



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**  
**POTENTES ANALGÉSICOS NUEVOS**  
**PROCEDENTES DE ANIMALES MARINOS**

Autor: Jose Antonio Valdés González

Fecha: Junio, 2019

Tutor: Profa. Dra. Estefanía Patricia Hernández Benito

## RESUMEN:

Los venenos de los animales marinos son una fuente de péptidos y moléculas con distintos potenciales farmacológicos. En este trabajo estudiaremos diferentes toxinas procedentes de diversos venenos que han demostrado en fase preclínica o clínica alguna actividad como potentes fármacos analgésicos. Hasta ahora, la terapia analgésica (en los escalones superiores de la escala del dolor) depende exclusivamente de moléculas obtenidas o derivadas del opio. Es imprescindible una investigación más profunda para encontrar alternativas a estos tratamientos.

Tras analizar los péptidos procedentes de diversos caracoles del género *Conus*, las llamadas conotoxinas, y también el veneno de la anémona marina *Stichodactyla haddoni* encontramos que las  $\omega$  - conotoxinas tienen ya presencia en la clínica actual a través del principio activo ziconotida (Prialt®), que es una  $\omega$  - conotoxina procedente del caracol *Conus magus*. Otras conotoxinas en distintas fases de estudio clínico y preclínico son la contulakina G, las  $\alpha$  - conotoxinas, las  $\chi$  - conotoxinas y las  $\mu$  - conotoxinas.

Además del estudio de estas moléculas o péptidos como posibles fármacos analgésicos nuevos, la investigación de estos venenos ha puesto de manifiesto nuevas vías de señalización del dolor y nuevas dianas para el tratamiento analgésico tales como el canal de calcio tipo N ( $Ca_v 2.2$ ).

## OBJETIVOS:

- ✚ Estudiar, a través de una revisión bibliográfica, los diferentes venenos procedentes de animales marinos y su composición molecular y proteica en busca de nuevos fármacos útiles en el tratamiento del dolor.
- ✚ Conocer, a través de la actividad biológica y fisiológica de los venenos, nuevas vías o mecanismos de transmisión de la sensación dolorosa que puedan ser diana de futuros tratamientos analgésicos.
- ✚ Analizar el estado actual de la terapia analgésica incidiendo en las ventajas e inconvenientes de los tratamientos clásicos y encontrar posibles líneas de investigación futura para el descubrimiento de potentes analgésicos nuevos procedentes de animales marinos.
- ✚ Elaborar un estudio completo del panorama actual en la investigación clínica y preclínica de las moléculas procedentes de los distintos venenos de diversos animales marinos, con especial atención a los venenos de los caracoles marinos del género *Conus*.
- ✚ Contribuir a un mayor conocimiento de los mecanismos fisiológicos del dolor y de las posibles terapias analgésicas, así como del origen, procedencia y formas de obtención de las distintas moléculas novedosas derivadas del veneno de distintos animales marinos empleadas actualmente en terapéutica.

## INTRODUCCIÓN:

Según la Asociación Internacional para el Estudio del Dolor (IASP por sus siglas en inglés), el dolor es una experiencia sensorial o emocional desagradable, asociada a un daño tisular real o potencial, o descrita en términos de dicho daño<sup>4</sup>. Podemos dividir el dolor en dos grandes categorías: por un lado, el dolor agudo, que se produce por la activación directa de los receptores nociceptivos y como consecuencia inmediata de esta activación. Normalmente se produce por una lesión en un tejido, ya sea somático o visceral, y tiene como característica general que es autolimitado y desaparece cuando desaparece la lesión primaria. Por tanto, el dolor agudo suele aparecer tras una estimulación de naturaleza mecánica, química o térmica a través de sus receptores concretos. A este tipo de dolor también se le llama dolor nociceptivo<sup>13</sup>.

Por otro lado, el dolor crónico no responde a los criterios anteriores sino que podemos considerarlo como una enfermedad en sí mismo. No es un proceso autolimitado, por lo tanto no está sujeto a una lesión previa, y puede perdurar en el tiempo. Además, suele ser refractario a los tratamientos analgésicos habituales y puede asociarse a otros síntomas de tipo psicológico tales como ansiedad o depresión. A este tipo de dolor se le conoce también como dolor neuropático<sup>13</sup>.

El mecanismo neurofisiológico del dolor es una red compleja que comienza en los propios nociceptores, que no son más que neuronas primarias o de primer orden, cuyos cuerpos celulares se encuentran en los ganglios raquídeos. Después alcanzan la médula espinal a través de las raíces dorsales y llegan a la sustancia gris del asta posterior. Los nociceptores pueden dividirse, a su vez, en cutáneos, musculares y articulares y viscerales, en función del lugar en el que se encuentren<sup>10, 13</sup>.

En la médula espinal se transmite la señal dolorosa a la neurona nociceptiva de segundo orden, que puede estar situada en las láminas I, II, IV, VI y, especialmente, en la lámina V. Estas segundas neuronas son las que forman la vía ascendente del estímulo doloroso. Tanto en la génesis de la sensación dolorosa como en la transmisión de la señal intervienen numerosas moléculas endógenas, tales como iones ( $H^+$  y  $K^+$ ), neurotransmisores (noradrenalina y serotonina), eicosanoides (prostaglandinas y leucotrienos), citoquinas, péptidos (substancia P y el péptido relacionado con el gen de la calcitonina [CGRP]), glutamato, aminas o cininas. Será sobre todas ellas sobre las que podremos intervenir al plantear la terapia analgésica.

Y esta terapia analgésica tradicionalmente se ha basado en la clásica escalera del dolor (Figura 1)<sup>8</sup> que intenta clasificar el dolor en función de su intensidad en

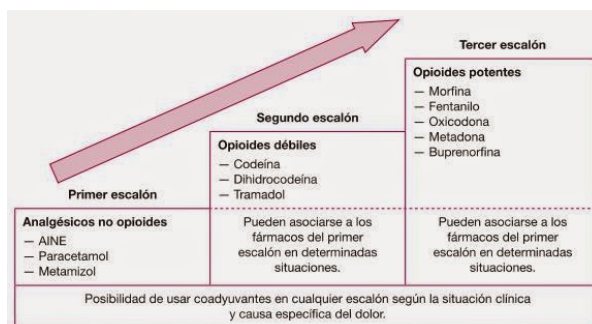


Figura 1

uno de los tres escalones que la componen. Esto, en sí mismo, ya plantea una complicación, pues el dolor tiene un componente subjetivo que hace que la sensación dolorosa no sea igual ni extrapolable entre distintos individuos. Como vemos, en el tercer escalón, donde encontramos la intensidad de dolor más alta, solo hallamos fármacos derivados del opio como tratamiento de elección.

Se hace evidente, por tanto, que es imprescindible investigar nuevas moléculas o péptidos que actúen como analgésicos potentes y puedan incorporarse al arsenal de medicamentos que se emplean contra el dolor<sup>16</sup>. Los mares y los océanos son una fuente de biodiversidad aún prácticamente inexplorada. Los venenos de distintas especies de caracoles del género *Conus* ya han mostrado prometedoras actividades fisiológicas con propiedades analgésicas y, de hecho, un péptido obtenido del veneno de uno de estos caracoles se encuentra ya comercializado y es un tratamiento de primera línea contra ciertos tipos de dolor intratable<sup>3</sup>. Y, del mismo modo, distintas especies animales contienen entre sus venenos posibles futuros fármacos con potencia analgésica superior a la de la morfina<sup>7, 11</sup>.

