrar repetidas veces los factores de coagulación de la terapia de reemplazo en concentraciones cada vez más grandes para que el organismo deje de producir inhibidores. A esta estrategia se le conoce como inducción de tolerancia inmune. Dr Hans-Hermann Brackmann fue responsable de esta estrategia, que llevó el nombre de “Protocolo de Bonn”. Aunque sí fue y es posible erradicar inhibidores con este enfoque, los resultados no suelen ser satisfactorios [27], por lo que aún hacía falta desarrollar nuevas estrategias terapéuticas que resolvieran o evitaran el problema de los inhibidores.

En 1979 comenzaron a emplearse técnicas cromatográficas para separar FVIII de VWF, obteniendo un producto más puro [28]. Eso representó el inicio de la segunda generación pdFVIII, siendo la primera aquellos derivados plasmáticos que contenían otras proteínas animales además de FVIII, y esta, la segunda, que ya no las contenían [25].

Esa década vio grandes avances en la biología molecular, sobre todo con enfoque biotecnológico, lo que se vio reflejado en la investigación del tratamiento para la hemofilia. A inicios

de 1981, se inyectaron factores de coagulación a ratones de laboratorio BALB/c para producir anticuerpos contra ellos. Estos anticuerpos se emplearon para aislar, mediante cromatografía de afinidad, a los factores de coagulación presentes en muestras plasmáticas. Con ello se obtuvieron estos factores de coagulación completamente puros por primera vez en la historia, y, con ello, lograron caracterizarse y secuenciar el gen que los codificaba [28].

Sin embargo, estaba por ocurrir una tragedia: los factores de coagulación comercializados para su empleo en la práctica clínica no estaban libres de patógenos como virus y bacterias, pues en ese entonces se tenía un desconocimiento sobre enfermedades venéreas, pero debido a la pandemia del Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) y el Virus de Hepatitis C (VHC) [24]. Lamentablemente, en julio de 1982 se presentaron tres casos de enfermedades definitorias de SIDA en pacientes hemofílicos que no tenían comportamiento susceptible a contraer infección por VIH. Evidentemente, estos pacientes habían contraído el virus a partir de la administración de pdFVIII. Por desgracia, estos no fueron ni de cerca los únicos casos; alrededor del 50% de los pacientes con hemofilia A en Estados Unidos contrajeron VIH a partir del uso de pdFVIII, sólo por mencionar un país [28].

Mientras ocurría esta tragedia, había buenas noticias: con esa caracterización de los factores de coagulación iniciada un año antes, en 1982 se logró clonar el gen *F9*, que codifica para FIX, y, más tarde, en 1984, el gen *F8*, que codifica para FVIII. Esto dio pie a la investigación en la producción de factores de coagulación recombinantes; se inserta el gen en células cultivadas, las cuales expresan el gen y producen la proteína a concentraciones considerables, sin necesidad de aislarlos a partir de plasma. Esto era muy prometedor, pues iba a favorecer mucho la disponibilidad de estos productos terapéuticos [20], por lo que a partir de ese entonces, comenzaron a hacerse muchos esfuerzos científicos para lograr que esos productos fueran una realidad.

Por otro lado, hubo más buenas noticias, pues alrededor de 1985 comenzaron a aplicarse métodos de inactivación de patógenos en la producción de estos preparados, por lo que a partir de ese entonces, los productos comenzaron a ser más seguros [24]. A la par de eso, ese mismo año, se descubrió que los hepatocitos son las células encargadas de producir estos factores de coagulación, lo cual sería un hito importante para la elaboración de terapias génicas 30 años más tarde. Asimismo, en 1986 se encontró que la ausencia del dominio B en FVIII no afectaba su actividad biológica, lo cual también sería importante tiempo después para producir nuevas variantes terapéuticas de FVIII, como se verá más adelante [28].

Gracias a la clonación de genes realizada unos años atrás, para 1992 por fin se había logrado producir FVIII recombinante (rFVIII) [29]. La introducción de los productos recombinantes representó la segunda era dorada para el tratamiento de la hemofilia. Además, representaba el cese del empleo de fuentes animales para su producción, a diferencia de los pdFVIII, eliminando por completo el riesgo de contraer infecciones venéreas a partir de ellos [25] [25]. El FIX recombinante (rFIX) para tratar la hemofilia B se obtuvo hasta 1997 [29]. A pesar de que estos productos son de uso preferente, se siguieron empleando los pdFVIII y, de hecho, aunque en menor medida, se siguen empleando a día de hoy [28].

La primera generación de factores de coagulación recombinantes se produjo en líneas celulares de ovario de ratón chino. El medio de cultivo empleado contenía como aditivos insulina bovina, aprotinina bovina y albúmina sérica bovina. Además, en el producto final se contaba con albúmina humana como estabilizante, por lo que aún había proteínas de origen animal en los productos [30].

Por otro lado, entre 1994 y 1996, la OMS y otras organizaciones internacionales comenzaron a recomendar la profilaxis para atender a los pacientes con hemofilia severa, pero aún no

se realizaban ensayos clínicos que demostraran los beneficios de su aplicación para los pacientes [31].

Asimismo, en esta década creció mucho la investigación en terapias génicas, que son productos terapéuticos que median sus efectos a través de transferencia o modificación de secuencias genéticas en humanos. De hecho, en esos años, la FDA publicó sus primeras guías que brindaban recomendaciones de acciones a llevar a cabo durante los ensayos preclínicos y clínicos, ya que muchos grupos de investigación estaban interesados en desarrollar terapias génicas para tratar diferentes enfermedades de causas genéticas [32].

La hemofilia no fue la excepción, pues en esta década comenzó a llevarse a cabo mucha investigación preclínica sobre terapias génicas para tratar esta enfermedad. Estas consisten en el empleo de vectores virales que contienen los genes que codifican para los factores de coagulación. Los vectores virales se dirigen al hígado, donde insertan el gen correcto a los hepatocitos para que estos puedan producir por sí solos los factores de coagulación. Dichos vectores se dirigen a los hepatocitos, donde insertan el gen, de manera que las células pueden sintetizar la proteína correcta por sí sola, sin la necesidad de recurrir a terapia de reemplazo con factores de coagulación externos. Por ejemplo, en 1993 se publicó un ensayo preclínico para la transferencia del gen *F9* a perros con deficiencia de FIX. Posteriormente, en 1995, se publicó un estudio llevado a cabo en ratones para la inserción del gen *F8*. Asimismo, en el periodo de 1996 – 2000 se hicieron varios estudios en ratones deficientes de FIX y FVIII, sólo por mencionar algunos ejemplos. Estos trabajos presentaron resultados prometedores, lo que supuso el inicio de la esperanza de la cura absoluta para las hemofilias [29]. Con estos estudios se dio fin al milenio, brindando un panorama prometedor para el futuro del tratamiento de una enfermedad rara muy antigua.

3.5. Primera década del siglo XXI: Evolución de los productos terapéuticos disponibles y estrategias para el tratamiento de la hemofilia

El milenio arrancó con una revolución importante para los productos disponibles para tratar la hemofilia A, pues se comenzaron a producir los rFVIII de segunda generación [24]. Estos productos seguían produciéndose en cultivos de ovario de hámster chino, pero también comenzaron a emplearse células renales de hámster bebé. Aunque el estabilizante del producto final ya era sacarosa y no una proteína animal, en los medios de cultivo se empleaba albúmina sérica humana. Otra diferencia importante es que algunos de los factores recombinantes comenzaron a tener el dominio B borrado [30]. Debido a que el dominio B no es importante para la actividad biológica, borrarlo conlleva múltiples ventajas, como mayor facilidad y rendimiento en el proceso de manufactura recombinante, reducción de inmunogenicidad y mejora de la farmacocinética [33].

Posteriormente, en el año 2003 comenzaron a producirse los rFVIII de tercera generación [24]. Estos productos se generan en cultivos celulares de ovario de hámster chino, y el producto final también puede encontrarse como la proteína completa o con el dominio B eliminado. Pero la gran diferencia es que el medio de cultivo no emplea ningún aditivo de origen animal, y el estabilizante del producto final es sacarosa o trehalosa, por lo que por primera vez en la historia se contó con factores de coagulación sin ninguna proteína animal adicional [30].

Por otro lado, a pesar de que desde muchos años atrás ya se había comenzado a vislumbrar la profilaxis como una estrategia terapéutica prometedora para atender la hemofilia, en realidad no se habían llevado a cabo ensayos clínicos que lo demostraran. En 2007, Manco-Johnson publicó un estudio clínico en el que les dio seguimiento a niños menores de 30 meses durante nueve años. El estudio consistió de un grupo de pacientes que había recibido factores

de coagulación a modo de profilaxis contra otro que recibió el tratamiento bajo demanda, es decir, sólo al presentar episodios de sangrado. Como resultado, se observó que el riesgo de daño en articulaciones era seis veces mayor en el grupo del tratamiento bajo demanda comparado con el grupo que recibió profilaxis. Esto dio a pie a que otros investigadores llevaran a cabo ensayos clínicos y se concluyó que, aunque la profilaxis conlleva un mayor consumo de factores de coagulación, la tasa de sangrado se puede reducir notablemente, teniendo tasas de hemorragia anuales de 0.7 contra 37.4, por lo que claramente la profilaxis es una estrategia terapéutica más favorable [34]. En esta década, se estimó que más del 90% de los hospitales europeos que atendían hemofilia ya habían adoptado la profilaxis para atender a los pacientes con este padecimiento [31].

3.6. Segunda década del siglo XXI y el estado actual de la hemofilia: Factores de coagulación de vida media extendida, nuevas opciones terapéuticas y terapias génicas

La década arrancó con una gran promesa, pues en 2010 comenzaron a realizarse ensayos clínicos en pacientes con hemofilia B para tratar su afección con terapia génica. Esta consistió de la administración intravenosa de un vector adenoasociado (AAV) que contenía el gen *F9*. Este primer intento empleó un vector AAV serotipo 8 (AAV8) y el gen *F9* de tipo silvestre [29], es decir, el original. El vector AAV8 es muy empleado en investigación de terapias génicas, y, de hecho, ya se había empleado en los ensayos preclínicos para tratar la hemofilia [35]. Sin embargo, también se diseñaron y se probaron muchos más vectores para evaluar diferentes opciones. Asimismo, también se emplearon otras variantes del gen *F9*, encontrando que una variante hiperactiva del gen conocida como Pauda producía niveles mucho más elevados de FIX (5 a 10 veces mayores). Posteriormente, en 2014 se hicieron pruebas clínicas para terapia génica contra la hemofilia A. Se emplearon vectores AAV con gen *F8* modificado para que produjera FVIII sin el dominio B, pues, como se ha mencionado, esa porción no es esencial en la actividad biológica de la proteína y su remoción facilita el desarrollo de productos, incluyendo el gen empleado en terapias génicas. A pesar de estos avances, se notó que la producción de factores de coagulación era muy variable en todos los ensayos clínicos de estas terapias génicas, de manera que los resultados eran muy impredecibles, por lo que hacía falta más trabajo [29].

Desde 2013 y a lo largo de la década, la FDA comenzó a aceptar nuevos rFVIII de vida media estándar que tenían modificaciones estructurales tales como el dominio B truncado o con modificaciones postraduccionales no presentes en la proteína humana para evitar inmunogenicidad y la aparición de inhibidores. Algunos ejemplos de estos productos son Turoctocog alfa (NovoEight, de Novo Nordisk), Simoctocog alfa (Nuwiq, de Octapharma), Octocog alfa (Kovaltry, de Bayer) y Lonoctocog alfa (Afstyla, de CSL Behring). Asimismo, a partir de 2014 se comenzaron a aceptar factores de coagulación con vida media extendida. Estos productos necesitan una menor frecuencia de administración, lo que favorece la adherencia terapéutica, optimiza la utilización de recursos sanitarios, previenen por más tiempo los episodios de sangrado y reducen la posibilidad de aparición de inhibidores, por lo que representan una gran mejora en las opciones terapéuticas para los pacientes con hemofilia. Para lograr que estos productos tengan una vida media extendida, es necesario que tengan modificaciones estructurales importantes, por lo que consisten en factores de coagulación con pegilaciones, con dominio B borrado o truncado o fusionados con un dominio Fc de inmunoglobulinas G (IgG), lo que altera la degradación y eliminación de los factores de coagulación. Algunos ejemplos de estos productos son Efmoroctocog alfa (Eloctate, de Biogen/Sobi, aprobado en 2014) y Rurioc-

tocog alfa pegol (Adynovate, de Shire, aprobado en 2015) [36]. De manera muy similar, también comenzaron a aceptarse rFIX de vida extendida [37]. Los productos FVIII pueden extender su vida media 1.5 – 1.7 veces, mientras que los FIX pueden hacerlo 4 – 5 veces [38].

El 26 de octubre del 2017, la FDA le confirió la designación de terapia innovadora a valoctogene roxaparvovec, una terapia génica desarrollada por BioMarin para tratar la hemofilia A, lo que significaba que podían seguir adelante con sus pruebas clínicas, pero aún no estaba aprobada para comercializarse [39]. Esto anunciaba una gran promesa al futuro próximo.

El 16 de noviembre del 2017, la FDA aceptó emicizumab para el tratamiento de la hemofilia A con inhibidores. Un año más tarde, en 2018, se aceptó para el empleo de pacientes sin inhibidores [40]. Se trata de un anticuerpo biespecífico que se une a FIXa y FIX que mimetiza la actividad biológica normal de FVIII en la cascada de coagulación [37], es decir, funge la misma función que el factor de coagulación. Esta estrategia terapéutica es un ejemplo de “terapia de sustitución”, en la que, a diferencia de la terapia de reemplazo, se emplea una molécula completamente diferente a la endógena pero que puede cumplir la misma función. Debido a que no tiene parecido alguno con los factores de coagulación, emicizumab no es susceptible a ser neutralizado por aloanticuerpos, por lo que es una buena opción terapéutica para los pacientes hemofílicos con inhibidores, aunque, lamentablemente, no es tan efectivo como la terapia de reemplazo, por lo que se prefiere emplear factores de coagulación como primera opción terapéutica [18].

A pesar de ello, el desarrollo y lanzamiento de este medicamento representa un hito en la historia de la hemofilia, pues se trata de una alternativa terapéutica que puede ser la única esperanza terapéutica para pacientes con inhibidores, cuya terapia de reemplazo ha fallado; es importante considerar que la estrategia de inducción de tolerancia inmune para erradicar los inhibidores propuesta inicialmente por el Protocolo de Bonn tiene una tasa de fallo del 10 – 40% y se trata de un enfoque muy costoso (USD\$ 11.388,00/kg/año para el régimen de dosis bajas) [41], por lo que esta alternativa terapéutica es bienvenida para los pacientes y los sistemas de salud. Además, es un muy buen ejemplo de cómo el diseño inteligente de medicamentos a partir del estudio de los mecanismos de acción puede conducir a productos que son verdaderamente beneficiosos para los pacientes que los necesitan. Cabe señalar que este medicamento es producto de un arduo trabajo de investigación que comenzó en el año 2000 con la evaluación de más de 2,400 anticuerpos candidatos producidos por ingeniería genética [42].

Alrededor de ese tiempo también se evaluaron otros productos de sustitución. Por ejemplo, concizumab, un anticuerpo monoclonal que favorece la producción de trombina, pero que no ha probado la eficacia suficiente. Otro ejemplo es fiturisan, un compuesto que baja los niveles de antitrombina en plasma debido a que interfiere en su RNA y, aunque tiene efectos prometedores, en 2017 uno de los voluntarios con hemofilia A severa en el estudio clínico de fase II presentó un evento trombótico fatal, por lo que la FDA suspendió la evaluación [38].

El 22 de noviembre del 2022, la FDA aprobó tranacogene dezaparvovec-drlb, desarrollado por CSL Behring y comercializado bajo el nombre de Hemgenix®. Se trata de una terapia génica que consiste de un vector AAV serotipo 5 (AAV5) que contiene el gen *F9* tipo Pauda. Esta terapia consiste en una única administración por vía intravenosa y está indicada para pacientes adultos con hemofilia B [43]. Este medicamento salió a la venta con un precio de USD\$ 3.5 M, convirtiéndose en el medicamento más costoso del mundo y de la historia hasta ese momento. Debido a este controversial precio, muchos sistemas de salud alrededor del mundo no pueden costear este medicamento, y aquellos que podrían, han puesto en duda si es conveniente. Por ejemplo, a mediados del 2023 se anunció que el Instituto Nacional para la Excelencia en la Salud y la Atención (NICE) desaconsejó en principio la cobertura a modo de reembolso de

Hemgenix® por parte del Servicio Nacional de Salud (NHS) de Inglaterra después de encontrar incertidumbre sobre la efectividad a largo plazo del medicamento [44]. Sin embargo, la negociación continuó.

Mientras tanto, el 29 de junio de 2023 la FDA aprobó valoctocogene-roxaparvovec-rvox, la terapia génica desarrollada por BioMarin para tratar la hemofilia A y comercializada finalmente bajo el nombre de Roctavian™. Al igual que Hemgenix®, Roctavian™ consiste de un vector AAV5, pero, en este caso, evidentemente, el gen que contiene es *F8*. Esta terapia también está diseñada para administrarse una sola vez, por vía intravenosa. Está indicada para pacientes con hemofilia A severa y sin historial de inhibidores (Drugs.com, 2023). El costo de esta terapia también ha causado controversias, pero los sistemas de salud de algunas naciones han logrado hacer buenas negociaciones al respecto; BioMarin anunció que el costo de esta terapia sería de USD\$2.9M para los Estados Unidos. Como suele suceder, en Europa el precio iba a ser menor, de manera que se garantizaran ganancias de USD\$1.5M para los desarrolladores [45]. En Alemania, se logró una negociación tal que el costo por vial sería de alrededor de €28,933.53, lo que se traduciría en ganancias netas de USD\$900,000 para BioMarin. Esto es un claro ejemplo de una buena negociación de precios farmacéuticos [46].

El 26 de abril del 2024, la FDA aprobó fidanacogene elaparvovec-dzkt (BEQVEZ™), otra terapia génica de una única dosis para tratar la Hemofilia B, desarrollada por Pfizer [47]. Tiene el mismo funcionamiento que Hemgenix®, y, de hecho, también consiste de un vector AAV, la diferencia es que, en este caso, se trata de una cápside viral recombinante AAVRh74var derivada de un serotipo AAV natural Rh74 [48]. Este producto tiene el mismo precio de venta que Hemgenix® [49], por lo que es su competidor directo en caso de ser aceptado por los sistemas de salud.

El 27 de junio del 2024, se anunció que el NICE finalmente recomendó a la NHS de Inglaterra cubrir la terapia con Hemgenix® [50]. Este trato es el primero en su clase, ya que se trata de un acuerdo basado en resultados, lo que refleja la confianza que tiene CLS Behring en su producto. Esto garantizará el acceso a pacientes elegibles para este tratamiento en esta región. Los resultados a largo plazo aún está por verse [51].

3.7. Perspectivas a futuro

En este trabajo se presenta una revisión narrativa actualizada de la historia de la hemofilia. En la Tabla 1 se muestran las características de los diferentes tipos de hemofilia que se conocen a día de hoy, mientras que en la Tabla 2 se muestra la cronología de hitos históricos de este padecimiento construida a partir de la revisión realizada.

Tabla 1. Características clínicas de los diferentes tipos de hemofilia [6, 23].

Carac- terística	Hemofilia A	Hemofilia B	Hemofilia C
Factor defi- ciente	FVIII	FIX	FXI
Gen afectado	<i>F8</i>	<i>F9</i>	<i>F11</i>
Prevalencia	1:5,000 nacidos vivos varones	1:30,000 nacidos vivos varones	1:1,000,000 (más común en judíos Ashkenazí)
Severidad clínica	Alta (frecuentes hemorragias espontáneas)	Moderada a alta	Leve (sangrados usualmente quirúrgicos)
Diagnóstico habitual	Infancia temprana	Infancia temprana	Etapas posteriores (cirugías o extracciones dentales)

Tratamiento principal	Reemplazo de FVIII (recombinante o plasmático), emicizumab	Reemplazo de FIX (recombinante o plasmático)	En general, no requiere tratamiento regular
Complicaciones comunes	Inhibidores, daño articular	Inhibidores	Poco frecuentes

Tabla 2. Cronología de hitos médicos más relevantes de la hemofilia.

Año	Hito histórico	Descripción
Siglo II d.C.	Primeros registros clínicos	En el Talmud de Babilonia se describen hemorragias hereditarias en varones tras la circuncisión.
1803	Descripción moderna inicial	John Otto describe una enfermedad hemorrágica hereditaria que afecta solo a varones.
1828	Término “hemofilia”	Frederich Hopff introduce por primera vez el término “hemofilia”.
1837–1901	Popularización como “Enfermedad Real”	La reina Victoria de Inglaterra transmite la enfermedad a descendientes reales europeos.
1940	Primer tratamiento exitoso	Uso de transfusión sanguínea para tratar hemorragia grave en un niño con hemofilia.
1944–1947	Identificación de tipos A y B	Alfredo Pavlovsky distingue dos tipos de hemofilia; se reconoce oficialmente la hemofilia B.
1958	Inicio de la profilaxis	Inga Marie Nilsson propone régimen profiláctico para prevenir sangrados.
1964	Desarrollo de crioprecipitados	Judith Graham Pool obtiene un preparado rico en FVIII derivado de plasma.
1982	Crisis por VIH	Se documentan casos de VIH por uso de pdFVIII contaminado.
1992	Aparición de FVIII recombinante	Se introduce el primer rFVIII recombinante, sin proteínas plasmáticas humanas.
2003	rFVIII sin proteínas animales	Tercera generación de productos recombinantes sin aditivos de origen animal.
2007	Primer ECA de profilaxis	Se publica estudio clínico que demuestra superioridad de la profilaxis frente a tratamiento a demanda.
2017	Aprobación de emicizumab	Primer anticuerpo biespecífico aprobado para pacientes con hemofilia A con inhibidores.
2022–2024	Primeras terapias génicas aprobada	La FDA aprueba Hemgenix®, terapia génica para hemofilia B. Posterior aprobación de Roctavian™ (hemofilia A) y Beqvez™ (hemofilia B).

La hemofilia es una enfermedad rara que se ha presentado en diferentes países a lo largo de la historia, e incluso ha llegado a presentarse en algunos personajes históricos como la realeza inglesa. Es evidente que históricamente, el tratamiento para este padecimiento ha enfrentado diferentes retos, por lo que ha tenido que evolucionar a lo largo de los años; pasó de consistir en hacer curaciones a las heridas para evitar las hemorragias, a ser tratado con terapia génica. Lo que es un hecho, es que el entendimiento de esta patología y el desarrollo de diferentes opciones terapéuticas han logrado que la calidad de vida de los pacientes que padecen esta enfermedad aumente sustancialmente. Antes de la década de 1970, la esperanza de vida de pacientes hemofílicos era de 20 – 30 años. Actualmente, la esperanza de vida con los tratamientos actuales es de > 70 años, al menos en países desarrollados [52]. En la Tabla 3 se muestra la

evolución de la esperanza y calidad de vida de los pacientes con hemofilia a lo largo del tiempo.

Tabla 3. Evolución de la esperanza y calidad de vida de los pacientes con hemofilia a lo largo de la historia [21, 52-54].

Periodo	Tratamientos disponibles	Esperanza de vida	Calidad de vida	Percepción Social y acceso a la atención
Antes de 1940	Cuidado empírico (curaciones, cauterización)	< 15 años	Muy baja. Alta mortalidad infantil	“Enfermedad maldita” o “Enfermedad real”, sin acceso a tratamiento.
1940–1960s	Transfusiones sanguíneas y crioprecipitados derivados de plasma	~20–30 años	Baja. Riesgo elevado ante cirugías o traumatismos	Aumenta la visibilidad y entendimiento del padecimiento. Atención médica muy limitada.
1970s–1980s	PdFVIII/pdFIX.	~40 años	Moderada. Riesgo de infecciones (VIH, VHC)	Infecciones por VIH y VHC dañan la reputación del tratamiento; comienza la desigualdad global en acceso
1990s–2000s	Recombinantes de primera generación. Recombinantes sin proteínas animales, inicio de profilaxis	~50–65 años	Buena. Menor riesgo infeccioso, menos sangrados articulares	Comienzan asociaciones de pacientes, aumenta la visibilidad y mejora la imagen social, pero crecen las brechas entre países ricos y pobres
2010s–2020s	Vida media extendida, emicizumab, terapias génicas	Proyección a > 70 años	Alta. Menos episodios de sangrado y menor carga terapéutica. Se espera remisión sostenida.	Acceso restringido por alto costo y desigualdad estructural. Poca actualización en guías de práctica clínica y compendios en países en desarrollo

En años recientes, se ha demostrado que los productos de vida media prolongada no sólo tienen más ventajas clínicas e industriales sobre aquellos de vida media convencional, sino que, además, son más costo-efectivos [55]. Por lo tanto, la evidencia científica sugiere que, a día de hoy, la mejor estrategia para atender la hemofilia es a través de la profilaxis con factores de coagulación recombinantes FVIII o FIX de vida media extendida, de las cuales ya existen actualmente varias opciones en el mercado. Sin embargo, no se puede decir que es la terapia universal en todo el mundo. Por ejemplo, en el Compendio Nacional de Insumos para la Salud (CNIS) de México de 2023, sólo se contemplan dos formulaciones de FIX, ambas de vida media estándar [56]. La pandemia por COVID-19 atrasó el proceso de los acuerdos en este país, pero se tiene pensado que, al igual que como ya está planteado el CNIS, los FIX adquiridos deben ser de origen recombinante o derivados de plasma, sin especificar su vida media [57].

Asimismo, a día de hoy, la aparición de inhibidores sigue siendo un problema con repercusiones clínicas y económicas importantes, y, a pesar de que no se ha llegado a una solución para esta situación, se han logrado desarrollar estrategias y que han devuelto la esperanza a los pacientes con inhibidores, como lo es la inducción de tolerancia inmune o, más importante aún, el fármaco emicizumab.

Por otro lado, actualmente los países de primer mundo con empresas farmacéuticas de gran poder económico se han esforzado mucho en el desarrollo de terapias génicas para diferentes padecimientos, y en la última década, el medicamento más costoso del momento es una

terapia génica para una enfermedad rara [3]. A día de hoy, se cuenta con tres terapias génicas para tratar la hemofilia (dos para hemofilia B y una para hemofilia A). Las tres cuentan con el mismo precio de venta (USD\$ 3.5 M), y, a día de hoy, sostienen el récord de ser los medicamentos más costosos del mundo y de la historia.

La efectividad de estos tratamientos está por verse, pues su efectividad a largo plazo es incierta, pero, más importante aún, su uso. Y es que se trata de terapias muy difíciles de pagar para las personas y los sistemas de salud. El propósito de estas terapias es que beneficien a las personas que las necesitan, y, a pesar de ello, su acceso a la mayoría de estas personas es incierto. Aun así, el simple hecho de que estas terapias existan no sólo refleja el poderío de los avances tecnológicos que puede ejercer la industria farmacéutica, sino que representan una esperanza para las personas afectadas por esta enfermedad. Esta revisión deja en evidencia los grandes avances que se han presentado a lo largo de la historia para tratar la hemofilia, por lo que, a pesar de que las terapias génicas parezcan inalcanzables para la mayoría de los pacientes, tal vez en un futuro pueda considerarse una opción terapéutica accesible y asequible.

Por último, cabe recalcar que a pesar de que la hemofilia es una enfermedad rara que, en teoría, no afecta a muchas personas, es importante recordar el valor individual de cada vida humana y el derecho a la salud que todos tenemos. Por ello, es de gran relevancia para el público en general conocer la historia de una de las enfermedades más antiguas de la humanidad y que, a día de hoy, sigue siendo de importancia clínica, social y económica, pero, sobre todo, humana. Por ello, cada avance científico y tecnológico que se ha logrado para entender o tratar la hemofilia (desde la descripción del proceso de coagulación en 1770, la clonación de los factores de coagulación hasta el desarrollo de terapias génicas), supone también un escalón más en la calidad de vida de personas y familias que por generaciones habían sido condenadas a vivir, desde el nacimiento, una vida con limitaciones, dolor y miedo.

4. CONCLUSIONES

La presente revisión bibliográfica se realizó con el objetivo de comprender los más grandes hitos en la historia de la hemofilia, de su entendimiento y su tratamiento. En ella, se señala que la atención médica de este tratamiento ha sufrido diferentes retos, muchos de los cuales se han logrado superar, como los productos derivados de plasma con agentes infecciosos, o el desarrollo de productos con vida media extendida para mejorar la efectividad. Sin embargo, aún existen muchos retos, como la aparición de inhibidores o los altos costos que presentan las terapias, sobre todo las más novedosas. Sin embargo, es destacable que a día de hoy se cuenta con varias opciones terapéuticas, y es innegable que, a lo largo de la historia, la esperanza y calidad de vida de las personas que viven con esta enfermedad ha mejorado mucho. Conocer la historia de la patología puede ayudar a la comunidad científica, a los pacientes y al público general a superar de mejor manera los retos que vengan por delante. También es importante reconocer que, a pesar de que la hemofilia es una enfermedad rara, y no afecta a una gran población, cada vida humana es importante, y todos individualmente tenemos derecho a la salud, por lo cual debe ser de interés común el conocer la historia y el estado actual de esta patología.

CONFLICTO DE INTERÉS

El autor declara no presentar ningún conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. A. Visibelli, B. Roncaglia, O. Spiga & A. Santucci. The impact of artificial intelligence in the odyssey of rare diseases. *Biomedicines*, **11**(3), 887 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/biomedicines11030887>
2. S. Witt, K. Schuett, S. Wiegand-Grefe, J. Boettcher & J. Quitmann. Living with a rare disease - experiences and needs in pediatric patients and their parents. *Orphanet J. Rare Dis.*, **18**, 242 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1186/s13023-023-02837-9>
3. I. Papaioannou, J.S. Owen & R.J. Yáñez-Muñoz. Clinical applications of gene therapy for rare diseases: A review. *Int. J. Exp. Pathol.*, **104**(4), 154–176 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1111/iep.12478>
4. S. Somanadhan, R. O'Donnell, S. Bracken, S. McNulty, A. Sweeney, D. O'Toole, *et al.* Children and young people's experiences of living with rare diseases: An integrative review. *J. Pediatr. Nurs.*, **68**, e16–e26 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.pedn.2022.10.014>
5. E. Soffer, K. Coleman & G. Batsuli. The impact of concurrent X chromosome anomalies on diagnosis and bleeding phenotype in children with hemophilia: A single-institution case series. *Pediatr. Blood Cancer*, **70**(7), e30400 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1002/pbc.30400>
6. N. Chernyi, D. Gavrilova, M. Saruhanyan, E.S. Oloruntimehin, A. Karabelsky, E. Bezsonov & A. Malogolovkin. Recent advances in gene therapy for hemophilia: Projecting the perspectives. *Biomolecules*, **14**(7), 854 (2024). Doi: <https://doi.org/10.3390/biom14070854>
7. G. Tsoucalas, M. Karamanou, T.G. Papaioannou & M. Sgantzios. Theories about blood coagulation in the writings of ancient Greek medico-philosophers. *Curr. Pharm. Des.*, **23**(9), 1275–1278 (2017). Doi: <https://doi.org/10.2174/1381612822666161205120848>
8. S. Sarmiento-Doncel, G.A. Díaz-Mosquera, J.M. Cortes, C. Agudelo-Rico, F.J. Meza-Cadavid & R.G. Peláez. Haemophilia A: A review of clinical manifestations, treatment, mutations, and the development of inhibitors. *Hematol. Reports*, **15**(1), 130-150 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/hematolrep15010014>
9. A. Kaadan & M. Angrini. Who discovered hemophilia? *J. Brit. Islam. Med. Assoc.*, **11**(4), 1–7 (2022). URL: <https://www.jbima.com/article/who-discovered-hemophilia/>
10. F. Rosner. Hemophilia in classic rabbinic texts. *J. Hist. Med. Allied Sci.*, **49**(2), 240–250 (1994). Doi: <https://doi.org/10.1093/jhmas/49.2.240>
11. D. Doyle. William Hewson (1739–74): The father of haematology. *Br. J. Haematol.*, **133**(4), 375–381 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1111/J.1365-2141.2006.06037.X>
12. A.R. Rushton. Leopold: The “Bleeder Prince” and public knowledge about hemophilia in Victorian Britain. *J. Hist. Med. Allied Sci.*, **67**(3), 457–490 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1093/jhmas/jrr029>
13. Z. Qasim, A. Wazeer, A. Shaukat, N. Saba, R.T. Mahmood & S. Ahmed. The past and future of haemophilia: A narrative review. *Mirpur J. Med. Sci.*, **1**(1), 51–57 (2023). URL: <https://mjms.org.pk/index.php/mjms/article/view/8>
14. W. Schramm. The history of haemophilia – a short review. *Thromb. Res.*, **134**(Suppl. 1), S4–S9 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.thromres.2013.10.020>
15. J.M.L. Kendrick. Russia's imperial blood: Was Rasputin not the healer of legend? *Am. J. Hematol.*, **77**(1), 92–102 (2004). Doi: <https://doi.org/10.1002/ajh.20150>
16. E.I. Rogaev, A.P. Grigorenko, G. Faskhutdinova, E.L. Kittler & Y.K. Moliaka. Genotype analysis identifies the cause of the “Royal disease”. *Science*, **326**(5954), 817–817 (2009). Doi: <https://doi.org/10.1126/science.1180660>
17. N. Sidharthan & R. Sudevan. Low dose prophylaxis in hemophilia care. *Indian J. Hematol. Blood Transfus.*, **36**(1), 16–25 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1007/s12288-019-01147-0>
18. H.E. Castro, M.F. Briceño, C.P. Casas & J.D. Rueda. The history and evolution of the clinical effectiveness of haemophilia type A treatment: A systematic review. *Indian J. Hematol. Blood Transfus.*, **30**(1), 1–11 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1007/S12288-012-0209-0>
19. Fundacion de la Hemofilia: Desde 1944. Our history. Buenos Aires. URL: <http://legacy.hemofilia.org.ar/en/our-history> , accedido el 6 de noviembre de 2024.

-
20. M. Franchini & P.M. Mannucci. Past, present and future of hemophilia: A narrative review. *Orphanet J. Rare Dis.*, **7**, 24 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1186/1750-1172-7-24>
 21. Great Lakes Hemophilia Foundation. History of bleeding disorders. URL: <https://glhf.org/resources/facts-about-bleeding-disorders/history-of-bleeding-disorders/>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
 22. J.A.S. Lopes, A.C.A.D. Santos, T.S. Espósito, N.N.S. Magalhaes, R.M. Almeida, A.D.C. Gusmão, O.F.D. Santos, L.O.W. Rodrigues, C.M. Oliveira & D.O.W. Rodrigues. Hemophilia C: A rare case report in woman. *Hematol. Transfus. Cell Ther.*, **43**(Suppl. 1), S227 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.384>
 23. X. Zhang, M. Lewandowska, M. Aldridge, K. Iglay, E. Wolford & A. Shapiro. Global epidemiology of Factor XI deficiency: A targeted review of the literature and foundation reports. *Haemophilia*, **29**(2), 423–434 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1111/hae.14687>
 24. M.C. Ozelo & G.G. Yamaguti-Hayakawa. Impact of novel hemophilia therapies around the world. *Res. Pract. Thromb. Haemost.*, **6**(3), e12695 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1002/rth2.12695>
 25. M.G. Español, J.N. Mistretta, M.D. Tarantino & J.C. Roberts. The evolution of hemophilia therapeutics: An illustrated review. *Res. Pract. Thromb. Haemost.*, **8**(3), 102308 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.rpth.2023.102308>
 26. X. Chin, S.W. Teo, S.T. Lim, Y.H. Ng, H.C. Han & F. Yap. Desmopressin therapy in children and adults: Pharmacological considerations and clinical implications. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*, **78**(6), 907–917 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1007/s00228-022-03297-z>
 27. H.-H. Brackmann, G.C. White II, E. Berntorp, T. Andersen & C. Escuriola-Ettingshausen. Immune tolerance induction: What have we learned over time? *Haemophilia*, **24**(S3), 3–14 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1111/hae.13445>
 28. G. Ling & E.G.D. Tuddenham. Factor VIII: the protein, cloning its gene, synthetic factor and now – 35 years later – gene therapy; what happened in between? *Br. J. Haematol.*, **189**(3), 400–407 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1111/bjh.16311>
 29. R. Kaczmarek. Gene therapy – Are we ready now? *Haemophilia*, **28**(S4), 35–43 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1111/hae.14530>
 30. M. Franchini & G. Lippi. Recombinant factor VIII concentrates. *Semin. Thromb. Hemost.*, **36**(5), 493–497 (2010). Doi: <https://doi.org/10.1055/S-0030-1255443>
 31. M. Moreno-Moreno & R. Cuesta-Barriuso. A history of prophylaxis in haemophilia. *Blood Coagul. Fibrinolysis*, **30**(1S Suppl. 1), S1–S3 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1097/mbc.0000000000000844>
 32. L. Lapteva, T. Purohit-Sheth, M. Serabian & R.K. Puri. Clinical development of gene therapies: The first three decades and counting. *Mol. Ther. Methods Clin. Dev.*, **19**, 387–397 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.omtm.2020.10.004>
 33. C.M. Kessler, J.C. Gill, G.C. White II, A. Shapiro, S. Arkin, D.A. Roth, X. Meng & J.M. Lusher. B-domain deleted recombinant factor viii preparations are bioequivalent to a monoclonal antibody purified plasma-derived factor VIII concentrate: A randomized, three-way crossover study. *Haemophilia*, **11**(2), 84–91 (2005). Doi: <https://doi.org/10.1111/J.1365-2516.2005.01068.X>
 34. W. Miesbach & F. Eladly. Current and future options of haemophilia A treatments. *Expert Opin. Biol. Ther.*, **21**(11), 1395–1402 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1080/14712598.2021.1908993>
 35. L. Zhao, Z. Yang, M. Zheng, L. Shi, M. Gu, G. Liu, F. Miao, Y. Chang, F. Huang & N. Tang. Recombinant adeno-associated virus 8 vector in gene therapy: Opportunities and challenges. *Genes Dis.*, **11**(1), 283–293 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.gendis.2023.02.010>
 36. S. Raso & C. Hermans. Recombinant factor VIII: Past, present and future of treatment of hemophilia A. *Drugs of Today*, **54**(4), 269–281 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1358/dot.2018.54.4.2800622>
 37. A. Trincherio, M. Sholzberg & D. Matino. The evolution of hemophilia care: Clinical and laboratory advances, opportunities, and challenges. *Hamostaseologie*, **40**(3), 311–321 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1055/a-1175-6530>
 38. P.M. Mannucci. Hemophilia therapy: The future has begun. *Haematologica*, **105**(3), 545 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3324/haematol.2019.232132>
-

39. Drugs.com®. Roctavian FDA approval history. URL: <https://www.drugs.com/history/roctavian.html>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
40. Drugs.com®. Hemlibra FDA approval history. URL: <https://www.drugs.com/history/hemlibra.html>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
41. I. Oomen, R.M. Camelo, S.M. Rezende, J. Voorberg, M.E. Mancuso, J. Oldenburg, *et al.* Determinants of successful immune tolerance induction in hemophilia A: Systematic review and meta-analysis. *Res. Pract. Thromb. Haemost.*, **7**(1), 100020 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.rpth.2022.100020>
42. P.E. Alcedo-Andrade, P.M. Mannucci & C.M. Kessler. Emicizumab: The hemophilia A game-changer. *Haematologica*, **109**(5), 1334 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3324/haematol.2022.282099>
43. Drugs.com®. Hemgenix FDA approval history. URL: <https://www.drugs.com/history/hemgenix.html>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
44. Z. Becker. FIERCE Pharma. England's NICE rejects CSL Behring's pricey gene therapy Hemgenix in draft guidance. URL: <https://www.fiercepharma.com/pharma/uks-nice-initially-rejects-csl-behrings-pricey-gene-therapy-hemgenix>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
45. BIOPHARMADIVE. BioMarin secures hemophilia gene therapy coverage in Germany. URL: <https://www.biopharmadive.com/news/biomarin-roctavian-germany-reimbursement-hemophilia-launch/700970/>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
46. BioMarin Pharmaceutical, Inc. BioMarin announces agreement with German Health Insurance Fund on reimbursement amount for ROCTAVIAN® (Valoctocogene Roxaparvovec-Rvox) for severe hemophilia A in Germany. URL: <https://investors.biomarin.com/news/news-details/2023/BioMarin-Announces-Agreement-with-German-Health-Insurance-Fund-on-Reimbursement-Amount-for-ROCTAVIAN-valoctocogene-roxaparvovec-rvox-for-Severe-Hemophilia-A-in-Germany-11-28-2023/default.aspx>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
47. Pfizer. U.S. FDA approves Pfizer's BEQVEZ™ (Fidanacogene Elaparvovec-Dzkt), a one-time gene therapy for adults with hemophilia B. URL: <https://www.pfizer.com/news/press-release/press-release-detail/us-fda-approves-pfizers-beqveztm-fidanacogene-elaparvovec>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
48. S. Dhillon. Fidanacogene elaparvovec: first approval. *Drugs*, **84**(4), 479–486 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s40265-024-02017-4>
49. BioProcess International. Pfizer wins approval for hemophilia B gene therapy. URL: <https://www.bioprocessintl.com/regulations/pfizer-wins-approval-for-3-5m-hemophilia-b-gene-therapy>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
50. NHS England. Responding to new final draft guidance from NICE for a new gene therapy for haemophilia B. URL: <https://www.england.nhs.uk/2024/06/responding-to-new-final-draft-guidance-from-nice-for-a-new-gene-therapy-for-haemophilia-b/>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
51. CSL Behring Deutschland. NICE Recommends CSL Behring's HEMGENIX®. URL: <https://www.cslbehring.de/en-us/news/2024/pm-hemgenix-managed-access-uk>, accesado el 6 de noviembre de 2024.
52. P.M. Mannucci. Hemophilia treatment innovation: 50 years of progress and more to come. *J. Thromb. Haemost.*, **21**(3), 403–412 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtha.2022.12.029>
53. E. Wagner & F. Sharif. Hemophilia A prognosis: What is the life expectancy? My Hemophilia Team. URL: <https://www.myhemophiliateam.com/resources/hemophilia-a-prognosis-what-is-the-life-expectancy>, accesado el 29 de julio de 2025.
54. Hemophilia Federation of America. *History of Bleeding Disorders*. URL: <https://www.hemophiliafed.org/history-of-bleeding-disorders/>, accesado el 29 de julio de 2025.
55. T. Zhou, S. Wang, Y. Zhang, R. Wu & H. Li. Cost-effectiveness analysis of recombinant factor IX Fc fusion protein compared with recombinant factor IX for the treatment of moderate–severe to severe hemophilia B in China. *Pediatr. Blood Cancer*, **70**(6), e30264 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1002/PBC.30264>

56. Gobierno de México, Consejo de Salubridad General. *Compendio Nacional de Insumos Para La Salud: Valoración Científica y Técnica*. URL: <https://www.gob.mx/csg/articulos/compendio-nacional-de-insumos-para-la-salud-367182>, accesado el 23 de junio de 2024.
57. G.G. DiMinno, L.M. Araujo-Cabrera, N. Loayza-Urcia, R. Bordone, C. Martinez-Murillo, J.C. Beltran & P. Mathew. Prophylaxis and hemophilia care in LATAM: Baring it all—highlights from the CLAHT 2021 symposium. *eJHaem*, **3**(4), 1287–1299 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1002/jha2.503>

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

I. Heyerdahl-Viau. Historia de la hemofilia: una enfermedad que afecta a más de uno. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 719–738 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.120474>

Optimización de un método analítico para la separación y cuantificación de flavonoides totales expresados en equivalentes de quercetina, en un extracto del hongo *Pleurotus ostreatus* mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

Diego Fernando Nope Páez^a, Lina María Ortiz Ulloa^b, Juliana Racines González^c & Emerson Eliecer León Ávila^{d*}

INQA Research Group, Facultad de Ciencias, Universidad El Bosque, Bogotá D. C., Colombia
leonemerson@unbosque.edu.co

Correos electrónicos: ^a dnope@unbosque.edu.co, ^b lortizu@unbosque.edu.co,
^c jrachines@unbosque.edu.co, ^d leonemerson@unbosque.edu.co

*Autor para correspondencia

Recibido: 11 de febrero de 2025

Corregido: 8 de julio de 2025

Aceptado: 11 de agosto de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.118793>

RESUMEN

Introducción: El hongo *Pleurotus ostreatus* es reconocido por su alto contenido de flavonoides, como la quercetina, compuestos con importantes intereses en el campo farmacológico, por sus propiedades antiinflamatorias y por su potente poder antioxidante que permite combatir el daño celular causado por los radicales libres. **Objetivo:** Por esto, este estudio se centra en determinar el aporte de flavonoides de este hongo, estableciendo un método eficiente y reproducible para la separación y cuantificación de flavonoides totales en términos de quercetina mediante cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). **Metodología:** Se llevaron a cabo extracciones con diversos solventes, seguidas de una prueba de tricloruro de aluminio mediante la medición espectrofotométrica a 420 nm para determinar la posible cantidad de flavonoides y seleccionar el solvente óptimo para su posterior análisis en HPLC. **Resultados:** Las condiciones cromatográficas establecidas fueron, una fase móvil de acetonitrilo:agua (35:65), una columna de cromatografía C8, una temperatura de 25°C, un flujo isocrático de 1,0 mL/min, volumen de inyección de 3 uL y longitud de onda de detección de 254 nm. La cuantificación de quercetina se realizó mediante el método de adición estándar, obteniendo una concentración de 40,990 ppm, lo que confirma que este hongo tiene gran aporte de flavonoides en términos de quercetina.

Palabras clave: Validación; quercetina; *Pleurotus ostreatus*; flavonoides.

SUMMARY

Optimization of an analytical method for the separation and quantification of total flavonoids expressed as quercetin equivalents in an extract of *Pleurotus ostreatus* mushroom by high performance liquid chromatography (HPLC)

Introduction: The fungus *Pleurotus ostreatus* is recognized for its high flavonoid content, such as quercetin, compounds with significant interest in the pharmacological field, due to their anti-inflammatory properties and their powerful antioxidant power that allows them to combat cellular damage caused by

free radicals. **Objective:** Therefore, this study focuses on determining the flavonoid content of this fungus, establishing an efficient and reproducible method for the separation and quantification of total flavonoids in terms of quercetin using high-performance liquid chromatography (HPLC). **Methodology:** Extractions with various solvents were carried out, followed by an aluminum chloride test using spectrophotometric measurement at 420 nm to determine the potential flavonoid content and select the optimal solvent for subsequent HPLC analysis. **Results:** The chromatographic conditions were established with a mobile phase of acetonitrile:water (35:65), a C8 column, a temperature of 25 °C, an isocratic flow of 1.0 mL/min, an injection volume of 3 µL, and a detection wavelength of 254 nm. The analyte quantification was performed using the standard addition method, obtaining a concentration of 40.990 ppm, which confirms that this mushroom has a high contribution of flavonoids in terms of quercetin.

Keywords: Validation; quercetin; *Pleurotus ostreatus*; flavonoids.

RESUMO

Otimização de um método analítico para a separação e quantificação de flavonoides totais expressos em equivalentes de quercetina em um extrato do cogumelo *Pleurotus ostreatus* por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE)

Introdução: O cogumelo *Pleurotus ostreatus* é reconhecido por seu alto teor de flavonoides, como a quercetina, compostos com significativo interesse farmacológico, por suas propriedades anti-inflamatórias e por seu potente poder antioxidante que combate os danos celulares causados por radicais livres. **Objetivo:** Portanto, este estudo se concentra na determinação do teor de flavonoides deste cogumelo, estabelecendo um método eficiente e reprodutível para a separação e quantificação de flavonoides totais em termos de quercetina por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE). **Metodologia:** As extrações foram realizadas com diversos solventes, seguidas de um ensaio com tricloreto de alumínio por espectrofotometria a 420 nm para determinar a quantidade potencial de flavonoides e selecionar o solvente ideal para posterior análise por CLAE. **Resultados:** As condições cromatográficas foram: fase móvel de acetonitrila:água (35:65), coluna cromatográfica C8, temperatura de 25 °C, vazão isocrática de 1,0 mL/min, volume de injeção de 3 uL e comprimento de onda de detecção de 254 nm. A quercetina foi quantificada pelo método de adição de padrões, obtendo-se uma concentração de 40,990 ppm, confirmando que este cogumelo possui alto teor de flavonoides em termos de quercetina.

Palavras-chave: Validação; quercetina; *Pleurotus ostreatus*; flavonoides.

1. INTRODUCCIÓN

El hongo *Pleurotus ostreatus*, también conocido como hongo ostra, es un basidiomiceto muy consumido actualmente por la población en general, de gran interés debido a su versatilidad nutricional y su capacidad de adaptación a diversos sustratos. Este es originario de Asia [1], su cultivo se ha expandido a distintas regiones de Latinoamérica, como México, Brasil y Colombia, impulsado por su creciente consumo como sustituto de la carne en dietas veganas y vegetarianas [2]. Además de su valor nutricional, este hongo ha captado la atención de la comunidad científica por su alto contenido de compuestos bioactivos, en particular flavonoides como la quercetina, los cuales poseen propiedades antioxidantes y farmacológicas con potencial para la prevención y tratamiento de diversas enfermedades [3].

Los flavonoides son metabolitos secundarios ampliamente distribuidos en plantas, vegetales, algunas bebidas y hongos, cuya estructura fenólica les confiere importantes beneficios para la salud [4]. La quercetina, uno de los flavonoides más estudiados, ha demostrado efectos antioxidantes y antiinflamatorios, contribuyendo a la reducción del riesgo de enfermedades

cardiovasculares y otras condiciones asociadas al estrés oxidativo. Sin embargo, la cuantificación precisa de estos compuestos en matrices biológicas complejas, como los hongos, representa un desafío analítico debido a la diversidad estructural de los flavonoides y la presencia de otros metabolitos interferentes [5].

En este contexto, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) se ha consolidado como una herramienta fundamental para la separación y cuantificación de flavonoides, proporcionando alta sensibilidad y especificidad. No obstante, la implementación de este método en extractos de *Pleurotus ostreatus* requiere una cuidadosa selección de las condiciones cromatográficas para garantizar resultados confiables y reproducibles. Son muy pocos los estudios que se han encontrado donde se aborde la validación de un método específico para la cuantificación de flavonoides totales en términos de equivalentes de quercetina en esta especie fúngica, lo que resalta la necesidad de desarrollar un enfoque analítico riguroso [6].

El presente estudio contribuye al conocimiento en el área mediante la optimización y validación de un método analítico robusto para la separación y cuantificación de flavonoides totales en términos de quercetina para extractos de *Pleurotus ostreatus*, estableciendo parámetros de validación como exactitud, precisión, especificidad, selectividad, límite de detección, límite de cuantificación y robustez [7]. Este trabajo representa un avance significativo en la caracterización química de este hongo, proporcionando un método analítico confiable que puede ser utilizado en futuras investigaciones sobre su potencial farmacológico y nutracéutico.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Equipos utilizados

Los equipos utilizados para el desarrollo del proyecto de investigación fueron: un Liofilizador Lyovapor L-200 BUCHI, un pulverizador de alimentos secos, balanza analítica OHAUS PX224e, un agitador orbital Neuation Technologies, una centrifugadora AFI Sirena Refrigerada, un cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) Shimadzu i-series modelo LC2050, con una columna Ultra RESTEK®, la cual es de Octilsilano monómero (C8) y cuenta con un tamaño de partícula de 3 μm , tamaño de poro de 100 Å y dimensiones de 150 mm $\times$ 4,60 mm. Adicionalmente, se utilizó un lector de microplacas iMark™ BIORAD, para el desarrollo de la prueba colorimétrica del tricloruro de aluminio.

2.2. Reactivos

Los reactivos utilizados fueron: Etanol al 80%, Patrón de Quercetina Q4951-10G - SLCK5305 SIGMA = 95% (HPLC), Acetonitrilo HPLC, Agua con tratamiento, Tricloruro de aluminio, Etanol grado HPLC y Buffer de fosfatos (pH= 2,61); es importante mencionar que los reactivos previamente mencionados son de marca Merck provenientes de Estados Unidos.

2.3. Definición de condiciones cromatográficas

Con el objeto de determinar las condiciones cromatográficas de separación para la matriz biológica específica, se optimizaron las condiciones obtenidas después de una revisión bibliográfica, en las cuales se trabaja con flavonoides totales en diferentes matrices, donde se evidencia una mayor importancia en la composición de la fase móvil. Es por esto que se inició la optimización de las condiciones por medio de la inyección de un patrón de concentración conocida, y el extracto resultante del hongo en el sistema cromatográfico de fase reversa, con unas condiciones iniciales de una fase móvil de acetonitrilo: agua (50:50) ambos grados HPLC y una fase estacionaria de octilsilano monomérico C8 (columna Ultra RESTEK®). Adicionalmente, se utilizó una temperatura de columna de 25,0 °C, flujo isocrático de 1,00 mL/min, volumen

de inyección de 3,00 μ L y longitud de onda de detección de 254 nm. Esto con el objeto de analizar el comportamiento de las muestras a estas condiciones y poder realizar los ajustes necesarios para obtener un número de platos teóricos óptimo, con resolución y sensibilidad a la hora de la separación y cuantificación del analito.

