

Revista Facultad de Farmacia Universidad Central de Venezuela

Vol. 68 - Nos. 1-2 - 2005 - ISSN: 0041-8307
Depósito legal: 195902 DF 224
Caracas/Venezuela

LILACS

(Hasta junio 2005)

Universidad Central de Venezuela

Rector

Dr. Giuseppe Giannetto

Vicerrector Académico

Dr. Ernesto González

Vicerrector Administrativo

Dr. Manuel Mariña

Secretaria

Dra. Elizabeth Marval

Facultad de Farmacia

Decano

Dr. Orlando Vizcarrondo M.

Director

Dr. Antonio Roye D.

Coordinadora Académica

Dra. Norma Morante de Rekowski

Directora del Instituto de Investigaciones

Dra. Alba M. Vargas

Director de Postgrado

Dr. Jaime Charris

Coordinadora de Extensión

Dra. Erika Holzhauser

Revista Facultad de Farmacia

Directora

Dra. Alba M. Vargas

Editora:

Dra. Fanny Carrillo de Padilla

Comité Editorial

Dra. Yarisma Rodríguez de Barbella

Dra. Ana Stern de Israel

Dra. Pilar Hernández S.

Dra. Beatriz Gentile de Illeano

Dr. Andrés Scarioni

Dra. Mary I. Cordero de Troconis

Dra. Aracelis Ortega

Dr. Héctor Scannone

Dr. Rafael Mucci

Dr. Eduardo Martín

Dr. Solón N. Suárez

Dra. María C. Condado

(Desde junio 2005)

Universidad Central de Venezuela

Rector

Dr. Antonio París

Vicerrector Académico

Dr. Eleazar Narváez

Vicerrectora Administrativa

Dra. Elizabeth Marval

Secretaria

Dra. Cecilia García-Arocha

Facultad de Farmacia

Decano

Dr. Orlando Vizcarrondo Monagas

Director

Dr. Gerard Haiek

Coordinadora Académica

Dra. Sofía Gutiérrez

Directora del Instituto de Investigaciones

Dra. Anita Stern Israel

Directora de Postgrado

Dra. Miriam Regnault

Coordinadora de Extensión

Dra. Consuelo Araujo de Vizcarrondo

Revista Facultad de Farmacia

Directora

Dra. Anita Stern Israel

Editora

Dra. Anita Stern Israel

Editora Asociada

Dra. Fanny Carrillo de Padilla

Comité Editorial

Dra. María Margarita Salazar Bookaman

Dra. Alírica Suárez

Dra. María del Rosario Garrido

Dr. Jaime Charris

Dr. Carlos Ayala

Dra. Gisela Ávila

Dr. Rafael Mucci

Dra. Aracelis Ortega

Dra. María Cecilia de Condado

Diagramación, composición, montaje e impresión

Miguel Ángel García e Hijo, S.R.L.

Sur 15, N° 107 - El Conde - Telf. 576.13.62 • Caracas-Venezuela

Tiraje: 500 ejemplares - Abril 2006

Dirección

Facultad de Farmacia UCV - Apartado 40.109 • Caracas 1040-A - Venezuela

Contenido

TEMAS PARA PENSAR 3
Gerencia Farmacéutica

IGNACIO BURGOS

Chemical Constituents from *Croton huberi* 14
Constituyentes químicos de *Croton huberi*

**ALÍRICA I. SUÁREZ, EDUARDO TAPIAS,
REINALDO S. COMPAGNONE,
STEPHEN TILLET, BETH DÍAZ,
DILSIA CANELÓN, ZULEIMA BLANCO**

Elucidación estructural y evaluación 19
biológica del fitoestrógeno ferutinina aislado
de *Ferula hermonis* (umbeliferae)

**TRINA COLMAN, PAULO BOUTROS, ÁNGEL E. AMESTY,
ALÍ BAHAS, YAIRA MATHISON,
MARÍA DEL ROSARIO GARRIDO Y ANITA ISRAEL**

Química de coordinación como un arma 27
para el desarrollo de potenciales
drogas antimaláricas.
Estudio de los posibles mecanismos de acción

CAMACHO, J.; FERRER, R.; MALDONADO, A.; NAVARRO M.

Metalofármacos vs Cáncer 38

CAMACHO, J.; FERRER, R.; MALDONADO, A.; NAVARRO, M.

El Jardín Medicinal de la Revista

Higo, *Ficus carica L.* 50

Gerencia Farmacéutica

IGNACIO BURGOS

RESUMEN

Se presentan un serie de experiencias y conceptos gerenciales que consideramos muy útiles para el ejercicio profesional farmacéutico, tanto del Farmacéutico Regente como del Auxiliar, orientados a incrementar la productividad económica de la Oficina de Farmacia, a través del enriquecimiento de los procesos operacionales de trabajo dirigidos a mejorar la calidad de servicio, con el fin de estimular la recompra, manteniendo la fidelidad del cliente.

Palabras clave: Productividad, fidelidad.

Abstract

Several experiences and managerial concepts that we consider very useful for the pharmaceutical practice of both the Pharmacist and the Assistant, are included here. They are oriented to improve the economical productivity of the Drugstore Office, through the enrichment of the operational work processes, addressed to improve the quality of service with the purpose of stimulating future purchases, thus maintaining customer's loyalty.

Key words: Productivity, loyalty.

Introducción

Son muchos los temas que abarca la gerencia de la Oficina de Farmacia con los cuales el Farmacéutico Regente-Gerente debe estar familiarizado, particularmente en esta era de globalización y del conocimiento. Como un aporte al conocimiento del Farmacéutico-Regente Gerente nos abocaremos a presentar las experiencias vividas, tanto por nosotros como por otros colegas, mediante el desarrollo de temas tales como Conceptos Gerenciales, Líder y Liderazgo, Motivación, Delegación de Autoridad, Cambio, Agregación de Valor y Negociación.

Conceptos Gerenciales

La gerencia de la Oficina de Farmacia tiene la noble pero delicada labor de dispensar medicamentos, aconsejar a los pacientes y proporcionar la mejor calidad de servicios a los consumidores.

Si analizamos la definición sobre lo que es un gerente, podremos apreciar que dentro de la Oficina de Farmacia todos, o casi todos, pueden ser gerentes. Así, definimos como gerente a toda persona, hombre o mujer, que con sus acciones enriquecen todo lo que hacen y desarrollan a su gente para que agreguen valor, produciendo resultados en función de calidad, tiempo y costo, con el fin de satisfacer siempre al cliente. Esto es una realidad porque, en última instancia, el que paga nuestro salario es el cliente y en función de la calidad de nuestro servicio volverá a nuestra Oficina de Farmacia a comprar de nuevo, y esto es lo que estimulará la recompra.

Si aceptamos como buena esta definición de gerente, la pregunta que cabe hacer ahora es cómo definimos la gerencia. Simplemente, gerencia es el arte de dirigir gente, pues la gente es la que hace importante a la organización. El Farmacéutico debe dirigir a su gente a través de la constancia en la razón de ser

* Facultad de Farmacia. Postgrado de Mercadeo. Universidad Central de Venezuela.

de su negocio, la consistencia en la toma de decisiones, la motivación de su gente, la continuidad de su personal, la coherencia en sus actuaciones, la calidad del todo, el compromiso, es decir, la «obligación voluntaria» de ser el mejor, la comunicación de ida y vuelta y el estar alerta al cambio pues, aunque parezca una paradoja, el cambio es la única variable constante. Y todo esto, ¿para qué? Pues simplemente para satisfacer las necesidades del cliente y estimular la recompra a través de la fidelización.

Como puede apreciarse, la Gerencia Farmacéutica está sometida a un reto constante y por ello debe adquirir nueva tecnología, porque haciendo siempre lo mismo no podremos obtener algo diferente. Ante esta realidad el Regente-Gerente debe estimular la calidad del todo, la productividad y competitividad, la cantidad demandada (recompra), la innovación en valor y la creatividad de su personal con el fin de satisfacer consistentemente al cliente. El primer colaborador que el Farmacéutico va a encontrar en esta labor gerencial es el Auxiliar.

Pero el Regente-Gerente también, paralelamente, tiene que eliminar desperdicios en general, es decir, todo lo que no agregue valor, como exceso de inventarios, inversiones no necesarias, baja calidad del servicio al consumidor; también debe cuidarse mucho del flujo de caja negativo, entrar en proyectos que no agreguen valor o aquellos cuya utilidad está por debajo de la inflación y/o costo del dinero y que no tenga perspectivas de mejorar a corto plazo; y, finalmente, la no orientación al cliente.

Para todo ello, el Regente-Gerente requiere tener una serie de habilidades, las cuales resumiríamos en las siguientes: habilidad técnica, o sea, el conocimiento profundo del negocio al cual está dedicado; habilidad humanística, es decir, la capacidad de relacionarse con sus superiores, pares y subalternos; y habilidad conceptual, que consiste en visualizar los efectos que sobre otras personas o departamentos pudiera tener una decisión a tomar. Las dos primeras pueden aprenderse con relativa facilidad, mas no la tercera pues depende mucho del conocimiento del pensamiento estratégico que tenga el gerente.

No se puede olvidar el tener una política de compensación a sus colaboradores en función de los resultados obtenidos.

En síntesis, podríamos decir que la Gerencia Farmacéutica debe estar orientada al servicio, al cambio, a mejorar las capacidades intelectuales de su personal para obtener innovación permanente y generar utilidades. Todo esto se favorece a través de tener una buena política de servicio orientada a obtener la lealtad del cliente (Burgos, 2004).

Lo importante en un gerente es saber lo que quiere, definir dónde desea que esté su organización en un tiempo definido y llevarla allá a través de decisiones operacionales y estratégicas.

En este orden de ideas, algunos conceptos útiles para todos los miembros de la Oficina de Farmacia, se podrían iniciar estableciendo que las dimensiones críticas de las empresas del siglo XXI serán (Burgos, 2004):

1. La calidad del todo, es decir, todo lo que hagamos dentro de la Oficina de Farmacia tanto con y a través del personal, para con los clientes, proveedores y nuestros empleados, modificando de ser necesario los procesos (forma de hacer las cosas) que utilizamos para realizar una actividad.
2. Ser líder, es decir, actuar como un servidor, escuchando a su gente, guiándola y ayudándola a que obtenga sus objetivos previamente aprobados por el Regente-Gerente. El líder es un creador de fe.
3. Crear estrategias de diferenciación de la farmacia para que el cliente regrese a comprar, esto es, estimular la recompra.
4. Actuar antes de que el problema se presente y no después y, sobre todo, visualizar oportunidades. Escuchar siempre al cliente.
5. Estimular permanentemente la innovación en valor, pero para lograr esto hay que contar con otras habilidades adicionales a las ya mencionadas (técnica, humanística y conceptual), que son aquellas que se derivan del criterio, es decir, de la capacidad que tiene una persona de diferenciar entre lo que es bueno y lo que no lo es para la empresa. Repetiremos algunas de ellas para completar el concepto, siendo éstas ser líder, manejo de la complejidad, ser retroalimentador a través de una buena red de comunicación a todos los niveles, ser buen planificador para crear estrategias de diferenciación, negociador con mentalidad de ganar-ganar, visionario para poder visualizar el futuro previsible y decisor para tomar decisiones ex-ante y no-expost y eliminar la costumbre de posponer la decisión o decir «esto no se puede hacer» (Monsalve, 1989).

Todo esto nos llevará a establecer cambios estratégicos para definir las actividades que eleven la productividad a través de la agregación de valor y como función de rentabilidad, trabajar todos como un equipo, capacitar a todo el personal para globalizar el conocimiento, incrementar la orientación y relación con el consumidor y aumentar la innovación en valor para

mejorar la competitividad. No olvidemos que el tiempo se comprime, los mercados se estrechan y el dinero se concentra (Deming, 1989).

Pero para lograr todo ello el Regente-Gerente debe adquirir nuevos valores y transmitirlos a todo el personal, y estos serían: preparar más a su gente, estar permanentemente alerta ante el cambio y el servicio al cliente, tener mayor flexibilidad organizacional y delegación de autoridad, estimular la innovación y creatividad y los deseos de ser el mejor. Con todo esto, el Regente-Gerente y el Auxiliar podrán obtener una mayor calidad gerencial, entendiendo por este término a la forma de pensar y actuar que se manifiesta por privilegiar la innovación y flexibilidad operacional para agregar valor ante el ritmo acelerado del cambio y seguimiento continuo de nuevos y/o potenciales rivales, detectando *ex-ante* las tendencias emergentes. Por ello, podemos decir que los diez factores para obtener la excelencia serían:

1. Trabajo agradable
2. Ser los mejores
3. Correr riesgos/cambio
4. Atención a lo importante
5. Importancia del personal
6. Calidad/productividad/competitividad
7. Comunicación con el cliente interno y externo
8. Eficiencia/agregación de valor
9. Participación activa del Regente y del Auxiliar
10. Compartir los objetivos, la misión y la visión.

Así pues, podemos afirmar que los cinco factores del éxito empresarial se resumen en:

1. Calidad de la gente
2. Calidad de los productos
3. Calidad del servicio
4. Calidad de la innovación
5. Orientación al cliente.

Líder y liderazgo

Este nuevo siglo, requiere más que en el anterior de una mayor calidad de liderazgo estratégico que de conocimientos administrativos, sin querer decir con ello que no debe tener las competencias gerenciales a las que nos referimos anteriormente. También, el Gerente Farmacéutico necesita de una diferente visión estratégica ante nuevos mercados, nuevos nichos, agre-

siva competencia derivada de ofertas, no cumplimiento de horarios ni distancias, etc. mayor competitividad y mayor orientación a la innovación y el compartir su visión con sus colaboradores.

Podemos definir al líder, como toda persona, hombre o mujer, que nutre de esperanza la esperanza, que proporciona raíces (seguridad) y alas (libre imaginación) y que, además, crea sentido de compromiso y de pertenencia, ayudando a su gente a obtener sus propios logros. El líder mejora la comunicación, crea confianza y credibilidad y provee la oportunidad de un futuro mejor pues como dijimos antes, el líder es un creador de fe (Burgos, 2001).

Es cierto que el líder exige un poquito más que el resto, pero no se pasa de rosca y sabe que no tiene que estar pendiente de lo inmediato sino de lo que pueda suceder en el futuro previsible; es, también, un transformador con visión de espíritu de cambio, buen motivador y conductor de voluntades humanas. A través de buena comunicación el líder debe reforzar los valores del grupo; sus resultados se miden por su capacidad de convencer e influenciar a otros. El líder hace que su gente sea eficaz y eficiente.

Las funciones del líder pudieran resumirse en solamente cuatro (Lisio, 2003):

- Crear una visión basada en un hecho previsible.
- Actuar como servidor y escucha para que sus asociados (empleados) logren sus propios objetivos.
- Dar las gracias a sus asociados.
- Comenzar de nuevo.

El líder no debe controlar las olas, sino crearlas para mantener la organización en movimiento acelerado, enseñando, guiando, mejorando la autoestima, dando soporte, entrenando para reconocer errores, delegando autoridad y estimulando la creatividad e innovación.

La experiencia nos ha enseñado que ningún proceso de cambio llega lejos sin la dedicación y soporte de un líder, pues su importancia radica en organizar el cambio y mantenerlo. El cambio no requiere de tiempo sino de compromiso. El líder utiliza el poder como energía para mover y no por autoritarismo.

Para ser líder se requiere estar inconforme con algunos o muchos paradigmas, tener fuertes deseos de generar el cambio, ser un soñador, fuerte compromiso con sus responsabilidades, vocación de hacer algo por alguien o por algo con significado humano. Pero, ¿cómo y cuándo actúa el líder? Haciendo reuniones para encontrar nuevas ideas, cuando hay incertidumbre, confusión y temor (por ejemplo fusión

entre compañías, reestructuración de la propia organización, el ingreso en asociaciones estratégicas, en la creación de unidades estratégicas de negocios, etcétera); cuando hay que analizar escenarios a futuro tanto económicos como políticos, como sociales o ambientales; cuando se desea cambiar la imagen de su Oficina de Farmacia a través de la calidad de servicio; cuando es necesario alcanzar una meta elevada identificándola claramente y compartiéndola con su personal; cuando es necesario que la gente de la farmacia se sienta orgullosa de la empresa y de sus valores.

Nuestros Regentes-Gerentes, conjuntamente con los Auxiliares, tienen que ser líderes a la vez, pues no puede haber una buena gerencia si no existe un líder, es decir, un «Gerenlíder», ya que tenemos que aceptar que se gerencian cosas pero se liderizan personas.

Lo que el líder debe tener muy en cuenta es que no se interprete su actuación como manipulación de su gente. Por ello, el discurso del líder debe transmitir:

- Visión de futuro – Mensaje positivo – Esperanza.
- Optimismo, Confianza, Certidumbre, Emoción, Persuasión positiva, Involucramiento, Claridad, Precisión, Concisión, Inculcación de valores, Celebración del éxito.

El Gerente-Líder o «Gerenlíder», al no estar conforme con lo que existe rompe paradigmas, estimula la innovación en valor y la calidad intelectual de su personal, pues está convencido que en esta sociedad del conocimiento el líder transformacional que comparte es lo que le lleva a la gerencia de excelencia.

Podemos definir el concepto de liderazgo, como la capacidad para movilizar a la gente hacia un alto nivel de desarrollo intelectual y de logro ante el reto, teniendo en cuenta los valores, las estrategias y principios de una organización, léase Oficina de Farmacia.

Esta función de liderazgo supone cinco cualidades básicas (Willson, 1996):

1. La responsabilidad individual del gerente líder de iniciar y sostener el cambio.
2. La capacidad para crear una visión y una estrategia compartida.
3. La destreza para crear confianza y potenciar el desarrollo de los seguidores en un marco de ética, a pesar de la incertidumbre, ambigüedad y riesgo.
4. La habilidad para lograr resultados efectivos en forma continua y eficiente.
5. Tener un elevado sentido de la realidad y mucho coraje para romper paradigmas y originar el cambio.

El liderazgo es, también, la capacidad que tiene una persona para inducir la aceptación voluntaria de terceros sobre un amplio rango de aspectos, haciendo que sus seguidores alteren sus preferencias para hacerlas coincidir con la suya a través de la innovación, motivación y toma de decisiones. El liderazgo tiene como principio básico el ofrecer y estimular soluciones innovadoras distintivas, siendo una combinación exclusiva de pensamiento y sentimiento, de intuición y análisis.

Para algunos autores existe clara diferencia entre gerente y líder, siendo esto cierto si el gerente no tiene capacidad de liderazgo; sin embargo, pensamos que todo buen gerente tiene que ser líder ya que de lo contrario sólo tendrá cualidades administrativas, siendo esto insuficiente hoy en día, pues necesitamos un «gerenlíder» (Schultz, 1991).

Se han establecidos diferencias entre gerente y líder, y se enumeran a continuación:

GERENTE	LIDER
Focaliza sólo el presente	Enfatiza el futuro
Realiza tareas	Piensa en el mañana
Controla	Inspira
Maneja cosas	Lideriza a su gente
Cadena de mando	Delega autoridad
Orientado al mercado	Orientado al cliente
Soluciona problemas	Evita problemas
Maneja el riesgo	Busca oportunidades
Mantiene	Crece
Paradigmático	Rompe paradigmas
Utiliza el poder	Usa su influencia
Crea reglas	Enseña con el ejemplo
Entrena	Aumenta la autoestima
Controla	Previene
Es precavido	Experimenta
Mantiene procedimientos	Rompe la rutina/ corre riesgos

Lo ideal, en la práctica, es que en una misma persona se encuentren las características que diferencian a un gerente de un líder para tener un «gerenlíder».

Como es lógico, existen varios estilos de liderazgo, cada uno con sus propias características de actuación, así tenemos:

– Liderazgo situacional: Estilo que se orienta a desarrollar gente a través del tiempo con el fin de obtener un máximo nivel de rendimiento en su trabajo y que pueda, en un futuro, obtener posiciones más importantes dentro de la organización. Esto es lo que se entiende por «desarrollar una organización», pues la

empresa crece por la calidad de su gente. Lo que se persigue con este estilo de liderazgo es mejorar la competencia (conocimiento) y el nivel de compromiso del empleado (desarrollo) frente a metas preestablecidas.

– Liderazgo de dejar hacer: Estilo que cree que es suficiente delegar autoridad, pero lo que realmente está haciendo es abdicando en lugar de delegando, sintiéndose indecisos los empleados. Este estilo de liderazgo lo que hace es manejar la organización pero no dirigirla.

– Liderazgo transaccional: Estilo que utiliza el premio y el castigo; se basa en el cumplimiento de los objetivos acordados. Es coercitivo.

– Liderazgo adaptativo: Estilo orientado al cambio generado por actitudes de otros, tales como fusiones, globalización, asociaciones estratégicas y otras situaciones, evitando conflictos para adaptarse a las nuevas normas y culturas.

– Liderazgo compartido: Estilo que delega autoridad para la toma de decisiones, para que la gente corra sus propios riesgos y se sientan responsables de los resultados. Logra la integración de la gente con la misión, valores, principios y objetivos estratégicos participando del pensamiento estratégico de la junta directiva, o del propietario de la Oficina de Farmacia, para obtener la visión. El compartir la visión es más que una idea, es un profundo compromiso con la inspiración de un mañana mejor. La visión compartida a futuro es, antes que mero acatamiento, la que abre las puertas del mañana.

Liderazgo transformacional: Estilo que rompe paradigmas si no está de acuerdo con la forma como se están haciendo las cosas, es visionario, comunicando claramente la visión; es inspirador, pues estimula a

los demás mostrando optimismo y pasión y crea confianza en los otros; es estimulador, generando interés por nuevas ideas y enfoques y estimula a sus seguidores a pensar diferente; es entrenador, proporcionando soporte y confianza en las habilidades de otros para obtener sus expectativas; es creativo, pues forma equipos de trabajo de alto desempeño seleccionando miembros con habilidades y/o aptitudes complementarias y, finalmente, sabe sonreír, algo tan poco frecuente hoy en día.

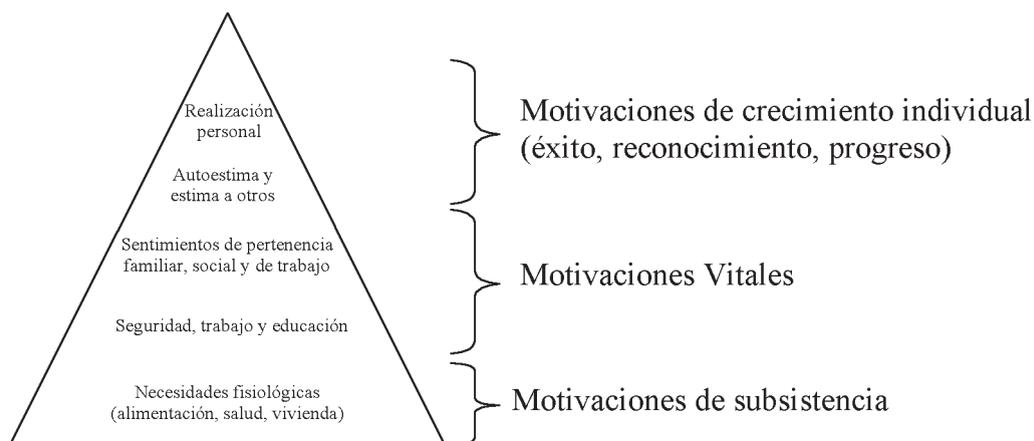
Pensamos que la asociación/combinación de las actitudes del liderazgo transformacional y del compartido forman el líder ideal que el país necesita, pues proporciona profundidad a la existencia creando un horizonte de mejor calidad de vida y más amplia, donde sus sueños y sus ensueños personales destaquen como hitos en la larga travesía del vivir. ¡Esto es liderazgo de excelencia!

Motivación

Una de las funciones más importantes del Farmacéutico-Regente Gerente es la de mantener motivado a su personal para que mejore su autoestima y deseo de progreso personal.

Podemos definir la motivación como el arte de crear y mantener nuevos horizontes siempre abiertos que estimulen a la gente a dar un paso más, para incrementar el valor agregado de la organización y su propia calidad de vida. Es, pues, un conjunto de razones que lo incitan a actuar y el motivador-Regente y Auxiliar deben tener la capacidad de hacer que la gente se esfuerce más y más y con placer.

Maslow es el investigador que más ha trabajado sobre este tema y creó la conocida «jerarquía de las motivaciones básicas», las cuales podemos resumir en siguiente gráfico:



Ante estas realidades, los conceptos en los que se basan las motivaciones son los siguientes:

- El eliminar lo que está mal no necesariamente genera satisfacción, sino compromiso para evitar que suceda de nuevo.
- Controlar menos para vigilar el proceso, estableciendo gestión de prioridades y cumplirlas.
- Involucrar a todos a través de la autogestión de autoridad, lo que significa autonomía de acción y nuevas y más fronteras para que el personal pueda visualizar un futuro.
- La motivación debe llenar el día de un entusiasmo contagioso con lo cual, automáticamente, mejorará la calidad de servicio y el cliente/paciente regresará de nuevo a comprar en la farmacia, es decir, que estaremos estimulando la recompra, conservado así la fidelidad.

Por otro lado, la motivación vence la inercia psicológica a ser pasivo, inculca satisfacción al logro, demuestra que los esfuerzos continuos y coordinados son la respuesta a la Oficina de Farmacia, gracias al desempeño individual de cada uno de los colaboradores y, finalmente, enseña, no castiga.

Existen algunas teorías sobre la motivación, siendo las más conocidas las llamadas teorías Y y X, es decir, la teoría optimista y la pesimista.

En la teoría optimista (Y) se considera que la persona realiza un trabajo intelectual y físico y que el ocio y descanso son normales; la gente busca el cambio, no quiere controles excesivos pues ella misma se autocontrola; buscan responsabilidades y se sienten capaces de resolver problemas (siempre y cuando tenga apropiada delegación de autoridad); la gente busca descentralización, menos jerarquía, objetivos claros y gerencia basada en confianza, además de compensación adecuada a los resultados.

La teoría pesimista (X), por otro lado, dice que la gente tiene que trabajar pero no le gusta; no le gusta el cambio porque distorsiona su tranquilidad y *status*; no quiere responsabilidades pero sí seguridad, buen salario; tiene que ser dirigida pues no tiene iniciativa; y hay que castigarla y controlarla para obtener los objetivos; la gerencia tiene que ser autocrática para que las cosas se hagan.

Como puede observarse, ni lo uno ni lo otro son exactamente reales, depende mucho de la gente y de la calidad humana de todo el personal. Pero, eso sí, la gerencia de la Oficina de Farmacia debe estar orientada a mejorar constantemente la calidad de servicio al cliente/paciente a través de los empleados,

pensando siempre en estimular la recompra y mejorar la autoestima.

Es importante que el Regente Gerente y el Auxiliar se mantengan siempre alertas a los cambios de comportamiento de los empleados, pues si los mismos perciben que sus superiores no están interesados en ellos pueden entrar en un serio proceso negativo que se conoce como desmotivación, siendo la frustración el elemento negativo predominante. Las etapas más importantes de la desmotivación son las siguientes:

- Confusión: no entiende lo que está sucediendo
- Desconfianza: deja de creer en sus superiores
- Autodefensa: hace las cosas para defenderse de otros
- Desilusión: entra en período de desencanto
- Frustración: pérdida de una ilusión/deseo
- Hastío: disgusto, fastidio, tedio.

Estas etapas se van cumpliendo una tras otra casi rigurosamente y generalmente, se deben a dirección pobre, metas muy elevadas del empleado que no es posible cumplirlas, presiones familiares para que progrese más rápido y gane más dinero, presiones sociales cuando se compara con otros amigos que sí alcanzaron sus metas, barreras psicológicas («Yo no puedo»), presiones económicas y nivel de incompetencia (Principio de Peter).

Si la gerencia de la Oficina de Farmacia se mantiene alerta –pues no olvidemos que el cambio es la única variable constante– podrá identificar al empleado frustrado pues manifiesta claros síntomas de disconformidad, tales como criticar constantemente a los superiores; falta con frecuencia al trabajo esperando que se lo reclamen; altas y bajas en el carácter buscando excusas para todo; sueña con situaciones irreales para escapar mentalmente del problema y pide frecuentemente permisos alegando enfermedad; tiene comportamiento infantil y cree y propaga todos los chismes que oye o inventa y finalmente, se vuelve apático y falto de entusiasmo pues ya nada le interesa.

Si bien no es fácil, se puede rescatar a un empleado frustrado. Para ello se requiere de una capacidad de liderazgo bien desarrollada y comunicarse con él abiertamente, preguntándole sus inquietudes, sus desagrados dentro de la Oficina de Farmacia –o fuera de ella–, saber ayudarlo a redefinir sus objetivos haciéndolos más realistas, comprometiéndose a colaborar con él en la obtención de los mismos y hacer reuniones periódicas para conocer el estado de progreso del proceso. Sin duda alguna esta actitud aumentará el grado de autoestima del empleado. No es un trabajo fácil, pero bien vale el esfuerzo si el empleado tiene potencial.

Diferente es el caso del empleado que ya se encuentra en la etapa de hastío, pues aquí no hay nada que hacer para recuperarlo y es preferible llegar a un acuerdo con él para evitar fricciones y contaminaciones de salida.

De todas maneras el Regente Gerente tiene necesidad de transmitir conocimientos, futuro y deseos de compromiso y de pertenencia.

Delegación de autoridad

En la Oficina de Farmacia –al igual que en cualquier organización, empresarial o no– se requiere delegar acciones y funciones, pues el Regente Gerente y/o Auxiliar no pueden tomar todas las decisiones porque ni tienen tiempo para hacerlo, ni necesariamente pueden tener el conocimiento para la realización de todas las actividades normales o contingentes que se presentan a diario.

La delegación, más que un proceso, es una actitud que consiste en dar autoridad a otro para que actúe en lugar de uno; es dar confianza y la palabra confianza viene de «con fe», es decir, que al delegar tenemos la fe de que el que recibe la delegación hará las cosas bien, desde la primera vez, siempre y para siempre.

La delegación proporciona guía, dirección, fronteras a los empleados, estimula la creatividad e iniciativa individual, generando optimismo, mejorando la comunicación y satisfacción al sentirse «parte de».

Es muy importante que hagamos uso de esta función pues si no delegamos nos pasaremos el tiempo contestando preguntas de otros; si delegamos, los que reciben la delegación contestarán las nuestras.

El proceso de la delegación es tan simple o complejo como el que delega quiera que sea. Si existe un claro criterio de la necesidad de delegar, el proceso es muy simple, pero si este criterio no existe la delegación es tortuosa, la gente se siente insegura; teme, por lo tanto, tomar decisiones y en lugar de obtener una gerencia proactiva lo que sucede es que hay que empezar a gerenciar por crisis. Esta gerencia por crisis, indicaría que no hay una clara delegación de autoridad aunque si de culpa. Pero seamos positivos, veamos un proceso simple de delegación positiva de autoridad: hay que definir primero qué es lo que se va a delegar, incluyendo objetivos específicos; después, tiene que seleccionarse la persona que va a recibir la delegación, teniendo en cuenta sus capacidades intelectuales, interés en aceptar más responsabilidades, motivación a resultados y tiempo que durará la delegación.