## RESULTADOS:

Los venenos de distintos animales marinos contienen diversos péptidos que han demostrado en estudios preclínicos e incluso en ensayos clínicos su potencia analgésica. Uno de estos péptidos perteneciente al grupo de las  $\omega$  - conotoxinas, concretamente la ziconotida, ya está comercializado y forma parte del arsenal terapéutico en la terapia analgésica. A continuación, además de la ziconotida, estudiaremos otras conotoxinas, así como la contulakina G y el veneno de una anémona del Golfo Pérsico (*Stichodactyla haddoni*).

### $\omega$ - conotoxinas

En primer lugar, vamos a estudiar las dos primeras toxinas procedentes de animales marinos que dieron lugar a toda la investigación posterior en torno a los venenos procedentes de especies acuáticas. Se trata de la  $\omega$  - conotoxina GVIA, procedente del caracol marino *Conus geographus* y de la  $\omega$  - conotoxina MVIIA, procedente del caracol marino *Conus magus*. Ambos caracoles pertenecen a un grupo de cazadores de pequeños peces (Figura 2) cuyos

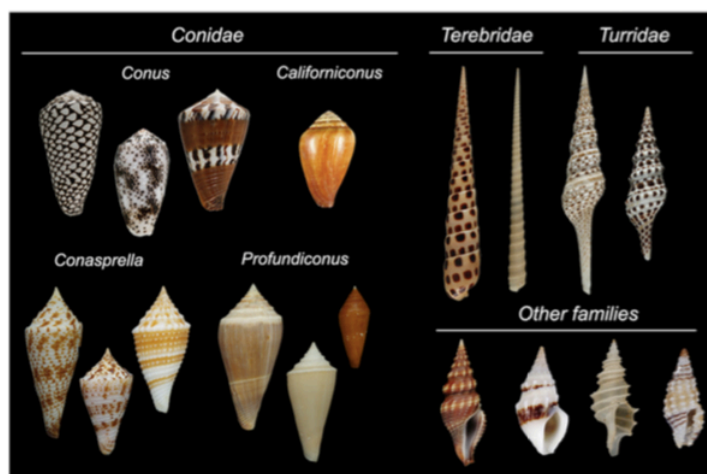


Figura 2

venenos tienen componentes paralizantes entre los que se encuentran los péptidos que hemos señalado. Los dos péptidos están relacionados fisiológicamente y genéticamente,

aunque el primero de ellos es una verdadera amenaza para el ser humano, pues su veneno llega a ser letal para nuestra especie<sup>11</sup>.

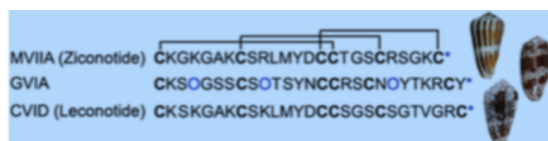


Figura 3

Al tratarse de péptidos, el primer paso en la investigación consiste en elucidar su secuencia de aminoácidos (Figura 3). Tras esta caracterización, se observó que ambas moléculas presentaban tres puentes disulfuro que otorgaban a la proteína una estructura terciaria similar. Una vez

obtenida su estructura primaria de aminoácidos se logró su síntesis en el laboratorio y se comenzaron los estudios preclínicos en ratones.

La caracterización bioquímica y el éxito en la síntesis química de estos péptidos permitió una investigación rigurosa del mecanismo fisiológico que subyace a su bioactividad. Los péptidos provocan parálisis en los peces porque bloquean la transmisión neuromuscular a nivel presináptico inhibiendo la liberación de acetilcolina. La diana molecular es un canal de calcio bloqueado por voltaje. Las conotoxinas tienen una extraordinaria selectividad hacia un determinado subtipo de canal de calcio que no había sido reconocido antes y que se ha denominado canal de calcio tipo N y, posteriormente,  $Ca_v 2.2$ .<sup>6, 11, 12</sup>

Sin embargo, cada una de las conotoxinas presenta propiedades diferentes, lo cual explica parte de sus diferentes actividades: mientras que la  $\omega$  - conotoxina GVIA se une de forma casi irreversible a su diana, la  $\omega$  - conotoxina MVIIA, a pesar de su alta selectividad, puede separarse de ella, lo cual la convierte en una molécula mucho más deseable para los experimentos electrofisiológicos<sup>12</sup>. Así, la  $\omega$  - conotoxina GVIA ha quedado relegada a ser una herramienta de investigación que actúa como ligando del  $Ca_v 2.2$ , sin embargo la  $\omega$  - conotoxina MVIIA dio lugar a una investigación farmacológica que terminó en la patente de un nuevo fármaco analgésico, la ziconotida (Prialt®)<sup>9, 16</sup> y que puso de manifiesto el potencial del  $Ca_v 2.2$  como una diana para el tratamiento analgésico. Posteriormente, se han desarrollado múltiples investigaciones para hallar antagonistas selectivos de estos canales iónicos, siendo la más prometedora de ellas la que ha conducido a otro péptido, la leconotida, procedente de otro caracol del mismo género, el *Conus catus*, pero este nuevo principio activo aún no ha alcanzado la fase clínica<sup>11, 16</sup>.

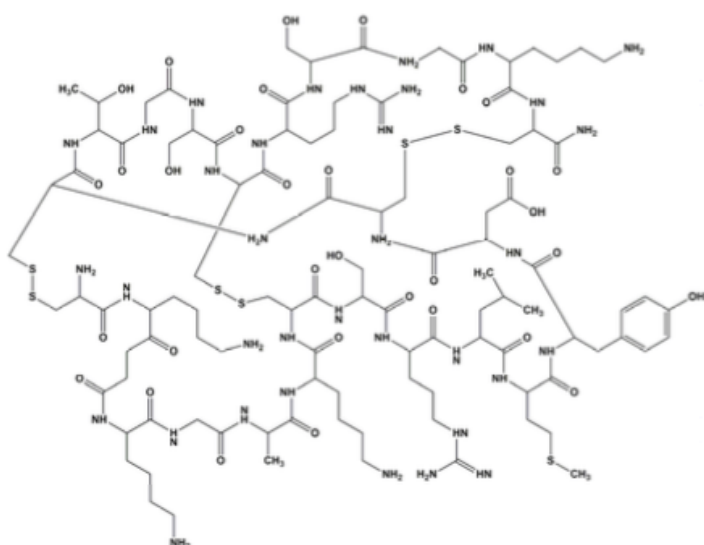


Figura 4

idéntico al producto natural del caracol *Conus magus* (Figura 4)<sup>5, 14</sup>.

El mecanismo completo (Figura 5) por el que la ziconotida actúa como potente analgésico en la especie humana se fundamenta en que, a través del bloqueo selectivo de los canales de calcio tipo N ( $Ca_v 2.2$ ) situados en la superficie de la neurona aferente del asta dorsal en la médula espinal de los vertebrados, se impide la entrada de calcio a la neurona aferente primaria y, con ello, la liberación de moléculas nociceptivas (glutamato, péptido relacionado con el gen de la calcitonina [CGRP] y sustancia P). Estos canales de calcio tipo N están presentes en la neurona que actúa como nociceptor y la ziconotida al comportarse como antagonista a nivel presináptico evita la transmisión nerviosa. La ziconotida también antagoniza los canales de calcio situados en la corteza cerebral y en la neurohipófisis, pero no los situados a nivel de la placa motora<sup>2</sup>.