2.4. Cultivo del Hongo

Con el objetivo de estandarizar y reconocer las condiciones exactas de crecimiento, se llevó a cabo el cultivo propio de hongos *Pleurotus ostreatus* garantizando condiciones óptimas y así evitar interferentes químicos presentes en hongos comerciales [8]. Donde se adquirieron conocimientos básicos a través de un curso en la plataforma SENA SOFÍA PLUS sobre el cultivo casero de *Pleurotus ostreatus*. Del mismo modo, la semilla se obtuvo en el departamento de Micología de la Universidad Nacional de Colombia y se preparó un sustrato con residuos vegetales leñosos bajo las técnicas sanitarias [9]. Se destacó la importancia de asegurar la calidad del sustrato y se enfocó en factores como nutrientes, acidez, aireación y humedad. Así, la siembra e inoculación se realizaron con condiciones específicas de humedad (75%), pH (6.5), temperatura (28 °C) y baja intensidad lumínica [10]. El proceso continuó en una incubadora, considerando factores físicos clave, como la temperatura (18-25 °C), humedad del sustrato (60-70%), humedad ambiental (80-90%), y luz tenue. Posteriormente, en la postcosecha, se esperó que los hongos alcanzaran un tamaño de 5 a 20 cm con sombreros compactos y orillas de color café, dirigidas hacia abajo y la recolección se realizó con un bisturí esterilizado para utilizar la materia prima en el estudio [11]; como se observa en la Figura 1. Este enfoque metódico asegura un control riguroso sobre el cultivo, desde la obtención de la semilla hasta la recolección de los cuerpos fructíferos, contribuyendo a la calidad y reproducibilidad de los resultados en la presente investigación.



Figura 1. Cultivo hongo *Pleurotus ostreatus*. Fuente: Elaboración propia.

2.5. Tratamiento de la muestra y extracción por solventes.

Tras la postcosecha, se liofilizaron los cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus*, bajo condiciones de -50.60 °C y 0,100 mbar durante 48 horas, utilizando un proceso de congelación para la deshidratación gradual y preservación del material fúngico. Al finalizar el proceso de liofilización, fueron llevadas las muestras a un pulverizador de alimentos secos. Tras la revisión bibliográfica realizada se opta por realizar la extracción con dos tipos de solventes, según lo

establecido por Pascual *et al.* [12], se lleva a cabo una extracción con agua, mientras que según Goswami *et al.* [13], se emplea etanol grado HPLC. En este contexto y con el objeto de evaluar la eficiencia de extracción de ambos solventes, se siguieron los protocolos establecidos por los autores, ya que ambos trabajos previos reportaron el uso de estos solventes para extraer compuestos a partir de la misma matriz biológica (cuerpos fructíferos de *Pleurotus ostreatus*). Se tomaron 0,500 gramos del hongo pulverizado y se mezclaron con diferentes volúmenes de cada solvente (10 mL, 15 mL y 20 mL), la agitación se realizó en un agitador orbital a 150 rpm durante 24 horas, seguido de centrifugación a 5000 rpm durante 10 minutos. El sobrenadante se pasó por un filtro de jeringa UNIFLO PTFE (0,200 μ m) para eliminar partículas del extracto, garantizando una extracción efectiva de los compuestos de interés.

2.6. Prueba de Tricloruro de aluminio

Para desarrollar la prueba de tricloruro de aluminio, se agregaron 50 μ L de cada uno de los extractos resultantes con los diferentes solventes, agua en volúmenes de 10 mL, 15 mL y 20 mL, y etanol en volúmenes de 10 mL, 15 mL y 20 mL, a cada pozo en una microplaca de 96 pozos. Asimismo, se realizaron muestras con patrón de quercetina para la construcción de la curva de calibración, utilizando diferentes concentraciones, además de llevar a cabo controles negativos, que consistían en muestras de solo agua, y controles positivos que correspondían al estándar, para verificar la correcta ejecución de la prueba. Luego, se añadieron 50 μ L de una solución de $AlCl_3$ preparada al 2% en etanol, donde después de dejar reposar durante 1 hora a temperatura ambiente, se leyeron los resultados en un lector de microplacas a una longitud de onda de 420 nm. Es importante destacar que se realizó el ensayo por triplicado para cada muestra, siguiendo el protocolo establecido por Amaya *et al.* [14].

2.7. Validación del método cromatográfico

2.7.1. Linealidad

Para la determinación de la linealidad, inicialmente se preparó una curva de calibración mediante el método de adición estándar, para lo cual se prepararon 11 puntos de calibración, incluyendo un blanco, a los cuales se les agregó un mismo volumen de extracto (600 μ L) y se les añadió un volumen variable de patrón de quercetina. Donde se realizó la construcción de la curva de calibración, corriendo cada una de las muestras preparadas a través del sistema cromatográfico y a su vez, esto se realizó por triplicado. Finalmente, con los datos obtenidos se sacó el promedio de las 3 corridas y se construyó la curva de calibración; a partir de la cual se obtuvo la ecuación de la recta mediante una regresión lineal y también se obtuvo el coeficiente de determinación (R^2) el cual indica la linealidad del método [15].

2.7.2. Cuantificación

Considerando la ecuación de la recta derivada del análisis de linealidad, se procedió a realizar la correlación pertinente para la cuantificación de flavonoides totales expresados en equivalentes de quercetina, teniendo en cuenta el método utilizado de adición estándar que relaciona la ecuación de la recta y los volúmenes de las muestras empleados.

2.7.3. Precisión

Para la determinación de la precisión del método, se prepararon 3 patrones de concentración determinada, las cuales se encontraban dentro de las evaluadas en la curva de calibración realizada para determinar la linealidad. Por lo que se escogieron 600 ppm, 800 ppm y 1000 ppm.

Posteriormente, se corrió cada una de las muestras 4 veces en el sistema cromatográfico. Finalmente, se compararon los tiempos de retención y se aplicó el tratamiento estadístico, para determinar su promedio, desviación estándar y coeficiente de variación [15].

2.7.4. Reproducibilidad

Para evaluar la reproducibilidad del método, se llevó a cabo la inyección de una muestra estándar de quercetina cinco veces bajo las condiciones cromatográficas establecidas y una concentración de 800 ppm. Sin embargo, se estableció una variable al considerar distintos experimentadores; en donde, cada investigador preparó de manera independiente soluciones de concentración conocida. Estas soluciones se inyectaron en diferentes horarios para reflejar la variabilidad temporal y fueron tratadas estadísticamente. La comparación de los resultados incluyó la medición del promedio, el coeficiente de variación y la desviación estándar, permitiendo una evaluación integral de la reproducibilidad del método [15]. Por otro lado, es importante mencionar que las muestras se mantuvieron bajo refrigeración después del procedimiento realizado por el analista 1, con el fin de conservar la integridad del analito presente en el extracto.

2.7.5. Exactitud

Para determinar la exactitud del método se utilizaron los mismos patrones usados para el análisis de la precisión del método, por lo cual se tenían 3 patrones de concentraciones conocidas (600 ppm, 800 ppm y 1000 ppm), se inyectaron en el sistema cromatográfico, y se analizaron por triplicado. Este parámetro se determinó mediante el porcentaje de recuperación, que se basa en la comparación entre el valor teórico de concentración preparada de estándar y la real obtenida mediante la regresión lineal, teniendo en cuenta el promedio de las lecturas de cada estándar realizadas.

2.7.6. Límite de detección y cuantificación

Para la determinación del límite de detección y cuantificación, se preparó una curva de calibración de 6 puntos mediante el método de adición estándar con concentraciones de 0, 2, 5, 15, 25 y 50 ppm, donde se corrió cada uno de estos en el sistema cromatográfico y se analizó por duplicado. Posteriormente, se construyó la curva de calibración con los resultados obtenidos y se realizó el análisis de regresión lineal, obteniendo la ecuación de la recta, mediante la cual se obtuvo la pendiente y además se calculó el error típico [15].

2.7.7. Robustez

Para la determinación de la robustez se realizó la corrida cromatográfica cinco veces de un patrón de quercetina con una concentración de 600 ppm; sin embargo, se acidificó la fase móvil, quedando ácido fosfórico 0,1% v/v con un pH de 2,61 y acetonitrilo en una proporción de 65:35 respectivamente [16]. Por otro lado, se analizó el mismo estándar de quercetina, pero en esta ocasión bajo las mismas condiciones del estudio (acetonitrilo: agua (35:65)), con el fin de realizar la evaluación de este parámetro, donde lo anterior se realizó con el fin de comparar los resultados de robustez y reproducibilidad, y relacionar los promedios de los tiempos de retención y las áreas obtenidas en cada uno de los ensayos [16].

3. RESULTADOS

3.1. Extracción con diferentes solventes

La extracción de flavonoides totales en un extracto del hongo *Pleurotus ostreatus* fue llevada a cabo en diferentes solventes y volúmenes (Ver Tabla 1) por medio de agitación durante 24

horas; en dicha extracción se evidenció que al terminar el tiempo, los solventes habían cambiado de incoloro a café claro, indicando que no solo se extrajeron flavonoides, sino otro tipo de metabolitos secundarios o incluso otros polifenoles, como los taninos los cuales son solubles en solventes polares como el etanol y son responsables de coloraciones marrones, por lo que es probable que el tiempo prolongado de extracción y la agitación constante hayan facilitado la solubilización de estos compuestos poliméricos [17].

3.2. Selección de extracto por prueba de Tricloruro de aluminio

Para la determinación del mejor solvente el cual sería empleado para la posterior optimización de las condiciones de separación y cuantificación, por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se aplicó un método convencional diseñado para minimizar interferencias de otros compuestos fenólicos. Este método implicó la formación de complejos entre los hidroxilos vecinales de las estructuras base de los flavonoides difenil-piranos (C3-C6-C3) y el AlCl_3 [18]. La prueba con quercetina en la placa de 96 pozos (ver Figura 2) y la medición espectrofotométrica a 420 nm confirmaron la presencia de flavonoides totales para su posterior cuantificación [19]. Además, la construcción de la curva de calibración mediante el método de estándar externo mostró un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9945, indicando una buena relación entre la concentración del estándar y su respectiva señal, lo que permite cuantificar los flavonoides totales en los extractos del hongo de manera confiable.

Tabla 1. Resultados para determinación del mejor solvente de extracción para la matriz del hongo *Pleurotus ostreatus*, resultados concentración obtenidos (ppm) vs volumen (mL).

Solvente	Volumen (mL)	Concentración promedio (ppm)
Agua	10	7,3
Agua	15	3,2
Agua	20	5,0
Etanol	10	44,5
Etanol	15	28,7
Etanol	20	14,0

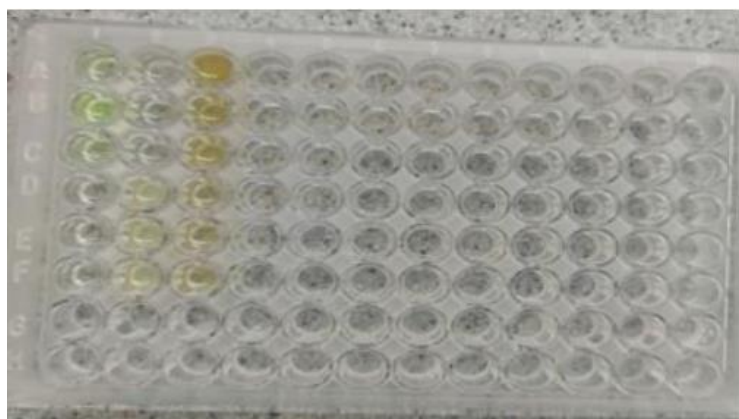


Figura 2. Placa de 96 pozos con prueba de tricloruro de aluminio (AlCl_3).

Tabla 2. Datos para construcción de curva de calibración realizada mediante la prueba de Tricloruro de Aluminio (AlCl_3) - Resultados de Concentración de Patrón (ppm) y Absorbancia obtenidos

Punto de calibración	Concentración de patrón (ppm)	Absorbancia
1	0	0
2	10	0,310
3	20	0,648

4	30	1,104
5	40	1,460
6	50	1,706

Con base en las absorbancias y las diferentes concentraciones del patrón de quercetina evidenciadas en la Tabla 2, se construyó una curva de calibración precisa (Ver Figura 3), y según su ecuación de la línea de regresión se determinó que el mejor solvente para la extracción de flavonoides totales fue etanol grado HPLC en un volumen de 10 mL, obteniendo una concentración de metabolitos de 44,5 ppm. Este enfoque permitió evaluar con precisión la concentración de los compuestos de interés, aprovechando las características espectrales resultantes de la interacción del analito con el Tricloruro de Aluminio (AlCl_3).

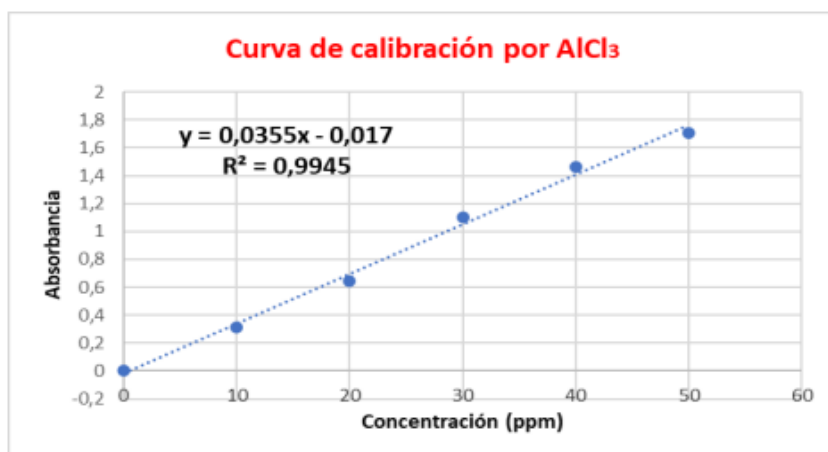


Figura 3. Curva de calibración resultante de la prueba de Tricloruro de Aluminio (AlCl_3)

3.3. Validación de la metodología analítica

3.3.1. Definición de Condiciones cromatográficas

Para la definición de las condiciones en el método de separación y cuantificación de flavonoides totales expresados en equivalentes de quercetina, en un extracto del hongo *Pleurotus ostreatus* mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC); Inicialmente se realizó una revisión bibliográfica exhaustiva, realizando la búsqueda de artículos en los cuales se estudian métodos validados y cuyo analito de interés eran los flavonoides totales expresados en términos de quercetina, con el fin de establecer unas condiciones iniciales y poder optimizar dichos parámetros cromatográficos a la matriz del hongo *Pleurotus Ostreatus*. Cabe destacar, que la optimización implicó un proceso iterativo de buscar y ajustar una serie de variables clave para maximizar la resolución, repetibilidad y robustez del método.

Este proceso de optimización se basó en la experimentación sistemática, donde se modificaron variables como fase móvil, fase estacionaria, temperatura, flujo, volumen de inyección y longitud de onda; con el fin de obtener los mejores resultados. Posterior al ajuste de los parámetros cromatográficos, se establecieron las siguientes condiciones: fase móvil compuesta por una mezcla de acetonitrilo: agua (35:65), ambas de grado HPLC, junto con una fase estacionaria de octilsilano monomérico C8 utilizando una columna Ultra RESTEK®. Esta columna presentaba un tamaño de partícula de 3 μm , un tamaño de poro de 100 Å y dimensiones de 150 mm x 4,6 mm. La temperatura de la columna se fijó en 25 °C, con un flujo isocrático de 1,0 mL/min, volumen de inyección de 3 μL y una longitud de onda de detección de 254 nm. Sin embargo, dado que se trata de una matriz biológica compleja, como lo es el extracto del hongo

Pleurotus ostreatus, que puede contener diversos compuestos interferentes como proteínas, carbohidratos, lípidos y otros metabolitos secundarios, el pico presentaba un ligero *tailing* [20] (ver Figura 4), lo que podría afectar la resolución y la cuantificación precisa de los analitos. No obstante, la cuantificación se realizó mediante el método de adición estándar, el cual minimiza los efectos de los interferentes de la matriz biológica, ya que se construye una curva de calibración utilizando la propia muestra como disolvente, compensando así los posibles efectos de matriz y garantizando una cuantificación más precisa y confiable. Esta estrategia analítica robusta, respaldada por N. Nuengchamnong *et al.* [21], asegura que el método no pierda fiabilidad y brinde resultados reproducibles y confiables en la determinación de flavonoides totales en el extracto del hongo *Pleurotus ostreatus*. Del mismo modo, estas condiciones fueron las óptimas para esta matriz tan compleja, equilibrando la resolución, la eficiencia y la separación adecuada de los flavonoides totales, minimizando los efectos indeseados como el *tailing*.

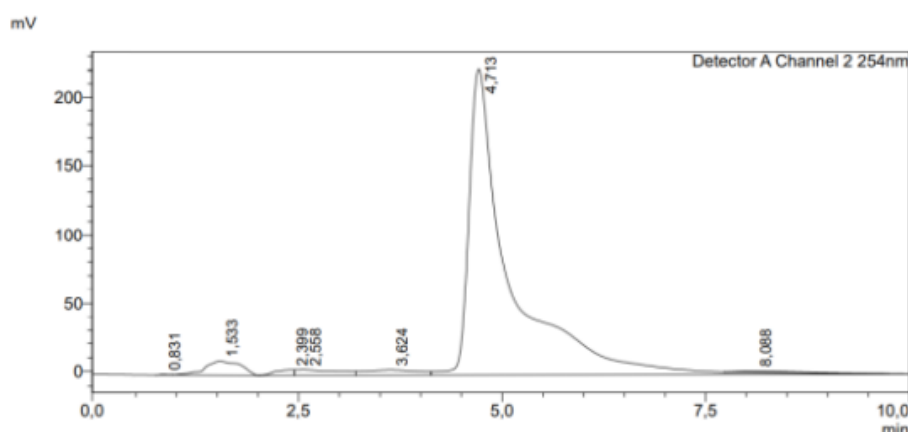


Figura 4. Cromatograma de la matriz biológica del hongo *Pleurotus ostreatus* con las condiciones cromatográficas.

Asimismo, al realizar la corrida cromatográfica con el estándar de quercetina y la matriz biológica con las condiciones optimizadas se obtuvo un cromatograma (ver Figura 5) con una excelente resolución cromatográfica, exhibiendo picos bien definidos y simétricos, lo cual se traduce en un alto grado de selectividad y especificidad del método analítico, lo que genera una mayor confiabilidad en la posterior validación de separación y cuantificación de flavonoides totales en equivalentes de quercetina.

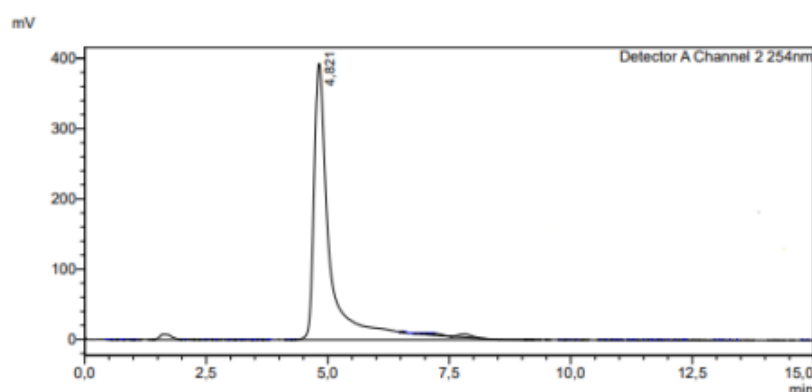


Figura 5. Cromatograma de la matriz biológica del hongo *Pleurotus ostreatus* y el estándar de quercetina con las condiciones cromatográficas optimizadas.

3.3.2. Linealidad

Para la determinación de la linealidad del método establecido para la determinación de flavonoides totales en el extracto del hongo *Pleurotus ostreatus*, se elaboró una curva de calibración de 11 puntos por medio del método de adición estándar, de acuerdo con lo establecido en el capítulo <1225> de la USP 41 [22]. Adicionalmente, cabe destacar que la linealidad del método fue determinada mediante la evaluación del coeficiente de determinación. Posteriormente, se pasaron por el sistema cromatográfico cada uno de los sistemas preparados que se muestran en la Tabla 3 y se obtuvo la respectiva curva de calibración que se observa en la Figura 6 con un coeficiente de determinación (R^2) de 0,9995, indicando una linealidad óptima del método para la determinación de flavonoides totales en el extracto del hongo *Pleurotus ostreatus*.

Tabla 3. Preparación y Resultados de Curva de Calibración por adición estándar para evaluación del método analítico.

Sistema	Vol muestra (μL)	Vol de solución estándar (μL)	Vol total (μL)	Concentración inicial de patrón (ppm)	Concentración nueva de patrón (ppm)	Área (mV)
1	600	0	1400	2000	0	299763
2	600	25	1400	2000	35,710	755072
3	600	50	1400	2000	71,430	1140764
4	600	100	1400	2000	142,860	2809677
5	600	200	1400	2000	285,710	5133861
6	600	300	1400	2000	428,570	7285172
7	600	400	1400	2000	571,430	9638136
8	600	500	1400	2000	714,290	11948138
9	600	600	1400	2000	857,140	14145963
10	600	700	1400	2000	1000	16456092
11	600	800	1400	2000	1142,860	18845330



Figura 6. Curva de calibración por adición estándar para la determinación de linealidad y cuantificación del método analítico.

3.3.3. Cuantificación

La cuantificación de flavonoides totales en el extracto etanólico del hongo *Pleurotus ostreatus* se realizó mediante el método de adición estándar, utilizando un patrón de quercetina. La incorporación de este patrón provocó un incremento en la señal de los flavonoides, superando las señales generadas por interferentes y mejorando la identificación del pico de interés, siguiendo la metodología propuesta. La curva de calibración obtenida durante el análisis de

linealidad, junto con su ecuación correspondiente, permitió determinar una concentración de 40,990 ppm del analito de interés en equivalentes de quercetina.

3.3.4. Precisión

Para la determinación de la precisión del método, se sigue lo establecido en la guía ICH Q2, en donde se menciona que deben tenerse en cuenta otros parámetros como la repetibilidad, puesto que los resultados obtenidos deben realizarse bajo los mismos factores de análisis, para poder evaluar cuál es la proximidad entre las mediciones [22]. Ahora bien, con el objetivo de analizar el parámetro analítico de precisión, se estudiaron 3 muestras con concentraciones conocidas y se analizaron 4 veces cada una. Posteriormente, se calculó la desviación estándar (s) y el coeficiente de variación (%CV) para cada uno de los grupos. Cabe destacar que se evaluaron estos dos parámetros estadísticos, puesto que dependen de la proporcionalidad y variabilidad de los resultados obtenidos, permitiendo así establecer la precisión del método. De acuerdo con lo establecido en la guía de validación de métodos cromatográficos de la FDA este valor debe ser igual o menor 1 para el caso de la desviación estándar y para el caso del coeficiente de variación se determina óptimo un valor de $\pm 1,3\%$, de acuerdo con lo establecido en el libro de validación de métodos en análisis químico cuantitativo del Instituto Nacional de Metrología de Colombia [23].

Tabla 4. Resultados y análisis estadístico de la precisión del tiempo de retención y área del pico.

	Tiempo de Retención (min)					
	600 ppm		800 ppm		1000 ppm	
	Tiempo de retención (min)	Área del pico (mV)	Tiempo de retención (min)	Área del pico (mV)	Tiempo de retención (min)	Área del pico (mV)
Promedio	4,957	9719192	4,961	12452164	4,939	15402685,250
S	0,011	22201,220	0,0082	986097,260	0,0077	584570,020
%CV	0,222	0,228	0,167	7,919	0,157	3,795

S=Desviación Estándar; %CV= Coeficiente de variación porcentual

Con base en lo anterior, en la Tabla 4 se realiza el análisis estadístico de los resultados obtenidos, donde se evalúa el promedio, la desviación estándar y el coeficiente de variación de cada grupo de datos para los tiempos de retención (min) y el área de pico (mV) para diferentes valores de concentración.

3.3.5. Análisis ANOVA

Los resultados del análisis ANOVA se presentan en la Tabla 5.

Tabla 5. Análisis ANOVA de Tiempos de Retención evaluados para el parámetro de precisión

Análisis de Varianza						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre los grupos	0,001108	2	0,0005541	6,625	0,01703	4,256
Dentro de los grupos	0,000752	9	8,3539 E-05			
Total	0,001861	11				

3.3.6. Reproducibilidad

Para la evaluación de la reproducibilidad del método establecido para la separación de flavonoides totales de un extracto del hongo *Pleurotus ostreatus*, dos analistas realizaron las respectivas inyecciones y posteriormente registraron los datos los cuales se recopilan en la Tabla 6; en la cual se observa un valor de 0,07331% en el coeficiente de variación respecto al tiempo de retención de los ensayos realizados por el analista 1 mientras que se obtuvo un valor de 0,1919% por el analista 2. Por otro lado, para las áreas de los picos se obtuvo un valor de 5,988% en el coeficiente de variación en los ensayos realizados por el analista 1, mientras que para los valores obtenidos por el analista 2 es de 0,8459%.

Tabla 6. Resultados y análisis estadístico del parámetro de reproducibilidad para cada analista.

Experimento	Analista 1		Analista 2	
	Tiempo de retención (min)	Área del pico (mV)	Tiempo de retención (min)	Área del pico (mV)
Promedio	4,790	8301037,333	4,953	2211134,667
S	0,00351	497056,006	0,00950	18703,416
CV%	0,07331	5,988	0,191	0,845

S=Desviación Estándar; %CV= Coeficiente de variación porcentual

3.3.7. Exactitud

La determinación de este parámetro se realizó por medio del porcentaje de recuperación, para lo cual se usa la ecuación de la recta previamente obtenida en la curva de calibración de linealidad y cuantificación, junto con el promedio de área de los picos obtenidos en el ensayo de precisión a las 3 concentraciones diferentes [24], se despejó y calculó la concentración obtenida experimentalmente; con este último valor se obtuvieron los porcentajes de rendimiento que se muestran en la Tabla 7. Así mismo, mediante el cálculo se obtuvo un porcentaje de rendimiento del 99,824%. Por último, se realizó un análisis estadístico con el cual se busca que el valor medio no difiera significativamente del teórico por medio del uso del ensayo de t-student realizada a un intervalo de confianza del 90% con un t tabulado de 1,533 [25] y un t obtenido de 0,0336.

Tabla 7. Resultados obtenidos de exactitud del área del pico a diferentes concentraciones.

	Área del Pico (mV)		
	600 ppm	800 ppm	1000 ppm
Promedio	9719192	12452164	15402685
Concentración obtenida	598,944	767,116	948,676
% rendimiento	99,824	95,889	94,867
Tob	0,00832	0,00289	0,00068
T tabulada *	1,533	1,533	1,533

*[25]

3.3.8. Límite de Detección y Límite de Cuantificación (LOD y LOQ)

Para la determinación de este parámetro cromatográfico, se partió de la curva de calibración establecida para el parámetro de linealidad y cuantificación. Se realizó un ajuste en las áreas restando la señal de la matriz debido a que el análisis de dichos parámetros de validación fue llevado a cabo por el método de adición estándar.

A continuación, se calcularon las estadísticas de regresión con el objetivo de evaluar los resultados obtenidos mediante la curva de calibración, tales como: coeficiente de correlación

(0,998), coeficiente de determinación (0,9995), pendiente (16251), error típico (60633,62) y ecuación de la recta ($Y=16251x + 285511$). Adicionalmente, es importante resaltar que estos valores se obtuvieron mediante el uso de la herramienta graficadora Microsoft Excel. Además, esto se realizó para poder aplicar las fórmulas recomendadas en la ICH [26] para calcular tanto el límite de detección como el límite de cuantificación del método. Por último, se calcularon cada uno de los límites utilizando las fórmulas recomendadas por la ICH, así:

$$\text{LOD} = (3,3 * 60633,62/16251) = 12,312 \text{ ppm}$$

$$\text{LOQ} = (10 * 60633,62/16251) = 37,310 \text{ ppm}$$

3.3.9. Robustez

Para la determinación de la robustez del método establecido, para la separación de flavonoides totales de un extracto del hongo *Pleurotus ostreatus*. Se llevó a cabo por medio del cambio del pH de la fase móvil a un valor de 2,61 con ácido fosfórico 0,1% en agua y acetonitrilo. Así mismo, con los resultados obtenidos en el ensayo de reproducibilidad (sin cambio de pH) y robustez (con cambio de pH) se elaboró la Tabla 8, en la cual se observa un aumento en el coeficiente de variación del área del pico, mientras que se identifica una disminución en el coeficiente de variación del tiempo de retención.

Tabla 8. Comparación entre resultados de resultados de evaluación de reproducibilidad y robustez del método analítico

Ensayos	Tiempo de retención (min)		Área del pico (mV)	
	Condiciones preestablecidas	Cambio en pH de la fase móvil	Condiciones preestablecidas	Cambio en pH de la fase móvil
Promedio	4,787	4,844	8476628	9253228,800
S	0,00540	0,0160	435908	150656,806
CV (%)	0,112	0,330	5,142	1,628

S=Desviación Estándar; %CV= Coeficiente de variación porcentual

4. DISCUSIÓN

4.1. Extracción y selección del mejor solvente

Los resultados de la extracción y posterior cuantificación con la prueba de Tricloruro de aluminio llevada a cabo para la evaluación de los solventes agua y etanol en diferentes volúmenes, con 0,500 gramos de hongo pulverizado, sugieren que el etanol grado HPLC con 10 mL es el mejor solvente para la extracción de flavonoides totales en el hongo *Pleurotus ostreatus*, lo que se debe a que el etanol es un solvente polar que puede interactuar con los grupos hidroxilo de los flavonoides, facilitando su solubilización. Por otro lado, se evidencia que al agregar una menor cantidad de etanol la concentración de los compuestos disueltos es mayor, debido a que el contenido de flavonoides del hongo se diluye en un volumen reducido; diferente al momento de utilizar mayor cantidad de disolvente. Por lo tanto, esto no implica que el volumen usado genere una extracción más eficiente, sino simplemente una más concentrada. Por otra parte, al comparar las concentraciones obtenidas con el solvente etanol y agua evidenciados en la Tabla 2, se observa que con este último la eficiencia de extracción es menor, ya que las concentraciones, son inferiores a diferencia de cuando se realiza con etanol, lo que sugiere que los flavonoides totales por sus grupos hidroxilo, interactúan más fácilmente con solventes orgánicos como el etanol [27]. Del mismo modo, la prueba de Tricloruro de aluminio permitió

cuantificar los flavonoides totales en los extractos, donde la curva de calibración con quercetina mostró una alta linealidad, lo que indica una buena relación entre la concentración del estándar y su respectiva señal, esto permite cuantificar el analito de manera confiable, que para el caso del extracto elegido de etanol grado HPLC fue de 44,550 ppm, siendo este usado para su posterior análisis y optimización de las condiciones de separación por medio de cromatografía líquida de alta resolución, evitando así saturar la columna cromatográfica, y obteniendo resultados óptimos.

4.2. Definición de Condiciones

Para definir las condiciones del método de separación de flavonoides totales en el extracto del hongo *Pleurotus ostreatus* mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), se seleccionó el patrón de quercetina como referencia debido a su amplia presencia en la naturaleza y su estructura química relativamente simple, lo que lo convierte en un estándar comúnmente utilizado en el análisis de flavonoides. Esta elección se fundamentó en su condición de patrón de referencia USP, que garantiza calidad y consistencia en los resultados. Las condiciones iniciales se determinaron considerando que la separación de compuestos fenólicos se realiza comúnmente mediante cromatografía en fase reversa, que emplea disolventes polares para la fase móvil y fases estacionarias basadas en partículas sólidas recubiertas con componentes apolares, además a partir del desarrollo de una revisión bibliográfica se tomaron en cuenta condiciones iniciales a las cuales se les realizó una optimización. Al realizar la corrida cromatográfica con lo reportado en dicha revisión y analizar los cromatogramas resultantes, se observaron superposiciones excesivas de picos, lo que indicaba una separación deficiente y una resolución insuficiente. Tras ajustar los parámetros cromatográficos de acuerdo con los resultados obtenidos de la revisión bibliográfica realizada, se logró una mejora significativa en la resolución de los picos. Sin embargo, persistieron algunos desafíos, como la presencia de picos solapados, que podrían afectar la cuantificación precisa de los flavonoides totales en el extracto del hongo *Pleurotus ostreatus*. Por lo tanto, se optó por cambiar a una columna C8, la cual es más adecuada para la separación de flavonoides totales y quercetina debido a su mayor capacidad de retención y selectividad para compuestos fenólicos en comparación con las columnas C18 convencionales. Las columnas C8 poseen una menor hidrofobicidad, lo que favorece la interacción con compuestos polares como los flavonoides, mejorando así su separación. El uso de la columna C8 permitió una mayor resolución de los picos, pero presentaban mucho *tailing* o *fronting*, que generaba una cola en el pico hacia tiempos de retención mayores, o una deformación hacia tiempos de retención menores, estas anomalías podrían generar problemas en la cuantificación precisa de los analitos y dificultar la integración de los picos. Con el objetivo de corregir el *tailing* o *fronting*, se decidió aumentar la proporción de agua y reducir la de acetonitrilo en la fase móvil en una proporción 50:50, lo que permitió mejorar la simetría de los picos, dado que, al aumentar la polaridad de la fase móvil, se favorece la interacción de los compuestos polares con la fase estacionaria medianamente apolar, lo que podría reducir el *tailing* o *fronting*. Sin embargo, a pesar de estos cambios, la separación continuaba siendo deficiente, por lo que se aumentó el flujo de 0,5 mL/min a 1 mL/min, este aumento en el flujo de la fase móvil generó un mayor arrastre de los analitos a través de la columna, lo que mejoró la resolución y redujo el ensanchamiento de los picos debido a la difusión, no obstante, aunque los picos mejoraron en términos de resolución, no presentaban una buena simetría ni resolución óptima. Por lo tanto, se aumentó nuevamente la proporción de agua en la fase móvil y se redujo la de acetonitrilo en una proporción 65:35, respectivamente, donde esta modificación

incrementó aún más la polaridad de la fase móvil, lo que favoreció la interacción de los compuestos polares con la fase estacionaria medianamente apolar, mejorando su retención y separación. Además, se disminuyó el volumen de inyección a 3 μL , lo que generó un cromatograma con picos más definidos, ya que un volumen de inyección menor reduce el ensanchamiento de los picos debido a la dispersión en el inyector y la columna, lo que mejora la resolución y simetría de los picos [28]. Es importante resaltar que esta composición de la fase móvil contribuye de manera significativa a lograr un equilibrio apropiado entre diversos factores, tales como efectos estéricos, formación de puentes de hidrógeno, hidrofobicidad, momento dipolar e ionización. Esto es crucial debido a que los flavonoides que no están ligados a unidades de glucosa muestran una baja solubilidad en agua, y cualquier cambio en esta propiedad estaría directamente relacionado con el pH del medio. Además, según la literatura, se ha observado que la polaridad aumenta principalmente con la presencia de hidroxilos en la cuarta posición, seguidos por aquellos en la segunda y tercera posición, donde la pérdida de grupos hidroxilo polares o la adición de grupos metoxi disminuyen la polaridad y, por ende, incrementan los tiempos de retención de manera significativa. Por otra parte, es crucial destacar la elección de mantener una temperatura constante de 25°C durante el proceso analítico, donde ésta se seleccionó debido a su idoneidad para el análisis de flavonoides totales, ya que, a esta temperatura, se minimiza la posibilidad de degradación térmica de los compuestos de interés, lo que garantiza la integridad de las muestras y la precisión de los resultados. Además, se empleó un detector UV/VIS integrado a HPLC con una longitud de onda de 254 nm, la cual se determinó mediante un análisis por espectrofotometría UV-VIS, lo que resultó esencial para identificar la máxima absorción de la quercetina. La elección del detector es particularmente adecuada para este tipo de análisis debido a la capacidad de los flavonoides para absorber radiación en el rango ultravioleta-visible, donde esta técnica permite una detección precisa y sensible de los compuestos de interés, ya que se aprovecha la capacidad de los flavonoides para absorber energía en la región del espectro electromagnético en la que se sitúa la longitud de onda seleccionada.

4.3. Linealidad

Como se puede observar en la curva de calibración realizada, se identifica que la mayoría de los puntos se encuentran dentro de la línea de tendencia de la gráfica, lo cual confirma que el método presenta una linealidad óptima, por lo que es adecuada la proporcionalidad de señal emitida por el equipo de cromatografía y la concentración de flavonoides totales expresados en términos de quercetina en la muestra, lo cual permite tener una alta confiabilidad en los resultados obtenidos. Además, lo anterior puede confirmarse mediante el coeficiente de determinación (R^2 de 0,999), ya que permite establecer la alta linealidad del método, dado que entre más sea su cercanía al valor de 1 es óptimo, de acuerdo con la guía de validación de métodos cromatográficos de la FDA. Ahora bien, se realizó la prueba Q o Test de Dixon, como se observa en la Tabla 4 [29], para identificar si alguno de los datos analizados era atípico; donde, al analizar los resultados obtenidos, se observa que, tanto para máximos, como mínimos, la Q calculada se encuentra por debajo de la Q tabulada o registrada en la literatura, lo cual representa que no hay ningún dato atípico y por ende no deberían descartarse. Así mismo, sustenta la linealidad de los datos y el R^2 presentado en el gráfico de la Figura 7.

4.4. Cuantificación

La cuantificación de flavonoides totales en el extracto etanólico del hongo *Pleurotus ostreatus* se realizó mediante el método de adición estándar, utilizando quercetina como patrón de referencia. El uso de este método permitió identificar y cuantificar de manera precisa y confiable

el pico de interés correspondiente a los flavonoides totales en la muestra, incluso en presencia de posibles interferentes. La adición de cantidades conocidas de quercetina y la construcción de una curva de calibración posibilitaron determinar la concentración original de flavonoides totales en equivalentes de quercetina, obteniéndose un valor de 40,990 ppm. Al comparar estas concentraciones con los resultados del método espectrofotométrico por AlCl_3 , empleado previamente para la selección del mejor solvente (44,500 ppm), se observó una consistencia y similitud en los valores obtenidos. Esta coherencia entre ambos métodos analíticos respalda la veracidad y robustez de los resultados, reforzando la certeza de la cuantificación realizada. Por otro lado, al comparar la concentración obtenida de flavonoides totales en equivalentes de quercetina del extracto etanólico del hongo *Pleurotus ostreatus*, en la que se obtuvo un valor de 81,980 mg/100 g que relaciona los miligramos de analito por cada 100 g de material fúngico, como se evidencia en la ecuación presentada al final del apartado, con lo reportado en el artículo "Evaluation of Total Phenolic Content, HPLC Analysis, and Antioxidant Potential of Three Local Varieties of Mushroom: A Comparative Study" se observa una notable diferencia. En dicho estudio, se especifica que el hongo *Calocybe indica* contiene 2917 mg/100 g, el hongo *Ganoderma tropicum* presenta 2931 mg/100 g, y el hongo *Ganoderma lucidum* tiene 2920 mg/100 g. Por lo tanto, es posible afirmar que la concentración de flavonoides totales en el hongo *Pleurotus ostreatus* es significativamente menor en comparación con las especies estudiadas en el artículo mencionado. Esto se puede deber a diferentes factores como las características genéticas de las especies de hongos, las condiciones de cultivo, el sustrato utilizado, el estado de madurez en el momento de la cosecha, así como los métodos de extracción y análisis empleados.

4.5. Precisión

Con base en los resultados obtenidos de precisión de los tiempos de retención, se observa que existe una desviación estándar de aproximadamente 0,010 y un coeficiente de variación de aproximadamente 0,182%; donde se puede evidenciar que ambos parámetros estadísticos cumplen con lo establecido en la guía de validaciones de la FDA y en las guías de la ICH; permitiendo establecer que el método presenta una alta precisión. Así mismo, al comparar los resultados se evidencia que sin importar el número de veces que se inyecte la muestra en el sistema cromatográfico, los tiempos de retención siempre son similares y cercanos a 4,953 minutos, lo que representa que no existe una dispersión entre los datos, dándole una alta confiabilidad a la precisión de los tiempos de retención para la determinación de flavonoides totales, expresados en términos de quercetina en el extracto del hongo *Pleurotus ostreatus*. Cabe mencionar, que se realizó la prueba estadística ANOVA con el objetivo de evaluar la variabilidad de los datos de tiempos de retención de precisión, tanto dentro de los grupos, como entre los grupos estudiados. Para lo cual, inicialmente se plantea un test de hipótesis, donde para la hipótesis nula (H_0), se establece que las medias son iguales, mientras que la hipótesis alternativa (H_1), establece que existe una diferencia o desigualdad de las medias. Ahora bien, para evaluar los resultados obtenidos mediante el análisis de varianza de un factor se aplica el Test F, realizando la comparación entre el valor de F y el valor crítico para F; donde se puede evidenciar que el valor de F es mayor que su valor crítico establecido en la Tabla 6, por lo que se debe rechazar la hipótesis nula. Así mismo, mediante el valor de probabilidad presente en la Tabla 6, que representa el menor nivel de significancia al que se rechazaría la hipótesis nula y al compararla con la significancia establecida para el análisis (0,050), se evidencia que al ser menor también establece que debe rechazarse. Teniendo en cuenta lo descrito anteriormente, se observa que, al aplicar un análisis estadístico más robusto, se evidencia que el método carece

de precisión. Sin embargo, dado al análisis anteriormente mencionado se observa que cumple con los parámetros estadísticos evaluados y establecidos en los libros de validaciones consultados, por lo que se puede garantizar que el método es preciso, pero que las diferencias en los hongos son sustancias ricas en muchos compuestos, por lo que ligeras interferencias pudieron generar dichas diferencias.

4.6. Exactitud

La exactitud se busca conocer la proximidad existente entre los resultados obtenidos experimentalmente y el valor teórico, por medio del cálculo del porcentaje de recuperación del analito contenido en la muestra. Por lo tanto, se puede decir que el método resulta exacto ya que según los valores observados en la Tabla 8 y los criterios encontrados en la USP 41, cuando se obtiene un porcentaje de recuperación entre 90 a 110%, se puede establecer que los resultados obtenidos experimentalmente se encuentran cercanos al valor teórico [30]. Así mismo, se puede identificar que el menor rendimiento fue de 94,867% en una concentración de 1000 ppm, mientras que el mayor fue de 99,824% en una concentración de 600 ppm; esta diferencia, pudo deberse a errores por parte de los experimentadores en la preparación del estándar como la cantidad pesada, volúmenes de solvente añadidos y condiciones ambientales que pudieron generar una degradación del patrón utilizado [31]. Por otro lado, al realizar el tratamiento estadístico utilizando la t-student, se puede observar que no hay una diferencia estadística significativa entre los valores obtenidos experimentalmente y los teóricos, por lo cual se puede aceptar la hipótesis nula; ya que los valores obtenidos de la t calculada es menor que la t tabulada (1,476), esta última se obtuvo a un nivel de significancia o confianza de 90% (0,100) y a n grados de libertad; lo cual demuestra que la media de la muestra es significativamente similar al valor teórico y, por lo tanto, se puede confirmar que el método de separación y cuantificación de flavonoides totales expresados en términos de quercetina resulta ser exacto [32].

4.7. Límite de detección y Límite de cuantificación

De acuerdo con los resultados obtenidos para el cálculo de LOD y LOQ, se observa que a través del método propuesto no se pueden cuantificar con precisión y exactitud aceptable los analitos que presenten una concentración menor a 11,327 ppm. Además, no se detecta ninguna señal cuando la muestra presenta una concentración menor a 3,738 ppm. No obstante, cabe destacar que cuando la muestra se encuentra por debajo del límite de cuantificación puede ser detectada por el equipo, pero no con una alta confiabilidad en el resultado, causando confusiones a la hora de realizar la lectura de los cromatogramas [33]. Sin embargo, en el apartado de cuantificación, se evidencia que la concentración de la muestra analizada es de 40,990 ppm, la cual se encuentra por encima de los valores obtenidos de LOD y LOQ, por lo que esto permite tener seguridad de que la muestra es detectable y cuantificable de manera confiable.

4.8. Reproducibilidad

Como se observa en la Tabla 7 se identifica una disminución en el coeficiente de variación del área de los picos, mientras que se observa un aumento en el tiempo de retención; sin embargo, tanto para el tiempo de retención como el área se pudo obtener una media representativa y datos relativamente homogéneos, puesto que al tener en cuenta los coeficientes de variación, ninguno de los valores obtenidos fue igual o superior al 30% [34]. Por otro lado, se puede decir que el método tiene cierto grado de reproducibilidad, ya que al observar los valores obtenidos en el porcentaje de coeficiente de variación para el tiempo de retención, se evidencia una diferencia de 0,120% entre los valores obtenidos por el analista 1 y el analista 2, lo anteriormente mencionado se puede deber a la estabilidad de los flavonoides, ya que según el estudio de C.

López *et al.* [34], identificó que los flavonoides se degradan mayormente en refrigeración que siendo almacenados en condiciones ambientales.

4.9. Robustez

Según lo establecido en la guía ICH Q2 (R2) la robustez debe ser evaluada con el fin de medir la capacidad del método analítico para obtener los criterios de desempeño esperados en su uso cotidiano frente a diferentes cambios operativos como equipos, analistas, temperatura, cambios de la fase móvil, entre otros; además de representar la fiabilidad de un procedimiento analítico [35]. Al realizar una variación en el pH de la fase móvil, para la evaluación de este parámetro se compararon los resultados obtenidos de este ensayo y los arrojados en reproducibilidad, en donde se observa un cambio en el coeficiente de variación tanto en el área como en el tiempo de retención; en el caso de este último, se evidencia un aumento de 0,110% a 0,330%, mientras que en el área se puede identificar una disminución en el coeficiente de variación de 5,140% al realizar el ensayo bajo las condiciones preestablecidas a 1,630% al cambiar el pH de la fase móvil. A pesar del cambio generado en estos dos parámetros (área y tiempo de retención); el cambio de pH resultó en una disminución del *tailing* que presentaban los picos de los cromatogramas obtenidos durante el ensayo de reproducibilidad, lo que se puede deber a que los flavonoides son compuestos polifenólicos que contienen grupos hidroxilo (-OH), que pueden protonarse en condiciones ácidas, lo que afecta las interacciones de los flavonoides en la fase estacionaria y modifica su polaridad. Además, un pH ácido favorece la escisión de los compuestos fenólicos unidos a proteínas y polímeros de carbohidratos presentes en la matriz del hongo, generando picos más resueltos y disminuyendo el *tailing* presente. Por otro lado, es importante mencionar que los flavonoides son inestables en pH básico, ya que se desprotonan y sus características iónicas aumentan, por lo que el uso de ácido fosfórico puede estar relacionado con la estabilidad de estos compuestos durante el estudio.

5. CONCLUSIONES

Se optimizó apropiadamente un método de extracción y separación de flavonoides totales en equivalentes de quercetina, de un extracto del hongo *Pleurotus ostreatus* mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), donde se exploraron diferentes condiciones iniciales y ajustes de parámetros cromatográficos, a través de un proceso iterativo, en el que se obtuvo una resolución adecuada de los picos cromatográficos, a pesar de la persistencia de algunos desafíos, como la superposición de picos y la presencia de *tailing*, como se evidencia en los cromatogramas presentes en el trabajo de investigación. Así mismo, se observa que el método es adecuado y que los tiempos de retención fueron consistentes, lo cual garantiza exactitud y fiabilidad de los resultados. Por otro lado, se observó una separación satisfactoria de los picos de los analitos, indicando una adecuada selectividad y resolución cromatográfica, lo cual respalda la idoneidad y fortalece la validez y la confiabilidad de los resultados obtenidos. Sin embargo, teniendo en cuenta los resultados, se evidencia que el método no fue reproducible en cuanto a las áreas de los picos, ni preciso en cuanto a los tiempos de retención y áreas del pico, por lo que se requieren otras investigaciones que apliquen diferentes herramientas estadísticas con el fin de realizar una validación óptima del método. Por lo tanto, la optimización del método específico para la separación y cuantificación de flavonoides totales en el hongo *Pleurotus ostreatus* no sólo abordó la escasez de investigaciones en este campo, sino que también facilitó la generación de datos confiables para futuros estudios. Al establecer un enfoque

que sentará las bases para investigaciones más profundas que exploren el potencial terapéutico de estos flavonoides, respaldando así el avance en el campo de la micología y la aplicación medicinal del hongo *Pleurotus ostreatus*, lo cual permite demostrar que éste hongo al ser consumido puede presentar beneficios en cuanto a sustancias antioxidantes y a su vez aportar a mejorar la calidad de la salud de las personas que los consumen.

AGRADECIMIENTOS

Expresamos nuestros sinceros agradecimientos a la Universidad El Bosque, por apoyarnos en nuestra formación profesional y por brindarnos los espacios para llevar a cabo el proceso experimental. Gracias a Dios y a nuestras familias por su amor incondicional, paciencia y apoyo emocional. Además, expresamos nuestro agradecimiento al profesor Wilson Moscoso, por su orientación y ayuda en el proceso de cultivo de la materia prima para nuestra tesis. Por último, agradecemos a nuestros amigos y seres queridos, por su aliento y motivación constante. Su apoyo ha sido fundamental para la realización de este proyecto.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran no presentar ningún conflicto de interés.