Como se sabe, la delegación puede ser para un determinado proyecto específico y al finalizar el mismo la misma desaparece; departamental por un tiempo

predeterminado (por ausencia temporal del jefe del departamento) o por tiempo indefinido, como sería el caso del Regente-Gerente y/o Auxiliar en la Oficina de Farmacia, o un Gerente/Director en una organización empresarial. Además, y volviendo al proceso básico de delegación, se debe definir qué tipo de entrenamiento necesitaría la persona para poder ser exitosa, debe suministrársele instrucciones claras, mantener muy buena comunicación y retroalimentación constante, sobre todo las primeras veces, siendo todo ello de doble vía. Finalmente, se deben definir la responsabilidad, la autoridad y poder y establecer límites (Burgos, 1994).

La pregunta que cabe en este momento es: ¿cuáles son los síntomas de una delegación pobre? Algunos de ellos aparecen de seguidas:

- Planificación insuficiente
- Frecuentes órdenes y contraórdenes
- Control excesivo o deficiente
- Excesiva presión
- Crítica constante a superiores y subalternos
- Falta de políticas
- Falta de objetivos de futuro
- Esfuerzos desorganizados
- No trabajo en equipo
- Lenta toma de decisiones.

Pero, ¿por qué esto es así? Porque una delegación pobre, se caracteriza por:

- Temor a perder el control
- Temor a que otro lo haga mejor y el superior quede al descubierto
- Falta de conocimiento de cómo delegar
- Se delegan actividades, pero no resultados
- Se confunden prioridades con objetivos y metas
- Insuficiente conocimiento de la función gerencial (capacidades gerenciales)
- Mentalidad autocrática
- Insuficiente autoridad recibida por la gerencia de parte de la junta directiva.

Algo que sucede en nuestro medio es que la gerencia cree que al delegar pierde poder, cuando en realidad gana más y más poder sobre la gente, pues el personal que recibe la delegación tiene que responder ante la muestra de confianza que la gerencia ha depositado en ella.

Cambio

Cambio es la única variable constante. ¿Cómo puede ser variable y a la vez constante? Esto pareciera ser una paradoja, pero es una realidad pues, cambio es un movimiento permanente del estado del pensamiento conjunto de la gente que los mueve de un punto–**hoy**– respecto a otro fijado con anterioridad–**ayer**– para obtener algo diferente–**mañana**.

Es, también, una corriente de opinión que se mueve en muchas ocasiones a gran velocidad, sobre todo ante la constante y creciente incertidumbre que vive nuestro país. Por ello, el Regente-Gerente al igual que el Auxiliar, deben estar permanentemente pendientes del cambio para que los pacientes/clientes regresen a su Oficina de Farmacia y compren de nuevo. Por esto, es necesario hacer la organización más flexible, de tal manera que pueda mejorarse su capacidad de respuesta.

El cambio es normal y según el profesor De Bono (2006), es la evaluación gradual originada por presiones económicas y ecológicas y por otras necesidades como mejora de la calidad de vida, igualdad racial y política.

La palabra cambio significa tanto problema como oportunidad. En el idioma chino la palabra cambio está compuesto de dos cortas palabras, siendo una «WEI», que significa problema y la otra «YI» que significa oportunidad (WEI-YI). Si visualizamos el cambio podremos aprovechar la oportunidad primero que otros; si no lo visualizamos, entraremos en problemas, pues tendremos que adaptarnos a lo que otros hagan.

La pregunta que podríamos hacernos ahora es: ¿cuáles son los síntomas que nos indican que tenemos que realizar un cambio estructural en la Oficina de Farmacia? Podríamos resumirlos en los siguientes:

1. Pérdida de la clientela
2. Problemas que se repiten
3. Deficiente calidad de servicio a clientes
4. Constantes trabajos de emergencia
5. Inventarios desbalanceados/fallas
6. Repetidas solicitudes de ayuda
7. Conflictos entre los empleados
8. Otros.

Para poder afrontarlos, el Regente-Gerente acompañado del Auxiliar, debe comenzar por analizar la calidad y cantidad de sus empleados, si tienen engorrosos sistemas administrativos, poca claridad en las metas, temor a cometer errores y por lo tanto no toman decisiones y sentirse más importantes que útiles.

También, el análisis debe contemplar el hacer un estudio de las ventas de las farmacias vecinas y qué tipo de descuentos otorgan y con cuánta periodicidad, qué cambios están sufriendo las preferencias del consumidor y si el cliente está exigiendo más calidad de servicio que el que nosotros estamos ofreciéndole.

Es importante hacer este estudio con cierta frecuencia, pero lo más significativo es la capacidad de inferencia del gerente, es decir, la aptitud de obtener la información verdadera de la averiguación realizada

Cuando el Regente-Gerente analiza estos elementos y desea realizar el cambio para mejorar se encontrará, la mayoría de las veces, con la resistencia al cambio por parte de los empleados. Esta resistencia al cambio se debe frecuentemente a que se destruye su rutina de trabajo, o que teme perder el puesto pues pudiera dejar al descubierto al empleado ineficiente, o temor a fracasar, o a correr riesgos, a perder el poder y el «status quo»; también, todo cambio que no está bien explicado y razonado por la gerencia aumenta la tensión, la ansiedad y la incertidumbre.

En muchas ocasiones cuando se desea que los superiores aprueben un cambio, se peca de exceso de optimismo, exagerándose los resultados, no anticipando costos adicionales; tiempo optimista para su implementación y finalización; planes incompletos que no incluyen contingencias y comunicación deficiente al personal.

Todo esto es cierto pero, también, contamos con técnicas para facilitar el cambio; un ejemplo sería el siguiente:

1. Nombrar un jefe de proyecto de cambio
2. Anticipar el cambio para:
 - Hacer ver lo inadecuado de los métodos y/o procesos actuales.
 - Informar lo que se piensa hacer y el porqué.
 - Pedir y escuchar sugerencias.
 - Buscar y obtener la participación entusiasta de todos los involucrados.
 - Informar que el cambio no está diseñado para perjudicar a nadie sino para aumentar la competitividad.
3. Aceptar sugerencias y discutir las para ganar actitudes.
4. Facilitar los cambios entre grupos y dentro de los grupos:
 - Oír las quejas y diferenciarlas entre las legítimas y las interesadas.

- Evitar conflictos.
- Entrenar al personal para facilitar el cambio y dar tiempo para su adaptación.
- Mantener control constante e informar de los resultados que se van obteniendo.

La Oficina de Farmacia puede realizar cambios inteligentes y hacerse preguntas, tales como:

- ¿Cómo deberíamos cambiar para responder a las necesidades de hoy y de mañana de los clientes/pacientes?
- ¿En qué forma deberíamos completar nuestros productos/servicios?
- ¿Cómo haríamos para mejorar constantemente nuestra calidad de servicio?
- ¿Deberíamos entrar en franquicias?
- ¿Que tipo de personal necesitamos para afrontar con éxito el cambio?

Agregación de valor

Si el pasado sólo sirve para inventar el futuro, gerenciar, y particularmente en la Oficina de Farmacia, supone un trabajo sin descanso, una vigilancia permanente y externa, una voluntad en constante tensión y una permanente vigilancia del cambio.

Es una realidad que en el mundo de la excelencia no tiene cabida la mediocridad y de ahí la necesidad de descubrir y utilizar el capital intelectual, que tiene como base el talento de la gente dentro de la organización que, estimulado por la economía del conocimiento, le permite a todos los empleados de la farmacia innovar en valor para que, encontrando las necesidades ocultas de los consumidores, puedan ser satisfechas a través de la nueva calidad percibida por la agregación de valor.

Los países son, en la práctica, lo que sus habitantes quieren que sean y, por lo tanto, en nuestro caso, tenemos que enderezar los espejos rompiendo paradigmas del pasado y repensar o crear una nueva visión, haciendo uso no tan sólo de la tecnología mecánica, sino también, y principalmente, del capital intelectual de nuestros empleados.

La Gerencia del siglo XXI, y de ésta no escapa la Gerencia Farmacéutica, debe estar siempre en la búsqueda de una mayor competitividad que asegure la supervivencia de la organización y la obtención de los objetivos estratégicos definidos, dándole el mérito que se merece a la gente que haga que ello sea una realidad, pues tenemos que obtener una mayor y

mejor cantidad de activos intangibles derivados de la calidad intelectual de nuestros empleados, tales como imagen de servicio excelente al consumidor, reconocimiento de marca, reputación como empresa seria ante la comunidad, clientes, proveedores y otros, relacionados o no.

La calidad intelectual del personal permite generar actitudes y valores cuya transmisión eficaz y eficiente para su uso en toda la organización a largo plazo agrega valor a todo lo que la empresa realiza.

La gestión del conocimiento y la búsqueda del talento de los empleados para convertirlos en activo empresarial intelectual de cuyas decisiones dependerá la organización es de vital importancia, pues se incrementará la capacidad de creatividad e innovación de nuestra gente.

Pero, ¿qué significa agregación de valor? Simplemente, es la utilidad adicional que se obtiene con la misma gente, con menor esfuerzo y con menor costo, ya que el enriquecimiento de un bien/servicio/proceso, hace que se incremente el valor percibido por el consumidor.

Inicialmente, la acción más directa de agregación de valor debe concentrarse en utilizar u orientar el conocimiento a objetivos que mejoren el flujo de caja, reduzcan inventarios, disminuyan o eliminen el endeudamiento financiero debido a las elevadas tasas de interés, al buen manejo de las cuentas por pagar y por cobrar, a mejorar el servicio al cliente, generar innovación en servicios que hagan que el consumidor regrese a comprar a su Oficina de Farmacia, y a aumentar la autoestima, motivación y satisfacción de los empleados.

Una de las competencias distintivas que debe tener todo Regente Gerente, y también el Auxiliar, es una gran capacidad de negociación con el fin de aumentar la rentabilidad de la Oficina de Farmacia.

Negociación

Según Monsalve (1989), la negociación es un «proceso en el cual dos o más partes que tienen intereses tanto comunes como opuestos, intercambian información a lo largo de un período con miras a lograr un acuerdo para sus relaciones futuras».

Hoy en día no basta comprar, sino saber negociar la compra, analizando escenarios y buscando alternativas de decisión. No olvidemos que la gente no compra cosas sino valor, es decir, la relación que existe entre calidad y costo.

Cuando uno va a negociar un pedido, o una oferta, o una franquicia o una asociación estratégica, debe analizar previamente las contingencias que pudieran presentarse con el fin de tomar acciones preventivas.

No nos olvidemos que la vida, el trabajo, las diversiones, son siempre procesos de negociación y de decisión.

Cuando no se está preparado para negociar se pueden presentar conflictos, y éstos impiden el poder tener una negociación sincera y con sentido de futuro de lo que uno desea obtener. La negociación, previamente preparada, es una de las mejores maneras de resolver problemas y conflictos, siendo un proceso continuo de aprendizaje mediante el cual las partes se van conociendo.

Como podemos apreciar, las negociaciones pueden ser hechas a nivel operacional y estratégico. La estrategia está relacionada con la política general de la organización y de la cultura empresarial y, también, con la táctica que tiene que ver con el tipo de cláusula o beneficios a discutir y quiénes deben formar parte de los equipos de negociación.

Para comenzar la negociación es necesario que previamente se hayan establecido algunas reglas del juego que la otra parte debe conocer, pues es importante aceptar que existen dos o más decisores racionales, que cada decisor procura alcanzar sus objetivos a través de los medios de que dispone, y que los objetivos de ambos son contrapuestos en muchas ocasiones (Monsalve, 1989).

Por supuesto que al final pueden obtenerse varias soluciones aceptables para ambas partes y es aquí donde entra en juego el análisis de las posibles decisiones haciendo uso de la matriz de contingencias, pues la toma de decisiones es un proceso de aprendizaje continuo que se obtiene y se mejora a medida que se negocia. Tenemos, pues, que estar muy claros de lo que vamos a negociar, establecer los costos de la negociación y las utilidades esperadas para poder evaluar los resultados, utilizando técnicas de negociación que no son más que patrones de conducta y de decisión.

El profesor Villalba (1996) describe sus tácticas competitivas de la siguiente manera:

1. Imponer presión de tiempo, pues las partes deben saber que los costos suben cuanto más tiempo dure la negociación.
2. Ser firme, haciéndole ver a la contraparte que toda petición/concesión debe estar plenamente justificada.
3. Reducir la resistencia del contrario al conceder, mediante la persuasión, mas no la amenaza o por medio de promesa, de que alguna concesión será compensada por otra.
4. Utilizar prominencia, o sea, utilización de alternativas y argumentaciones que tengan preeminencia

para las dos partes, como por ejemplo mejorar la calidad de vida en el trabajo.

5. Desarrollar una relación positiva, pero sin que ello signifique apertura a una relación de amistad.
6. Reducir resentimientos de la contraparte.

Lo importante es tener en cuenta que en toda negociación hay que compartir beneficios y riesgos, estando siempre presente la incertidumbre y en algunos casos la ambigüedad, por la falta de información o por desinformación, lo cual hace que aumente la complejidad de las negociaciones.

Dentro de cada organización, los miembros de los grupos negociadores deben estar de acuerdo con sus respectivas estrategias pues, de lo contrario, se llegaría a obtener un rotundo fracaso en el proceso.

En definitiva, la negociación, es un proceso ordenado que finaliza en la toma de decisiones y podríamos decir que es en sí misma un proceso decisional constante; de ahí la necesidad de conocer y manejar bien el proceso racional y sistemático de la toma de decisiones, sin que esto quiera decir que debemos olvidarnos de la intuición, pues ésta no está carente de toda racionalidad ya que tiene mucho de la experiencia pasada.

En general, existen tres principios básicos o elementales dentro de las técnicas de negociación, siendo las más conocidas las de Pruitt (1991). El autor mencionado expone que los tres modelos básicos de negociar son el de **concesión unilateral**, en que unilateralmente se trata de reducir la distancia entre las demandas de la partes o, lo que es igual, disminuir desde un principio las diferencias; el otro es el **modelo competitivo**, que consiste en ponerse «duro» aplicando tácticas de presión, manipulación y engaño; y, el tercero, el de **coordinación**, en el que ambas partes buscan la forma de colaboración conjunta para llegar a satisfacerse mutuamente. Sin duda alguna, este último principio es el más recomendable.

Las negociaciones se realizan cuando se presenta una oportunidad de mejora, como por ejemplo, descuentos especiales por una cantidad de compra determinada o por pagos adelantados, o por «inventarios virtuales», o por franquicias, etcétera; también, cuando no hay una clara definición de funciones que pueden conducir al conflicto. En realidad, la negociación es un hecho cotidiano en la vida de las personas y de las empresas.

Es importante que los negociadores estén bien preparados para poder obtener buenos resultados, por lo cual el equipo negociador debe realizar una o varias tormentas de ideas para hacer y responder a una serie

de posibles preguntas u objeciones que la contraparte puede hacer. Nada debe dejarse al azar.

El profesor Monsalve (1989) explica que existen tres enfoques estratégicos para negociar, los cuales son **ganar-ganar, ganar-perder y perder-perder**.

En cuanto al primer enfoque, **ganar-ganar**, se presume que las dos partes en negociación están en disposición de colaborar y desean llegar a un arreglo satisfactorio para ambas partes. En la práctica esto no es cierto ciento por ciento, aunque es, sin lugar a dudas, el mejor enfoque estratégico, el cual requiere de una gran capacidad negociadora por ambas partes, demostrar que existe confianza en la otra parte y eliminar por completo las amenazas. Un ejemplo pudiera ser, y es, la discusión de un contrato de manufactura y/o distribución entre dos compañías con intereses comunes. Sobre este tipo de acuerdos hemos tenido experiencias vividas muy enriquecedoras.

La segunda estrategia, **ganar-perder**, indica una fuerte competencia que es, por ejemplo, lo que se observa al discutir las cláusulas económicas de un contrato de trabajo. En este enfoque estratégico la confianza no existe y se utiliza la posición de fuerza; un ejemplo sería un contrato laboral firmado bajo estas circunstancias pues deja heridas que nunca cierran, porque lo que uno gana el otro lo pierde, conociéndose esta situación como tipo «suma cero», y significa abuso de poder.

El tercer enfoque estratégico, **perder-perder**, es cuando la negociación no puede llevarse a término y se llega al conflicto. Ejemplo de esto sería cuando en la discusión de un contrato laboral no se puede llegar a un entendimiento y hay que recurrir a un laudo arbitral.

Finalmente, y aunque menos conocido y utilizado, existe otro modelo de negociación que es el **funambulismo estratégico**, que según Schelling (1960) es la creación intencional de un riesgo reconocible que no puede controlarse del todo. El funambulismo también pudiera ser considerado como una estrategia que lleve al oponente al borde del desastre y obligarlo a echarse hacia atrás, pues es la creación deliberada de un riesgo y las dos partes pueden perder. Se utiliza en casos muy extremos de intimidación.

Para terminar con este resumen sobre negociación, es conveniente recordar que el proceso es un importante instrumento de la gerencia, por lo que el Regente Gerente debe prepararse muy bien y respetar las posiciones y creencias de la contraparte aunque no esté de acuerdo con las mismas, pero teniendo en cuenta que en toda negociación no sólo basta recibir sino que, también, hay que dar.

Referencias bibliográficas

- BURGOS, I.; 2001. *Pensamiento estratégico en el tercer milenio*. Vicerrectorado Académico UCV, Caracas.
- BURGOS, I.; 1994. *Decisión ¿Laberinto Gerencial?* Revista de la Facultad de Farmacia, UCV.
- BURGOS, I.; 2004. *Fidelización*. Revista de la Facultad de Farmacia, vol. 67.
- DE BONO, E.; 2006. *El pensamiento práctico*. Ediciones Paidós Plural, Barcelona, España.
- DEMING, W.E.; 1989. *Calidad, productividad y competitividad: La salida de las crisis*. Ediciones Díaz de Santos, Madrid, España.
- FRANCÉS, A.; 1998. «La otra cara de la competitividad». *El Universal*, Julio 21, p. 2-2 Caracas.
- LISIO, S.; 2003. «Liderazgo para el cambio e innovación. Calidad Empresarial», No. 5, Caracas.
- MONSALVE, T.; 1989. *Estrategias y tácticas de negociación*. Centro Latinoamericano de Administración y Desarrollo, Caracas.
- PRUITT, D.; 1991. *Strategic Choice in Negotiation*. In *Negotiation Theory and Practice*, eds. J. William Breslin and Jeffery Z. Rubin, (Cambridge: The Program on Negotiation at Harvard Law School), pp.27-46.
- SHELLING, T.C.; 1960. *The Strategy of Conflict*, Cambridge, Mass, Harvard University Press.
- SCHULTZ, L.; 1991. *Una manera de ayudar a la gerencia a asumir el liderazgo*. Process Management International. Versión y adaptación de Yrema Román, serie coleccionable, marzo-abril, FIM Productividad. Caracas.
- VILLALBA, J.; 1996. *Papeles de Trabajo*, N° 18, IESA, Caracas.
- WILSON, I.H.; 1996. «The 5 Compasses of Strategic Leadership». *Strategy & Leadership*, 24(2): 26-31.

Recibido: enero 2005
Aceptado: marzo 2005

Chemical Constituents from *Croton huberi*

Constituyentes químicos de *Croton huberi*

ALÍRICA I. SUÁREZ¹, EDUARDO TAPIAS², REINALDO S. COMPAGNONE²,
STEPHEN TILLET¹, BETH DIAZ¹, DILSIA CANELÓN¹, ZULEIMA BLANCO¹

Resumen

La investigación química de los extractos orgánicos obtenidos de las hojas de *Croton huberi* S., condujo al aislamiento de tres flavonoides: *retusin*, *quercitrin* y *tiliroside*. Adicionalmente el norsequiterpeno *blumenol A*, *fitol* y *óxido de cariofileno* fueron igualmente identificados, conjuntamente con el primer aislamiento de fuentes naturales de la *N-metil-5-hidroxy- Δ^3 -pyrrolin-2-ona*. La elucidación estructural de esos metabolitos estuvo basada principalmente en análisis espectroscópico de RMN en 1D y 2D, IR, EM y por comparación con datos de la literatura.

Palabras clave: *Croton huberi*, *Euphorbiaceae*, flavonoides, N-metil-5-hidroxy- Δ^3 -pyrrolin-2-ona.

Abstract

Chemical investigation of organic extracts from the leaves of *Croton huberi* S. resulted in the isolation of three flavonoids: *retusin*, *quercitrin* and *tiliroside*. In addition the norsesquiterpene *blumenol A*, *phytol* and *caryophyllene oxide* were isolated together with the first isolation from a natural source of the *N-methyl-5-hydroxy- Δ^3 -pyrrolin-2-one*. Structure elucidation of these metabolites was based primarily on 1D and 2D NMR analysis, IR, MS and by comparison with literature data.

Key words: *Croton huberi*, *Euphorbiaceae*, flavonoids, N-methyl-5-hydroxy- Δ^3 -pyrrolin-2-one.

Introduction

The *Croton* genus, one of the largest under the Spurge (*Euphorbiaceae*) family contains about 750 species in which many of them have medicinal and toxic properties (Webster, 1999). They are distributed mainly in the tropical and temperate regions of the world; Africa and America are the larger centers of distribution. A considerable number of folkloric uses have been described for different species in Africa and America and a number of isolated compounds from this genus have shown interesting pharmacological activities (Adae-Mensah et al., 1992, Cai et al., 1993).

Many of *Croton* species are used for medicinal purposes, *Croton zehntneri* (Craveiro et al., 1978, Oliveira

et al., 2002) and *C. cajucara* (Lopes et al., 2000) are commonly used in Brazil to treat gastrointestinal disturbances, *Croton lechleri*, is widely used in South America countries for inflammations, gastric ulcers, hound healing and cancer. *Croton nepetaefolius* is used in the folk medicine of Brazil as stomachic, carminative and intestinal antispasmodic (Abdon et al., 2002).

Croton malambo bark is widely used in Venezuela traditional medicine for treatment of diverse diseases such as: diabetes, diarrheas, rheumatism, gastric ulcers, and as anti-inflammatory and analgesic agent. An aqueous extract showed antinociceptive activity in rats (Suárez et al., 1999). *Croton cuneatus* is a medicinal plant used by the natives of the Amazonian to treat inflammations, gastrointestinal disturbances and

¹ Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Apartado 40109, Caracas, Venezuela.

² Escuela de Química, Facultad de Ciencias, Apartado 47102, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

as analgesic (Webster et al., 1999) the aqueous extract of the aerial parts showed anti-inflammatory properties in tested animals (Suárez et al, 2006a).

Croton huberi Steyerl (Steyermark, et al., 1999) is a species belongs to this important genus, it is a medium-sized tree which grows in the north-cordillera of Venezuela; *C. huberi* is not used in the Venezuelan folk medicine and to the best of our knowledge; no phytochemical and pharmacological study of this plant has been reported. *C. huberi*, was selected as part of an ongoing research of the euphorbiaceae plants of Venezuela. The first chemical investigation of the leaves of this species has led to the isolation and structural identification of three flavonoids: retusin (**3**), tiliroside (**4**), and quercitrin (**5**), one nor-sesquiterpene known as blumenol A (**2**), caryophyllene-oxide (**6**), phytol (**7**) and, the N-methyl-5-hydroxy- Δ^3 -pyrrolin-2-one (**1**) which is reported for the first time from a natural source. Compounds **2**, **3**, **4** have been isolated for the first time from the genus *Croton*. The structures of all compounds were established from their spectral data mainly 1D and 2D NMR experiments, IR and MS, besides comparison with literature data.

Materials and methods

PLANT MATERIAL

Croton huberi leaves were collected during May 2003, at the Junquito region of Dto.Capital, Venezuela, and identified by Dr. Stephen Tillett. A voucher specimen (MYF23475) is available for inspection at the Herbarium Victor Manuel Ovalles of the Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.

EXTRACTION AND ISOLATION

Air-dried and powdered leaves of *Croton huberi* (244 g) were extracted by a Soxhlet apparatus with MeOH. After removal of solvent by evaporation, the residue was dissolved in MeOH-H₂O (1:1) and subsequently partitioned with hexane, CH₂Cl₂ and EtOAc. The CH₂Cl₂ extract (1.5 g), was subjected to a column chromatography on silica gel hexane-CH₂Cl₂ gradient mixtures, CHCl₃, EtOAc, leading to 1% MeOH in EtOAc. Fractions of 25 mL each were collected, obtaining 30 fractions. The eluates were combined on the basis of TLC. Fractions 6-10 were further separated or purified by repeated column chromatography to give blumenol A (**2**, 17 mg), the elution with 100% CH₂Cl₂ gave N-methyl-5-hydroxy- Δ^3 -pyrrolin-2-one (**1**, 23 mg) and crystallization of the fractions (CH₂Cl₂/EtOAc 25:75) afforded retusin (**3**, 17 mg).

The EtOAc extract (0.5 g) was fractionated on silica gel column eluted with CH₂Cl₂ and CH₂Cl₂/ MeOH mix-

tures with gradual increase of methanol content; twenty fractions (20 mL each) were collected. Fractions 5-10 were crystallized from acetone to give tiliroside (**4**, 18 mg). Fractions (15-20) were further separated on a RP-18 silica gel using MeOH/H₂O (1:1) yielded quercitrin (**5**, 50 mg).

The hexane extract (3 g) was fractionated on silica gel column using hexane/CH₂Cl₂ in increasing polarities and 50 fractions were collected. A mixture of aliphatic acids were identified by GC-MS in the first ten eluates; from fractions (20-26) was isolated caryophyllene-oxide (**6**, 35 mg) and (28-30) consisted of phytol (**7**, 75 mg).

GENERAL PROCEDURES

The IR spectra were recorded on a SHIDMAZU 470 spectrometer. Melting points were determined on a Fisher-Johns melting point apparatus and are uncorrected. NMR spectra were recorded with a JEOL Eclipse 270 spectrometer operating at 270 MHz and a Bruker DRX-500 with CDCl₃, DMSO, and acetone-d₆ as solvent and TMS as internal standard. Low-resolution mass spectra were measured in a VARIAN Saturn 2000 and high resolution mass spectra (HRMS-CI) were measured on a JEOL JMS-AX505WA. Optical rotations were measured in a Lynos Photonics Typ SR6, Spannung. TLC analyses were carried out on precoated silica gel G₂₅₄ (Merck) plates and the spots were visualized by UV (254 nm) irradiation and reaction with p-anisaldehyde/H₂SO₄/HOAc reagent. For column chromatography, silica gel 60 (Merk 100-200 mesh) and RP-18 silica gel were used.

N-methyl-5 - hydroxy- Δ^3 -pyrrolin-2-one (1). Yellow solid, mp 77-79 °C; IR (KBr) $\gamma_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3300 (OH), 1790, 1675; ¹H NMR (270 MHz, CDCl₃); δ 2.91 (3H, s, N-CH₃); 5.27 (1H, s, H-5); 6.10 (1H, d, *J* = 5.94 Hz H-4); 6.91 (1H, d, *J* = 5.94 Hz, H-3). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃); δ 25.9 (N-CH₃), 85.1 (C-5), 128.6 (C-3), 145.6 (C-4), 169.8 (C=O). EI-MS *m/z* (rel. Int.): 119 (M⁺) (100), 84 (28), 56 (14).

Blumenol A (2), yellow solid, mp 111-113 °C, IR (KBr) $\gamma_{\max}/\text{cm}^{-1}$, 3350, 1685, 1665, EI-MS *m/z* (rel. Int.): 206 (M-18)⁺ (4), 168 (19), 150 (15), 124 (100). ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃); δ : 1.03 (3H, s, H-11), 1.06 (3H, s, H-12), 1.24 (3H, d, *J* = 6.32 Hz, H-10), 1.90 (3H, s, H-13), 2.24 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-2a), 2.44 (1H, d, *J* = 16.0 Hz, H-2b), 4.39 (1H, m, H-9), 5.36 (1H, d, *J* = 16 Hz, H-7), 5.44 (1H, d, *J* = 16 Hz, H-8), 5.87 (1H, brs, H-4). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃); δ 19.1 (q, C-13), 22.9 (q, C-11), 23.7 (q, C-12), 24.1 (q, C-11), 41.3 (s, C-1), 49.7 (t, C-2), 68.1 (d, C-9), 79.1 (s, C-6), 126.8 (d, C-4), 129.2 (d, C-7), 135.8 (d, C-8), 163.5 (s, C-5), 198.5

(s, C-3). EI-MS *m/z* (rel. Int.): 206 [M-H₂O] (50), 168 (23), 150 (19), 135 (21), 124 (100).

Retusin (5-hydroxy-3, 7, 3', 4'-tetramethyl-*quercetin*) (3). Yellow solid mp 158-159 °C; IR (KBr) $\gamma_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 3330, 1655, 1581, 1480; EI-MS *m/z* (rel. Int.): 358 (100), 357 (43), 343 (45).

¹H NMR (270 MHz, CDCl₃); δ : 3.84 (3H, s, CH₃-11), 3.86 (3H, s, CH₃-14), 3.95 (3H, s, CH₃-13), 3.97 (3H, s, CH₃-12), 6.34 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-6), 6.43 (1H, d, *J* = 2.2 Hz, H-8), 6.96 (1H, d, *J* = 8.39 Hz, H-3'), 7.67 (1H, d, *J* = 2.1 Hz, H-6'), 7.75 (1H, d, *J* = 8.39 Hz, H-2'), 12.03 (1H, s, 5-OH). ¹³C NMR (75 MHz, CDCl₃); δ 53.8 (q, CH₃-12), 55.8 (q, CH₃-11), 56.5 (q, CH₃-13), 60.2 (q, CH₃-14), 92.2 (d, C-8), 98.1 (d, C-6), 105.9 (s, C-10), 110.5 (d, C-6'), 114.6 (d, C-3'), 115.8 (d, C-2'), 121.6 (s, C-1'), 138.7 (s, C-3), 145.7 (s, C-5'), 148.8 (s, C-4'), 155.8 (s, C-2), 158.9 (s, C-9), 162.3 (s, C-5), 165.7 (s, C-7), 177.4 (s, C-4).

Tilioside (7-*p*-coumaroylkaempferol-3- β -D-glucose) (4). mp 265-267 °C; IR (KBr) $\gamma_{\max}/\text{cm}^{-1}$ 1640, 1565, 1480; HRCI-MS *m/z* 594.52, ¹H NMR (500 MHz, DMSO-*d*₆); δ 3.02 – 4.29 (glucose protons); 5.19 (1H, brs, OH), 5.24 (1H, brs, O-H), 5.45 (1H, d, *J* = 7.0 Hz, H-1''), 6.13 (1H, d, *J* = 16 Hz, H-8'''), 6.14 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-6), 6.37 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.78 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-3''', H-5'''), 6.87 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-3', H-5'), 7.37 (1H, d, *J* = 16 Hz, H-7'''), 7.53 (2H, d, *J* = 8.5 Hz, H-2''', H-6''') 7.95 (2H, d, *J* = 8.6 Hz, H-2', H-6'), 10.81 (1H, s, OH), 12.63 (1H, s, OH). ¹³C NMR (75 MHz, DMSO-*d*₆); 62.9 (t, C-6''), 69.9 (d, C-4''), 74.1 (d, C-2''), 74.2 (d, C-5''), 76.2 (d, C-3''), 76.5 (d, C-3'''), 93.6 (d, C-8), 98.7 (d, C-6), 100.9 (d, C-1''), 101.3 (d, C-1'''), 103.8 (s, C-10), 113.6 (d, C-8'''), 115.0 (d, C-3''', C-5'''), 115.7 (d, C-3', C-5'), 120.7 (s, C-1'), 124.9 (s, C-1'''), 130.1 (d, C-2', C-6'), 130.7 (d, C-6''', C-2'''), 133.0 (s, C-3), 144.5 (d, C-7'''), 156.3 (s, C-2), 156.5 (s, C-9), 159.7 (s, C-4'), 159.9 (s, C-4'''), 161.1 (s, C-5), 164.1 (s, C-7), 166.1 (s, CO₂), 177.4 (s, C-4).