La ziconotida se ha incorporado al arsenal terapéutico contra el dolor, y su llegada ha sido muy bien recibida por los especialistas debido a que es un agente analgésico con un mecanismo no opioide, por lo tanto, no produce los efectos adversos característicos de este grupo terapéutico, destacando principalmente la ausencia de depresión respiratoria y la eliminación del fenómeno de tolerancia y el síndrome de retirada.

Como parte de la investigación, se fueron mutando uno por uno los veinticinco aminoácidos que componen la  $\omega$  - conotoxina intentando conseguir un análogo que mejorara las propiedades farmacocinéticas (y, sobre todo, las propiedades farmacodinámicas) del péptido nativo, pero finalmente no se cambió ni uno solo de los grupos funcionales, de modo que el fármaco que se utiliza en terapéutica es químicamente

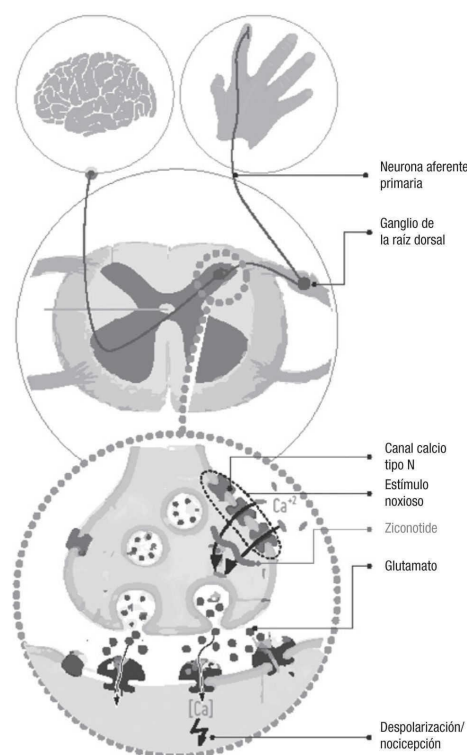


Figura 5

grupo terapéutico, destacando

En la actualidad, la ziconotida se emplea como último recurso en el tratamiento del dolor crónico refractario a otros tratamientos y del dolor asociado a procesos neoplásicos. A pesar de las múltiples ventajas que aporta la ziconotida frente a los tratamientos clásicos con derivados del opio se mantiene como último recurso debido a varios factores: en primer lugar, al tratarse de un péptido debe ser administrado por vía intratecal directamente en el líquido cefalorraquídeo para evitar que sea inmediatamente metabolizado por las peptidasas presentes de forma fisiológica. En segundo lugar, el alto coste de la ziconotida limita su empleo a favor de tratamientos opioides y opiáceos más accesibles. Y, por último, no está bien descrito aún el perfil de posibles efectos adversos, que parecen ir desde efectos psicomotores (ataxia, alucinaciones auditivas...) hasta fenómenos más graves como posibles cuadros de psicosis<sup>1</sup>. Además, el estrecho margen terapéutico dificulta la implantación de la ziconotida como tratamiento de primera línea para dolores tanto nociceptivos como neuropáticos<sup>3,9</sup>.

### Contulakina G

La contulakina G es un péptido compuesto de dieciséis aminoácidos procedente del veneno de otro caracol del género *Conus*, en este caso, del *Conus geographus*. Se observó que los ratones a los que se inyectaba el veneno de este caracol permanecían apáticos y no respondían durante, al menos, una hora cuando se les pinchaba en el abdomen<sup>11</sup>. De hecho, la palabra filipina “tulakin” significa “que debe ser pinchado”. Este comportamiento de los ratones sugirió que esta toxina induce hipoactividad en la presa, lo que permite a los caracoles de esta especie cazarlas para alimentarse de ellas.

Gracias a esta capacidad de la contulakina G para disminuir la actividad neuronal se plantea la posibilidad de su empleo terapéutico en patologías humanas que se caracterizan por una sobreestimulación del sistema nervioso, como pueden ser la epilepsia o el dolor intratable.

Tras la caracterización completa de la secuencia de aminoácidos de la contulakina G se observó que era altamente parecida a la neurotensina (Figura 6), un neuropéptido de los vertebrados que se expresa ampliamente en el sistema nervioso central, lugar en el que modula la

señalización dopaminérgica. La administración de neurotensina en la sustancia gris periacueductal (el primer centro de control cerebral para la modulación de la sensación dolorosa) ha demostrado que reduce la señalización nociceptiva mediante la activación del sistema inhibitor del dolor. Basándonos en la similitud química de la contulakina G con la neurotensina, se dedujo que la contulakina G activaba el receptor humano de neurotensina (receptor acoplado a proteína G) tanto en su isoforma 1 como en su isoforma 2, aunque lo hacía con menor intensidad de lo que lo hace la neurotensina nativa<sup>6, 11</sup>.

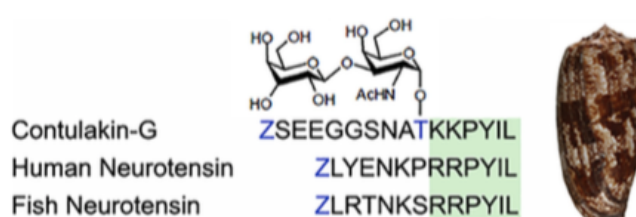


Figura 6



A pesar de que la afinidad de la unión es menor, la contulakina G ha demostrado ser un analgésico mucho más potente que la propia neurotensina en tres modelos diferentes de seguimiento del dolor en animales tras la administración intratecal. La menor afinidad, pero la mayor potencia analgésica se atribuyen por un lado a la glicosilación de uno de los aminoácidos de la contulakina G y, por otro lado, a la presencia de aminoácidos cargados negativamente en el extremo N terminal.

La contulakina G entró en fase clínica en el año 2004 en un estudio de fase I para el tratamiento del dolor crónico refractario e intratable (tras estudios preclínicos exitosos en los que se determinaron las posibles dosis bien toleradas y con menores efectos adversos para los humanos) en seis pacientes. El estudio demostró una aceptable reducción del dolor y una buena tolerancia general. Pero finalmente los ensayos clínicos se detuvieron debido a que los ensayos de toxicidad en perros no habían determinado adecuadamente la dosis máxima tolerable y a que investigaciones posteriores han puesto de manifiesto que los agonistas del receptor de neurotensina están implicados en promover la proliferación celular en ciertos tipos de cáncer<sup>11</sup>.

### **$\alpha$ - conotoxinas**

La  $\alpha$  - conotoxina Vc1.1 fue identificada mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) en el veneno del caracol *Conus victoriae*, un caracol cazador de peces de la zona occidental de Australia. En el DNA se halló el péptido nativo, pero se observó que posteriormente este sufría modificaciones postraduccionales (Figura 7).

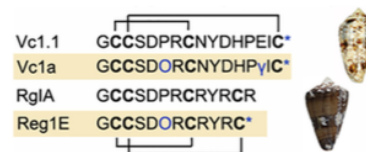


Figura 7

El mecanismo de acción de la  $\alpha$  - conotoxina Vc1.1 se basa en el funcionamiento de esta toxina como antagonista del receptor nicotínico de acetilcolina. Hasta el descubrimiento de esta conotoxina se pensaba que solo la activación de estos receptores producía fenómenos de analgesia<sup>11</sup>; tras este descubrimiento se ha abierto la puerta a la investigación de nuevas dianas moleculares y de nuevos mecanismos para tratar el dolor a través de la inhibición del subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  del receptor nicotínico de acetilcolina (Figura 8).

Además de sus propiedades analgésicas, Vc1.1 acelera la recuperación funcional de las neuronas potencialmente dañadas mediante la reducción de la respuesta inflamatoria en el sitio de la lesión.