REFERENCIAS

1. M.C. Ciappini, M.B. Gatti & M.L. López-Zamora. *Pleurotus ostreatus*, una opción en el menú: estudio sobre las gírgolas en la dieta diaria. *Invenio*, **7**(12), 127–132 (2004). URL: <https://www.redalyc.org/pdf/877/87701211.pdf>
2. D. Niño-Ávila, M. Villalba-Orozco, B. Barraza-Amador & A.M. Medina-Buelvas. *Pleurotus*: Un hongo comestible con propiedades nutricionales, medicinales e importancia ambiental. *Microciencia*, **10**, 134–148 (2021). URL: <https://repository.unilivre.edu.co/handle/10901/23785>
3. K.P. Pinos-Coello. *Aprovechamiento de hongos (Pleurotus ostreatus) en la degradación lignocelulósica de residuos de cosecha para la obtención de abono orgánico, en la zona de mocache*. Trabajo de Grado. Universidad Técnica Estatal de Quevedo, Mocache, Los Ríos, Ecuador, 2020; 64 p. URL: <https://repository.uteq.edu.ec/server/api/core/bitstreams/792c100c-fd64-4063-95d9-70f04bab6bf6/content>
4. C. Sánchez. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **85**(5), 1321–1337 (2010). Doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-009-2343-7>
5. A. N. Panche, A.D. Diwan & S.R. Chandra. Flavonoids: An overview. *J. Nutr. Sci.*, **5**, e47 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
6. J. Cilerdzic, M. Stajic, J. Vukojevic, I. Milovanovic & N. Muzgonja. Antioxidant and antifungal potential of *Pleurotus ostreatus* and *Agrocybe cylindracea* basidiocarps and mycelia. *Curr. Pharm. Biotechnol.*, **16**(2), 179–186 (2015). Doi: <https://doi.org/10.2174/1389201015666141202152023>
7. V. Surendra & A. Quiroz-Ruiz. Critical values for six Dixon tests for outliers in normal samples up to sizes 100, and applications in science and engineering. *Rev. Mex. Cienc. Geol.*, **23**(3), 302–319 (2006). URL: <https://www.redalyc.org/pdf/572/57230203.pdf>
8. D. Harvey. *Modern Analytical Chemistry*. Mc Graw Hill, Boston (MA), 2000; 832 p.
9. J.E. Ortiz-García, D.E. González-Morales, Y. Mejía-Agudelo, L.S. García-Alzate & X. Cifuentes-Wchima. Evaluación de la biomasa residual (cereza) de café como sustrato para el cultivo del hongo comestible *Pleurotus ostreatus*. *Rev. Ion*, **33**(1), 93–102 (2020). Doi: <https://doi.org/10.18273/revion.v33n1-2020009>

10. Servicio Nacional de Aprendizaje – SENA. *Cultivo comercial de la orellana*. Plataforma SENA Sofia Plus, Bogotá, 2023. URL: <https://oferta.senasofiaplus.edu.co/sofia-oferta/detalle-oferta.html?fm=0&fc=y6vpILhsssQ>
11. F. Fernández-Rodríguez, M.B. Ruilova-Cueva & A. Hernández-Monzón. Programa para el diseño de mezclas de residuos agrícolas para el cultivo del hongo *Pleurotus ostreatus*. *Tecnología Química*, **34**(2), 158–169 (2014). URL: <http://scielo.sld.cu/pdf/rtq/v34n2/rtq05214.pdf>
12. L.A. Pascual-Pineda, A. Hernández-Marañón, M. Castillo-Morales, R. Uzárraga-Salazar, M.P. Rascón-Díaz & E. Flores-Andrade. Effect of water activity on the stability of freeze-dried oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) powder. *Drying Technol.*, **39**(8), 989–1002 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1080/07373937.2020.1739064>
13. B. Goswami, S. Majumdar, A. Das, A. Barui & J. Bhowal. Evaluation of bioactive properties of *Pleurotus ostreatus* mushroom protein hydrolysate of different degree of hydrolysis. *LWT*, **149**, 111768 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.111768>
14. L.M. Amaya-Rodríguez & C.E. Portillo-Membreño. *Determinación de fenoles, flavonoides y capacidad antioxidante en melaza, azúcar blanco y moreno en el ingenio chaparras por el método de espectrofotometría ultravioleta-visible*. Trabajo de Grado. Universidad de El Salvador, San Salvador, 2013; 130 p. URL: <https://repositorio.ues.edu.sv/server/api/core/bitstreams/b468c1f8-0672-4e52-88b1-3e393a394a3f/content>
15. L. Aguirre-Ortega, F.J. García-García, T. García-Juncá, M. Illera-Fontanet, M. Juncadella-Roca, M. Lizondo-Carbó, et al. *Validación de Métodos Analíticos*. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (AEFI), Barcelona, 2001; 315 p.
16. E. León-Ávila & J. Guevara-Pulido. Development of a RP-HPLC method for separating and quantifying muscimol in different developmental stages of the fungus *Amanita muscaria*. *J. Chem.*, **2020**, 8859998 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1155/2020/8859998>
17. E. Poma-Gil & R.N. Saldaña-Tarrillo. *Cuantificación de flavonoides y taninos en geles elaborados a base del extracto hidroalcohólico de tallos y hojas de Cupressus sempervirens L. ciprés, con efecto cicatrizante*. Trabajo de Grado. Universidad Privada Antonio Guillermo Urrelo, Cajamarca, Perú, 2020
18. F. Ianni, F. Blasi, P. Angelini, S.C. Di Simone, G.A. Flores, L. Cossignani & R. Venanzoni. Extraction optimization by experimental design of bioactives from *Pleurotus ostreatus* and evaluation of antioxidant and antimicrobial activities. *Processes*, **9**(5), 743 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/PR9050743>
19. R. Hilma, Herliani & H. Almurdani. Determination of total phenolic, flavonoid content and free radical scavenging activity of ethanol extract Sawo Stem Bark (*Manilkara zapota* (L.)). Conference Proceedings CelSciTech-UMRI 2018, vol. 3, 2018; 7 p. URL: <https://core.ac.uk/download/pdf/327217695.pdf>
20. E.E. Leon-Avila. Desarrollo de un método de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para la separación y cuantificación de diosgenina en extracto del fruto iguaraya de la planta cardón guajiro (*Sternocereus griseus*). *Avances en Química*, **18**(2), 55–59 (2023). Doi: <https://doi.org/10.53766/avanquim/2023.18.02.01>
21. N. Nuengchamnon, A. Hermans-Lokkerbol & K. Ingkaninan. Separation and detection of the antioxidant flavonoids, rutin and quercetin, using HPLC coupled on-line with colorimetric detection of antioxidant activity. *Naresuan Univ. J.*, **12**(2), 25–37 (2004). URL: <https://ph03.tci-thaijo.org/index.php/ahstr/article/view/2446>
22. United States Pharmacopeia (USP). <1225> *Validación de procedimientos farmacopeicos*. En: *United States Pharmacopeia 41 – National Formulary 36*. United States Pharmacopeial Convention, Rockville (MD), 2017; pp. 8194–8206.
23. D.A. Ahumada, C. Paredes, J. Abella & I. González. *Validación de Métodos en Análisis Químico Cuantitativo*. Instituto Nacional de Metrología: Subdirección de Metrología Química y Biología, Bogotá, Colombia, 2023; 100 p. URL: https://inm.gov.co/wp-content/uploads/2023/05/Guia_ValidacionMetodosAnalisisQuimicoCuantitativo-16.pdf

24. A.T. Bristy, T. Islam, R. Ahmed, J. Hossain, H.M. Reza & P. Jain. Evaluation of total phenolic content, HPLC analysis, and antioxidant potential of three local varieties of mushroom: A comparative study. *Int. J. Food Sci.*, **2022**, 834936 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1155/2022/3834936>
25. D.A. Skoog, F.J. Holler & S.R. Crouch. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta ed. Cengage Learning Editores, S.A. de C.V., México D.F., 2008; 1064 p.
26. European Medicines Agency. *ICH Q14 Guideline on Analytical Procedure Development*. Amsterdam, 2023; 44 p. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q14-guideline-analytical-procedure-development-step-5_en.pdf
27. I. González-Palma, H.B. Escalona-Buendía, E. Ponce-Alquicira, M. Téllez-Téllez, V.K. Gupta, G. Díaz-Godínez & J. Soriano-Santos. Evaluation of the antioxidant activity of aqueous and methanol extracts of *Pleurotus ostreatus* in different growth stages. *Front. Microbiol.*, **7**, 1099 (2016). Doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2016.01099>
28. S.G. Dmitrienko, V.A. Kudrinskaya & V.V. Apyari. Methods of extraction, preconcentration, and determination of quercetin. *J. Anal. Chem.*, **67**(4), 299–311 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1134/S106193481204003X>
29. United States Pharmacopeia (USP). <1225> *Validation of Compendial Procedures*. En: *United States Pharmacopeia and National Formulary (USP 44–NF 39)*. United States Pharmacopeial Convention, Rockville (MD), 2021; pp. 1–42.
30. T. Cheng, E.A. Veitch, I.B. Utne, M.A. Ramos, A. Mosleh, O.A. Alsos & B. Wu. Analysis of human errors in Human-autonomy collaboration in autonomous ships operations through shore control experimental data. *Reliab. Eng. Syst. Saf.*, **246**, 110080 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ress.2024.110080>
31. C. López, C. González-Gallardo, M. J. Guerrero-Ochoa, G. Mariño, B. Jácome & E. Beltran-Sinchi-guano. Estudio de la estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de Jamaica (*Hibiscus saabdariffa* L) en el almacenamiento. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, **29**(1), 105–118 (2019), URL: <http://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/lgr/v29n1/1390-3799-lgr-29-01-000105.pdf>
32. Agilent Technologies. *Cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC): fundamentos y teoría* (Presentación N.º 5991-5411ES). Agilent Technologies, Santa Clara (CA), 2016. URL: https://www.agilent.com/cs/library/slidepresentation/public/5991-5411ES_Agilent_LC_Theory_Spanish.pdf
33. V. Vargas-Franco. *Estadística Descriptiva para Ingeniería Ambiental con SPSS*. Universidad Nacional de Colombia. Impresora Feriva S.A., Cali, Colombia, 2007; 312 p
34. C. López, C. González-Gallardo, M. J. Guerrero-Ochoa, G. Mariño, B. Jácome & E. Beltran-Sinchi-guano. Estudio de la estabilidad de los antioxidantes del vino de flor de Jamaica (*Hibiscus saabdariffa* L) en el almacenamiento. *La Granja: Revista de Ciencias de la Vida*, **29**(1), 105–118 (2019), URL: <http://scielo.senescyt.gob.ec/pdf/lgr/v29n1/1390-3799-lgr-29-01-000105.pdf>
35. European Medicines Agency. *ICH Q2(R2) Guideline on Validation of Analytical Procedures*. Amsterdam, 2023; 33 p. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q2r2-guideline-validation-analytical-procedures-step-5-revision-1_en.pdf

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

D.F. Nope-Páez, L.M. Ortiz-Ulloa, J. Racines-González & E.E. León-Ávila. Optimización de un método analítico para la separación y cuantificación de flavonoides totales expresados en equivalentes de quercetina, en un extracto del hongo *Pleurotus ostreatus* mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC). *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 739–759 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.118793>

Polifarmacia, enfermedades y deprescripción en el adulto mayor. Una revisión exploratoria

Eliezer Alemán Fernández^{1*a}, Dany Siverio Mota^{2b}, Liliana Vicet Muro^{2c} & René Delgado Hernández^{3,4d}

¹ Dirección Municipal de Farmacias y Ópticas, Santa Clara, Villa Clara, Cuba

² Universidad Central “Marta Abreu” de Las Villas, Facultad de Química y Farmacia, Departamento de Farmacia, Villa Clara, Cuba

³ Universidad de la Habana, Instituto de Farmacia y Alimentos. La Habana, Cuba

⁴ Department of Pharmacy and Pharmaceutical Technology, and Physical Chemistry, Faculty of Pharmacy and Food Sciences, Universitat de Barcelona, Barcelona, España

ORCID IDs: ^a<https://orcid.org/0000-0002-6507-1761>, ^b<https://orcid.org/0000-0003-3579-9783>

^c<https://orcid.org/0000-0002-8682-0960>, ^d<https://orcid.org/0000-0001-7051-7871>

*Autor para la correspondencia: eliezerfernandez1975@gmail.com

Recibido: 10 de julio de 2025

Corregido: 10 de agosto de 2025

Aceptado: 14 de agosto de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.121506>

RESUMEN

Introducción: la polifarmacia, definida como el uso concomitante de cinco o más medicamentos es común en adultos mayores. Las prescripciones potencialmente inapropiadas es uno de los principales factores de riesgo para la ocurrencia de reacciones adversas en adultos mayores. **Objetivo:** realizar una síntesis narrativa sobre la polifarmacia, enfermedades más frecuentes y las intervenciones de deprescripción en adultos mayores. **Metodología:** las estrategias de búsqueda siguieron las directrices PRISMA. La búsqueda se realizó en Medline/PubMed, con la finalidad de recopilar información sobre la polifarmacia en adultos mayores desde enero 2023 hasta mayo 2025. Se realizó una revisión narrativa consistente en cinco fases: I) búsqueda bibliográfica, II) revisión por título y resumen, III) Revisión de texto completo y IV) selección de las referencias y V) Análisis descriptivo. Se incluyeron artículos que presentaban datos específicos sobre polifarmacia, enfermedades y deprescripción de medicamentos en adultos mayores. **Resultados:** durante la estrategia de búsqueda se identificaron 157 publicaciones potencialmente relevantes. Se evaluaron un total de 81 artículos y se incluyeron 35 en el análisis descriptivo. Predominaron las revisiones mientras que 4 artículos reflejaron intervenciones de deprescripción. **Conclusión:** los estudios son aún insuficientes por lo que se requiere profundizar para implementar tratamientos farmacológicos más seguros y estrategias de deprescripción más efectivas que proporcionen mayor calidad de vida en los adultos mayores.

Palabras Clave: Adulto mayor; polifarmacia; prescripción potencialmente inapropiada; deprescripción.

SUMMARY

Polypharmacy, diseases and deprescription in the elderly. A scoping review

Introduction: polypharmacy, defined as the concurrent use of five or more medications, is common among to older adults. Potentially inappropriate prescribing is one of the main risk factors for adverse

drug events in older people. **Objective:** to carry out a narrative synthesis about polypharmacy, the most common diseases and deprescribing interventions in older adults. **Methodology:** the search strategies followed PRISMA guidelines. The search was conducted in Medline/PubMed in order to collect information on polypharmacy in older adults from January 2023 to May 2025. A narrative review was carried out consisting of five phases: I) bibliographic search, II) review by title and abstract, III) full text review and IV) selection of references and V) descriptive analysis. Articles were included that presented specific data about polypharmacy, diseases and drug deprescribing in older adults. A narrative synthesis was performed due to the heterogeneity of the study designs and results. **Results:** during the search strategy 157 potentially relevant publications were identified. A total of 81 articles were evaluated and 35 were included in the descriptive analysis. Reviews predominated, while 4 articles reflected deprescribing interventions. **Conclusions:** studies are still insufficient, so it is necessary to deepen the implementation of safer pharmacological treatments and more effective deprescribing strategies that provide a higher quality of life in older adults.

Keywords: Older adults; polypharmacy; potentially inappropriate prescription; deprescribing.

RESUMO

Polifarmácia, doenças e desprescrição em idosos: uma revisão de escopo

Introdução: A polifarmácia, definida como o uso concomitante de cinco ou mais medicamentos, é comum em idosos. Prescrições potencialmente inapropriadas são um dos principais fatores de risco para reações adversas em idosos. **Objetivo:** Realizar uma síntese narrativa sobre polifarmácia, as doenças mais comuns e intervenções de desprescrição em idosos. **Metodologia:** As estratégias de busca seguiram as diretrizes PRISMA. A busca foi realizada no Medline/PubMed, com o objetivo de coletar informações sobre polifarmácia em idosos, de janeiro de 2023 a maio de 2025. Foi realizada uma revisão narrativa, composta por cinco fases: I) busca bibliográfica, II) revisão de títulos e resumos, III) revisão completa do texto, IV) seleção de referências e V) análise descritiva. Foram incluídos artigos que apresentaram dados específicos sobre polifarmácia, doenças e desprescrição de medicamentos em idosos. **Resultados:** A estratégia de busca identificou 157 publicações potencialmente relevantes. Foram avaliados 81 artigos, dos quais 35 foram incluídos na análise descritiva. Predominaram as revisões, enquanto quatro artigos abordaram intervenções de desprescrição. **Conclusão:** Os estudos ainda são insuficientes, sendo necessárias mais pesquisas para implementar tratamentos farmacológicos mais seguros e estratégias de desprescrição mais eficazes que proporcionem melhor qualidade de vida aos idosos.

Palavras-chave: Idosos; polifarmácia; prescrição potencialmente inadequada; desprescrição.

1. INTRODUCCIÓN

El envejecimiento, proceso universal e inevitable, se caracteriza por la acumulación progresiva de alteraciones fisiológicas y un deterioro funcional a lo largo del tiempo, lo que conlleva una mayor vulnerabilidad a las enfermedades y, en última instancia, a la mortalidad a medida que avanza la edad [1].

A medida que las personas envejecen, aumenta la prevalencia de la fragilidad, la multimorbilidad y la polifarmacia, lo que plantea importantes desafíos en la medicina geriátrica. Estos tres elementos se interrelacionan de forma bidireccional formando el «triángulo geriátrico» y su comprensión integral es esencial para un manejo geriátrico adecuado [2].

Se han establecido clasificaciones de ancianos teniendo en cuenta su estado de salud y su funcionalidad con el objetivo poder contar con parámetros para un mejor control y tratamiento. Dichas clasificaciones son las siguientes [3]: 1) **Anciano sano:** se trata de una persona

de edad avanzada con ausencia de enfermedad objetivable. Su capacidad funcional está bien conservada y es independiente para actividades básicas e instrumentales de la vida diaria y no presenta problemática mental o social derivada de su estado de salud. 2) **Anciano enfermo:** es aquel anciano sano con una enfermedad aguda. Se comportaría de forma parecida a un paciente enfermo adulto. Suelen ser personas que acuden a consulta o ingresan en los hospitales por un proceso único, no suelen presentar otras enfermedades importantes ni problemas mentales ni sociales. Sus problemas de salud pueden ser atendidos y resueltos con normalidad dentro de los servicios tradicionales sanitarios de la especialidad médica que corresponda. 3) **Anciano frágil:** es aquel anciano que conserva su independencia de manera precaria y que se encuentra en situación de alto riesgo de volverse dependiente. Se trata de una persona con una o varias enfermedades de base, que cuando están compensadas permiten al anciano mantener su independencia básica, gracias a un delicado equilibrio con su entorno socio-familiar. En estos aparentemente bien conservada para las actividades básicas de la vida diaria (autocuidado), pueden presentar dificultades en tareas instrumentales más complejas. El hecho principal que define al anciano frágil es que, siendo independiente, tiene alto riesgo de volverse dependiente (riesgo de discapacidad); en otras palabras, sería una situación de prediscapacidad. 4) **Paciente geriátrico:** que es el anciano con una o varias enfermedades crónicas y evolucionadas, con la presencia de una discapacidad de forma evidente.

La polifarmacia se asocia con el desarrollo de síndromes geriátricos, como deterioro cognitivo, delirio, caídas, fragilidad, incontinencia urinaria y pérdida de peso lo que aumenta el riesgo de daños relacionados con la medicación [4]. Por otra parte, la mala adherencia a la medicación en adultos mayores con múltiples enfermedades crónicas y polifarmacia es un problema de salud pública que surge de distintos desafíos [5].

La optimización de medicamentos busca mejorar la calidad de la prescripción para cada paciente y puede incluir la deprescripción. Es un proceso complejo que implica la toma de decisiones compartida, un seguimiento minucioso y la comunicación de cualquier cambio resultante en la prescripción [6].

Se han implementado diversas acciones con la finalidad de optimizar la farmacoterapia en el anciano destacando los criterios de Beers elaborados por la Sociedad Americana de Geriatriá [7], y las recomendaciones STOPP-START (*Screening Tool of Older Persons' Prescriptions / Screening Tool to Alert to Right Treatment*) confeccionados por la Sociedad Europea de Medicina Geriátrica [8] útiles para detectar los errores más frecuentes del tratamiento.

El tercer Reto Mundial de la OMS por la Seguridad del Paciente: Medicación sin daño propondrá soluciones para superar muchos de los obstáculos a los que se enfrenta el mundo en la actualidad con el fin de garantizar la seguridad de las prácticas de medicación y pretende reducir en un 50% los daños graves evitables relacionados con la medicación en todo el mundo durante los próximos cinco años. Los «Cinco momentos para la seguridad de la medicación» es una herramienta de participación del paciente creado para facilitar la aplicación del tercer Reto Mundial por la Seguridad del Paciente de la OMS: Medicación sin daño. La herramienta se centra en los cinco momentos clave de la medicación: comenzar, tomar, adicionar, revisar y detener; en los que la acción del paciente o del cuidador puede reducir el riesgo de daño asociado al uso de la medicación. Esta herramienta tiene por objeto implicar y capacitar al paciente para que participe en su propia atención. Debería utilizarse en colaboración con los profesionales de la salud, pero siempre tendría que estar en manos de los pacientes, sus familiares o cuidadores [9].

Por lo anterior, el objetivo de esta revisión fue realizar una síntesis narrativa sobre la polifarmacia, enfermedades más frecuentes y las intervenciones de deprescripción en adultos mayores.

2. METODOLOGÍA

Para dar alcance al objetivo del presente trabajo se procedió de la siguiente manera:

2.1. Búsqueda bibliográfica

Siguiendo las pautas Preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses (PRISMA, siglas en inglés) [10], se realizó una revisión sistemática recuperando revisiones disponibles en PubMed/MEDLINE; en los idiomas inglés y español, usando las siguientes ecuaciones de búsqueda: inglés: ("Polypharmacy*"), AND ("Potentially inappropriate medication*" OR "Inappropriate prescribing", OR "Inappropriate Medications"); español: "Polifarmacia*" AND ("Medicamentos potencialmente inapropiados" OR "Prescripción inapropiada", OR "Medicamentos inapropiados").

El rango de tiempo definido para la búsqueda fue entre enero de 2023 hasta mayo de 2025; artículos en inglés y español que hicieran referencia al tema sin importar el diseño metodológico. Se definieron los siguientes criterios de inclusión: impacto de la polifarmacia en adultos mayores en atención primaria.

2.2. Revisión por título y resumen

Una vez hechas las búsquedas en las distintas fuentes de información, dos revisores de manera independiente contrastaron las referencias por título y resumen para preseleccionar referencias elegibles.

2.3. Revisión por texto completo

El siguiente proceso consistió en la revisión completa de los textos preseleccionados para incluir en el grupo de referencias seleccionadas. En los casos en los que se presentaron desacuerdos, se programaron sesiones conjuntas para llegar a un consenso. Si la discrepancia persistía se acudió al concepto de un tercer revisor.

2.4. Selección de referencias

Si el estudio cumplía con todos los criterios de inclusión se clasificaba como un "estudio incluido", de lo contrario era catalogado como "estudio excluido" con previa justificación del motivo. Lo anterior mediante una hoja de cálculo Excel®.

2.5. Análisis descriptivo

Una vez seleccionadas las referencias se procedió con la categorización de resultados mediante la codificación abierta e iterativa, que permitió identificar las semejanzas y las diferencias de los estudios; en consecuencia, de manera inicial se conceptualizaron los temas más recurrentes y posteriormente se detectaron subcategorías para algunos ejes temáticos. Finalmente, se procedió con un análisis descriptivo de cada categoría.

2.6. Resultados y discusión. Referencias incluidas en la revisión

Se recuperaron 157 referencias al aplicar las ecuaciones de búsqueda y finalmente después de aplicados los filtros solo quedaron 35, siendo eliminados los documentos que no concretaban el tema, los excluidos por título y resumen, los que no aportaban a dar respuesta a la pregunta (Figura 1).

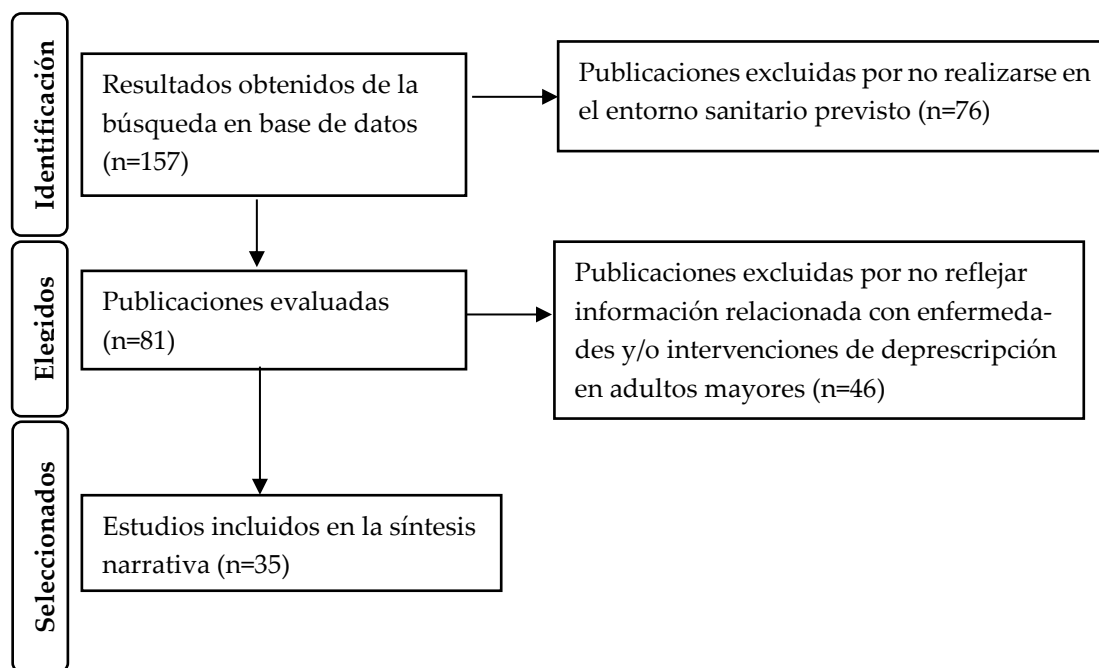


Figura 1. Diagrama prisma del proceso de revisión sistemática y selección de referencias para el análisis de Polifarmacia, enfermedades y deprescripción en el adulto mayor.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Descripción de los estudios incluidos

De los 35 artículos incluidos en la síntesis narrativa, 5 se consideraron metaanálisis, 6 revisiones sistemáticas, 20 revisiones y 4 ensayos aleatorizados controlados; donde se aprecia un predominio de los artículos de revisión (57 %) (Figura 2).

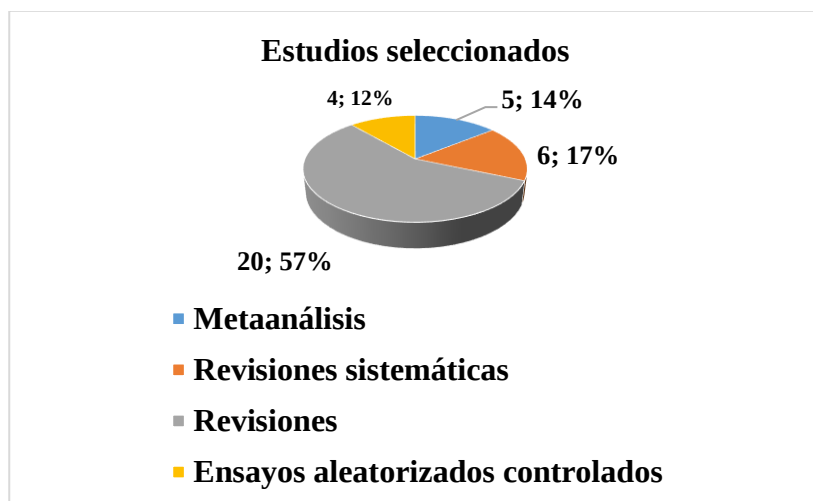


Figura 2. Comportamiento del tipo de estudios seleccionados según tipo.

Se describieron entre las enfermedades más frecuentes en los adultos mayores enfermedad inflamatoria intestinal, diabetes mellitus, hipertensión arterial, fibrilación auricular, osteoporosis y osteoartritis, artritis reumatoide, sarcopenia, síndrome de fragilidad, demencia o deterioro cognitivo leve, epilepsia, infecciones y enfermedad pulmonar obstructiva crónica abordadas en 22 investigaciones; alcanzando los mayores valores las enfermedades relacionadas

con el Sistema músculo-esquelético (Tabla 2). Además, en 4 artículos se relataron intervenciones de deprescripción.

Tabla 2. Comportamiento según enfermedades/sistema de los artículos seleccionados

Enfermedades/Sistema	Cantidad	%
Enfermedad inflamatoria intestinal	1	4,55
Diabetes mellitus	1	4,55
Tracto alimentario y metabolismo	2	9,09
Hipertensión arterial	2	9,09
Fibrilación auricular	1	4,55
Sistema Cardiovascular	3	13,64
Infecciones (general)	1	4,55
Infección del tracto urinario	1	4,55
Infección (<i>Helicobacter pylori</i>)	1	4,55
Infecciones	3	13,64
Osteoporosis	3	13,64
Artritis reumatoide	1	4,55
Sarcopenia	3	13,64
Síndrome de fragilidad	2	9,09
Sistema músculo-esquelético	9	40,91
Deterioro cognitivo leve	2	9,09
Epilepsia	2	9,09
Sistema nervioso	4	18,18
Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica	1	4,55
Sistema respiratorio	1	4,55

Las características de cada estudio atendiendo a primer autor, año de publicación, país y tipo de estudio se detallan a continuación (Tabla 3).

Tabla 3. Características de los 35 estudios encontrados

No.	Autores	Año	País	Tipo de estudio
1	Kitaw <i>et al.</i> [4]	2023	Etiopía	Metaanálisis
2	Alemayehu <i>et al.</i> [11]	2024	Etiopía	Metaanálisis
3	Alshehri <i>et al.</i> [12]	2024	Arabia Saudita	Metaanálisis
4	Karimi <i>et al.</i> [13]	2025	Reino Unido	Revisión sistemática
5	Hire & Franklin [14]	2024	Reino Unido	Revisión sistemática
6	De Souza <i>et al.</i> [15]	2023	Brasil-Canadá-Estados Unidos	Revisión
7	Schäfer <i>et al.</i> [16]	2024	Alemania	Ensayo aleatorizado controlado
8	Rodríguez-Casal [17]	2025	España	Revisión
9	Rafhi <i>et al.</i> [18]	2024	Australia	Revisión sistemática
10	Carbery <i>et al.</i> [19]	2024	Reino Unido	Revisión
11	Umegaki [20]	2024	Japón	Revisión
12	Sepulveda-Gallardo <i>et al.</i> [21]	2025	España-América Latina	Revisión
13	Majert <i>et al.</i> [22]	2024	Reino Unido	Ensayo aleatorizado controlado

14	Amrouch <i>et al.</i> [23]	2024	Europa	Metaanálisis
15	Wilson & Seaton [24]	2024	Reino Unido	Revisión
16	Bausch <i>et al.</i> [25]	2024	Suiza-Reino Unido-Alemania	Revisión
17	Skokowski <i>et al.</i> [26]	2024	Europa-Arabia Saudita-Estados Unidos	Revisión
18	Panait & D'Amelio [27]	2025	Suiza	Revisión
19	Fuggle <i>et al.</i> [28]	2025	Europa-Estados Unidos	Revisión
20	Ya-Hui <i>et al.</i> [29]	2025	Taiwán	Ensayo aleatorizado controlado
21	Truijena <i>et al.</i> [30]	2025	Holanda	Revisión sistemática
22	Ibrahim <i>et al.</i> [31]	2025	Europa-Canadá	Revisión sistemática
23	Baygi <i>et al.</i> [32]	2024	Dinamarca	Revisión
24	Kuzuya [33]	2024	Japón	Revisión
25	Uchmanowicz <i>et al.</i> [34]	2025	Europa	Revisión
26	Borda <i>et al.</i> [35]	2025	España-México-Colombia-Italia-Suiza-Canadá	Revisión
27	Curtis <i>et al.</i> [36]	2025	Europa-Arabia Saudita-México-Zimbabwe-Australia-Singapur	Revisión
28	Andrews <i>et al.</i> [37]	2025	Reino Unido-Bélgica	Revisión sistemática
29	Hashmi <i>et al.</i> [38]	2024	Estados Unidos	Revisión
30	Hashmi <i>et al.</i> [39]	2025	Estados Unidos-Canadá	Revisión
31	Chen <i>et al.</i> [40]	2025	China	Metaanálisis
32	García-Ulloa <i>et al.</i> [41]	2024	México	Revisión
33	Weir <i>et al.</i> [42]	2024	Australia-Suiza-Estados Unidos	Ensayo aleatorizado controlado
34	Liang <i>et al.</i> [43]	2025	Australia	Revisión
35	Langford <i>et al.</i> [44]	2024	Australia	Revisión

Fuente: Elaboración propia.

3.2. Polifarmacia

En un metanálisis realizado por Kitaw & Haile [4], seleccionaron 13 estudios con un total de 3 547 adultos mayores y encontraron que la prevalencia agrupada de polifarmacia entre los adultos mayores fue alta. Se recalcó la necesidad de ejecutar una intervención centrada en la farmacoterapia geriátrica racional para prevenir la sobrecarga de medicamentos, los eventos adversos, los costos médicos, la morbilidad y la mortalidad geriátricas. Asimismo, recomiendan fortalecer la función del farmacéutico en la gestión y la monitorización de la seguridad de la farmacoterapia en adultos mayores.

Otro metanálisis efectuado por Alemayehu *et al.* [11], analizaron 7 artículos e identificaron 1 897 interacciones farmacológicas en 970 pacientes, lo cual resultó en un promedio de 1,97 interacciones farmacológicas por paciente y se identificaron como factores asociados la polifarmacia.

Alshehri *et al.* [12], en un metanálisis que incluyó 14 estudios y 18 647 pacientes elegibles realizados durante 10 años, detectaron que la prevalencia media de Prescripciones Potencialmente Inapropiadas (PPI) fue del 54,4 %. Los medicamentos cardiovasculares fueron los más comunes y las probabilidades de exposición aumentaron significativamente entre las personas mayores con enfermedad renal crónica y diabetes. Estos hallazgos enfatizan la necesidad de intervenciones específicas para mejorar las prácticas de prescripción y la seguridad de los medicamentos.

Karimi *et al.* [13], en una revisión sistemática donde incluyeron 23 estudios encontraron que la polifarmacia y las PPI se asociaban con la edad avanzada, el sexo femenino, mayor fragilidad, vivir solo, mala situación económica e inexactitudes en los historiales médicos. Se concluyó que persisten importantes lagunas en la investigación sobre las experiencias del personal sanitario y los usuarios en el manejo de la medicación y la polifarmacia.

Una revisión sistemática efectuada por Hire & Franklin [14], que abarcó 20 artículos, 12 informaron una asociación estadísticamente significativa entre la privación socioeconómica y una mayor probabilidad de experimentar PPI; destacando que priorizar a las personas mayores que viven en contextos socioeconómicos desfavorecidos puede ser una estrategia eficaz al realizar revisiones de medicación.

De Souza *et al.* [15], en una revisión donde se incluyeron 14 estudios transversales; 11 definieron que la prevalencia de la polifarmacia oscilaba entre el 9,5 % y el 57 %; a su vez se comprobó una asociación inversa entre la actividad física y la polifarmacia. Existe evidencia limitada al respecto por lo que se necesitan estudios longitudinales para esclarecer mejor la relación entre el uso de PPI, la actividad física y el tiempo de sedentarismo en adultos mayores.

Schäfer *et al.* [16], en un ensayo controlado aleatorizado que tenía por objetivo evaluar la concordancia entre los fármacos informados por el paciente y el médico de cabecera evidenciaron que la polifarmacia aumenta el riesgo de discrepancias entre los fármacos informados por el paciente y el médico general, lo cual atenta contra la toma de decisiones por parte de los facultativos.

Un estudio transversal realizado por Rodríguez-Casal [17], reveló una alta prevalencia de prescripciones de medicamentos con alta carga anticolinérgica en pacientes ancianos, con sus consecuencias en términos de efectos adversos; concluyendo que es necesario tener en cuenta la carga anticolinérgica de los medicamentos a la hora de prescribirlos.

Rafhi *et al.* [18], en una revisión sistemática donde se incluyeron 19 artículos arrojó como resultados que 10 hallaron una mayor convicción sobre la necesidad de medicamentos y/o una menor preocupación conducían a una mejor adherencia; 1 contradijo lo anterior, 3 no hallaron asociación entre la adherencia y las creencias y 1 confirmó la asociación entre el uso innecesario de medicamentos y la falta de confianza en los facultativos. En resumen se dictaminó la necesidad de realizar más investigaciones para determinar la importancia de las creencias de necesidad o preocupación para fomentar la adherencia y examinar la influencia de las creencias en la polifarmacia y el uso inadecuado de medicamentos.

3.3. Desarrollo de las enfermedades

3.3.1. Tracto alimentario y metabolismo

Carbery *et al.* [19], en una revisión considera que cada vez hay más personas mayores con enfermedad inflamatoria intestinal (EII), unida a ello, son más propensos a presentar otras comorbilidades y polifarmacia, lo que puede dificultar el reconocimiento y el tratamiento de la EII. La fragilidad es un concepto reciente en el campo de la EII, y se está empezando a reconocer su importancia como marcador de la edad biológica y su asociación con el riesgo de resultados adversos relacionados con la EII.

Los adultos mayores con diabetes mellitus (DM) suelen presentar multimorbilidad y tienen a la polifarmacia; además se asocia con fragilidad, deterioro funcional, deterioro cognitivo y síndrome geriátrico. En una revisión realizada por Umegaki [20], a pacientes mayores con DM se concluyó que existe una necesidad urgente de un manejo personalizado de los adultos mayores con diabetes mellitus que considere su multimorbilidad, estrecha colaboración con

sus cuidadores y recursos sociales, consideraciones especiales de manejo y que busque mantener una alta calidad de vida mediante un tratamiento médico seguro y eficaz.

3.3.2. Sistema Cardiovascular

La revisión realizada por la Sociedad Centroamericana y del Caribe de HTA Sepulveda-Gallardo *et al.* [21], aborda estrategias de diagnóstico y tratamiento, tanto farmacológico como no farmacológico de la Hipertensión arterial (HTA). Se centra en la fragilidad como principio rector para determinar el tratamiento más adecuado haciendo hincapié en la prescripción centrada en el paciente. Recomendó realizar una valoración geriátrica integral y mantener un adecuado control tensional para así minimizar el impacto del riesgo cardiovascular de la HTA.

Majert *et al.* [22], en un Ensayo Aleatorizado Controlado demostró que el tratamiento antihipertensivo administrado a distancia en adultos mayores, quienes suelen estar menos representados en los ensayos clínicos, redujo sustancialmente la presión arterial sistólica sin aumentar el riesgo de eventos adversos graves. Este ensayo podría servir de base para un ensayo clínico más amplio, centrado en la evaluación de eventos cardiovasculares mayores, la seguridad, la función física y la función cognitiva,

La polifarmacia en pacientes mayores multimórbidos con Fibrilación auricular (FA) constituye un factor de riesgo para la PPI. Un metaanálisis ejecutado por Amrouch *et al.* [23], tuvo por objetivo evaluar la evidencia sobre la prevalencia de PPI y su impacto en los resultados adversos para la salud en este grupo de pacientes. Esta revisión destaca la escasa evidencia sobre la prevalencia de PPI y su asociación con resultados adversos para la salud en adultos mayores multimórbidos con FA y considera que se necesitan estudios prospectivos de mayor tamaño y mejor diseño.

3.3.3. Infecciones

Wilson & Seaton [24], en una revisión manifestó que los ancianos frágiles presentan un riesgo particular de infecciones, así como de efectos adversos a los antimicrobianos, debido a la multimorbilidad, la polifarmacia y la disminución de la reserva fisiológica. El diagnóstico y la toma de decisiones terapéuticas pueden ser difíciles en este grupo vulnerable debido a la sutileza o ausencia de síntomas y signos. Este artículo sugirió pasos para ayudar a los profesionales clínicos en el reconocimiento, la investigación y el manejo de la infección en este grupo de edad.

La infección del tracto urinario (ITU) es común en personas mayores, especialmente en aquellas con fragilidad y comorbilidad y su diagnóstico se complica por signos y síntomas atípicos, como confusión o deterioro funcional. Una revisión por Bausch *et al.* [25], reflejó la importancia de realizar una evaluación más integral para evitar el sobrediagnóstico o el infra-diagnóstico y enfatizó considerar cuidadosamente las comorbilidades, la polifarmacia y el riesgo de posibles eventos adversos.

La infección por *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) tiene una alta prevalencia entre los adultos mayores, en particular en aquellos que viven en instituciones, lo que contribuye a afecciones como la gastritis atrófica, la úlcera péptica y el carcinoma gástrico. Skokowski *et al.* [26], en una revisión sugirió que los enfoques diagnósticos deben considerar los cambios fisiológicos que acompañan al envejecimiento, y los regímenes de tratamiento deben adaptarse cuidadosamente para equilibrar la eficacia y la tolerabilidad. Además manifestó que un enfoque multidisciplinario que involucre a gastroenterólogos, geriatras y otros especialistas es crucial para brindar atención integral a esta población vulnerable. La investigación futura debe centrarse en perfeccionar los protocolos diagnósticos y terapéuticos para subsanar estas deficiencias, mejorando así los resultados clínicos y reduciendo la carga de enfermedades asociadas a *H. pylori* en la población envejeciente.

3.3.4. Sistema músculo-esquelético

La osteoporosis es un problema crítico de salud pública, especialmente en la población de mayor edad (mayores de 75 años) y la de mayor edad (mayores de 85 años). Esta temática es abordada en revisiones por Panait & D'Amelio [27] y Fuggle *et al.* [28], donde priorizaron el equilibrio entre eficacia y seguridad, y consideraron la relación coste-beneficio. Se refleja la importancia de continuar realizando investigaciones al respecto ya que desde el punto de vista económico reduciría los costos de hospitalización asociados al manejo de fracturas y complicaciones relacionadas.

Ya-Hui *et al.* [29], en un ensayo aleatorizado realizado en comunidades rurales de Taiwán, concluyeron que la atención integrada multicomponente, que incluye la atención farmacológica para la osteoporosis, junto con el ejercicio y el apoyo nutricional, es una estrategia eficaz para mejorar la capacidad intrínseca y la felicidad, en comparación con el tratamiento exclusivo de la osteoporosis y la atención habitual.

Truijena *et al.* [30], en una revisión sistemática donde incluyeron 37 estudios reflejó que la vejez parece afectar la seguridad y contribuir a la interrupción del tratamiento de la artritis reumatoide (AR). Es vital para futuras investigaciones que permitan obtener más información sobre el manejo de la enfermedad tener en cuenta el posible impacto de indicadores del envejecimiento, como la multimorbilidad, la polifarmacia y los síndromes geriátricos.

Una revisión sistemática cursada por Ibrahim *et al.* [31], no encontró cambios significativos en la masa muscular, pero sí reveló evidencia de mejoras en la fuerza, el rendimiento físico y el estado nutricional con la deprescripción. La implementación multidisciplinaria de terapias de nutrición y ejercicio, así como la gestión de medicamentos para modificar la polifarmacia, podría promover una mejoría adicional en la sarcopenia. Se concluyó que se necesita más investigación de alta calidad para comprender los efectos de la deprescripción en los parámetros de sarcopenia en personas mayores.

Baygi *et al.* [32], en una revisión exploratoria, donde se incluyeron 33 estudios, arribó a la conclusión de que los posibles factores de riesgo para la sarcopenia incluyen malnutrición, baja actividad física, diabetes, inflamación, polifarmacia y envejecimiento, mientras que el aumento de los niveles de actividad física y la mejora de la ingesta dietética pueden reducir el riesgo de sarcopenia.

Kuzuya [33], en una revisión relaciona los fármacos o grupos farmacológicos utilizados con fines terapéuticos o preventivos que actúan sobre el músculo esquelético como reacciones adversas a los fármacos e inducen sarcopenia. A pesar de que la sarcopenia causada por estas reacciones adversas a los fármacos puede ser más común en pacientes mayores aún no ha recibido mucha atención. Tener en consideración la utilización de fármacos que inducen la sarcopenia sería de gran utilidad para lograr una mayor calidad de vida en los adultos mayores.

El Síndrome de fragilidad (SF) es una afección compleja y multifacética que se observa comúnmente en adultos mayores con enfermedades crónicas, a menudo acompañada de deterioro cognitivo. Uchmanowicz *et al.* [34], en esta revisión presenta un marco centrado en el paciente destinado a mitigar el impacto de la fragilidad y mejorar los resultados a largo plazo. Los resultados obtenidos enfatizan la necesidad de una estrategia unificada que combine atención personalizada, colaboración interdisciplinaria y avances tecnológicos para abordar los desafíos multifacéticos de la fragilidad en el manejo de enfermedades crónicas.

Una revisión cursada por Borda *et al.* [35], seguida de un proceso de consenso, con la participación de 18 expertos internacionales en demencia y fragilidad, recomendó enfatizar en la

identificación temprana de la fragilidad y un enfoque integral e interdisciplinario de la atención que busca mantener el funcionamiento diario, la calidad de vida y la independencia de la persona. Además, destacó la importancia de las intervenciones personalizadas, el monitoreo regular y la integración del apoyo psicosocial en el enfoque terapéutico.

3.3.5. Sistema nervioso

Una revisión efectuada por Curtis *et al.* [36], manifestó que la polifarmacia es frecuente en pacientes con demencia o deterioro cognitivo leve (DCL) y las decisiones de prescripción son difíciles de tomar debido a que pueden afectar directamente la salud ósea, aumentar el riesgo de caídas y seguidamente de fracturas. Además, los pacientes pueden tener dificultades para recordar la medicación sin ayuda, lo que significa que se les pueden recetar medicamentos para la osteoporosis, pero no tomarlos. Se expresó que el deterioro cognitivo puede mejorar o retrasarse con la actividad física y el ejercicio, y existe evidencia de los beneficios adicionales de la actividad física en la prevención de caídas y fracturas.

Andrews *et al.* [37], en una revisión sistemática donde incluyeron 32 artículos, destacó la necesidad de realizar más investigaciones, especialmente en personas con DCL que viven en el hogar, con un mayor enfoque en los resultados clínicos y una mayor participación de los pacientes y los cuidadores informales.

Una revisión desarrollada por Hashmi *et al.* [38], reveló que las personas con epilepsia son más propensas a padecer fragilidad, la cual puede afectar la tolerancia a los anticonvulsivos debido a su impacto en la farmacocinética y la farmacodinamia. Si bien el efecto de la fragilidad en la eficacia de los anticonvulsivos para el control de las crisis es poco conocido, su indudable asociación con malos resultados generales, nos obliga a considerar su presencia e implicaciones en el tratamiento de la epilepsia en adultos mayores.

Hashmi *et al.* [39], en otra revisión comprobó que existe un mayor riesgo de mortalidad en personas mayores con epilepsia debido a factores como demencia, accidente cerebrovascular y fragilidad, efectos adversos de la polifarmacia y un mayor riesgo de complicaciones cardiovasculares y lesiones externas como caídas y suicidio. También reflejó que la Muerte Súbita Inesperada en Epilepsia y la mortalidad temprana en adultos mayores con epilepsia están subestimadas; una consideración cuidadosa de todos estos factores puede ayudar a mitigar la mortalidad.

3.3.6. Sistema respiratorio

Los pacientes con Enfermedad Pulmonar Obstructiva Crónica (EPOC) presentan una alta incidencia de fragilidad y numerosas complicaciones, lo que afecta gravemente su calidad de vida. Este metaanálisis dirigido por Chen *et al.* [40], propuso que la prevalencia de fragilidad en pacientes con EPOC es del 26 %, se identificaron factores de riesgo, como la edad, la comorbilidad, la polifarmacia, la desnutrición y la depresión. Se recomendó que el personal clínico identifique estos factores de riesgo de forma temprana y así indicar un diagnóstico personalizado. También se destaca la necesidad de realizar estudios retrospectivos para validar estos resultados.

3.4. Intervenciones de deprescripción:

García-Ulloa *et al.* [41], en esta revisión permitió concluir que la deprescripción de hipoglucemiantes, estatinas, antihipertensivos y agentes reductores de urato puede ser viable en pacientes seleccionados, pero la vigilancia periódica es importante.

Un Ensayo Aleatorizado Controlado obrado por Weir *et al.* [42], investigó la asociación entre la disposición de los pacientes a la deprescripción de medicamentos y la adherencia al tratamiento en pacientes con ≥ 65 años o más, ≥ 3 enfermedades crónicas y tomaban ≥ 5 medicamentos habituales. Los resultados obtenidos no mostraron evidencia de una asociación entre la disposición de los pacientes a la deprescripción y la adherencia al tratamiento.

Liang *et al.* [43], en una revisión en centros residenciales de atención a la tercera edad, se identificaron 13 estudios. Del total de estudios, 6 intervenciones fueron dirigidas por farmacéuticos, 5 por equipos multidisciplinarios y 2 por médicos. Los estudios exitosos generalmente incluyeron intervenciones multidisciplinarias, un componente educativo, seguimiento longitudinal de residentes y cuidadores, e involucraron a las partes interesadas, como el personal de enfermería.

Aproximadamente uno de cada tres adultos mayores (de 65 años o más) experimenta dolor, lo que afecta negativamente su calidad de vida. Langford *et al.* [44], refiere que la deprescripción de opioides se ha propuesto como un mecanismo para reducir el daño individual y social relacionado con los opioides; sin embargo, hasta la fecha, la investigación se ha centrado predominantemente en la población adulta general, en lugar de en los adultos mayores.

Los estudios de deprescripción anteriormente reflejados [41, 42, 43, 44], consideran que se necesitan más investigaciones para traducir la evidencia en resultados clínicamente significativos.

4. CONCLUSIONES

Esta revisión nos permitió establecer la necesidad de realizar un mayor número de investigaciones en este grupo poblacional y realizar una valoración más integral en la selección de la farmacoterapia y tener en cuenta diversos factores tales como: estado físico, mental, económico y social de los adultos mayores, hábitos alimentarios y actividad física, papel del farmacéutico en la gestión y la monitorización de la seguridad de la farmacoterapia, correspondencia entre fármacos indicados por los facultativos con los informados por el paciente, cumplimiento de la terapia medicamentosa así como establecer estrategias de deprescripción más efectivas que proporcionen mayor calidad de vida.

LIMITACIONES

La revisión presentó como principal limitación que la búsqueda se realizó solamente en una base de datos y aclarar que se pudieron omitir referencias no detectadas en los procesos de selección y tamizaje.