Quercitrin (Quercetin-3-O-rhamnoside) (5). Yellow powder mp 296-298°C, ¹H NMR (270 MHz, DMSO); 0.96 (3H, d, *J* = 5.8 Hz, CH₃), 3.27- 4.25 (4H, m, H-2'', H-3'', H-4'', and H-5''), 5.37 (1H, d, *J* = 1.7 Hz, H-1''), 6.17 (1H, d, *J* = 1.8 Hz, H-6), 6.37 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-8), 6.90 (1H, d, *J* = 8.4 Hz, H-5'), 7.30 (1H, dd, *J* = 8.4, 2.0 Hz, H-6'), 7.35 (1H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2'); EI-MS *m/z* (rel. Int.%) 302 [M-rhamnosyl]⁺ (100), 358 (3), 273 (11), 228 (15), 153 (20).

Caryophyllene oxide (6). Colorless oil; ¹H NMR (270 MHz, CDCl₃); δ : 4.90 (1H, s), 4.79 (1H, s), 1.13 (1H, s), 1.13-1.16 (6H, m); ¹³C NMR (270 MHz, CDCl₃); δ : 16.7 (CH₃-14), 21.5 (CH₃-13), 26.9 (C-2), 29.5 (C-7), 29.6 (CH₃-12), 29.8 (C-6), 39.1 (C-3), 39.7 (C-10),

39.9 (C-11), 48.6 (C-9), 50.6 (C-1), 59.7 (C-4), 63.5 (C-5), 112.5 (C-15), 151.7 (C-8); EI-MS *m/z* (rel. Int.%) 220 [M⁺] (3), 205 (15), 91 (80), 79 (100)

Phytol (7). Colorless oil; ¹H NMR (270 MHz, CDCl₃); δ : 0.82 – 0.87 (12H, m, CH₃-16, 18, 19, 20), 1.66 (3H, s, CH₃-17), 1.98 (2H, t, *J* = 2.8 Hz, H-4), 4.14 (2H, d, *J* = 2.0 Hz, H-2); EI-MS *m/z* (rel. Int.%) 296 [M⁺] (3), 279 (17), 149 (100).

Results and discussion

Compound **1** was isolated as yellow solid, mp 77-79 °C from the dichloromethane extract. It has a molecular formula C₅H₇NO₂ based on the HRCI-MS (*m/z* 113.0569) and ¹³C NMR. The IR spectrum suggested the presence of an hydroxyl group (3300 cm⁻¹), and secondary amide (1790, 1495 cm⁻¹). Compound **1** showed in the ¹H NMR a pair of mutually coupled doublets (*J* = 6 Hz) at δ 6.10 and 6.92 which was ascribed to a double bond in a five membered ring, one signal at δ 2.91 (3H, s) was due to a methyl attached to a nitrogen; the signal at δ 5.27 (1H, s) was attributed to a carbinolic hydrogen. The ¹³C NMR spectrum displayed signals for 5 carbons atoms. With the aid of information afforded by the DEPT 135 spectra these signals could be attributed to one carbonyl, three methines and one methyl carbons atoms. Therefore, the unsaturation index exhibited by the molecular formula (C₅H₆NO₂) of **1** was satisfied by a five membered ring of an α,β -unsaturated γ -lactam N-substituted. Full assignments of the proton and carbon signals were secured by HMQC and HMBC experiments. Thus **1** was deduced to be N-methyl-5-hydroxy- Δ^3 -pyrrolin-2 one. The physical (mp) and spectral data (¹H NMR and MS) of the synthetically prepared compound (Lighthner et al., 1976, Mase et al., 2002) were found to be identical with those of the isolated metabolite. This is the first report of compound **1** as a natural product.

Compound **2** was isolated from the dichloromethane extract as a white powder. On the basis of ¹³C NMR and MS data, its molecular formula was established as C₁₃H₂₀O₅. The IR spectrum suggested the presence of a hydroxyl group (3350 cm⁻¹), and an enone system (1685 cm⁻¹). The ¹H NMR spectrum showed the presence of two singlet methyls at δ 1.03 and 1.06, a doublet methyl at δ 1.24 (3H, d, *J* = 6.32 Hz); a methyl attached to an olefinic carbon at δ 1.90; an isolated methylene group at δ 2.24, two olefinic protons at δ 5.36 (d, *J* = 16 Hz) and 5.44 (d, *J* = 16 Hz). With the aid of spin-decoupling and ¹H-¹H COSY experiments, considerable connectivity could be established, and most of the resonances in the ¹H NMR spectrum of **2** were subsequently assigned. Further

consideration of the ^{13}C NMR spectral data showed that the compound to possess thirteen carbon signals attributed by DEPT experiments to four methyls, one methylene, four aliphatic methines, and a carbonyl of ketone α,β -unsaturated. Unequivocal attribution of each NMR signal was obtained by 2D-NMR ($^1\text{H} - ^1\text{H}$ COSY, HMQC, and HMBC) experiments. All the spectral data of compound **2** were in good agreements with the data given in the literature (Pouset and Poisson, 1969, Gonzalez et al., 1994) and it was found to be identical to Blumenol (A) (**2**) isolated previously from several plants including from an *Euphorbia* species.

Compound **3** was obtained as a yellow solid, mp 158-159 °C. The HRCI-MS of **3** indicated a molecular ion peak at m/z 358.3407, which corresponded to the molecular formula $\text{C}_{19}\text{H}_{18}\text{O}_7$. Its IR spectrum showed absorption bands for hydroxyl (3330 cm^{-1}), a conjugated carbonyl (1655 cm^{-1}), and aromatic rings (1581 cm^{-1}). The ^1H NMR showed four methoxyl signals at δ 3.84, 3.86, 3.95 and 3.97; and five aromatic protons; an AX spin system at δ 6.34 (1H, d, $J = 2.2$ Hz) and 6.43 (1H, d, $J = 2.2$ Hz); additionally an ABX pattern consisting of an ortho-coupled doublet at δ 6.96 (1H, d, $J = 8.4$ Hz) and a doublet doublet at δ 7.67 (1H, d, $J = 8.4, 2.1$ Hz), 7.75 (1H, d, $J = 8.4$ Hz); and a hydrogen-bonded hydroxyl signal (δ 12.03). The ^{13}C NMR spectrum of compound **3** showed resonances for 19 carbons, the DEPT experiment revealed four methyls, five aromatic methines, nine quaternary carbons atoms and a carbonyl group. The spectral data were in accordance with those reported for Retusin (**3**) (Vidari et al., 1971, Wang et al., 1973).

Compound **4** was obtained as a yellow solid, mp 265-268 °C from the dichloromethane extract. A molecular formula of $\text{C}_{30}\text{H}_{26}\text{O}_{13}$ was determined as 594.1469 from HRCI-MS and ^{13}C . It was identified as C-3 glycosylated kaempferol. The ^1H NMR spectrum exhibited a typical pattern showing the AB and ABX type aromatic proton signals at δ 6.14 (1H, d $J = 2.1$ Hz), 6.37 (1H, d $J = 1.9$ Hz), 6.78 (2H, d, $J = 8.6$ Hz) and 7.95 (2H, d, $J = 8.6$ Hz). The observed signal at δ 12.60 (1H, s) is characteristic of a C-5 hydroxyl group. In the ^{13}C NMR spectrum of **4** were confirmed the 15 signals of ^{13}C , whose chemical shifts are distinctive of kaempferol aglicone, the presence of signal at 135.3 agrees with a glycosilation at C-3. In the ^1H NMR spectrum the signals of a glycosidic moiety were visible (3.30 to 4.25 ppm). The sugar was identified as β -D-glucose by the distinct anomeric proton at δ 4.28 (d, $J = 7.5$ Hz) and the anomeric carbon at δ 103.9 (C-1''). The ^1H NMR spectrum of compound **4** revealed, besides the mentioned signals an AA' BB' doublet system at δ 6.84 (d, $J = 8.4$ Hz) and 7.45 (d,

$J = 8.4$ Hz) an AB doublet at δ 6.13 (d, $J = 16.2$ Hz) and 7.35 (d, $J = 16.2$ Hz). The ^{13}C NMR spectrum contained resonances assigned to an ester carbonyl carbon at δ 166.9 (s), two conjugated olefinic carbons at δ 145.5(d) and 114.5 (d), an oxygen-substituted aromatic carbon, at δ 157.4 (s) and, other aromatic carbons at δ 129.7(d), 126.2 (s), and 115.5 (d). These suggested the presence of a *p*-(*E*)-coumaroyloxy substituent in **4**. In addition to providing evidence for the *p*-(*E*)-coumaroyloxy moiety; in the ^1H NMR of **4**, this was confirmed by the significant fragment ions in the EIMS spectrum at m/z 147 and 164, along with an ion peak at m/z 304 resulting from the loss of elements of *p*-coumaric acid from the molecular ion. From considerations of ^{13}C , DEPT, COSY, HMQC and HMBC spectral data, the *p*-coumaroyl moiety was linked at C-6'' position by ^3J correlation of H-6'' to C-9''' in HMBC experiment. The chemical evidences and the spectral data of **4** were in accordance with the reported data for the flavonoid known as Tiliroside (**4**) (Chari et al., 1978, Vermes et al., 1964).

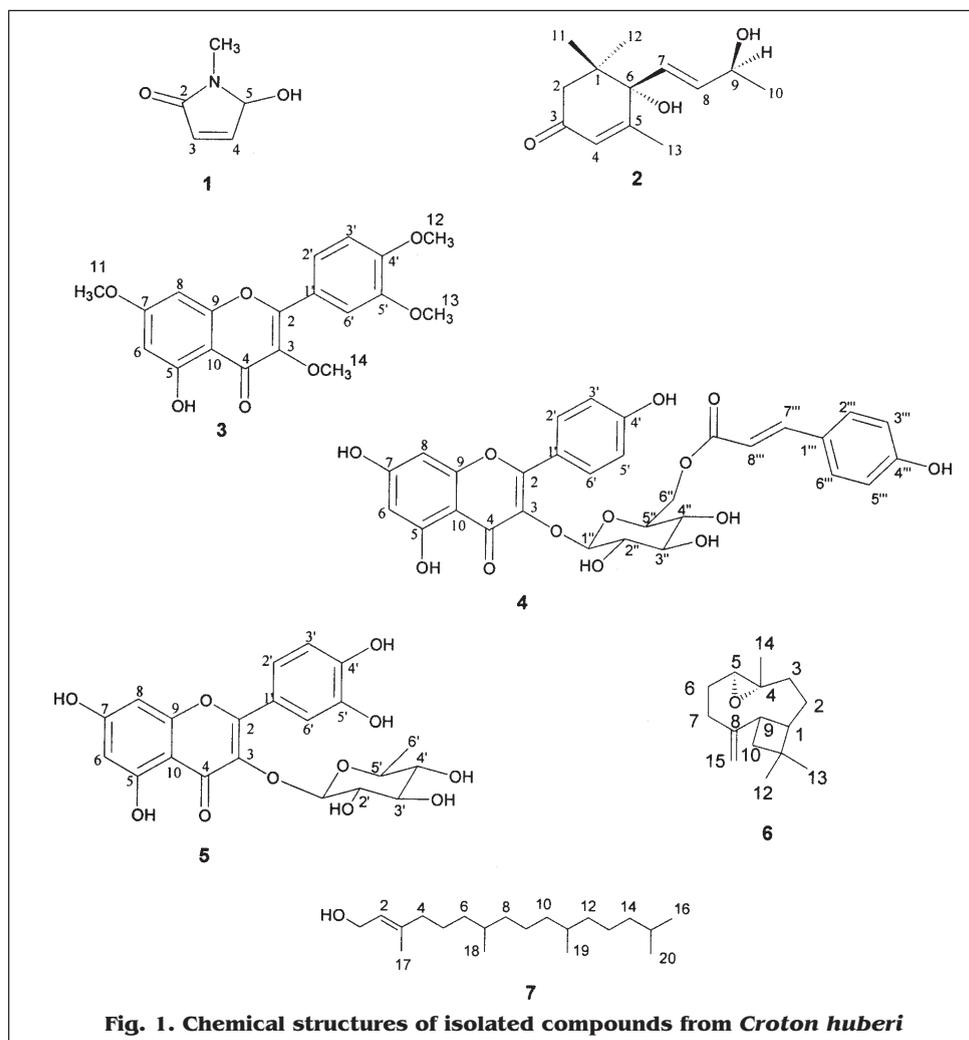
The compounds **5**, **6** and **7** were characterized as quercitrin, caryophyllene oxide, and phytol by comparison of their spectral data with the known compounds.

Acknowledgements

Support for this research was provided in part by a grant from FONACIT Grant G-2005000389.

References

- ABDON, A.P.V.; LEAL-CARDOSO, J.H.; COELHO-DE-SOUSA, A.N.; MORAIS, S.M.; SANTOS, C.F.; 2002. *Antinociceptive effects of the essential oil of Croton nepetaefolius on mice*.
- ADDAE-MENSAH, I.; ACHENBACH, H.; THOITHI, G.N.; WAIBEL, R.; MWANGI, J.W.; 1992. Epoxychiromodine and other constituents of *Croton megalocarpus*. *Phytochemistry*, 31, 2055-2058.
- BHAKUNI, B.S.; JOSHI, P.P.; UPRETY, H.; KAPIL, R.S.; 1974. Rososide-A C13 glycoside from *Vinca rosea*. *Phytochemistry*, 13, 2541
- CAL, Y.; CHEN, Z.P.; PHILLIPSON, J.D.; 1993. Clerodane diterpenoids from *Croton lechleri* *Phytochemistry* 34, 265-268.
- CHARI, V.M.; JORDAN, M.; WAGNER, H.; 1978. Structure elucidation and Synthesis of Naturally Occurring Acyglycopomine. *Planta Med.*, 34, 93.
- CRAVEIRO, A.A.; ANDRADE, C.H.S.; MATOS, F.J.A.; DE ALENCAR, J.W.; 1978. Anise-like Flavor of *Croton zethneri* Pax. Et Hoff. *J. Agric. Food Chem.* 26, 772-775.
- DOMINGUEZ, X.A.; RAMIREZ, R.H.; UGAZ, O.L.; GARCIA, D.J.; KETCHMAN, R.; 1968. Chemical study of the cactus *Ariocarpus retusus*. *Planta Med.*, 182.
- GONZALEZ, A.G.; GUILLERMO, J.A.; RAVELO, A.G.; JIMÉNEZ, I.A.; 1994. 4,5-Dihydroblumenol A, A New Nor-Isoprenoid from *Perrotia multiflora*. *J. Nat. Prod.* 57, 400.



LIGHTNER, D.A.; BISACCHI, G.S.; NORRIS, R.; 1976. On the mechanism of the Sensitized Photooxygenation of Pyrroles. *J. Am. Chem. Soc.* 98, 802.

LOPES, D.; BIZZO, H.R.; SOBRINHO, A.F.S.; PEREIRA, M.V.G.; 2000. Antileishmanial Activity of a Linalool-Rich Essential Oil from *Croton cajucara*. *J. Essent. Oil Res.*, 12, 705.

MASE, N.; TOSHIKI, N.; MASAOMI, H.; KAZUHIRO, I.; JUNICHIRO, B.; HIDEKI, Y.; KUNIHICO, T.; 2002. Regioselective reduction of maleimide and citraconimide derivatives: general preparation of 5-hydroxy-1,5-dihydroprrol-2-one. *J. Chem. Soc. Perk Trans. I*, 6, 707.

OLIVEIRA, AC.; LEAL-CARDOSO, J.H.; SANTOS, C.F.; MORAIS, S.M.; COELHO-DE-SOUSA, A.N.; 2002. Antinociceptive effects of the essential oil of *Croton zehntneri* in mice. *Braz. J. Med. & Biol. Res.* 34, 1471.

POUSET, J.L.; POISSON, J.; 1969. Vomifoliol: terpene alcohol isolated from leaves of *Rauwolfia vomitoria* Afz. *Tetrahedron Lett.*, 1173.

SUÁREZ, A.I.; SALAZAR-BOOKAMAN, M.M.; COMPAGNONE, R.S.; TILLET, S.; DELLE MONACHE, F.; DIGIULIO, C.; BRUGES, G.; 2003. Antinociceptive and anti-inflammatory effects of *Croton malambo* aqueous extract. *J. Ethnopharmacology*, 88, 11-14.

SUÁREZ, A.I.; BLANCO, Z.; COMPAGNONE, R.S.; SALAZAR-BOOKAMAN, M.M.; ZAPATA, V.; ALVARADO, C.; 2006a. «Anti-inflammatory activity of *Croton cuneatus* aqueous extract». *Journal of Ethnopharmacology*, 105, 99-101.

SUÁREZ, A.I.; TOMASSI, A.; VASQUEZ, L.; COMPAGNONE, R.S.; 2006. «Essential oil composition of *Croton huberi*» *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 9, 75-80.

STEYERMARK, J.A.; BERRY, P.E.; YATSKIEVYCH, K.; HOLIST, B.K.; 1999. *Flora of the Venezuelan Guayana*. USA. Missouri Botanical Garden Press. 15, 72.

VERMES, B.; CARI, V.M.; WAGNER, H.; 1981. Structure elucidation and Synthesis of Flavonol Acylglycosides. III) The synthesis of Tiliroside. *Helv. Chim. Acta*, 164, 1964.

VIDARI, G.; FINZI, V.; DE-BERNARDI, M.; 1971. *Phytochemistry*, 10, 3335.

WANG, C.Y.; PAMUKCU, A.M.; BRYAN, G.T.; 1973. *Phytochemistry*, 12, 2298.

WEBSTER, G.L.; 1994. Systematic of Euphorbiaceae. *Ann. Missouri Bot. Garden*. 81, 144.

WEBSTER, G.; BERRY, P.; ARMBRUSTER, W.; ESSER, H.; GILLESPIE, L.; HAYDEN, J.; LEVIN, G.; SECCO, R.; HEALD, S.; 1999. *Flora of the Venezuelan Guayana*. USA. Missouri Botanical Garden Press. 5, 117.

WINFRIED, M.; 1998. *Flora and vegetation des Avila-nationalparks(Venezuela/Küsterkordillere)*. Ed. J. Cramer, Berling-Stuttgart.

Recibido: octubre 2005
Aceptado: noviembre 2005

Elucidación estructural y evaluación biológica del fitoestrógeno ferutinina aislado de *Ferula hermonis* (Umbeliferae)

TRINA COLMAN^{1*}, PAULO BOUTROS¹, ÁNGEL E. AMESTY¹, ALÍ BAHSAS³,
YAIRA MATHISON², MARÍA DEL ROSARIO GARRIDO² Y ANITA ISRAEL^{2*}

Resumen

La *Ferula hermonis* Boiss (Umbeliferae) es una planta nativa de Siria y del Líbano. Muchos herbalistas del Medio Oriente, indican que esta planta tiene una fuerte actividad afrodisíaca y antiespasmódica. A partir de la raíz de esta planta se aisló y caracterizó un sesquiterpeno oxigenado, la ferutinina (1). La elucidación estructural se realizó mediante métodos espectroscópicos tales como IR, RMN-¹H, RMN-¹³C, COSY, HMBC, HMQC, NOESY, EIMS y CIMS. Se evaluó la posible actividad biológica del compuesto (1), mediante el estudio de las vías de señalización en el sistema nervioso central *in vitro*, demostrándose que el compuesto (1) incrementa la actividad de la óxido nítrico sintasa y la acumulación de inositol monofosfato en la eminencia media del cerebro de la rata (en un 49% cada uno), sin afectar dicha señalización en la glándula pituitaria. Estos hallazgos sugieren que la ferutinina activa la vía de los fosfoinosítidos y a la producción de óxido nítrico (NO), este último un conocido mensajero intracelular que juega un papel fundamental en la biología humana. Nuestros resultados contribuyen al soporte farmacológico del uso popular del extracto de *Ferula hermonis*, en la mejoría del desempeño sexual y como afrodisíaco.

Palabras clave: Fitoestrógenos, óxido nítrico, eminencia media, ferutinina.

Abstract

Ferula hermonis Boiss (Umbeliferae) is a plant native from Syria and Lebanon. Many herbalist from Middle East, indicate that this plant have aphrodisiac and antispasmodic effects. Two oxygenated sesquiterpene Ferutin (1) has been isolated from the roots of this plant. The structural elucidation was done by spectroscopic methods as: IR, ¹H-RMN, ¹³C-RMN, COSY, HMBC, HMQC, NOESY, EIMS, and CIMS. After that the evaluation of the possible signaling pathways of compound 1, in nervous tissue *in vitro* was assessed and the results showed that these compounds are able to increase the nitric oxide synthase activity and inositol monophosphate accumulation (49%, each) in the median eminence of the rat brain, suggesting that isolated compound is associated to the activation of phosphoinositide breakdown and nitric oxide production (NO), the last a gaseous intracellular messenger which is known to play a broad role in human biology. Our results give pharmacological support to the folk use of *Ferula hermonis*.

Key words: Phytoestrogen, nitric oxide, median eminence, ferutin.

Introducción

El 17 β -estradiol (E2), un estrógeno endógeno, actúa sobre el sistema nervioso central ejerciendo sus efectos por mecanismos genómicos y no genómicos. Los efectos genómicos son mediados por los receptores estrogénicos ER α y ER β . La eminencia media

(EM) es una importante región del hipotálamo, esencial para el control neuroendocrino. La EM responde a los estrógenos mediante la liberación de óxido nítrico (NO), un mensajero gaseoso, implicado en la regulación del eje hipotálamo-pituitaria-gónadas (Moretto y col., 1993; Herbison y col., 1996; Prevot

¹ Laboratorio de Bioensayos y Productos Naturales. *Laboratorio de Modelado Molecular.

² Laboratorio de Neuropeptidos. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Caracas. VENEZUELA-1040

³ Laboratorio de Resonancia Magnética Nuclear.

Facultad de Ciencias. Universidad de Los Andes. Mérida. VENEZUELA-5101

E-mail: trinaco@cantv.net

y col., 2000). Adicionalmente, se conoce que el NO liberado por el estradiol estimula la liberación de GnRH, lo que sugiere que el estradiol es capaz de ejercer una acción inmediata sobre la EM por la vía de la señalización no genómica.

Los fitoestrógenos son un grupo de compuestos, aislados de plantas, que no tienen la misma estructura química que los estrógenos naturales pero funcionalmente tienen las mismas actividades estrogénicas, aunque mil veces menor que el 17β -estradiol (E2), con afinidad por los mismos receptores nucleares (tipo ER α y ER β). Se asume que la actividad estrogénica y/o antiestrogénica de los fitoestrógenos son transmisibles a través de los receptores estrogénicos (ER).

El sesquiterpeno ferutinina (Figura 1), aislado de varias especies del género *Ferula*, muestra afinidad por los receptores estrogénicos (ER), pero no todas las acciones, al igual que las de E2, pueden ser explicadas por la llamada vía genómica. Estudios previos sobre la raíz de *Ferula hermonis*, han reportado el aislamiento de varios sesquiterpenos, la mayoría de ellos biológicamente activos (Ahmed, 1990). Se cree que los constituyentes activos son alcoholes tipo daucano esterificados con ácidos aromáticos, como el compuesto ferutinina (1) (González y Barrier, 1995). En efecto, la ferutinina es un potente fitoestrógeno, el cual tiene una actividad agonista sobre el receptor estrogénico (Ignatkov y col., 1990; Appendino y col.,

2002). Estudios *in vivo* recientes sobre la influencia de los componentes de *Ferula hermonis* sobre la conducta sexual de las ratas machos, han reportado que la ferutinina (1), estimula la conducta sexual después de la ingestión aguda (Zanoli y col., 2005).

En base a estas evidencias, evaluamos la posible participación del óxido nítrico y el recambio de los fosfoinosítidos, en la vía de señalización implicada en la acción neuroendocrina del sesquiterpeno aislado de la planta *Ferula hermonis*.

Materiales y métodos

Extracción y aislamiento

La raíz seca y pulverizada de *Ferula hermonis* (obtenida de fuente comercial) fue extraída con etanol, el extracto fue evaporado a presión reducida de manera de obtener un extracto etanólico FOO5. El extracto FOO5 fue sometido a sucesivas cromatografías en columna sobre sílica gel, usando como eluyente hexano/ EtOAc (gradiente de polaridad) para obtener el compuesto 1. La estructura de la ferutinina se estableció sobre la base de métodos espectroscópicos, tales como: IR, RMN- ^1H , RMN- ^{13}C , COSY, HMBC, HMQC, NOESY, EIMS y CIMS (Figuras 1-3). Los espectros 1D y 2D fueron tomados a 400/125MHz ($^1\text{H}/^{13}\text{C}$) en CHCl_3 . El desplazamiento químico (δ) viene expresado en ppm.

Ensayos biológicos

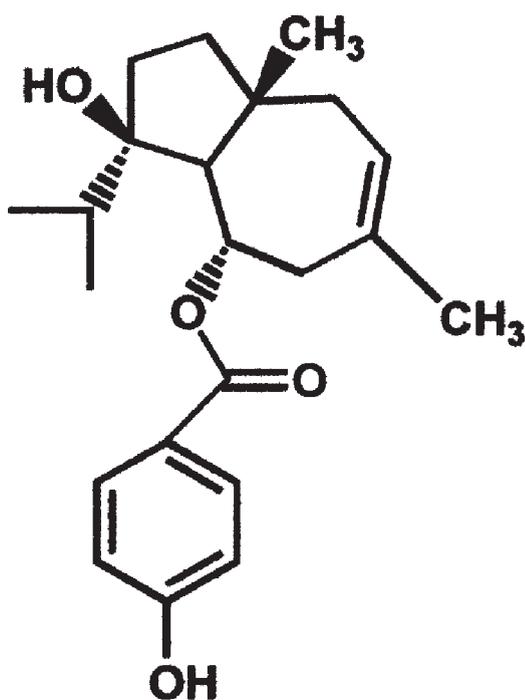
Actividad de la óxido nítrico sintasa (SON)

En los ensayos biológicos se utilizaron ratas macho Sprague-Dawley (200-250g). El procedimiento usado en estos experimentos fue aprobado por el Comité de Bioterio de la Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. La actividad de la SON se determinó mediante la cuantificación de la conversión de arginina radiomarcada a citrulina, utilizando el método modificado por Mathison & Israel (1998).

Las ratas fueron decapitadas y la EM y la glándula pituitaria se obtuvieron mediante microdissección. Inmediatamente después de la extracción, el cerebro fue colocado sobre hielo y los tejidos extraídos mediante control estereomicroscópico.

Los tejidos fueron mantenidos en buffer Hepes 50 mM, pH 7,1 + EDTA 1mM. Posteriormente cada muestra fue preincubada por 30 minutos a 37°C en buffer Hepes 50mM, pH 7,1, conteniendo ditiotreitól 1mM, β -NADPH 0,5 mM; CaCl_2 1,25 mM y 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de calmodulina, [^3H]-arginina 0,12 μM y arginina 0,3 μM , seguido de un período de incubación de 10 minutos.

Figura 1
Estructura de Ferutinina (1)



Para determinar la estimulación de la actividad de la SON, la ferutinina fue añadida al iniciar los 10 minutos de incubación. La reacción fue detenida agregando buffer Hepes 20 mM, pH 5,5; EDTA 4mM, frío y calentando durante 5 min a 90°C. Los tejidos fueron sonificados, centrifugados a 12.000 rpm durante cuatro minutos y el sobrenadante pasado a través de una columna de Dowex 50, forma Na⁺ (RBI), desde donde fue eluido con 2 ml de agua. La (³H)-citrulina formada fue cuantificada mediante espectroscopia de centelleo líquido. La actividad de la sintasa del óxido nítrico se expresó como pmol de citrulina formada/hora/mg de proteínas.

Acumulación de fosfoinosítidos, InsP₁

La hidrólisis de fosfoinosítidos (PI) se cuantificó como la acumulación de monofosfato de inositol en presencia de 10 mM de LiCl, en el tejido completo (Garrido & Israel, 2004). El tejido fue mantenido en buffer Krebs-Ringer (BKR) conteniendo: NaCl 125 mM, KCl 3.5 mM, KH₂PO₄ 1.25 mM, MgSO₄ 1.2 mM, CaCl₂ 0.75 mM, NaHCO₃ 25 mM y glucosa 10 mM. Para su marcaje, los tejidos fueron incubados durante dos horas a 37°C, en 2 ml de BKR conteniendo 0.5 mCi de *myo*-(2-³H)-inositol (actividad específica 18.8 Ci/mmol) gasificado continuamente con O₂ (95%): CO₂ (5%). Después del marcaje, los tejidos fueron lavados en BKR fresco gasificado y transferidos a BKR conteniendo LiCl 10 mM. El tejido fue transferido a tubos Eppendorf de 1.5 ml conteniendo 360 µl de buffer LiCl y preincubados por 10 minutos a 37°C con o sin drogas. El buffer (para el grupo control) o la ferutinina fueron añadidos y los tejidos estimulados por 60 minutos a 37°C. La reacción se detuvo mediante la adición de 100 µl de ácido tricloroacético (concentración final: 6%) y las muestras fueron transferidas a hielo. Los tejidos fueron sometidos a ultrasonido en hielo y centrifugados a 10.000 g durante 15 min., a 4°C. En el sobrenadante se cuantificó la acumulación del InsP₁ mediante cromatografía de intercambio aniónico. Las fracciones (5 ml) que contenían el InsP₁ fueron recolectadas y la radioactividad cuantificada mediante espectrometría de centelleo líquido. La radioactividad asociada a las membranas fue extraída con cloroformo-metanol y cuantificada. Para cada tejido individual, la cantidad de InsP₁ acumulado se expresó como el porcentaje de la radioactividad relativa a la presente en la membrana (InsP₁/InsP₁ + lípidos). Las proteínas tisulares fueron determinadas mediante el método de Lowry y col. (1951).

Los resultados fueron expresados como el promedio ± EEM. Las diferencias estadísticas entre los grupos se analizaron mediante el análisis de varianza de una

vía (ANOVA) y la prueba de Newman Keul.

Resultados y discusión

Las raíces de *Ferula hermonis* fueron obtenidas de fuentes comerciales. La muestra botánica fue identificada por el doctor Stephen Tillet y una muestra fue depositada en el Laboratorio de Bioensayos y Productos Naturales de la Facultad de Farmacia, UCV, con el número 2002-11.

El compuesto aislado ferutinina (1) fue caracterizado por ¹H-RMN y ¹³C-RMN y espectrometría de masas (Figuras 2,4). Las asignaciones de los desplazamientos químicos fueron realizadas sobre la base de espectros de ¹H-RMN y ¹³C-RMN (1D y 2D) (Tablas I, II y Figuras 2-4) y por comparación de los datos espectroscópicos de la ferutinina previamente reportados (Galal, 2000; Galal y col., 2001).