La  $\alpha$  - conotoxina entró también en un ensayo clínico en el año 2007 y alcanzó la fase 2, pero se detuvo debido a la baja eficacia en humanos. Posteriormente se ha descubierto que esto se debió a que cuando se realizó el ensayo aún no se conocía el subtipo específico de receptor de acetilcolina al que se dirigía la  $\alpha$  - conotoxina (subtipo  $\alpha 9\alpha 10$ ), cuya respuesta es varios órdenes de magnitud diferente en roedores que en humanos. Sea como sea, el trabajo



con la conotoxina Vc1.1 ha conducido al descubrimiento de una nueva diana para el tratamiento del dolor con fármacos no opioides y ha permitido el desarrollo de nuevas moléculas que actúen como antagonistas del receptor subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  de acetilcolina.

Y, precisamente, otro antagonista de este subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  del receptor de acetilcolina se ha encontrado en el veneno de otro caracol del mismo género, el *Conus regius*: se trata de la  $\alpha$  - conotoxina RgIA. También esta conotoxina sufre modificaciones postraduccionales, aunque, como en el caso anterior, los estudios se han llevado a cabo con un péptido análogo sintético, Reg1E (Figura 7).

Los estudios con RgIA han proporcionado evidencias adicionales para los efectos analgésicos y la capacidad de modificar la enfermedad de la inhibición del subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  del receptor de acetilcolina. RgIA ha demostrado capacidad para el tratamiento del dolor neuropático y además reduce el edema y la infiltración propia de la respuesta inflamatoria en el lugar de la lesión, lo cual es consistente con el efecto modificador de la patología.

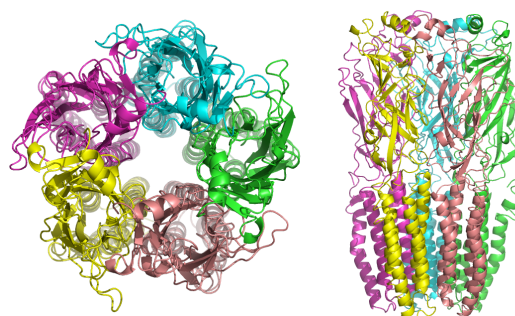


Figura 8

Una hipótesis alternativa que se ha planteado es que la actividad analgésica de ambas  $\alpha$  - conotoxinas esté relacionada con una actividad agonista del receptor GABA<sub>B</sub>, pero un análogo de RgIA (el péptido RgIA4) se desarrolló de manera que presentaba una alta afinidad por el subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  del receptor de acetilcolina (tanto de roedores como de humanos) y, sin embargo, carecía de actividad frente al receptor GABA<sub>B</sub>. Este análogo evitó el dolor neuropático inducido por la quimioterapia expandiendo el potencial clínico de las aplicaciones de RgIA a las neuropatías provocadas por procesos neoplásicos<sup>11</sup>. Además, la actividad analgésica de estos análogos permanece durante al menos tres semanas tras su inyección, lo cual apoya de nuevo el efecto modificador neuronal que se ha postulado para estos compuestos.

Actualmente, otros tres compuestos han mostrado actividad analgésica en varios modelos animales a través de la inhibición del subtipo  $\alpha 9\alpha 10$  del receptor de acetilcolina, incluyendo otro péptido procedente del veneno de un caracol marino (una  $\alpha$  - conotoxina de *Conus generalis*) y dos moléculas mucho más pequeñas que mimetizan la forma en la que la conotoxina se une al receptor. Todos los estudios que se están realizando en el momento actual con  $\alpha$  - conotoxinas se encuentran aún en fases preclínicas.

### $\chi$ - conotoxinas

El péptido MrIA fue aislado originalmente del veneno de otro caracol del género *Conus*, el *Conus marmoreus*. Se observó que la inyección de este veneno en ratones producía hipoactividad e indolencia<sup>11</sup>. Tras elucidar la estructura primaria (secuencia de aminoácidos)

del péptido<sup>17</sup>, se procedió a su síntesis química para el desarrollo de los ensayos preclínicos. La administración intratecal del péptido sintético produjo una respuesta analgésica en los ratones (atendiendo a diversos modelos de control del dolor animal, tales como el ensayo sobre plato caliente), lo que sugirió un potencial como nuevo fármaco analgésico. Otros dos péptidos del mismo veneno fueron aislados e identificados y mostraron también una actividad biológica interesante en ratones (MrIB y CMrVI).

El mecanismo de acción por el que estos péptidos llevan a cabo su actividad analgésica parece ser a través de su diana molecular: MrIA y MrIB son potentes inhibidores no competitivos del transportador de noradrenalina (Figura 9) (NET). El NET es un transportador de monoaminas que es responsable de la recaptación de la noradrenalina extracelular<sup>11</sup>. El hecho de que el NET sea la diana de las  $\chi$ -conotoxinas es consistente con su acción analgésica, pues la noradrenalina es un mediador endógeno de los mecanismos de analgesia en la vía descendente del dolor.

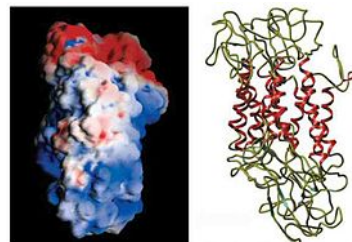


Figura 9



Figura 10

Posteriormente, se llevaron a cabo modificaciones que mejoraran la farmacocinética de los péptidos más prometedores, concretamente del MrIA dando lugar al análogo más estable Xen2174 (Figura 10) que, además, mostró actividad analgésica más potente en distintos ensayos del dolor en animales (modelo CCI –constricción crónica del nervio ciático– del dolor neuropático).

El péptido sintético Xen2174 llegó a la primera fase de ensayo clínico para el tratamiento del dolor asociado al cáncer y del dolor post-quirúrgico, pero los resultados no han sido suficientemente concluyentes para sus propiedades analgésicas, lo cual ha sugerido que este fármaco no posee eficacia suficiente para el tratamiento del dolor en humanos, de modo que los ensayos clínicos con él se han cancelado. En cualquier caso, el descubrimiento de estas moléculas ha permitido abrir la puerta a la exploración de nuevas vías analgésicas al determinar dianas alternativas a las habituales<sup>11</sup>.

### $\mu$ -conotoxinas



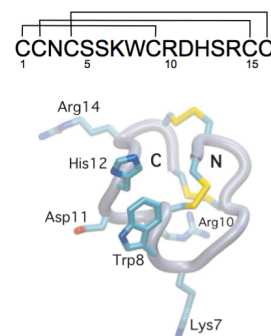
Figura 11

Las  $\mu$ -conotoxinas son un grupo de pequeños péptidos procedentes del veneno de distintos caracoles marinos del género *Conus* tales como el *Conus stercusmuscarum* (SmIIIA) (Figura 11) o el *Conus kinoshitai* (KIIIA) (Figura 12).



Figura 12

En realidad, no fueron estas las primeras  $\mu$  - conotoxinas descubiertas: el primer grupo de  $\mu$  - conotoxinas que se halló fue el que contenía péptidos tales como el GIIIA, GIIIB, GIIIC o PIIIA que resultaban paralizantes para los peces que servían de presa a este género de caracoles y que en los mamíferos inhibían potentemente los canales de sodio del tejido muscular esquelético<sup>17</sup>. A pesar del posible interés científico, estas moléculas no resultaban prometedoras como posibles analgésicos. Fue el segundo grupo de  $\mu$  - conotoxinas, al que pertenecen las que hemos citado anteriormente SmIIIA y KIIIA, las que mostraron una actividad más interesante, pues su diana no es el canal de sodio del tejido muscular sino el canal de sodio resistente a la tetrodotoxina, o, al menos, así lo demostraron en experimentos en anfibios<sup>11</sup>.