CONFLICTO DE INTERESES

Los autores declaran que no presentan conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. M. Pratt. A commentary on the “Global Consensus on Optimal Exercise Recommendations for Enhancing Healthy Longevity in Older Adults (ICFSR)”: Exercise and older adults—A perfect match. *J. Nutr. Health Aging*, **29**(1), 100414 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jnha.2024.100414>

2. H. Umegaki. Frailty, multimorbidity, and polypharmacy: Proposal of the new concept of the geriatric triangle. *Geriatr. Gerontol. Int.*, **25**(5), 657–662 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1111/ggi.70046>
3. E.E. Esmeraldas-Vélez, M.R. Falcones-Centeno, M.G. Vásquez-Zevallos & J.A. Solórzano-Vélez. El envejecimiento del adulto mayor y sus principales características. *ReciMundo: Revista Científica Mundo de la Investigación y el Conocimiento*, **3**(1), 58–74 (2019). Doi: [https://doi.org/10.26820/reci-mundo/3.\(1\).enero.2019.58-74](https://doi.org/10.26820/reci-mundo/3.(1).enero.2019.58-74)
4. T.A. Kitaw & R.N. Haile. Prevalence of polypharmacy among older adults in Ethiopia: a systematic review and metaanalysis. *Sci. Rep.*, **13**(1), 17641 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-45095-2>
5. A. Pack, S.C. Bailey, R. O'Connor, E. Velazquez, G. Wismer, F. Yeh, L.M. Curtis, K. Alcantara & M.S. Wolf. A portal-based intervention (PATTERN) designed to support medication use among older adults: Feasibility and acceptability study. *JMIR Form Res.*, **9**, e71676 (2025). Doi: <https://doi.org/10.2196/71676>
6. H.J. Woodford. Polypharmacy in older patients. *Br. J. Hosp. Med.*, **85**(10), 1–12 (2024). Doi: <https://doi.org/10.12968/hmed.2024.0388>
7. The 2023 American Geriatrics Society Beers Criteria® Update Expert Panel. American Geriatrics Society 2023 updated AGS Beers Criteria® for potentially inappropriate medication use in older adults. *J. Am. Geriatr. Soc.*, **71**(7), 2052–2081 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1111/jgs.18372>
8. D. O'Mahony, A. Cherubini, A.R. Guiteras, M. Denking, J.B. Beuscart, G. Onder, *et al.* STOPP/START criteria for potentially inappropriate prescribing in older people: version 3. *Eur. Geriatr. Med.*, **14**(4), 625–632 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1007/s41999-023-00777-y>
9. World Health Organization. *5 Moments for Medications Safety*. Integrated Health Services (IHS), Medication without Harm. Geneve, 2019; 16 p. URL: <https://www.who.int/publications/i/item/WHO-HIS-SDS-2019.4>
10. M.J. Page, J.E. McKenzie, P.M. Bossuyt, I. Boutron, T.C. Hoffmann, C.D. Mulrow, *et al.* The PRISMA 2020 statement: An updated guideline for reporting systematic reviews. *PLoS Med.*, **18**(3), e1003583 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.1003583>
11. T.T. Alemayehu, Y.A. Wassie, A.F. Bekalu, A.A. Tegegne, W. Ayenew, G. Tadesse, *et al.* Prevalence of potential drug–drug interactions and associated factors among elderly patients in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. *Glob. Health Res. Policy*, **9**(1), 54, (2024). Doi: <https://doi.org/10.1186/s41256-024-00402-w>
12. A.A. Alshehri, W.Y. Khawagi, S.M. Alqahtani, R.M. Aljohani, R.M. Aldajani, M.S. Althobaiti, *et al.* Prevalence of potentially inappropriate prescribing in older adults in Gulf Cooperation Council countries: A systematic review and meta-analysis. *J. Epidemiol. Glob. Health*, **14**(4), 1737–1747 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s44197-024-00332-3>
13. R. Karimi, A. Robinson-Barella, V. Davey, D.R. Sinclair, B. Hanratty, A. Todd, *et al.* Understanding polypharmacy for people receiving home care services: a scoping review of the evidence. *Age Ageing*, **54**(2), afaf031 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1093/ageing/afaf031>
14. A.J. Hire & B.D. Franklin. Potentially inappropriate prescribing (PIP) in older people and its association with socioeconomic deprivation—a systematic review and narrative synthesis. *BMC Geriatrics*, **24**(1), 651 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12877-024-04858-w>
15. I.K.C. de Souza, F.J. Rosa-Souza, C.P. de Lucena-Alves, T.A. Duhamel, D.L. Waters, R.R. Martins & E.C. Costa. Polypharmacy, physical activity, and sedentary time in older adults: A scoping review. *Exp. Gerontol.*, **183**, 112317 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.exger.2023.112317>
16. L. Schäfer, M. Paulitsch, M. Hanf, T.S. Dinh, A.A. Klein, S. Klasing, H. Seidling, K. Voigt & M. van den Akker. Polypharmacy in older patients with multimorbidity: The agreement between patient and general practitioner-reported drugs observed in a pilot cRCT. *Int. J. Environ. Res. Public Health*, **21**(10), 1389 (2024). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijerph21101389>
17. M. Rodríguez-Casal. La carga anticolinérgica en ancianos. *Farm. Comunitarios*, **17**(1), 5–10 (2025). Doi: [https://doi.org/10.33620/FC.2173-9218.\(2025\).02](https://doi.org/10.33620/FC.2173-9218.(2025).02)
18. E. Rafhi, M. Al-Juhaishi, I. Stupans, J.E. Stevens, J.S. Park & K.N. Wang. The influence of patients' beliefs about medicines and the relationship with suboptimal medicine use in community dwelling

- older adults: a systematic review of quantitative studies. *Int. J. Clin. Pharm.*, **46**(4), 811–830 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11096-024-01727-9>
19. I. Carbery, C.P. Selinger, O. Todd & S. Sebastia. Considerations on multimorbidity and frailty in inflammatory bowel diseases. *J. Crohns Colitis*, **18**, ii46–ii54 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjae067>
20. H. Umegaki. Management of older adults with diabetes mellitus: Perspective from geriatric medicine. *J. Diabetes Investig.*, **15**(10), 1347–1354 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1111/jdi.14283>
21. C. Sepulveda-Gallardo, A.I. Barrientos, M.H. Koretzkyd, F. Wyse, O. Valdez-Tiburcio, N. Báez-Noyerg, *et al.* Peculiaridades del manejo de la hipertensión arterial en el anciano. Documento de consenso de la Sociedad Centroamericana y del Caribe de Hipertensión arterial. *Hipertensión y Riesgo Vascular*, **42**(1), 36–42 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.hipert.2024.09.004>
22. J. Majert, M. Nazarzade, R. Ramakrishnan, Z. Bidel, D. Hedgecott, A. Perez-Crespillo, *et al.* Efficacy of decentralised home-based antihypertensive treatment in older adults with multimorbidity and polypharmacy (ATEMPT): an open-label randomised controlled pilot trial. *Lancet: Healthy Longev.*, **5**(3), e172–e181 (2024). Doi: [https://doi.org/10.1016/S2666-7568\(23\)00259-3](https://doi.org/10.1016/S2666-7568(23)00259-3)
23. C. Amrouch, D. Vauterin, S. Amrouch, M. Grymonprez, L. Dai, C. Cecilia-Damiano, *et al.* Potentially inappropriate prescribing in multimorbid and polymedicated older adults with AF: A systematic review and meta-analysis, *Drugs Aging*, **41**, 13–30 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s40266-023-01078-6>
24. C. Wilson & R.A. Seaton. Antimicrobial stewardship in the frail elderly. *Br. J. Hosp. Med.*, **11**, 1–12 (2024). Doi: <https://doi.org/10.12968/hmed.2024.0233>
25. K. Bausch, F.P. Stangl, J. Prieto, G. Bonkate & J. Kranz. Urinary infection management in frail or comorbid older individuals. *Eur. Urol. Focus*, **10**(5), 731–733 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.euf.2024.08.007>
26. J. Skokowski, Y. Vashist, S. Girnyi, T. Cwalinski, P. Mocarski, C. Antropoli, *et al.* The aging stomach: Clinical implications of *H. pylori* infection in older adults—Challenges and strategies for improved management. *Int. J. Mol. Sci.*, **25**(23), 12826 (2024). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms252312826>
27. C. Panait & P. D’Amelio. Advancing care: optimizing osteoporosis treatment in the older and oldest old population. *Aging Clin. Exp. Res.*, **37**(1), 123 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1007/s40520-025-02973-1>
28. N. Fuggle, A. Laslop, R. René-Rizzoli, N. Al-Daghri, M. Alokail, E. Balkowiec-Iskra, *et al.* Treatment of osteoporosis and osteoarthritis in the oldest old. *Drugs*, **85**(3), 343–360 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1007/s40265-024-02138-w>
29. C. Ya-Hui, H. Chih-Chien, C. Yen-Yi, C. Chiu-Ying, L. Ling-Chiao, M. M. Huei-Ming, *et al.* Effects of osteoporosis treatment and multicomponent integrated care on intrinsic capacity and happiness among rural community-dwelling older adults: the Healthy Longevity and Ageing in Place (HOPE) randomised controlled trial. *Age Ageing*, **54**(2), afaf017 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1093/ageing/afaf017>
30. S.P.M. Truijena, J.P.R. Schreurs, A. Boonena & M. van Onna. The operational definition of old age and impact on outcomes in DMARD-treated patients with rheumatoid arthritis: A systematic literature review. *Semin. Arthritis Rheum.*, **71**, 152607 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.semarthrit.2024.152607>
31. K. Ibrahim, N.J. Cox, S.E.R. Lim, E. Radcliffe, C. Lundby, K. Prokopidis, *et al.* The evidence and impact of deprescribing on sarcopenia parameters: a systematic review. *BMC Geriatrics*, **25**, 158, (2025). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12877-025-05819-7>
32. F. Baygi, S.F. Buhl, T. Thilsing, J. Sondergaard & J.B. Nielsen. Sarcopenia and sarcopenic obesity among older adults in the Nordic countries: a scoping review. *BMC Geriatrics*, **24**, 421 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1186/s12877-024-04970-x>
33. M. Kuzuya. Drug-related sarcopenia as a secondary sarcopenia. *Geriatr. Gerontol. Int.*, **24**(2), 195–203 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1111/ggi.14770>
34. I. Uchmanowicz, K.M. Faulkner, P. Iovino, A. Kwaśny, S. Surma, C.E. Magi, *et al.* Integrating frailty interventions into existing care models: a comprehensive approach to enhancing patient outcomes

- in chronic disease management. *Front. Public Health*, **12**, 1518774 (2025). Doi: <https://doi.org/10.3389/fpubh.2024.1518774>
35. M.G. Borda, F. Landi, T. Cederholm, L.C. Venegas-Sanabria, G. Duque, H. Wakabayashi, *et al.* Assessment of management of frailty in individuals living with dementia: expert recommendations for clinical practice. *Lancet: Healthy Longev.*, **6**(1), 100666 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.lanhl.2024.100666>
36. E.M. Curtis, M. Miguel, C. McEvoy, A. Ticinesi, C. Torre, N. Al-Daghri, *et al.* Impact of dementia and mild cognitive impairment on bone health in older people. *Aging Clin. Exp. Res.*, **37**, 5 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1007/s40520-024-02871-y>
37. N. Andrews, C. Brooks, M. Board, S. Fraser, S. Latter, K. Aplin, *et al.* Medicine optimisation and deprescribing intervention outcomes for older people with dementia or mild cognitive impairment: A systematic review. *Drugs Aging*, **42**, 275–294 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1007/s40266-025-01189-2>
38. S.A. Hashmi, S. Sachdeva, U. Sindhu, C. Tsai, K. Bonda, M. Keezer, I. Zawar & V. Punia. The implications of frailty in older adults with epilepsy. *Epilepsia Open*, **9**(6), 2128–2143 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1002/epi4.13046>
39. S.A. Hashmi, R. Gundlapalli & I. Zawar. Mortality in older adults with epilepsy: An understudied entity. *Epilepsia Open*, **10**(1), 15–30 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1002/epi4.13098>
40. X. Chen, S. Sun, H. Chen, X. Sun, A. Yang, Q. Wang & B. Shi. The Incidence and Risk Factors of Frailty in Patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease: A meta-analysis. *Altern. Ther. Health Med.*, **31**(1), 216–221 (2025). URL: <https://alternative-therapies.com/oa/pdf/9235.pdf>
41. A.C. García-Ulloa, S. Jaime-Casas, J. Rosado-Lozoya, N.H. Serrano-Pérez, D. Hernández-Juárez, J.L. Cárdenas-Fragoso, *et al.* De-escalating treatment indications for patients who achieve metabolic goals. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **208**, 111096 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2024.111096>
42. K.R. Weir, K.T. Jungo & S. Streit. Older adults' adherence to medications and willingness to deprescribe: A substudy of a randomized clinical trial. *Br. J. Clin. Pharmacol.*, **90**(3), 905–911 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1111/bcp.15966>
43. J.X. Liang, L. Thai, M. Healy, A.M. Idris, J.W. Chin & C. Grossman. Deprescribing in Australian residential aged care facilities: A scoping review. *Australas. J. Ageing*, **44**(1), e13415 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1111/ajag.13415>
44. A.V. Langford, C.R. Schneider, E. Reeve & D. Gnjjidic. Minimising harm and managing pain: Deprescribing opioids in older adults. *Drugs Aging*, **41**(11), 863–871 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s40266-024-01154-5>

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

E. Alemán-Fernández, D. Siverio-Mota, L. Vicet-Muro & R. Delgado-Hernández. Polifarmacia, enfermedades y deprescripción en el adulto mayor. Una revisión exploratoria. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 760–774 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.121506>

Análisis de las dimensiones legales y problemática social de automedicación en Colombia

Andrés Felipe González-Ogliastri¹, Oscar Yesid Céspedes Gutiérrez², Julián Andrés Gaitán Reyes³, Claudia Patricia Ortiz⁴, Henry Rubiano Daza⁵ & Daniel Ricardo Delgado^{5*}

¹ Grupo de Investigación Ciencia, Ingeniería e Innovación, Carrera 8A No. 43-44, 410001, Neiva, Colombia

² Programa de Derecho, Grupo de Investigación Trabajo y Sociedad UCC-Villavicencio, Facultad de Derecho, Universidad Cooperativa de Colombia, Cra 22 No. 7 – 06 Sur, Meta, Colombia

³ Programa de Derecho, Grupo de investigación Trabajo y Sociedad UCC Ibagué - Espinal, universidad Cooperativa de Colombia, Sede Ibagué, Calle 10 N° 1 64 Centro, Ibagué, 730010 Ibagué, Colombia

⁴ Facultad Ciencias de la Salud, Programa Seguridad y Salud en el Trabajo, Corporación Universitaria Iberoamericana, Colombia

⁵ Grupo de Investigación en Dinámicas Sociales, Universidad Cooperativa de Colombia, Sede Neiva, Calle 11 No. 1-51, Neiva 410001, Huila, Colombia

*Autor de correspondencia: danier.delgado@campusucc.edu.co

Recibido: 4 de junio de 2025

Corregido: 13 de agosto de 2025

Aceptado: 16 de agosto de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.122703>

RESUMEN

Objetivos: El objetivo principal de esta investigación es analizar las dimensiones legales y la problemática social de la automedicación en Colombia, examinando su prevalencia, factores influyentes, el marco normativo que regula la venta y comercialización de medicamentos, y las responsabilidades legales derivadas de la venta sin prescripción. **Metodología:** Se desarrolló una revisión narrativa de la literatura, basada en el análisis documental de estudios de prevalencia, normativas colombianas (leyes, decretos, resoluciones), jurisprudencia y políticas públicas relacionadas con la producción, comercialización, dispensación y publicidad de medicamentos. **Resultados:** Los resultados indican una alta prevalencia de automedicación en Colombia, con cifras que alcanzan hasta el 58% en población general y 61% en universitarios. Los analgésicos, AINEs y antibióticos son comúnmente automedicados. Los factores influyentes incluyen aspectos culturales, económicos, barreras de acceso al sistema de salud y publicidad. El marco legal colombiano clasifica los medicamentos (MVL, bajo fórmula, control especial) y regula su venta, publicidad y establecimientos farmacéuticos. La venta sin prescripción de medicamentos que la requieren conlleva responsabilidad administrativa (multas, cierre), civil (indemnizaciones) y penal (prisión por delitos como lesiones culposas o corrupción de productos médicos). **Conclusiones:** A pesar de un marco legal existente, la automedicación persiste debido a deficiencias en la fiscalización y factores socioeconómicos. Se requiere un abordaje integral que combine el fortalecimiento de la regulación y control, programas educativos, mejora del acceso al sistema de salud y promoción de la "automedicación responsable" guiada por profesionales farmacéuticos para mitigar este problema de salud pública.

Palabras clave: Automedicación; legislación; Colombia; responsabilidad civil y penal.

SUMMARY

Analysis of the legal dimensions and social problematic of self-medication in Colombia.

Objectives: the main objective of this research is to analyze the legal dimensions and social issues of self-medication in Colombia, examining its prevalence, influencing factors, the regulatory framework governing the sale and marketing of medications, and the legal responsibilities arising from sales without a prescription. **Methods:** A narrative review of the literature was conducted based on an analysis of documentary sources, including prevalence studies, Colombian legislation (laws, decrees and resolutions), case law and public policies relating to the production, marketing, dispensing and advertising of medicines. **Results:** The results indicate a high prevalence of self-medication in Colombia, with figures reaching up to 58% in the general population and 61% among university students. Analgesics, NSAIDs, and antibiotics are commonly used in self-medication. Influencing factors include cultural and economic aspects, barriers to accessing the healthcare system, and advertising. The Colombian legal framework classifies medications (OTC, prescription-only, specially controlled) and regulates their sale, advertising, and pharmaceutical establishments. Selling prescription-only medications without a prescription entails administrative (fines, closure), civil (compensation), and criminal (imprisonment for offenses such as negligent injury or corruption of medical products) liability. **Conclusion:** Despite an existing legal framework, self-medication persists due to deficiencies in oversight and socioeconomic factors. A comprehensive approach is required, combining the strengthening of regulation and control, educational programs, improved access to the healthcare system, and the promotion of "responsible self-medication" guided by pharmaceutical professionals to mitigate this public health problem.

Keywords: Self-medication; legislation; Colombia; civil and criminal liability.

RESUMO

Análise das dimensões legais e problemática social da automedicação na Colômbia.

Objetivos: O objetivo principal desta pesquisa é analisar as dimensões legais e a problemática social da automedicação na Colômbia, examinando sua prevalência, fatores influentes, o arcabouço normativo que regula a venda e comercialização de medicamentos, e as responsabilidades legais decorrentes da venda sem prescrição. **Métodos:** Foi desenvolvida uma revisão narrativa da literatura, com base na análise documental de estudos de prevalência, regulamentações colombianas (leis, decretos, resoluções), jurisprudência e políticas públicas relacionadas à produção, comercialização, dispensação e publicidade de medicamentos. **Resultados:** Os resultados indicam uma alta prevalência de automedicação na Colômbia, com números que chegam a 58% na população geral e 61% entre universitários. Analgésicos, AINEs (anti-inflamatórios não esteroides) e antibióticos são comumente utilizados na automedicação. Os fatores influentes incluem aspectos culturais, econômicos, barreiras de acesso ao sistema de saúde e publicidade. O marco legal colombiano classifica os medicamentos (MIPs - Medicamentos Isentos de Prescrição, medicamentos sob prescrição, e de controle especial) e regula sua venda, publicidade e estabelecimentos farmacêuticos. A venda sem prescrição de medicamentos que exigem acarreta responsabilidade administrativa (multas, interdição), civil (indenizações) e penal (prisão por crimes como lesões culposas ou corrupção de produtos médicos). **Conclusão:** Apesar de um marco legal existente, a automedicação persiste devido a deficiências na fiscalização e fatores socioeconômicos. Requer-se uma abordagem integral que combine o fortalecimento da regulação e controle, programas educativos, melhoria do acesso ao sistema de saúde e promoção da "automedicação responsável" orientada por profissionais farmacêuticos para mitigar este problema de saúde pública.

Palavras-chave: Automedicação; legislação; Colômbia; responsabilidade civil e penal.

1. INTRODUCCIÓN

La automedicación, entendida como el acto de consumir medicamentos sin una prescripción médica, con el fin de mantener la salud, tratar síntomas, curar o prevenir enfermedades y basado en un autodiagnóstico, constituye un fenómeno complejo y extendido en la sociedad contemporánea [1-3]. Esta práctica, si bien puede ofrecer una aparente solución rápida a dolencias percibidas como menores, es considerada por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y diversas autoridades sanitarias como inherentemente, insegura e irresponsable, conllevando riesgos significativos para la salud individual y colectiva [1, 4]. La definición de automedicación se extiende más allá del simple consumo sin receta, abarcando también el uso inadecuado de una prescripción médica existente —como la prolongación o interrupción prematura de un tratamiento, o la modificación de las dosis— y la adquisición inapropiada de fármacos [4].

Es crucial distinguir esta práctica de la "automedicación responsable" [5], toda vez que este concepto, promovido por entidades como la *World Self-Medication Industry* (WSMI), se refiere a una forma de autocuidado en la cual el individuo, asume un mayor grado de responsabilidad frente a dolencias menores, utilizando para ello productos farmacéuticos que están disponibles sin necesidad de fórmula médica [6]. Si bien esta modalidad puede contribuir a la reducción de costos en la atención sanitaria y empoderar al ciudadano en el cuidado de su salud, no está exenta de consideraciones importantes [6]; así mismo, esta práctica no excluye la eventual necesidad de participación médica y, en ciertos casos, podría posponer una intervención profesional oportuna si la condición subyacente es más seria de lo que el individuo percibe [1]. La automedicación, en sus diversas manifestaciones, no es un acto monolítico; representa un espectro de comportamientos que van desde el uso potencialmente aceptable y seguro de medicamentos de venta libre (MVL) para afecciones leves y autolimitadas, hasta el uso riesgoso e irresponsable de medicamentos que requieren prescripción y supervisión profesional [7]. Esta distinción es fundamental, ya que las implicaciones para la salud pública y las estrategias de intervención legal y sanitaria deben ser matizadas, reconociendo que no toda automedicación conlleva el mismo nivel de riesgo [8].

El fenómeno de la automedicación no es exclusivo de Colombia; es una práctica extendida a nivel mundial [1]. La OMS ha alertado consistentemente sobre sus peligros, señalando que más de la mitad de los medicamentos a nivel global son prescritos, distribuidos o consumidos de manera incorrecta, y aproximadamente un tercio de la población mundial carece de acceso a medicamentos esenciales [1, 9]. Esta situación subraya una tensión inherente: por un lado, la búsqueda individual de soluciones rápidas y convenientes para problemas de salud y, por otro, los peligros significativos que esta práctica puede acarrear. Esta tensión ayuda a comprender la persistencia de la automedicación a pesar de los riesgos conocidos, y sugiere que las políticas públicas deben abordar tanto las percepciones de conveniencia y las barreras de acceso al sistema formal de salud, como los riesgos directos mediante la educación y el control riguroso [10].

La problemática social y de salud pública asociada a la automedicación es considerable [11, 12]. Entre los riesgos documentados se encuentran las reacciones adversas a medicamentos, alergias, intoxicaciones, el enmascaramiento de enfermedades graves que retrasan un diagnóstico y tratamiento adecuados, las interacciones farmacológicas potencialmente peligrosas, y el desarrollo de complicaciones serias [1]. Estos riesgos no solo afectan al individuo, sino que tienen un impacto comunitario, siendo el más notable la contribución a la resistencia

antimicrobiana por el uso indiscriminado de antibióticos. La tendencia creciente hacia la automedicación se ha convertido en una característica de la sociedad moderna, y la percepción de que es un problema menor que no se toma con la debida seriedad, justifican plenamente un análisis profundo desde la perspectiva legal [13].

La necesidad de un marco legal robusto se hace evidente para regular la cadena de valor del medicamento —desde su producción hasta su dispensación—, proteger la salud pública y definir claramente las responsabilidades de todos los actores involucrados. La complejidad de la automedicación, influenciada por factores culturales, socioeconómicos y del propio sistema de salud, exige un abordaje interdisciplinario donde el derecho juega un papel crucial. Las leyes nacionales que rigen el uso y la venta de medicamentos son un factor determinante que puede modular o exacerbar esta práctica [1, 14]. Incluso el concepto de "automedicación responsable", aunque válido en teoría, presenta un desafío regulatorio significativo. Es imperativo asegurar que no se convierta en una justificación para la laxitud en la dispensación o el consumo de medicamentos que sí requieren una supervisión profesional. La legislación debe, por tanto, delimitar con precisión qué medicamentos son aptos para la automedicación responsable y en qué condiciones informativas y de consejo farmacéutico se pueden dispensar, para evitar que la promoción de esta práctica fomente inadvertidamente el uso indebido de otros fármacos.

2. METODOLOGÍA

Este estudio se desarrolló bajo el diseño de una revisión narrativa de literatura, seleccionada como estrategia metodológica por su capacidad para integrar y sintetizar información proveniente de fuentes heterogéneas —científicas, normativas y jurisprudenciales— que permiten abordar la automedicación en Colombia desde un enfoque interdisciplinario. Este tipo de revisión ofrece mayor flexibilidad para incluir documentos relevantes que no necesariamente cumplen los criterios formales de los ensayos comparativos o metaanálisis, pero que aportan valor contextual, jurídico o sanitario. La elección de este enfoque responde a la necesidad de articular resultados epidemiológicos con el marco normativo y casos jurisprudenciales, de manera que se logre una comprensión integral del fenómeno.

Se incluyeron estudios epidemiológicos sobre la prevalencia de la automedicación en Colombia. Artículos científicos que analicen factores de riesgo y consecuencias, con énfasis en el contexto colombiano y, cuando resultó pertinente, estudios comparativos internacionales. Normativa colombiana: Constitución Política, leyes, decretos y resoluciones del Ministerio de Salud e INVIMA. Jurisprudencia de la Corte Constitucional, Corte Suprema de Justicia y Consejo de Estado, así como casos emblemáticos de tribunales. Documentos oficiales y guías de la OMS y OPS relacionados con la automedicación. Se excluyeron artículos de opinión sin sustento empírico o legal, noticias no verificadas, legislación extranjera salvo para comparaciones justificadas, documentos con información desactualizada y sin valor histórico, así como estudios cuya información resultaba altamente reiterativa, es decir, que repetían los mismos patrones argumentativos, datos y conclusiones sin aportar hallazgos diferenciados o valor agregado al análisis.

La estrategia de búsqueda incluyó palabras clave como: *automedicación, Colombia, prevalencia, factores de riesgo, marco legal, venta libre, prescripción médica, responsabilidad civil, responsabilidad penal, responsabilidad administrativa, INVIMA y jurisprudencia medicamentos*. Las búsquedas se realizaron en bases de datos académicas (PubMed, SciELO, LILACS, Redalyc, Dialnet,

ScienceDirect, Springer, Taylor & Francis, Google Scholar) y jurídicas (SUIN-Juriscol, revistas de altas cortes, VLEX y Legis). La estrategia se fundamentó en una combinación de términos clave (*keywords*) y descriptores DeCS/MeSH relacionados con la automedicación, el marco regulatorio y el contexto colombiano, articulados mediante los operadores booleanos "AND" y "OR". Para garantizar la transparencia y la reproducibilidad del estudio, la ecuación de búsqueda fue adaptada a la sintaxis específica de cada base de datos.

El proceso de selección se realizó en tres fases (Figura 1): (1) revisión de títulos y resúmenes para evaluar pertinencia, (2) verificación y tamizaje y (3) lectura completa de los preseleccionados para confirmar su inclusión definitiva. Como se detalla en el Diagrama de Flujo (ver Figura 1), la búsqueda inicial arrojó 102 documentos. Tras la eliminación de duplicados y la aplicación de los criterios de selección, se excluyeron 24 documentos por presentar información desactualizada ($n=14$) o reiterativa ($n=10$). Finalmente, se incluyeron 78 documentos para el análisis.

La información de los 78 documentos finales se extrajo y organizó en matrices temáticas, clasificadas por tipo de fuente, año, ámbito y hallazgos clave. Se utilizó el gestor de referencias Mendeley para asegurar la trazabilidad y coherencia del proceso.

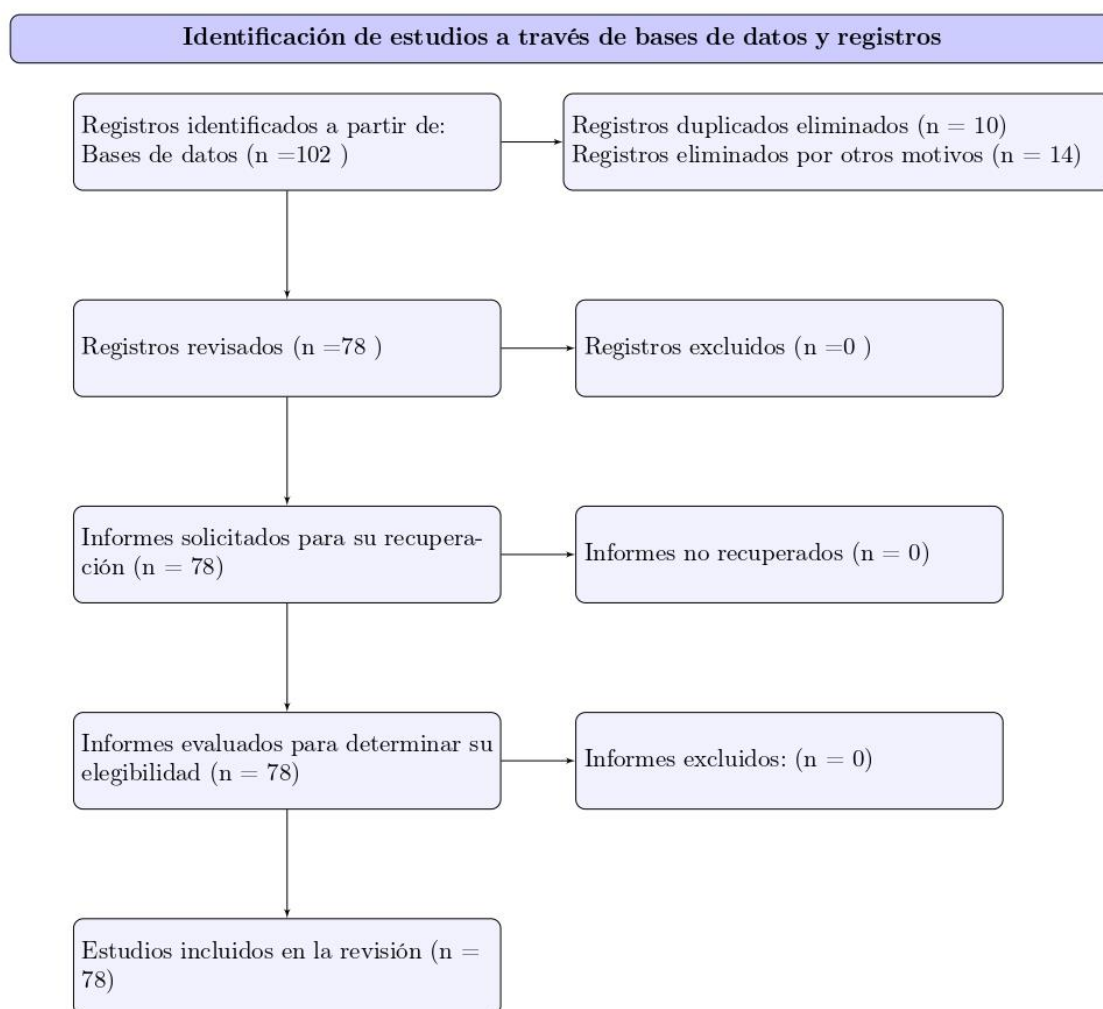


Figura 1. Diagrama de flujo PRISMA para el análisis e incorporación de información.

3. PREVALENCIA Y CARACTERIZACIÓN DE LA AUTOMEDICACIÓN EN COLOMBIA

La automedicación es una práctica profundamente arraigada en Colombia, con estudios que consistentemente señalan una alta prevalencia en diversos segmentos de la población (Figura 2). Investigaciones realizadas han arrojado cifras preocupantes; por ejemplo, un estudio de la Universidad de Antioquia en familias colombianas reveló que el 42% de éstas opta por utilizar medicamentos sin prescripción médica, una decisión frecuentemente influenciada por los medios de comunicación [15]. Otro estudio que abarcó varias ciudades como Medellín, Cali y Villavicencio, encontró que el 58% de la población analizada se automedica [16, 17]. Si bien algunas fuentes citan cifras aún más elevadas, como un 97% de automedicación en encuestados en un estudio particular, es importante contextualizar estas cifras según la metodología y la población específica del estudio. A nivel global, se estima que la prevalencia de la automedicación puede alcanzar cerca del 60%, lo que sitúa a Colombia dentro de una tendencia preocupante pero generalizada [2, 17].

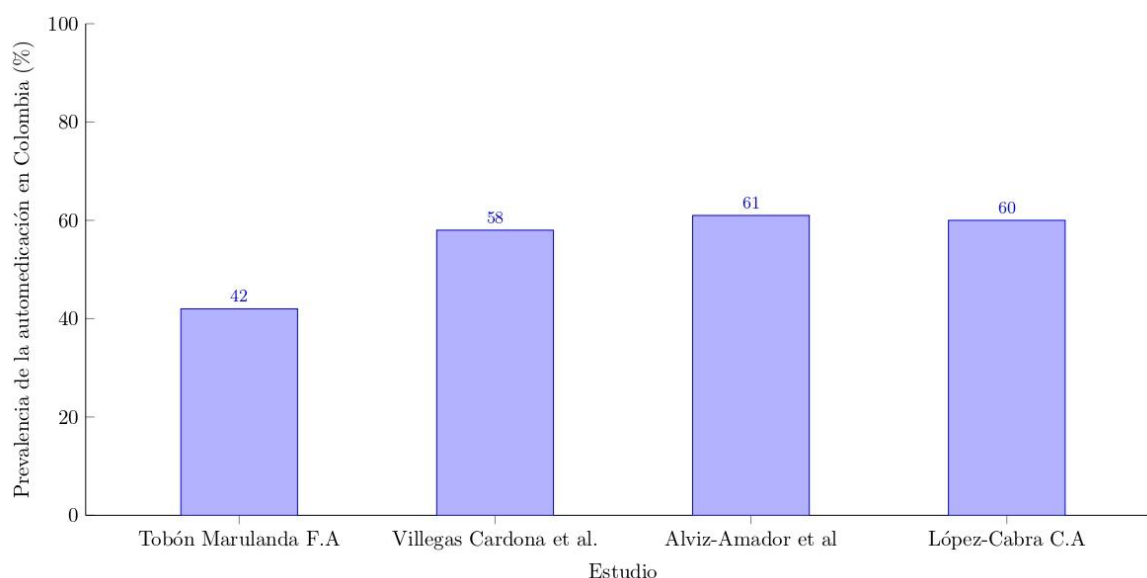


Figura 2. Prevalencia de la automedicación en Colombia de acuerdo con algunos estudios.

Un hallazgo particularmente revelador proviene de estudios en poblaciones específicas, como los estudiantes universitarios. En Cartagena, el 61% de los estudiantes universitarios encuestados admitió automedicarse, a pesar de que un abrumador 91% de ellos consideraba que dicha práctica es perjudicial para la salud [18]. Esta disonancia entre el conocimiento del riesgo y la conducta adoptada es un indicador clave de la complejidad del problema [2, 17]. Sugiere que factores como la conveniencia percibida, la presión por obtener alivio rápido, las dificultades de acceso al sistema de salud o la subestimación de los riesgos reales pueden tener un peso mayor en la toma de decisiones que la simple conciencia del peligro. Esto implica que las campañas educativas centradas únicamente en los riesgos, aunque necesarias, son insuficientes si no se acompañan de reformas estructurales que mejoren el acceso y la eficiencia del sistema de salud y aborden las motivaciones subyacentes de la automedicación.

3.1. Factores influyentes en la automedicación

La decisión de automedicarse en Colombia es el resultado de una compleja interacción de factores socioculturales, económicos, relacionados con el sistema de salud e individuales (Figura 3): Existe una tendencia cultural e histórica hacia la automedicación, transmitida de generación

en generación, que dificulta su erradicación [19]. La publicidad farmacéutica juega un rol significativo, prometiendo alivios rápidos y efectivos, y contribuyendo a una cultura de consumo inmediato de medicamentos [20]. Los consejos de familiares, amigos e incluso personal no cualificado de farmacias crean un ecosistema de información casual que normaliza y fomenta esta práctica [21]. La acumulación de medicamentos en los hogares, incluyendo fármacos caducados, también facilita el acceso y la tentación de automedicarse [21]. Esta acumulación puede ser un reflejo de la sobre-prescripción, la dispensación de cantidades mayores a las necesarias, o la no finalización de tratamientos, generando un "botiquín casero" propenso al mal uso.

Desde el punto de vista económico, el bajo ingreso económico familiar es un factor determinante, ya que puede impedir el acceso a servicios de salud formales y a la consulta médica, llevando a la automedicación como una alternativa percibida como más económica [21]. El deseo de ahorrar el costo de la consulta médica es una motivación frecuente [19]. Si bien la automedicación puede parecer una forma de reducir costos de atención médica a corto plazo, sus efectos negativos sobre la salud pueden generar gastos mayores a largo plazo [22]. De otro lado, una de las barreras de acceso al sistema de salud, como la falta de tiempo para acudir al médico, las largas esperas para obtener citas, y la percepción de que los médicos "casi siempre mandan los mismos medicamentos" [19], incentivan la búsqueda de soluciones por cuenta propia. La baja cobertura de la Seguridad Social en Salud en algunos sectores y el alto costo de la atención médica particular también pueden influir. Adicionalmente, se ha reportado que el personal de algunas farmacias asume roles de diagnóstico y sugerencia de medicamentos, promoviendo la automedicación [19].

Uno de los factores más complejos y peligrosos son la percepción de que los padecimientos son "menores y frecuentes" y la búsqueda de un "alivio rápido" son justificaciones comunes. El uso de medicamentos que fueron consumidos previamente para síntomas similares o que fueron prescritos en el pasado, así como la creencia de tener conocimiento previo sobre cómo manejar la enfermedad o los síntomas, también son factores relevantes [23].

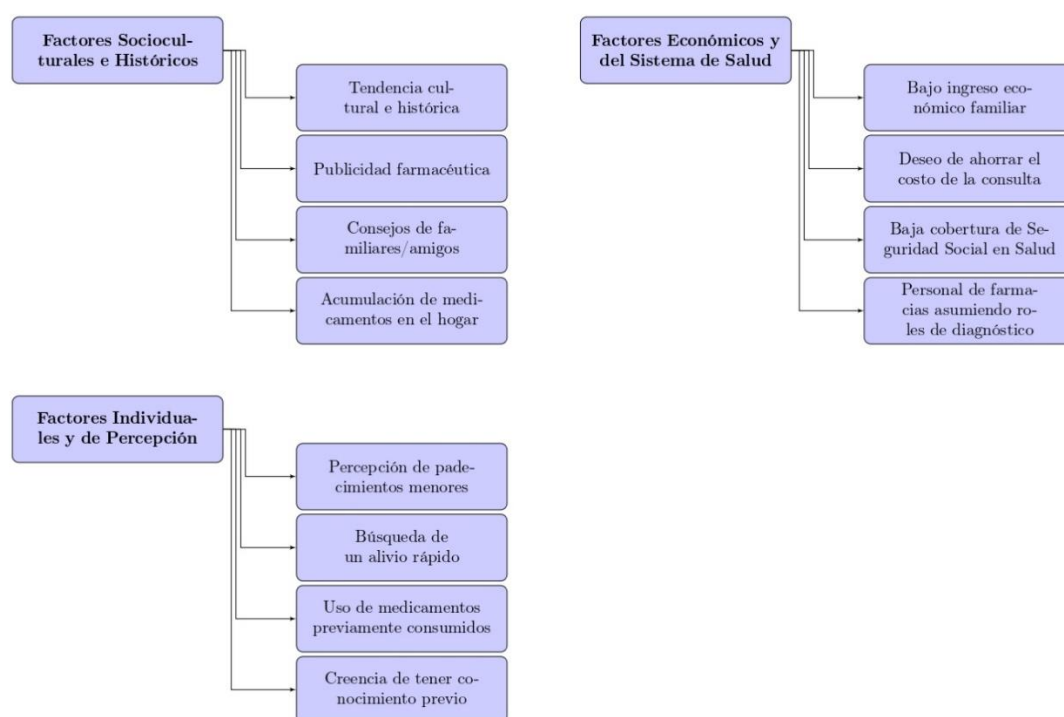


Figura 3. Factores influyentes en la automedicación.

3.2. Tipos de medicamentos comúnmente automedicados y riesgos asociados

La automedicación en Colombia (Figura 4) no se limita a medicamentos de venta libre. Si bien los analgésicos no opioides como el acetaminofén (reportado con un uso del 52.9% en un estudio) y los Antiinflamatorios No Esteroideos (AINE) (relacionados con un 16.48% en el mismo estudio) son los más comunes, existe una preocupante tendencia al uso de medicamentos que requieren prescripción médica [18]. Se ha documentado la automedicación con antibióticos [24], así como con fármacos como amitriptilina, opioides, furosemida y corticoesteroides [18]. Las formulaciones antigripales [24] y los antiácidos y digestivos también son frecuentemente utilizados [25, 26]. Además, los remedios herbolarios son consumidos, en ocasiones de manera conjunta con medicamentos convencionales [25, 27].

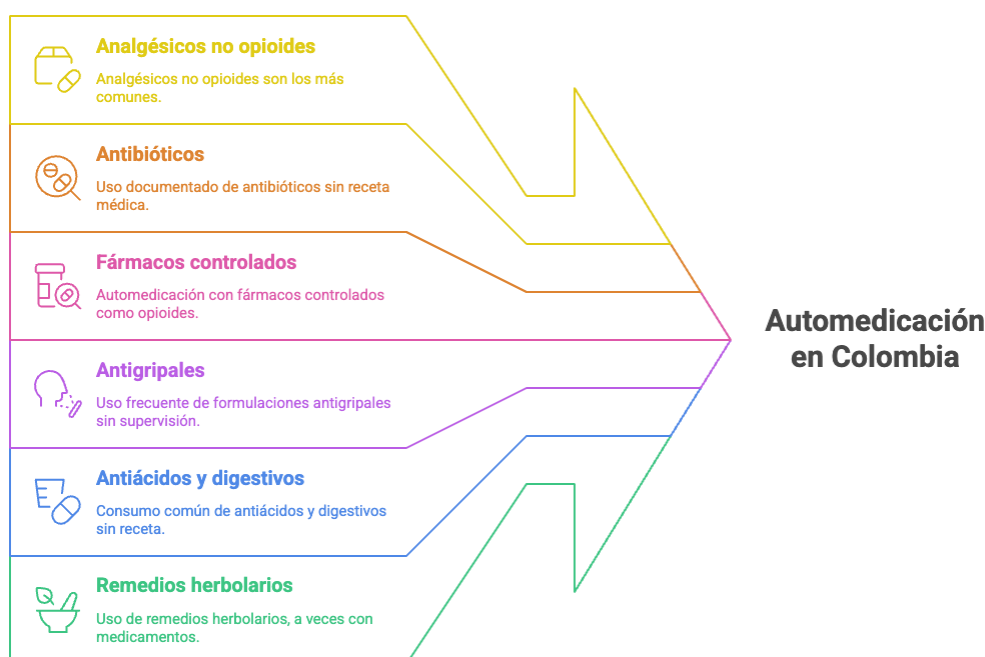


Figura 4. Panorama de la automedicación en Colombia.

El uso de medicamentos de prescripción en la automedicación, especialmente antibióticos, es un indicador crítico de fallas en el control de la dispensación en farmacias y droguerías. Estos medicamentos, por definición, no deberían ser accesibles sin una fórmula médica [28]. Su uso en la automedicación implica que se están dispensando sin el debido control en los puntos de venta, lo que evidencia una brecha entre la normativa existente y su aplicación efectiva.

Al evaluar los riesgos y consecuencias de la automedicación son numerosos y pueden ser graves, tales como reacciones adversas, alergias, intoxicaciones, enmascaramiento de enfermedades graves, diagnósticos erróneos, interacciones medicamentosas (particularmente peligrosas en grupos vulnerables como ancianos, niños y mujeres embarazadas), uso de dosis inadecuadas (ya sea por exceso o por defecto), y la prolongación o interrupción incorrecta de tratamientos. También puede llevar al desarrollo de dependencia o abuso a ciertos fármacos [29-33]. Además de riesgos individuales, uno de los principales riesgos a nivel comunitario es la contribución a la resistencia antimicrobiana, un problema de salud pública global exacerbado por el uso inadecuado y excesivo de antibióticos [34-38].

La Tabla 1 resume algunos datos de prevalencia y factores determinantes de la automedicación en Colombia:

Tabla 1. Prevalencia de la automedicación en Colombia y factores determinantes

Población estudiada	Tasa de prevalencia (%)	Medicamentos más comunes automedicados	Principales razones/Factores influyentes	Ref.
Familias	42%	No especificado	Influencia de medios de comunicación	[15]
Población general	58%	No especificado	No especificado	[19, 21]
Estudiantes universitarios (algunos del área salud)	61%	Acetaminofén (52,9%), AINE (16,48%), antibióticos, opioides, corticoides (reportados por algunos)	Padecimientos menores y frecuentes (61%), alivio rápido (68%), evitar esperas en citas (50%), uso previo del medicamento (50,9%), prescripción médica pasada (28,1%), conocimiento de la condición (34,6%)	[2, 17, 18]
Global	Casi 60%	Analgésicos, AINE	Conveniencia, rapidez, factores económicos, culturales	[14]
Usuarios centro de salud	86,36%	Analgésicos (41,87%), antigripales (22,5%), antibióticos (9,85%)	Alivio de problemas comunes de salud	[24]
Población general Colombia	Varía	Analgésicos, AINE, antibióticos, remedios caseros/naturales	Culturales (tradición, publicidad), sociales (consejos, evitar citas), económicos (ahorro, bajo ingreso), sistema de salud (barreras de acceso, percepción de ineficiencia), individuales (búsqueda de alivio rápido, padecimientos leves)	[2, 19]

4. MARCO NORMATIVO COLOMBIANO PARA LA VENTA Y COMERCIALIZACIÓN DE MEDICAMENTOS

El ordenamiento jurídico colombiano ha desarrollado un entramado normativo con el objetivo de regular la producción, comercialización, dispensación y publicidad de los medicamentos, buscando garantizar su calidad, seguridad y eficacia terapéutica, y promoviendo su uso racional. Este marco es esencial para comprender los cimientos legales sobre las cuales se intenta prevenir y controlar la automedicación. Para abordar el marco normativo debemos partir de la Constitución Política de 1991 que preconiza en su artículo 49 el derecho a la salud como de carácter fundamental, estableciéndolo como un servicio público a cargo del Estado, este derecho implica el acceso a los servicios de promoción, protección y recuperación de la salud de las personas [39].

4.1. Clasificación de medicamentos

Una piedra angular de la regulación es la clasificación de los medicamentos según su condición de venta, lo cual determina el nivel de control y acceso por parte de los usuarios: **1) Medicamentos de venta libre (MVL) o sin prescripción facultativa:** Su régimen está principalmente definido por la Resolución 0886 de 2004 del entonces Ministerio de la Protección Social [40]. Para que un medicamento sea clasificado como MVL, debe cumplir con una serie de criterios estrictos, entre los que se destacan: una historia probada de efectividad y un amplio margen de seguridad (con un mínimo de cinco años de comercialización); ser adquirible por el consumidor sin la mediación de un prescriptor y estar destinado a la prevención, tratamiento o alivio de síntomas o enfermedades leves que son adecuadamente reconocidas por los

usuarios; poseer un amplio índice terapéutico; que sus efectos adversos sean de baja incidencia y escasa severidad; tener un margen posológico amplio adaptable a edad y peso; un rango limitado de indicaciones; no ser susceptible de generar dependencia o taquifilaxis; no enmascarar síntomas de enfermedades serias; no acumularse en el organismo; ser estable bajo condiciones extremas de almacenamiento; preferiblemente ser monofármacos es decir medicamento terminado que contiene un solo principio activo o asociaciones a dosis fijas de reconocida trayectoria terapéutica; y no ser de administración parenteral. Adicionalmente, se deben presentar al Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA) los estudios de seguridad y eficacia que respalden dicha clasificación [40]. Esta categorización es vital, pues son estos medicamentos los que podrían ser objeto de una "automedicación responsable". La claridad y rigurosidad en la aplicación de estos criterios son, por ende, fundamentales para la seguridad del paciente. **2) Medicamentos bajo fórmula facultativa (o médica):** Estos productos requieren obligatoriamente la prescripción de un profesional de la salud legalmente facultado (médico, odontólogo, etc.) [41]. Su expendio está restringido por el Artículo 1 del Decreto 3050 de 2005 a establecimientos farmacéuticos tipo droguería y farmacia-droguería [41]. La exigencia de una fórmula médica constituye la principal barrera legal contra la automedicación con productos que, por su perfil de riesgo, indicaciones o necesidad de seguimiento, requieren una valoración profesional. **3) Medicamentos de control especial:** Aunque no son el foco principal de esta disertación, es pertinente mencionar que existe una categoría de medicamentos sometidos a una fiscalización aún más estricta debido a su potencial de abuso o dependencia o desvío (e.g., estupefacientes, psicotrópicos). Su regulación se encuentra en normativas específicas, como la Resolución 1478 de 2006, y su prescripción y dispensación están sujetas a controles rigurosos [42].

La intención legislativa de diferenciar los canales y controles para MVL versus los de prescripción es clara. Sin embargo, como se analizará posteriormente, la efectividad de esta diferenciación en la práctica cotidiana es un punto crítico, evidenciado por la prevalencia de automedicación con fármacos que requieren receta médica. Esto sugiere una posible brecha entre la norma y su cumplimiento efectivo en los puntos de dispensación.

4.2. Regulación de establecimientos farmacéuticos

1) Farmacias y droguerías: El Decreto 2200 de 2005 es la norma marco que reglamenta el servicio farmacéutico en Colombia [43]. Este decreto establece los objetivos del servicio farmacéutico, que incluyen la promoción de estilos de vida saludables, la prevención de riesgos derivados del uso inadecuado de medicamentos, el suministro de medicamentos e información a los pacientes sobre su uso adecuado, y la oferta de atención farmacéutica. Define también los requisitos de infraestructura física, dotación y recurso humano idóneo. Las entidades territoriales de salud son las encargadas de autorizar el funcionamiento de estos establecimientos [43]. El Decreto 3050 de 2005 complementa esta regulación al especificar que los medicamentos bajo fórmula médica solo pueden expendirse en droguerías y farmacias-droguerías, mientras que los MVL pueden comercializarse también en otros establecimientos como almacenes de cadena o grandes superficies, siempre que cumplan con las Buenas Prácticas de Abastecimiento (BPA) [41]. **2) Tiendas naturistas:** La venta de productos fitoterapéuticos en estos establecimientos también está sujeta a la regulación del INVIMA y el Ministerio de Salud. La Resolución 1896 de 2023, por ejemplo, aplica tanto a medicamentos como a productos fitoterapéuticos en lo referente a información, promoción y publicidad [44]. Los productos fitoterapéuticos también se clasifican según su condición de venta (venta libre o bajo fórmula médica) [45]. Es importante distinguir la regulación de los medicamentos de síntesis química de la de

los productos fitoterapéuticos, aunque ambos pueden ser objeto de automedicación y requieren controles para garantizar su seguridad y calidad.

4.3. Normativa sobre publicidad y promoción de medicamentos

La publicidad y promoción de medicamentos están reguladas principalmente por la Resolución 1896 de 2023 del Ministerio de Salud y Protección Social [44], que actualiza y compila disposiciones anteriores, y por la Resolución 0114 de 2004 [46]. Los principios rectores de esta publicidad son la objetividad, veracidad, la no exageración de propiedades y la no inducción al uso indiscriminado, innecesario o inadecuado, todo enmarcado en el respeto a los valores constitucionales y legales [44]. **1) Medicamentos de venta libre (MVL):** Su publicidad está permitida en medios masivos, siempre que cumpla con requisitos estrictos: debe señalar las indicaciones o usos aprobados, no emplear elementos visuales o auditivos que atraigan especialmente la atención de menores induciéndolos al consumo, no generar miedo o angustia, y no exaltar exageradamente el género del público al que va dirigido de modo engañoso [44]. La publicidad debe incluir leyendas obligatorias como "Es un medicamento", "No exceder su consumo", el número de registro sanitario, y "Leer indicaciones y contraindicaciones en la etiqueta" [47]. Las promociones permitidas para MVL incluyen empaques con contenido adicional del mismo producto o cupones de descuento anunciados directamente en el empaque [47]. Se prohíben los incentivos consistentes en dinero o en especie dirigidos al consumidor o al personal que expendía el producto. Toda publicidad de MVL debe ser comunicada previamente al INVIMA por el titular del registro sanitario, y los comercializadores pueden replicar la publicidad que ya haya sido comunicada [47]. **2) Medicamentos bajo fórmula facultativa:** La publicidad de estos productos está estrictamente restringida a profesionales de la salud facultados por la ley para realizar su prescripción, a través de publicaciones de acceso limitado y especializado [47]. No pueden ser objeto de publicidad dirigida al público general a través de medios masivos. Las campañas educativas sobre enfermedades, si bien permitidas, en ninguna circunstancia pueden orientarse a crear una necesidad de consumo de un producto específico [44].

Existen prohibiciones generales, como la publicidad de medicamentos vitales no disponibles o preparaciones magistrales, así como cualquier publicidad que se realice por fuera de lo aprobado en el registro sanitario del producto o que exagere sus propiedades terapéuticas [44]. La regulación publicitaria intenta ser exhaustiva, pero la fiscalización, especialmente en el entorno digital y en medios masivos, representa un desafío considerable. La efectividad de estas normas para prevenir la inducción a la automedicación depende en gran medida de la capacidad de vigilancia y sanción de las autoridades.

4.3.1. Regulación de la venta de medicamentos a través de sitios Web y plataformas digitales

Con el auge del comercio electrónico, la regulación ha tenido que adaptarse. La Resolución 1896 de 2023 y documentos de preguntas frecuentes del INVIMA establecen lineamientos para la venta online [44, 47]: 1) Tanto para medicamentos bajo fórmula médica como para MVL, la comercialización puede realizarse a través de sitios web oficiales de establecimientos farmacéuticos debidamente autorizados. 2) Para los medicamentos que requieren prescripción, la venta debe ser directa desde el establecimiento farmacéutico, con la intervención de talento humano facultado para la dispensación. En el sitio web, únicamente se podrá disponer de una fotografía de la cara principal del producto (identificando principio activo, concentración, forma farmacéutica, nombre y/o marca, y presentación comercial), el número de registro sanitario y el precio. Está prohibido hacer alusión a las indicaciones del producto o realizar publicidad sobre su consumo en estas plataformas de venta. 3) Plataformas tipo *marketplace* (como

Rappi) son consideradas únicamente como servicios de transporte y distribución de productos; la responsabilidad de la dispensación y el cumplimiento normativo recae sobre la droguería o farmacia donde se adquirió el producto. 4) Es fundamental garantizar que los medicamentos lleguen al paciente bajo las condiciones de almacenamiento establecidas por el fabricante. El sitio web del vendedor debe incluir datos de contacto del establecimiento y un enlace a la Entidad Territorial de Salud (ETS) de su jurisdicción. La regulación de la venta online busca extender los controles tradicionales al entorno digital. No obstante, la naturaleza de las plataformas, la logística de entrega y la dificultad de supervisar la intervención efectiva del profesional farmacéutico en cada transacción remota presentan desafíos significativos que requieren un escrutinio continuo y, posiblemente, el desarrollo de estándares tecnológicos y logísticos más específicos.

4.4. Papel del INVIMA, Ministerio de Salud y entidades territoriales

El sistema de regulación y control del mercado farmacéutico en Colombia opera a través de varias entidades con roles definidos:

4.4.1. Ministerio de Salud y Protección Social: Es el ente rector que formula las políticas nacionales de salud y farmacéuticas, como la Política Farmacéutica Nacional [48]. Expide la reglamentación general, como las resoluciones que clasifican los medicamentos o regulan su publicidad [40].

4.4.2. INVIMA: Actúa como la agencia sanitaria nacional. Es responsable de otorgar los registros sanitarios de los medicamentos, un requisito indispensable para su comercialización. Participa en la clasificación de los medicamentos según los criterios definidos por el Ministerio [40]. Ejerce funciones de inspección, vigilancia y control (IVC) sobre los establecimientos farmacéuticos, la publicidad, y la calidad de los medicamentos (Artículo 245 de la Ley 100 de 1993) [49]. Tiene la potestad de imponer sanciones administrativas ante el incumplimiento de las normativas sanitarias [50]. Además, gestiona el sistema de farmacovigilancia y la vigilancia poscomercialización para monitorear la seguridad de los medicamentos una vez se encuentran en el mercado, y administra plataformas como PUBLIMED para el reporte de publicidad [47, 49].

4.4.3. Entidades territoriales de salud (ETS): A nivel departamental, distrital y municipal, las Secretarías de Salud son responsables de autorizar el funcionamiento de los establecimientos farmacéuticos minoristas y de ejercer funciones de IVC en su jurisdicción, en coordinación con el INVIMA [43].

Aunque esta estructura define roles y responsabilidades, la capacidad real de inspección, vigilancia y control puede verse limitada por la disponibilidad de recursos humanos y financieros, lo que podría debilitar la aplicación efectiva del marco regulatorio en su conjunto y explicar, en parte, las brechas observadas entre la normativa y las prácticas de automedicación. En la Tabla 2, se presenta un resumen del marco normativo clave:

Tabla 2. Marco normativo clave en Colombia sobre venta, comercialización y publicidad de medicamentos

Norma (Ley, Decreto, Resolución)	Año	Entidad emisora	Objeto principal y relevancia para la automedicación/venta
Decreto 677	1995	Ministerio de Salud	Régimen de registros sanitarios, licencias de fabricación, control de calidad. Base para la autorización de comercialización [51].