Una vez elucidada la estructura del sesquiterpeno aislado, se procedió a evaluar los efectos de la ferutinina (1) sobre la actividad de la NOS y sobre el recambio de fosfoinosítidos en dos áreas del cerebro relacionadas con el control neuroendocrino, como lo son la eminencia media y la pituitaria anterior de la rata. Los estrógenos endógenos ejercen sobre la eminencia media una acción que tiene consecuencias biológicas, tales como producción de NO y liberación de hormonas. Nuestros hallazgos demostraron en la eminencia media, pero no así en la glándula pituitaria, que la ferutinina es capaz de incrementar significativamente la NOS y el recambio de los fosfoinosítidos tisulares (en un 49%) (Figuras 5 y 6), lo que sugiere que este sesquiterpeno es capaz de modular la producción de óxido nítrico en forma selectiva en la EM. Nuestra observación de la elevación del recambio de los fosfoinosítidos y la actividad de NOS, indican que la ferutinina posiblemente ejerce sus efectos neuroendocrinos mediante la activación de un receptor putativo unido al sistema de segundos mensajeros, asociados a la producción de NO y la hidrólisis de los fosfoinosítidos.

Nuestros resultados no permiten establecer el mecanismo mediante el cual la ferutinina incrementa la producción de NO en la EM, los cuales podrían ser multifactoriales. Así, se ha demostrado que el estrógeno y derivados aromáticos y alifáticos del sesquiterpeno alcohol carotano, aislados de *Ferula genus*, son capaces de modular la secreción hormonal a través de la movilización de calcio intracelular (Zamarreava y col., 1997). La ferutinina podría activar la fosfolipasa C (PLC), la cual hidroliza el fosfatidilinositol(4,5)bifosfato (PIP₂), para generar inositol(1,4,5)trisfosfato (IP₃) y diacilglicerol, la liberación de calcio desde los almacenes intracelulares y a la activación de la PKC, con la consecuente apertura de los canales de calcio (Berridge y

Tabla I

Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de ^1H -RMN(CDCl_3 , 400 MHz), de ferutinina

H	H-2	H-3	H-5	H-6	H-7	H-9	H-10	H-11
δ (ppm)	1.60	1.65 1.25	2.06	5.28 2,30	2.56	5.56	2.10 1.95	1.74
mult.	m	m m	m	dd	dd dd	br	m m	m
J (Hz)	—	—	—	11.0; 3.0	11.0; 2.0 5.0; 2.0	—	—	—
H	H-12	H-13	H-2'	H-3'	H-4'	H-5'		
δ (ppm)	0.92	0.81	6.95	7.91	6.95	7.91	TMSi como Patrón Interno	
mult.	d	d	d	d	d	d		
J (Hz)	7.0	7.0	8.0	8.0	8.0	8.0		

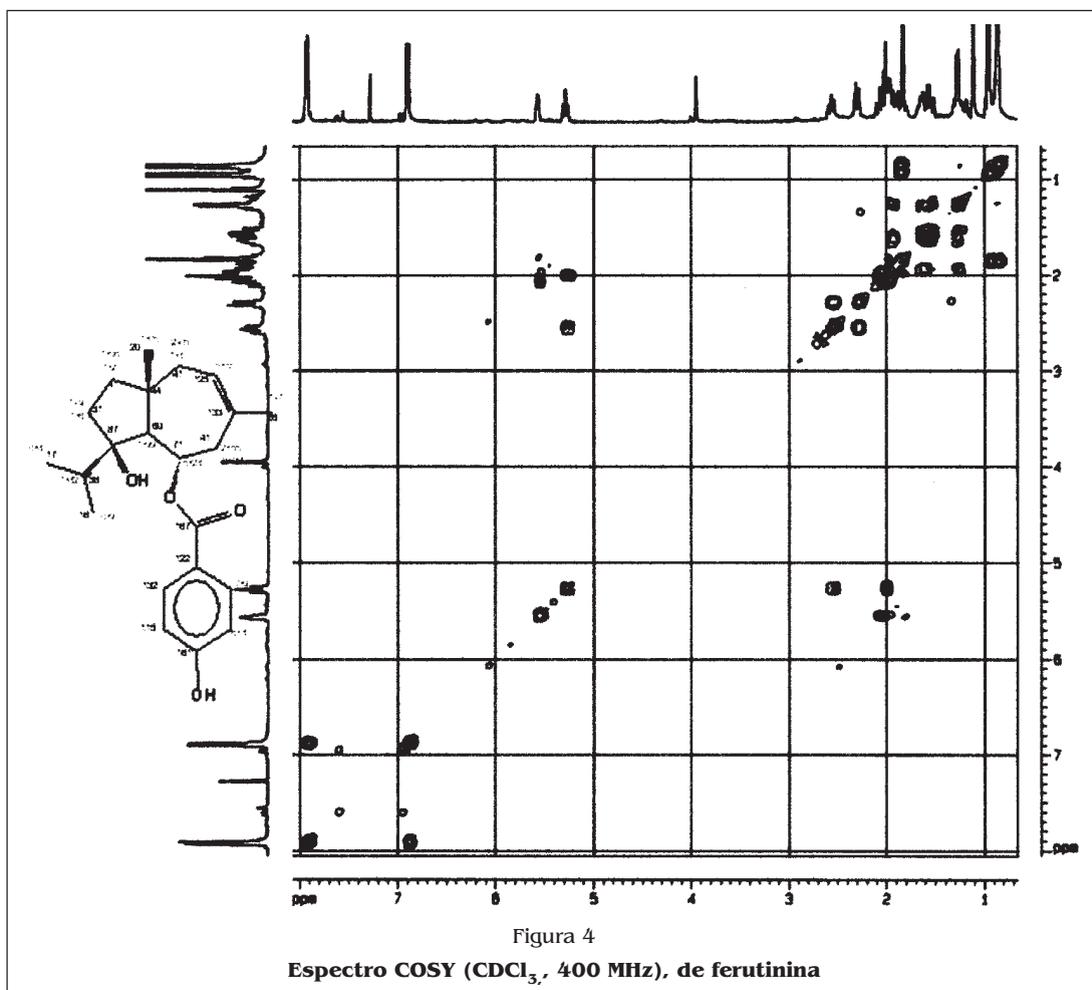


Tabla II
Desplazamientos Químicos (δ) en el Espectro de RMN- ^{13}C (CDCl_3 , 400 MHz), de ferutina

C	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	C-7
δ (ppm)	44.0	41.3	31.5	86.8	60.1	71.2	41.4
C	C-8	C-9	C-10	C-11	C-12	C-13	C-14
δ (ppm)	133.5	125.2	41.0	37.1	17.4	18.5	25.4
C	C-15	C=O	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'
δ (ppm)	20.2	167.1	122.2	132.0	115.4	160.8	115.4
C	C-6'						
δ (ppm)	132.0	TMSi como Patrón Interno					

col., 1983). La liberación de Ca^{2+} desde los almacenes intracelulares activaría a la NOS. Adicionalmente, se ha reportado que la ferutina y sus derivados metilados presentan actividades iontoforéticas, aparentemente relacionadas con su capacidad de incrementar la conductancia directamente en la membrana lipídica mediante la formación de un complejo estequiométrico con el calcio (Abramov y col., 2001). Estos hallazgos

sugieren que los sesquiterpenos podrían estar ejerciendo sus acciones estrogénicas a través de múltiples vías que incrementan el calcio intracelular que finalmente resulta en la activación de la NOS y la producción de NO.

En el hipotálamo, específicamente en la eminencia media, el 17β -estradiol es capaz de estimular la liberación de NO, y a su vez éste estimular la secreción de

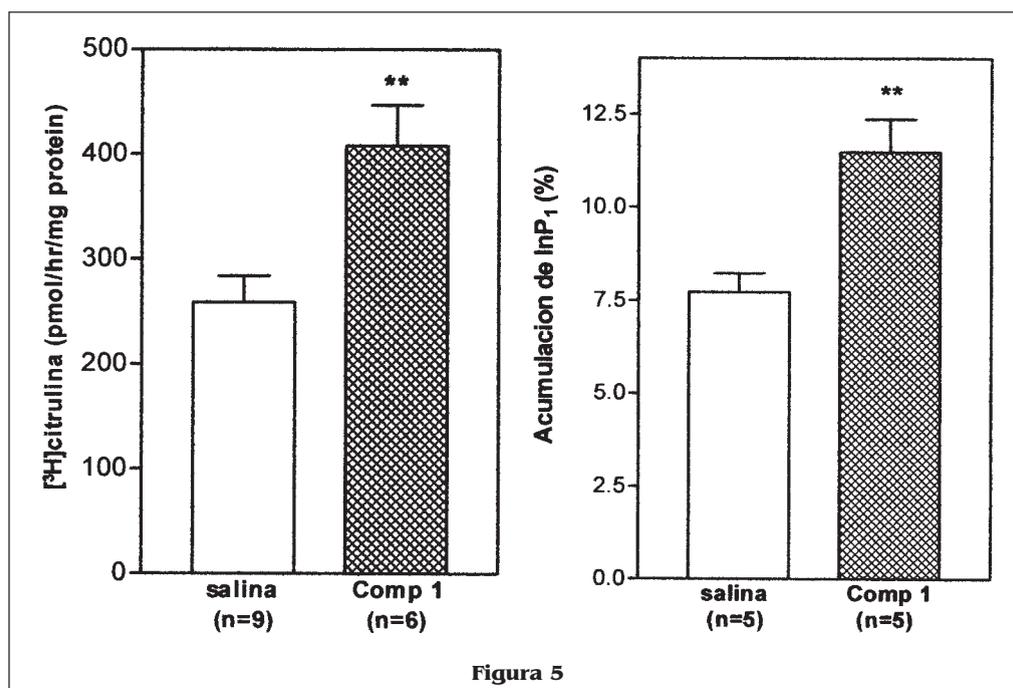


Figura 5

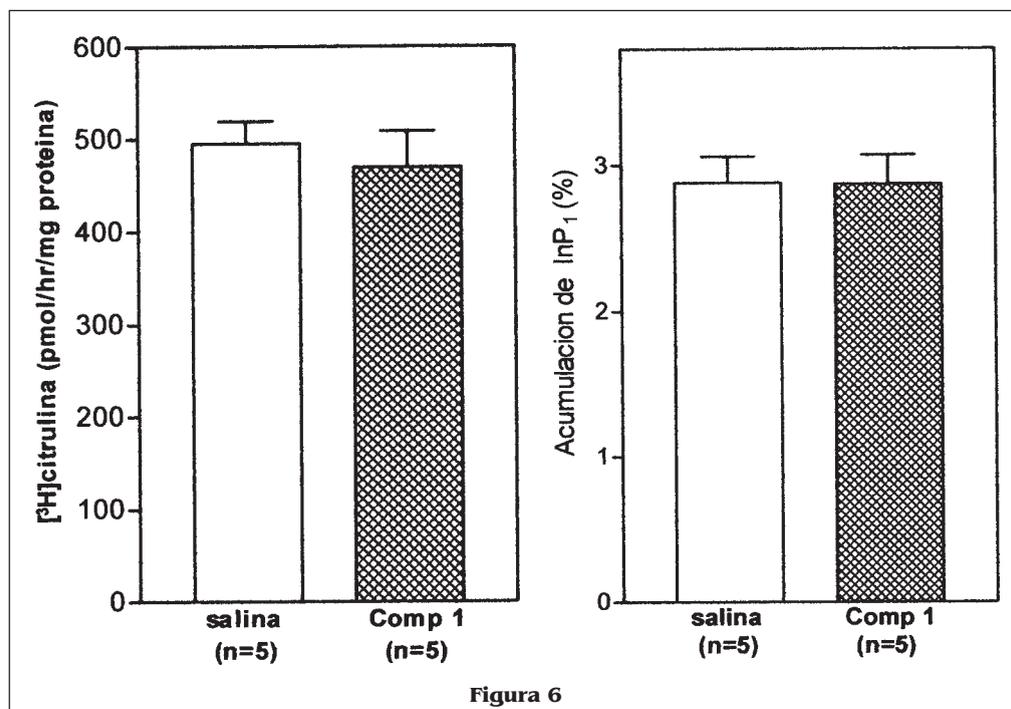


Figura 6

GnRH (Prevot y col., 1999), sugiriendo un papel funcional para este mensajero gaseoso en la neurosecreción y en la regulación de eventos reproductivos. Por lo tanto, la liberación de NO inducida por fitoestrógenos podría desempeñar un papel crucial en la regulación del eje hipotálamo-pituitaria-gónadas, lo que explicaría los efectos afrodisíacos y a actividad en la impotencia sexual reportada para la ferutinina (Brann y col., 1997).

Conclusiones

La ferutinina aislada de la planta *Ferula hermonis* incrementa la actividad de la óxido nítrico sintasa y el recambio de fosfoinosítidos (49%) en tejido nervioso. Estos resultados soportan el concepto que este compuesto es uno de los principios activos responsables de la actividad afrodisíaca de *Ferula hermonis*.

Agradecimientos

A SECAB-CYTED /grant: número 2003-EP 0358-D4; al CDCH 06.30.5167-2003. Al Dr. Stephen Tillet por las determinaciones botánicas. A CYTED-XF RIDEST por HREIMS. Al Laboratorio de RMN de la Facultad de Farmacia, UCV.

Referencias bibliográficas

ABRAMOV, A.Y.; ZAMARAIEVA, M.V.; HÄGELGANS, A.I.; AZIMOV, R.R.; KRASILNIKOV, O.V.; 2001. Influence of plants terpenoids on the permeability of mitochondria and lipid bilayers. *Biochimica et Biophysica Acta* 1512, 98-110.

AHMED, A.; 1990. New sesquiterpenes from *Ferula sinaica*. *Journal of Natural Products* 53, 483-487.

APPENDINO, G.; SPAGLIARDI, P.; CRAVOTO, G.; POCOCCO, V.; MILLIGAN, S.; 2002. Daucane Phytoestrogens: A Structure-Activity Study. *Journal Natural Products* 65, 1612-1615.

BERRIDGE, M.J.; DAWSON, R.M.; DOWNES, C.P.; HESLOP, J.P.; IRVINE, R.F.; 1983. Changes in the levels of inositol phosphates after agonist-dependent hydrolysis of membrane phosphoinositides. *Biochemical Journal* 212, 473-82.

BRANN, D.W.; BHAT, G.K.; LAMAR, C.A.; MAHESH, V.B.; 1997. Gaseous transmitters and neuroendocrine regulation. *Neuroendocrinology* 65, 385-395.

BREDT, D.S.; GLATT, C.E.; HWANG, P.M.; FOTUHI, M.; DAWSON, T.M.; SNYDER, S.H.; 1991. Nitric oxide synthase protein and mRNA are discretely localized in neuronal populations of the mammalian CNS together with NADPH diaphorase. *Neuron* 7, 615-624.

GALAL, A.M.; 2000. Sesquiterpenes from *Ferula hermonis*. *Boiss. Die Pharmazie* 55, 961-964.

GALAL, A.M.; EHAB, A.; ABOURASHED, SAMIR A.R.; MAHMOUD, A.; EL SOHLY, MANSOURS S.; AL-SAID AND FAROUK S. EL-FERALLY; 2001. Daucane sesquiterpenes from *Ferula hermonis*. *Journal of Natural Products* 64, 399-405.

GARRIDO, M.R. AND ISRAEL, A.; 2004. Endothelin ETB receptor signaling in the median eminence and subfornical organ of the rat brain. *Neuropeptides* 38, 304-310.

GONZÁLEZ, A.G.; BARRIER, J.B.; 1995. Chemistry and sources of mono and bicyclic sesquiterpenes from *Ferula* species. *Progress Chemical Organic Natural Products* 64, 1-92.

HADIDI, K.A.; ABURJAI, T. AND BAITAH, A.K.; 2003. To comparative study of *Ferula hermonis* root extracts and sildenafil on copulatory behavior of male rats. *Fitoterapia* 74, 242-246.

- HERBISON, A.E.; SIMONIAN, S.X.; NORRIS, P.J.; EMSON, P.C.; 1996. Relationship of neuronal nitric oxide synthase immunoreactivity to GnRH neurons in the ovariectomized and intact female rat. *Journal of Neuroendocrinology* 343 8, 73-82.
- IGNATKOV, V.; AKHMEDKHODZHAIEVA, K.T.; BABICHEV, V.N.; 1990. The effect of tefestrol on the secretion of luteinizing hormone from the hypophysis. *Farmakol Toksikol* 53, 37-38.
- LOWRY, O.; ROSEBROUGH, N.; FARR, A. and RANDALL, R.; 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry* 193, 265-275.
- MATHISON, Y.; ISRAEL, A.; 1998. Endothelin ETB receptor subtype mediates nitric/oxide cGMP formation in rat adrenal medulla. *Brain Research Bulletin* 45, 15-19.
- MORETTO, M.; LÓPEZ, F.J.; NEGRO-VILAR, A.; 1993. Nitric oxide regulates luteinizing hormone-releasing hormone secretion. *Endocrinology* 133, 2399-2402.
- PREVOT, V.; BOURET, S.; STEFANO, G.B.; BEAUVILLAIN, J.C.; 2000. Median eminence nitric oxide signaling. *Brain Research Reviews* 34, 21-41.
- PREVOT, V.; CROIX, D.; RIALAS, CH.M.; POULAIN, P.; FRICCHIONE, G.Y.; STEFANO, G.B.; BEAUVILLAIN, J.C.; 1999. Estradiol coupling to endothelial nitric oxide stimulates gonadotropin-releasing hormonal release from rat median eminence via a membrane receptor. *Endocrinology* 140, 652-657.
- ZANOLI, P.; RIVASI, M.; ZAVATTI, M.; BRUSIANI, F.; VEZZALINI, F. AND BARALDI, M.; 2005. Activity of single components of *Ferula hermonis* on male rat sexual behavior. *International Journal of Impotence Research*. 17, 513-516.
- ZAMARAIEVA, M.V.; HAGELGANS, A.I.; LUBNINA, L.V.; ABRAMOV, A.Y.; AHMEDHODJAEVA, H.S.; SAIDHODJAEV, A.I.; GLAZYRINA, N.G.; SALAKHUTDINOV, B.A.; 1997. Ionophoretic properties of ferutinin. *Cell Calcium* 22, 235-241.

Recibido: febrero 2005
 Aceptado: abril 2005

Química de coordinación como un arma para el desarrollo de potenciales drogas antimaláricas. Estudio de los posibles mecanismos de acción

CAMACHO, J.²; FERRER, R.^{1*}; MALDONADO, A.³; NAVARRO M.³

Resumen

El principal problema en la lucha contra la malaria lo representa la resistencia hacia múltiples fármacos desarrollada por los parásitos del género *Plasmodium*, agentes causales de la malaria; requiriéndose nuevas estrategias para solventar esta situación. Una estrategia que ha cobrado auge es la incorporación de una porción organometálica a drogas antimaláricas estándar, con la finalidad de revertir la resistencia y prolongar su vida útil como antimalárico; tal es el caso de la ferroquina y sus distintos derivados. Encontramos que los complejos de oro, rutenio y rodio derivados de cloroquina, así como la síntesis de complejos multidentados de metales (III), han sido reportados como potenciales antimaláricos. A continuación se presenta una breve revisión del desarrollo de estos compuestos, haciendo énfasis en los diversos mecanismos de acción que pudieran estar involucrados en dicha actividad.

Palabras clave: malaria, hemozoína, cloroquina, ferroquina, resistencia.

Abstract

Plasmodium falciparum antimalarial multidrug resistance is the greatest difficulty in the fight against Malaria, therefore it is necessary to look for a strategy to overcome this situation. This new strategy is the development of new synthetic compounds in which an organometallic fragment is bonded to a known antimalarial drug; this new drug may increase their effectiveness as had been shown by ferroquine and other chloroquine metallic complexes. The synthesis of novel class of multidentate metal (III) coordination complexes had been reported. The aim of this review is to provide an overview about several developments of these compounds, emphasizing the possible mechanism of action involved.

Keys words: Malaria, haemozoin, chloroquine, ferroquine, drug resistance

Introducción

La malaria o paludismo representa una de las enfermedades infecciosas más importantes a nivel mundial, siendo África el sitio donde ocurre el 90% de los contagios y muertes. La mayoría de los casos fatales son producidos por el *Plasmodium falciparum*.

Por mucho tiempo el proceso de degradación de la hemoglobina del hospedante por parte del parásito ha representado el punto clave en la búsqueda de un blanco específico para el desarrollo de nuevos fármacos, dada la importancia que posee este mecanismo para la supervivencia del parásito. Apoyados

¹ Laboratorio de Síntesis Orgánica y Diseño Molecular. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

² Laboratorio de Síntesis Orgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Apartado 40.109. Caracas 1040-A. Venezuela.

³ Laboratorio de Química de los Metales de Transición. Centro de Química. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas-IVIC. Altos de Pipe. Venezuela. e-mail: rferrer@luz.edu.ve

principalmente en dicho mecanismo se han diseñado y sintetizado la mayoría de los fármacos antimaláricos.

La propagación de la resistencia a la cloroquina y a otros fármacos como la quinina, mefloquina, halofantrina y pirimetamina-sulfadoxina, es la principal dificultad que existe en la lucha contra la malaria. Esto hace imperativo el desarrollo de nuevas estrategias para su control quimioterapéutico. La química de coordinación representa una de las estrategias que ha surgido actualmente, como un arma para revertir la resistencia a drogas desarrollada por el *Plasmodium falciparum*, la más letal de las especies que infectan al hombre.

En este artículo se presenta una breve revisión del desarrollo de los complejos de coordinación como potenciales compuestos a ser empleados en la terapia antimalárica, haciendo énfasis en los diversos mecanismos de acción que pudieran estar involucrados en dicha actividad.

Formación de Hemozoína como principal blanco para la acción de drogas antimaláricas

Por muchos años se ha aceptado que la digestión de la hemoglobina del eritrocito hospedador se desarrolla en la vacuola digestiva, donde existen enzimas proteolíticas (proteasas aspártico, cisteínicas y metaloproteasas) que son activas bajo condiciones ácidas. De esta forma el parásito adquiere los aminoácidos requeridos para la síntesis de sus propias proteínas mientras que desarrolla un proceso de desintoxicación del hemo libre, para evitar la toxicidad ocasionada por la acumulación del mismo, debido a la generación de especies superóxidos y peróxidos que desencadenarían modificación de aminoácidos, así como daños a las membranas celulares y al ADN (Tilley y col., 1999). Este proceso de desintoxicación consiste en oxidar el hemo libre (Fe(II)PPIX) a hematina (H₂O/OHFe(III)PPIX) para generar posteriormente el pigmento malárico inocuo denominado Hemozoína (Egan, 2004). Este pigmento está constituido por β-hematina (Fig. 1) y otros componentes que no han sido caracterizados completamente pero que pueden incluir hemoglobina degradada u otras proteínas, así como FePPIX no dimerizada y lípidos (Sullivan, 2002; Fitch, 2004).

La β-hematina ha sido sintetizada y caracterizada bajo diversas condiciones experimentales (Slater y col., 1991; Egan y col., 1994; Dorn y col., 1995; Pagola y col., 2000; Blauer y Akkawi, 2002). Es capaz de almacenarse en forma cristalina en las vacuolas digestivas y residuales, siendo insoluble a pH fisiológico. El modelo más reciente involucra una unidad dimé-

rica, donde un par de unidades de hematina se coordinan entre sí (enlace coordinado del oxígeno carboxilato de una con el hierro central de otra); al mismo tiempo esta unidad se enlaza a otro dímero por enlaces de hidrógeno de las cadenas laterales no involucrados en los complejos de coordinación con hierro, formando los cristales característicos (Pagola y col., 2000; Hempelmann y Egan, 2002) (Fig. 2).

Desde que se evidenció que la inhibición de hemoglobinas es letal para el parásito, los investigadores se han centrado en el estudio de los procesos que involucran la formación de hemozoína/β-hematina con la finalidad de desarrollar drogas antimaláricas que logren intervenir en alguna etapa del mecanismo de formación del pigmento malárico, evitando que el parásito desarrolle su proceso de desintoxicación, y de esta forma eliminarlo.

A pesar de las evidencias sobre la importancia de este proceso para el parásito, aún no existe un consenso sobre los mecanismos involucrados en la formación de hemozoína. Entre algunas de las hipótesis planteadas se encuentra la existencia de una posible enzima encargada de catalizar el proceso de «polimerización del hemo», a la cual se le ha dado el nombre de Hemopolimerasa; sin embargo, aún no se ha logrado aislar ninguna proteína a la que se le pueda adjudicar tal función de forma inequívoca, incluso ha sido cuestionada en algunas investigaciones (Dorn y col., 1995). Una segunda hipótesis involucra formación autocatalítica, es decir, propiciada por la hemozoína preformada. Recientemente, estudios basados en las diferencias de solubilidades de hematina y β-hematina han planteado la posibilidad de que la nucleación del cristal de β-hematina sea mediada por algún facilitador del proceso, surgiendo dos nuevas teorías. La primera representa la intervención de lípidos en este proceso. Se ha propuesto que los ácidos grasos insaturados sirven para concentrar la hematina y mantenerla en un estado favorable para la dimerización, probablemente a través de un mecanismo oxidativo, basados en el hecho de que ácidos grasos saturados no muestran la misma acción (Bendrat y col., 1995; Dorn y col., 1998). Por otra parte, estudios recientes adjudican esta función a una proteína específica del parásito denominada Proteína rica en histidina II (HRPII), la cual al parecer es capaz de transportar de 20 a 50 unidades de hematina propiciando la nucleación (Sharma, 1988; Howard y col., 1989; Sullivan y col., 1996; Chahuan y col., 1999; Marletta y col., 1999; Egan, 2002). Esta evidencia genera una nueva controversia debido a que otros estudios demuestran que donde existe la mayor concentración de esta proteína es en el citosol del parásito y no en la vacuola diges-

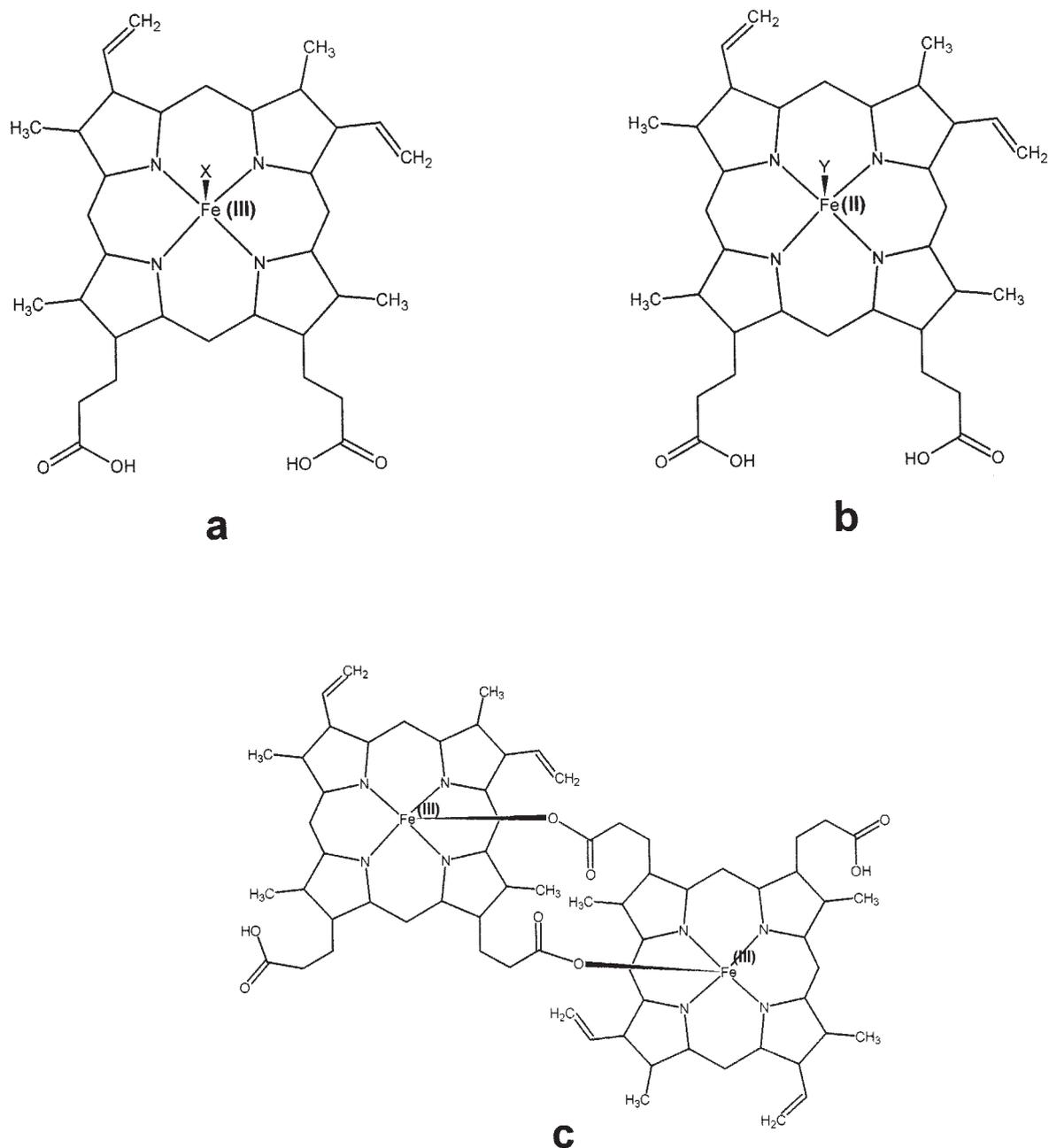


Figura 1

Estructura química de: a) hematina (OH-/H₂O-Fe(III)PPIX); b) Hemo libre (Fe(II)PPIX), c) Unidad dimérica de b-hematina.
Egan, T. y Hempelmann, E. Trends in Parasitology, 2002, 18(1), 11

tiva, proponiéndose un nuevo mecanismo de biogénesis de la hemozoína que involucra una vesícula de transporte y rompiendo con la teoría de que el proceso de degradación de la hemoglobina y posterior formación de hemozoína se desarrolla en la vacuola digestiva del parásito (Hempelmann y col., 2003).

De esta forma, los principales ensayos efectuados para evaluar la actividad antimalárica de nuevos compuestos se basan, en su mayoría, en la medición del

grado de inhibición de la formación de hemozoína que puedan provocar los mismos, apoyados en métodos espectroscópicos, principalmente espectroscopia UV-visible (Raynes y col., 1996; Dorn y col., 1998; Pandey y col., 2001; Sullivan y Chong, 2003) e IR (Egan y col., 1994 y 2001; Walter y col., 2004). Los protocolos de dichos ensayos varían de una investigación a otra, básicamente en la incorporación de extractos del parásito que aparentemente facilitaría la formación de

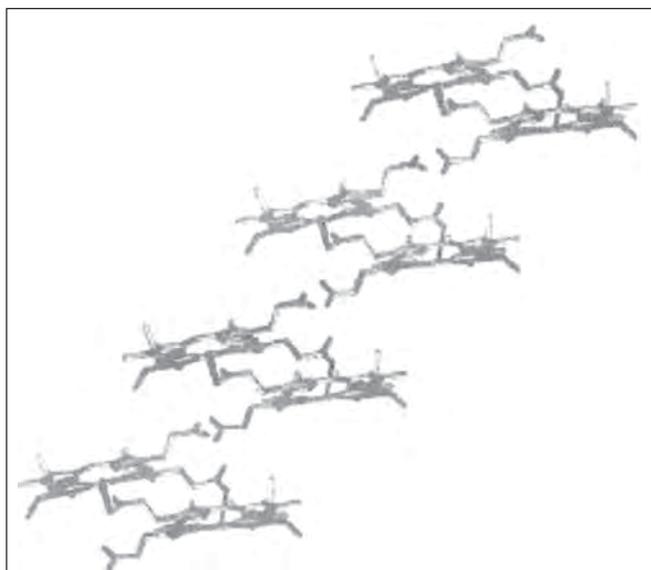


Figura 2

Modelo actual de cristales de hemozoina representado como un dímero.