La estructura química de la mayoría de estas  $\mu$  - conotoxinas aún no ha sido elucidada; de hecho, solo se conoce la estructura primaria de las  $\mu$  - conotoxinas del clado de la KIIIA. La interacción del péptido en su conformación tridimensional con los restos de arginina, de ácido aspártico, de histidina, de triptófano y de lisina del canal de sodio es fundamental para su actividad (Figura 13)<sup>17</sup>.

Figura 13

El mecanismo de acción por el que estos péptidos tienen actividad analgésica se basa, como hemos mencionado, en el bloqueo casi irreversible de los canales de sodio neuronales de los mamíferos. Se cree ampliamente que los canales de sodio resistentes a la tetrodotoxina son una potencial diana molecular para la terapia analgésica.<sup>17</sup> Hay dos subtipos de canal de sodio resistentes a la tetrodotoxina en el tejido nervioso periférico de los mamíferos,  $\text{Na}_v1.8$  y  $\text{Na}_v1.9$ , y los datos sugieren que ambos participan en la señalización de la sensación dolorosa. De este modo, la inhibición de estos canales se postula como un mecanismo analgésico que necesita ser evaluado de forma experimental. Dada la capacidad del grupo de la  $\mu$  - conotoxina KIIIA para inhibir el canal de sodio resistente a la tetrodotoxina de los anfibios, se probó la  $\mu$  - conotoxina KIIIA como posible analgésico en mamíferos y se observó que tiene actividad analgésica, aunque la especificidad en mamíferos es algo diferente a la especificidad en anfibios (presenta mayor afinidad por un tercer subtipo de canal de sodio presente en mamíferos, el  $\text{Na}_v1.2$ , al cual bloquea de manera casi irreversible)<sup>11, 17</sup>.

### **Veneno de la anémona de mar del Golfo Pérsico *Stichodactyla haddoni***



Figura 14

El veneno de esta anémona de mar (Figura 14) ha sido probado frente a varias posibles indicaciones farmacológicas (antiinflamatorio, hemolítico, proteolítico, actividad fosfolipasa...) incluyendo la posible actividad analgésica. Los experimentos se han realizado en ratones, inyectando de forma intraperitoneal 100 y 150  $\mu\text{g}$  respectivamente del veneno en crudo tras dos diferentes extracciones del veneno, una con 25 ml de metanol (5%) y otra con 50 ml de agua, ambas mezcladas en un vórtex e incubadas

posteriormente a 4°C durante 24 horas. La solución fue después centrifugada (10.625 g) durante diez minutos y posteriormente liofilizada. El polvo resultante se resuspendió en agua estéril para inyecciones y se conservó a -70°C<sup>7</sup>.

Como hemos visto, los experimentos con esta anémona se han llevado a cabo con el veneno en crudo. Por tanto, no se ha elucidado aún la estructura del compuesto o los compuestos responsables de su actividad analgésica.

La actividad analgésica de este veneno en crudo (a las cantidades experimentadas) ha demostrado ser mayor que la de la morfina (Figura 15). Las propiedades contra el dolor de ambas cantidades del veneno en crudo fueron dosis-dependientes y la pendiente de actividad se fue incrementando desde el punto cero hasta los sesenta minutos. Después, la pendiente permanece horizontal y constante hasta los ciento cincuenta minutos,

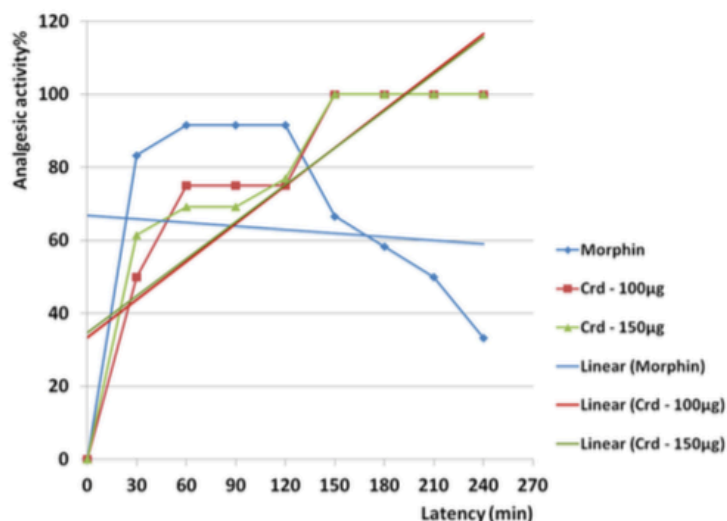


Figura 15

donde experimenta de nuevo una subida hasta el 100% de la actividad analgésica que dura hasta el final del experimento a los doscientos cuarenta minutos (cuatro horas). En este contexto, es destacable que los ratones control, tratados con morfina, no alcanzaron en ningún momento el 100% de la actividad analgésica (el porcentaje se calculó mediante un experimento doble en el cual, primero se sometió a los ratones al test del plato caliente y se contaron las veces que los ratones se lamieron; después se repitió el mismo test con los mismos ratones, pero habiéndoles inyectado el fármaco analgésico)<sup>7</sup>.

Del mismo modo que no está elucidada la estructura química del compuesto o compuestos analgésicos (de hecho, ni siquiera se conoce el compuesto o compuestos en cuestión), no se conoce el mecanismo por el que se consigue el fenómeno de analgesia. Como hemos visto, las vías por las que se produce la sensación dolorosa son múltiples y variadas, por lo tanto este veneno podría estar participando de cualquiera de ellas o de varias simultáneamente, sin ser capaces *a priori* de postular cuál de ellas es la correcta. Son necesarias, por tanto, más investigaciones sobre este veneno en particular, y más aún si tenemos en cuenta que la actividad analgésica no es la única demostrada por este veneno.

## DISCUSIÓN:

Si hubiera que definir un fármaco analgésico como el fármaco analgésico ideal, la primera característica que se le otorgaría sería una absoluta selectividad de modo que interviniese exclusivamente en la atenuación o eliminación de la señal nociceptiva sin afectar a otras vías tales como la propiocepción o las funciones motoras.

Todos los fármacos analgésicos que existen (con la excepción de los antiinflamatorios no esteroídicos) han mostrado que sus propiedades frente al tratamiento del dolor se acompañan de efectos adversos indeseables, como, por ejemplo, sedación, estreñimiento, retraso psicomotor o depresión respiratoria. El fármaco analgésico ideal eliminaría estos efectos indeseables a la vez que ofrecería una respuesta analgésica robusta.

Los derivados del opio son fármacos excelentes en el tratamiento del dolor agudo nociceptivo (Figura 16)<sup>15</sup>, pero se quedan cortos en el tratamiento del dolor neuropático o en el tratamiento del dolor nociceptivo de larga duración. Esto se debe, en primer lugar, a la falta de eficacia a largo plazo que se ha observado en estos fármacos, provocada por dos factores intrínsecos a ellos como son la tolerancia y los fenómenos de hiperalgesia. En segundo lugar, los efectos adversos relacionados con los fármacos derivados del opio son muy frecuentes y, generalmente, impiden la escalada en las dosis durante el tratamiento o conducen al abandono del mismo y a la falta de adherencia. En tercer lugar, hay ciertas condiciones dolorosas que son resistentes al agonismo frente a los receptores  $\mu$ , diana de los opioides, y la terapia con estos fármacos fracasa por altas que sean las dosis del tratamiento. Por último, los derivados del opio tienen un perfil farmacológico de dependencia psicológica y, en ocasiones, fisiológica tras un uso prolongado que puede derivar en un desagradable síndrome de retirada o que puede conducir a la adicción<sup>3</sup>.