Ley 485	1998	Congreso de la República	Reglamenta la profesión de Tecnólogo en Regencia de Farmacia, clave en la dispensación [52].
Resolución 0886	2004	Ministerio de la Protección Social	Adopta criterios para la clasificación de medicamentos de venta sin prescripción facultativa o venta libre (MVL). Define qué medicamentos pueden ser objeto de automedicación responsable [40].
Resolución 0114	2004	Ministerio de la Protección Social	Reglamenta la información promocional o publicitaria de los MVL, buscando educar en su uso racional [46].
Decreto 2200	2005	Ministerio de la Protección Social	Reglamenta el servicio farmacéutico, define obligaciones del dispensador, incluyendo la exigencia de fórmula médica. Clave para el control de la venta [43].
Decreto 3050	2005	Ministerio de la Protección Social	Define dónde se pueden expender los medicamentos según su condición de venta (MVL vs. con fórmula) [41].
Ley 1480	2011	Congreso de la República	Estatuto del Consumidor. Aplica a medicamentos como productos, establece derechos a la información y seguridad, y responsabilidad de fabricantes y proveedores por producto defectuoso [53].
Resolución 1896	2023	Ministerio de Salud y Protección Social	Regula la información no publicitaria, promoción, publicidad y comercialización de medicamentos y productos fitoterapéuticos, incluyendo venta online. Actualiza y unifica normas sobre publicidad [44].
Código Penal (Ley 599 de 2000)	2000	Congreso de la República	Tipifica delitos contra la salud pública (Art. 372 - corrupción de productos médicos; Art. 374A - enajenación ilegal de medicamentos), lesiones personales y homicidio, que pueden ser aplicables en casos de venta indebida con consecuencias graves [54].

5. RESPONSABILIDAD LEGAL POR LA VENTA DE MEDICAMENTOS SIN PRESCRIPCIÓN MÉDICA

La venta de medicamentos que requieren fórmula médica sin la debida presentación de esta constituye una infracción a la normativa sanitaria colombiana y puede acarrear diversas consecuencias legales para el dispensador (farmacéutico o personal a cargo) y para el establecimiento farmacéutico. Estas responsabilidades se pueden clasificar en administrativa, civil y penal, dependiendo de la naturaleza de la infracción y los daños ocasionados.

5.1. Obligaciones del dispensador

El Decreto 2200 de 2005, en su artículo 19, establece un conjunto de obligaciones para el dispensador, cuyo incumplimiento es la base para la determinación de responsabilidades [43]. La obligación más directamente relacionada con la prevención de la automedicación riesgosa es la de **exigir la prescripción médica para aquellos medicamentos en cuya etiqueta figure la leyenda "Venta Bajo Fórmula Médica"** [43]. Esta no es una mera formalidad, sino un acto de control sanitario esencial. Otras obligaciones incluyen verificar la validez y corrección de la prescripción, no dispensar y consultar al prescriptor ante posibles errores, asegurar que el medicamento dispensado corresponda al prescrito, e informar adecuadamente al usuario sobre el uso del medicamento. El servicio farmacéutico, en general, debe garantizar el acceso al medicamento en condiciones óptimas y de acuerdo con la normativa legal vigente [55]. El incumplimiento de estas obligaciones, particularmente la de exigir la receta, activa los mecanismos de responsabilidad.

Es importante destacar que la obligación de "no dispensar y consultar al prescriptor ante posibles errores" asigna al dispensador un rol activo en la farmacovigilancia y la prevención de errores de medicación [43]. La omisión de esta diligencia, incluso si existe una receta, podría fundamentar una negligencia si se dispensara una prescripción evidentemente errónea o peligrosa sin la debida consulta, lo que enfatiza una responsabilidad profesional que va más allá del simple acto de venta.

5.2. Responsabilidad administrativa

Las infracciones a las normativas sanitarias, como la venta de medicamentos sin la fórmula médica requerida, pueden dar lugar a un proceso administrativo sancionatorio por parte de las autoridades sanitarias competentes. Principalmente, el INVIMA, y en el ámbito de sus competencias, las Entidades Territoriales de Salud (ETS), están facultadas para imponer sanciones [50].

Según lo establecido, las sanciones que puede imponer el INVIMA, graduadas según la gravedad de la infracción, incluyen [50]: 1) **Amonestación:** Un llamado de atención formal al infractor. 2) **Multas:** Sanciones pecuniarias que pueden ser significativas, calculadas en salarios mínimos legales mensuales vigentes (SMLMV), pudiendo partir de diez mil (10.000) SMLMV en adelante, dependiendo de la naturaleza y calificación de la falta. 3) **Decomiso de productos:** Incautación definitiva de la mercancía cuando esta no cumple con las disposiciones sanitarias o representa un riesgo para la salud. 4) **Suspensión o cancelación del registro sanitario o de la licencia de funcionamiento:** Privación temporal o definitiva del derecho a comercializar el producto o a operar el establecimiento. 5) **Cierre temporal o definitivo del establecimiento, edificación o servicio respectivo:** En casos de faltas graves, se puede ordenar el cese de actividades del establecimiento infractor.

Además, los titulares de registros sanitarios son responsables por las transgresiones a normativas específicas como la Resolución 1896 de 2023 sobre publicidad y comercialización, y tienen el deber de informar al INVIMA si terceros publicitan sus productos de manera indebida [44]. La responsabilidad administrativa tiene una finalidad primordialmente preventiva y correctiva, buscando asegurar el cumplimiento de las normas sanitarias y proteger la salud pública. No obstante, la efectividad disuasoria de estas sanciones depende crucialmente de la probabilidad de detección de la infracción y de la agilidad y severidad con que se apliquen.

5.3. Responsabilidad civil

La responsabilidad civil surge cuando la conducta del dispensador o del establecimiento farmacéutico causa un daño patrimonial o extrapatrimonial a un paciente. En el contexto de la venta de medicamentos sin prescripción, esta responsabilidad se configuraría si, como consecuencia de dicha venta indebida, el paciente sufre un efecto adverso, una complicación en su estado de salud, o cualquier otro perjuicio evaluable económicamente. El objetivo de la acción civil es obtener una indemnización que repare integralmente los daños y perjuicios ocasionados [54, 56].

Este tipo de responsabilidad tiene su fundamento jurídico en artículo 2341 de Código civil "el que ha cometido un delito o culpa, está obligado a la indemnización de los perjuicios." Por lo tanto, Para que proceda una reclamación por responsabilidad civil, es necesario que el demandante acredite tres elementos fundamentales: 1) **La conducta culposa o negligente:** En este caso, la venta de un medicamento que requiere fórmula médica sin exigir dicha prescripción constituye una clara negligencia y un incumplimiento de las obligaciones profesionales y normativas. 2) **El daño:** Se debe demostrar la existencia de un perjuicio cierto presente o futuro, determinado y cuantificable sufrido por el paciente (e.g., costos de tratamientos adicionales,

incapacidades, traslados, daño moral). 3) **El nexo de causalidad:** Es indispensable probar que el daño sufrido fue consecuencia directa de la conducta culposa o negligente del dispensador o establecimiento.

La responsabilidad civil puede ser atribuida solidariamente a los distintos sujetos intervinientes en la cadena de dispensación y dirección del establecimiento farmacéutico. Esta incluye al farmacéutico titular, al regente, al sustituto debidamente acreditado (si actúa), y a la persona natural o jurídica propietaria del establecimiento, conforme a lo dispuesto en el artículo 2344 del Código Civil [54]. La indemnización correspondiente comprende tanto el daño emergente como el lucro cesante, el primero de ellos está constituido por la pérdida o disminución patrimonial que sufre el usuario del medicamento como consecuencia de la negligencia o hecho dañoso, mientras que el segundo, tiene lugar si la persona experimenta un menoscabo en sus ganancias o ingresos habituales debido al perjuicio irrogado. En uno y otro caso, ambos deben ser demostrados y cuantificados judicialmente.

5.4. Responsabilidad penal

La responsabilidad penal se configura cuando la conducta relacionada con la venta de medicamentos se adecúa a alguno de los tipos penales descritos en el Código Penal colombiano (Ley 599 de 2000) u otras leyes penales especiales. Esta es la forma más severa de responsabilidad y puede acarrear penas privativas de la libertad y multas, además de las inhabilidades que correspondan [54]. Algunos de los delitos que podrían configurarse en el contexto de la venta irregular de medicamentos son:

5.4.1. Corrupción de alimentos, productos médicos o material profiláctico (Artículo 372 del Código Penal): Este delito sanciona a quien, entre otras conductas, comercialice productos médicos que se encuentren alterados, contaminados o envenenados. La Corte Suprema de Justicia de Colombia, en una sentencia relevante (caso SPRYCEL), condenó a un individuo por este delito (en concurso con usurpación de derechos de propiedad industrial) por haber vendido un medicamento oncológico (SPRYCEL) que en realidad había sido alterado y contenía un antiviral, lo cual causó efectos adversos en el paciente. La condena impuesta fue de 96 meses de prisión y una multa considerable [57]. Este caso es paradigmático, pues demuestra que la comercialización de un medicamento que no corresponde a su naturaleza o que ha sido manipulado fraudulentamente puede escalar a responsabilidad penal grave, incluso si el móvil principal no es el dolo directo de causar daño, sino la negligencia grave o el ánimo de lucro a expensas de la seguridad del paciente.

5.4.2. Enajenación ilegal de medicamentos (Artículo 374A del Código Penal, adicionado por la Ley 1453 de 2011): Este tipo penal sanciona, entre otras conductas, a quien enajene, exporte, importe, transporte, distribuya, almacene, comercialice o adquiera medicamentos que hayan sido introducidos al país o comercializados sin cumplir con los requisitos legales, o que hayan sido sustraídos u obtenidos fraudulentamente de programas estatales. El caso SPRYCEL [57] diferencia este delito del Art. 372, señalando que el Art. 374A se refiere a medicamentos legítimos pero obtenidos o comercializados de forma fraudulenta, no necesariamente alterados en su composición.

5.4.3. Lesiones Personales Culposas (Artículos 111 y siguientes, en concordancia con el Artículo 109 del Código Penal) u Homicidio Culposo (Artículo 109 del Código Penal): Si la venta de un medicamento sin la prescripción médica requerida, realizada con imprudencia, negligencia o impericia (es decir, de manera culposa), resulta en lesiones que afectan la salud o la integridad del paciente, o incluso su muerte, el responsable podría ser imputado por estos delitos. Sería necesario demostrar la infracción al deber objetivo de cuidado (como no exigir la

receta para un medicamento que claramente la necesita, o no informar adecuadamente sobre sus riesgos) y que esta omisión fue la causa determinante del resultado lesivo [58].

La dificultad de probar el nexo causal directo entre la venta sin receta de un medicamento (no alterado) y un efecto adverso puede ser un obstáculo, especialmente si el efecto es un riesgo conocido del fármaco. Sin embargo, la venta sin la prescripción requerida priva al paciente de una evaluación médica que podría haber prevenido el uso del medicamento en ese individuo particular o haber advertido sobre riesgos específicos. Por ello, la venta sin receta podría considerarse *per se* una negligencia que facilita la configuración del nexo causal con el daño, al eliminar una barrera de seguridad fundamental del sistema de salud.

5.5. Análisis de jurisprudencia relevante

La jurisprudencia es esencial para comprender cómo se aplican estas normas en la práctica.

El caso **SPRYCEL** es un referente clave. La Corte Suprema de Justicia no casó la sentencia condenatoria, validando la interpretación de que entregar un producto médico diferente al etiquetado constituye una "alteración" bajo el artículo 372 del Código Penal. Este fallo subraya la gravedad con la que el sistema judicial puede tratar la comercialización de medicamentos que no cumplen con su descripción, una forma extrema de mala praxis en la dispensación que puede tener consecuencias penales severas para los responsables en farmacias y droguerías [57].

Si bien las **sanciones impuestas por la Superintendencia de Industria y Comercio (SIC)** en casos como el de Pfizer y Drosan [59], se referían al incumplimiento de precios máximos y no directamente a la venta sin receta, son ilustrativas de la capacidad sancionatoria del Estado en el sector farmacéutico y de la vigilancia que ejercen otras entidades además de las estrictamente sanitarias.

La doctrina y jurisprudencia comparada (como la española referenciada en [60]) también ofrecen principios sobre la responsabilidad del farmacéutico por errores en la dispensación, conservación inadecuada de medicamentos y falta de información al paciente, que pueden ser análogos y servir de guía interpretativa en Colombia.

El más alto tribunal en materia de derechos fundamentales, la Corte Constitucional de Colombia, a través de la sentencia T-760 de 2008 aborda el tema de la automedicación y el derecho a la salud. En esta providencia se reconoce el derecho de los individuos a acceder a los servicios de salud que requieran, garantía que incluye la correcta prescripción y suministro de medicamentos por parte de profesionales de la salud [61].

La existencia de estos múltiples niveles de responsabilidad (administrativa, civil y penal) evidencia la seriedad con la que el ordenamiento jurídico colombiano aborda la dispensación y venta de medicamentos. No obstante, la efectividad disuasoria de este entramado legal depende intrínsecamente de la probabilidad real de detección de las infracciones y de la capacidad del sistema para imponer las sanciones correspondientes de manera oportuna y efectiva.

6. IMPLICACIONES LEGALES POR EFECTOS ADVERSOS GRAVES DERIVADOS DE LA VENTA SIN PRESCRIPCIÓN

Cuando la venta de un medicamento sin la prescripción médica requerida resulta en efectos adversos graves para la salud del paciente, las implicaciones legales para el dispensador y el establecimiento farmacéutico pueden intensificarse significativamente, abarcando desde un aumento en la cuantía de las indemnizaciones civiles hasta la configuración de delitos penales con penas privativas de la libertad. La clave en estos escenarios radica en la demostración del

nexo causal entre la actuación indebida y el daño sufrido, así como en la aplicación de normativas protectoras como el Estatuto del Consumidor [53].

6.1. Establecimiento del nexo causal

Para imputar responsabilidad por un efecto adverso grave, es crucial demostrar que la venta sin prescripción (o la dispensación negligente o incorrecta) fue un factor determinante o, al menos, contribuyente significativo al daño padecido por el paciente. El afectado, o quien actúe en su nombre, deberá probar tres elementos fundamentales, de manera similar a lo que exige el artículo 21 del Estatuto del Consumidor (Ley 1480 de 2011) para la responsabilidad por producto defectuoso [53]: 1) **El defecto del producto o la negligencia en la venta/dispensación:** La venta de un medicamento que exige fórmula médica sin dicha prescripción constituye *per se* una conducta negligente, una omisión del deber objetivo de cuidado por parte del farmacéutico o del establecimiento. 2) **La existencia del daño:** Se debe acreditar la ocurrencia de un efecto adverso grave, como una lesión incapacitante, una enfermedad crónica, el agravamiento severo de una condición preexistente, o incluso la muerte. 3) **El nexo de causalidad:** Se debe establecer una relación directa y lógica entre la venta indebida del medicamento y el daño grave sufrido.

La ausencia de una prescripción médica implica que el paciente fue privado de una evaluación profesional previa. Esta evaluación es la que permitiría al médico identificar posibles contraindicaciones para ese paciente específico, prever interacciones medicamentosas peligrosas, ajustar la dosis según las necesidades individuales, o determinar si el medicamento era, en primer lugar, el adecuado y seguro para la condición del paciente. Al omitirse este filtro de seguridad esencial, la prueba del nexo causal entre la venta sin receta y el daño resultante se facilita, especialmente si el efecto adverso es uno de los riesgos conocidos que la supervisión médica busca prevenir. Podría argumentarse que la venta sin receta es una condición *sine qua non* para la materialización del daño en muchos casos.

6.2. Agravamiento de la responsabilidad del dispensador/establecimiento

La gravedad del efecto adverso tiene una correlación directa con la magnitud de la responsabilidad legal:

6.2.1. Responsabilidad civil: Si el efecto adverso es grave, la cuantía de la indemnización por daños y perjuicios que se puede reclamar será considerablemente mayor. Esta indemnización buscará cubrir no solo los gastos médicos directos e indirectos, sino también el daño emergente (perjuicio económico inferido), el lucro cesante (pérdida de ingresos), y los perjuicios morales o extrapatrimoniales (morales, vida en relación, daño a bienes personalísimos de especial protección constitucional) derivados del sufrimiento, la pérdida de calidad de vida, o la aflicción por la pérdida de un ser querido afectación en el proyecto de vida, de las relaciones sociales y familiares.

6.2.2. Responsabilidad penal: La generación de efectos adversos graves puede llevar la conducta del dispensador al ámbito penal. Si se demuestra que la venta sin prescripción de un medicamento, realizada con negligencia (culpa), condujo a lesiones que menoscaban gravemente la salud o integridad del paciente, o a su muerte, podrían configurarse delitos como: 1) **Lesiones personales culposas:** Tipificadas en los artículos 111 y siguientes del Código Penal, en concordancia con el artículo 109 que define la modalidad culposa. La pena varía según la gravedad de la lesión (incapacidad para trabajar, deformidad, perturbación funcional o psíquica, pérdida anatómica o funcional). 2) **Homicidio culposo:** Contemplado en el artículo 109 del Código Penal, si la conducta negligente del dispensador resulta en la muerte del paciente. La jurisprudencia histórica, incluso en otros ordenamientos jurídicos como el español [62], ha

reconocido que la sustitución indebida de medicamentos o el despacho sin las formalidades prescritas, si de ello resulta la muerte, pueden constituir un delito farmacológico culposo. El Código Penal colombiano define la conducta punible tanto por acción como por omisión y establece las correspondientes penas [54].

6.3. Aplicación del Estatuto del Consumidor (Ley 1480 de 2011)

Los medicamentos son considerados productos y los pacientes que los adquieren son consumidores, por lo que el Estatuto del Consumidor (Ley 1480 de 2011) ofrece un marco de protección adicional que es plenamente aplicable en estos casos:

6.3.1. Responsabilidad por producto defectuoso (Artículo 20): Esta norma establece que el productor (laboratorio fabricante) y el expendedor (farmacia o droguería) serán solidariamente responsables por los daños causados por los defectos de sus productos. Un medicamento vendido sin la información adecuada sobre sus riesgos, o sin la evaluación médica que asegure su idoneidad para un paciente particular (lo cual se omite al vender sin receta un fármaco que la exige), podría considerarse "defectuoso" en términos de la seguridad esperada por el consumidor. La venta de un medicamento de prescripción sin la fórmula puede ser interpretada no solo como una infracción sanitaria, sino como una falla en la "seguridad del producto", ya que se priva al paciente de la evaluación de riesgos profesional que la prescripción representa [53].

6.3.2. Garantía de seguridad (Artículo 1, Numeral 1.2): Los consumidores tienen el derecho primordial a la seguridad e indemnidad. Los productos no deben causar daño en condiciones normales de uso ni como resultado de información deficiente. La venta sin prescripción de un medicamento que la requiere vulnera esta garantía si conduce a un uso inseguro y a la materialización de un efecto adverso grave [53].

6.3.3. Daños indemnizables por producto defectuoso (Artículo 19): El Estatuto contempla explícitamente la indemnización por "muerte o lesiones corporales, causadas por el producto defectuoso" [53].

6.3.4. Responsabilidad solidaria (Artículo 20): La responsabilidad solidaria entre el productor y el expendedor significa que, si un medicamento vendido sin receta causa un daño grave, el paciente afectado podría dirigir su reclamación contra la farmacia, contra el laboratorio fabricante (si se demuestra un defecto intrínseco del medicamento o una información insuficiente en el empaque o prospecto), o contra ambos. La farmacia no podría escudarse completamente en el fabricante si su propia negligencia (la venta indebida) contribuyó o fue la causa directa del daño [53].

6.3.5. Sanciones administrativas por la Superintendencia de Industria y Comercio (SIC) (Artículo 61): Adicionalmente a las sanciones impuestas por el INVIMA, la SIC puede imponer multas significativas (hasta por 2,000 SMLMV), ordenar el cierre temporal o definitivo de establecimientos, prohibir la comercialización de productos e incluso ordenar la destrucción de productos que resulten perjudiciales para la salud y seguridad de los consumidores. Estas sanciones se sumarían a las de carácter sanitario [53].

La Tabla 3 resume los tipos de responsabilidad legal y las posibles sanciones en Colombia por la venta indebida de medicamentos, especialmente cuando se generan efectos adversos:

Tabla 3. Tipos de responsabilidad legal y sanciones por venta indebida de medicamentos y generación de efectos adversos en Colombia

Tipo de responsabilidad	Normativa principal aplicable	Autoridad competente/sancionadora	Posibles sanciones/consecuencias	Ejemplo o caso ilustrativo (si aplica)
-------------------------	-------------------------------	-----------------------------------	----------------------------------	--

Administrativa sanitaria	Decreto 2200/2005, Decreto 677/1995, Resolución 1896/2023, Ley 9 de 1979 [43]	INVIMA, entidades territoriales de salud (ETS)	Amonestación, multas (hasta 10,000 SMLMV o más), decomiso de productos, suspensión o cancelación de registro/licencia, cierre temporal o definitivo del establecimiento.	Casos de incumplimiento de Buenas Prácticas de Dispensación.
Administrativa de consumo	Ley 1480 de 2011 (Estatuto del Consumidor) [53]	Superintendencia de Industria y Comercio (SIC)	Multas (hasta 2,000 SMLMV), cierre de establecimiento, prohibición de comercializar, destrucción de productos.	Venta de producto defectuoso o con información engañosa que causa daño.
Civil	Código Civil (Responsabilidad Extracontractual Arts. 2341 y ss.), Ley 1480 de 2011 (Responsabilidad por producto defectuoso) [53]	Jueces civiles	Indemnización integral de perjuicios materiales (daño emergente, lucro cesante) y extrapatrimoniales (morales, a la vida de relación).	Paciente sufre daño hepático severo por medicamento vendido sin receta que estaba contraindicado para él.
Penal	Código Penal (Ley 599 de 2000): Art. 372 (Corrupción de productos médicos), Art. 374A (Enajenación ilegal de medicamentos), Arts. 111 y ss. (Lesiones Personales Culposas), Art. 109 (Homicidio Culposo) [54]	Fiscalía General de la Nación, Jueces penales	Penas privativas de la libertad (prisión), multas penales, inhabilidades para el ejercicio de la profesión o de derechos y funciones públicas.	Caso SPRYCEL: Condena por Art. 372 C.P. por venta de medicamento alterado que causó daño. Muerte de un paciente por dispensación negligente de un medicamento sin la debida fórmula y advertencias.

7. INTERVENCIONES LEGALES Y ESTRATEGIAS PARA LA PREVENCIÓN DE LA AUTOMEDICACIÓN EN COLOMBIA

A pesar de la existencia de un marco normativo en Colombia que busca regular la cadena del medicamento y proteger la salud pública, la persistencia de altas tasas de automedicación, incluyendo el uso de fármacos que requieren prescripción, evidencia la necesidad de analizar críticamente su efectividad y proponer intervenciones que fortalezcan su aplicación y aborden las causas subyacentes de este fenómeno.

7.1. Análisis crítico de la efectividad del marco legal actual

El entramado legal colombiano, compuesto por normas como los Decretos 2200 de 2005 y 3050 de 2005, y resoluciones específicas sobre clasificación de medicamentos de venta libre (MVL) y publicidad [40], teóricamente establece controles en puntos clave. Sin embargo, la realidad de la automedicación sugiere deficiencias. Un análisis de impacto normativo realizado por el Ministerio de Salud sobre el Decreto 677 de 1995 (que establece el régimen de registros sanitarios) reconoció que, si bien esta norma ha sido fundamental para el fortalecimiento del mer-

cado farmacéutico, su antigüedad de más de veinticinco años amerita una revisión para adaptarla a nuevas realidades, como el impacto de las tecnologías de la comunicación en la difusión de información y la necesidad de reglas más claras para prevenir el consumo irracional de medicamentos [51]. Este mismo análisis identifica la farmacovigilancia y la vigilancia poscomercialización como debilidades potenciales de los sistemas regulatorios [63]. La mera existencia de leyes no garantiza su cumplimiento ni su impacto deseado si no van acompañadas de una capacidad estatal robusta para la fiscalización y una adaptación continua a los cambios sociales y tecnológicos.

7.2. Propuestas de fortalecimiento de la fiscalización y control

Para cerrar la brecha entre la normativa y la práctica, es imperativo fortalecer los mecanismos de fiscalización y control: **1) Incrementar la rigurosidad y frecuencia de las inspecciones** por parte del INVIMA y las Entidades Territoriales de Salud (ETS) a farmacias, droguerías y otros establecimientos dispensadores. **2) Implementar mecanismos de verificación más efectivos** para asegurar la exigencia de la fórmula médica, especialmente para medicamentos de alto riesgo como los antibióticos. La Política Farmacéutica Nacional de 2003 ya contemplaba como meta para 2004 implementar un programa para hacer cumplir la exigencia de fórmula para antibióticos [48], lo que sugiere que este es un desafío persistente. **3) Establecer un régimen sancionatorio más ágil y con sanciones más severas y progresivas** para establecimientos que incurran de manera reincidente en la venta de medicamentos de prescripción sin la fórmula correspondiente. **4) Mejorar la trazabilidad de los medicamentos de prescripción** desde el fabricante hasta el paciente final, utilizando tecnologías que dificulten su desvío hacia canales informales o su dispensación sin el debido registro. **5) Fortalecer los programas de farmacovigilancia** para una detección temprana y una respuesta ágil ante los efectos adversos derivados de la automedicación, así como para generar evidencia que informe las políticas de control [64].

7.3. Iniciativas legislativas y su estado

El Congreso de la República ha considerado diversas iniciativas para reforzar el control sobre la venta de medicamentos. Es notable la recurrencia de proyectos de ley enfocados específicamente en la venta de antibióticos sin receta, lo que subraya una preocupación constante y una posible percepción de insuficiencia en las normativas generales existentes para abordar este problema crítico, especialmente en el contexto de la creciente resistencia antimicrobiana.

El **Proyecto de Ley 274 de 2008 del Senado** buscaba reglamentar la venta de medicamentos y prohibir explícitamente la venta de antibióticos sin fórmula médica, además de exigir un registro de las recetas dispensadas [65].

Posteriormente, el **Proyecto de Ley 077/16S**, presentado en 2016, también tenía como objetivo prohibir la venta de antibióticos sin fórmula y regular las cantidades dispensadas. Según información de 2016, esta propuesta contaba con ponencia positiva para primer debate en la Comisión Séptima del Senado. El estado actual y el trámite final de estos proyectos específicos requerirían una consulta actualizada en los archivos del Congreso, ya que la información disponible no precisa su desenlace [66]. No obstante, su mera existencia y discusión legislativa son indicativos de un reconocimiento de las falencias en el control efectivo.

Más recientemente, entre 2024 y 2025, se han expedido normativas y presentado propuestas que, si bien no todas abordan directamente la venta sin fórmula en farmacias comunitarias, sí impactan el ecosistema de la prescripción y el acceso a medicamentos:

La **Resolución 740 de 2024** (modificada por la Resolución 2622 de 2024) actualiza el procedimiento de acceso, reporte de prescripción, suministro y control de tecnologías en salud y

servicios complementarios no financiados con recursos de la UPC, a través de la herramienta MIPRES [67]. Estas resoluciones buscan fortalecer los mecanismos de prescripción formal y el control sobre tecnologías de alto costo o no cubiertas por el plan básico.

La **Resolución 2025010547 de 2025** adopta un Plan de Contingencia para la gestión de trámites de Registro Sanitario y trámites asociados en la Dirección de Medicamentos y Productos Biológicos del INVIMA [68]. Aunque su objetivo principal es agilizar trámites ante el INVIMA, podría tener un impacto indirecto en la disponibilidad de medicamentos en el mercado.

Un **Proyecto de Decreto del Ministerio de Salud y Protección Social** busca redefinir las reglas para la apertura y traslado de farmacias y droguerías minoristas, con el fin de mejorar el acceso a medicamentos en zonas vulnerables y orientar su ubicación bajo principios de equidad territorial [69]. Mejorar el acceso formal y geográfico a los servicios farmacéuticos podría, indirectamente, reducir la necesidad de recurrir a la automedicación o a canales informales por barreras de acceso.

7.4. Políticas públicas y programas educativos

La prevención de la automedicación no puede depender exclusivamente de medidas coercitivas o regulatorias. Es fundamental un abordaje integral que incluya políticas públicas robustas y programas educativos.

La **Política Farmacéutica Nacional** ya establece como pilares el acceso, la calidad y, crucialmente, el uso adecuado de los medicamentos. Esta política promueve la capacitación de todos los actores involucrados en el circuito del medicamento y el fomento del uso de la Denominación Común Internacional (DCI) para la prescripción [44].

Es imperativo **desarrollar y sostener programas educativos y campañas de concienciación** dirigidas a la población general sobre la gravedad de la automedicación, los riesgos específicos de consumir medicamentos sin prescripción (especialmente antibióticos y otros fármacos de riesgo), y la importancia de consultar a un profesional de la salud [70]. El profesional farmacéutico es reconocido como una figura clave en el equipo de salud para educar a la población en prácticas adecuadas y seguras [70]. Iniciativas como la campaña "Tu salud NO es un juego" [71] y los llamados del INVIMA al uso responsable de antibióticos son ejemplos de esfuerzos en esta dirección, pero requieren ser ampliados y sostenidos en el tiempo [64].

Las estrategias de prevención deben ser multifacéticas. Un enfoque que combine el fortalecimiento de la regulación y la fiscalización (el "poder duro" del Estado) con la educación ciudadana, la promoción de la salud y la mejora del acceso y la calidad del sistema de salud (el "poder blando") es esencial. Abordar solo un aspecto resultará insuficiente dada la naturaleza multicausal de la automedicación.

7.5. El Rol de los profesionales de la salud y las instituciones

Todos los actores del sistema de salud comparten responsabilidad en la prevención de la automedicación:

7.5.1. Médicos y Odontólogos: Deben realizar una prescripción racional y basada en la evidencia, informar adecuadamente al paciente sobre su tratamiento, los beneficios esperados y los posibles riesgos, y educar sobre la importancia de no automedicarse con los medicamentos prescritos para futuras ocasiones o para otras personas [43].

7.5.2. Farmacéuticos y Tecnólogos en Regencia de Farmacia: Tienen un rol crucial en el punto de dispensación. Deben cumplir estrictamente con la obligación de exigir la fórmula médica para los medicamentos que la requieren, brindar información clara y comprensible sobre el uso adecuado tanto de MVL como de medicamentos prescritos, y actuar como educadores

sanitarios, aconsejando al paciente y detectando posibles problemas relacionados con medicamentos [70].

7.5.3. Instituciones Prestadoras de Servicios de Salud (IPS) y Entidades Promotoras de Salud (EPS): Deben trabajar para garantizar un acceso oportuno y de calidad a la consulta médica y a los servicios farmacéuticos, reduciendo las barreras administrativas, económicas y geográficas que pueden llevar a los pacientes a automedicarse por desesperación o falta de alternativas [72].

7.6. Consideraciones sobre la "Automedicación Responsable" dentro de un marco regulado

Es necesario reconocer que la automedicación con MVL para el alivio de síntomas leves y transitorios es una práctica común y, bajo ciertas condiciones, puede ser aceptable como parte del autocuidado de la salud [73]. La clave para que esta práctica sea segura y efectiva reside en que sea **informada**, utilizando únicamente medicamentos que cumplan con los estrictos criterios de seguridad y eficacia para ser clasificados como MVL (según la Resolución 0886 de 2004 [40]), y, fundamentalmente, que cuente con el **consejo y la orientación del profesional farmacéutico**. Los medicamentos adecuados para una automedicación responsable deben ser eficaces para síntomas autolimitados, fiables, de fácil empleo y con un amplio margen terapéutico [15, 20].

El concepto de "automedicación responsable", aunque promovido por la industria y reconocido por la OMS, requiere una delimitación legal muy precisa y una guía profesional constante. El desafío regulatorio y de salud pública consiste en promover esta forma de autocuidado de manera segura, sin que se desborde hacia el uso indebido de medicamentos que sí requieren prescripción o para tratar condiciones que necesitan un diagnóstico médico certero. Fortalecer el rol del farmacéutico comunitario como consejero y educador es vital para alcanzar este equilibrio [2].

La experiencia internacional, aunque no detallada extensivamente aquí, sugiere que el control de la venta de medicamentos y la lucha contra la automedicación son desafíos compartidos. Países como Chile [74], Argentina [75], España [76] y México [77] han implementado diversos enfoques regulatorios, que incluyen desde sanciones penales por venta ilegal hasta sistemas de control para antibióticos y regulación de la publicidad. Colombia podría beneficiarse del análisis de estas experiencias para identificar lecciones aprendidas y adaptar estrategias que hayan demostrado ser efectivas en contextos comparables.

8. CONCLUSIONES

La automedicación en Colombia se erige como un fenómeno complejo con profundas raíces sociales y significativas implicaciones legales y de salud pública. La alta prevalencia de esta práctica, que abarca desde el uso de medicamentos de venta libre hasta el consumo riesgoso de fármacos que requieren prescripción médica, es impulsada por una amalgama de factores que incluyen aspectos culturales, socioeconómicos, barreras de acceso al sistema de salud, la influencia de la publicidad y las percepciones individuales sobre la enfermedad y su manejo. Los riesgos asociados son considerables, destacándose las reacciones adversas, el enmascaramiento de enfermedades graves, las interacciones medicamentosas y, de manera alarmante, la contribución a la crisis global de resistencia antimicrobiana.

El marco legal colombiano ha establecido una estructura para la clasificación, venta, publicidad y control de medicamentos, asignando responsabilidades claras a los diferentes actores de la cadena del medicamento y contemplando sanciones administrativas, civiles y penales

para quienes incurran en la venta indebida, especialmente si de ello se derivan efectos adversos graves. No obstante, la persistencia y magnitud del problema sugieren que la efectividad de este marco normativo se ve limitada por desafíos en su aplicación, fiscalización y por la necesidad de una adaptación continua a las dinámicas sociales y tecnológicas. La solución a la problemática de la automedicación, por tanto, no reside únicamente en la promulgación de más leyes, sino en un cambio cultural profundo, apoyado por un sistema de salud más accesible, eficiente y equitativo, y una fiscalización regulatoria que sea robusta, constante y efectiva.

La "automedicación responsable", entendida como el uso informado de medicamentos de venta libre para afecciones menores bajo la guía de un profesional farmacéutico, puede tener un lugar legítimo en el autocuidado. Sin embargo, es crucial que esta práctica sea cuidadosamente enmarcada y promovida, con una delimitación legal clara y un fuerte componente de educación y consejo profesional, para evitar que se convierta en una puerta de entrada a prácticas de mayor riesgo o que retrase la búsqueda de atención médica necesaria.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a la Dirección Nacional de Investigación y al Comité Nacional para el Desarrollo de la Investigación de la Universidad Cooperativa de Colombia. También agradecemos a la Universidad Cooperativa de Colombia, Sede Neiva, por facilitarnos equipos utilizados.

CONFLICTO DE INTERESES

Todos los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

REFERENCIAS

1. A.G. Pacha-Jara, A.V. De la Torre-Fiallos, V.H. Guangasig-Toapanta & K.P. Hidalgo-Morales. Automedicación: un enfoque de revisión sobre sus riesgos, consecuencias y una práctica responsable. *LATAM: Revista Latinoamericana de Ciencias Sociales y Humanidades*, **4**(4), 708–721 (2023). Doi: <https://doi.org/10.56712/latam.v4i4.1252>
2. C.P. Ortiz, O.D. Fúnez-David, H. Rubiano-Daza, C.L. García-Rojas, C.A. Calderón-Ospina & D.R. Delgado. Automedicación en estudiantes de la Sede Neiva de la Universidad Cooperativa de Colombia. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **48**(1), 128–144 (2019). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n1.80070>
3. A.P. Díaz-Nieves, I.d.L. Vega-Quesada, M.I. Martínez-Moya & R. Altamira-Camacho. Relación entre autocuidado y automedicación en estudiantes de ciencias de salud de una universidad pública. *Nure Inv.*, **22**(135), 1–12 (2025). Doi: <https://doi.org/10.58722/nure.v22i135.2582>
4. E.M. Cotobal-Calvo, C. Mata-Pérez, A. Bocchino, E. Gilart, B. Gutiérrez-Baena & J.L. Palazón-Fernández. Self-medication practice and associated factors among health professionals in Spain. *Nursing Reports*, **15**(2), 53 (2025). Doi: <https://doi.org/10.3390/nursrep15020053>
5. M.F. Perilla-Benítez. Aplicación móvil para la gestión de medicamentos recetados y consejos para la mitigación de la automedicación irresponsable y sus efectos secundarios. *European Public & Social Innovation Review*, **10**, 1–19 (2025). Doi: <https://doi.org/10.31637/epsir-2025-1637>
6. S. Kaladharan, D. Manayath, R. Gopalakrishnan & V. Madhavan. Responsible consumption of medicines: a cross-sectional qualitative exploration. *Global Health Journal*, **9**(1), 55–62 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.glohj.2025.02.005>
7. M. Motioleslam, M. Fereidooni-Moghadam, M. Etemadifar & Z. Mohebi. Medication adherence and its relationship with self-esteem among patients with epilepsy in Isfahan, Iran. *Epilepsy & Behavior*, **155**, 109776 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.yebeh.2024.109776>

8. S. Başoğlu & Ü. Polat. The effect of education and monitoring via tele-nursing to elderly cancer patients using oral anticancer agents on self-efficacy and medication adherence: A randomized controlled trial. *Semin. Oncol. Nurs.*, **40**(5), 151692 (2024). <https://doi.org/10.1016/j.soncn.2024.151692>
9. S. Juan, A. Harxhi, S. Kaul, B. Woods, M. Tran, G. Geonnotti, A. Gupta, E. Dean, C.E. Saunders & G. Payne. Optimization of the Care4Today digital health platform to enhance self-reporting of medication adherence and health experiences in patients with coronary or peripheral artery disease: Mixed methods study. *JMIR Cardio*, **9**, e56053 (2025). Doi: <https://doi.org/10.2196/56053>
10. N. Raj, T.M. Joy, J.J. Olickal & K.R. Thankappan. Post-COVID urban-rural difference in prevalence, patterns and predictors of self-medication: A cross-sectional study from Kerala. *Clin. Epidemiol. Glob Health*, **28**, 101656 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.cegh.2024.101656>
11. E.O. Alenzi, S.K.A. Bedaiwi, R. Hamayun, A.S.T. Alanazi & M.S. Fawzy. Key modifiable risk factors for self-medication among university students: An observational study. *Exploratory Research in Clinical and Social Pharmacy*, **15**, 100483 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.rcsop.2024.100483>
12. B.S. Nikitha, K. Roopa, S.L. Kynshi, R.S. Chauhan, B.S. Girish & R. Srinivasan. Artificial intelligence and internet influence on drug utilization: Exploring self-medication trends in South Indian pharmacy students. *Intelligent Pharmacy*, **2**(6), 814–820 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.ipha.2024.06.001>
13. G. Aşut, A.C. Kahve, B. Koparal & A. Yıldız. Is self-medication a barrier to seeking help: exploring psychiatrists' and psychiatry residents' knowledge and attitudes about self-medication in Türkiye. *BMC Psychiatry*, **25**, 195 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1186/S12888-025-06660-3>
14. S. Mejia-Restrepo, A.L. Velez-Arango, O.C. Buritica-Arboleda, M.C. Arango-Mejia, J.A. del Rio-Gomez. La política farmacéutica nacional en Colombia y la reforma de la seguridad social: acceso y uso racional de medicamentos. *Cad. Saude Publica* (Rio de Janeiro), **18**(4), 1025–1039 (2002). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0102-311X2002000400009>
15. F.Á. Tobón-Marulanda. Estudio sobre automedicación en la Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia. *Iatreia*, **15**(4), 242–247 (2002). Doi: <https://doi.org/10.17533/udea.iatreia.3963>
16. F. Villegas-Cardona, K.M. Nasner-Posso, D.P. Buitrago-Gómez, S. Cruz-alderón, S. Ruden-Restrepo, J.E. Bedoya-Arias, A.F. Barco-Álvarez, E.S. Bolaños-Muñoz & R. Gómez-Ossa. Patrón de automedicación en la zona urbana de la ciudad de Pereira (Colombia) en el trimestre marzo- mayo 2013. *Investig. Andina*, **16**(29), 1073–1085 (2014). URL: <http://www.scielo.org.co/pdf/inan/v16n29/v16n29a07.pdf>
17. C.A. López-Cabra, J.M. Gálvez-Bermúdez, C. Domínguez- Domínguez, A.D.P. Urbina-Bonilla, C.A. Calderón-Ospina & Á. Vallejos-Narváez. Automedicación en estudiantes de medicina de la Universidad del Rosario en Bogotá D. C., Colombia. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **45**(3), 374–384 (2016). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v45n3.62018>
18. A. Alviz-Amador, H. Bastos-Zayas & J. Garcia-Valdelamar. Hábitos de consumo de medicamentos de venta libre por estudiantes del área de la salud en Cartagena-Colombia. *Universidad y Salud*, **25**(2), (2023) E9–E18 (2023). Doi: <https://doi.org/10.22267/rus.232502.300>
19. E. Taramuel-Gallardo, G.A. Ortiz-Ochoa, J.N. Muñoz-Restrepo, J.O. Higueta-Restrepo & K.C. Ceballos-Borja. *Análisis sobre la automedicación en Colombia un problema de todos*. Trabajo de Grado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD). Palmira, Colombia, 2011; 70 p. URL: <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/26382>
20. A. Aguzzi & C. Virga. Uso racional de medicamentos: La automedicación como consecuencia de la publicidad. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*, **28**(1), 28–30 (2009). URL: http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-02642009000100006&lng=es&nrm=iso&tlng=es
21. C.P. Ortiz, M. Trujillo-Monje, H.S. Rebolledo-Cortes, H. Rubiano-Daza, R.E. Cárdenas-Torres & D.R. Delgado. Análisis de la percepción de la población colombiana sobre uso de plantas medicinales mediante procesamiento de lenguaje natural (PLN). *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **52**(2), 1058–1073 (2024). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v52n2.110755>
22. V.R. Feig, S. Zhang, A. Patel, B. Santos, Z. Kang, S. Wasan, A. Beloqui & G. Traverso. Designing for

- medication adherence in inflammatory bowel disease: multi-disciplinary approaches for self-administrable biotherapeutics. *eClinicalMedicine*, **77**, 102850 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.eclinm.2024.102850>
23. J.B. Pari-Olarte, P.A. Cuba-García, J.S. Almeida-Galindo, N.E. Aliaga-Guillén, C.G. Solano-García, L.J. Chacaltana-Ramos, *et al.* Factores asociados con la automedicación no responsable en el Perú. *Revista del Cuerpo Médico del HNAAA*, **14**(1), 29–34 (2021). Doi: <https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2021.141.867>
 24. J. Reynoso-Vázquez, K.Y. Mejía-Baños, E.G. Olvera-Hernández & Alejandro Chehue-Romero. *Prevalencia de la automedicación y del consumo de remedios herbolarios entre los usuarios de un centro de salud*. 28 p. URL: https://www.uaeh.edu.mx/investigacion/icsa/LI_UsoMedic/Elena_Oliv/prevalencia.pdf
 25. M.J. Cecilia, J. García-Estañ & N.M. Atucha. Self-medication in Pharmacy students. *Educacion Medica*, **19**(5), 277–282 (2018). <https://doi.org/10.1016/j.edumed.2017.07.005>
 26. G.S. Lau, K.K. Lee & C.T. Luk. Self-medication among university students in Hong Kong. *Asia Pacific Journal of Public Health*, **8**(3), 153–157 (1995). Doi: <https://doi.org/10.1177/101053959500800301>
 27. H. James, S.S. Handu, K.A.J. Al Khaja, S. Otoom & R.P. Sequeira. Evaluation of the knowledge, attitude and practice of self-medication among first-year medical students. *Med. Princ. Pract.*, **15**(4), 270–275 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1159/000092989>
 28. República de Colombia. Ministerio de la Protección Social. Resolución Número 0114 de 2004 (Enero 20): Por la cual se reglamenta la información promocional o publicitaria de los medicamentos de venta sin prescripción facultativa o venta libre. Bogotá D. C., Colombia, 2024; 4 p. https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Resoluci%C3%B3n_0114_de_2004.pdf
 29. J. Xiao, M. Li, R. Cai, H. Huang, H. Yu, L. Huang, J. Li, T. Yu, J. Zhang & S. Cheng. Smart pharmaceutical monitoring system with personalized medication schedules and self-management programs for patients with diabetes: Development and evaluation study. *J. Med. Internet Res.*, **27**, e56737 (2025). Doi: <https://doi.org/10.2196/56737>
 30. S. Li, H.J. Chen, J. Zhou, Y.B. Zhouchen, R. Wang, J. Guo, S.R. Redding & Y.Q. Ouyang. Effectiveness of a Web-based medication education course on pregnant women's medication information literacy and decision self-efficacy: Randomized controlled trial. *J. Med. Internet Res.*, **27**, e54148 (2025). Doi: <https://doi.org/10.2196/54148>
 31. K. Singh, G.V. Joy, A. Al Bulushi, A.M.A. Alomari, K. Mannethodi, J. Kunjavara, N. Hassan, Z. Idris, M.A.D.M. Yassin & B. Al-Lenjawi. Nurse-led medication self-management intervention in the improvement of medication adherence in adult patients with multi-morbidity: A protocol for a feasibility randomized controlled trial. *Glob. Epidemiol.*, **9**, 100184 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.gloepi.2025.100184>
 32. P.M. Trief, B. Burke, S. Kalichman, B.J. Anderson, X. Liu, J.D. Bulger & R.S. Weinstock. Brief report: Validity of self-report measures of medication adherence in young adults with youth-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.*, **224**, 112201 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2025.112201>
 33. F.-L.C. Liu, W.-J. Lin, L. McMillan & C.-C.S. Yang. Fire ants exhibit self-medication but lack preventive behavioral immunity against a viral pathogen. *J. Invertebr. Pathol.*, **211**, 108339 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jip.2025.108339>
 34. T.U. Berendonk, C.M. Manaia, C. Merlin, D. Fatta-Kassinos, E. Cytryn, F. Walsh, *et al.* Tackling antibiotic resistance: The environmental framework. *Nat. Rev. Microbiol.*, **13**(5), 310–317 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1038/nrmicro3439>
 35. J.G. Bartlett, D.N. Gilbert & B. Spellberg. Seven ways to preserve the miracle of antibiotics. *Clin. Infect. Dis.*, **56**(10), 1445–1450 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1093/cid/cit070>
 36. Z. Golkar, O. Bagasra & D.G. Pace. Bacteriophage therapy: A potential solution for the antibiotic resistance crisis. *J. Infect. Dev. Ctries*, **8**(2), 129–136 (2014). Doi: <https://doi.org/10.3855/jidc.3573>
 37. D. Bennadi. Self-medication: A current challenge. *J. Basic Clin. Pharm.*, **5**(1), 19 (2014). URL: <https://www.jbclinpharm.org/articles/selfmedication-a-current-challenge.pdf>

38. I.A. Rather, B.-C. Kim, V.K. Bajpai & Y.-H. Park. Self-medication and antibiotic resistance: Crisis, current challenges, and prevention. *Saudi J. Biol. Sci.*, **24**(4), 808–812 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2017.01.004>
 39. República de Colombia. *Constitución Política de la República de Colombia*. Archivo General de la Nación (AGN), Bogotá D. C., Colombia, 1991. URL: <https://normativa.archivogeneral.gov.co/constitucion-politica-1991/>
 40. República de Colombia. Ministerio de la Protección Social. Resolución 0886 de 2004 (Marzo 29): Por la cual se adoptan los criterios para la clasificación de los medicamentos de venta sin prescripción facultativa o venta libre. Bogotá D. C., Colombia, 2004; 2 p. URL: https://minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Resoluci%C3%B3n_0886_de_2004.pdf
 41. República de Colombia. Departamento de la Función Pública. Decreto 3050 de 2005 (Septiembre 1): Por el cual se reglamenta el expendio de medicamentos. Bogotá D. C., Colombia, 2005. URL: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=17445>
 42. República de Colombia. Ministerio de la Protección Social. Resolución 1478 de 10 de mayo de 2006: Por la cual se expiden normas para el control, seguimiento y vigilancia de la importación, exportación, procesamiento, síntesis, fabricación, distribución, dispensación, compra, venta, destrucción y uso de sustancias sometidas a fiscalización, medicamentos o cualquier otro producto que las contengan y sobre aquellas que son monopolio del Estado. Bogotá D. C., Colombia, 2006; 43 p. URL: https://autorregulacion.saludcapital.gov.co/leyes/Resolucion_1478_de_2006.pdf
 43. República de Colombia. Ministerio de la Protección Social. Decreto 2200 de 2005 (Junio 28): Por el cual se reglamenta el servicio farmacéutico y se dictan otras disposiciones. Bogotá D. C., Colombia, 2005; 13 p. URL: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Decreto-2200-de-2005.pdf>
 44. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 1896 de 2023 (23 Nov 2023): Por la cual se regula la información no publicitaria, promoción, publicidad y comercialización de medicamentos y productos fitoterapéuticos, se establecen medidas para la depuración de trámites con la finalidad de prevenir y mitigar el desabastecimiento de medicamentos y se dictan otras disposiciones. Bogotá D. C., Colombia, 2023; 22 p. URL: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/resolucion-1896-de-2023.pdf>
 45. República de Colombia. Departamento de la Función Pública. Decreto 1156 de 2018 (Julio 6): Por el cual se reglamenta el régimen de registro sanitario de productos fitoterapéuticos y se dictan otras disposiciones. Bogotá D. C., Colombia, 2018. URL: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=87281>
 46. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 114 de 2004 (Enero 20): Por la cual se reglamenta la información promocional o publicitaria de los medicamentos de venta sin prescripción facultativa o venta libre. Bogotá D. C., Colombia, 2004; 4 p. URL: https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/DE/DIJ/Resoluci%C3%B3n_0114_de_2004.pdf
 47. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA). *Guía para la publicidad y promoción de medicamentos de venta libre dirigida a la ciudadanía*. Bogotá D. C., Colombia, 2024; 20 p. URL: <https://www.invima.gov.co/sites/default/files/guias-preventino-landing-publicidad-medicamentos/cartilla-guia-publicidad-promocion-medicamentos-venta-libre.pdf>
 48. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Consejo Nacional de Política Económica y Social. Departamento Nacional de Planeación. *Política Farmacéutica Nacional*. Bogotá D. C., Colombia, 2007; 49 p. URL: <https://www.minsalud.gov.co/Documentos%20y%20Publicaciones/Politica%20Farmac%C3%A9utica%20Nacional.pdf>
 49. República de Colombia. Departamento de la Función Pública. Ley 100 de 1993 (Diciembre 23): Por la cual se crea el sistema de seguridad social integral y se dictan otras disposiciones. Bogotá D. C., Colombia, 1993. URL: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=5248>
 50. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA). *ABC del Proceso Sancionatorio: Dirección de Responsabilidad*
-

- Sanitaria*. Bogotá D. C., Colombia, 2023; 30 p. URL: <https://www.invima.gov.co/sites/default/files/normatividad/normatividad-interna/manuales-e-instructivos/ABC%20PROCESO%20SAN-CIONATORIO%202023%20Aprobado.pdf>
51. República de Colombia. Departamento de la Función Pública. Decreto 677 de 1995 (abril 26): Por el cual se reglamenta parcialmente el Régimen de Registros y Licencias, el Control de Calidad, así como el Régimen de Vigilancia Sanitaria de Medicamentos, Cosméticos, Preparaciones Farmacéuticas a base de Recursos Naturales, Productos de Aseo, Higiene y Limpieza y otros productos de uso doméstico y se dictan otras disposiciones sobre la materia. Bogotá, D. C., Colombia, 1995. URL: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=9751>
 52. República de Colombia. Departamento de la Función Pública. Congreso de Colombia. Ley 485 de 1998 (diciembre 21): Por medio de la cual se reglamenta la profesión de Tecnólogo en Regencia de Farmacia y se dictan otras disposiciones. Bogotá D. C., Colombia, 1998; 3 p. URL: https://normograma.invima.gov.co/compilacion/docs/pdf/ley_0485_1998.pdf
 53. República de Colombia. Departamento de la Función Pública. Congreso de Colombia. Ley 1480 de 2011 (octubre 12): Por medio de la cual se expide el Estatuto del Consumidor y se dictan otras disposiciones. Bogotá, D. C., Colombia, 2021; 25 p. URL: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=44306>
 54. República de Colombia. Departamento de la Función Pública. Congreso de Colombia. Ley 599 de 2000 (julio 24): Por la cual se expide el Código Penal. Bogotá D. C., Colombia, 2000; 101 p. URL: <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=6388>
 55. A. Besoain, I. Lizano-Díez, P. Modamio & E. Mariño. Servicio de dispensación de medicamentos y productos sanitarios: papel del farmacéutico comunitario en la evaluación individual del paciente y el contenido de sodio de los medicamentos. *Farmacéuticos Comunitarios*, 12(Supl 2. Congreso SEFAC 2020), 128 (2020). URL: <https://www.farmaceticoscomunitarios.org/es/journal-article/servicio-dispensacion-medicamentos-productos-sanitarios-papel-del-farmacaceutico>
 56. República de Colombia. Departamento de la Función Pública. Decreto 780 de 2016 (mayo 6): Por medio del cual se expide el Decreto Único Reglamentario del Sector Salud y Protección Social a partir de la fecha de su expedición. Bogotá D. C., Colombia, 2016; 545 p. <https://www.funcionpublica.gov.co/eva/gestornormativo/norma.php?i=77813>
 57. República de Colombia. Corte Suprema de Justicia. Sala de Casación Civil. J.F. Acuña-Vizcaya. Proceso SP5287–2018, Radicación No 48610 (Aprobado Acta No. 400). Bogotá D. C., Colombia 2018; 40 p. <https://img.lpderecho.pe/wp-content/uploads/2023/02/SP-5287-2018-Colombia-LPDerecho.pdf>
 58. S. Cámara-Arroyo. El medicamento como instrumento del delito: análisis del delito farmacológico y las intoxicaciones medicamentosas desde la Medicina legal, el derecho penal y su jurisprudencia. *Anuario de Derecho Penal y Ciencias Penales*, 73(1), 307–419 (2020). Doi: <https://doi.org/10.53054/adpcp.v73i1.1277>
 59. República de Colombia. Superintendencia de Industria y Comercio. Superindustria impone multas por venta de medicamentos que exceden los precios máximos establecidos. Bogotá D. C., Colombia, 2019. URL: <https://www.sic.gov.co/MULTAS-POR-VENTA-DE-MEDICAMENTOS-EXCEDEN>
 60. Gobierno de España. Ministerio de la Presidencia, Justicia, y Relaciones con las Cortes. Boletín Oficial del Estado. BOE-A-1977-14409: Real Decreto 1410/1977, de 17 de junio, por el que se desarrolla lo dispuesto en el artículo 125 de la Ley General de la Seguridad Social sobre faltas y sanciones a los farmacéuticos titulares de oficinas de farmacia en su actuación en la Seguridad Social. Madrid, 1977. URL: <https://www.boe.es/eli/es/rd/1977/06/17/1410/con>
 61. República de Colombia. Corte Constitucional. Rama Judicial. Sentencia T-760/08. Bogotá D. C., Colombia, 2008. URL: <https://www.corteconstitucional.gov.co/relatoria/2008/t-760-08.htm>
 62. A.J. Breau-García. *El delito farmacológico y su objeto material*. Tesis doctoral. Universidad Valencia, 2024; 396 p. URL: <https://hdl.handle.net/10550/95831>
 63. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social – Dirección de Medicamentos y Tecnologías en Salud. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA).