Sullivan, DJ. In *Biopolimers*, Vol 9, *Miscellaneous. Biopolimers and Biodegradation of Synthetic Polymers. Biopolimers A Steinbuchel Series Editor*. 2002. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co. pp. 129-163.

β -hematina, mientras que en otros estudios el prescindir de dichos extractos no parece modificar significativamente los resultados obtenidos. En muchos casos se complementan los resultados de los ensayos de inhibición de formación de hemozoina con otros que determinan la afinidad de la droga a la hematina (Payton y col., 2001) o incluso a la HRP-II (Pandey y col., 2001), con la finalidad de plantear hipótesis sobre el posible mecanismo de acción de la droga. Por otra parte, estos resultados se comparan con los obtenidos en los ensayos de inhibición de crecimiento de población de parásitos.

Todas estas pruebas se requieren para dar una explicación más certera del mecanismo de acción de la droga, ya que no todos los compuestos que forman complejos con la hematina inhiben la formación de hemozoina (Vippagunta y col., 1999), así como se ha reportado que la concentración requerida de un compuesto para inhibir la formación de hemozoina es mucho mayor que la necesaria para inhibir el crecimiento de cepas del parásito (Raynes y col., 1996).

Complejos metálicos como potenciales antimaláricos

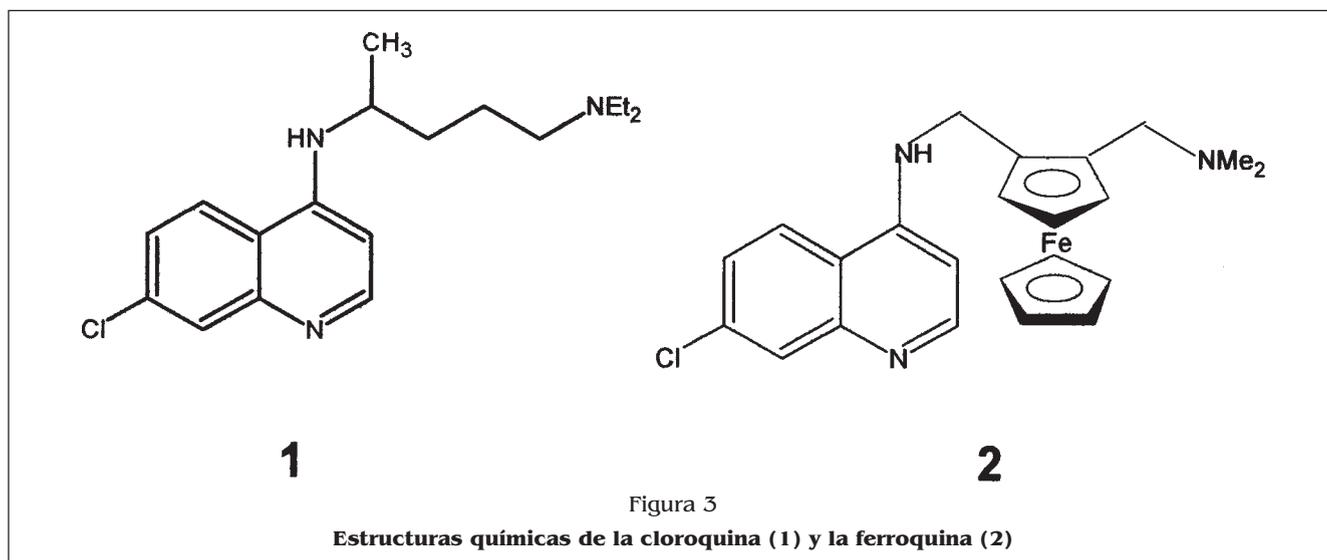
Cloroquina versus ferroquina: Ligandos empleados para la síntesis de complejos metálicos

La cloroquina (CQ) **1** es el fármaco antimalárico más empleado hasta el presente, debido a su eficiencia,

tolerancia, bajo costo y viabilidad. Sin embargo, la resistencia a la misma por parte del parásito se ha propagado a todas las regiones endémicas. Esta resistencia incluye otras drogas como la quinina, mefloquina y halofantrina, lo cual ha limitado la eficiencia de la quimioterapia antimalárica. Una de las estrategias empleadas en la síntesis de nuevos compuestos con actividad antimalárica consistió en asociar una molécula de ferroceno con la cloroquina, surgiendo la ferroquina (FQ) **2**, un derivado que ha demostrado actividad a concentraciones nanomolares contra parásitos de *Plasmodium falciparum* resistentes a cloroquina (Brocard y col., 1997). La porción ferrocenil posee gran estabilidad en medio ácido o básico, lo que la hace un candidato ideal para la síntesis de metalo-drogas (Charraher y col., 2004). Una de las hipótesis más aceptadas es que la cloroquina ejerce su efecto al acumularse en la vacuola digestiva de los parásitos sensibles, inhibiendo la formación de hemozoina (Homewood y col., 1972). Sin embargo, los parásitos resistentes, a pesar de que muestran incorporación cinética idéntica a los sensibles, liberan la cloroquina más rápidamente como consecuencia de la disminución del grado de acidez dentro de la vacuola, logrando almacenar cloroquina no protonada, la cual no puede mantenerse dentro de la misma el tiempo necesario debido a la permeabilidad de la membrana de la vacuola. Al parecer, la ferroquina puede mantener su forma protonada en el interior de la vacuola, a pesar de que exista un pH ligeramente alcalino y, por consiguiente, es retenida, preservando su acción antimalárica contra cepas resistentes a la cloroquina (Atteke y col., 2003). Una explicación de la diferencia en la acción de estos fármacos se relaciona con los posibles metabolitos obtenidos, sugiriéndose que si la FQ sigue la misma vía metabólica que la CQ (metabolitos) permanecerán más activos que los de la CQ contra el parásito (Biot y col., 1999).

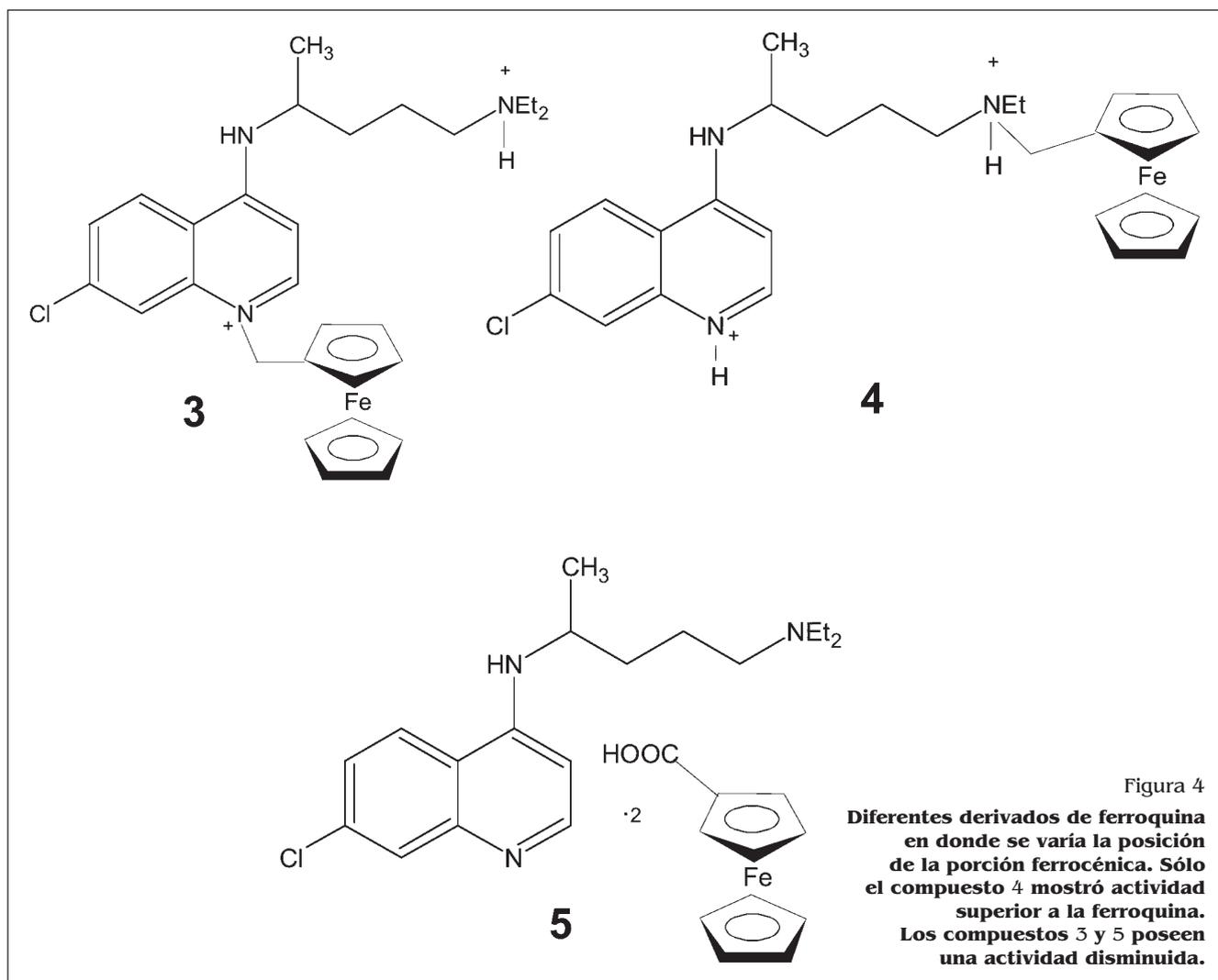
La ferroquina es más eficaz que la cloroquina tanto en cepas sensibles como resistentes, además de existir pocas evidencias de efectos tóxicos y una gran viabilidad de administración oral (Pradines y col., 2001; Biot, 2004). Por otra parte, se ha determinado que ambos enantiómeros son equipotentes, e incluso cada enantiómero es ligeramente menos activo que el racemato, siendo ésta la formulación óptima en la actualidad, por lo que no es necesario resoluciones quirales de alto costo (Delhaes y col., 2002; Biot, 2004).

Existen dudas sobre el papel que juega la porción ferrocenil en la actividad antimalárica de la ferroquina. Una hipótesis postula que la resistencia a la cloroquina puede superarse al incorporar una porción de hierro estable dentro de la molécula de la droga activa, basados en las teorías que plantean una necesidad del



parásito por el hierro libre (Kochan, 1973; Weinberg, 1974; Raventos-Suárez y col., 1982; Peto y Thompson, 1986). Por otra parte, se ha demostrado que la posición del ferroceno en la molécula juega un papel muy im-

portante (Fig. 4), proporcionando actividad antimalárica sólo si se ubica en la cadena lateral, siendo necesario un enlace covalente a la cloroquina (Domarle y col., 1998; Biot y col., 1999).

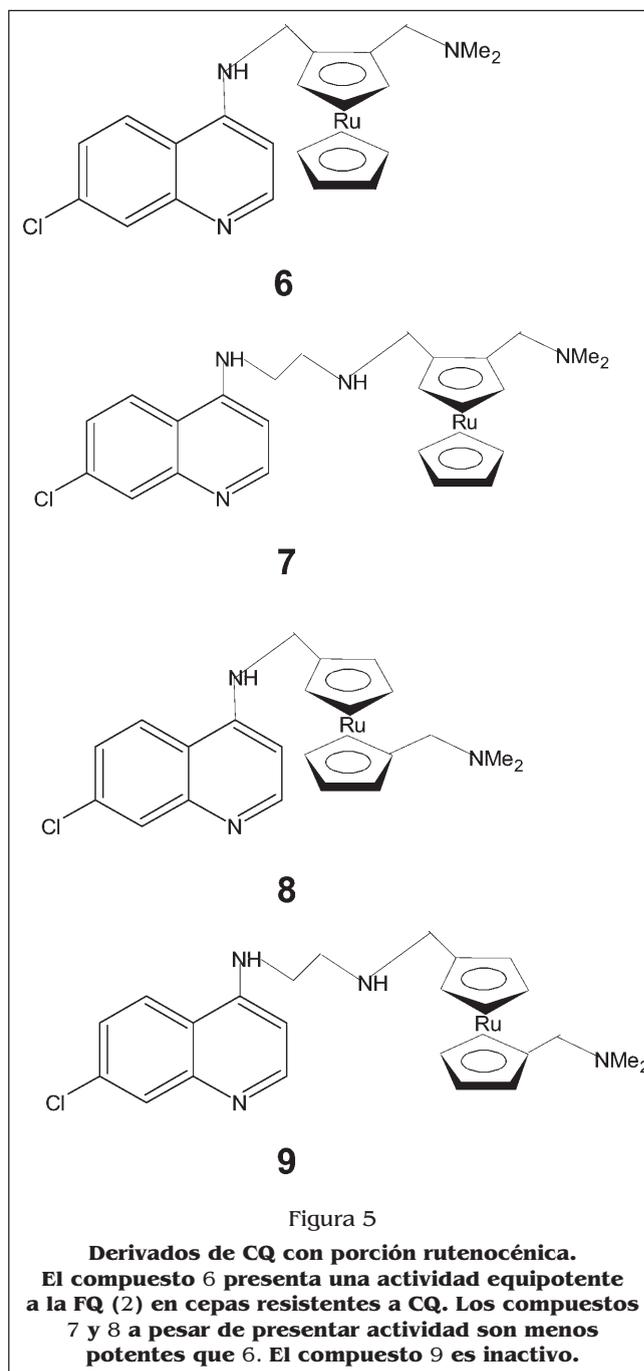


Se propone que el ferroceno puede tener un efecto aditivo o sinérgico cuando se enlaza en forma covalente a una molécula activa biológicamente, limitando su eficacia por sí mismo, proponiéndose un sistema «carnada-gancho» que actuaría sobre el parásito eliminándolo (Moss y col., 2003). Sin embargo, esta hipótesis es desestimada por estudios en los que se incorpora la porción ferrocenil a drogas activas como la mefloquina y derivados de quininas, sin observarse una actividad significativamente superior en la eficacia de las mismas (Biot y col., 2000). Una segunda hipótesis plantea que la porción ferrocenil realza la actividad sólo al aumentar la lipofilicidad, al agrandar el grupo hidrofóbico en la estructura. Esta hipótesis es apoyada en estudios en los que se sintetizaron análogos de rutenoceno (Fig. 5), los cuales no mostraron diferencias significativas en su actividad con ferroquina *in vitro*, atribuyendo la eficacia de estos derivados al gran grupo hidrofóbico, más que al efecto del metal central (Chibale y col., 2002 y 2003) Aunque la acción de la porción ferrocenil no es bien entendida, es un hecho que la ferroquina restaura la actividad de la cloroquina totalmente en cepas resistentes. La actividad biológica de estos compuestos parece ser una función de la actividad inhibitoria de la formación de β -hematina y su habilidad para acceder y acumularse en los sitios de acción.

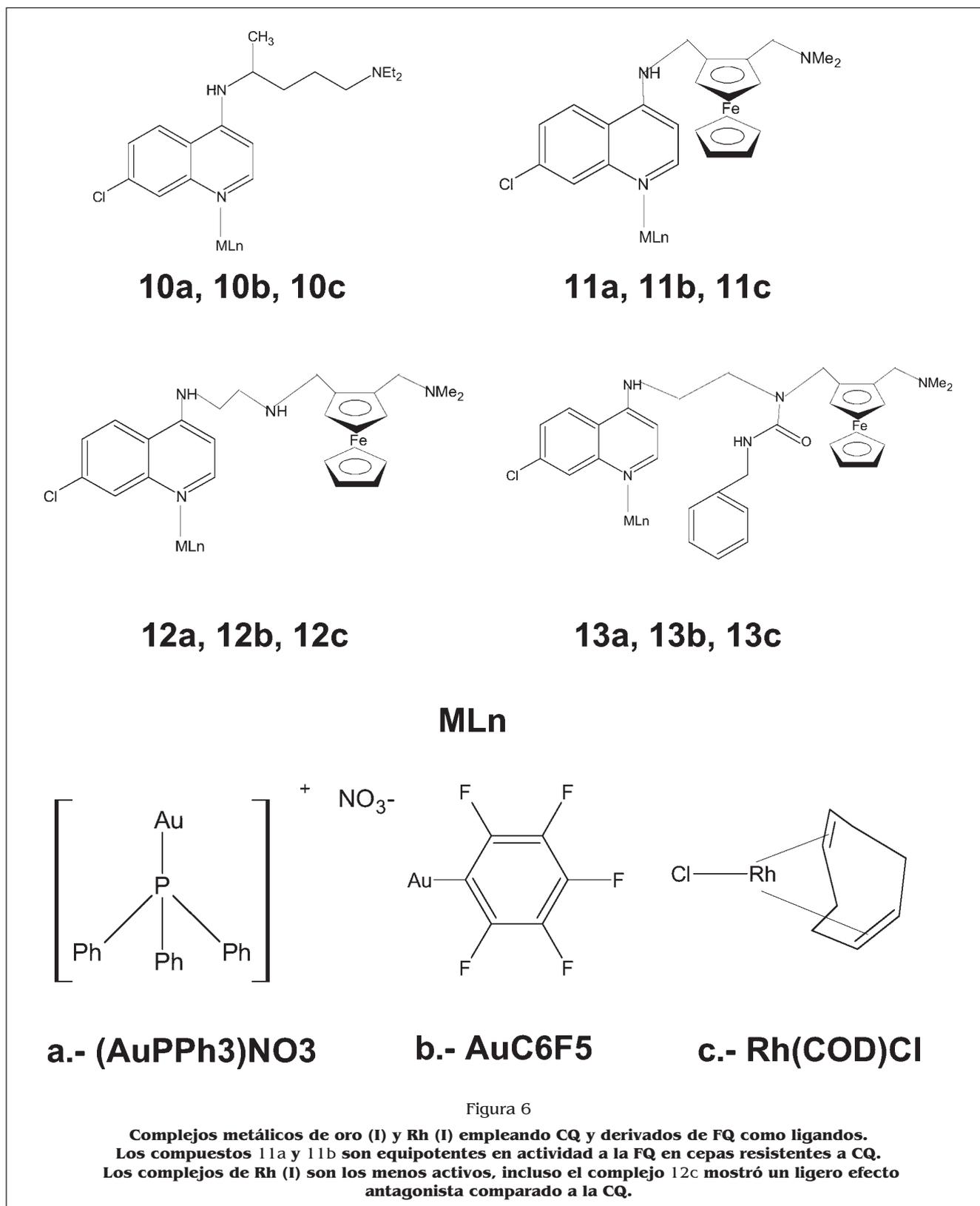
Investigaciones recientes han reportado la síntesis y evaluación biológica de complejos de oro, rodio y rutenio como potenciales drogas antimaláricas, empleando cloroquina, ferroquina y sus derivados como ligandos (Fig. 6) (Sánchez-Delgado y col., 1996 y 1997; Moss y col., 2003). Al parecer la presencia de Au y Rh unido al nitrógeno de la quinolina no muestra un efecto significativo sobre la habilidad de los derivados quinolinicos para inhibir la formación de β -hematina. Sin embargo, compuestos como el **11a** y **11b**, pertenecientes a los denominados complejos heterobimetálicos, han demostrado ser equipotentes a la ferroquina en cepas resistentes a cloroquina, lo cual ha generado discusión sobre el mecanismo de acción de este tipo de compuestos, donde la coordinación del metal aumenta la actividad de la cloroquina o sus derivados.

Para dar una explicación a este tipo de resultados, desde hace tiempo se ha propuesto un mecanismo que involucra la posible interacción de este tipo de complejos de coordinación con el ADN.

En décadas pasadas la cloroquina y otros compuestos relacionados representaban fármacos cuya actividad antimalárica ampliamente demostrada se relacionaba con su capacidad de formar complejos de intercalación con el ADN (Lerman, 1963), por lo que se propuso que eran capaces de inhibir la síntesis del



ADN y ARN del parásito. Sin embargo, posteriores estudios cuestionaron este mecanismo de acción (Davidson y col., 1975 y 1977), planteando que dicha actividad no está correlacionada con la interacción al ADN en este tipo de compuestos y que al parecer el mecanismo de acción común de los mismos está relacionado con la inhibición en la formación de hemozoína, proponiéndose que la interacción con el ADN es un efecto secundario que ocurre sólo con la muerte del parásito y no es significativo para la actividad, ya que a dosis normales de la droga no se afecta la síntesis de ácidos nucleicos. En la actualidad este tema vuelve a tomar fuerza por la evaluación de la criptolepina, un



alcaloide tipo indolquinolina, que ha demostrado una potente actividad antiplasmodial y que al mismo tiempo es un intercalador de ADN (Labaied y col., 2000; Wright y col., 2001; Lisgarten y col., 2002; Feiz y col., 2004) con propiedades citotóxicas.

Por tal motivo, los complejos de oro, rodio y rutenio sintetizados, empleando cloroquina, ferroquina y sus derivados como ligandos, también se evalúan como potenciales antimaláricos determinando su interacción con el ADN.

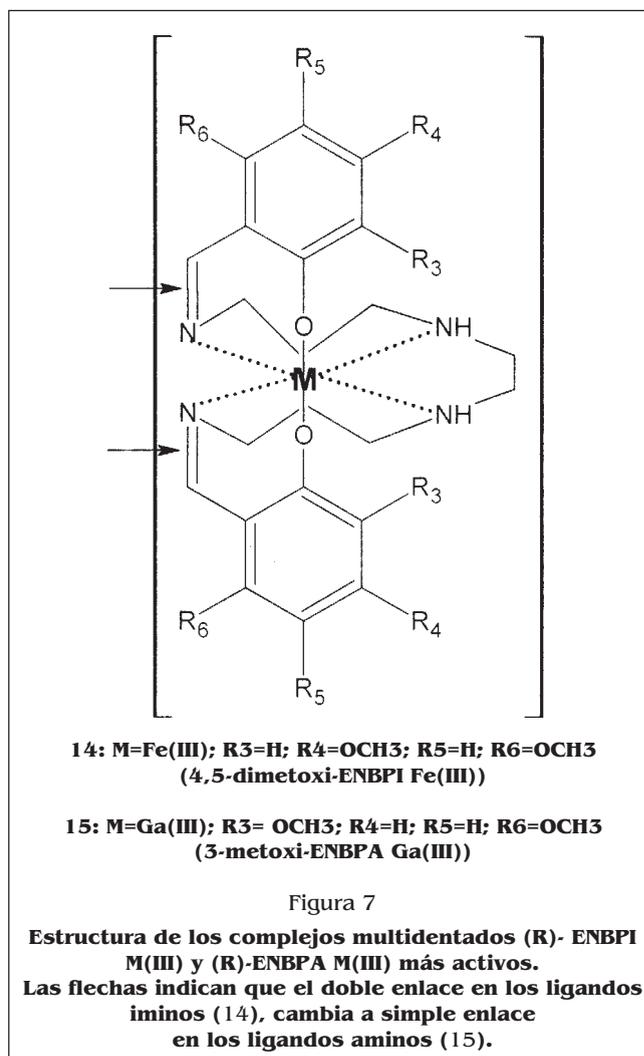
Los mecanismos por los cuales actúan los complejos organometálicos y de coordinación probablemente sean diferentes.

En términos generales se ha demostrado que la presencia de oro en ferroquina y sus derivados permite que la porción ferrocenil sea más resistente a la oxidación, haciendo a estos derivados más activos. Por otra parte se observa que los complejos de rodio son significativamente menos activos que los de oro, e incluso poseen de moderado a un fuerte efecto antagonista sobre la eficacia de los ligandos que contienen ferrocenil (Fig. 6).

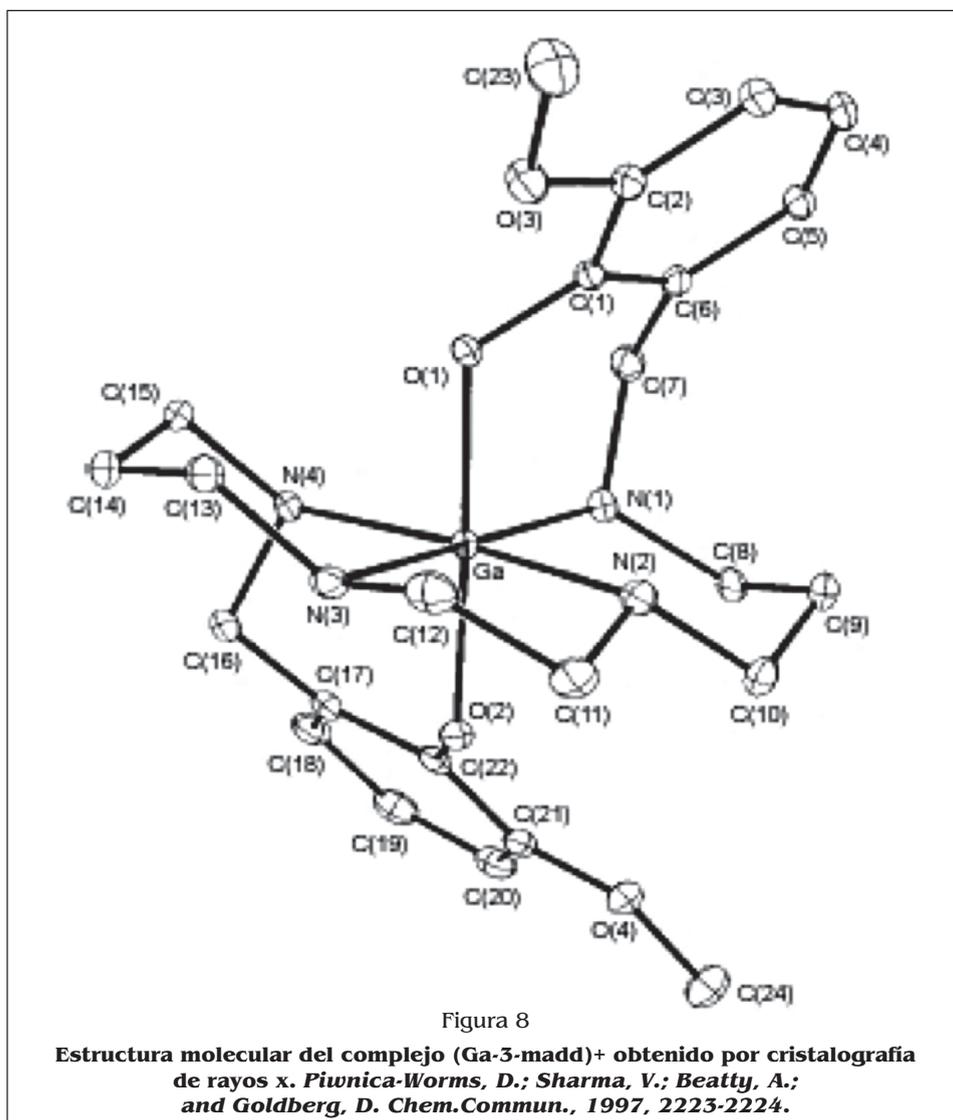
Nueva Clase de Complejos de coordinación multidentados de metal (III)

En vista de la importancia atribuida al metabolismo del hierro se han explorado una serie de agentes quelantes como la deferoxamina como potenciales antimaláricos terapéuticos. Cuando estos agentes se han administrado como ligandos libres han mostrado actividad antimalárica, quizás por interferir en el metabolismo del hierro, pero ninguno ha sido ideal en sus propiedades farmacológicas.

Se han empleado agentes quelantes hexadentados como los complejos tipo N_4O_2 , etilendiamina-bis-(propil((R)-benzilimino))M(III), donde M es Al(III), Fe(III), Ga(III) e In(III) (Fig. 7), hidrolíticamente estables y cuyo potencial farmacológico depende de un balance entre hidrofobicidad y carga monocatónica deslocalizada, constituyendo un grupo de compuestos quimiosensibilizadores cuyo mecanismo de acción parece estar relacionado con la acción de una proteína localizada en la membrana de la vacuola digestiva del parásito denominada glicoproteína-P (Pgh1), la cual actúa como una bomba de eflujo de compuestos que está implicada en la resistencia de drogas (Foote y col., 1990; Piwnica-Worms y col., 1996; Goldberg y col., 1997). Cuando se sobreexpresa esta proteína transmembranal, los fármacos se transportan al exterior celular, disminuyendo su concentración intracelular por debajo de la dosis activa, dejando de ser efectivos. Los compuestos quimiosensibilizadores, al inhibir dicha proteína, revierten los efectos de la misma restaurando las concentraciones intracelulares óptimas. En nuestro estudio se emplearon como ligandos el etilendiamina-bis-(propil((R)-benzilimino)) (ENBPI) y el etilendiamina-bis-(propil((R)-benzilamino)) (ENBPA), formando complejos estables como mezclas racémicas, obteniéndose como compuestos de mayor actividad, en cepas resistentes, el 4,6-dimetoxi-ENBPI Fe(III) y el 3-metoxi-ENBPA Ga(III) (Fig. 7). Este tipo de complejos muestra gran estabilidad a la hidrólisis neutra, además de que aparentemente no experimentan reacciones de desmetalación



o transmetalación al compararlos con la inactividad de las sales de Ga(III) por sí solas. Por otra parte, se ha logrado establecer que grupos de agentes capaces de incorporar metales biológicamente compatibles como el Fe(III) pueden actuar contra el mismo blanco molecular de la CQ, pero no ser susceptibles al mismo mecanismo de resistencia de la droga. Otros complejos de galio(III) reportados como potentes antimaláricos con un blanco selectivo sobre cepas resistentes a cloroquina lo constituyen el (1,2-bis(2-hidroxi-3-metoxibencil)-1,5,8,12-tetraazadodecano)galio(III) (Ga-3-madd)⁺ (Piwnica-Worms y col., 1997) y más recientemente el (1,2-bis(2-hidroxi-5-metoxibencil)-1,5,8,12-tetraazadodecano)galio(III) (Ga-5-madd)⁺ (Sharma y col., 2003), con una actividad muy superior al primero (Fig. 8). Es importante destacar ciertos aspectos del empleo del galio(III) como sustituto del hierro(III), como el hecho que ambos iones poseen la misma carga y poseen radios iónicos muy próximos en complejos hexacoordinados, lo cual resulta en similares químicas de coordinación. Por otra parte, los complejos de hierro(III) en solución generan las amplias bandas anchas y



la pobre resolución características de los espectros de RMN debido al alto spin del ión, mientras que el galio (III) es diamagnético, facilitándose este tipo de estudio espectroscópico.

Conclusiones

A pesar de que el estudio de los complejos metálicos con potencial actividad antimalárica es relativamente reciente, las investigaciones de los últimos años han generado resultados positivos centrados en su importancia como una de las principales estrategias para afrontar la propagación de la resistencia hacia múltiples fármacos. De todos los compuestos, quizás los derivados de ferroquina son los que probablemente posean mayor viabilidad para comenzar a emplearse comercialmente como agente terapéutico. Sin embargo, el estudio de complejos metálicos empleando agentes quelantes, y la búsqueda de ligandos orgánicos que puedan emplearse como drogas patro-

nes para la síntesis de nuevos complejos metálicos que realcen la actividad antimalárica, como puede ser el caso de los derivados de la criptolepina, sigue representando un reto en el área de la síntesis de complejos metálicos con aplicación medicinal.