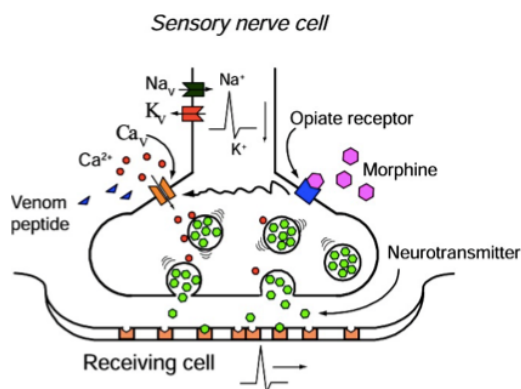


Figura 16

Por todo esto, se hace imperativo descubrir nuevos fármacos analgésicos no opioides. Y, en este contexto, las investigaciones con los distintos venenos procedentes de animales marinos están mostrando unas perspectivas de futuro prometedoras. La ziconotida es el primer fármaco aprobado para el tratamiento del dolor crónico y del dolor asociado a procesos neoplásicos que no tiene un mecanismo opioide. De hecho, el nombre comercial de la ziconotida (Prialt®) deriva de **prime alternative to morphin**. Y, actualmente, la ziconotida es el fármaco de primera línea por vía intratecal para pacientes con dolor crónico<sup>3</sup>. Así está publicado en las guías del panel de la conferencia para el consenso en polianalgesia (Polyanalgesic Consensus Conference, PACC)<sup>9</sup>, en las que se recomienda la ziconotida en monoterapia como tratamiento de primera línea para el dolor crónico relacionado y no relacionado con el cáncer. La recomendación incide en que el criterio para elegir entre la



ziconotida y el empleo de morfícos por vía intratecal dependerá exclusivamente del paciente, valorando en todo caso las ventajas y desventajas de ambas medicaciones.

Pero, si bien el descubrimiento y posterior comercialización de un fármaco analgésico potente es un hito extraordinario que justifica la investigación realizada con los venenos de diversos animales marinos, no es el único hito extraordinario conseguido a través de estas investigaciones.

De hecho, gracias a los ensayos preclínicos y a la experimentación con las moléculas y péptidos extraídos de estos venenos se han hallado nuevas dianas terapéuticas que orientan a nuevos mecanismos por los que se pueden inducir fenómenos de analgesia, además de que permiten avanzar en el conocimiento de la fisiología de los mamíferos descubriendo nuevas vías de señalización y nuevos procesos bioquímicos desconocidos anteriormente.

El mejor ejemplo de esto está, precisamente, en el péptido cuya investigación concluyó en la patente del Prialt®, la  $\omega$ -conotoxina MVIIA (que no es otra que el principio activo ziconotida). A través de esta conotoxina se descubrió el mecanismo analgésico mediado por los canales de calcio tipo N ( $Ca_v2.2$ ) frente a los que actúa este péptido y también otra  $\omega$ -conotoxina (CVID, obtenida del veneno del caracol marino *Conus catus*) que actualmente se encuentra en la fase clínica de la investigación. A partir de este descubrimiento, se han puesto en marcha múltiples investigaciones y se han encontrado diferentes moléculas (conotoxinas y no conotoxinas) que actúan sobre estos canales de calcio y que pueden conducir a nuevos fármacos analgésicos (Figura 17).

Mammalian  $Ca_v$  channels and selected peptide inhibitors.

Calcium channel	$\alpha_1$ subunit	$Ca^{2+}$ current	Peptide antagonist
$Ca_v1.1-1.4$	$\alpha_{1S}, C, D, F$	L	calciseptine, $\omega$ -agatoxin IIIA ( $\alpha_{1C}$ )
$Ca_v2.1$	$\alpha_{1A}$	P/Q	$\omega$ -agatoxin, MVIIIC
$Ca_v2.2$	$\alpha_{1B}$	N	$\omega$ -GVIA, $\omega$ -MVIIA, $\omega$ -CVID
$Ca_v2.3$	$\alpha_{1E}$	R	SNX-482
$Ca_v3.1-3.3$	$\alpha_{1G}, H, I$	T	Kurtosin ( $\alpha_{1G}$ )

Figura 17

Pero no son los canales de calcio tipo N las únicas dianas analgésicas puestas de manifiesto en la investigación de los venenos de diversos animales marinos. A lo largo

*Conus* venom peptides with therapeutic potential

Molecular target	<i>Conus</i> peptide	Therapeutic application
N-type calcium channel ( $Ca_v2.2$ )	$\omega$ -MVIIA (Prialt; ziconotide) $\omega$ -CVID (AM336)	Pain Pain
Neurotensin receptor	Contulakin-G (CGX-1160)	Pain
Norepinephrine transporter	$\chi$ -MrIA (derivative) (Xen-2174)	Pain
Nicotinic receptors	$\alpha$ -Vc1.1 (ACV-1)	Pain
NMDA <sup>R</sup> receptors	Conantokin-G (CGX-1007)	Epilepsy; pain
K <sup>+</sup> channels (Kv1 subfamily)	$\kappa$ -PVIIA (CGX-1051)	Myocardial infarction
Na <sup>+</sup> channels	$\mu$ O-MrVIB (CGX-1002)	Pain

Figura 18

de este trabajo hemos podido ver otros tales como el receptor de neurotensina, el transportador de noradrenalina o los receptores nicotínicos neuronales. Además de estas

dianas, también se están investigando otras como los receptores tipo NMDA, los canales de potasio o canales de sodio diferentes a los receptores nicotínicos (Figura 18).

Respecto a la estructura química de las conotoxinas, se ha observado que en la secuencia de aminoácidos de los péptidos con actividad analgésica tienen especial importancia los puentes disulfuro que se forman. Para ello, es fundamental estudiar la distribución de las cisteínas en la cadena aminoacídica que forma la estructura primaria, pues en función de la localización de estos aminoácidos podremos clasificar las conotoxinas en superfamilias y familias; esta clasificación posteriormente responderá a la diana farmacológica frente a la que actúen que dependerá de la estructura tridimensional adoptada por el péptido.

Esta clasificación es muy útil pues, tras elucidar la estructura primaria de la cadena de aminoácidos del péptido que se quiera analizar, se puede postular cuál será la diana farmacológica frente a la que actuará. De nuevo, el estudio de las conotoxinas ha ayudado a comprender la relación entre la estructura y la actividad de las moléculas respecto a sus dianas (Figura 19).