- M.C. Baracaldo-Cortés, E.A. Robayo-Duarte, S.I. Laverde-Manotas, L.G. González-Rojas, E. Correa-Gómez, L.E. Pino-Arango, et al. *Análisis de Impacto Normativo para la revisión integral del Régimen del registro Sanitario y licencias, control de calidad y vigilancia sanitaria de medicamentos*. Bogotá D. C., Colombia, 2021; 32 p. URL: <https://www.minsalud.gov.co/sites/rid/Lists/BibliotecaDigital/RIDE/VS/MET/analisis-impacto-normativo-decreto-677-de-1995.pdf>
64. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA). *El Invima hace un llamado al uso responsable de antibióticos para combatir la resistencia antimicrobiana*. Bogotá D. C., Colombia, 2024. URL: <https://www.invima.gov.co/sala-de-prensa/el-invima-hace-un-llamado-al-uso-responsable-de-antibioticos-para-combatir-la>
 65. Congreso de la República de Colombia. Secretaría General del Senado de la República. Proyecto de Ley, Gaceta No 101/07: Por el cual se dictan disposiciones para prevenir la injerencia de factores delincuenciales en los procesos electorales, se modifican y adicionan algunas disposiciones de la leyes 130 de 1994, 163 de 1994 y del decreto Ley 2241 de 1986 y se dictan otras disposiciones. Bogotá D. C., Colombia, 2007. URL: <http://www.secretariasenado.gov.co/component/content/article/25-tablas-de-proyectos-de-ley/505-p-ley-236-07-s-y-252-07-c>
 66. Congreso de la República de Colombia. Proyecto de Ley 77 de 2016: Por medio de la cual se establecen medidas dentro del Sistema General de Seguridad Social en Salud para reglamentar la venta de medicamentos y el adecuado uso de los antibióticos, se prohíbe la venta de antibióticos sin fórmula médica y se dictan otras disposiciones. vlex: Información jurídica, tributaria y empresarial, Bogotá D. C. Colombia, 2016. URL: <https://vlex.com.co/vid/proyecto-ley-77-2016-646860805>
 67. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Resolución 740 de 2024 (30 abr 2024: Por la cual se actualiza el procedimiento de acceso, reporte de prescripción, suministro, verificación, control, pago y análisis de la información de tecnologías en salud y servicios complementarios no financiadas con recursos de la UPC y se dictan otras disposiciones. Bogotá D. C. Colombia, 2024; 37 p. URL: https://www.minsalud.gov.co/Normatividad_Nuevo/Resoluci%C3%B3n%20No%20740%20de%202024.pdf
 68. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (INVIMA). Resolución 2025010547 de 2025 (marzo 19): Por la cual se adopta un Plan de Contingencia para la gestión de trámites de Registro Sanitario y trámites asociados de la Dirección de Medicamentos y Productos Biológicos del Instituto Nacional de Vigilancia de Medicamentos y Alimentos (Invima) y se dictan otras disposiciones. Bogotá D. C., Colombia, 2025; 10 p. URL: https://www.redjurista.com/appfolders/images/news/R_INVIMA_10547_2025.pdf
 69. ConsultorSalud. *Proyecto de decreto redefine reglas para apertura y traslado de farmacias en Colombia*. URL: <https://consultorsalud.com/decreto-apertura-y-traslado-de-farmacias/>
 70. Á.A. Calderón-Murillo, L.M. Castaño-Mejía, M.M. Gómez-Samper, D.N. Rojas-Ortiz & G.E. Rendón-Restrepo. *La automedicación: una costumbre sin control adecuado, que atenta contra la salud y la calidad de vida de los ciudadanos*. Trabajo de Grado. Universidad Nacional Abierta y a Distancia (UNAD), 2009; 37 p. URL: <https://repository.unad.edu.co/handle/10596/1701>
 71. AmCham Colombia Cámara de Comercio Colombo Americana. *Lanza Novo Nordisk 'Tu salud NO es un juego': Campaña nacional para consultar al médico y evitar la automedicación*. Bogotá D. C., Colombia, 2024. URL: <https://amchamcolombia.co/noticias-rse/lanza-novo-nordisk-tu-salud-no-es-un-juego-campana-nacional-para-consultar-al-medico-y-evitar-la-automedicacion/>
 72. República de Colombia. Ministerio de Salud y Protección Social. *Una salud sin barreras: nueva propuesta para transformar entre todos el Sistema de Salud en Colombia*. Bogotá D. C., Colombia, 2024. URL: <https://www.minsalud.gov.co/Paginas/nueva-propuesta-para-transformar-entre-todos-el-sistema-de-salud-en-colombia.aspx>
 73. D. Ramírez-Puerta, O. Larrubia-Muñoz, E. Escortell-Mayor & R. Martínez-Martínez. La automedicación responsable, la publicidad farmacéutica y su marco en la Atención Primaria. *SEMERGEN – Medicina de Familia*, 32(3), 117–124 (2006). Doi: [https://doi.org/10.1016/S1138-3593\(06\)73235-X](https://doi.org/10.1016/S1138-3593(06)73235-X)
 74. Senado de la República de Chile. *Buscan sancionar con cárcel y multas la venta ilegal de medicamentos*.
-

- Santiago de Chile, 2023. URL: <https://www.senado.cl/comunicaciones/noticias/buscan-sancionar-con-carcel-y-multas-la-venta-ilegal-de-medicamentos>
75. República Argentina. Presidencia de la Nación. Decreto 1024/2024: DECTO-2024-1024-APN-PTE - Modifícase la Reglamentación de la Ley N° 17.565. Ciudad Autónoma de Buenos Aires, 2024. URL: <https://www.boletinoficial.gob.ar/detalleAviso/primera/317126/20241120>
76. Gobierno de España. Ministerio de la Presidencia, Justicia, y Relaciones con las Cortes. Boletín Oficial del Estado. BOE-A-2015-8343: Real Decreto Legislativo 1/2015, de 24 de julio, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de garantías y uso racional de los medicamentos y productos sanitarios. Madrid, 2015. URL: <https://www.boe.es/buscar/act.php?id=BOE-A-2015-8343>
77. Estados Unidos Mexicanos. Secretaría de Salud. Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (Cofepris). M.d.I.M.M. Juan-López, M.A. Arriola-Peñalosa, R.d.C. Alatorre-Eden-Wynter, J. Salvador-Sánchez y Tépoz, J.C. Gallaga-Solórzano, Á.I. Pérez-Vega, F.A. Argüelles-Tello, A. Grimaldo-Monroy, J.L. Menes-Solís, C.R. Alatorre-Vallarino. *Guía de manejo y asistencia en la dispensación de medicamentos e insumos para la salud en farmacias*. Ciudad de México, 2014. URL: <https://www.anafarmex.com.mx/wp-content/uploads/2014/04/GUIA-DE-MDMIF-270314-2.pdf>

CÓMO CITAR ESTE ARTÍCULO

A.F. González-Ogliastri, O.Y. Céspedes-Gutiérrez, J.A. Gaitán-Reyes, C.P. Ortiz, H. Rubiano-Daza & D.R. Delgado. Análisis de las dimensiones legales y problemática social de automedicación en Colombia. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 775–803 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.122703>

Evaluation of AI models for predicting drug solubility in cosolvent systems

Mateo Vergara-Roa¹, Rogelio Manuel Alvarado-Martínez², Angelica Chappe-Chappe², Rossember Edén Cardenas-Torres³, Cristian Rincón-Guio⁴, María Paz Saavedra-Saavedra⁵, Carlos Francisco Trujillo-Trujillo⁵ & Julian David Aristizabal-Yusty^{5*}

¹ Ingeniería de Sistemas, Universidad Cooperativa de Colombia Villavicencio, Colombia

² Grupo de Investigación: Ciencias e Ingeniería para las Tecnologías de la Información y las Comunicaciones - Bogotá, Escuela de Ciencias Básicas, Facultad de Ingeniería, Diseño e Innovación, Politécnico Gran Colombiano, Sede Bogotá, Calle 57 No. 3 - 00 este, Bogotá 110231, Cundinamarca, Colombia

³ Grupo de Energía Materiales y Diseño EnerDIMAT, Facultad de Ingeniería, Universidad de América, Av. Circunvalar No. 20-53, Bogotá 110321, Cundinamarca, Colombia

⁴ Escuela OPINA, Institución Universitaria Politécnico Gran Colombiano, Sede Bogotá: calle 57 3 - 00 Este, Bloque K, Bogotá D. C., Cundinamarca, Colombia

⁵ Grupo de Investigación de Ingenierías UCC-Neiva, Facultad de Ingeniería, Universidad Cooperativa de Colombia, Sede Neiva, Calle 11 No. 1-51, Neiva 410001, Huila, Colombia

*Correspondent author E-mail: Julian.Aristizabal@campusucc.edu.co

Received: August 8, 2025

Corrected: August 20, 2025

Accepted: August 22, 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.122716>

SUMMARY

The low solubility of drugs presents a significant challenge in pharmaceutical development. This study evaluates the ability of five artificial intelligence models — Artificial Neural Network (ANN), Random Forest, K-Nearest Neighbors (KNN), Linear Regression, and XGBoost — to predict drug solubility in cosolvent systems. The study uses a dataset that integrates the physicochemical properties of the solute and solvent. The objective was to identify the most accurate model and analyze the relative importance of the predictor variables. The results demonstrate a clear hierarchy in model performance. Tree-based algorithms XGBoost and Random Forest showed exceptional predictive power with coefficients of determination (R^2) of 0.9737 and 0.9752, respectively, and the lowest mean squared errors. The ANN model also demonstrated robust performance ($R^2 = 0.9585$), whereas the linear regression model was unable to capture the nonlinear relationships inherent in the system ($R^2 = 0.4463$). Feature importance analysis revealed significant differences: tree models prioritized the drug's molar mass, while ANN attributed considerable importance to the cosolvent system's properties, such as the solvents' molar mass and volume. These differences highlight the complexity of solubility as a multifactorial phenomenon. We conclude that ensemble models, particularly XGBoost, are highly effective and accurate tools for *in silico* solubility prediction. Additionally, we find that a comparative modeling approach is crucial for gaining a holistic understanding of the physicochemical interactions that govern the process.

Keywords: Solubility; drugs; artificial intelligence (AI); predictive models; cosolvent systems; pharmacy.

RESUMEN

Evaluación de modelos de IA para predecir la solubilidad de fármacos en sistemas cosolventes

La baja solubilidad de los fármacos supone un reto importante en el desarrollo farmacéutico. En este estudio se evalúa la capacidad de cinco modelos de inteligencia artificial (red neuronal artificial, bosque aleatorio, K-vecinos más cercanos, regresión lineal y XGBoost) para predecir la solubilidad de los fármacos en sistemas cosolventes. El estudio utiliza un conjunto de datos que integra las propiedades físico-químicas del soluto y el solvente. El objetivo era identificar el modelo más preciso y analizar la importancia relativa de las variables predictivas. Los resultados muestran una clara jerarquía en el rendimiento de los modelos. Los algoritmos basados en árboles, XGBoost y Bosque Aleatorio, mostraron una capacidad predictiva excepcional, con coeficientes de determinación (R^2) de 0,9737 y 0,9752, respectivamente, y los errores cuadrados medios más bajos. El modelo ANN también demostró un buen rendimiento ($R^2 = 0,9585$), mientras que el modelo de regresión lineal no pudo captar las relaciones no lineales inherentes al sistema ($R^2 = 0,4463$). El análisis de importancia de las características reveló diferencias significativas: los modelos de árbol dieron prioridad a la masa molar del fármaco, mientras que la ANN atribuyó una importancia considerable a las propiedades del sistema cosolvente, como la masa molar y el volumen de los disolventes. Estas diferencias ponen de manifiesto la complejidad de la solubilidad como fenómeno multifactorial. En conclusión, los modelos de conjunto, en particular XGBoost, son herramientas muy eficaces y precisas para la predicción de la solubilidad *in silico*. Además, consideramos que un enfoque de modelización comparativa es fundamental para obtener una comprensión global de las interacciones físico-químicas que rigen el proceso.

Palabras clave: Solubilidad; medicamentos; inteligencia artificial (IA); modelos predictivos; sistemas cosolventes; farmacia.

RESUMO

Avaliação de modelos de IA para prever a solubilidade de medicamentos em sistemas de co-solventes

A baixa solubilidade dos fármacos representa um desafio importante no desenvolvimento farmacêutico. Este estudo avalia a capacidade de cinco modelos de inteligência artificial (rede neural artificial, floresta aleatória, K-vizinhos mais próximos, regressão linear e XGBoost) para prever a solubilidade dos fármacos em sistemas co-solventes. O estudo utiliza um conjunto de dados que integra as propriedades físico-químicas do soluto e do solvente. O objetivo era identificar o modelo mais preciso e analisar a importância relativa das variáveis preditivas. Os resultados mostram uma hierarquia clara no desempenho dos modelos. Os algoritmos baseados em árvores, XGBoost e Random Forest, mostraram uma capacidade preditiva excepcional, com coeficientes de determinação (R^2) de 0,9737 e 0,9752, respectivamente, e os menores erros quadráticos médios. O modelo ANN também demonstrou um bom desempenho ($R^2 = 0,9585$), enquanto o modelo de regressão linear não conseguiu captar as relações não lineares inerentes ao sistema ($R^2 = 0,4463$). A análise da importância das características revelou diferenças significativas: os modelos de árvore deram prioridade à massa molar do fármaco, enquanto a ANN atribuiu uma importância considerável às propriedades do sistema co-solvente, como a massa molar e o volume dos solventes. Estas diferenças evidenciam a complexidade da solubilidade como um fenómeno multifatorial. Em conclusão, os modelos de conjunto, em particular o XGBoost, são ferramentas muito eficazes e precisas para a previsão da solubilidade *in silico*. Além disso, consideramos que uma abordagem de modelagem comparativa é fundamental para obter uma compreensão global das interações físico-químicas que regem o processo.

Palavras-chave: Solubilidade; medicamentos; inteligência artificial (IA); modelos preditivos; sistemas co-solventes; farmácia.

1. INTRODUCTION

The prevalence of low solubility in pharmaceutical research and development (R&D) portfolios has reached alarming proportions. While previous studies indicated that more than 40% of new chemical entities (NCEs) were practically insoluble in water, more recent estimates place this figure between 70% and 90% of all compounds in development [1, 2]. This phenomenon is not random, but rather the result of a paradigm shift in drug discovery strategies. Modern tools such as high-throughput screening (HTS) and target-oriented drug design have revolutionized our ability to identify potent and selective compounds. However, this success has had an unintended consequence [3, 4].

These methodologies tend to select molecules that are structurally larger, more complex, and—crucially—more lipophilic (fat-loving) to achieve optimal binding to their biological targets [5]. There is a well-established inverse correlation between lipophilicity and aqueous solubility. Therefore, as discovery tools become more efficient at identifying potent ligands, they systematically generate a higher proportion of candidates with unfavorable physicochemical properties. This creates a self-perpetuating solubility crisis where success in the early stages of discovery fuels challenges in later stages of formulation. In addition to the drug's intrinsic chemical structure, other factors, such as its pKa (which determines its state of ionization based on the pH of the medium) and solid state (polymorphism), also significantly influence solubility [6]. Crystalline drug forms are generally less soluble than their amorphous counterparts, adding another layer of complexity to the formulation challenge [7].

Traditionally, determining solubility has been a laborious experimental process. The reference method, known as the "shake-flask" method, involves shaking an excess of the compound in a solvent until equilibrium is reached [8]. This process can take days and requires significant amounts of compound, solvents, and human resources. While this methodology is accurate, it is incompatible with the pace and scale of modern drug discovery, where thousands of compounds must be evaluated in the early stages [8-10].

The economic imperative to find alternatives is overwhelming. Bringing a new drug to market costs an estimated \$1 billion, with more than 30% of that cost devoted to formulation [11]. Failure of a candidate in the advanced stages of development due to insurmountable formulation problems represents massive financial loss. *In silico* (computational) methods emerge as a strategic solution here [12, 13]. These approaches can predict a compound's solubility based solely on its molecular structure, eliminating the need for physical synthesis [12].

The shift toward silico prediction is a fundamental change in development strategy. Rather than taking a reactive approach where formulation scientists attempt to "rescue" a promising but poorly soluble compound in the late stages, this strategy is proactive and design-based. Computational tools enable solubility to be considered a key optimization parameter from the earliest stages of discovery, alongside potency and selectivity. Chemists can screen virtual libraries of millions of compounds to identify those with a favorable balance of activity and physicochemical properties. This approach dramatically accelerates the R&D cycle, reduces costs, decreases reliance on animal models, and increases the overall likelihood of clinical success. The goal is not to replace experimentation entirely, but rather to guide it, enabling laboratory resources to focus on the most promising drug candidates [13].

2. METHODOLOGY

The research design aimed to identify the machine learning model with the greatest predictive capacity for the solubility of certain drugs in pure solvents and solvent mixtures of industrial interest. To ensure reproducibility and prevent information leakage, the entire workflow was implemented, from data preprocessing to final validation.

Each implemented model is based on a distinct learning principle, enabling a comparative assessment of their ability to capture the relationships between drug properties, solvent characteristics, and operating conditions. **Linear Regression** was employed as the baseline model due to its simplicity and interpretability, assuming a linear relationship between variables; its primary role is to establish a minimum performance benchmark against which more complex methods can be evaluated. The **K-Nearest Neighbors (KNN)** algorithm, in contrast, bases its predictions on instance similarity, estimating the solubility of a compound from the values of its closest neighbors in the feature space, making it particularly useful for capturing local patterns.

Decision tree-based models, such as **Random Forest** and **XGBoost**, allow for the identification of complex and non-linear interactions between variables. Random Forest constructs multiple trees trained on random subsets of both the data and the features, averaging their outputs to reduce variance and enhance stability. XGBoost, on the other hand, optimizes sequentially by correcting the residual errors of previous predictions, incorporating regularization to improve generalization. Finally, a **Multilayer Perceptron (MLP) Artificial Neural Network** was evaluated, capable of approximating highly non-linear functions through interconnected hidden layers of neurons, making it well-suited for modeling complex physicochemical phenomena.

In this context, it is important to remember that the methodology for developing an artificial intelligence model capable of predicting drug solubility is based on a supervised machine learning workflow. Initially, a database was consolidated and curated that integrates some specified predictor variables, from the intrinsic properties of the drug such as its Molar Mass, Solubility Parameter, Melting Temperature (K), and Melting Enthalpy (kJ/mol), to the characteristics of the co-solvent system, including the properties of Solvents 1 and 2 and their respective molar fractions. This dataset underwent rigorous preprocessing, which included: 1) encoding categorical variables (solvent names) into a numerical format using techniques such as one-hot encoding; and 2) standardizing or normalizing all numerical features so that their different scales would not negatively affect the model's performance.

2.1. Data preprocessing and segmentation

The initial dataset (Tables 1 and 2) was preprocessed to adapt the variables to the modeling algorithms. Categorical variables were transformed using one-hot encoding, and numerical variables were standardized using z-scores to mitigate scale bias.

Then, the preprocessed dataset was stratified into training (80%) and testing (20%) subsets. A fixed random seed (random_state=42) was used to ensure reproducibility of the partition. We encapsulated the entire preprocessing and modeling flow in a Scikit-learn Pipeline structure to ensure that data transformers were adjusted exclusively on the training set.

Table 1. Physicochemical properties of some drugs^{a,b}

Drugs	Molar mass	Solubility parameter	Molar volume	Melting temperature	Melting enthalpy	Solubility ref.
Hydroxytyrosol	154.16	37.05	131.2	333.55	94	[14, 15]
Indomethacin	357.79	24.5	230	433	55.1	[16-23]
Triclocarban	315.58	26.5	177.6	527.54	41.5	[24-32]
Progesterone	314.46	19.81	304.7	403.4	26.9	[33]
Meloxicam	351.4	30.95	189.1	536.7	43.9	[34-38]
Amygdalin	457.43	29.9	377.3	499.56	No disponible	[39]
Acetaminophen	151.16	28.2	111.2	441.2	27.6	[40-41]
Naproxen	230.26	23.4	189.4	428.8	34.2	[22, 42-44]
Methocarbamol	241.24	25.64	171.9	369.8	40.06	[45-47]
Benzoin	212.24	33.07	142.2	406	35.85	[48]
Sulfadiazine	250.28	28.89	150	532.65	44.3	[49-59]
Sulfamerazine	264.3	28.1	164.5	508.45	41.3	[49, 50, 60-66]
Sulfamethazine	278.33	27.42	179	468.95	39.2	[49, 50, 59, 62, 67-71]
Sulfacetamide	214.24	28.4	134.1	455.2	29.79008	[72]
Sulfapyridine	249.29	27.1	158.5	462.7	40.47	[73-75]
Sulfamethizole	270.33	23.65	172.3	480.8	46.4	[76-78]
Sulfanilamide	172.2	24.81	128.7	435.4	23.30488	[77, 78]
Methylparaben	152.15	28.1	110.5	399.2	25.3	[79]
Ethylparaben	166.17	26.97	126.5	389.2	27.9	[80, 81]
Propylparaben	180.2	26.1	142.5	369.25	31.3	[82]
Nimodipine	418.44	22.9	309.2	397.2	41.7	[83]

^aSee Delgado *et al.* [84]; ^bUnits: Molar mass in g/mol; Solubility parameter in MPa^{1/2}; Molar volume in cm³/mol; Melting temperature in K; Melting enthalpy in kJ/mol.

2.2. Model training and comparative evaluation:

We trained and evaluated a set of five regression algorithms [85], which were selected to cover different modeling approaches: artificial neural network (ANN), a random forest, a K-nearest neighbors (KNN) model, a linear regression model, and an XGBoost model.

The performance of each model was quantified using a five-fold cross-validation protocol applied only to the training set. The evaluation was based on three standard regression task metrics: the coefficient of determination (R^2), root mean square error (RMSE), and mean absolute error (MAE). During this stage, we optimized the hyperparameter k for the KNN model and identified $k = 11$ as the value offering the optimal balance between bias and variance.

Table 2. Physicochemical properties of some solvents of interest to the pharmaceutical industry

Solvents	Molar mass (g/mol)	Solubility parameter (MPa ^{1/2})	Molar volume (cm ³ /mol)	Solubility Ref.
Water	18.01528	47.9	18	[86, 87]
Methanol	32.04	29.6	41	
Ethanol	46.068	26.6	59	
1-Propanol	60.0952	24.5	75	
1-octanol	130.23	20.9	158	
Acetonitrile	41.05	24.8	53	
1,4-Dioxane	88.11	23.2	86	
Ethylene glycol	62.07	34.9	56	
Cyclohexane	84.16	16.8	108	
Propylene glycol	76.09	30.7	73.4	
PEG 400	400	21.6	354.45	
PEG 200	200	24.3	177.65	
PEG 300	300	22.5	265.98	
Ethyl acetate	88.11	18.2	98	
N-methyl-2-pyrrolidone	99.13	23	96.24	

3. RESULTS AND DISCUSSION

The solubility of a solid drug in a solvent mixture is fundamentally governed by the balance between the energy required to break down the crystalline lattice of the solute and the energy released by the solvation of the drug molecules [6]. In this context, the melting temperature (K) and melting enthalpy (kJ/mol) directly reflect the stability of the crystal lattice [7]. A high melting temperature and enthalpy indicate an energetically stable crystal, which hinders dissolution and decreases solubility at a given temperature. This dissolution process is only favorable if the drug-solvent interactions offset the energy penalty. Solubility parameters (δ), based on Hildebrand-Scatchard theory, are crucial here because affinity is maximized and solubility is enhanced when the drug solubility parameter is very close to that of the solvent medium [87, 88]. In a cosolvent system consisting of Solvent 1 and Solvent 2, the parameters are not evaluated in isolation. Instead, an effective solubility parameter for the mixture is calculated [89]. This parameter is a weighted function of the Solvent 1 Solubility Parameter and the Solvent 2 Solubility Parameter [90, 91]. It is adjusted according to the molar fractions of Solvent 1 and Solvent 2. In this way, by manipulating the molar fractions, we can “tune” the solubility parameter of the mixture to optimally match that of the drug, thereby maximizing solubility. Finally, the molar volume of the drug and the molar volumes of solvents 1 and 2, together with their respective molar masses, are fundamental properties that, although sometimes omitted in simple approximations, are indispensable for rigorous calculations of the free energy of mixing, as they influence the entropic and energetic contributions of the process, allowing for a precise quantitative description of the system at the molar level, which is the foundation of all these thermodynamic relationships [6].

Figure 1 provides a detailed analysis of the five machine learning models that were evaluated to predict the solubility of certain drugs compared to the experimental solubility values. The solid line represents the identity line, which indicates a perfect prediction where the calculated solubility (χ_3^{Cal}) equals the experimental solubility (χ_3^{Exp}). The dotted line shows the trend of the model's predictions. Five models were analyzed: an artificial neural network

(ANN), a random forest, a K-nearest neighbors (KNN) model, a linear regression model, and an XGBoost model.

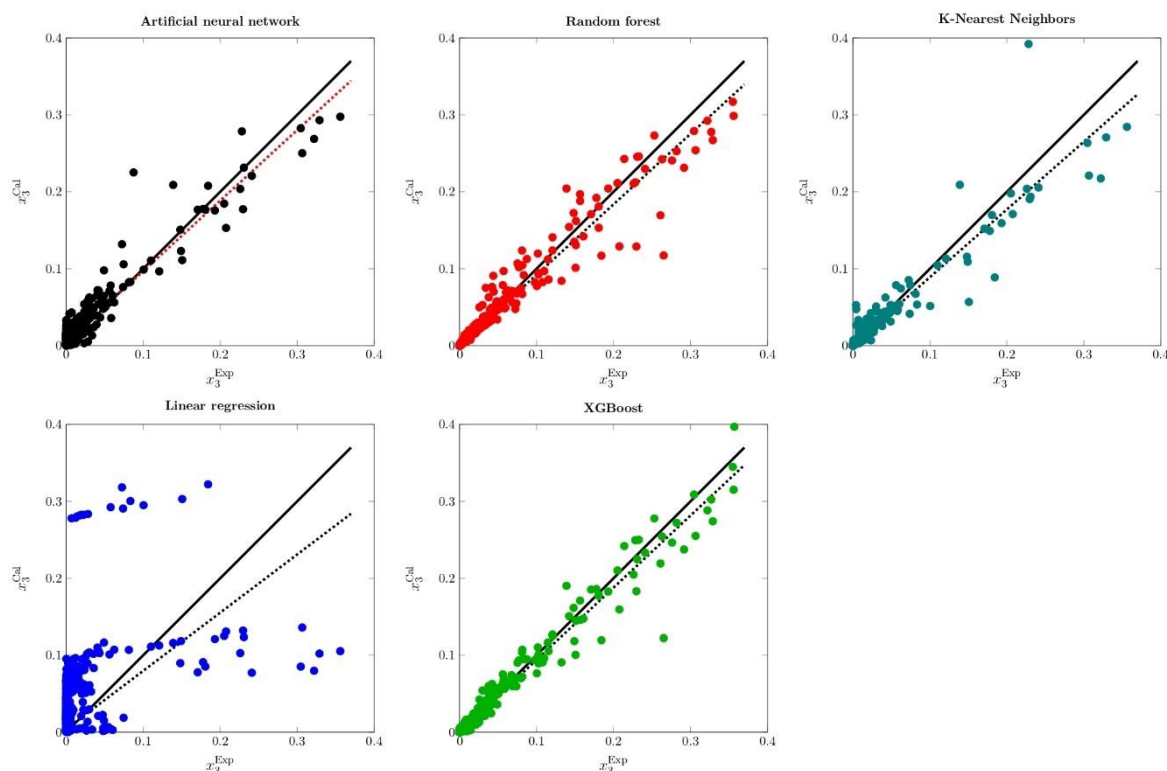


Figure 1. Predictions from different machine learning models for the calculated solubility variable vs. experimental solubility.

In relation to the first model, the artificial neural network demonstrates high performance. As shown in the graph, there is a tight grouping of points around the identity line, indicating high accuracy and an almost perfect correspondence between the predicted and experimental values. This is supported by the performance metrics, which include a coefficient of determination (R^2) of 0.9585 and a mean squared error (MSE) of 0.00012522. These values suggest that the model explains 95.85% of the variability in the experimental data, with very low residual error. The dotted regression line nearly overlaps with the identity line, indicating that the model is unbiased and highly effective for prediction. The Random Forest model also exhibits outstanding performance when evaluated. Its predictions cluster tightly around the identity line with minimal point dispersion. The metrics confirm this: an R^2 of 0.9752, surpassing even the ANN. The mean square error (MSE) is 0.00008593, the lowest of all the analyzed models, indicating exceptional accuracy and minimal prediction error. The proximity of the regression line to the identity line further supports the idea of a robust and highly reliable model. The K-Nearest Neighbors model shows moderate performance compared to tree and neural network models. The graph shows greater dispersion of points around the identity line, indicating lower prediction accuracy. This is confirmed by the metrics: an R^2 of 0.8996 and an MSE of 0.00030587. While the model still has acceptable explanatory power, the dispersion is significantly greater, particularly within the lower range of values. The dotted regression line follows the general trend but deviates more than it does in high-performance models, suggesting lower generalization ability. The Linear Regression model shows poor performance for this task. The graph shows wide dispersion and clear deviation of the regression line from the

identity line. The metrics support this observation: an R^2 of 0.4463 indicates that the model explains less than 45% of the variability in the data. The MSE is 0.003471, which is much higher than in the other models and implies substantial prediction error. The presence of outliers and clustering of points in the lower left of the graph suggest that the linear model fails to capture the underlying nonlinear relationship between the variables. Finally, the XGBoost model's performance is exceptional and comparable to that of the Random Forest model. The compact clustering of points around the identity line indicates high accuracy. This observation is confirmed by the metrics, which show an R^2 of 0.9737, like the R^2 of the Random Forest model. The MSE is 0.00008629, nearly identical to Random Forest's, which reinforces the conclusion that this model is accurate. The dotted regression line nearly overlaps with the identity line, demonstrating zero bias and optimal predictive power.

Upon comparing the five models, three clear performance categories emerged. XGBoost and Random Forest are the highest performing models. These models are based on decision trees and demonstrate a superior ability to capture complex, nonlinear relationships in the data. This ability is confirmed by their high R^2 values (0.9737 and 0.9752, respectively) and low MSEs. These results suggest that ensemble learning techniques are particularly effective for this dataset. The artificial neural network falls into the second category. Although it performs excellently with an R^2 of 0.9585, it is slightly inferior to boosted tree models. However, its ability to model nonlinear relationships makes it a solid option for prediction with an excellent fit. The K-Nearest Neighbors model is intermediate. Its proximity-based approach is less accurate than ensemble methods or neural networks for this problem, resulting in greater data dispersion. Finally, linear regression is the model with the lowest performance. Its inability to handle the data's inherent nonlinearity results in a poor fit and high error, rendering it unsuitable for predicting solubility. In summary, the most appropriate model depends on the priority given to maximum accuracy versus interpretability. Thus, XGBoost and Random Forest are the best options in terms of accuracy.

When analyzing the residual plots (Figure 2) for the five machine learning models, a clear performance hierarchy emerges. The XGBoost model shows the best performance, with residuals that are densely and homogeneously clustered around the zero line. This demonstrates high accuracy and ideal homoscedasticity. The Random Forest model also ranks highly, showing a consistent and random distribution of residuals across the entire prediction range, indicating robust performance. The artificial neural network (ANN) also performs well, though it shows slight heteroscedasticity for higher predicted values. In contrast, the K-Nearest Neighbors model shows moderate performance, with greater dispersion and more evident heteroscedasticity patterns, resulting in lower accuracy. Linear Regression is clearly the least effective model, with a pattern of residuals that deviates dramatically from the zero line. This reveals a systematic bias and an inability to capture the nonlinear nature of the data.

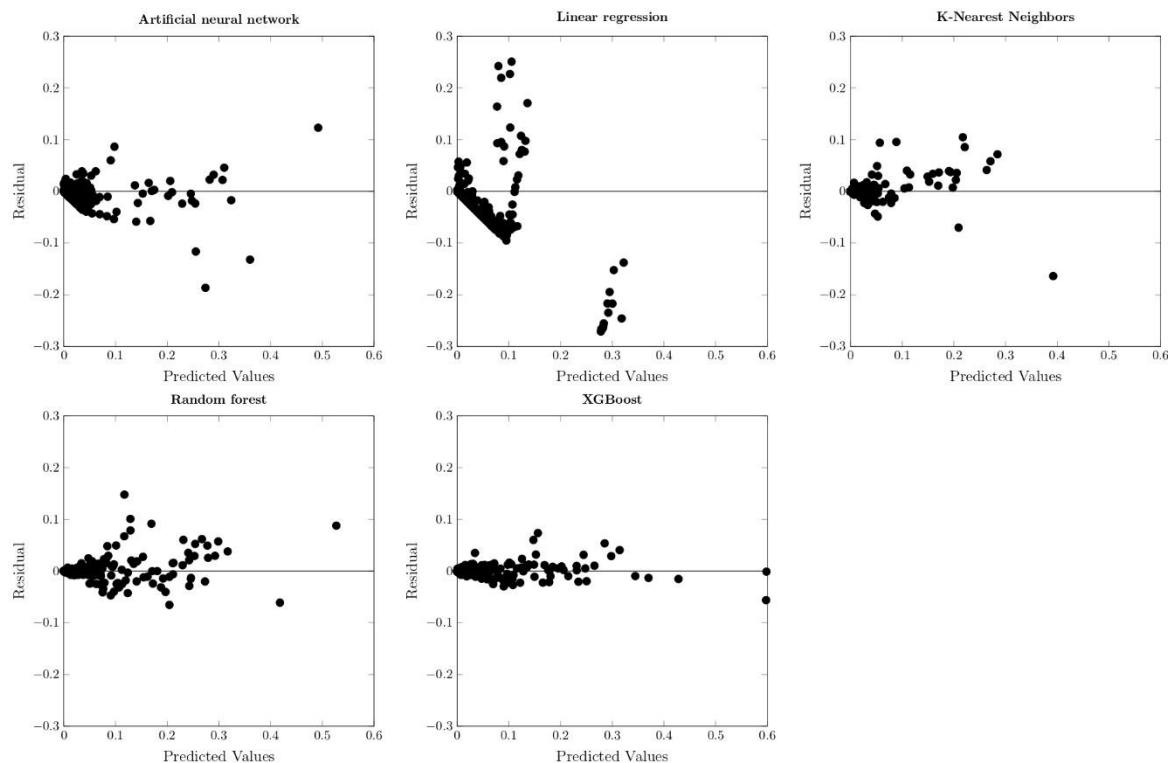


Figure 2. Analysis of residuals from machine learning models implemented in the prediction of solubility of certain drugs.

3.1. Comparison of the importance of predictor variables determined by permutation of AI models

Table 3 summarizes the importance values for each feature across the five analyzed models. The features are ranked according to their importance in the artificial neural network (ANN) model, which was found to be the most sensitive to all variables.

Important note on metrics: Each model uses a different metric to calculate importance.

- a) ANN and KNN: Measure the average decrease in performance (R^2) per permutation. A higher value means that the feature is more important.
- b) Linear Regression: It measures the absolute magnitude of the coefficient. A larger coefficient indicates greater influence on the prediction.
- c) Random Forest and XGBoost: They use internal importance metrics, such as Gini impurity reduction or gain. A higher value means greater importance.

Table 3. The importance of predictor variables determined by permutation of AI models

Variable	ANN (R ² Drop)	KNN (R ² Drop)	Random Forest (Importance)	XGBoost (Importance)	Linear regression (Coefficient)
Molar mass solvent 1	~1.350	~0.490	0	0	~0.220
Molar volume solvent 1	~0.780	~0.040	0	0	~0.290
Molar volume of drug	~0.600	~0.015	0	0	~0.095
Mole fraction of most polar solvent (in cosolvent mixture)	~0.530	~0.140	~0.150	0	~0.008
Mole fraction of least polar solvent (in cosolvent mixture)	~0.330	~0.130	~0.160	~0.080	~0.007
Molar mass of drug	~0.300	~0.015	~0.670	~0.940	~0.025
Enthalpy of fusion (kJ/mol)	~0.280	~0.025	0	0	~0.012
Drug solubility parameter	~0.150	~0.005	~0.010	~0.010	~0.020
Solvent 1 solubility parameter	~0.140	~0.001	0	0	~0.035
Molar volume of solvent 2	~0.140	0	0	0	~0.100
Solvent 2 solubility parameter	~0.130	0	0	0	~0.040
Melting temperature of drug (K)	~0.120	~0.010	0	~0.002	~0.015
Molar mass of solvent 2	~0.080	0	0	0	~0.090
Study temperature	~0.040	~0.035	~0.020	~0.010	~0.005

A comparative analysis of the models reveals that solubility does not depend on a single dominant characteristic, but rather on a complex interaction of multiple factors. This conclusion is evident in the clear divergence between the approaches of each algorithm. Tree models, such as XGBoost and Random Forest, emphasize the properties of the solute and show a preference for drug molar mass, probably because it is a strong indicator of molecular size and intermolecular forces. However, other models paint a different picture. The artificial neural network (ANN), K-nearest neighbors (KNN), and linear regression models give significant weight to the properties of the solvent mixture, such as its molar masses and volumes. This finding has profound physicochemical significance since solvation (the solute-solvent interaction) is the true thermodynamic driver of dissolution. This comparison ultimately demonstrates the risk of relying on a single model. A limited analysis of XGBoost could mistakenly conclude that solvent properties are irrelevant. This is because both XGBoost and Random Forest show zero values for the importance of physicochemical parameters, such as solubility parameters. This is theoretically unlikely and highlights the limitations of these AI models in explaining solubility behavior. Therefore, contrasting different algorithms is crucial to obtaining a multifaceted view, which validates that both the drug and the solvent system are indispensable pieces in the complex puzzle of solubility.

4. CONCLUSION

The study's comparative analysis conclusively demonstrates that tree-based models are superior for predicting solubility. The XGBoost and Random Forest algorithms achieved the highest performance, with coefficients of determination (R^2) of 0.9737 and 0.9752, respectively. Linear Regression, on the other hand, proved inadequate for this complex problem. Its inability to capture the nonlinear relationships inherent in the solubility system resulted in poor performance ($R^2 = 0.4463$) and high prediction error. This disparity underscores the complexity of

solubility as a multifactorial phenomenon, a reality reinforced by the models' differing interpretations of variable importance. Significant differences in weighting were found: while the tree models prioritized the drug's molar mass, the artificial neural network (ANN) attributed considerable importance to the cosolvent system's properties, such as the solvents' molar mass and volume. For these reasons, the study concludes that model comparison is crucial for a comprehensive understanding. Using a comparative modeling approach is essential to gaining a holistic understanding of the physicochemical interactions that govern the process and avoiding biased or incomplete conclusions that could arise from relying on a single algorithm.

CONFLICTS OF INTEREST

All authors declare that there are no conflicts of interest.

REFERENCES

1. S. Stegemann, C. Moreton, S. Svanbäck, K. Box, G. Motte & A. Paudel. Trends in oral small-molecule drug discovery and product development based on product launches before and after the Rule of Five. *Drug Discov. Today*, **28**(2), 103344 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2022.103344>
2. B. Xie, Y. Liu, X. Li, P. Yang & W. He. Solubilization techniques used for poorly water-soluble drugs. *Acta Pharm. Sinica B*, **14**(11), 4683–4716 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.apsb.2024.08.027>
3. K.T. Savjani, A.K. Gajjar & J.K. Savjani. Drug solubility: Importance and enhancement techniques. *ISRN Pharm.*, **2012**, 195727 (2012). Doi: <https://doi.org/10.5402/2012/195727>
4. M. Khoubnasabjafari, D.R. Delgado, F. Martinez, A. Jouyban & W.E. Acree. Predicting the solubility, thermodynamic properties and preferential solvation of sulphamethazine in acetonitrile + water mixtures using a minimum number of experimental data points. *Phys. Chem. Liq.*, **59**(3) 400–411 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1080/00319104.2020.1731812>
5. G. Krishna, K.J. Chen, C.C. Lin & A.A. Nomeir. Permeability of lipophilic compounds in drug discovery using in-vitro human absorption model, Caco-2. *Int. J. Pharm.*, **222**(1), 77–89 (2001). Doi: [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(01\)00698-6](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(01)00698-6)
6. Y. Pal, P.K. Deb, S. Bandopadhyay, N. Bandyopadhyay & R.K. Tekade. Role of physicochemical parameters on drug absorption and their implications in pharmaceutical product development. In: R.K. Tekade (editor). *Dosage Form Design Considerations: Volume I: A volume in Advances in Pharmaceutical Product Development and Research*. Academic Press, 2018; pp. 85–116. Doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814423-7.00003-4>
7. S.B. Murdande, M.J. Pikal, R.M. Shanker & R.H. Bogner. Aqueous solubility of crystalline and amorphous drugs: Challenges in measurement. *Pharm. Dev. Technol.*, **16**(3), 187–200 (2011). Doi: <https://doi.org/10.3109/10837451003774377>
8. W.J. Mader & T. Higuchi. Phase solubility analysis. *C R C Crit. Rev. Anal. Chem.*, **1**(2), 193–215 (1970). Doi: <https://doi.org/10.1080/10408347008542734>
9. J.J. Lingane. Advances in Analytical Chemistry and Instrumentation. Volume I (Book Review). *J. Am. Chem. Soc.*, **83**(10), 2404–2404 (1961). Doi: <https://doi.org/10.1021/ja01471a053>
10. L.W. Dittert, T. Higuchi & D.R. Reese. Phase solubility technique in studying the formation of complex salts of triamterene. *J. Pharm. Sci.*, **53**(11), 1325–1328 (1964). Doi: <https://doi.org/10.1002/jps.2600531108>
11. Current model for financing drug development: From concept through approval. In: *Breakthrough Business Models: Drug Development for Rare and Neglected Diseases and Individualized Therapies: Workshop Summary*. Institute of Medicine (US) Forum on Drug Discovery, Development, and Translation. National Academies Press, Washington (DC), 2009; pp. 7–11. URL: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK50977/pdf/Bookshelf_NBK50977.pdf, accessed August 7, 2025.