Referencias bibliográficas

- ATTEKE, C.; MEZUI ME NDONG, J.; AUBOUY, A.; MACIEJEWSKI, L.; BROCARD, J.; LÉIBIBI, J. & DELORON, P.; 2003. In vitro susceptibility to a new antimalarial organometallic analogue, ferroquine of *Plasmodium falciparum* isolates from the Haut-Ogooué region of Gabon. *J. Antimicrob. Chemother.* 51: 1021-1024.
- BENDRAT, K.; BERGER, B.J. & CERAMI, A.; 1995. Haem polymerization in malaria. *Nature.* 378: 138-139.
- BIOT, C.; DELHAEL, L.; ABESSOLO, H.; DOMARLE, O.; MACIEJEWSKI, L.A.; MORTUAIRE, L.; DELCOURT, P.; DELORON, P.; CAMUS, D.; DIVE, D. & BROCARD, J.S.; 1999. Novel metallocenic compounds as antimalarial agents. Study of the position of ferroquine in chloroquine. *J. Organometall. Chem.* 589: 59-65.

- BIOT, C.; DELHAES, L.; N'DIAYE, C.M.; MACIEJEWSKI, L.A.; CAMUS, D.; DIVE, D. and BROCARD, S.; 1999. Synthesis & Antimalarial Activity in Vitro of Potential Metabolites of Ferrochloroquine and Related Compounds. *Biorg. Med. Chem.* 7: 2843-2847.
- BIOT, C.; DELHAEL, L.; MACIEJEWSKI, L.A.; MORTUAIRE, M.; CAMUS, D.; DIVE, D. & BROCARD, J.S.; 2000. Synthetic ferrocenic mefloquine and quinine analogues as potential antimalarial agents. *Eur. J. Med. Chem.* 35: 707-714.
- BIOT, C.; 2004. Ferroquine: A new weapon in the fight against malaria. *Curr. Med. Chem. Anti-Infective-Agents.* 3: 135-147.
- BLAUER, G. & Akkawi, M.; 2002. Alcohol-water as a novel medium for b-hematin preparation. *Arch. Biochem. Biophys.* 398: 7-11.
- BROCARD, J.; BIOT, C.; GLORIAN, G. & MACIEJEWSKI, L.; 1997. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of a new ferrocene-chloroquine analogue. *J. Med. Chem.* 40: 3715-3718.
- CHARRAHER, Ch.; PITTMAN, Ch.; SHEATS, J. & ZELDIN, M.; 2004. *Macromolecules containing metal and metal-like elements*. Vol. 3. Biomedical Applications. John Wiley and sons, Inc., pp. 1-18.
- CHAUHAN, V.; LYNN, A.; CHANDRA, S. & MALHOTRA, P.; 1999. Heme binding and polymerization by Plasmodium falciparum histidine rich protein II: Influence of pH on activity and conformation. *FEBS Lett.* 459: 267-271.
- CHIBALE, K.; MOSS, J.; BEAGLEY, P.; BLAKIE, M.A.; CLARKSON, C. & SMITH, P.; 2002. Synthesis and antimalarial activity in vitro of new ruthenocene-chloroquine analogues. *J. Chem. Soc., Dalton Trans.* 4426-4433.
- CHIBALE, K.; MOSS, J.; BEAGLEY, P.; BLAKIE, M.A.; CLARKSON, C.; MEIJBOOM, R.; SMITH, P. & SU, HONG.; 2003. Synthesis and antiplasmodial activity in vitro of new ferrocene-chloroquine analogues. *Dalton Trans.* 3046-3051.
- DAVIDSON, M.; GRIGGS, B.; BOYKIN, D.W. & WILSON, W.D.; 1975. Mefloquine, a clinically useful quinolinemethanol antimalarial which does not significantly bind to DNA. *Nature.* 254: 632-634.
- DAVIDSON, M.; GRIGGS, B.; BOYKIN, D.W. & WILSON, W.D.; 1977. Molecular structural Effects Involved in the interaction of quinolenemethanolamines with DNA. Implications for antimalarial action. *J. Med. Chem.* 20: 1117-1122.
- DELHAES, L.; BIOT, C.; BERRY, L.; DELCOURT, P.; MACIEJEWSKI, L.A.; MACIEJEWSKI, L.A.; CAMUS, D.; BROCARD, J.S. & DIVE, D.; 2002. Synthesis of ferroquine enantiomers : first investigation of effects of metallocenic chirality upon antimalarial activity and cytotoxicity. *ChembioChem.* 3: 418-423.
- DOMARLE, O.; BLAMPAIN, G.; AGNANIET, H.; NZADIYABI, T.; LÉBIBI, J.; BROCARD, J.; MACIEJEWSKI, L.; BIOT, C.; GEORGES, A.J. & MILLET, P.; 1998. In vitro antimalarial activity of a new organometallic analogue, ferrocene-chloroquine. *Antimcr. Agents Chemother.* 42: 540-544.
- DORN, A.; STOFFEL, R.; MATILDE, H.; BUBENDORF, A. & RIDELEY, R.; 1995. Malarial haemozoin support haem polymerization in the absence of protein. *Nature.* 374: 269-271.
- DORN, A.; VIPPAGUNTA, S.R.; MATILDE, H.; BULENDORF, A.; VENNESTROM, J.L. & RIDLEY, R.G.; 1998. A comparison and analysis of several ways to promote haematin (haem) polymerization and an assessment of its initiation in vitro. *Biochem. Pharmacol.* 55: 737-747.
- DORN, A.; VIPPAGUNTA, S.R.; MATILDE, H.; JACQUET, C.; VENNESTROM, J.L. & RIDLEY, L.G.; 1998. An assesment of drug – haematin binding as a mechanism for inhibition of haematin polymerization by quinoline antimalarials. *Biochem. Pharmacol.* 55: 727-736.
- EGAN, T.; ROSS, D. & ADAMS, P.; 1994. Quinoline antimalarial drugs inhibit spontaneous formation of Beta-haematin (malaria pigment). *FEBS Lett.* 352: 54-57.
- EGAN, T.J.; MAVUSO, W. & NCOKAZI, K.; 2001. The mechanism of b-hematin formation in acetate solution. Parallels between hemozoin formation and biomineralization processes. *Biochemistry.* 40: 204-213.
- EGAN, T.; 2002. Discovering antimalarials: A new strategy. *Chem. Biol.* 9: 852-853.
- EGAN, T.J.; 2004. Haemozoin formation as a target for the rational design of new antimalarials. *Drug Design Rev.* 1: 93-110.
- FEIZ, M.H.; DODSON, H.I. & WRIGHT, C.W.; 2004. Effects cryptolepine, 2,7-dibromocryptolepine and standard drug on hemoglobin accumulation in cultured malaria parasites. *Iranian J. Pharm. Res.* 2: 18-18.
- FITCH, C.D.; 2004. Ferriprotoporphyrin IX, phospholipids, and the antimalarial actions of quinoline drugs. *Life Sciences.* 74: 1957-1972.
- FOOTE, S.J.; KYLE, D.E.; MARTIN, R.K.; ODUOLA, A.M.; FORSYTH, K.; KEMP, D.J. & COWMAN, A.F.; 1990. Several alleles of the multidrug resistance gene are closely linked to chloroquine resistance in Plasmodium falciparum. *Nature.* 345: 255-258.
- GOLDBERG, D.; SHARMA, V.; OKSMAN, A.; GUZMAN, I.; WELLEMS, T. & PIWNICA-WORMS, D.; 1997. Probing the chloroquine resistance locus of Plasmodium falciparum with a novel class of multidentate metal (III) coordination complex. *J. Biol. Chem.* 272: 6567-6572.
- HEMPELMANN, E. & EGAN, T.J.; 2002. Pigment byocrySTALLIZATION in Plasmodium falciparum. *Trends Parasitol.* 18: 11.
- HEMPELMANN, E.; MOTTA, C.; HUGHES, R.; WARD, S. & BRAY, P.; 2003. Plasmodium falciparum: Sacrificing membrane to grow crystals. *Trends Parasitol.* 19: 23-26.
- HOMEWOOD, C.A.; WARHURST, D.C.; PETERS, W. & BAGGLEY, V.C.; 1972. Lysosomes, pH, and the antimalarial action of chloroquine. *Nature.* 235: 50-52.
- HOWARD, R.J.; PANTON, L.J.; MC PHIE, P.; MALOY, W.L.; WELLEMS, T.E. & TAYLOR, D.W.; 1989. Purification and partial characterization of a unusual protein of Plasmodium falciparum histidine-rich protein II. *Mol. Biochem. Parasitol.* 35: 149-160.
- KOCHAN, I.; 1973. The role of iron in bacterial infections with special consideration of host-tubercle bacillus interaction. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 60: 1-30.
- LABAIED, M.; ARZEL, E.; GODARD, A.; MARSAIS, F.; QUEGUINER, G.; ROCCA, P. & GRELLIER, P.; 2000. In vitro antimalarial and antitrypanosomal activities of Delta-carbolines alkaloids. *J. Eukar. Microb.*
- LERMAN, L.S.; 1963. The structure of the DNA-acridine complex. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 49: 94-102.
- LISGARTEN, J.N.; COLL, M.; PORTUGAL, J.; WRIGHT, C.W. & AYMANNI, J.; 2002. The antimalarial and cytotoxic drug cryptolepine intercalates into DNA at cytosine-cytosine sites. *Nat. Struct. Biol.* 1: 57-60.

- MARLETTA, M.A.; CHOI, C.; CERDA, J.F.; CHU, H. & BABCOCK, G.; 1999. Spectroscopic characterization of the heme-binding sites in Plasmodium falciparum histidine-rich protein 2. *Biochemistry*. 38: 16916-16924.
- MOSS, J. R.; BLACKIE, M.; BEAGLEY, P.; CHIBALE, K.; CLARKSON, C. & SMITH, P.; 2003. Synthesis and antimalarial activity of new heterobimetallic complexes: Rh and Au derivatives of chloroquine and a series of ferrocenyl-4-amino-7-chloroquinolines. *J. Organometall.Chem.* 688: 144-152.
- PAGOLA, S.; STEPHEN, P.W.; BOHLE, D.S.; KOSAR, A. & MADSEN, S.; 2000. The structure of malaria pigment b-hematin. *Nature*. 404: 307-310.
- PANDEY, A.; BISHT, H.; BABBARWAL, V.; SRIVASTAVA, J.; PANDEY, K. & CHAUMAN, V.; 2001. Mechanism of malarial haem detoxification inhibition by chloroquine. *Biochem. J.* 355: 333-338.
- PAYTON, D.; KELLY, J.; WINTER, R. & RISCOE, M.; 2001. A spectroscopic investigation of the binding interactions between 4,5 dihydroxanthone and heme. *J. Inorg. Biochem.* 86: 617-625.
- PETO, T.E.A. & THOMPSON, J.L.; 1986. A reappraisal of the effects of iron and desferroximine on the growth of Plasmodium falciparum in vitro: the unimportance of serum iron. *Br. J. Haematol.* 63: 273-280.
- PIWNICA-WORMS, D.; SHARMA, V. & CRANKSHAW, C.; 1996. Effects or multidrug resistance (MDR1) P-Glycoprotein expression levels and coordination metal on the cytotoxic potency of multidentate (N₄O₂) etilendiamina-bis-(propil((R)-benzilimino))M(III) cations. *J. Med. Chem.* 39: 3483-3490.
- PIWNICA-WORMS, D.; SHARMA, V.; BEATTY, A. & GOLDBERG, D.; 1997. Structure of a novel antimalarial gallium (III) complex with selective activity against chloroquine-resistant Plasmodium falciparum. *Chem. Commun.* 2223-2224.
- PRADINES, B.; FUSAI, T.; DARES, W.; LOLOGE, V.; ROGIER, C.; MILLET, P.; PASCONI, E.; KOMBILA, M. & PARZY, D.; 2001. Ferrocene-chloroquine analogues as antimalarial agents: in vitro activity of ferrochloroquine against 103. Gabonese isolates of Plasmodium falciparum. *J. Antimicrob. Chemother.* 48: 179-184.
- RAYNES, K.; DEADY, L.; FOLEY, M. & TILLEY, L.; 1996. Novel bis-quinoline antimalarials. Synthesis, antimalarial activity and inhibition of haem polymerization. *Biochem. Pharmacol.* 52: 551-559.
- RAVENTOS-SUAREZ, C.; POLLACK, S. & NAGEL, R.S.; 1982. Plasmodium falciparum: Inhibition of in vitro growth by deferoxamine. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 31: 919-922.
- SÁNCHEZ-DELGADO, R.; NAVARRO, M.; PÉREZ, H. & URBINA, J.; 1996. Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases. 2. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of new ruthenium- and rhodium-chloroquine complexes. *J. Med. Chem.* 39: 1095-1099.
- SÁNCHEZ-DELGADO, R.; NAVARRO, M. & PÉREZ, H.; 1997. Toward a novel metal-based chemotherapy against tropical diseases. 3. Synthesis and antimalarial activity in vitro and in vivo of the new gold chloroquine complex (Au(PPh₃)(CQ))PF₆. *J. Med. Chem.* 40: 1937-1939.
- SHARMA, Y.D.; 1988. Genomic organization, structure and possible function of histidine-rich proteins of malaria parasites. *Int. J. Biochem.* 20: 471-477.
- SHARMA, V.; PCHESKEY, J.; POLYAKOV, V.; HARPSTRITE, S.; OKSMAN, A.; GOLDBERG, D. & PIWNICA-WORMAS, D.; 2003. Synthesis, characterization and molecular structure of a gallium (III) complex of an amine- phenol ligand with activity against chloroquine- sensitive Plasmodium falciparum strains. *J. Inorg. Biochem.* 93: 265-270.
- SLATER, A.F.G.; SWIGGARD, W.J.; ORTON, B.R.; FLITTER, W.D.; GOLDBERG, D.E.; CERAMI, A. & HENDERSON, G.B.; 1991. An iron-carboxylate bond links the heme units of malaria pigment. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88: 325- 329.
- SULLIVAN, D.; GLUZMAN, I. & GOLDBERG, D.; 1996. Plasmodium hemozoin formation mediated by histidine-rich proteins. *Science*. 271: 219-222.
- SULLIVAN, D.J.; 2002. In biopolymers. Biopolymers and biodegradation of synthetic polymers. Wiley-VCH Verlag GmbH and Co.; Weinheim, Germany, pp. 129-163.
- SULLIVAN, D.J. & CHONG, C.R.; 2003. Inhibition of heme crystal growth by antimalarials and other compounds: implications for drug discovery. *Biochem. Pharmacol.* 66: 2204-2212.
- TILLEY, L.; LORIA, P.; MILLER, S. & FOLEY, M.; 1999. Inhibition of the peroxidative degradation of haem as the basis of action of chloroquine and other quinoline antimalarials. *Biochem. J.* 339: 363-30.
- VIPPAGUNTA, S.R.; DORN, A.; MATILE, H.; BATTACHARJEE, A.; KARLE, J.; ELLIS, W.Y.; RIDLEY, R. & VANNERSTROM, J.L.; 1999. Structural specificity of chloroquine-hematin binding related to inhibition of hematinpolymerization and parasite growth. *J. Med. Chem.* 42: 4630-4639.
- WALKER, L.; TEKWANI, B.; TRIPATHI, A. & KHAN, S.; 2004. Spectrophotometric determination of the novo hemozoin/b-hematin formation in an in vitro assay. *Analytical Biochem.* 325: 85-91.
- WEINBERG, E.D.; 1974. Iron and susceptibility to infectious disease. *Science*. 184: 952-956.
- WRIGHT, C.W.; ADDAE-KYEREME, J.; BREEN, A.; BROWN, J.E.; COX, M.F.; CROFT, S.L.; GÖKÇEK, Y.; KENDRICK, H.; PHILLIPS, R.M. & POLLET, P.; 2001. Synthesis and evaluation of cryptolepine analogues for their potential as new antimalarial agents. *J. Med. Chem.* 44: 3187-3194.

Recibido: abril 2005
 Aceptado: julio 2005

Metalofármacos vs cáncer (Parte I)

CAMACHO, J.;^{1,*} FERRER, R.;² MALDONADO, A.;³ NAVARRO M.³

Resumen

El cáncer es una enfermedad caracterizada por la proliferación excesiva y descontrolada de células anormales. Existen varios tipos de cáncer, clasificados según el órgano o estructuras que lo originan. El cáncer causa la muerte de uno de cada cinco adultos en países desarrollados. En Venezuela es la segunda causa de mortalidad, tanto en hombres como en mujeres. Los tratamientos contra el cáncer incluyen la cirugía, la radioterapia y la quimioterapia; esta última se basa en el tratamiento del cáncer mediante el uso de fármacos conocidos como agentes antineoplásicos. En este artículo, dividido en dos partes, se hará una revisión de los aspectos más importantes referentes a la quimioterapia antineoplásica basada en metalofármacos. Mencionaremos aspectos referentes a su mecanismo de acción, uso terapéutico y propiedades estructurales, entre otros. En la primera parte se hará una revisión con respecto a los compuestos de platino; y en la segunda parte se mencionaran fármacos en los cuales el metal presente es distinto al platino.

Palabras clave: Cáncer, metalofármacos, quimioterapia antineoplásica.

Metalsdrugs vs Cancer (Part I)

Abstract

Cancer is a group of disease characterized by the excessive proliferation and decontrolled growth of abnormal cells. There are different types of cancer, the classified depends on the organ or structure was it was generated. In developing countries one out of five adult people die of cancer. In Venezuela, cancer is the second cause of mortality, either in men or women. The treatments against cancer can include surgery, radiotherapy, and chemotherapy. The last one involves the use of drugs like antineoplastic agents. We make a review about the most important items of the antineoplastic metals-drugs chemotherapy, describing aspects like mechanism of action, therapeutic use, structures properties and other important characteristics. This article contents two parts, in the first one, we make a review about the platinum compounds; in the second part we analyze the metals-drugs where the metal its other than platinum.

Key Words: Cancer, Metals-drugs, chemotherapy antineoplastic.

¹ Laboratorio de Síntesis Orgánica. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Apartado 40.109. Caracas 1040-A. Venezuela.

² Laboratorio de Síntesis Orgánica y Diseño Molecular. Facultad Experimental de Ciencias. Universidad del Zulia. Maracaibo. Venezuela.

³ Laboratorio de Química de los Metales de Transición. Centro de Química. Instituto Venezolano de Investigaciones Científicas-IVIC. Altos de Pipe. Venezuela.
e-mail: jrcamacho2000@yahoo.com

Introducción

El cáncer es una enfermedad caracterizada por la proliferación excesiva y descontrolada de células anormales. Esto ocasiona la formación de una masa de tejido constituido por células mutadas (tejido neoplásico), conocida como tumor. El proceso de desorganización progresiva observada a nivel molecular, celular y en tejidos se conoce como carcinogénesis.

Los tumores pueden ser benignos o malignos. En los benignos, las células que los constituyen no son cancerosas y no pueden expandirse hacia otros tejidos. Por otra parte, un tumor maligno está constituido por células cancerosas, capaces de migrar en el organismo (metástasis), lo cual puede originar la aparición de un nuevo tumor lejos del tumor primario.

Existen varios tipos de cáncer, clasificados según el órgano o estructuras que lo originan. Los carcinomas son los más frecuentes (> 80%), y provienen generalmente de tejidos epiteliales como la piel. La mayoría de los cánceres de colon, seno, próstata e hígado son carcinomas; los sarcomas provienen de tejidos de los músculos, vasos sanguíneos, nervios, huesos o cartílagos, siendo los menos frecuentes. Los adenocarcinomas se desarrollan en tejidos glandulares; entre ellos se encuentran las leucemias y los linfomas.

El cáncer causa la muerte de uno de cada cinco adultos en países desarrollados. En Venezuela es la segunda causa de mortalidad, tanto en hombres como en mujeres, después de las enfermedades cardiovasculares (MSDS. Anuario de epidemiología y estadística Vital, 2002).

Los tratamientos contra el cáncer incluyen la cirugía, la cual es viable siempre y cuando el cáncer no esté muy extendido y/o cuando no haya metástasis; la radioterapia, que se fundamenta en el hecho de que los tumores presentan sensibilidad hacia las radiaciones ionizantes; y la quimioterapia, que se basa en el tratamiento del cáncer mediante el uso de fármacos, conocidos como agentes antineoplásicos.

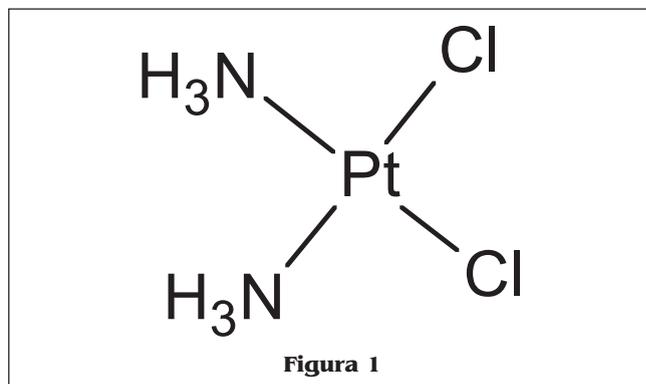
El propósito principal de esta revisión, realizada en dos partes, es informar sobre las nuevas tendencias en el diseño de fármacos antineoplásicos derivados de metales, los denominados metalofármacos. En esta primera entrega hablaremos sobre los compuestos derivados del platino y en la segunda entrega estudiaremos compuestos que contienen otros metales.

Platino y cáncer (Wong y col., 1999)

El interés en las drogas antitumorales derivadas del platino se origina en 1960 cuando Rosenberg descubre la inhibición de la división celular utilizando

complejos de Pt (Rosemberg y col., 1965), dando origen al cisplatino (cis-diamindicloroplatino (II)) (Figura 1), el cual es uno de los principales agentes antitumorales utilizados para el tratamiento del cáncer testicular y del cáncer de ovario.

De igual manera esta droga contribuye al tratamiento de otros tipos de tumores (Weiss y Christian, 1993); sin embargo, el cisplatino presenta problemas de toxicidad, limitando la dosis que se puede emplear para el tratamiento del cáncer.



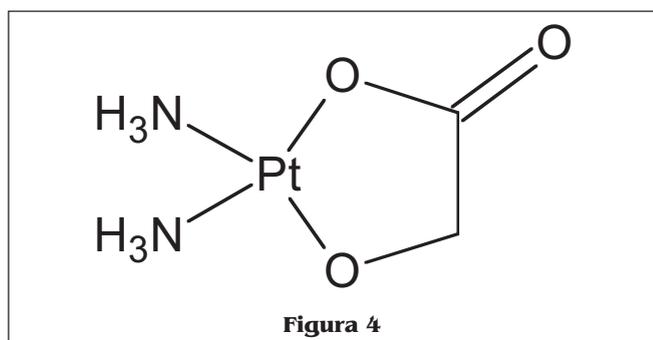
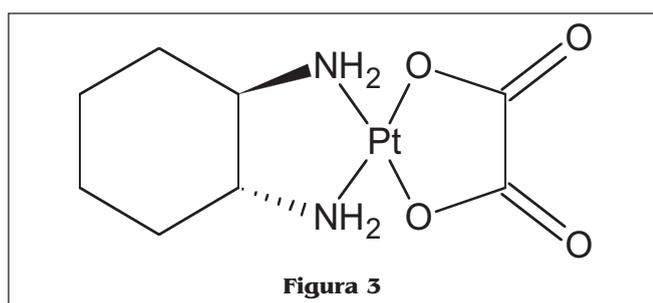
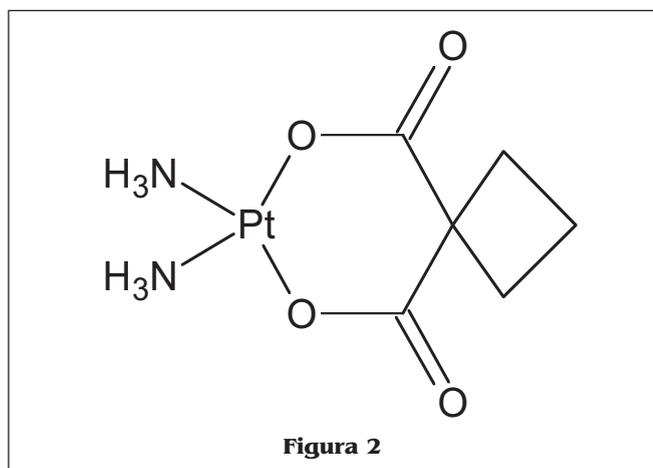
Para tratar de aliviar la toxicidad del cisplatino se emplea hidratación intravenosa. También se emplean dietilditiocarbamatos y tiosulfatos, sin embargo el mecanismo por el cual actúan estos compuestos es desconocido (Elferink y col., 1986; DeGregorio y col., 1989; Kusunoki y col., 2001).

Algunos tumores presentan resistencia natural al cisplatino, mientras que otros generan resistencia después del tratamiento inicial. Adicionalmente, el cisplatino presenta una solubilidad limitada en solución acuosa, lo cual es otro inconveniente.

Desde la introducción del cisplatino, cientos de compuestos de platino han sido sintetizados y evaluados como potenciales agentes antitumorales. Aproximadamente 28 de estos compuestos se han ensayado clínicamente. Entre los más importantes destacan:

- Diamine-(1,1-ciclobutandicarboxilato(2-))-O,O'-platino (II) (Carboplatino) (Figura 2) (Reedijk, 1996).
- (Trans-L-Diaminociclohexano)oxalatoplatino (II) (Oxaliplatino ó L-OHP) (Figura 3) (Lebwohl y Canetta, 1998).
- cis-diamino-glicolato-O,O'-platino (II) (Nedaplatino ó 254-S) (Figura 4) (Lebwohl y Canetta 1998).

De los cientos de compuestos de Pt sintetizados y evaluados como antitumorales, la mayoría de ellos se basan en la relación estructura-actividad realizada



por Cleare y Hoeschele en 1973 (Cleare y Hoeschele, 1973). En su trabajo, los autores proponen que un complejo de Pt (II) o (IV), presentará una actividad antitumoral si:

1. Presenta una geometría cis.
2. Posee una fórmula de $(PtX_2(Am)_2)$ o $(PtX_2Y_2(Am)_2)$.
3. X debe ser un buen grupo saliente.
4. Complejos con grupos salientes como ClO_4^- o NO_3^- son sumamente tóxicos, mientras que complejos con grupos salientes inertes son generalmente inactivos.
5. Am es una amina con, por lo menos, un enlace N-H.

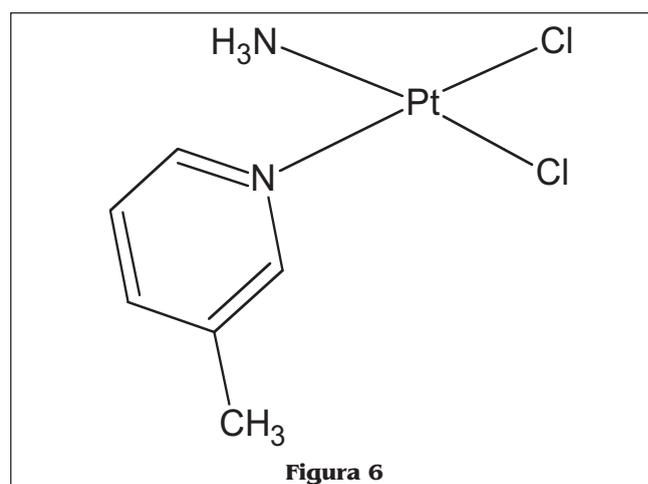
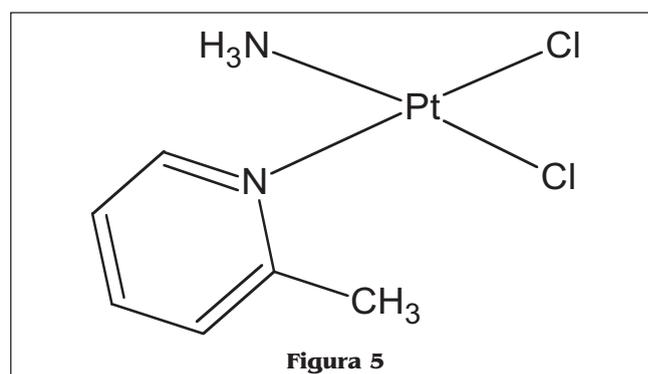
Sin embargo, nuevos descubrimientos han producido la síntesis de compuestos que difieren esta rela-

ción-estructura actividad pero presentan actividad antitumoral. Entre las estrategias recientes para la síntesis de nuevos complejos de Pt destacan:

I. Complejos de Pt impedidos estéricamente

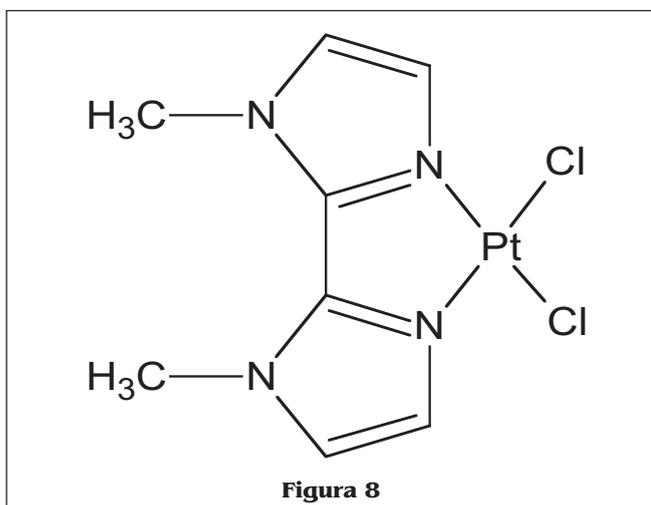
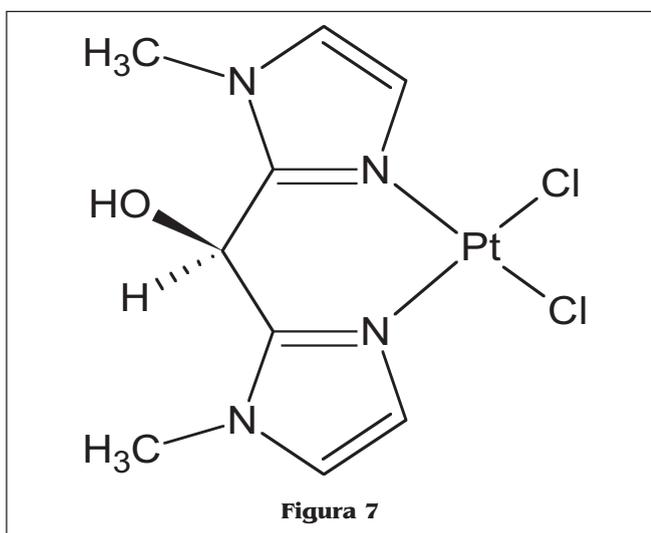
Existen diferentes vías por las cuales las células presentan resistencia al cisplatino, una de ellas es debido a la desactivación del complejo de platino por tioles celulares, como el glutatión (Berners-Price y Kuchel, 1990; Lai y col., 1989; Pendyala y col., 1995; Versantvoort y col., 1995), lo cual origina especies inactivas.

Para evitar la desactivación de los complejos de platino por este tipo de tioles los investigadores se basan en el hecho de que el impedimento estérico axial disminuye la velocidad de las reacciones de sustitución en los complejos planar cuadrado (Basolo y col., 1960).