Superfamily	Cysteine Arrangement	Family	Molecular target
A	CC-C-C	$\alpha$	AChR <sup>*</sup> (antagonist)
	CC-C-C	$\rho$	$\alpha^1$ -adrenoreceptor (antagonist)
	CC-C-C-C-C	$\alpha A$	AChR (antagonist)
	CC-C-C-C-C	$\kappa A$	K <sup>+</sup> channel (antagonist)
M	CC-C-C-CC	$\mu$	Na <sup>+</sup> channel (blocker)
	CC-C-C-CC	$\psi$	AChR (non-competitive antagonist)
O	C-C-CC-C-C	$\delta$	Na <sup>+</sup> channel (delays inactivation)
	C-C-CC-C-C	$\mu O$	Na <sup>+</sup> channel (blocker)
	C-C-CC-C-C	$\omega$	Ca <sup>2+</sup> channel (blocker)
	C-C-CC-C-C	$\kappa$	K <sup>+</sup> channel (blocker)
	C-C-CC-C-C	$\gamma$	Pacemaker channels (blocker)
P	C-C-C-C-C-C	Spastic	Unknown
S	C-C-C-C-C-C-C-C	$\sigma$	5-HT <sub>3</sub> <sup>*</sup> (antagonist)
T	CC-CC	$\tau$	Presynaptic Ca <sup>2+</sup> channels (blocker)
	CC-C-C	$\chi$	Noradrenalin transporter (inhibitor)
N/A <sup>*</sup>	C-C	Conopressin	Vasopressin receptors (antagonist)
N/A <sup>*</sup>	C-C	Contryphan	GPCR <sup>*</sup>
No Cysteines	Helical	Conantokin	NMDA <sup>*</sup> channel (antagonist)
No Cysteines		Contulakin	NTR <sup>*</sup> (agonist)

<sup>\*</sup>AChR – nicotinic acetylcholine receptor, N/A – not applicable, NMDA – N-methyl-D-aspartate, NTR – neurotensin receptor, GPCR – G-protein coupled receptor, 5-HT<sub>3</sub> – 5-hydroxytryptamine (serotonin).

Figura 19

A lo largo de este trabajo se ha valorado la actividad analgésica de diversos péptidos procedentes de animales marinos y se han estudiado los distintos mecanismos por los que esta acción tiene lugar; sin embargo, en este momento de la discusión podemos centrarnos en uno de los péptidos de los que hemos hablado, la  $\mu$  - conotoxina KIIIA que bloquea como sabemos los canales de sodio neuronales de los mamíferos. La cuestión que nos ocupa será determinar si la acción de este péptido es analgésica o, directamente, anestésica dado el mecanismo por el que actúa. Parece ser que la respuesta depende de la dosis a la que se emplea, aunque estas toxinas aún se encuentran en fase preclínica y su actividad fisiológica en la especie humana no está bien determinada. En cualquier caso, los estudios comparativos que, en el resto de analgésicos se llevan a cabo frente al patrón de la morfina, en este caso además de los estudios con morfina se llevan a cabo estudios con lidocaína.

Al respecto de la contulakina G, concluimos su estudio diciendo que dado que los agonistas de los receptores de neurotensina han mostrado tener relación con algunos procesos de promoción de la proliferación celular, dando lugar, por tanto, a ciertos tipos de



cáncer, se han abandonado los ensayos clínicos de este péptido como posible alternativa a los analgésicos derivados del opio. Sin embargo, dada la necesidad actual de encontrar terapias analgésicas alternativas a estos compuestos, los efectos analgésicos beneficiosos de la contulakina G pueden sobrepasar los riesgos asociados a sus potenciales propiedades mitogénicas, sobre todo en pacientes que se encuentran en fase terminal, durante los últimos estadios de la enfermedad, que padecen de fuertes dolores asociados a su proceso patológico, pero que no responden a los opioides ni a la ziconotida.

Y respecto a la ziconotida, podemos señalar sus ventajas (eficacia ampliamente demostrada en estudios aleatorizados; mayor potencia que la morfina; no presenta fenómenos de tolerancia ni existe el riesgo del síndrome de retirada, por lo que puede suspenderse el tratamiento de forma abrupta, si se precisa; no hay peligro de efectos adversos de alto riesgo en caso de sobredosis, como por ejemplo, depresión respiratoria)<sup>3</sup> pero no podemos silenciar sus inconvenientes, pues debe investigarse para intentar solventarlos<sup>1</sup>.

El principal inconveniente es la vía de administración. La ziconotida es un péptido, por lo tanto será degradado por las peptidasas (ubicuas en el organismo) y, además, al ser una molécula tan grande, no atravesará la barrera hematoencefálica. Dado que su diana se encuentra en la medula espinal, se hace fundamental que el fármaco pueda llegar hasta el sistema nervioso central, por lo tanto, es imprescindible atravesar la barrera hematoencefálica. Hasta el momento, el único recurso galénico disponible es la inyección intratecal (Figura 20) de modo que el fármaco acceda directamente al líquido cefalorraquídeo, con las complicaciones que esta técnica conlleva.

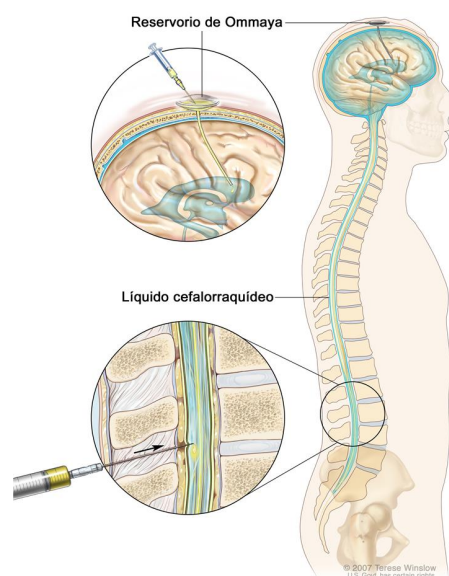


Figura 20

Al depositar el fármaco directamente en su lugar de acción, no se dan procesos farmacocinéticos tales como la absorción o la distribución, y se evita, como es lógico, el efecto de primer paso. Por lo tanto, la dosis necesaria para alcanzar la eficacia deseada es menor que en otras formas de administración. De este modo, será interesante avanzar en la investigación galénica para descubrir nuevos dispositivos que puedan ser implantados de forma permanente en los pacientes y que liberen de forma periódica y controlada pequeñas dosis del fármaco en el lugar de acción y cuando sea necesario, de manera que no sea necesaria la inyección, sino que se pueda controlar de forma externa la liberación de la dosis.

## CONCLUSIONES:

El tratamiento del dolor es uno de los grandes retos de la historia de la medicina. El dolor es una sensación potencialmente incapacitante que impide cualquier actividad y que condiciona la calidad de vida. Desde su descubrimiento, el opio y, principalmente, su alcaloide mayoritario, la morfina, han sido los tratamientos de elección en los estadíos más graves de los procesos dolorosos. Durante los siglos XIX y XX se avanzó a través del desarrollo de la química y se consiguieron fármacos derivados que mejoraban las propiedades farmacocinéticas o que aumentaban su actividad. Por lo tanto, la terapia analgésica en los peldaños más altos de la escalera quedaba exclusivamente conquistada por medicamentos con mecanismo de acción opioide.

Pero, como hemos visto, estos fármacos adolecen de graves efectos adversos. El primero de ellos está relacionado con los fenómenos de tolerancia y dependencia, de forma que gradualmente se hacen necesarias mayores dosis de analgésico para conseguir el mismo efecto, con la complicación añadida de que la terapia no se puede retirar por el grave riesgo que entraña el síndrome de abstinencia. Por otro lado, uno de los efectos adversos más preocupantes es la depresión respiratoria, que puede conducir a la muerte en los casos más extremos, como, por ejemplo, en la sobredosificación.

Y todo eso sin olvidar otros efectos adversos comunes que, si bien no ponen en riesgo la vida del paciente, sí comprometen su calidad. El más característico de todos es el estreñimiento inherente al tratamiento con opiáceos, pero también encontramos somnolencia, náuseas y vómitos. Por último, es necesario tener en cuenta que hay pacientes que, por sus características especiales fisiológicas o fenotípicas, son intolerantes al tratamiento con derivados del opio.