12. L. Morici, O. Jordan, E. Allémann & C. Rodríguez-Nogales. Recent advances in nanocrystals for arthritis drug delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.*, **22**(7), 1031–1042 (2025). Doi: <https://doi.org/10.1080/17425247.2025.2505758>
13. N.Y. Echeagaray-Solorza, Y. Díaz-Romero, L.G. Tobón-Galicia & S. Tejada-Paniagua. Predicting drug solubility in cosolvent systems using artificial intelligence algorithms. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **54**(1), 131–144 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n1.119553>
14. D.R. Delgado, A. Sosnik & F. Martínez. Transfer thermodynamics of triclosan from water to organic solvents with different hydrogen bonding capability. *Lat. Am. J. Pharm.*, **30**(3), 459–466 (2011). URL: https://www.latamjpharm.org/resumenes/30/3/LAJOP_30_3_1_7.pdf
15. A. Aydi, I. Dali, K. Ghachem, A.Z. Al-Khazaal, D.R. Delgado & L. Kolsi. Solubility of Hydroxytyrosol in binary mixture of ethanol + water from (293.15 to 318.15) K: Measurement, correlation, dissolution thermodynamics and preferential solvation. *Alexandria Eng. J.*, **60**(1) 905–914 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aej.2020.10.019>
16. A.R. Holguín, G.A. Rodríguez, D.M. Cristancho, D.R. Delgado & F. Martínez. Solution thermodynamics of indomethacin in propylene glycol+water mixtures. *Fluid Phase Equilib.*, **314**, 134–139 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2011.11.001>
17. E.A. Cantillo, D.R. Delgado & F. Martínez, Solution thermodynamics of indomethacin in ethanol + propylene glycol mixtures. *J. Mol. Liq.*, **181**, 62–67 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2013.02.008>
18. M.Á. Peña, D.R. Delgado & F. Martínez. Preferential solvation of indomethacin in some aqueous co-solvent mixtures. *Chem. Eng. Commun.*, **203**(5), 619–627 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1080/00986445.2015.1074898>
19. M.A. Ruidiaz, D.R. Delgado, F. Martínez & Y. Marcus. Solubility and preferential solvation of indomethacin in 1,4-dioxane+water solvent mixtures. *Fluid Phase Equilib.*, **299**(2), 259–265 (2010). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2010.09.027>
20. A.R. Holguín, D.R. Delgado & F. Martínez. Indomethacin solubility in propylene glycol + water mixtures according to the Extended Hildebrand Solubility Approach. *Lat. Am. J. Pharm.*, **31**(5), 720–726 (2012). URL: https://www.latamjpharm.org/resumenes/31/5/LAJOP_31_5_1_12.pdf
21. M.A. Ruidiaz, D.R. Delgado & F. Martínez. Indomethacin solubility estimation in 1,4-dioxane + water mixtures by the extended Hildebrand solubility approach. *Quim. Nova*, **34**(9), 1569–1574 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422011000900016>
22. G.A. Rodríguez, D.R. Delgado & F. Martínez. Preferential solvation of indomethacin and naproxen in ethyl acetate + ethanol mixtures according to the IKBI method. *Phys. Chem. Liq.*, **52**(4), 533–545 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1080/00319104.2013.842474>
23. M.Á. Peña, D.R. Delgado & F. Martínez. Preferential solvation of indomethacin in 1,4-dioxane + water mixtures according to the inverse Kirkwood–Buff integrals method. *Phys. Chem. Liq.*, **54**(4) 462–474 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1080/00319104.2015.1115329>
24. D.R. Delgado, A.R. Holguín & F. Martínez. Solution thermodynamics of triclosan and triclocarban in some volatile organic solvents. *Vitae*, **19**(1), 79–92 (2012). Doi: <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.10838>
25. A.R. Holguín, D.R. Delgado & F. Martínez. Thermodynamic study of the solubility of triclocarban in ethanol + propylene glycol mixtures. *Quim. Nova*, **35**(2), 280–285 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012000200009>
26. D.I. Caviedes-Rubio, C.P. Ortiz, F. Martínez & D.R. Delgado. Thermodynamic assessment of triclocarban dissolution process in *N*-methyl-2-pyrrolidone + water cosolvent mixtures. *Molecules*, **28**(20), 7216 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules28207216>
27. A.M. Cruz-González, M.S. Vargas-Santana, S.d.J. Polania-Orozco, C.P. Ortiz, N.E. Cerquera, F. Martínez, D.R. Delgado, A. Jouyban & W.E. Acree, Jr. Thermodynamic analysis of the solubility of triclocarban in ethylene glycol + water mixtures. *J. Mol. Liq.*, **325**, 115222 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.115222>

28. J.J. Agredo-Collazos, C.P. Ortiz, N.E. Cerquera, R.E. Cardenas-Torres, D.R. Delgado, M.Á. Peña & F. Martínez. Equilibrium solubility of triclocarban in (cyclohexane + 1,4-dioxane) mixtures: Determination, correlation, thermodynamics and preferential solvation. *J. Solution Chem.*, **51**(12), 1603–1625 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10953-022-01209-4>
29. V. Puentes-Lozada, D.I. Caviedes-Rubio, C. Rincón-Guio, N.E. Cerquera, R.E. Cardenas-Torres, C.P. Ortiz, F. Martínez & D.R. Delgado, Thermodynamic study of the solubility of triclocarban in polyethylene glycol 200 + water cosolvent mixtures at different temperatures. *Molecules*, **30**(12), 2631 (2025). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules30122631>
30. A.C. Gaviria-Castillo, J.D. Artunduaga-Tole, J.D. Rodríguez-Rubiano, J.A. Zuñiga-Andrade, D.R. Delgado, A. Jouyban & F. Martínez. Solution thermodynamics and preferential solvation of triclocarban in 1,4-dioxane (1) + water (2) mixtures at 298.15 K, *Phys. Chem. Liq.*, **57**(1), 55–66 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1080/00319104.2017.1416613>
31. D.R. Delgado, E.M. Mogollon-Waltero, C.P. Ortiz, M.Á. Peña, O.A. Almanza, F. Martínez & A. Jouyban. Enthalpy-entropy compensation analysis of the triclocarban dissolution process in some 1,4-dioxane (1) + water (2) mixtures. *J. Mol. Liq.*, **271**, 522–529 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2018.09.026>
32. C.A. Munoz-Ortiz, N.E. Cerquera, J.K.C. Camacho, J. Osorio-Gallego, R.E. Cardenas-Torres, M. Herrera & D.R. Delgado. Preferential solvation of triclocarban in *N*-methyl-2-pyrrolidone + water cosolvent mixtures according to the Inverse Kirkwood-Buff Integrals (IKBI) method and correlation of solubility by means of some mathematical models. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **53**(1), 219–243 (2024). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v53n1.111422>
33. A. Torres-Cardozo, N.E. Cerquera, C.P. Ortiz, J. Osorio-Gallego, R.E. Cardenas-Torres, F. Angarita-Reina, F. Martínez & D.R. Delgado. Thermodynamic analysis of the solubility of progesterone in 1-octanol + ethanol cosolvent mixtures at different temperatures. *Alexandria Eng. J.*, **64**, 219–235 (2023). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.aej.2022.08.035>
34. D.R. Delgado, A.R. Holguín, O.A. Almanza, F. Martínez & Y. Marcus. Solubility and preferential solvation of meloxicam in ethanol + water mixtures. *Fluid Phase Equilib.*, **305**(1), 88–95 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2011.03.012>
35. D.M. Cristancho, D.R. Delgado & F. Martínez. Meloxicam solubility in ethanol + water mixtures according to the extended Hildebrand solubility approach. *J. Solution Chem.*, **42**(8), 1706–1716 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10953-013-0058-y>
36. D.M. Jiménez, Z.J. Cárdenas, D.R. Delgado, A. Jouyban & F. Martínez. Solubility and solution thermodynamics of meloxicam in 1,4-dioxane and water mixtures. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **53**(42), 16550–16558 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1021/ie503101h>
37. A.R. Holguín, D.R. Delgado, F. Martínez & Y. Marcus. Solution thermodynamics and preferential solvation of meloxicam in propylene glycol + water mixtures. *J. Solution Chem.*, **40**(12), 1987–1999 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10953-011-9769-0>
38. D.R. Delgado, A. Jouyban & F. Martínez. Solubility and preferential solvation of meloxicam in methanol + water mixtures at 298.15 K. *J. Mol. Liq.*, **197**, 368–373 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2014.06.006>
39. A. Aydi, C. Ayadi, K. Ghachem, A.Z. Al-Khazaal, D.R. Delgado, M. Alnaief & L. Kolsi. Solubility, solution thermodynamics, and preferential solvation of amygdalin in ethanol + water solvent mixtures. *Pharmaceuticals*, **13**(11), 395 (2020). Doi: <https://doi.org/10.3390/ph13110395>
40. E.A. Ahumada, D.R. Delgado & F. Martínez. Solution thermodynamics of acetaminophen in some PEG 400 + water mixtures. *Fluid Phase Equilib.*, **332**, 120–127 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2012.07.004>
41. E.A. Ahumada, D.R. Delgado & F. Martínez. Corrigendum to “Solution thermodynamics of acetaminophen in some PEG 400 + water mixtures” [*Fluid Phase Equilib.* 332 (2012) 120–127]. *Fluid Phase Equilib.*, **334**, 204 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2012.08.017>
42. A.R. Holguín, D.R. Delgado, M.A. Ruidiaz, E.F. Vargas & F. Martínez. Apparent molar volumes of sodium naproxen in water at several concentrations and temperatures. *Lat. Am. J. Pharm.*, **30**(3), 619–623 (2011). URL: https://www.latamjpharm.org/resumenes/30/3/LAJOP_30_3_2_17.pdf

43. D.R. Delgado, M.A. Ruidiaz, S.M. Gómez, M. Gantiva & F. Martínez. Thermodynamic study of the solubility of sodium naproxen in some ethanol + water mixtures. *Quim. Nova*, **33**(9), 1923–1927 (2010). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422010000900019>
44. G.A. Rodríguez, D.R. Delgado, F. Martínez, A. Jouyban & W.E. Acree, Jr. Solubility of naproxen in ethyl acetate + ethanol mixtures at several temperatures and correlation with the Jouyban-Acree model. *Fluid Phase Equilib.*, **320**, 49–55 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2012.02.009>
45. K.C. Mercado, G.A. Rodríguez, D.R. Delgado, F. Martínez & A. Romdhani. Solution thermodynamics of methocarbamol in some ethanol + water mixtures. *Quim. Nova*, **35**(10), 1967–1972 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422012001000015>
46. D.M. Jiménez, Z.J. Cárdenas, D.R. Delgado, F. Martínez & A. Jouyban. Preferential solvation of methocarbamol in aqueous binary co-solvent mixtures at 298.15 K. *Phys. Chem. Liq.*, **52**(6), 726–737 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1080/00319104.2014.915755>
47. Z.J. Cárdenas, D.M. Jiménez, G.A. Rodríguez, D.R. Delgado, F. Martínez, M. Khoubnasabjafari & A. Jouyban. Solubility of methocarbamol in some cosolvent + water mixtures at 298.15 K and correlation with the Jouyban-Acree model. *J. Mol. Liq.*, **188**, 162–166 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2013.10.012>
48. A.E. Garrido-Romero, J.L. Aroca-Trujillo, R. Rodriguez-Serrezuela, D.I. Caviedes-Rubio & D.R. Delgado. Thermodynamic study of the solubility of benzoin in ethyl acetate (1) + ethanol (2) mixtures. *J. Eng. Appl. Sci.*, **14**(14), 4951–4960 (2019). URL: <https://account.makhillpublications.co/files/published-files/mak-jeas/2019/14-4951-4960.pdf>
49. M.d.M. Muñoz, D.R. Delgado, M.Á. Peña, A. Jouyban & F. Martínez. Solubility and preferential solvation of sulfadiazine, sulfamerazine and sulfamethazine in propylene glycol + water mixtures at 298.15 K. *J. Mol. Liq.*, **204**, 132–136 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2015.01.047>
50. D.R. Delgado & F. Martínez. Preferential solvation of sulfadiazine, sulfamerazine and sulfamethazine in ethanol + water solvent mixtures according to the IKBI method. *J. Mol. Liq.*, **193**, 152–159 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2013.12.021>
51. D.R. Delgado & F. Martínez. Solution thermodynamics of sulfadiazine in some ethanol + water mixtures. *J. Mol. Liq.*, **187**, 99–105 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2013.06.011>
52. D.R. Delgado & F. Martínez. Solubility and preferential solvation of sulfadiazine in methanol + water mixtures at several temperatures. *Fluid Phase Equilib.*, **379**, 128–138 (2014). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2014.07.013>
53. D.R. Delgado, O. Bahamón-Hernandez, N.E. Cerquera, C.P. Ortiz, F. Martínez, E. Rahimpour, A. Jouyban & W.E. Acree, Jr. Solubility of sulfadiazine in (acetonitrile + methanol) mixtures: Determination, correlation, dissolution thermodynamics and preferential solvation. *J. Mol. Liq.*, **322**, 114979 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.114979>
54. D.R. Delgado & F. Martínez. Thermodynamic study of the solubility of sodium sulfadiazine in some ethanol + water cosolvent mixtures. *Vitae*, **17**(2), 191–198 (2010). Doi: <https://doi.org/10.17533/udea.vitae.6344>
55. A.M. Cruz-González, M.S. Vargas-Santana, C.P. Ortiz, N.E. Cerquera, D.R. Delgado, F. Martínez, A. Jouyban & W.E. Acree, Jr. Solubility of sulfadiazine in (ethylene glycol + water) mixtures: Measurement, correlation, thermodynamics and preferential solvation. *J. Mol. Liq.*, **323**, 115058 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2020.115058>
56. D.M. Jiménez, Z.J. Cárdenas, D.R. Delgado, M.Á. Peña & F. Martínez. Solubility temperature dependence and preferential solvation of sulfadiazine in 1,4-dioxane+water co-solvent mixtures. *Fluid Phase Equilib.*, **397**, 26–36 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2015.03.046>
57. D.R. Delgado, C.P. Ortiz, F. Martínez & A. Jouyban. Equilibrium solubility of sulfadiazine in (acetonitrile + ethanol) mixtures: Determination, correlation, dissolution thermodynamics, and preferential solvation. *Int. J. Thermophys.*, **45**, 129 (2024). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10765-024-03405-4>
58. C.F. Trujillo-Trujillo, F. Angarita-Reina, M. Herrera, C.P. Ortiz, R.E. Cardenas-Torres, F. Martinez & D.R. Delgado. Thermodynamic analysis of the solubility of sulfadiazine in (acetonitrile 1-propanol) cosolvent mixtures from 278.15 K to 318.15 K. *Liquids*, **3**(1), 7–18 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/liquids3010002>

59. M.S. Vargas-Santana, A.M. Cruz-González, N.E. Cerquera, A.S. Escobar-Rodriguez, R.E. Cardenas, O. Calderón-Losada, C.P. Ortiz & D.R. Delgado. Extended Hildebrand solubility approach and Yalkowsky-Roseman model for estimating the solubility of sulfadiazine and sulfamethazine in some {ethylene glycol (1) + water (2)} mixtures at several temperatures. *Rev. Colomb. Cienc. Quím. Farm.*, **50**(3), 812–836 (2022). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v50n3.100240>
60. D.R. Delgado & F. Martínez. Solution thermodynamics and preferential solvation of sulfamerazine in methanol + water mixtures. *J. Solution Chem.*, **44**(2), 360–377 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1007/s10953-015-0317-1>
61. C.P. Ortiz, D.I. Caviedes-Rubio, F. Martinez & D.R. Delgado. Solubility of sulfamerazine in acetonitrile + ethanol cosolvent mixtures: Thermodynamics and modeling. *Molecules*, **29**(22), 5294 (2024). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules29225294>
62. D.R. Delgado & F. Martínez. Solubility and solution thermodynamics of sulfamerazine and sulfamethazine in some ethanol + water mixtures. *Fluid Phase Equilib.*, **360**, 88–96 (360). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2013.09.018>
63. R.E. Cárdenas-Torres, C.P. Ortiz, W.E. Acree, Jr., A. Jouyban, F. Martínez & D.R. Delgado. Thermodynamic study and preferential solvation of sulfamerazine in acetonitrile + methanol cosolvent mixtures at different temperatures. *J. Mol. Liq.*, **349**, 118172 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.118172>
64. M.S. Vargas-Santana, A.M. Cruz-González, C.P. Ortiz, D.R. Delgado, F. Martínez, M.Á. Peña, W.E. Acree & A. Jouyban. Solubility of sulfamerazine in (ethylene glycol + water) mixtures: Measurement, correlation, dissolution thermodynamics and preferential solvation. *J. Mol. Liq.*, **337**, 116330 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116330>
65. C.P. Ortiz, R.E. Cardenas-Torres, M. Herrera & D.R. Delgado. Numerical analysis of sulfamerazine solubility in acetonitrile + 1-propanol cosolvent mixtures at different temperatures. *Sustainability*, **15**(8), 6596 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/su15086596>
66. J.H. Blanco-Márquez, C.P. Ortiz, N.E. Cerquera, F. Martínez, A. Jouyban & D.R. Delgado. Thermodynamic analysis of the solubility and preferential solvation of sulfamerazine in (acetonitrile + water) cosolvent mixtures at different temperatures. *J. Mol. Liq.*, **293**, 111507 (2019). <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111507>
67. D.R. Delgado, O.A. Almanza, F. Martínez, M.A. Peña, A. Jouyban & W.E. Acree, Jr. Solution thermodynamics and preferential solvation of sulfamethazine in (methanol + water) mixtures. *J. Chem. Thermodyn.*, **97**, 264–276 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jct.2016.02.002>
68. A. Aydi, C.P. Ortiz, D.I. Caviedes-Rubio, C. Ayadi, S. Hbaieb & D.R. Delgado. Solution thermodynamics and preferential solvation of sulfamethazine in ethylene glycol + water mixtures. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, **118**, 68–77 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2020.12.031>
69. J.H. Blanco-Márquez, D.I. Caviedes Rubio, C.P. Ortiz, N.E. Cerquera, F. Martínez & D.R. Delgado. Thermodynamic analysis and preferential solvation of sulfamethazine in acetonitrile + water cosolvent mixtures. *Fluid Phase Equilib.*, **505**, 112361 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2019.112361>
70. D.R. Delgado, J.K. Castro-Camacho, C.P. Ortiz, D.I. Caviedes-Rubio & F. Martinez. Dissolution thermodynamics of the solubility of sulfamethazine in (acetonitrile + 1-propanol) mixtures. *Pharmaceuticals*, **17**(12), 1594 (2024). Doi: <https://doi.org/10.3390/ph17121594>
71. C.P. Ortiz, R.E. Cardenas-Torres, F. Martínez & D.R. Delgado. Solubility of sulfamethazine in the binary mixture of acetonitrile + methanol from 278.15 to 318.15 K: Measurement, dissolution thermodynamics, preferential solvation, and correlation. *Molecules*, **26**(24), 7588 (2021). Doi: <https://doi.org/10.3390/molecules26247588>
72. I.P. Osorio, F. Martínez, D.R. Delgado, A. Jouyban & W.E. Acree, Jr. Solubility of sulfacetamide in aqueous propylene glycol mixtures: Measurement, correlation, dissolution thermodynamics, preferential solvation and solute volumetric contribution at saturation. *J. Mol. Liq.*, **297**, 111889 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.111889>

73. D.R. Delgado, G.A. Rodríguez & F. Martínez. Thermodynamic study of the solubility of sulfapyridine in some ethanol + water mixtures. *J. Mol. Liq.*, **177**, 156–161 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2012.11.001>
74. D.R. Delgado, M.A. Peña, F. Martínez, A. Jouyban & W.E. Acree, Jr. Further numerical analyses on the solubility of sulfapyridine in ethanol + water mixtures. *Pharm. Sci. (Tabriz)*, **22**(3), 143–152 (2016). Doi: <https://doi.org/10.15171/PS.2016.24>
75. D.R. Delgado, G.A. Rodríguez, A.R. Holguín, F. Martínez & A. Jouyban. Solubility of sulfapyridine in propylene glycol + water mixtures and correlation with the Jouyban-Acree model. *Fluid Phase Equilib.*, **341**, 86–95 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2012.12.017>
76. D.R. Delgado, A. Romdhani & F. Martínez. Solubility of sulfamethizole in some propylene glycol + water mixtures at several temperatures. *Fluid Phase Equilib.*, **322–323**, 113–119 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2012.03.014>
77. D.R. Delgado, A. Romdhani & F. Martínez. Thermodynamics of sulfanilamide solubility in propylene glycol + water mixtures. *Lat. Am. J. Pharm.*, **30**(10), 2024–2030 (2011). URL: https://www.latamjpharm.org/resumenes/30/10/LAJOP_30_10_1_23.pdf
78. C.P. Ortiz, R.E. Cardenas-Torres, D.I. Caviedes-Rubio, S.D.J. Polania-Orozco & D.R. Delgado. Thermodynamic analysis and preferential solvation of sulfanilamide in different cosolvent mixtures. *Phys. Chem. Liq.*, **60**(1), 9–24 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1080/00319104.2021.1888382>
79. A.M. Romero-Nieto, D.I. Caviedes-Rubio, J. Polania-Orozco, N.E. Cerquera & D.R. Delgado. Temperature and cosolvent composition effects in the solubility of methylparaben in acetonitrile + water mixtures. *Phys. Chem. Liq.*, **58**(6), 722–735 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1080/00319104.2019.1636379>
80. A.M. Romero-Nieto, N.E. Cerquera, F. Martínez & D.R. Delgado. Thermodynamic study of the solubility of ethylparaben in acetonitrile + water cosolvent mixtures at different temperatures. *J. Mol. Liq.*, **287**, 110894 (2019). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2019.110894>
81. A.M. Romero-Nieto, N.E. Cerquera & D.R. Delgado. Measurement and correlation of solubility of ethylparaben in pure and binary solvents and thermodynamic properties of solution. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **48**(2), 332–347 (2019). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v48n2.82702>
82. C.P. Ortiz, R.E. Cardenas-Torres, M. Herrera & D.R. Delgado. Thermodynamic analysis of the solubility of propylparaben in acetonitrile–water cosolvent mixtures. *Sustainability*, **15**(6), 4795 (2023). Doi: <https://doi.org/10.3390/SU15064795>
83. J.L. Gómez, G.A. Rodríguez, D.M. Cristancho, D.R. Delgado & F. Martínez. Solution thermodynamics of nimodipine in some PEG 400 + ethanol mixtures. *Phys. Chem. Liq.*, **51**(5), 651–662 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1080/00319104.2013.771262>
84. D.R. Delgado, M. Vergara & R.E. Cardenas-Torres. Database of drug solubility in cosolvent mixtures at different temperatures. *Mendeley Data*, V1, 2025. Doi: <https://doi.org/10.17632/g686s23sy5.1>
85. M. Vergara-Roa, R.E. Cardenas-Torres & D.R. Delgado. Artificial neural network modeling of drug solubility in cosolvent systems. *Mendeley Data*, V1, 2025. Doi: <https://doi.org/10.17632/3ztcsxvjyb.1>
86. Y. Marcus. *The Properties of Solvents*. John Wiley & Sons Ltd, Chichester (UK), 1998.
87. A.F.M. Barton. *CRC Handbook of Solubility Parameters and Other Cohesion Parameters*. 2nd ed. CRC Press, Boca Raton (FL), 1991.
88. G. Scatchard. Solutions of nonelectrolytes. *Annu. Rev. Phys. Chem.*, **3**, 259–274 (1952). Doi: <https://doi.org/10.1146/annurev.pc.03.100152.001355>
89. Y.-G. Li, T. Teng, J.-F. Lu, G. Chen & J.-D. Li. A study of Scatchard-Hildebrand solution theory for metal solvent extraction systems. *Fluid Phase Equilib.*, **30**, 297–306 (1986). Doi: [https://doi.org/10.1016/0378-3812\(86\)80063-2](https://doi.org/10.1016/0378-3812(86)80063-2)
90. J.T. Rubino & S.H. Yalkowsky. Cosolvency and cosolvent polarity. *Pharm. Res.*, **4**(3), 220–230 (1987). Doi: <https://doi.org/10.1023/A:1016456127893>
91. C.M. Hansen. The universality of the solubility parameter. *Ind. Eng. Chem. Product Res. Dev.*, **8**(1), 2–11 (1969). Doi: <https://doi.org/10.1021/i360029a002>

HOW TO CITE THIS ARTICLE

M. Vergara-Roa, R.M. Alvarado-Martinez, A. Chappe-Chappe, R.E. Cárdenas-Torres, C. Rincón-Guio, M.P. Saavedra-Saavedra, C.F. Trujillo-Trujillo & J.D. Aristizabal-Yusty. Evaluation of AI models for predicting drug solubility in cosolvent systems. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 804–820 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.122716>

Contexto das infecções causadas por bactérias gram-negativas resistentes aos carbapenêmicos em pacientes com doença renal crônica: uma revisão sistemática

Sabrina Paula Pereira¹, Magna Cristina de Paiva^{2*} & Caroline Pereira Domingueti¹

¹ Laboratório de Bioquímica Clínica Universidade Federal de São João del Rei, Campus Centro-Oeste Dona Lindu, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil.

² Laboratório de Microscopia, Diagnóstico Laboratorial e Microbiologia Clínica, Campus Centro Oeste Dona Lindu, Universidade Federal de São João del Rei, Rua Sebastião Gonçalves Coelho, Nº 400, Bairro Chanadour, Divinópolis, Minas Gerais, Brasil. CEP: 35.501-296.

*Autor correspondente:

Correio eletrônico: magnacpaiva@ufsj.edu.br

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9375-7261>

Recebido: 4 de setembro de 2024

Aceto: 27 de agosto de 2025

<https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.116482>

RESUMO

Introdução: O aumento da resistência das bactérias gram-negativas aos carbapenêmicos (BRC) é particularmente preocupante para pacientes com comprometimento renal, já que são mais vulneráveis a infecções, geralmente associadas a maiores taxas de mortalidade e tempo de internação. **Objetivo:** Avaliar a frequência das infecções por BRCs em pacientes com doença renal crônica dialítica e transplantados renais. **Método:** Uma busca de artigos foi realizada no PubMed, Web of Science, Scopus e Embase, exclusivamente de coorte prospectivos e retrospectivos que avaliaram a frequência de BRCs nestes pacientes. **Resultados:** Sete artigos (seis de pacientes transplantados renais e um de dialíticos) publicados entre 2011 e 2021 com duração entre 7 meses a 10 anos foram incluídos nesta revisão sistemática. A frequência de resistência aos carbapenêmicos, sendo o meropenem o mais utilizado, em bactérias gram-negativas nos pacientes transplantados renais, variou de 0,5% a 26,3%, nos dialíticos foi de 8,0%. A taxa de mortalidade foi maior (82,0%) entre os pacientes dialíticos. *Klebsiella pneumoniae* foi a bactéria mais prevalente, *bla_{KPC}* o gene mais detectado nas BRCs e associação de *bla_{VIM}* e *bla_{NDM}* foi descrita. Os sítios de infecção observados foram, trato urinário, seguido de corrente sanguínea e ferida cirúrgica. **Conclusão:** A frequência de infecções por BRCs em pacientes dialíticos e transplantados renais é preocupante e, diante do pequeno número de artigos encontrados, mais estudos devem ser conduzidos para ampliar o conhecimento e mitigar os impactos das infecções por BRCs nestes pacientes, uma população que tem crescido sobretudo no Brasil.

Palavras Chave: bactérias gram-negativas; enterobacteriáceas resistentes a carbapenêmicos; insuficiência renal crônica; transplante de rim; diálise renal.

SUMMARY

Context of infections caused by gram-negative bacteria resistant to carbapenems in patients with chronic kidney disease: a systematic review

Introduction: The increase in resistance of gram-negative bacteria to carbapenems (BRC) is particularly worrying for patients with renal impairment, as they are more vulnerable to infections, generally associated with higher mortality rates and length of stay. **Objective:** To evaluate the frequency of BRC infections in patients with chronic kidney disease on dialysis and kidney transplant recipients. **Method:** A search for articles was carried out in PubMed, Web of Science, Scopus and Embase, exclusively from prospective and retrospective cohorts that evaluated the frequency of BRCs in these patients. **Results:** Seven articles (six on kidney transplant patients and one on dialysis) published between 2011 and 2021 lasting between 7 months and 10 years were included in this systematic review. The frequency of resistance to carbapenems, with meropenem being the most used, in gram-negative bacteria in kidney transplant patients ranged from 0.5% to 26.3%, in dialysis patients it was 8.0%. The mortality rate was higher (82.0%) among dialysis patients. *Klebsiella pneumoniae* was the most prevalent bacteria, *bla_{KPC}* was the most detected gene in BRCs and an association of *bla_{VIM}* and *bla_{NDM}* was described. The sites of infection observed were the urinary tract, followed by the bloodstream and surgical wound. **Conclusion:** The frequency of BRC infections in dialysis and kidney transplant patients is worrying and, given the small number of articles found, more studies must be conducted to expand knowledge and mitigate the impacts of BRC infections in these patients, a population that has grown mainly in Brazil.

Keywords: gram-negative bacteria; carbapenem-resistant enterobacteriaceae; chronic renal failure; kidney transplant; kidney dialysis.

RESUMEN

Contexto de las infecciones causadas por bacterias gram-negativas resistentes a los carbapenémicos en pacientes con enfermedad renal crónica: una revisión sistemática

Introducción: El aumento de la resistencia de las bacterias gram-negativas a los carbapenemes (BRC) es particularmente preocupante para los pacientes con insuficiencia renal, ya que son más vulnerables a las infecciones, generalmente asociadas con mayores tasas de mortalidad y estancia hospitalaria. **Objetivo:** Evaluar la frecuencia de infecciones por BRC en pacientes con enfermedad renal crónica en diálisis y receptores de trasplante de riñón. **Método:** Se realizó una búsqueda de artículos en PubMed, Web of Science, Scopus y Embase, exclusivamente de cohortes prospectivas y retrospectivas que evaluaran la frecuencia de BRC en estos pacientes. **Resultados:** Se incluyeron en esta revisión sistemática siete artículos (seis sobre pacientes trasplantados renales y uno sobre diálisis) publicados entre 2011 y 2021 con una duración de entre 7 meses y 10 años. La frecuencia de resistencia a los carbapenémicos, siendo el meropenem el más utilizado, en bacterias gram-negativas en pacientes trasplantados de riñón osciló entre 0,5% y 26,3%, en pacientes en diálisis fue de 8,0%. La tasa de mortalidad fue mayor (82,0%) entre los pacientes en diálisis. *Klebsiella pneumoniae* fue la bacteria más prevalente, *bla_{KPC}* fue el gen más detectado en BRC y se describió una asociación de *bla_{VIM}* y *bla_{NDM}*. Los sitios de infección observados fueron el tracto urinario, seguido del torrente sanguíneo y la herida quirúrgica. **Conclusión:** La frecuencia de infecciones por BRC en pacientes en diálisis y trasplante renal es preocupante y, dado el pequeño número de artículos encontrados, se deben realizar más estudios para ampliar el conocimiento y mitigar los impactos de las infecciones por BRC en estos pacientes, población que ha crecido principalmente en Brasil.

Palabras clave: bacterias gram-negativas; enterobacterias resistentes a carbapenémicos; insuficiencia renal crónica; trasplante de riñón; diálisis renal.

1. INTRODUÇÃO

A doença renal crônica (DRC) é caracterizada por anormalidades da estrutura e/ou função dos rins presentes por mais de três meses, considerada um problema de saúde pública, devido à alta prevalência e às elevadas taxas de morbidade e mortalidade [1].

No Brasil, cerca de 52 milhões de pessoas estão enquadradas na população de risco para o desenvolvimento de DRC por serem idosos, obesos, diabéticos, hipertensos ou por apresentarem algum histórico familiar [2]. De fato, uma alta taxa de prevalência de diálise no Brasil foi observada em 2021 (696 por milhão de pessoas), sendo que 94,0% destes pacientes receberam tratamento via Sistema Único de Saúde (SUS) [3].

Pacientes com doença renal crônica dialítica e transplantados renais são especialmente vulneráveis a infecções por bactérias multirresistentes (MDR) devidos às comorbidades como hipertensão arterial, doenças cardiovasculares, diabetes mellitus e, em casos de transplantados renais, uso de imunossupressores [4].

Dentre as MDR, destacam-se espécies da ordem Enterobacterales resistentes aos carbapenêmicos, as quais foram listadas como prioridade crítica para vigilância, pesquisa e desenvolvimento de novos antimicrobianos pela Organização Mundial da Saúde (OMS) em 2017 [5]. Nesta ordem estão incluídas bactérias gram-negativas frequentes em diferentes ambientes, como solo e água e também colonizando seres humanos e animais, especialmente o trato gastrointestinal [6]. Destacam-se os gêneros *Escherichia*, *Klebsiella* e *Enterobacter*, os quais são os principais agentes associados às infecções relacionadas à assistência à saúde (IRAS) [6]. Além desses, em ambientes hospitalares, bactérias gram-negativas não fermentadoras de glicose, como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* complex, *Stenotrophomonas maltophilia* e *Burkholderia cepacia* complex também estão envolvidos em IRAS [7].

Um fenótipo comum nestas bactérias é a resistência, geralmente múltipla, a antimicrobianos de relevância clínica, com a presença de mecanismos de resistência intrínseco, cromossômico e/ou adquirido horizontalmente, este último de particular preocupação devido ao potencial de disseminação interespecíes [7, 8]. Assim, a terapêutica das infecções causadas por MDR é um desafio, sendo que antimicrobianos tais como carbapenêmicos e polimixinas são de último recurso para o tratamento [9, 10].

Antimicrobianos carbapenêmicos (imipenem, meropenem, ertapenem e doripenem) são amplamente utilizados no tratamento de IRAS por cepas resistentes às penicilinas e cefalosporinas e como consequência, bactérias gram-negativas resistentes aos carbapenêmicos (BRC) têm sido reportadas [10]. O principal mecanismo de resistência circulando entre essas espécies é a produção de carbapenemase, uma enzima codificada pelo gene *bla*, veiculado por elementos genéticos móveis e amplamente disseminado em todo o mundo [10, 11].

O aumento de BRC é particularmente relevante para pacientes com doença renal crônica dialítica e transplantados renais, os quais são mais expostos a assistências hospitalares e submetidos a procedimentos invasivos, com inserção de equipamentos médicos tais como cateteres vasculares, tratamentos com antimicrobianos, além de outras comorbidades que são fatores associados a um risco aumentado de infecção [11]. Além disso, devem ser citados os pacientes transplantados renais que, aliados aos fatores descritos, estão sujeitos à baixa imunidade devido ao uso de medicamentos imunossupressores para minimizar o risco de rejeição, mas que facilitam a colonização e a infecção por MDR [12].

As infecções causadas por BRC estão associadas a maior mortalidade, maior tempo de internação e maior ônus econômico do que aquelas causadas por bactérias sensíveis a antimicrobianos da mesma espécie [12]. No entanto, os dados da literatura são bastante limitados em relação à prevalência dessas infecções na população em estudo [13]. Assim, pesquisas envolvendo a elucidação do contexto da distribuição e caracterização das infecções bacterianas em pacientes dialíticos e transplantados renais são extremamente necessárias e podem contribuir para a elaboração e atualização de protocolos terapêuticos [14].

Desta forma, este trabalho tem como objetivo realizar uma revisão sistemática da literatura para avaliar o contexto das infecções causadas por BRC em pacientes com doença renal crônica dialítica e transplantados renais, a taxa de mortalidade e os fatores de risco inerentes à predisposição para a infecção. Ademais, busca-se determinar as principais BRCs relacionadas com a infecção nestes pacientes e os mecanismos de resistência aos carbapenêmicos disseminados entre elas.

2. METODOLOGIA

Esta revisão sistemática foi realizada de acordo com as diretrizes do *Cochrane Handbook* (2020) [15] e do *Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses* (PRISMA, 2020) [16] sob número de registro CRD42020191492, no Registro Prospectivo Internacional de Revisões Sistemáticas (PROSPERO).

A busca dos artigos foi conduzida empregando as bases de dados *Medical Literature Analysis and Retrieve System Online* (MEDLINE, via PubMed), Web of Science, Embase e Scopus e restringidas para artigos publicados em língua inglesa, portuguesa, francesa ou espanhola. Não houve restrição quanto ao ano de publicação dos artigos e a pesquisa dos artigos foi realizada no período de 07/02/2021 a 28/09/2021.

Os descritores foram definidos através do *Medical Subject Headings* (MeSH). Foram utilizadas as seguintes estratégias de buscas; ("Carbapenems" or "antibiotics, or "carbapenem antibiotics" "carbapenem-resistant" "Enterobacteriaceae" or "gram-negative bacteria" "beta-Lactams" and ("renal insufficiency, chronic" or "kidney insufficiency, chronic" or "chronic kidney diseases" or "kidney failure, chronic" or "end-stage kidney disease" or "ESRD" or "renal dialysis" or "hemodialysis" or "hemodialyses" or "dialysis, extracorporeal" or "dialyses, extracorporeal" or "extracorporeal dialyses" or "extracorporeal dialysis" or "kidney transplantation" or "renal transplantation" or "grafting, kidney" or "transplantation, kidney" or "kidney transplantations").

Os critérios de elegibilidade estabelecidos foram estudos de coorte prospectivos e retrospectivos que avaliaram a frequência de infecção causada por bactérias gram-negativas resistentes aos carbapenêmicos em pacientes com doença renal crônica dialítica ou transplantados renais. Para a inclusão, foram considerados os trabalhos cujo delineamento experimental permitiu a distinção dos seguintes pontos, de acordo com o acrônimo PEOS: População: Pacientes com doença renal crônica dialítica ou transplante renal, Exposição: Bactérias gram-negativas, *Outcome* (desfecho): Desenvolvimento de infecção causada por bactérias gram-negativas resistentes aos carbapenêmicos e *Study design* (desenho do estudo): Transversal ou coorte.

Foram excluídos os artigos repetidos entre as diferentes bases de dados e aqueles que não atendiam aos critérios de elegibilidade, sendo excluídos estudos pré-clínicos, clínicos e ensaios *in vitro*, além de artigos que não são originais, tais como revisões, notas, cartas ao editor, resumos de eventos científicos e editoriais. Posteriormente, os artigos pré-selecionados foram conduzidos para uma avaliação dos textos na íntegra para exclusão daqueles que não estavam em concordância com os critérios de elegibilidade e os artigos selecionados foram incluídos em um fluxograma, de acordo com a recomendação PRISMA.

Para a extração dos dados de interesse, inicialmente os estudos recuperados das bases de dados foram inseridos em uma única biblioteca eletrônica e as duplicatas excluídas utilizando-se o *software Rayyan®*. Os artigos selecionados foram conduzidos para a leitura integral e analítica do texto para extração das variáveis de interesse as quais consistiram em: (i) autores e ano de publicação; (ii) país de origem; (iii) desenho do estudo; (iv) duração do estudo; (v)

tamanho amostral; (vi) carbapenêmicos administrados; (vii) caracterização dos pacientes; (viii) frequência de resistência aos carbapenêmicos; (ix) taxa de mortalidade; (x) espécie bacteriana; (xi) método de identificação bacteriana; (xii) sítio de infecção; (xiii) método para detecção de resistência aos carbapenêmicos; (xiv) protocolo de referência; (xv) mecanismo de resistência bacteriana/gene.

Para a avaliação da qualidade metodológica dos estudos de coorte incluídos nesta revisão sistemática, foi utilizado o *Newcastle-Ottawa Scale* (NOS) [17], onde são atribuídas até nove estrelas para cada estudo, sendo considerados artigos de boa qualidade aqueles que receberem cinco ou seis estrelas e artigos de qualidade excelente aqueles que receberem sete ou mais estrelas.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um total de 6.356 artigos foram obtidos nas plataformas PubMed/MEDLINE, Scielo, Web of Science, Embase e Scopus. Após análise segundo os critérios de elegibilidade e exclusão dos artigos repetidos, 37 foram submetidos à leitura na íntegra, dos quais sete foram incluídos nesta revisão sistemática (Figura 1).

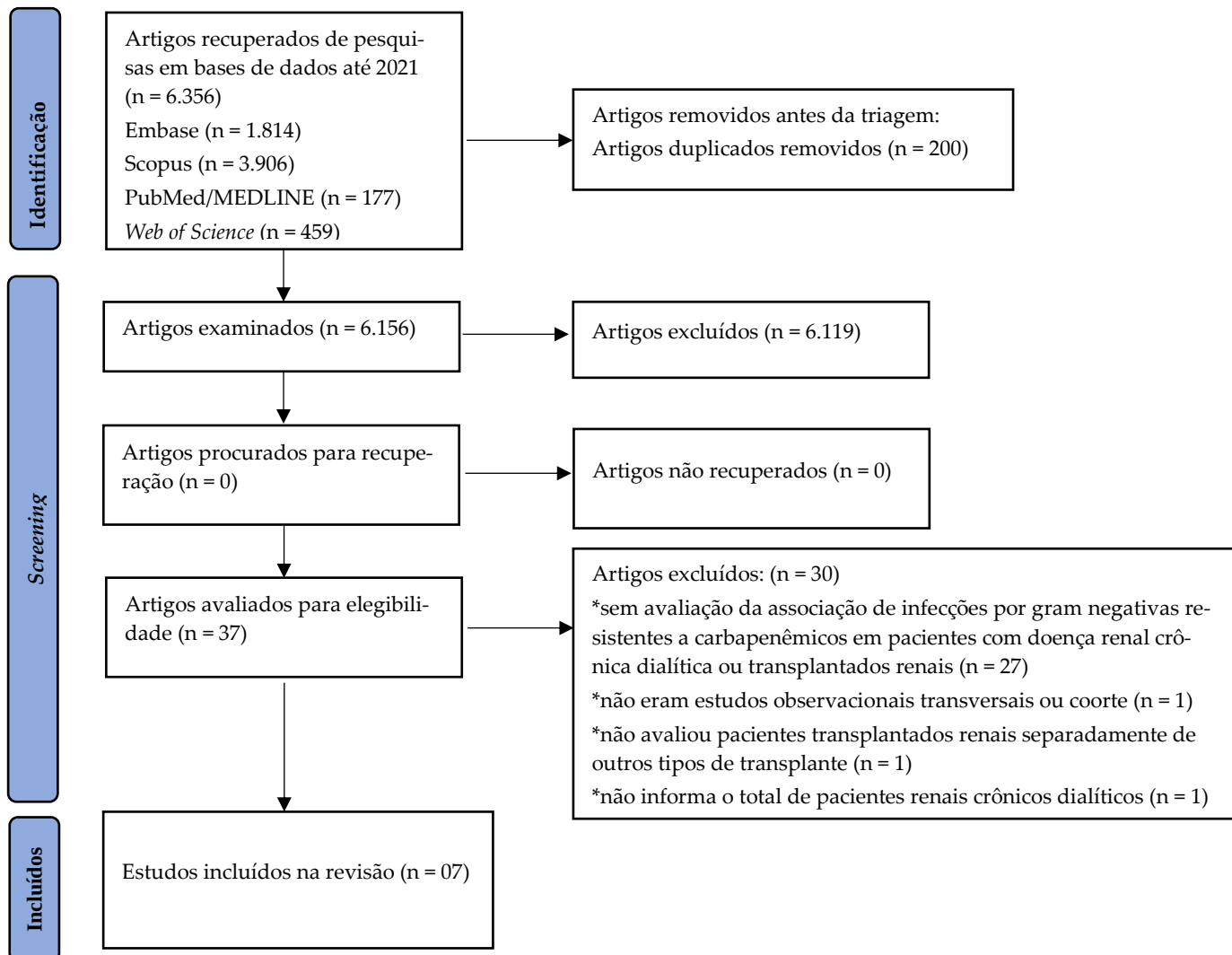


Figura 1. Fluxograma do número de artigos encontrados e selecionados após aplicação dos critérios de elegibilidade de acordo com a recomendação PRISMA.

A Tabela 1 apresenta as características gerais dos estudos incluídos na revisão sistemática. Os artigos foram publicados no período entre 2011 e 2021, sendo cinco estudos coortes retrospectivos e dois coortes prospectivos com duração variando de 7 meses a 10 anos. Apesar das infecções causadas por BRC terem um grande impacto clínico e epidemiológico nos pacientes com doença renal crônica dialítica e transplantados renais, sobretudo em pacientes internados por longo período [18], o número de artigos aqui encontrado (sete) é extremamente baixo.

Quanto aos países nos quais os estudos foram realizados, dois foram executados no Brasil, e um estudo realizado na China, Grécia, Itália, Israel e Estados Unidos. No Brasil, onde estima-se que 148.363 pessoas estiveram em terapia dialítica em 2021 (SBN, 2022) e 85.514 transplantes renais foram realizados de 2010 até 2020 (ABTO, 2020), apenas dois estudos em períodos distintos (Freire *et al.* (2018) [19] e Bergamasgo *et al.* (2011) [20]) e, por isso de difícil correlação dos dados, foram realizados.

Esses estudos envolveram pacientes transplantados e o n amostral em conjunto (n=1.130) parece não ser representativo da população em estudo, considerando o histórico brasileiro desses procedimentos [21]. O que mostra a necessidade de fortalecimento das pesquisas nesta área afim de ampliar o conhecimento e atualizar os protocolos de procedimentos.

Dentre os estudos, a maioria (6/7), incluindo 6.370 indivíduos, foi referente a pacientes transplantados renais e apenas Bleumni *et al.* (2012) [22] avaliaram pacientes com doença renal crônica dialítica (572 indivíduos). Certamente essa diferença é atribuída à maior susceptibilidade dos pacientes transplantados em adquirir infecções causadas por gram negativas, muito em função do comprometimento do sistema imune e maior frequência de exposição a ambientes hospitalares [22, 23].

A limitação de terapias contra MDR pode justificar a ampla utilização de carbapenêmicos em pacientes dialíticos e transplantados renais, o que acelera o surgimento de mecanismos de resistência bacteriana a esses compostos [23]. Foi observado que todos os artigos citaram o uso de meropenem nos pacientes infectados, sendo que o uso de mais um carbapenêmico, ertapenem ou imipenem, também foi frequente (Tabela 1). Os carbapenêmicos são fármacos de última escolha para tratamento de infecções por microrganismos produtores de enzimas beta-lactamases de espectro estendido (ESBL), todavia, o surgimento de carbapenemases restringiu seu uso, já que a monoterapia com esses fármacos é praticamente inócua [24]. Porém, a terapia combinada entre fármacos desta classe mostra-se eficaz, uma vez que as carbapenemases possuem alta afinidade pelo ertapenem e assim têm sua ação diminuída sobre os outros carbapenêmicos [25].

A frequência de resistência aos carbapenêmicos em bactérias gram-negativas em pacientes transplantados renais variou de 0,5% a 26,3% e foi de 8,0% em pacientes dialíticos. Considerando apenas o meropenem em pacientes transplantados renais, de acordo com os dados em conjunto de Wu *et al.* (2021) [26], Tsikala-vafea *et al.* (2020) [27] e Varrotti *et al.* (2018) [28], a taxa geral de resistência foi de 4,1% relatada em 139/3.388 pacientes em tratamento de infecção, enquanto que a taxa média foi de 6,8%. No entanto, as frequências relativamente baixas de resistência aos carbapenêmicos pode estar associada com a heterogeneidade dos estudos, por exemplo, o tempo de duração (7 meses a 10 anos) e o tamanho amostral que variou amplamente entre os estudos (entre 19 e 2.962 pacientes).

Um dado de grande relevância é a taxa de mortalidade entre os pacientes transplantados em que a terapêutica com carbapenêmicos foi instituída, que também variou de 7,7 a 50,0%, bem inferior àquela observada para os pacientes renais crônicos dialíticos (82,6%). De fato, infecção é a principal causa de morte durante o primeiro ano pós-transplante, frequentemente

relacionada a imunossupressão dos pacientes [29]. Já para os pacientes dialíticos, infecções relacionadas ao acesso vascular são frequentes, sobretudo evoluindo para septicemia. Neves *et al.* (2020) [30] relataram uma taxa de mortalidade de 18,3% entre esses pacientes no Brasil no período de agosto/2019 e janeiro/2020, sendo que 93,2% dos pacientes estavam em hemodiálise e em 24,8% o cateter venoso era usado como acesso. Ainda, os dados apontam para um aumento da taxa de mortalidade quando o uso de compostos diferentes de carbapenêmicos são relatados, o que possivelmente pode estar associado a maior gravidade e permanência em hospitais desses pacientes. Além disso, o uso de outros antimicrobianos como colistina, gentamicina e tigeciclina conhecidamente nefrotóxicos [31], pode ter interferido nas taxas de mortalidade.

Quatro artigos (57,1%) apresentaram os principais fatores de risco para aquisição de infecção por BRC (Wu *et al.* (2021) [26]; Freire *et al.* (2018) [19]; Tsikala-vafea *et al.* (2020) [27] e Pouch *et al.* (2015) [32]), sendo eles: exposição recorrente a antimicrobianos profiláticos, pacientes internados em unidade de terapia intensiva, contato massivo com assistência médica e maior tempo de hospitalização. Muitos desses fatores são associados com a colonização do paciente, uma condição extremamente relacionada com a infecção. No Brasil, Santoriello *et al.* (2020) [33], relataram que 45,0% dos pacientes dialíticos eram colonizados por MDR, tendo como fatores agravantes diabetes mellitus, hipertensão arterial e tempo de diálise.

Além disso, uso prévio de antimicrobianos, infecção do trato urinário antes do transplante renal, transplante de múltiplos órgãos e o uso de *stent* uretral também foram os fatores de risco relevantes. Em pacientes que recebem transplantes de modo geral, a taxa de infecção por BRC é de 41,0% de acordo com Paterson *et al.* (2008) [34]. Em pacientes dialíticos, o uso de cateter provisório é a principal causa de bacteremias (até 73,0%) [34], geralmente relacionada com colonização da pele no ponto de inserção do cateter e/ou da contaminação durante o procedimento de inserção ou manipulação do cateter devido à falta de técnica asséptica [35].

O diagnóstico microbiológico é uma ferramenta extremamente útil no manejo das infecções por BRC, uma vez que elucida além do agente etiológico as características referentes à susceptibilidade antimicrobiana [32]. Sobretudo na população estudada, esses dados possibilitam a intervenção médica mais assertiva e por isso, os dados microbiológicos dos artigos selecionados são contemplados nesta revisão (Tabela 2).

Tabela 1. Características gerais dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor / Ano	País de origem	Desenho do estudo	Duração do estudo	Tamanho amostral	Carbapenêmicos administrados	Caracterização dos pacientes	Frequência de resistência aos carbapenêmicos	Taxa de mortalidade	Fatores de risco para aquisição de infecção por bactéria gram-negativa	Fármacos utilizados após detecção da carbapenemase
Wu <i>et al.</i> (2021) [26]	China	Coorte retrospectivo	8 anos	1192	Meropenem	Pacientes transplantados renais	8,7% (n = 104)	NI	Exposição recorrente a antibióticos profiláticos, unidade de terapia intensiva, contato massivo com as-	Tigeciclina Colistina
Tsikala-Vafea <i>et al.</i> (2020) [27]	Grécia	Coorte retrospectivo	10 anos	1962	Meropenem	Pacientes transplantados renais	0,46% (n = 9)	NI	Antibióticos anteriores, infecção do trato urinário em três	NI
Freire <i>et al.</i> (2018) [19]	Brasil	Coorte retrospectivo	4 anos	1111	Ertapenem, Meropenem, Ipimenem	Pacientes transplantados renais	2,8% (n = 31)	41,9% (n = 13)	Transplante de múltiplos órgãos, uso de um stent ure-	NI
Varotti <i>et al.</i> (2017) [28]	Itália	Coorte retrospectiva	4 anos	234	Meropenem	Pacientes transplantados renais	11,1% (n = 26)	7,7% (n = 2)	NI	Colistina Tigeciclina
Pouch <i>et al.</i> (2015) [32]	Estados unidos	Coorte prospectiva	3 anos	1852	Ertapenem, Meropenem, Ipimenem	Pacientes transplantados renais	1,1% (n = 20)	30% (n = 555)	Colonização, catéteres urinários	Colistina, Tigeciclina Meropenem em maior dosagem e gentamicina
Bleumin <i>et al.</i> (2012) [22]	Israel	Coorte prospectiva	3 anos	572	Meropenem, Ertapenem	Pacientes renais crônicos dialíticos	8% (n = 46)	82,6% (n = 38)	NI	NI
Bergamasco <i>et al.</i> , 2011 [20]	Brasil	Coorte retrospectivo	7 meses	19	Ertapenem, Meropenem, Ipimenem	Pacientes transplantados renais	26,3% (n = 6)	50% (n = 3)	NI	NI

NI: não informado.

Tabela 2. Dados microbiológicos dos estudos incluídos na revisão sistemática

Autor / Ano	Espécie bacteriana	Método de identificação bacteriana	Sítio da infecção	Método utilizado para detecção de resistência aos carbapenêmicos	Protocolo de referência	Mecanismos de resistência bacteriana/gene
Wu <i>et al.</i> (2021) [26]	<i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Escherichia coli</i> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Flavobacterium</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Proteus mirabilis</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Klebsiella aerogenes</i> <i>Klebsiella odorata</i> <i>Enterobacter asburiae</i> <i>Enterobacter agglomerans</i>	Automatizado Vitek 2	Urinário Lavado bronco alveolar Ferida profunda e infecção da pele Infecção da cavidade abdominal Sangue	Diluição em agar	CLSI	NI
Tsikala-Vafea <i>et al.</i> (2020) [27]	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Klebsiella oxytoca</i> <i>Morganella morganii</i> <i>Escherichia vulneris</i> <i>Acinetobacter baumannii</i>	Automatizado- Microscan®	Corrente sanguínea	Disco difusão	CLSI	<i>bla_{NDM}</i> , <i>bla_{KPC}</i> , <i>bla_{VIM}</i>
Freire <i>et al.</i> (2018) [19]	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Automatizado Vitek 2	Ferida cirúrgica Trato urinário Sangue Osteomielite	Microdiluição em caldo	CLSI	<i>bla_{KPC}</i>
Varotti <i>et al.</i> (2018) [28]	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Automatizado Vitek 2	Urinário Sangue Vias aéreas respiratórias Feridas cirúrgicas	Microdiluição em caldo	EUCAST	<i>bla_{KPC}</i>
Pouch <i>et al.</i> (2015) [32]	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Automatizado Vitek 2	Urinário	Microdiluição em caldo <i>Etest</i>	CLSI	<i>bla_{KPC}</i>
Bleumin <i>et al.</i> (2012) [22]	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Método bioquímico/fisiológico	Sangue, Urinário, Escarro, Feridas	Disco difusão	CLSI	<i>bla_{KPC}</i>
Bergamasco <i>et al.</i> (2011) [20]	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Automatizado Vitek 2	Urinário	Microdiluição	CLSI	<i>bla_{KPC}</i>

(NI) – Não informado. (CLSI) Instituto de Padrões Clínicos e Laboratoriais. (EUSCAST) Comitê Europeu de Testes de Susceptibilidade Antimicrobiana. (KPC) *Klebsiella pneumoniae* produtora carbapenemase. (NDM) New Delhi metallo-beta-lactamase. (VIM) Verona Imipenemase.

K. pneumoniae foi identificada como agente etiológico das infecções em todos os sete estudos. Além disso, Wu *et al.* (2021) [26] e Tsikala-vafea *et al.* (2020) [27] relataram o achado de outras gram negativas tais como *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Enterobacter spp.*, *Acinetobacter baumannii* e *P. aeruginosa*, dentre outras, as quais são frequentemente recuperadas de amostras clínicas. Adicionalmente, foi demonstrada a presença de bactérias menos comuns como *Flavobacterium sp.* e *Escherichia vulneris*. Lima *et al.* (2022) [36], relataram que em pacientes renais do Ceará, Brasil, 39,0% das infecções foram causadas por *K. pneumoniae* e 36,6% por *E. coli*, algumas produtoras de carbapenemase. Além disso, exclusivamente em pacientes transplantados em São Paulo, Brasil, foi observado que os principais agentes das infecções foram *E. coli* (37,0%), *Enterobacter spp.* (19,0%), *K. pneumoniae* (11,0%) e *P. aeruginosa* (6,0%) [37], o que se assemelha aos dados aqui obtidos.

O principal sítio de infecção observado nos pacientes incluídos nos estudos desta revisão sistemática foi o trato urinário (6/7; 86,0%), incluindo o estudo de Bleumni *et al.* (2012) [22] realizado apenas em pacientes dialíticos. Segundo Turkmen *et al.* (2021) [38], as infecções do trato urinário em pacientes renais crônicos, sobretudo nos estágios 4 e 5 da doença e transplantados renais, são quase duas vezes mais frequentes que em mulheres, devido a fatores de risco inerentes a seu estado clínico. Tornando este cenário mais crítico, pesquisas relatam aumento de infecções do trato urinário em pacientes transplantados por bactérias MDR, incluindo alta porcentagem de gram negativas resistentes aos carbapenêmicos, o que aumenta o risco de perda do enxerto, sepse e óbito do paciente [38, 39].

Na sequência, cinco estudos (71,4%) relataram a corrente sanguínea como sítio de infecção tanto em pacientes transplantados quanto dialíticos e três estudos (42,8%) verificaram que a ferida cirúrgica foi o sítio preponderante para infecções. Ainda foram citadas infecções em outros sítios como ósseo (Freire *et al.* (2018) [19]), cavidade abdominal (Wu *et al.* (2021) [26]) e vias aéreas respiratórias (Varrotti *et al.* (2018) [28]; Bleumni *et al.* (2012) [22]; Wu *et al.* (2021) [26]). Possivelmente a maior diversidade de sítios de infecção nestes pacientes está associada a permanência em unidade de internação por longo período e uso de dispositivos invasivos para administração medicamentosa [39].

Em Microbiologia Clínica, documentos normativos são essenciais para direcionar as análises microbiológicas. Nesta revisão foi possível observar que a maioria (06/07) dos estudos foram conduzidos segundo o *The Clinical & Laboratory Standards Institute* (CLSI) [40], e, como esperado, apenas Varrotti *et al.* (2018) [28] (Itália) utilizou o *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (Eucast) [41], um protocolo implementado nos países europeus. De fato, o CLSI é o documento mais relatado como referência nos estudos, inclusive no Brasil até o ano de 2019 [41]. A partir desse ano, no Brasil foi implementado pela Portaria nº 64 de 11/12/2018 do Ministério da Saúde/Brasil a utilização da padronização dos testes de acordo com o *Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing* (BrCast) [41]. Vale ressaltar que os estudos brasileiros incluídos nesta revisão (Bergamasco *et al.* (2011) [20] e Freire *et al.* (2018) [19]) também utilizaram o CLSI, uma vez que era a referência em vigência à época da publicação.

Para a identificação das bactérias recuperadas das amostras biológicas dos pacientes, foi observada utilização de métodos automatizados, sendo que a maioria (05/07) utilizou o sistema Vitek 2^R (bioMérieux), enquanto (Tsikala-vafea *et al.* (2020) [27]) e (Bleumni *et al.* (2012) [22]) utilizaram, respectivamente, Microscan^R (Beckman Coulter) e método baseado em testes bioquímicos/fisiológicos. De fato, métodos automatizados apresentam melhor desempenho considerando o número de testes incluídos, melhor custo-benefício e principalmente, menor

tempo de resposta, o que possibilita a rápida intervenção em relação ao paciente quanto a administração segura e correta do antimicrobiano [42]. Apesar de existirem tecnologias mais avançadas para identificação bacteriana, como a metodologia de Maldi-Tof, que identifica os microrganismos por espectrometria de massa e por ionização e dessorção a laser assistida por matiz [38, 43], nesta revisão nenhum estudo relatou a utilização dessa metodologia.

Para a detecção de resistência bacteriana aos carbapenêmicos foi observada que apenas um estudo (Tsikala-Vafea *et al.* (2020) [27]) não utilizou método quantitativo (microdiluição em caldo e diluição em ágar). Esse fato é importante pois as metodologias quantitativas permitem determinar a concentração inibitória mínima (CIM) do antimicrobianos, possibilitando o ajuste da dose do antimicrobiano, o que é de grande relevância para os pacientes renais crônicos [38]. Vale destacar, porém, que o surgimento de novos mecanismos de resistência bacteriana, nem sempre detectados pelos métodos rotineiramente utilizados, tem levado os laboratórios de microbiologia a reavaliar esses métodos [44]. Tem sido necessária a adoção de testes complementares, além dos fenotípicos que podem não ser suficientes para confirmar a presença de um mecanismo de resistência bacteriana [45]. Assim, métodos moleculares, que são considerados como padrão-ouro na detecção de genes de resistência antimicrobiana têm sido cada vez mais implementados [46].