Por ejemplo, si comparamos el complejo *cis*-Aminodicloro(2-metilpiridino)platino (II) (Figura 5) con el *cis*-Aminodicloro(3-metilpiridino)platino (II) (Figura 6), en el primero, el anillo de piridina presenta un ángulo de 102° con respecto al plano del complejo; en el

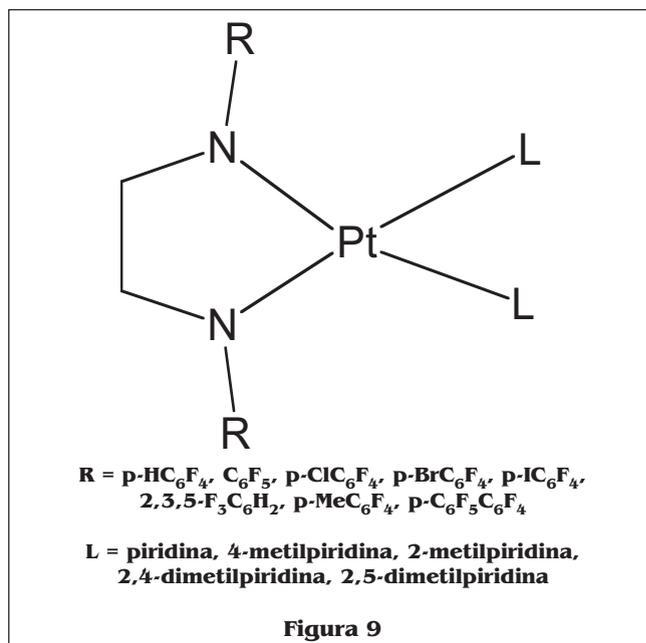
segundo, el anillo de piridina presenta un ángulo de solamente 48.9° (Sadler y col., 1998). Los 102° del anillo de piridina ubican al grupo metil de la posición 2 justamente sobre el plano del Pt, lo cual introduce un impedimento estérico sobre el centro metálico desde la parte superior. De hecho, se observa una menor proporción en la hidrólisis de este compuesto, comparado con el cisplatino y con el 3-metilpiridino.



Otro ejemplo es reportado por Reedijk (Reedijk, 1996). El autor, al comparar los complejos *cis*-[Pt(bmic)Cl₂] (Figura 7) y *cis*-[Pt(bmi)Cl₂] (Figura 8), observó que el primero presenta una citotoxicidad significativa, mientras que el segundo fue inactivo. Al determinar la estructura cristalina de ambos compuestos, por difracción de rayos X se observó que en el primer complejo los anillos de imidazol se encuentran a $30,6^\circ$ con respecto al plano del platino, mientras que en el segundo complejo los anillos de imidazol están solamente a $3,1^\circ$. El impedimento estérico hace al primer complejo menos susceptible a la desactivación por los tioles celulares.

La actividad antitumoral de los complejos *cis*-bis (piridino)platino (II) (Figura 9) con ligandos del tipo organoamidas ya ha sido reportada (Webster y col., 1992).

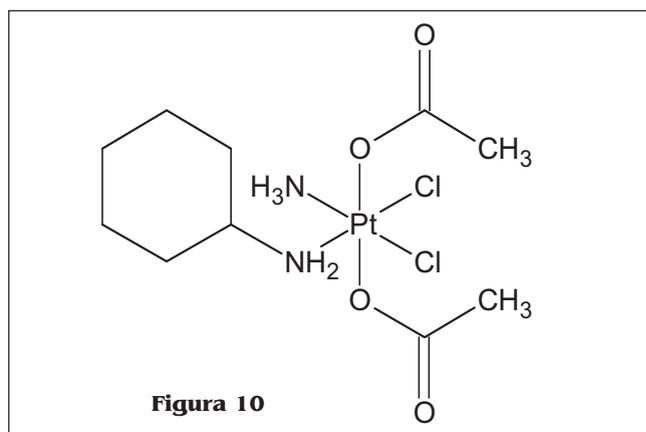
Esta actividad se atribuye al efecto estérico que producen los ligandos; al reemplazar estos ligandos por cloro se observa una reducción significativa de la citotoxicidad de los complejos.



Es interesante destacar que los últimos complejos presentados no cumplen estrictamente con la relación estructura-actividad propuesta por Cleare y Hoeschele; por ejemplo, estos compuestos no poseen ligandos del tipo N-H.

II. Complejos de platino (IV)

Algunos compuestos de Pt (IV) han presentado actividad citotóxica en células resistentes al cisplatino (Lebwohl y col., 1998), además de ser compuestos activos oralmente. Un ejemplo es el complejo JM216 (Figura 10).



Los complejos de Pt (IV) son mucho más inertes a las reacciones de sustitución de ligandos que sus contrapartes de Pt (II) (Hartley, 1973; Giandomenico, 1995), por lo cual son menos susceptibles a la desactivación metabólica. Se cree que los complejos de Pt (IV) son reducidos a Pt (II) por agentes intra y extracelulares antes de reaccionar con el ácido desoxiribonucleico, ADN, pero en la actualidad el mecanismo de este proceso *redox* no se conoce con exactitud.

Sin embargo se sabe que aquellos complejos de Pt (IV) que son más susceptibles a la reducción reaccionan con mayor rapidez con el ADN, y por lo tanto, presentan una mayor citotoxicidad.

La proporción con la cual se realiza la reducción depende de la capacidad electroattractora y del impedimento estérico que posean los ligandos.

Una ventaja que presentan los complejos de Pt (IV) es que ellos pueden ser modificados en muchos más centros. Adicionalmente, al comparar el porcentaje de dosis absorbida al suministrar el cisplatino, un complejo de Pt(II), con el porcentaje absorbido cuando se administra el JM216, un complejo de Pt(IV), se observó que el cisplatino se absorbe en un 37% mientras que el JM216 es absorbido en un 76%.

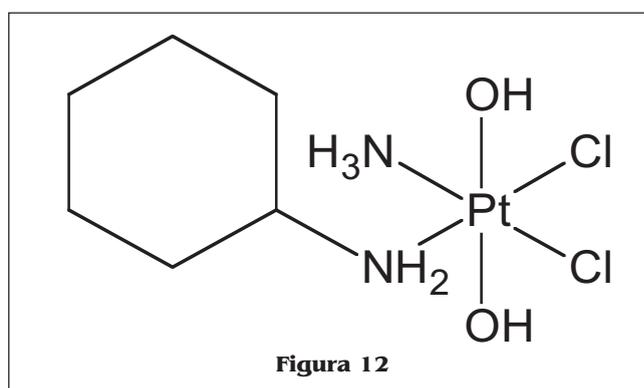
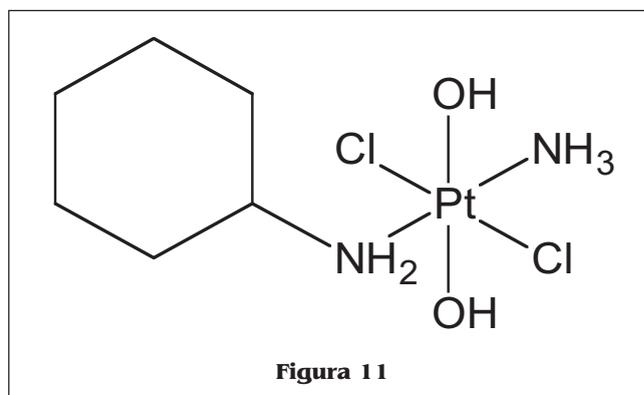
III. Complejos *trans* de Pt

El estudio empírico de estructura-actividad considera que los complejos *trans*-Pt deben ser inactivos; sin embargo, muchos investigadores han reportado que estos isómeros son activos tanto en pruebas *in vivo* como *in vitro* (Via y col., 1998; Kalinowska y col., 2005).

Una diferencia entre el cisplatino y el transplatino, es que el *trans* es cinéticamente más reactivo y por esto es más susceptible a la desactivación metabólica.

Como los isómeros *trans* del Pt forman diferentes aductos con el ADN (Kasparkova y col., 2003), estos complejos pudiesen ser activos contra células cisplatino resistentes.

Se cree que es posible que ocurra una isomerización del compuesto *trans* a un compuesto activo *cis* y esto explicaría la citotoxicidad presentada por estos compuestos; sin embargo, algunos investigadores han reportado que los isómeros *cis* son mucho menos activos que los *trans*; Kelland ha reportado que el complejo *trans,trans,trans*-amino-(ciclohexilamin)-diclorodihidro-oxoplatinium (IV) (JM335) (Figura 11) presenta una mejor actividad que su análogo *cis* JM149 (Figura 12) sobre líneas celulares de carcinoma de ovario (Kelland y col., 1994).



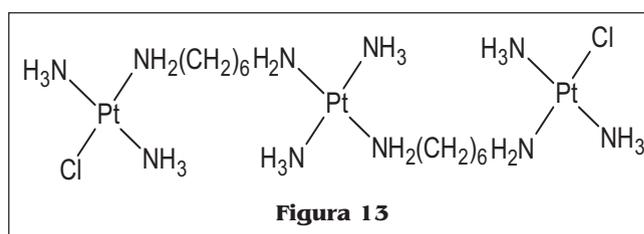
IV. Complejos multinucleares de Pt

En la búsqueda del diseño de nuevas drogas derivadas del platino, se ha planteado el desarrollo de nuevos complejos capaces de formar aductos diferentes con el ADN, para combatir las células resistentes al cisplatino.

Han sido reportados compuestos binucleares, trinucleares y tetranucleares (Cheng y col., 2005).

La reacción de estos compuestos multinucleares con el ADN es mucho más rápida que la que realiza el cisplatino.

Uno de los complejos más prometedores es el trinuclear Pt (II) BBR 3464 (Figura 13), el cual ha presentado citotoxicidad en células cisplatino-resistentes (Di Blasi y col., 1998; Perego y col., 1999).



Recientemente se ha reportado la síntesis de compuestos dinucleares de platino vía fase sólida (Reedijk y col., 2003).

V. Complejos con ligandos biológicamente activos

Muchos grupos de investigación han reportado la síntesis de complejos de Pt unidos a moléculas capaces de intercalarse en el ADN.

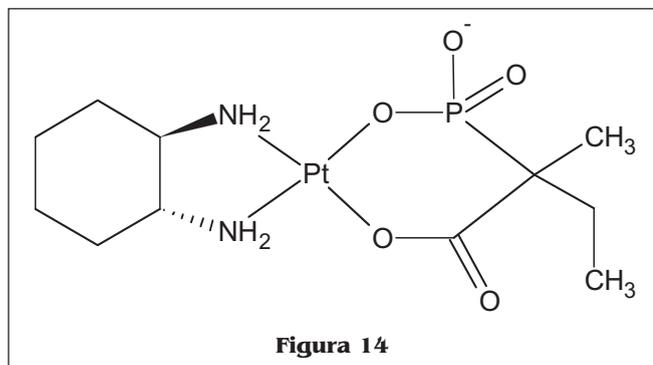
Los estudios de complejos de Pt con grupos biológicamente activos son de gran interés, ya que pueden originar actividades biológicas diferentes, dependiendo de la estructura del grupo unido al Pt (Denny y col., 1990; Denny y col., 1992; Gean y col., 1991).

VI. Complejos solubles en agua

Un objetivo importante es incrementar la solubilidad de los complejos de platino (formulario modelo OMS, 2004). La administración oral de compuestos ligeramente solubles se puede realizar, pero deben ser lo suficientemente solubles para ser absorbidos.

El método más empleado para incrementar la solubilidad en agua, es reemplazar los ligandos cloruro con carboxilatos. Además, con la oxidación de Pt (II) a los dihidroxi Pt (IV) se aumenta la solubilidad en agua.

Se han reportado compuestos del tipo carboxilatos fosfona aniónicos (Figura 14), los cuales presentan una alta solubilidad y estabilidad (Hollis y col., 1990).



Una vez conocidas las estrategias aplicadas en el desarrollo de complejos de platino, en la siguiente sección describiremos la manera en la cual estos compuestos desencadenan su actividad farmacológica.

Platino y ADN (Lippard y Jamieson, 1999; Navarro y Cisneros-Fajardo, 2003; Reedjik y Lempers, 1991)

El ADN es un ácido nucleico compuesto por polinucleótidos, donde cada nucleótido está compuesto por una base nitrogenada, un azúcar y un grupo fosfato.

Presenta una estructura de doble hélice, en la cual las cadenas se encuentran unidas mediante enlaces

de hidrógeno, formados entre bases nitrogenadas de cadenas opuestas. Siempre se establece este tipo de interacción entre una purina (adenina (A), guanina(G)) y una pirimidina (citosina (C), timina (T)). La citosina y la guanina se unen por tres puentes de hidrógeno, mientras que la adenina y la timina se unen por dos.

La información genética se encuentra en las bases, las cuales se ubican hacia el interior de la doble hélice, ya que estas son hidrofóbicas; hacia el exterior de la cadena se ubican los grupos fosfatos por poseer características hidrofílicas.

La estructura en doble hélice del ADN, con el apareamiento específico y limitado de bases (A-T, G-C) implica que el orden o secuencia de bases de una de las cadenas delimita automáticamente el orden de la otra; por eso se dice que las cadenas son complementarias.

Existen dos surcos, uno mayor y uno menor, que son importantes para la unión de las distintas proteínas al ADN. Cada vuelta del ADN posee 10,4 pares de bases.

En los últimos 35 años se han realizado numerosos estudios para tratar de describir el mecanismo de acción del cisplatino y sus derivados; estos estudios han demostrado que el blanco biológico de este tipo de compuestos es el ADN.

Se ha propuesto el siguiente mecanismo de acción; una vez incorporado al torrente sanguíneo, el cisplatino se encuentra en presencia de una alta concentración de iones cloruro (100 mM), lo cual evita la hidrólisis y mantiene al compuesto en forma neutra. Se ha demostrado que el transporte del cisplatino y sus análogos es independiente del pH, y además no está mediado por transportadores (Lippard y col., 1990; Sadler y col., 1995). Se cree que estos compuestos entran a la célula por difusión pasiva o activa; el mecanismo exacto aún no se tiene claro.

Una vez dentro de la célula la disminución de la concentración de iones cloruro (aprox. 20 mM) facilita la hidrólisis del compuesto de platino, lo cual origina una forma activada del tipo $(Pt(NH_3)_2Cl(H_2O))^+$, la cual reacciona rápidamente con blancos celulares.

Esta reacción de hidrólisis representa el paso limitante en la interacción con el ADN, con un tiempo de vida media, $t_{1/2}$, aproximado de 2 horas. Luego el acua-cisplatino se une al N7 de una guanina, el cual desplaza al agua rápidamente ($t_{1/2} = 0.1$ h) formando un aducto monofuncional. La formación del aducto bifuncional involucra la hidrólisis del segundo cloro con un tiempo de vida media de 2 horas.

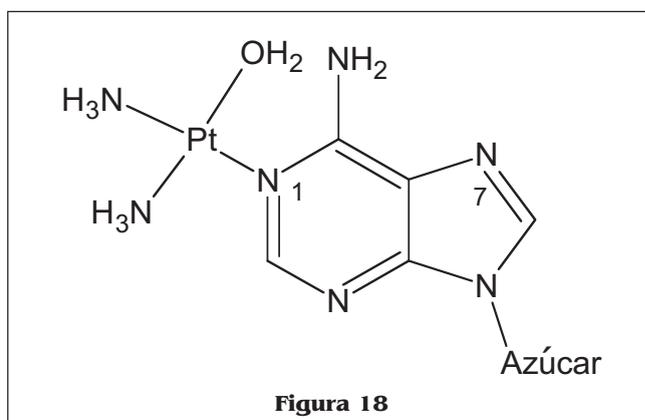
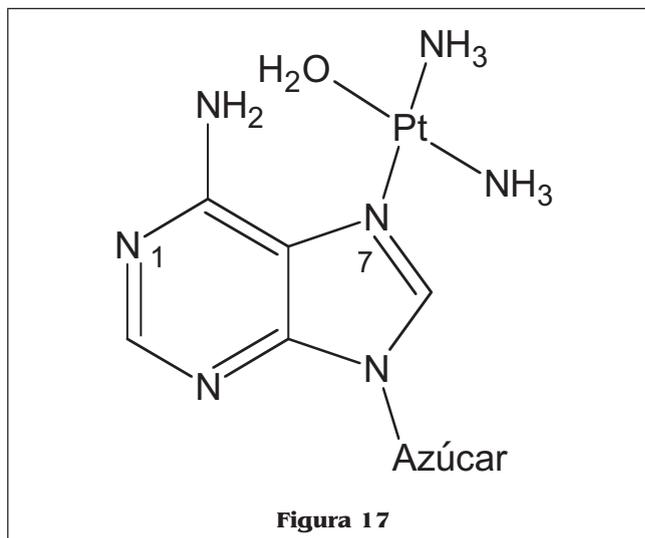
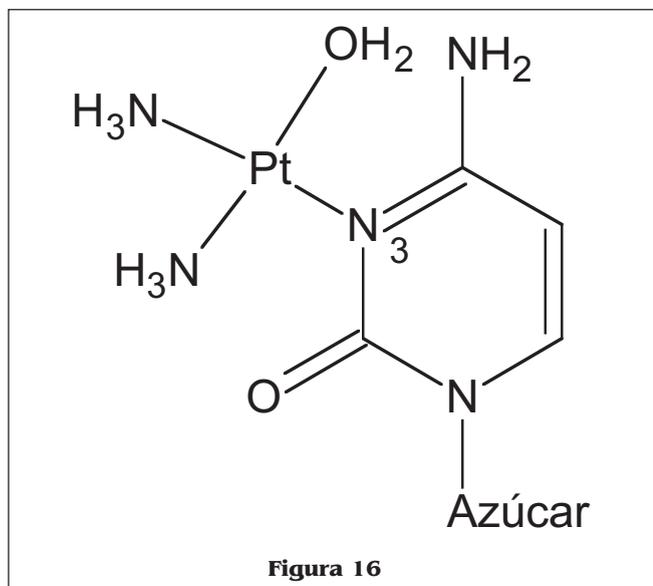
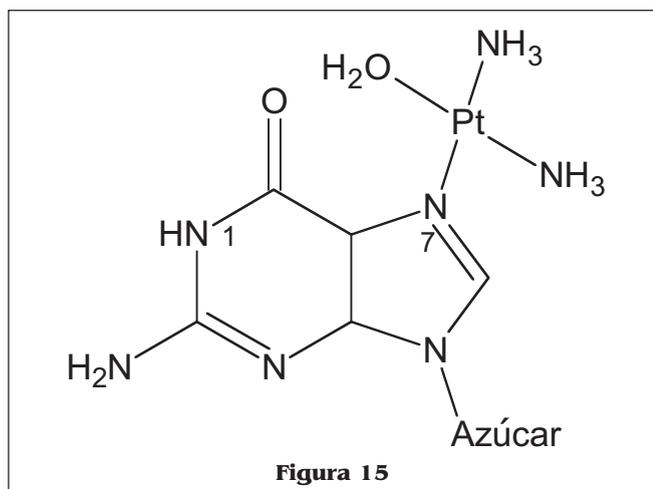
Se ha demostrado que los compuestos de platino interaccionan en mayor proporción con el ADN que

con el ARN y las proteínas. Un estudio realizado con cisplatino isotópicamente marcado (Akaboshi y col., 1992) (^{195m}Pt) y células HeLa demostró que:

- 1 entre $3 \times 10^4 - 3 \times 10^5$ moléculas de proteínas contenían un átomo de platino
- 1 entre 10 -1000 moléculas de ARN contenían un átomo de Pt
- Se encontraron 9 átomos de Pt por molécula de ADN.

En general se acepta que el ADN es el primer objetivo en el mecanismo de acción del cisplatino, y por esto la investigación en esta área ha predominado.

El platino posee una gran afinidad por el nitrógeno. A pH fisiológico los átomos del ADN que potencialmente pueden interaccionar con el Pt son N7 de la guanina (Figura 15), N3 de la citosina (Figura 16) y N7 (Figura 17) y N1 (Figura 18) de la adenina (Reedijk y Lempers, 1991).



Debido a la naturaleza bifuncional del cisplatino, se pueden formar diferentes aductos entre el ADN y el complejo, los cuales son:

- Intercadena: enlaza a dos bases nucleicas ubicadas en cadenas complementarias de ADN
- Intracadena: enlaza a dos bases nucleicas pertenecientes a la misma cadena de ADN
- Intrabase: enlaza a dos átomos diferentes presentes en una misma base
- Enlace cruzado ADN-proteína.

Una vez que el Pt se enlaza al ADN el producto formado es muy estable, únicamente nucleófilos fuertes como tiourea y cianuro pueden revertir el enlace ADN-Pt. Se han estudiado de forma cuantitativa los diferentes aductos que forma el platino con el ADN, y se han encontrado los siguientes resultados (Reedijk y Lempers, 1991):

- El aducto que se forma en mayor proporción (60%) es entre dos guaninas vecinas, denominado aducto-GG.

- El aducto formado entre una adenina y una guanina adyacentes (aducto-AG) se forma en un 25%; no se ha reportado la existencia de un aducto GA.
- El aducto formado entre dos guaninas no adyacentes se encuentra en un 10%, puede ser intercadena (aducto-GNG) o intracadena (aducto 1,3-GNG).
- El aducto monofuncional con una guanina representa el 5%.

La formación de los aductos de tipo Pt-ADN distorsionan estructuralmente al ADN originando la pérdida de estabilidad de la hélice. Lo cual interfiere con el normal funcionamiento de este componente celular. La replicación y la transcripción del ADN son esenciales para la división celular y la producción de proteínas; cualquier problema que presente este proceso producirá citotoxicidad.

Efectos del cisplatino en la replicación del ADN

La inhibición de la replicación por parte del cisplatino sugiere que este compuesto puede eliminar las células cancerígenas, bloqueando su capacidad de sintetizar nuevo ADN necesario para la división celular.

La replicación es un proceso que permite la perpetuación de la célula y que consiste en la duplicación de las dos hebras de ADN que conforman el material genético celular; por lo tanto, es la capacidad que tiene el ADN de hacer copias o réplicas de su información genética en general (Murray y col., 2004).

Efectos del cisplatino en el ciclo celular

El ciclo de una célula es análogo al de un ser vivo, «nace» mediante la división de una célula progenitora, crece, y se reproduce. Todo este proceso es lo que constituye un ciclo celular completo. El ciclo celular comprende cuatro períodos denominados G1, S, G2 y mitosis.

El período G1, llamado primera fase de crecimiento, se inicia con una célula hija que proviene de la división de la célula madre. La célula aumenta de tamaño, se sintetiza nuevo material citoplásmico, sobre todo proteínas y ARN.

Es el período S o de síntesis, en el que tiene lugar la duplicación del ADN. Cuando acaba este período, el núcleo contiene el doble de proteínas nucleares y de ADN que al principio.

El período G2, o segunda fase de crecimiento, en el cual se sigue sintetizando ARN y proteínas; el final de este período queda marcado por la aparición de cambios en la estructura celular, que se hacen visibles con el microscopio y que nos indican el principio de

la mitosis o división celular. Al período de tiempo que transcurre entre dos mitosis, y que comprende los períodos G1, S, y G2, se le denomina Interfase.

El cisplatino posee la habilidad de detener el ciclo celular en la fase G2, lo cual impide que se transcriban los genes necesarios para la mitosis.

Efectos del cisplatino en los telómeros y telomerasas

La región telomérica del ADN es un sitio susceptible al ataque del cisplatino. Los telómeros se encuentran ubicados al final de los cromosomas; estas repeticiones de los telómeros 5'-TTAGGG-3' son las causantes de la reproducción de las cadenas. Su función principal es proteger el final del cromosoma de la degradación, para asegurar que la información genética se transmita correctamente en la división celular.

La unión del cisplatino a la cadena del ADN, evita las repeticiones teloméricas (la porción terminal de los cromosomas). Para cada ciclo de la división celular, el DNA replicado comienza a ser más corto que el inicial y cuando los telómeros comienzan a ser críticamente cortos, las células detienen su división y mueren.

Para evitar esto, existen las enzimas llamadas telomerasas, las cuales son las encargadas de mantener el tamaño ideal de los telómeros. Las telomerasas son ricas en residuos de guanosina, los cuales son susceptibles al ataque del cisplatino debido a que poseen guanina (Reedijk y Lempers, 1991).

No solamente es importante entender cómo el cisplatino inhibe el desarrollo celular (afectando al ADN, entre otras causas); entender cómo las células responden a los daños que origina el cisplatino sobre el ADN, también puede ayudar a conocer qué aspectos son necesarios para mejorar el uso del platino en quimioterapia.

Resistencia celular

La resistencia celular al cisplatino puede ser intrínseca de la célula o puede ser adquirida. Se han identificado tres aspectos que pueden ser responsables de esta resistencia; estos son:

1. Cambios en la concentración intracelular de la droga
2. Incremento en la producción de tioles intracelulares
3. Incremento en la capacidad de las células de reparar el ADN

Sin embargo muchos estudios realizados arrojan resultados contradictorios.

La resistencia de las células al cisplatino parece ser una respuesta celular multifactorial, lo cual incrementa la dificultad de entender completamente este proceso.

En lo que respecta a la concentración intracelular de la droga, se han realizado estudios (Eastman y Schulte, 1988; Eastman y col., 1987) en los cuales se mide la cantidad de droga presente en el núcleo de la célula. Este experimento arrojó que en las células resistentes la cantidad de droga presente en el núcleo es entre 40-50% menor que la cantidad de droga presente en el núcleo de las células sensibles. Sin embargo, otros experimentos (Foka y col., 1988) han mostrado que la diferencia en la cantidad de droga acumulada no es significativa.

Otra respuesta celular que puede estar relacionada con la resistencia al cisplatino es el incremento en la concentración de tioles intracelulares, los cuales pueden reaccionar e inactivar al cisplatino.

Desde el descubrimiento del cisplatino como droga antitumoral, el estudio de su mecanismo de acción se ha enfocado hacia el ADN, sin embargo existen muchas otras biomoléculas importantes que pueden reaccionar con compuestos amino-platinados. Algunas de ellas son cisteína, metionina, glutatión, metalotionina, entre otras proteínas.

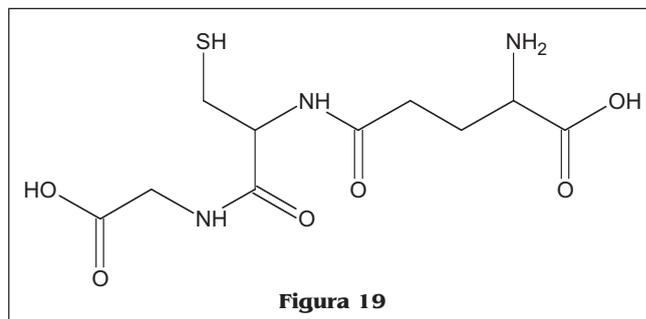
En general se cree que la interacción de las drogas antitumorales de platino con biomoléculas que contengan azufre se considera negativo para la actividad antitumoral, ya que estas interacciones pueden ser responsables de la inactivación del compuesto, del desarrollo de la resistencia celular y de los efectos secundarios.

Las reacciones de biomoléculas que contienen azufre con el cisplatino, previenen la unión efectiva con el ADN por parte de la droga.

Se ha demostrado que la actividad antitumoral del cisplatino se ve disminuida si se coadministra con metionina, e incluso un bis-aducto entre el cis-Pt y la metionina ha sido aislado de la orina de los pacientes (Reedijk y Lempers, 1991).

Glutation (γ -glutamilcisteinglicina, GSH) (Figura 19) es el tiol más abundante en las células y se encuentra en concentraciones que van entre 0.5-10 mM (Chu, 1994). Este tripéptido es sintetizado en dos pasos que son dependientes del ATP.

La enzima γ -glutamilcisteina sintetasa esta involucrada en el primer paso de esta reacción de síntesis, y puede ser inhibida por la D,L-butionina-(S,R)sulfoximina (BSO); el segundo paso involucra a la enzima glutatión sintetasa para completar la síntesis del tripéptido.



Estudios realizados (Hosper y col., 1988) han demostrado que la concentración de GSH en células resistentes al cisplatino es mayor en comparación con las concentraciones presentes en células sensibles.

En algunos casos la resistencia al cisplatino puede ser revertida utilizando BSO para eliminar la producción de GSH.

Los experimentos realizados en esta área han demostrado que el incremento en los niveles de GSH es un factor involucrado en la resistencia al cisplatino, pero no es un requerimiento necesario.

Otro tiol intracelular que puede estar involucrado en la resistencia al cisplatino es la metalotionina. Esta proteína consiste en una cadena de 61-62 aminoácidos, 20 de los cuales son cisteínas y se cree que esta involucrada en el mecanismo de detoxificación de los iones de metales pesados en las células (Chu, 1994). En estudios realizados sobre células que han adquirido resistencia al cisplatino, las mismas han mostrado altas concentraciones de esta proteína.

Otro mecanismo de inactivación relacionado con las biomoléculas que contienen azufre puede ser la reacción de éstas con el mono-aducto de Pt-ADN, lo cual evita la formación del bis-aducto tóxico.

Estudios mecanísticos de la reacción de los tioles con el cisplatino han revelado que el reactivo de azufre sustituye a un cloruro antes de que éste sea sustituido por el agua. Esto se demostró midiendo el tiempo de reacción entre complejos de platino hidratados y clorados, lo cual arrojó que la velocidad de reacción de las biomoléculas de azufre era mayor con los compuestos clorados.

Otro mecanismo que potencialmente puede estar ligado a la resistencia al cisplatino es la capacidad de las células de incrementar sus mecanismos de reparación del ADN.

El aducto de cisplatino-ADN es reparado en las células primariamente por un mecanismo denominado reparación por escisión de nucleótidos (en inglés NER) (Chu, 1994). Este procedimiento involucra a muchas proteínas y es empleado por la célula para reparar lesión-

nes originadas sobre el ADN, entre las que se encuentran daños causados por radiación UV.

La enfermedad autosómica recesiva del *Xenoderma pigmentosum* (*xenos*: seca(o); *derma*: piel), en los humanos se debe a la falta del poder reparador de la piel de las lesiones causadas por luz UV, defectos en el NER. Los individuos que presentan esta enfermedad son extremadamente sensibles a la radiación UV y presentan predisposición a desarrollar cáncer de piel. XP presenta siete grupos genéticos complementarios XP-A a XP-G y una forma variable denominada XP-V. Los grupos XP-A hasta XP-G presentan algún tipo de deficiencia que afecta el mecanismo de NER. Las células que presentan XP poseen una elevada sensibilidad al tratamiento con cisplatino, lo cual indica que el mecanismo de NER es importante en el procesamiento de la droga (Reedijk y col., 1998; van Dijk y col., 1985).

Estudios realizados con células HeLa han demostrado que el aducto cis-GBG es reparado con mayor eficiencia que los aductos cis-AG o cis-GG (Lippard y col., 1994). No se detectó reparación para el aducto intercadena de platino. El aducto cis-GBG es reparado entre 15-20 veces mejor que los aductos 1,2-intracadena (Moggs y col., 1997).

Sin embargo algunos experimentos describen que una alta tasa de reparación de ADN no implica necesariamente resistencia al cisplatino, lo cual sugiere que éste mecanismo debe estar ligado a otra respuesta celular para originar la resistencia hacia el cisplatino.

Nuevos cocteles

En el tratamiento del cáncer, es usual la aplicación de diversos fármacos, que presentan diferentes mecanismos de acción, de manera simultánea, en lo que se denomina «cocteles».