Por todo esto se hace necesaria una investigación profunda que conduzca al hallazgo de nuevos analgésicos potentes que actúen por distintos mecanismos a los conocidos hasta ahora. El veneno de algunos animales marinos se está revelando como una fuente de moléculas con potencial analgésico que permite no solo encontrar nuevos fármacos que se pongan al servicio del arsenal terapéutico, como es el caso del Prialt®, sino también descubrir nuevos mecanismos fisiológicos de analgesia y nuevas rutas de conducción del dolor para así identificar nuevas dianas para posibles futuras moléculas analgésicas que intervengan sobre estos mecanismos en lugar de los tradicionales agonistas de los receptores  $\mu$ .

El principal inconveniente de estas moléculas encontradas en los venenos es que, en general (y, con la excepción del veneno de la anémona marina *Stichodactyla haddoni*, de cuyo compuesto activo aún se desconoce la naturaleza) se trata de péptidos de mayor o menor tamaño. Este hecho condiciona toda la farmacocinética del fármaco, pues impide la absorción por vía oral (cualquier péptido será destruido en el proceso digestivo) y también el paso a través de las membranas celulares. Esto obligaría a la administración, en todo caso, por vía intravenosa, pero, como ya hemos señalado, al tratarse de un péptido tampoco es capaz de

atravesar la barrera hematoencefálica y, teniendo en cuenta que su lugar de acción se halla en el sistema nervioso central, la única vía de administración posible es la complicada vía intratecal. En esto contrasta fuertemente con los tratamientos tradicionales a base de opiáceos y opioides pues, en general, estos tienen buena biodisponibilidad incluso por vía oral.

Otro inconveniente que encontramos en las moléculas analgésicas nuevas es su alto precio, sobre todo si las comparamos con los tratamientos a base de derivados de la morfina. En cualquier caso, la puerta a la investigación sigue abierta y las nuevas dianas contra el dolor están siendo puestas de manifiesto a través del descubrimiento de moléculas y péptidos procedentes de animales marinos, con lo que en el futuro pueden desarrollarse fármacos sintéticos o derivados de los naturales que actúen sobre esas dianas y que puedan administrarse por una vía más cómoda y alcancen un precio más eficiente.

Los fondos marinos aún se encuentran prácticamente inexplorados. El biólogo estadounidense Paul Clerkin dice que “conocemos mejor la Luna que nuestros océanos”. La mayor parte de la biodiversidad marina permanece desconocida para el ser humano, tanto si nos referimos a especies animales, como si nos referimos a especies vegetales o a hongos, bacterias o arqueas. Esta gran cantidad de seres vivos ha evolucionado en sus distintos ecosistemas desarrollando sistemas de defensa, sistemas de ataque o, simplemente, sistemas metabólicos que, potencialmente, pueden contener moléculas activas no solo frente al tratamiento del dolor, sino también frente a enfermedades como el cáncer, las distintas dislipemias, los trastornos hematológicos o las patologías de base inflamatoria.

La investigación de los recursos marinos es una puerta abierta en el siglo XXI. Tanto los venenos como los metabolitos primarios y secundarios (e incluso las sustancias de desecho) pueden contener la solución a algún problema de salud de nuestra sociedad actual. El reto consiste en encontrar entre toda la biodiversidad la molécula adecuada. Pero son estos retos los que inspiran al ser humano y los que son capaces de tirar del carro de la ciencia.

## **BIBLIOGRAFÍA**

1. Burdge G, Leach H, Walsh K. *Ziconotide-induced psychosis: A case report and literature review*. Men Health Clinician. 2018; 5(8): p. 242-246.
2. Calvo-Mosquera G, González-Cal A, Martínez-Nieto GA, Pita-Pardo L, Calvo-Rodríguez D, Primucci CJ, et al. *Un veneno para el dolor. El ziconotide*. Farmacéuticos de Atención Primaria. 2012 Enero; 10(3): p. 55-77.
3. Deer TR, Pope JE, Hanes MC, McDowell GC. *Intrathecal Therapy for Chronic Pain: A Review of Morphine and Ziconotide as Firstline Options*. Pain Medicine. 2018;; p. 1-15.
4. International Association for the Study of Pain (IASP). Sitio Web de International Association for the Study of Pain (IASP). [Online]; 2018 [cited 2019 Febrero]. Available from: <https://www.iasp-pain.org>.
5. Lee JY, Orlikova B, Diederich M. *Signal Transducers and Activators of Transcription (STAT) Regulatory Networks in Marine Organisms: From Physiological Observations towards Marine Drug Discovery*. Marine Drugs. 2015 August;(13): p. 4967-4984.
6. M. Olivera B. *Conus Peptides: Biodiversity-based Discovery and Exogenomics*. The Journal of Biological Chemistry. 2006 August;(281): p. 31173-31177.
7. Moghadasi Z, Jamili S, Shahbazadeh D, Pooshang K. *Toxicity and Potential Pharmacological Activities in the Persian Gulf Venomous Sea Anemone, Stichodactyla haddoni*. Iranian Journal of Pharmaceutical Research. 2018; 3(17): p. 940-955.
8. Organización Mundial de la Salud. Sitio Web Organización Mundial de la Salud. [Online].; 2019 [cited 2019 Febrero]. Available from: <https://www.who.int/es>.
9. Pope JE, Deer TR. *Ziconotide: a clinical update and pharmacologic review*. Expert Opinion Pharmacotherapy. 2013; 7(14): p. 957-966.
10. Rang HP, Dale MM, Ritter JM, Moore PK. *Farmacología*. 5th ed. Madrid: Elsevier; 2003.

11. Safavi-Hemami H, Brogan SE, Olivera BM. *Pain therapeutics from cone snail venoms: From Ziconotide to novel non-opioid pathways*. Journal of Proteomics. 2019;(190): p. 12-20.
12. Schroeder CI, Lewis RJ.  *$\omega$ -Conotoxins GVIA, MVIIA and CVID: SAR and Clinical Potential*. Marine drugs. 2006 Abril; 4(3): p. 193-214.
13. Societat Catalana d'Anestesiologia, Reanimació i Terapèutica del Dolor. Sitio Web de Societat Catalana d'Anestesiologia, Reanimació i Terapèutica del Dolor. [Online].; 2019 [cited 2019 Febrero. Available from: <http://www.scartd.org>.
14. Sousa SR, McArthur JR, Brust A, Bhola RF, Rosengren KJ, Ragnarsson L, et al. *Novel analgesic omega conotoxins from the vermivorous cone snail Conus moncuri provide new insights into the evolution of conopeptides*. Nature. 2018 Septiembre 07; 8(13397).
15. Universidad Autónoma de Baja California Sur. Sitio Web Biblioteca de la Universidad Autónoma de Baja California Sur. [Online]. [cited 2019 Febrero. Available from: <http://biblio.uabcs.mx>.
16. Vista al mar. Sitio Web Vista al mar. [Online].; 2017 [cited 2019 Febrero. Available from: <https://www.vistaalmar.es/ciencia-tecnologia/medicina/6412-alternativa-opioides.html>.
17. Zhang MM, Green BR, Catlin P, Fiedler B, Azam L, Chadwick A, et al. *Structure/Function Characterization of mu Conotoxin KIIIA, an Analgesic, Nearly Irreversible Blocker of Mammalian Neuronal Sodium Channels*. The Journal of Biological Chemistry. 2007 August 27;(282): p. 30699-30706.