Nos artigos revisados, a abordagem molecular foi utilizada em seis estudos (Tabela 2), com detecção do gene *bla* que codifica resistência aos carbapenêmicos. Na maioria das BRCs, a resistência foi atribuída a presença do gene *bla_{KPC}* que codifica a enzima *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, amplamente disseminada em todo o mundo em diferentes espécies de gram negativas [47]. Ademais, *bla_{VIM}* e *bla_{NDM}* foram detectadas em BRCs da Grécia (Tsikala-vafea *et al.* (2020) [27]), além de *bla_{KPC}*.

Esses achados têm sido motivo de grande preocupação da comunidade científica, uma vez que o último recurso de tratamento de infecções por bactérias resistentes aos carbapenêmicos é a classe de antimicrobianos das polimixinas, conhecidamente nefrotóxico e, portanto, sem indicação para os pacientes com doença renal [48]. Vale ressaltar que em 2021, a Organização Panamericana de Saúde (OPAS) publicou um alerta epidemiológico acerca do surgimento e aumento de novas combinações de carbapenemases na América Latina e Caribe no período da pandemia de COVID-19 [48]. Também o Brasil publicou uma Nota Técnica Conjunta: Coordenação-Geral de Laboratórios de Saúde Pública (CGLAB), BrCAST e AN-VISA (nº 74, ano de 2022) [49], alertando sobre o aumento na frequência de bactérias MDR, principalmente gram negativas produtores de carbapenemase tipo NDM e coprodutores de tipos KPC e NDM. Por se tratar de mecanismo de resistência plasmidial, o risco de disseminação é elevado e, apesar das combinações de produção de KPC e NDM serem as mais frequentes, o risco do surgimento e disseminação de outras combinações também é aumentado [50, 51].

Os estudos incluídos nesta revisão foram avaliados quanto a qualidade por meio da escala Newcastle-Ottawa [17], com base em critérios relativos à seleção e comparabilidade entre as coortes e desfechos (Tabela 3). Cinco artigos (71,4%) receberam oito pontos e, portanto, apresentaram excelente qualidade e dois artigos (28,6%) receberam seis pontos e, deste modo, apresentaram boa qualidade.

Tabela 1. Avaliação da qualidade dos estudos, segundo Newcastle-Ottawa Scale

Autor/Ano	Seleção				Comparabilidade	Desfechos			Total de pontos
	1	2	3	4		6	7	8	
Wu <i>et al.</i> (2021) [26]	*	*	-	NA	**	*	*	-	6
Tsikala-Vafea <i>et al.</i> (2020) [27]	*	*	-	NA	*	*	*	-	6
Freire <i>et al.</i> (2018) [19]	*	*	*	NA	**	*	*	*	8
Varotti <i>et al.</i> (2018) [28]	*	*	*	NA	**	*	*	*	8
Pouch <i>et al.</i> (2015) [35]	*	*	-	NA	**	*	*	*	8
Bleumin <i>et al.</i> (2012) [22]	*	*	-	NA	**	*	*	*	8
Bergamasco <i>et al.</i> (2011) [20]	*	*	*	NA	**	*	*	*	8

1- Representatividade da coorte exposta: todos estudos receberam uma estrela, pois a coorte exposta foi um tanto quanto representativa da média na comunidade; 2- Seleção da coorte não exposta: todos os estudos receberam uma estrela, pois a coorte não exposta foi obtida na mesma comunidade da coorte exposta; 3- Determinação da exposição: somente os estudos que utilizaram o método de microdiluição para detecção de resistência aos carbapenêmicos receberam uma estrela; 4- Demonstração de que o desfecho de interesse não estava presente no início do estudo: não se aplica (NA); 5- Comparabilidade da coorte baseada no desenho e análise: estudos que avaliaram a presença de infecção causada por bactérias gram-negativas resistentes aos carbapenêmicos separadamente em pacientes renais crônicos dialíticos ou transplantados renais e nos quais os pacientes apresentaram infecção do trato urinário receberam 2 estrelas; 6- Determinação do desfecho: todos os estudos receberam uma estrela, pois a avaliação do desfecho foi realizada de modo cego e independente; 7- Período de acompanhamento suficiente para ocorrência do desfecho: os estudos em que os pacientes foram acompanhados por pelo menos seis meses receberam uma estrela; 8- Adequação do período de acompanhamento da coorte: os estudos em que todos os pacientes foram acompanhados até o final, sendo possível verificar a presença ou não de resistência bacteriana, receberam uma estrela.

Dentre as limitações deste estudo destaca-se o pequeno número de artigos incluídos que avaliaram pacientes transplantados renais e a inclusão de um único estudo que avaliou pacientes dialíticos. Além disso, os fatores de risco para infecção por BRC, a utilização de outros fármacos após a detecção da carbapenemase e a taxa de mortalidade não foram relatados por alguns dos artigos incluídos nesta revisão sistemática. Portanto, esta revisão sistemática demonstra a necessidade da realização de estudos mais aprofundados sobre o tema, denotando, portanto, políticas públicas voltadas para essa população em especial.

Apesar destas limitações, essa revisão trouxe informações relevantes e preocupantes, principalmente no Brasil, onde as taxas de bactérias produtoras de carbapenemases vem aumentando gradativamente. Importante ressaltar ainda, a preocupação com a sobrevivência dos pacientes dialíticos e transplantados renais acometidos por infecções por BRCs e o desafio terapêutico destes pacientes.

4. CONCLUSÃO

A frequência de infecções causadas por BRCs em pacientes dialíticos e transplantados renais é considerada alta e *K. pneumoniae* foi o principal agente etiológico. Pacientes dialíticos e transplantados renais possuem maior risco de aquisição de infecção por MDR e altas taxas de mortalidade são observadas nesta população o que demonstra a necessidade de adoção de medidas preventivas para minimizar os riscos de infecção. Pesquisas contemplando esse tema ainda são em número muito baixo e novos estudos são necessários para que alternativas farmacológicas sejam prescritas para um melhor prognóstico dos pacientes renais crônicos, uma população que apresenta fatores de riscos diversos para o desenvolvimento de infecções por bactérias gram-negativas, sobretudo BRCs.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores não têm conflitos de interesse a declarar.

REFERÊNCIAS

1. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Blood Pressure Work Group. Clinical practice guideline for the management of blood pressure in chronic kidney disease. *Kidney Int.*, **99**(3), S1–S87 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.kint.2020.11.003>
2. P.D.M.M., Neves, R.C.C. Sesso, F.S. Tomé, J.R. Lugon & M.N. Nascimento. Brazilian dialysis survey 2019. *Braz. J. Nephrol.*, **43**(2), 217–271 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-JBN-2020-0161>
3. W.K. Sebba-Barroso, C.I. Saad-Rodrigues, L.A. Bortolotto, M.A. Mota-Gomes, A. Araujo-Brandão, A.D. de Magalhães-Feitosa, *et al.* Departamento de Hipertensão Arterial da Sociedade Brasileira de Cardiologia (DHA-SBC), Sociedade Brasileira de Hipertensão (SBH), Sociedade Brasileira de Nefrologia (SBN). *Diretrizes Brasileiras de Hipertensão Arterial – 2020*. Brasil, 2020; 143 p. Doi: <https://doi.org/10.36660/abc.20201238>
4. M.R. Carvalho. Incidência de bactérias multirresistentes em uma unidade de terapia intensiva. *Revista Interdisciplinar*, **2**, 75–85 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-507X2006000100006>
5. United Nations meeting on antimicrobial resistance. World leaders gather at the United Nations General Assembly in New York this month to mount a response to the growing threat of antimicrobial resistance. Gary Humphreys and Fiona Fleck report. *Bull. World Health Organ.*, **94**, 638–639 (2016). Doi: <https://doi.org/10.2471/blt.16.020916>
6. S. Morales-López, J.A. Yepes, J.C. Prada-Herrera & A. Torres-Jiménez. Enterobacteria in the 21st century: a review focused on taxonomic changes. *J. Infect. Dev. Ctries*, **13**(4), 265–273 (2019). Doi: <https://doi.org/10.3855/jidc.11216>
7. E. Araujo-Ribeiro, R. Alves de Oliveira, J.D. da Gama-Melo, G.T. Pereira da Silva, J.L. Silva-Carvalho & I.K. Lustosa da Silva. Detecção fenotípica de bactérias gram-negativas produtoras de carbapenemases em efluente hospitalar na Amazônia, no estado do Pará, Brasil. *Revista de Ciências Ambientais e Saúde*, **47**, 1–11 (2020). Doi: <https://doi.org/10.18224/evs.v47i1.7939>
8. M. Arzanlou, C.W. Chern & H. Venter. Intrinsic, adaptive and acquired antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria. *Essays Biochem.*, **61**(1), 49–59 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1042/ebc20160063>
9. H.J. Morril, J.M. Pogue, K.S. Kaye & K.L. LaPlante. Treatment Options for Carbapenem Resistant Enterobacteriaceae Infections. *Open Forum Infect. Dis.*, **2**(2), ofv050 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofv050>
10. P.R. Murray, K.S. Rosenthal & M.A. Pfaller. *Microbiologia Médica*, 8a ed. Elsevier, 2017.
11. A.R. Marra, L.F.A. Camargo, A.C.C. Pignatari, T. Sukienik, P.R.P. Behar & E.A.S. Medeiros. Nosocomial bloodstream infections in Brazilian hospitals: analysis of 2,563 cases from a prospective nationwide surveillance study. *J. Clin. Microbiol.*, **49**(5), 1866–1871 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1128/jcm.00376-11>
12. M. Barreto-Lopes. Censo brasileiro de nefrologia um guia para avaliar a qualidade e a abrangência da terapia renal substitutiva no Brasil. *Braz. J. Nephrol.*, **43**(2), 154–155 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-jbn-2021-e006>
13. R. Leclercq, R. Canton, D.F. Brown, C.G. Giske, P. Heisig, A.P. MacGowan, *et al.* EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin. Microbiol. Infect.*, **19**(2), 141–160 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03703.x>
14. C. Lucasti, I. Popescu, M.K. Ramesh, J. Lipka & C. Sable. Comparative study of the efficacy and safety of ceftazidime/avibactam plus metronidazole versus meropenem in the treatment of complicated intra-abdominal infections in hospitalized adults: results of a randomized, double-blind, Phase II trial. *J. Antimicrob. Chemother.*, **68**(5), 1183–1192 (2013). Doi: <https://doi.org/10.1093/jac/dks523>

15. J. Higgins, J. Thomas, J. Chandler, M. Cumpston, T. Li, M. Page & V. Welch. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions (current version)*. Cochrane, 2020. URL: <https://training.cochrane.org/handbook/current>
 16. M.J. Page, J.E. McKenzie, P.M. Bossuyt, I. Boutron, T.C. Hoffmann, C.D. Mulrow, *et al.* The PRISMA 2020 statement: an updated guideline for reporting systematic reviews. *Systematic Reviews*, **10**(1), 89 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1186/s13643-021-01626-4>
 17. G.A. Wells, B. Shea, D. O'Connell, J. Peterson, V. Welch, M. Losos & P. Tugwell. *The Newcastle-Ottawa Scale (NOS) for assessing the quality of nonrandomised studies in meta-analyses*. Department of Epidemiology and Community Medicine, University of Ottawa, Ottawa, Ontario, Canada, 2000. URL: https://www.ohri.ca/programs/clinical_epidemiology/oxford.asp
 18. A. Raghunathan, L. Samuel & R.J. Tibbetts. Evaluation of a real-time PCR assay for the detection of the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase genes in microbiological samples in comparison with the modified Hodge test. *Am. J. Clin. Pathol.*, **135**(4), 566–571 (2011). Doi: <https://doi.org/10.1309/ajcppvnui3o9jhjw>
 19. M. Pinheiro-Freire, C.V. Mendes, A.C. Piovesan, F. Jota de Paula, F. Spadão, W.C. Nahas, E. David-Neto & L. Camera-Pierrotti. Does the urinary tract infection caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacilli impact the outcome of kidney transplant recipients? *Transpl. Infect. Dis.*, **20**(4), e12923 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1111/tid.12923>
 20. M.D. Bergamasco, M. Barroso-Barbosa, D. de Oliveira-Garcia, R. Cipullo, J.C.M. Moreira, C. Baia, V. Barbosa & C.S. Abboud. Infection with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *K. pneumoniae* in solid organ transplantation. *Transpl. Infect. Dis.*, **14**(2), 198–205 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1111/j.1399-3062.2011.00688.x>
 21. L.M. Weiner, A.K. Webb, B. Limbago, M.A. Dudeck, J. Patel, A.J. Kallen, J.R. Edwards & D.M. Sievert. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network at the Centers for Disease Control and Prevention. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, **37**(11), 1288–1301 (2016). Doi: <https://doi.org/10.1017/ice.2016.174>
 22. D. Bleumin, M.J. Cohen, O. Moranne, V.L.M. Esnault, S. Benenson, O. Paltiel, *et al.* Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* is associated with poor outcome in hemodialysis patients. *J. Infect.*, **65**(4), 318–325 (2012). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2012.06.005>
 23. Associação Brasileira de Transplantes de Órgãos (ABTO). Dimensionamento dos transplantes no Brasil e em cada estado (2014-2021). *Registro Brasileiro de Transplantes*, **28**(4), 1–88 (2021). URL: https://site.abto.org.br/wp-content/uploads/2022/03/leitura_compressed-1.pdf
 24. L.O.A. Damázio, E.M. Lins, Á.A.B. Ferraz, C.M. Bezerra, F.A.C.B. Carvalho-Neto, L.L.R. de Oliveira, M.C.S. da Costa & P.M.C. Santos. Padrões tomográficos de agentes etiológicos da pneumonia durante o primeiro ano após transplante renal. *Radiol. Bras.*, **55**(2), 84–89 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1590/0100-3984.2021.0069>
 25. S. Brakemeier, S. Taxeidi, B. Zukunft, D. Schmidt, J. Gaedeke, M. Dürr, S. Hansen & K. Budde. Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*-related urinary tract infection in kidney transplant recipients: risk factors, treatment, and long-term outcome. *Transplant. Proc.*, **49**(8), 1757–1765 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2017.06.033>
 26. D. Wu, C. Chen, T. Liu, Y. Jia, Q. Wan & J. Peng. Epidemiology, susceptibility, and risk factors associated with mortality in carbapenem-resistant gram-negative bacterial infections among abdominal solid organ transplant recipients: A retrospective cohort study. *Infect. Dis. Ther.*, **10**(1), 559–573 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1007/s40121-021-00411-z>
 27. M. Tsikala-Vafea, D. Basoulis, I. Pavlopoulou, M. Darema, J. Deliolanis, G.L. Daikos, J. Boletis & M. Psychogiou. Bloodstream infections by gram-negative bacteria in kidney transplant patients: Incidence, risk factors, and outcome. *Transpl. Infect. Dis.*, **22**(6), 13442 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1111/tid.13442>
 28. G. Varotti, F. Dodi, A. Terulla, G. Santori, G. Mariottini, M. Bertocchi, A. Marchese & I. Fontana. Impact of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* (CR-KP) infections in kidney transplantation. *Transpl. Infect. Dis.*, **19**(6), e12757 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1111/tid.12757>
-

29. A.M. Porreca, K.V. Sullivan & J.C. Gallagher. The epidemiology, evolution, and treatment of KPC-producing organisms. *Curr. Infect. Dis. Rep.*, **20**(6), 13 (2018). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11908-018-0617-x>
30. P.D.M. de Menezes-Neves, R.d.C. Cintra-Sesso, F. Saldanha-Thomé, J.R. Lugon & M. Mazza-Nascimento. Brazilian Dialysis Census: analysis of data from the 2009-2018 decade. *Braz. J. Nephrol.*, **42**(2), 191–200 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1590/2175-8239-jbn-2019-0234>
31. L.A. Stevens, J. Coresh, T. Greene & A.S. Levey. Assessing kidney function - Measured and estimated glomerular filtration rate. *N. Engl. J. Med.*, **354**(23), 2473–2483 (2006). Doi: <https://doi.org/10.1056/nejmra054415>
32. S.M. Pouch, C.J. Kubin, M.J. Satlin, D.S. Tsapepas, J.R. Lee, G. Dube & M.R. Pereira. Epidemiology and outcomes of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* bacteriuria in kidney transplant recipients. *Transpl. Infect. Dis.*, **17**(6), 800–809 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1111/tid.12450>
33. D. Santoriello, P. Khairallah, A.S. Bomback, K. Xu, S. Kudose, I. Batal, J. Barasch, J. Radhakrishnan, V. D'Agati & G. Markowitz. Postmortem kidney pathology findings in patients with COVID-19. *J. Am. Soc. Nephrol.*, **31**(9), 2158–2167 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1681/asn.2020050744>
34. D.L. Paterson & J. Lipman. Returning to the pre-antibiotic era in the critically ill: The XDR problem. *Crit. Care Med.*, **35**(7), 1789–1791 (2007). Doi: <https://doi.org/10.1097/01.ccm.0000269352.39174.a4>
35. B. Aloy, V. Launay-Vacher, A. Bleibtreu, P. Bortolotti, E. Faure, A. Filali, *et al.* Antibiotics and chronic kidney disease: Dose adjustment update for infectious disease clinical practice. *Méd. Mal. Infect.*, **50**(4), 323–331 (2020). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.06.010>
36. K. de Oliveira-Lima, A.V. de Lima, D.A. da Costa-Rocha, S.C. Ferreira-Sampaio, P. Cappellano & J.L. Mello-Sampaio. A simple disk pre-diffusion test to predict *in vitro* aztreonam/avibactam activity against NDM-producing *Klebsiella pneumoniae* complex. *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, **28**, 49–52 (2022). Doi: <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.12.009>
37. K. Higa, M. Tavares-Kost, D.M. Soares, M.C. de Moraes & B.R. Guarino-Polins. Quality of life of patients with chronic renal insufficiency undergoing dialysis treatment. *Acta Paul. Enferm.*, **21**, 203–206 (2008). Doi: <https://doi.org/10.1590/S0103-21002008000500012>
38. K. Turkmen. Inflammation, oxidative stress, apoptosis, and autophagy in diabetes mellitus and diabetic kidney disease: the Four Horsemen of the Apocalypse. *Int. Urol. Nephrol.*, **49**(5), 837–844 (2021). Doi: <https://doi.org/10.1007/s11255-016-1488-4>
39. X.-Z. Li, P. Plésiat & H. Nikaido. The challenge of efflux-mediated antibiotic resistance in Gram-negative bacteria. *Clin. Microbiol. Rev.*, **28**(2), 337–418 (2015). Doi: <https://doi.org/10.1128/cmr.00117-14>
40. CLSI M100: Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 31st edition. Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI), 2021; 352 p. URL: <https://clsi.org/about/news/clsi-publishes-m100-performance-standards-for-antimicrobial-susceptibility-testing-31st-edition/>
41. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). *Orientações do EUCAST para a detecção de mecanismos de resistência e resistências específicas de importância clínica e/ou epidemiológica*. Versão 2.01. Rio de Janeiro (RJ), Brasil, 2018; 46 p. URL: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>
42. L.A. Petty, O. Henig, T.S. Patel, J.M. Pogue & K.S. Kaye. Overview of meropenem-vaborbactam and newer antimicrobial agents for the treatment of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. *Infect. Drug Resist.*, **11**, 1461–1472 (2018). Doi: <https://doi.org/10.2147/idr.s150447>
43. M.V.S. Araújo-Gurgel, J. Alves-Júnior, G.B. Fontes-Vieira, F.d.C. Dantas-Sales & M.V. Alves-Lima. Predictors of mortality in patients submitted to nephrectomy for non-metastatic renal cell carcinoma at a referral center in Northeastern Brazil. *Rev. Col. Bras. Cir.*, **44**(3), 257–262 (2017). Doi: <https://doi.org/10.1590/0100-69912017003006>
44. A.P. Johnson & N. Woodford. Global spread of antibiotic resistance: the example of New Delhi metallo- β -lactamase (NDM)-mediated carbapenem resistance. *J. Med. Microbiol.*, **62**(4), 499–513 (2013). Doi: <http://doi.org/10.1099/jmm.0.052555-0>
45. Brazilian Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (BrCAST). *Tabelas de pontos de corte para interpretação de CIMs e diâmetros de halos*. Rio de Janeiro (RJ), Brasil, 2022; 88 p. URL: <https://brcast.org.br/documentos/documentos-3/>

- <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/Tabela-pontos-de-corte-clinicos-BrCAST-12-abr-22.pdf>
46. Brasil. Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância em Saúde, Coordenação Geral de Laboratórios de Saúde Pública. *Vigilância laboratorial da AMR no Brasil: A importância da padronização da norma de interpretação dos TSA* (Nota Técnica). Brasília, 2018; 21 p. URL: <https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/08/BrCASTMinisteriodaSaude.pdf>
 47. C.P. Oplustil, C.M. Zoccoli, N.R. Tobuti & M.C. Scheffer. *Procedimentos básicos em microbiologia clínica*, 4a ed., Sarvier, 2019; 756 p.
 48. Brasil. Ministério da Saúde. *Plano de ações estratégicas para o enfrentamento das doenças crônicas não transmissíveis (DCNT) no Brasil 2011-2022*. Brasília (DF), 2011; 120 p. URL: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/publicacoes/plano_acoes_enfrent_dcnt_2011.pdf
 49. Organização Pan-Americana da Saúde (OPAS) & Organização Mundial da Saúde (OMS). Cooperação Técnica entre o Ministério da Saúde e a Organização Pan-Americana da Saúde. *Relatório Técnico do Termo de Cooperação nº 80: Projeto Acesso da população Brasileira à Atenção Básica em Saúde (Mais Médicos)*; Brasília (DF), 2018; 51 p. URL: <https://www.paho.org/sites/default/files/2025-05/tc-80versao-final-5-anos.pdf>
 50. Brasil. Ministério da Saúde. Nota Técnica Nº 74/2022-CGLAB/DAEVS/SVS/MS. Brasília (DF), 2022; 9 p. URL: https://brcast.org.br/wp-content/uploads/2022/09/SEI_MS-0028220258-Nota-Tecnica-NDM-e-coproducao-carbapenemase.pdf
 51. B. Mlynarczyk-Bonikowska, C. Kowalewski, A. Krolak-Ulinska & W. Marusza. Molecular mechanisms of drug resistance and epidemiology of multidrug-resistant variants of *Neisseria gonorrhoeae*. *Int. J. Mol. Sci.*, **23**(18), 10499 (2022). Doi: <https://doi.org/10.3390/ijms231810499>

COMO CITAR ESTE ARTIGO

S.P. Pereira, M.C. de Paiva & C. Pereira-Domingueti. Contexto das infecções causadas por bactérias gram-negativas resistentes aos carbapenêmicos em pacientes com doença renal crônica: uma revisão sistemática. *Rev. Colomb. Cienc. Quim. Farm.*, **54**(3), 821–836 (2025). Doi: <https://doi.org/10.15446/rcciquifa.v54n3.116482>

ÍNDICE GENERAL POR TIPO DE ARTÍCULOS

Artículos de investigación científica

Predicting drug solubility in cosolvent systems using artificial intelligence algorithms Neiba Yadira Echeagaray-Solorza, Yennifer Díaz-Romero, Lucila Guadalupe Tobón Galicia & Sebastián Tejada Paniagua.....	131
Estudio farmacognóstico y actividad antimicrobiana <i>in vitro</i> de las hojas de <i>Zanthoxylum fagara</i> (L.) Sarg. Rosalia González-Fernández, Yamilé Heredia-Díaz, Julio César Escalona-Arraz, Yuselis Ramos-Domínguez, Paul Cos & Jesús García-Díaz.....	160
Antiviral effect of anthocyanins in vegetables and fruits against viral diseases: Insight to medication design by computational chemistry approaches Fatemeh Mollaamin & Majid Monajjemi.....	218
GDMSafe: Enhancing gestational diabetes prediction through visceral adipose tissue and ensemble learning models M. Ramla, S. Sangeetha & S. Nickolas.....	323
Thermodynamic analysis and preferential solvation of metronidazole solubility in methanol- water and ethanol-water cosolvent mixtures at different temperatures German Fabian Escobar Fiesco, Diego Ivan Caviedes-Rubio, Claudia Patricia Ortiz, Yaqueline Quintero Guerrero, Néstor Enrique Cerquera, Cristian Rincón-Guio, Rossember Edén Cardenas-Torres & Daniel Ricardo Delgado.....	345
Investigação de Enterobacterales resistentes ao meropenem e produtoras de carbapenemases em uma estação de tratamento de esgoto de Minas Gerais/ Brasil Ana Beatriz de Castro Costa, Karina Marjorie Silva Herrera, Adrielle Pieve de Castro, Larissa Naneti Rosa, Lara Luiza Freitas de Oliveira & Magna Cristina de Paiva.....	364
Toxicity of flavone and its hydroxylated derivatives: a Study <i>in silico</i> , <i>in vitro</i> and <i>in vivo</i> Camila de Albuquerque Montenegro, Abrahão Alves de Oliveira Filho, Andressa Brito Lira, Ingrid Louise Lins de Albuquerque Evaristo, Marcela Lins Cavalcanti de Pontes, Natanael Teles Ramos de Lima, Thays Thyara Mendes Cassiano, Ivana Maria Fechine, Francisco Patricio de Andrade Júnior, José Maria Barbosa-Filho, Margareth de Fátima Formiga Melo Diniz & Hilzeth Luna Freire Pêsoa.....	378
Determinação da toxicidade aguda de diferentes fases do extrato etanólico de <i>Sida santaremnensis</i> frente à <i>Artemia salina</i> Leach Jair Dantas Alves, Danielly Albuquerque da Costa & Fernando de Sousa Oliveira...	406
Peculiarities of the effect of the ethanol extract of quinquelobate motherwort on the behaviour of rats Zinaida G. Khabaeva, Azamat Ch. Chiviev, Valentina S. Gappoeva & Diana A. Marzoeva.....	418

In vitro evaluation of 2-bromo-*N*-phenylacetamide for antifungal activity against *Candida glabrata* oral cavity isolates

Gregório Márcio de Figueirêdo Rodrigues, Edeltrudes de Oliveira Lima, Daniele de Figuerêdo Silva, Laísa Vilar Cordeiro, Francisco Patricio de Andrade Júnior, Helivaldo Diógenes da Silva Souza, Rafael Farias de Oliveira & Petrônio Filgueiras de Athayde-Filho.....460

Artemia salina bioassay as tool for determination of preliminary *Thunbergia alata* toxicity

Mariana Alejandra Valderrama Molina & Darío Alexander Tinjacá Benitez.....490

Simplificación de la posología de dolutegravir en coinfección VIH/TB tratada con rifampicina: análisis mediante modelado farmacocinético de base fisiológica

Marianela Chavarría-Rojas, Ángel Leal, Leandro Álvarez, Susana Cabrera & Manuel Ibarra.....509

Anatomical traits and phytochemical screening of *Curcuma newmanii* Škorničk.

Nga Nguyen-Phi, Quang Diep Dinh, Thu Trang Le-thi, Thien Hoang Ho, Yen Hoa Mai, Ngoc Thuan Nguyen, Bach Bao Phuong Lam & Hong Thien Van.....529

Annulment and amelioration of cadmium toxicity through dietary countermeasures

Saha Rajsekhar, Thakur Alok Singh & Kaur Chanchal Deep.....705

Evaluation of AI models for predicting drug solubility in cosolvent systems

Mateo Vergara-Roa, Rogelio Manuel Alvarado-Martinez, Angelica Chappe-Chappe, Rossember Edén Cardenas-Torres, Cristian Rincón-Guio, María Paz Saavedra-Saavedra, Carlos Francisco Trujillo-Trujillo & Julian David Aristizabal-Yusty.....804

Artículos de investigación tecnológica

Microbiota bacteriana de la leche cruda bovina almacenada en un centro de acopio

Ana Karina Albuja Landi, Paola Arguello-Hernández, Sandra Escobar Arrieta, Verónica Cando Brito, Judith Araque & Félix Andueza.....113

Development and validation of a new rapid reversed-phase HPLC method for the simultaneous quantification of melittin and apamin in apitoxin

Valentina M. Rodríguez-Batista, Enrique Nogueira, Julio C. M. Brito & Catherine Fagundez.....7

Development and quality assessment of plantain flower [*Musa balbisiana* Colla] cookies: Beneficial for perimenopausal women

Shanthini Priya Prakash & Silambu Selvi Kumbamoorthy.....68

Solid self-emulsifying dosage forms for carrying Amphotericin B: A preformulation study

Francisco Alexandrino-Jr, Michelle A. Sarcinelli, Gabriel Barcellos, Leny A. H. Nascimento, Thalita M. Silva, Katty G. H. Silva, Livia D. Prado, Helvécio V. A. Rocha & Beatriz F. C. Patricio.....231

Desarrollo y caracterización de un comprimido flotante a base de arcilla Montmorillonita y HPMC para liberación prolongada Perla García-Guzmán, Leticia Ortega Almanza, Liliana Schifter Aceves & Edgar Solís-Candelas.....	248
<i>In-vivo</i> pharmacokinetics evaluation of canagliflozin self-nanomicellizing solid dispersion as oral capsules dosage forms Nizar Awish Jassem.....	272
Diseño de una crema fitocosmética a partir del extracto de cáscara de <i>Nephelium lappaceum</i> L. aplicando un diseño de mezcla Gerson Jeriel Palacios Velepucha, Karelys Elibeth Vargas González, Viviana García Mir, Laura Leonor Valdez López & Yamilet Irene Gutiérrez Gaitén.....	286
Elaboración de una barra de cacao (<i>Theobroma cacao</i>) naturalmente endulzada y su efecto hipoglucemiante Edith Fane Jalixto Checya, Luz Estefany Uscamayta Espinoza, Carla del Carpio Jiménez & Roger Giancarlo Gutierrez Chavez.....	428
Estimation of monosodium glutamate (MSG) added to some food products in Syrian markets Farah Bitar, Mohammed Adel Jawad & Adnan Odeh.....	689
Optimización de un método analítico para la separación y cuantificación de flavonoides totales expresados en equivalentes de quercetina, en un extracto del hongo <i>Pleurotus ostreatus</i> mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) Diego Fernando Nope Páez, Lina María Ortiz Ulloa, Juliana Racines González & Emerson Eliecer León Ávila.....	739
Artículos de investigación clínica	
Medicación potencialmente inapropiada en adultos mayores de un hospital de tercer nivel Victoria Rincón-Domínguez, Laura De la Ossa-Useche, María Díaz-Merlano, Brenda Villamizar-Fragozo, Adriana Bustamante-Ahumada & Roxana De las Salas.....	18
Correlating Tacrolimus levels with dose formulation: Implications for toxicity and renal graft rejection in a cohort of kidney transplant recipients with steroid-free maintenance immunosuppression Natalia Gaitán-Torres, Nicolás Lozano-Suárez, Andrea García-López, Andrea Gómez-Montero & Fernando Girón-Luque.....	28
Investigation of the attitudes and experiences of pediatricians toward telehealth use during this pandemic (COVID-19) era Sunanda Jha, Upendra Prasad Sahu & Bhardwaj Narayan Chaudhary.....	89
Effect of caffeine consumption on the academic performance among students of University of Kalamoon (UOK) Farah Bitar.....	104

Therapeutic adherence and patient management in schizophrenia during outpatient pharmacotherapeutic follow-up: A case report

Camila da Silva Lima, Joslene Lacerda Barreto, Max Denisson Mauricio Viana & Izabel Almeida Alves.....207

Análisis costo-beneficio de las vacunas para COVID-19 en Colombia

Rafael Niño Castro, Brandon Stiven Arcos Gomez, Andrea Franco Sierra & Diego Restrepo.....259

Prescripción de antimicrobianos en el hospital infantil sur “Antonio María Beguez Cesar”, Santiago de Cuba, Cuba, 2024

Luisa María Boizant Crombet, Leidys Guibert Basto, Rober Luis Mora Poll, Marielia Sell Lluveras & Yaima Palay Justiz.....302

Evaluación del riesgo en personal de salud expuestos a casos sospechosos o confirmados con Covid-19 en instituciones de baja, mediana y alta complejidad en Chía, Facatativá y Bogotá D.C., Colombia

José Ricardo Urrego Novoa, Karol Andrea Méndez Leguizamón, Nancy Yaneth Portela Escandón, Lorena Martínez Delgado, Nelson Rolando Campos Guzman & Danny Wilson Sanjuanelo.....577

Artículos de revisión

Barreras de acceso al cannabis medicinal en Colombia. Una revisión narrativa

Guillermo A. Castaño, Sandra Carrillo & Rafael Malagón.....44

Incorrect determination of lower limit of quantification (LLOQ) of analytical methods

Ali Shayanfar & Saba Rastgoo.....145

Como ser un cazador de impurezas en las sustancias activas: Una metodología y casos de estudio

Juan Carlos Ortiz Lara.....175

Promising potential of the antifungal action of essential oils and its challenges: a systematic review

Gabriela Torres Tediole, Monique Ellen Torres Resende, Ana Beatriz de Castro Costa, Joaquim Mauricio Duarte-Almeida & Magna Cristina de Paiva.....442

Chronic pancreatitis: Pharmacotherapy, prescription of drugs, meta-analysis, latest digital medical technologies of quantum medicine

Valentyn Shapovalov, Viktoriia Shapovalova, Iurii Titarenko, Alina Osyntseva & Valerii Shapovalov.....475

Bacterial immobilization matrices: a scientometric review

John Jairo Agredo-Collazos, Daniel Ricardo Delgado, Luis Daniel Ortega Martínez, Verónica Rodríguez Soria, Elie Girgis El Kassis, Laura Contreras Mioni & Israel Mendoza Flores.....546

Prediction of diseases using transformers for gene expression dataset

Immaculate Mercy A. & M. Chidambaram.....	591
Drug design and discovery with bioinformatics tools Amjad I. Oraibi, Ahmed Mohammed Zheoat, Hayder Naji Sameer, Mohammed Ayad Alboreadi & Hayder M. Abdulhamza.....	621
Beneficial effect of <i>Centella asiatica</i> : Synthesis of the last two decades Carolina Takahashi, Hector Vélchez & Jorge Poemape.....	643
Popular Brazilian medicinal plants for therapeutic use in combating Diabetes André G. P. de Paula, Jordana D. de Lima, Camila Peitz, Rafael U. Veiga, Rebeca Bosso dos Santos Luz, Leonel W. Junior, Victor H. Q. Bordenowski, Andressa K. da Fontoura, Amanda G. Somensi, Thalita S. Uada, Natália P. Fernandes, Juliana B.B. Maurer & Tarcio Teodoro Braga.....	658
Exploring the therapeutic benefits of <i>Eucalyptus globulus</i> Labill.: A five-year pharmacological review Carolina Takahashi, Julio Chavez & Jorge Poemape	679
Historia de la hemofilia: una enfermedad que afecta a más de uno Ivo Heyerdahl-Viau.....	719
Polifarmacia, enfermedades y deprescripción en el adulto mayor. Una revisión exploratoria Eliezer Alemán Fernández, Dany Siverio Mota, Liliana Vicet Muro & René Delgado Hernández.....	760
Análisis de las dimensiones legales y problemática social de automedicación en Colombia Andrés Felipe González-Ogliastri, Oscar Yesid Céspedes Gutiérrez, Julián Andrés Gaitán Reyes, Claudia Patricia Ortiz, Henry Rubiano Daza & Daniel Ricardo Delgado.....	775
Contexto das infecções causadas por bactérias gram-negativas resistentes aos carbapenêmicos em pacientes com doença renal crônica: uma revisão sistemática Sabrina Paula Pereira, Magna Cristina de Paiva & Caroline Pereira Domingueti.....	821
Cartas al editor	
Boro y diseño de enzimas artificiales: Hacia una nueva era en la biocatálisis y el desarrollo de fármacos Sebastián A. Correa.....	321
Observaciones metodológicas a considerar en “Effect of caffeine consumption on the academic performance among students of University of Kalamoon (UOK)” Salvador Alonso Panta Castro & Harold Jean Puente Espinoza.....	571
El mercado de protectores solares en Brasil y América latina: impactos en la salud y el camino hacia la sostenibilidad Míria Dantas Pereira & Neila de Paula Pereira.....	573
	841

ÍNDICE GENERAL DE AUTORES

Abdulhamza, H.M.....	621	Chiviev, A.C.....	418
Agredo-Collazos, J.J.....	546	Contreras-Mioni, L.....	546
Alboreadi, M.A.....	621	Correa, S.A.....	321
Albuja-Landi, K.A.....	113	Cos, P.....	160
Albuquerque-Evaristo, I.L.L.d.....	378	Costa, D.A.d.....	406
Albuquerque-Montenegro, C.d.....	378	Dantas-Alves, J.....	406
Alemán-Fernández, E.....	760	Dantas-Pereira, M.....	573
Alexandrino-Jr, F.....	231	De la Ossa-Useche, L.....	18
Almeida-Alves, I.....	207	De las Salas, R.....	18
Alvarado-Martinez, R.M.....	804	Deep, K.C.....	705
Álvarez, L.....	509	Delgado, D.R.....	345, 546, 775
Andrade Júnior, F.P.d.....	378, 460	Delgado-Hernández, R.....	760
Andueza, F.....	113	Díaz-Merlano, M.....	18
Araque, J.....	113	Díaz-Romero, Y.....	131
Arcos-Gomez, B.S.....	259	Dinh, Q.D.....	529
Arguello-Hernández, P.....	113	Duarte-Almeida, J.M.....	442
Aristizabal-Yusty, J.D.....	804	Echeagaray-Solorza, N.Y.....	131
Athayde-Filho, P.F.d.....	460	El Kassis, E.G.....	546
Barbosa-Filho, J.M.....	378	Escalona-Arraz, J.C.....	160
Barcellos, G.....	231	Escobar-Arrieta, S.....	113
Bitar, F.....	104, 689	Escobar-Fiesco, G.F.....	345
Boizant-Crombet, L.M.....	302	Fagundez, C.....	7
Bordenowski, V.H.Q.....	658	Fechine, I.M.....	378
Braga, T.T.....	658	Fernandes, N.P.....	658
Brito, J.C.M.....	7	Figueirêdo-Rodrigues, G.M.d.....	460
Brito-Lira, A.....	378	Figuerêdo-Silva, D.d.....	460
Bustamante-Ahumada, A.....	18	Fontoura, A.K.d.....	658
Cabrera, S.....	509	Franco-Sierra, A.....	259
Campos-Guzman, N.R.....	577	Freire-Pêsoa, H.L.....	378
Cando-Brito, V.....	113	Freitas de Oliveira, L.L.....	364
Cardenas-Torres, R.E.....	345, 804	Gaitán-Reyes, J.A.....	775
Carpio-Jiménez, C.d.....	428	Gaitán-Torres, N.....	28
Carrillo, S.....	44	Gappoeva, V.S.....	418
Castaño, G.A.....	44	García-Díaz, J.....	160
Castro-Costa, A.B.d.....	364, 442	García-Guzmán, P.....	248
Cavalcanti de Pontes, M.L.....	378	García-López, A.....	28
Caviedes-Rubio, D.I.....	345	García-Mir, V.....	286
Cerquera, N.E.....	345	Girón-Luque, F.....	28
Céspedes-Gutiérrez, O.Y.....	775	Gómez-Montero, A.....	28
Chappe-Chappe, A.....	804	González-Fernández, R.....	160
Chaudhary, B.N.....	89	González-Ogliastri, A.F.....	775
Chavarría-Rojas, M.....	509	Guibert-Basto, L.....	302
Chavez, J.....	679	Gutierrez-Chavez, R.G.....	428
Chidambaram, M.....	591	Gutiérrez-Gaitén, Y.I.....	286

Heredia-Díaz, Y.....	160	Ortíz-Ulloa, L.M.....	739
Heyerdahl-Viau, I.....	719	Osyntseva, A.....	475
Ho, T.H.....	529	Paiva, M.C.d.....	364, 442, 821
Ibarra, M.....	509	Palacios-Velepucha, G.J.....	286
Jalixto-Checya, E.F.....	428	Palay-Justiz, Y.....	302
Jassem, N.A.....	272	Panta-Castro, S.A.....	571
Jawad, M.A.....	689	Patricio, B.F.C.....	231
Jha, S.....	89	Paula, A.G.P.d.....	658
Junior, L.W.....	658	Paula-Pereira, N.d.....	573
Khabaeva, Z.G.....	418	Peitz, C.....	658
Kumbamoorthy, S.S.....	68	Pereira, S.P.....	821
Lacerda-Barreto, J.....	207	Pereira-Domingueti, C.....	821
Lam, B.B.P.....	529	Pieve de Castro, A.....	364
Leal, A.....	509	Poemape, J.....	643, 679
León-Ávila, E.E.....	739	Portela-Escandón, N.Y.....	546
Le-thi, T.T.....	529	Prado, L.D.....	231
Lima, J.D.d.....	658	Prakash, S.P.....	68
Lozano-Suárez, N.....	28	Puente-Espinoza, H.J.....	571
Luis Mora-Poll, R.L.....	302	Quintero-Guerrero, Y.....	345
Mai, Y.H.....	529	Racines-González, J.....	739
Malagón, R.....	44	Rajsekhar, S.....	705
Martínez-Delgado, L.....	546	Ramla, M.....	323
Marzoeva, D.A.....	418	Ramos de Lima, N.T.....	378
Maurer, J.B.B.....	658	Ramos-Domínguez, Y.....	160
Melo-Diniz, M.d.F.F.....	378	Rastgoo, S.....	145
Mendes-Cassiano, T.T.....	378	Restrepo, D.....	259
Méndez-Leguizamón, K.A.....	546	Rincón-Domínguez, V.....	18
Mendoza-Flores, I.....	546	Rincón-Guio, C.....	345, 804
Mercy, I.....	591	Rocha, H.V.A.....	231
Mollaamin, F.....	218	Rodríguez-Batista, V.M.....	7
Monajjemi, M.....	218	Rodríguez-Soria, V.....	546
Naneti-Rosa, L.....	364	Rubiano-Daza, H.....	775
Nascimento, L.A.H.....	231	Saavedra-Saavedra, M.P.....	804
Nguyen, N.T.....	529	Sahu, U.P.....	89
Nguyen-Phi, N.....	529	Sameer, H.N.....	621
Nickolas, S.....	323	Sangeetha, M.....	323
Niño-Castro, R.....	259	Sanjuanelo, D.W.....	577
Nogueira, E.....	7	Santos-Luz, R.B.d.....	658
Nope-Páez, D.F.....	739	Sarcinelli, M.A.....	231
Odeh, A.....	689	Schifter-Aceves, L.....	248
Oliveira Filho, A.A.d.....	378	Sell-Lliveras, M.....	302
Oliveira, R.F.d.....	460	Shapovalov, V.....	475
Oliveira-Lima, E.d.....	460	Shapovalov, V.....	475
Oraibi, A.I.....	621	Shapovalova, V.....	475
Ortega-Almanza, L.....	248	Shayanfar, A.....	145
Ortega-Martínez, L.D.....	546	Silva, K.G.H.....	231
Ortiz, C.P.....	345, 775	Silva, T.M.....	231
Ortiz-Lara, J.C.....	175	Silva-Herrera, K.M.....	364

Silva-Lima, C.d.....	207	Uada, T.S.....	658
Silva-Souza, H.D.d.....	460	Urrego-Novoa, J.R.....	546
Singh, T.A.....	705	Uscamayta-Espinoza, L.E.....	428
Siverio-Mota, D.....	760	Valderrama-Molina, M.A.....	490
Solís-Candelas, E.....	248	Valdez-López, L.L.....	286
Somensi, A.G.....	658	Van, H.T.....	529
Sousa-Oliveira, F.d.....	406	Vargas-González, K.E.....	286
Takahashi, C.....	643, 679	Veiga, R.U.....	658
Tejada-Paniagua, S.....	131	Vergara-Roa, M.....	804
Tinjacá-Benitez, D.A.....	490	Viana, M.D.M.....	207
Titarenko, I.....	475	Vicet-Muro, L.....	760
Tobón-Galicia, L.G.....	131	Vilar-Cordeiro, L.....	460
Torres-Resende, M.E.....	442	Vílchez, H.....	643
Torres-Tediole, G.....	442	Villamizar-Fragozo, B.....	18
Trujillo-Trujillo, C.F.....	804	Zheoat, A.M.....	621

NORMAS PARA PUBLICACIÓN

La Revista Colombiana de Ciencias Químico Farmacéuticas es editada por el Departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia (Sede Bogotá), con una periodicidad cuatrimestral y tiene como objetivo publicar artículos originales de diversos tópicos relacionados con las ciencias farmacéuticas, como recursos naturales, atención farmacéutica, evaluación clínica y preclínica, y los relacionados con la industria farmacéutica, la salud y los medicamentos.

Además de artículos completos, la revista acepta revisiones, comunicaciones breves, reportes de caso y cartas al Editor. Las contribuciones pueden enviarse en español, portugués o inglés, en letra Times New Roman, tamaño 12, al correo electrónico rcciquifa_fcbog@unal.edu.co o a través del sistema OJS en el sitio web: <https://revistas.unal.edu.co/index.php/rcciquifa>.

Todo el material propuesto para publicación será revisado por el Comité Editorial, y luego de su aceptación para evaluación, será sometido a revisión por pares académicos. Las evaluaciones recibidas por el Comité Editorial serán remitidas al autor para que se realicen los ajustes sugeridos. Los autores tendrán un lapso de cuatro semanas para responder cada una de las observaciones, introducir en el texto las modificaciones del caso y retornar el documento corregido al Comité Editorial. Después de que los evaluadores o el Comité Editorial lleven a cabo una segunda revisión del manuscrito, la revista comunicará a los autores la decisión sobre la publicación o no del mismo.

Los manuscritos deberán acompañarse de una carta firmada por todos los autores en la cual se declare que el trabajo es inédito; es decir, que el artículo ni parte de este ha sido publicado o está en vía de publicación en otra revista, y en la que se responsabilizan por la información publicada.

Se entiende claramente que los trabajos enviados no están siendo considerados para su publicación en otros medios.

Criterios para la presentación de manuscritos

- La fuente de los manuscritos debe ser Times New Roman tamaño 12.
- No se admiten notas a pie de página.
- Título, centrado y en minúscula.
- Autor(es) con su respectiva filiación institucional y correo electrónico del autor principal.
- Resumen, Summary y Resumo. Incluye la justificación del estudio y los principales hallazgos y conclusiones, debe tener entre 50 y 200 palabras. Se debe incluir el título del artículo y el resumen en inglés (Summary) independiente del idioma del manuscrito.
- Palabras clave (debajo del Resumen), Keywords (debajo de Summary) y Palavras-chave (debajo de Resumo). De tres a seis palabras en minúscula, excepto la primera, y separadas por punto y coma y espacio. Preferiblemente tomadas del *MeSH Tools for finding Keywords* (<https://www.nlm.nih.gov/mesh/authors.html>)
- En los manuscritos en español y portugués se empleará la coma (,) como separador decimal, en inglés se utilizará el punto (.).
- Los artículos se dividirán en las siguientes secciones: Introducción, Metodología, Resultados y Discusión, Conclusiones (si las hay), Agradecimientos, Conflicto de intereses y Referencias (Las secciones y subsecciones deben estar numeradas de forma arábiga). Los títulos deben estar separados por dos espacios en sus partes superior e inferior, centrados

y en negrilla. Los detalles acerca de la metodología experimental utilizada deberán ser lo suficientemente claros como para repetir la experimentación.

- Las tablas deben llevar numeración arábica de acuerdo con el orden de aparición en el texto. El título debe ir en su parte superior y las notas en la parte inferior. En los encabezamientos de las columnas se deben anotar los símbolos de las unidades utilizadas.
- Las fotografías, gráficas, dibujos y esquemas se denominan 'figuras' y deben llevar numeración arábica de acuerdo con el orden de aparición en el texto. El título debe ir debajo de las figuras.

De otro lado, los artículos relacionados con experimentación con animales deben ajustarse plenamente a los lineamientos éticos trazados por la Organización Mundial de la Salud. Los extractos o fracciones evaluados *in vitro* o *in vivo* deben definirse químicamente, cuando menos en cuanto a la clase de constituyente. El material vegetal deberá estar clasificado botánicamente.

Las abreviaturas de pesos y medidas serán las indicadas por la Farmacopea de los Estados Unidos en su edición oficial o unidades SI. Los datos espectroscópicos se deben presentar de la siguiente manera:

UV $\lambda_{\max}$ (solvente ϵ) nm (log ϵ). Ej.: UV $\lambda_{\max}$ (MeOH) 275 (log ϵ 2,94).

IR $\nu_{\max}$ (medio) cm^{-1} . Ej.: IR $\nu_{\max}$ (KBr) 1740, 1720 cm^{-1} .

EM m/z (% intensidad relativa). Ej.: EM m/z (%): 340 (M^+ , 100), 295 (10), 134 (26),...

RMN ^1H (solvente, frecuencia de registro) δ ppm (integración, multiplicidad, J en Hz, asignación). Ej.: RMN ^1H (CDCl_3 , 400 MHz) 3,84 (^1H , δ , J = 10,3 Hz, H-30).

RMN ^{13}C (solvente, frecuencia de registro) δ ppm (multiplicidad, asignación). Ej.: RMN ^{13}C (CDCl_3 , 600 MHz) 16,60 (t, C-12).

Las abreviaturas usadas para describir la multiplicidad de las señales en RMN son: s = singlete, d = doblete, t = triplete, m = multiplete, dd = doble de dobletes, ddd = doble de doble de dobletes.

Las abreviaturas para los solventes y reactivos más comúnmente usados son: EtOH = etanol, MeOH = metanol, CHCl_3 = cloroformo, C_6H_6 = benceno, AcOEt = acetato de etilo, EP = éter de petróleo, Me₂CO = acetona, DMSO = dimetilsulfóxido, AcOH = ácido acético.

Referencias en los manuscritos

Las referencias se citarán en el texto con su respectiva numeración. Solo se pueden citar tesis y libros o artículos que hayan sido publicados. Es recomendable indicar el número doi o el link de todas las referencias.

Revistas: Iniciales del nombre y apellido completo de todos los autores, título completo del artículo, nombre abreviado o nombre completo de la revista dependiendo si aparece en el *Chemical Abstract* o en índices equivalentes. El nombre de la revista debe ir en letra itálica, volumen en negrilla, páginas inicial y final, año entre paréntesis, y doi. Ej.:

1. H.P. Baden, L.A. Goldsmith & B. Fleming. A comparative study of the physicochemical properties of human keratinized tissues. *Bioch. Biophys. Acta*, **322**, 269–278 (1973). Doi: [https://doi.org/10.1016/0005-2795\(73\)90303-6](https://doi.org/10.1016/0005-2795(73)90303-6)

Comunicaciones personales: Iniciales del nombre, apellido completo e institución, seguido por las palabras comunicación personal y el año. Ej.:

2. A.J.M. Leeuwenberg, Agricultural University, Wageningen, Holanda, comunicación personal, 1984.

Libros: Iniciales del nombre y apellido completo de los autores, título del libro en letra itálica, editorial, ciudad, año, volumen y página. Ej.:

3. D.R. Morris. *The Biochemistry of Disease*. Morris et Marton Eds., London, 1981; Vol. 8, p. 223.

Capítulos de libros escritos por varios autores: Iniciales del nombre y apellido completo del autor, título del capítulo, seguido de: En: editores, título del libro en letra itálica, editorial, ciudad, año, volumen, páginas. Ej.:

4. A.D. Elbein & R.J. Molyneux. The chemistry and biochemistry of simple indolizidine and related polyhydroxy alkaloids. En: S.W. Pelletier (editor). *Alkaloids: Chemical and Biological Perspectives*. Wiley, New York, 1987; Vol. 5, pp. 1-54.

Tesis: Iniciales del nombre y apellido completo de los autores, título en cursiva, Tesis de..., institución, ciudad, año, páginas. Ej.:

5. F. Salcedo. *Contribución al estudio de las Cinchonas colombianas*. Tesis de Grado. Universidad del Valle, Cali, 1983; pp. 14-16.

Referencias de Internet: Iniciales del nombre y apellido completo del autor, título del documento en letra itálica, dirección URL y fecha de revisión. Ej.:

6. Lipidat. *Lipid thermotropic phase transition database*. Ohio State University. URL: <http://www.lipidat.chemistry.ohio-state.edu>. Consultado en septiembre de 2001.

La correspondencia puede enviarse a la siguiente dirección o al correo de la revista:

Comité Editorial

Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas

Departamento de Farmacia

Facultad de Ciencias

Universidad Nacional de Colombia

Cra. 30 N.º 45-03, Ed. 450, Of. 310

Fax: 57-1-3165060

Bogotá D. C., Colombia

Correo electrónico: rccquifa_fcbog@unal.edu.co

Dirección WEB: <http://www.revistas.unal.edu.co/index.php/rccquifa>