En la actualidad existe gran variedad de mezclas que han presentado buenos resultados en el tratamiento de la enfermedad. Entre algunos ejemplos destacan:

- El tratamiento de cancer de sitio primario desconocido utilizando carboplatino (Figura 2), doxorubicina y etoposida, actualmente en fase clínica II (Piga y col., 2004).
- El tratamiento del cáncer de pulmón con vinorelbina, gemcitabina y cisplatino (Figura 1), estudio de fase clínica II (Niho y col., 2002).
- El tratamiento del cáncer de pulmón con nedaplatino (Figura 4) y gemcitabina, actualmente en fase clínica I (Fukuoka y col., 2004).
- El tratamiento del cáncer colon-rectal con gemcitabina, oxaliplatino (Figura 3), 5-fluorouracilo y áci-

do fólico, actualmente en fase clínica II (Francini y col., 2004).

- El tratamiento del cáncer de pulmón con cisplatino (Figura 1) y paclitaxel, actualmente en estudio de fase clínica I/II (Yoshimura y col., 2004).

Conclusión

De los cientos de compuestos derivados del Pt que son evaluados como agentes antitumorales, únicamente una fracción muy pequeña presenta resultados promisorios para ser llevados a estudios de fase clínica. Las nuevas drogas de Pt deben ser capaces de reducir la toxicidad, incrementar su espectro de actividad y poder ser administradas por vía oral; estos son los puntos que deben considerarse para producir la nueva generación de agentes quimioterapéuticos derivados del Pt para el tratamiento del cáncer.

Referencias

- AKABOSHI, M.; KAWAI, K.; MAKI, H.; AKUTA, K.; UJENO, Y.; MIYAHARA, T.; 1992. The number of platinum atoms binding to DNA, RNA and protein molecules of HeLa cells treated with cisplatin at its mean lethal concentration. *Jpn. J. Cancer Res.* 83: 522-526.
- BASOLO, F.; CHATT, F.J.; GRAY, H.B.; PEARSON, R.G.; SHAW, B.L.; 1960. Kinetics of the Reaction of Alkyl and Aryl Compounds of the Nickel Group with Pyridine. *J. Chem. Soc.* 2207.
- BERNERS-PRICE, S.J.; KUCHEL, P.W.; 1990. Reaction of cis- and trans-(PtCl₂(NH₃)₂) with reduced glutathione inside human red blood cells, studied by ¹H and ¹⁵N-(¹H) DEPT NMR. *J. Inorg. Biochem.* 38: 327-345.
- CHENG, H.; HUQ, F.; BEALE, P.; FISHER, K.; 2005. Synthesis, characterization, activities, cell uptake and DNA binding of trinuclear complexes: {[trans-PtCl(NH₃)₂]₂m-[trans-Pt(NH₃)-(2-hydroxypyridine)-(H₂N(CH₂)₆NH₂)Cl₄]. 40: 772-781.
- CHU, G.; 1994. Cellular responses to cisplatin. *J. Biol. Chem.* 269: 787-790.
- CLEARE, M.J.; HOESCHELE, J.D.; 1973. Studies on the antitumor activity of group VIII transition metal complexes. Part I. Platinum (II) complexes. *Bioinorg. Chem.* 2: 187-210.
- CLEARE, M.J.; HOESCHELE, J.D.; 1973. Anti-tumor platinum compounds relationship between structure and activity. *Plat. Met. Rev.* 17: 2-13.
- DE GREGORIO, M.W.; GANDARA, D.R.; HOLLERAN, W.M.; PÉREZ, E.A.; KING, C.C.; WOLD, H.G.; Montine, T.J.; Borch, R.F.; 1989. High-dose cisplatin with diethyldithiocarbamate (DDTC) rescue therapy: preliminary pharmacologic observations. *Cancer Chemother Pharmacol.* 23: 276-278.
- DENNY, W.A.; PALMER, B.D.; LEE, H.H.; JOHNSON, P.; BAGULEY, B.C.; WICKHAM, G.; WAKELIN, L.P.; MCFADYEN, W.D.; 1990. DNA-directed alkylating agents. 2. Syn. and biological activity of platinum complexes linked to 9-Anilinoacridine. *J. Med. Chem.* 33: 3008-3014.

- DENNY, W.A.; PALMER, B.D.; LEE, H.H.; CHIN, M.; BAGULEY, B.C.; WICKHAM, G.; WAKELIN, L.P.; MCFADYEN, W.D.; 1992. DNA-directed alkylating agents. 5. Acridinecarboxamide derivatives of (1,2-diaminoethane)-dichloroplatinum(II). *J. Med. Chem.* 35: 2983-2987.
- DI BLASI, P.; BERNAREGGI, A.; BEGGIOLIN, G.; PIAZZONI, L.; MENTA, E.; FORMENTO, M.L.; 1998. Cytotoxicity, cellular uptake and DNA binding of the novel trinuclear platinum complex BBR 3464 in sensitive and cisplatin resistant murine leukemia cells. *Anticancer Res.* 18: 3113-3117.
- EASTMAN, A.; SCHULTE, N.; 1988. Enhanced DNA repair as a mechanism of resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II). *Biochemistry.* 27: 4730-4734.
- EASTMAN, A.; RICHON, V.M.; SCHULTE, N.; 1987. Multiple mechanisms of resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II) in murine leukemia L1210 cells. *Cancer Res.* 47: 2056-2061.
- ELFERINK, F.; VANDER VIJGH, W.J.; KLEIN, I.; PINEDO, H.M.; 1986. Interaction of cisplatin and carboplatin with sodium thiosulfate: reaction rates and protein binding. *Clin. Chem.* 32: 641-645.
- FOKA, M.; BELEHRADEK, J., JR.; PAOLETTI, J.; 1988. Interaction of cis-diamminedichloroplatinum (II) with sensitive and resistant L1210 cell lines Drug binding to nuclei and DNA. *Biochem. Pharmacol.* 37: 3467-3472.
- FRANCINI, G.; CORREALE, P.; MESSINESE, S.; CARAGLIA, M.; MARSILI, S.; PICCOLOMINI, A.; PETRIOLI, R.; CECIARINI, F.; MICHELI, L.; NENCINI, C.; NERI, A.; VUOLO, G.; GUARNIERI, A.; ABBRUZZESE, A.; PRETE, S.D.; GIORGI, G.; 2004. A novel biweekly multidrug regimen of gemcitabine, axaliplatin, 5-fluorouracil (5-FU), and folinic acid (FA) in pretreated patients with advanced colorectal carcinoma. *Br. J. Cancer.* 90: 1710-1714.
- FUKUOKA, M.; KURATA, T.; TAMURA, N.; YAMAMOTO, N.; NOGAMI, T.; SATOH, T.; KANEDA, H.; NAKAGAWA, K.; 2004. Combination phase I study of nedaplatin and gemcitabine for advanced non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer.* 90: 2092-2096.
- GEAN, K.F.; BENSOSHAN, R.; RAMU, A.; RINGEL, I.; KATZHENDES, J.; GIBSON, D.; 1991. Preparation, characterization and the anticancer activity of a novel series of triaminemonochloroplatinum(II) cations linked to anthraquinone intercalators. *Eur. J. Med. Chem.* 26: 593.
- GIANDOMENICO, C.M.; ABRAMS, M. J.; MURRER, B.A.; VOLLANO, J.F.; RHEINHEIMER, M.I.; WYER, S.B.; BOSSARD, G.E.; HIGGINS, J.D.; 1995. III *Inorg. Chem.* 34, 1015.
- HARTLEY, F.R.; 1973. *The Chemistry of Platinum and Palladium.* John Wiley and Sons: New York.
- HOLLIS, L.S.; MILLER, A.V.; AMUNDSEN, A.R.; SCHURIG, J E.; STERN, E.W.; 1990. Cis-Diamineplatinum(II) Complexes Containing Phosphono Carboxylate Ligands as Antitumor Agents. *J. Med. Chem.* 33: 105-111.
- HOSPER, G.A.P.; MULDER, N.H.; DE JONG, B.; de Ley, L.; Uges, D.R.A.; Fichtinger-Schepman, A.M.J.; Schepper, R.J., de Vries, E.G.E.; 1988. Characterization of a human small cell lung carcinoma cell line with acquired resistance to cis-diamminedichloroplatinum(II) in vitro. *Cancer Res.* 48: 6803-6807.
- KALINOWSKA, U.; MATLAWSKA, K.; CHECINSKA, L.; DOMAGALA, M.; KONTEK, R.; OSIECKA, R.; OCHOCKI, J.; 2005. Synthesis, spectroscopy and antiproliferative activity of cis- and trans-platinum(II) complexes with diethyl (pyridin-4-ylmethyl)-phosphate. X-ray crystal structure of *trans*-Pt(II) complex. 99: 2024-2031.
- KASPARKOVA, J.; MARINI, V.; NAJAJREH, Y.; GIBSON, D.; BRABEC, V.; 2003. DNA binding mode of the cis and trans geometries of new antitumor nonclassical platinum complexes containing, piperazine, or 4-picoline ligand in cell-free media. Relations to their activity in cancer cell lines. *Biochemistry.* 42: 6321-6332.
- KELLAND, L.R.; BARNARD, C.F.J.; MELLISH, K.J.; JONES, M.; GODDARD, P.M.; VALENTI, M.; BRYANT, A.; MURRER, B.A.; HARRAP, K.R.A.; 1994. Novel *trans*-platinum coordination complex possessing *in vitro* and *in vivo* antitumor activity. *Cancer Res.* 54: 5618-5622.
- LAI, G.M.; OZOLS, R.F.; YOUNG, R.C.; HAMILTON, T C.; 1989. Effect of glutathione on DNA repair in cisplatin-resistant human ovarian cancer cell lines. *J. Natl. Cancer Inst.* 81: 535-539.
- LEBWOHL, D.; CANETTA, R.; 1998. Clinical development of platinum complexes in cancer therapy: an historical perspective and an update. *Eur. J. Cancer.* 34: 1522-1534.
- LIPPARD, J.S.; JAMIESON, E.R.; 1999. Structure, recognition, and processing of cisplatin-DNA adducts. *Chem. Rev.* 99: 2467-2498.
- LIPPARD, S.J.; LEPRE, C.A.; Bancroft, D.P.; 1990. Pt-195 nmr kinetic and mechanistic studies of cis-diamminedichloroplatinum and trans-diamminedichloroplatinum(ii) binding to dna. *J. Am. Chem. Soc.* 112: 6860-6871.
- LIPPARD, S.J.; HUANG, J.C.; ZAMBLE, D.B.; REARDON, J.T.; SANCAR, A.; 1994. HMG-domain proteins specifically inhibit the repair of the major DNA adduct of the anticancer drug cisplatin by human excision nuclease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 91: 10394-10398.
- MOGGS, J.G.; SZYMKOWSKI, D.E.; YAMADA, M.; KARRAN, P.; WOOD, R.; 1997. D. Nucleotide Excision Repair in Mammalian Cells. *Nucleic Acids Res.* 25: 480-490.
- MSDS; 2002. Anuario de Epidemiología y estadística Vital.
- MURRIA, R.; MAYES, P.; GRANNER, D.; RODWELL, V.; 2004. Harper Bioquímica ilustrada. 16ª ed.
- NAVARRO, M.; CISNEROS-FAJARDO, E.J.; 2003. El ADN y sus interacciones con complejos metálicos. *Revista de la Sociedad Venezolana de Química.* 26: 15-20.
- NIHO, S.; KUBOTA, K.; GOTO, K.; OHMATSU, H.; MATSUMOTO, T.; KAKINUMA, R.; NISHIWAKI, Y.; 2002. Triplet chemotherapy with vinorelbine, gemcitabine, and cisplatin for advanced non-small cell lung cancer: a phase II study. *Br. J. Cancer.* 87: 1360-1364.
- NOBUYA, K.; JONSON, K.; TOMINAGA, M.; IWASAKI, T.; FUKUMOTO, T.; MURAMATSU, S.; SUGIMOTO, T.; TSUCHIDA, S.; TAKAMATSU, M.; SUZUKI, Y.; KURODA, Y.; 2001. Effect of sodium thiosulfate on cisplatin removal with complete hepatic venous isolation and extracorporeal charcoal hemoperfusion: a pharmacokinetic evaluation. *Annals of Surgical Oncology.* 8: 449-457.
- ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD; 2004. Formulario modelo. Sección 8.
- PENDYALA, L.; CREAVEN, P.J.; PÉREZ, R.; ZDANOWICZ, J.R.; RAGHAVAN, D.; 1995. Intracellular glutathione and cytotoxicity of platinum complexes. *Cancer Chemother. Pharmacol.* 36: 271-278.

- PEREGO, P.; CASERINI, C.; GATTI, L.; CARENINI, N.; ROMANELLI, S.; SUPINO, R.; COLANGELO, D.; VIANO, L.; LEONE, R.; SPINELLI, S.; PEZZONI, G.; MAZOTTI, C.; FARREL, N.; ZNINO, F.; 1999. A Novel Trinuclear Platinum Complex Overcomes Cisplatin Resistance in an Osteosarcoma Cell System. *Mol. Pharm.* 55: 528-534.
- PIGA, A.; NORTILLI, R.; CETTO, G.L.; CARDARELLI, N.; FEDELI, L.S.; FIORENTINI, G.; D'APRILE, M.; GIORGI, F.; PARZIALE, A.P.; CONTU, A.; MONTIRONI, R.; GESUITA, R.; CARLE, F.; CELLERINO, R.; 2004. Carboplatin, doxorubicin and etoposide in the treatment of tumors of unknown primary site. *Br. J. Cancer.* 90: 1898-1904.
- REEDIJK, J.; LEMPERS, E.L.M.; 1991. Interaction of platinum amine compounds with sulfur-containing biomolecules and DNA fragments. *Adv. Inorg. Chem.* 37: 175-211.
- REEDIJK, J.; DIJT, F.J.; BERENDS, F.; FICHTINGER-SCHPEMAN, A.M.J.; 1998. Formation and repair of cisplatin-induced adducts to DNA in cultured normal and repair-deficient human fibroblasts. *Cancer Res.* 48: 6058-6062.
- REEDIJK, J.; 1996. Improved understanding in platinum anti-tumour chemistry. *Chem. Commun.* 801-806.
- REEDIJK, J.; VAN ZUTPHEN, S.; ROBILLARD, M.S.; VAN DER MAREL, G.A.; OVERKLEEF, H.S.; den Dulk, H.; Brouwer, J.; 2003. Extending solid-phase methods in inorganic synthesis: the first dinuclear platinum complex synthesised *via* the solid phase. *Chem. Commun.* 634-635.
- REEDIJK, J.; BLOEMINK, M.J.; ENGELKING, H.; KARENTZPOULOS, S.; KREBS, B.; 1996. Synthesis, Crystal Structure, Antitumor Activity, and DNA-Binding Properties of the New Active Platinum Compound (Bis(N-methylimidazol-2-yl)carbinol)dichloroplatinum(II), Lacking a NH Moiety, and of the Inactive Analog Dichloro(N π , N 1 -dimethyl-2, 2'-bimidazole)platinum(II) *Inorg. Chem.* 35: 619-627.
- ROSEMBERG, B. VAN CAMP, L.; KRIGAS, T.; 1965. Inhibition of cell division in *Escherichia coli* by electrolysis products from platinum electrode. *Nature.* 205: 698-699.
- SADLER, P.J.; BARNHAM, K.J.; BERNERS-PRICE, S.J.; FRENKIEL, T.A.; FREY, U.; 1995. Platination Pathways for Reactions of Cisplatin with GG Single-Stranded and Double-Stranded Decanucleotides. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* 34: 1874-1877.
- SADLER, P. J.; CHEN, Y.; GUO, Z.; PARSONS, S.; 1998. Stereospecific and kinetic control over the hydrolysis of a sterically hindered platinum picoline anticancer complex. *Chem. Eur. J.* 4: 672-676.
- VAN DIJK, M.; PLOOY, A.C.M.; BERENDS, F.; LOHMAN, P.H.M.; 1985. Formation and repair of DNA interstrand cross-links in relation to cytotoxicity and unscheduled DNA synthesis induced in control and mutant human cells treated with *cis*-diamminedichloroplatinum(II). *Cancer Res.* 45: 4178-4184.
- VERSANTVOORT, C.H.M.; BROXTERMAN, H.J.; BAGRIJ, T.R.; SCHEPER, J.; TWENTYMAN, P.R.; 1995. Regulation by glutathione of drug transport in multidrug resistant human lung tumour cell lines overexpressing *MRP*. *Br. J. Cancer.* 72: 82-89.
- VIA, L.D.; DI NOTO, V.; VIDALLI, M.; SCOMAZZON, F.; NI, D.; DEANA, R.; 1998. Action of antitumoral platinum complexes on in vitro platelet functions. *Hemico-Biological Interactions.* 110: 203-220.
- WEBSTER, L.K.; DEACON, G.B.; BUXTON, D.P.; HILLCOAT, B.L.; JAMES, A.M.; ROOS, I.A.G.; THOMSON, R.J.; WAKELIN, L.P.G.; WILLIAMS, T.L.; 1992. *Cis*-Bis(pyridine)platinum(II) organoamides with unexpected growth inhibition properties and antitumor activity. *J. Med. Chem.* 35: 3349-3353.
- WEISS, R.B.; CHRISTIAN, M.C.; 1993. New cisplatin analogues in development. A review. *Drugs.* 46: 360-377.
- WONG, E.; GIANDOMENICO, C.M.; 1999. Current status of platinum-based antitumor drugs. *Chem. Rev.* 99: 2451-2466.
- YOSHIMURA, N.; KUDOH, S.; MUKOHARA, T.; YAMAUCHI, S.; YAMADA, M.; KAWAGUCHI, T.; NAKAOKA, Y.; HIRATA, K.; YOSHIKAWA, J.; 2004. Phase I/II study of cisplatin combined with weekly paclitaxel in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *Br. J. Cancer.* 90: 1184-1189.

Recibido: marzo 2005
Aceptado: mayo 2005

Higo

Ficus carica L.

HAIEK, G.; ORSINI, G.; TILLET, S.

Herbario «Victor Manuel Ovalles». Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela



Familia

MORACEAE

Nombres comunes

Higo, breva, higuera, figu, higuera común. En otros idiomas: figue, figuier commun (francés); fico, ficaia (italiano); figo, figueira (portugués); fig (inglés); feige, echte feige, feigenbaum (alemán); Anjir (hindú y bengalí); ten (arabe); anjir (persa); figuera, figuer (catalan); uztapiko, basapikotze, pikoarr (vasco) (Hoyos, 1989; Morton, 1981).

Descripción

Árbol de 2 a 9 (-25) m de alto, con un tronco de 20 cm de diámetro, bastante ramificado y sinuoso. Hojas simples, alternas, pecioladas, gruesas, ásperas al tacto, de forma variable y hasta de 25 cm de ancho, con 3 a 7 lóbulos, pubescentes, verde oscuro por la cara superior y grisácea en la inferior; venas prominentes. Flores unisexuales, muy pequeñas, verdes, inmersas en la pared interna de un receptáculo carnososo en forma de pera, con un poro apical. El fruto es un sicono de 3 a 7 cm

de largo, succulento, jugoso, dulce, verde claro, rojizo o amarillo púrpura cuando maduro, con numerosas semillas pequeñas (Albornoz, 1993; Hoyos, 1989; Juscafresa, 1995; Mérola, 1986; Morton, 1981; Wren, 1975).

Distribución

Es nativa de la Arabia Meridional pero se extendió muy pronto por la región mediterránea. Universalmente crece en regiones subtempladas, subtropicales y tropicales, especialmente de clima seco. Ocasionalmente se cultiva como ornamental en jardines y patios desde Latinoamérica hasta la India, especialmente en las provincias al Oeste en el Himalaya (Morton, 1981; Watt, 1889-1896). La higuera (*Ficus carica L.*) ha sido cultivada desde tiempos muy remotos, siendo mencionada con frecuencia desde la Biblia y en las descripciones antiguas de Teofrasto (Hill, 1965).

Usos

Esta planta suele ser cultivada por el valor nutritivo de los frutos, pero en la medicina tradicional se le conocen numerosas propiedades como laxante, emoliente, diurética y pectoral, entre otras (Hoyos, 1989, Mitchell y Breyer-Brandwijk, 1962). La higuera contiene un fermento activo que facilita la digestión de los albuminoides denominado «cradina»; además, por sus propiedades antisépticas obstaculiza la multiplicación de gérmenes, usándose contra la fiebre tifoidea y paratifoidea, en la enterocolitis debida al colibacilo, y en las intoxicaciones producidas por bacilos de la putrefacción (De La Rosa, 1992). La raíz fresca es usada en la elaboración de una loción para el afta. El látex tiene pronunciada actividad proteolítica y coagula la leche, si está hervida, así como también previene la coagulación de la sangre en una dilución del 0,1% (Mitchell y Breyer-Brandwijk, 1962).

Se creía que comiendo higo seco se facilitaba la concepción (Mitchell y Breyer-Brandwijk, 1962); y según

García de la Torre (1967, citado en Mérola, 1986) se ha usado en Cojedes para hacer desaparecer la menstruación excesiva. De acuerdo con Font Quer (1962) el látex es corrosivo, «abre los poros, relaja el vientre, bebido con almendras majadas desopila la madre, y aplicada por abajo con una yema de huevo o con cera tirrénica es provocativa del menstruo...».

En Puerto Rico y Argentina se cree que la decocción de tres hojas secadas al sol y hervidas durante 15 minutos en 300 ml de agua, es antidiabética. En Cuba, Curazao, Colombia y Venezuela, la decocción de la hoja es colada a través de una tela y tomada como un remedio para gripe y afecciones del pecho. Las hojas calentadas en agua hirviendo son cataplasmas para eliminar los callos. Las hojas secas son fumadas en pipa para aliviar el asma. El látex ha sido tomado como un digestivo, y sobre todo en México se usa como remedio para la obstrucción intestinal. También se empapa un trozo de algodón con látex y se introduce en la cavidad del diente que duele (Morton, 1981). En la India se utiliza el higo como remedio contra la mordedura de serpiente (Mitchell y Breyer-Brandwijk, 1962).

Algunas formas de preparación

(De la Rosa 1992, Juscafresa 1995, Martínez 1992, Mérola 1986, Watt 1889-1896):

- Los higos cocidos en leche se usan para combatir el estreñimiento, pero la infusión de la corteza fresca al 5% es astringente y se usa contra las diarreas.
- Con los higos tostados y molidos se hace café que se recomienda en la neumonía aguda, bronquitis, catarros, tosferina, etcétera. El cocimiento de las hojas empleadas de 20 a 30 g por litro de agua, sirve para enjuagatorios bucales, en los dolores de muelas y en las neuralgias faciales. Los higos secos en decocción durante 15 minutos a dosis de 60 gramos por litro de agua se utilizan para realizar gargarismos, reduciendo la inflamación de boca y garganta; también se usan cocidos en leche en una dosis de 10%: 10 g de higos en 1 litro de leche.
- La pulpa del higo, mezclada con vinagre y azúcar, es muy útil en las afecciones bronquiales, principalmente en niños. El jugo de las hojas es aplicado localmente en los estadios tempranos de leucoderma.
- El jugo (obtenido machacando 12 g de frutos y hojas en un mortero y exprimiendo esa pasta con un lienzo delgado) se ingiere, con igual cantidad de agua, a razón de 3 a 4 cucharadas diarias, después de las comidas o en ayunas, como vermífugo.
- El uso del jugo aplicado localmente en las anginas con resultados muy satisfactorios, cuando hay se-

creciones purulentas; y lo mismo se puede decir para las heridas infectadas. En esta forma se puede usar para toques en la garganta y en las heridas.

- Aplicados en cataplasmas, los higos frescos o secos molidos, resultan ser un óptimo remedio en los tumores inflamados y dolorosos, también destruyen callos y verrugas por sus propiedades cáusticas.
- Los palos delgados de la planta en cocimiento –30 g por litro de agua– son útiles bebiendo el cocimiento a toda hora, en los casos de hidropesía.
- Para hacer desaparecer la menstruación excesiva, se toman 3 higos «jojotos» y un poco de raíz de limón agrio verde, se cocina junto, se le agrega una gota de aceite de palo (*Copaifera officinalis*), tomándose todos los meses al venir el período, de esta manera la menstruación disminuiría a los 2 ó 3 meses.

Algunas pruebas biológicas

La inyección intravenosa de 0,02 ml de látex en ratas, y 0,05 ml en conejos, produce una muerte inmediata con síntomas de lesiones en los capilares de los órganos. Efectos similares se observan con la inyección intraperitoneal. Con inyección subcutánea se observa una necrosis local y anemia, pero administrado oralmente no es tóxico. El látex tiene un marcado efecto inhibitorio en el crecimiento del «Sarcoma Transplantado Benzopireno 616» en ratas albinas y el crecimiento intraperitoneal es marcadamente inhibida en la rata previa inyección intravenosa o subcutánea con látex (Mitchell y Breyer-Brandwijk, 1962).

Composición química

La composición química del fruto fresco es: 79 (por 100 g) calorías, 86,30% agua, 1,40% proteínas, 0,40% grasas, 19,6% carbohidratos totales, 1,7% fibra, 0,6% ceniza, 54 mg/100 g calcio, 32 mg/100 g fósforo, 0,6 mg/100 g hierro, 6 mg/100 g sodio, 180 mg/100 g potasio, 140 mg/100 g caroteno, 0,06 mg/100 g tiamina, 0,05 mg/100 g riboflavina, 0,05 mg/100 g niacina, 2 mg/100 g ácido ascórbico (Duke y Atchley 1986, Vélez-Boza 1990). Son abundantes en azúcares, principalmente glucosa, fructosa y sacarosa; en los frescos hasta el 20% y en los secos hasta 62% (Wren, 1975).

El látex es blanco, con desagradable olor, un sabor amargo y reacción ácida; separando por filtración la porción líquida de la sólida se obtiene que la fracción líquida contiene albúmina (3,51%), trazas de sales minerales, sustancias gomosas y de naturaleza péctica, incluyendo cradina (6,89%), glucosa y ácido málico; la fracción sólida contiene ácido cerótico y caucho (12,86%); también contiene diastasa, esterasa, lipasa

y proteasa, y de su ceniza se obtiene ácido bórico, sílice y magnesio (Mitchell y Breyer-Brandwijk 1962, Wren 1975).

Propiedades

Astringente, emoliente, pectoral, laxante, resolutive, quetolítico, anticatarral, antirreumático y antiinflamatorio (Albornoz 1993, Juscafresa 1995).

Bibliografía

- ALBORNOZ, A.; 1993. *Medicina tradicional herbaria*. Instituto Farmacoterápico Latino S.A., Caracas-Venezuela, pp: 440-441.
- DE LA ROSA, F.; 1992. *Yerbas y plantas medicinales de México*. Editores Mexicanos Unidos, México, pp: 48.
- DUKE, J.A. Y ATCHLEY, A.A.; 1986. *CRC Handbook of Proximate Analysis Tables of Higher Plants*. CRC Press, Inc., Florida-U.S.A, pp: 74.
- FONT QUER, P.; 1962. *Plantas medicinales. El Dioscórides renovado*. Editorial Labor S.A., Barcelona-España, pp: 121-125.
- HILL, A.F.; 1965. *Botánica económica. Plantas útiles y productos vegetales*. Ediciones Omega, S.A., Barcelona-España, pp: 473-475.
- HOYOS, J.; 1989. *Frutales en Venezuela*. Monografía N° 36, Sociedad de Ciencias Naturales La Salle, Caracas, pp: 156-157.
- JUSCAFRESA, B.; 1995. *Guía de la flora medicinal*. Editorial Aedos, S.A., Barcelona-España, pp: 280-281.
- MARTÍNEZ, J.R.; 1992. *Yerbario medicinal mexicano*. Editores Mexicano Unidos. México, pp: 100-102.
- MÉROLA, G.; 1986. *Plantas medicinales para la mujer*. Colección Medicina Popular Venezolana. Vadell Hermanos Editores, España, pp: 178-179.
- MITCHELL, J. Y BREYER-BRANDWIJK, M.G.; 1962. *Medicinal and Poisonous Plants of Southern and Eastern Africa*. Segunda Edición. E & S Livingstone Ltd., Gran Bretaña, pp: 773-776.
- MORTON, J.F.; 1981. *Atlas of Medicinal Plants of Middle America. Bahamas to Yucatan*. Charles C. Thomas Publisher, Illinois-U.S.A, pp: 148-149.
- VÉLEZ-BOZA, F. Y VALERY DE VÉLEZ, G.; 1990. *Plantas alimenticias de Venezuela. Autóctonas e introducidas*. Monografía N° 37, Sociedad de Ciencias Naturales La Salle y Fundación Bigott, Caracas, pp: 117-118.
- WATT, G.; 1889-1896. *A Dictionary of the Economic Products of India*, Vol III. Segunda reimpression (1972). Periodical Experts, Delhi-India, pp: 347-349.
- WREN, R.C.; 1975. *Potter's new cyclopedia of botanical drugs and preparations*. Health Science Press, Henscote-Inglaterra. xiii +400 p.
- http://www.ars-grin.gov/cgi-bin/npgs/html/tax_search.pl?ficus+carica
- <http://www.plantnames.unimelb.edu.au/Sorting/Ficus.html>

Normas de Publicación

La Revista de la Facultad de Farmacia está destinada a la publicación de artículos científicos en el área de la salud y en áreas básicas y aplicadas relacionadas con la obtención, ensayos, análisis, usos, producción de medicamentos, alimentos y cosméticos y sustancias relacionadas.

Los artículos deben ser originales e inéditos, destinados exclusivamente a esta Revista y pueden ser escritos en español, inglés, portugués o francés. Se enviarán los artículos por duplicado a la Dirección de la Revista (Revista Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Apartado 40.109, Caracas).

Los artículos deben estar mecanografiados a doble espacio, por una cara, en papel tamaño carta, sin borrones ni tachaduras y con amplio margen (los laterales no menos de dos (2) centímetros); todas las páginas deben ser numeradas correlativamente.

Ilustraciones: Gráficos, dibujos y fotografías deben ser los indispensables para ilustrar puntos importantes y numerados correlativamente en números arábigos (Ejemplo: Fig. 1; Fig. 2, etc.).

Los gráficos y dibujos deben hacerse preferentemente en tinta china, sobre papel vegetal y las líneas deben dibujarse con tal grosor que no pierdan nitidez al reducirse. Las fotografías deben realizarse con película de grano fino y en blanco y negro. El aumento de la fotografía debe señalarse sobre la misma con una barra.

En el reverso de cada ilustración se debe indicar el número de la misma, nombre del primer autor, localización en el texto y señalar cuál es la parte superior de la figura. La leyenda correspondiente a cada ilustración debe enviarse en hojas separadas con su correspondiente número.

Cuadros: Cada uno se debe presentar en hojas separadas y numeradas correlativamente en números arábigos y el texto, en la parte superior del cuadro, no debe duplicar material del texto o de las ilustraciones.

Fórmulas y ecuaciones: Éstas deben ser escritas a máquina y/o dibujarse claramente con tinta china para su reproducción.

Los artículos, en lo posible, deben seguir la estructura siguiente: título del artículo; nombre(s) completo(s); resumen y materiales y métodos; resultados; discusión; conclusiones y recomendaciones (optativas); referencias bibliográficas.

Título: Encabeza el artículo y debe ser corto y dar información sobre el contenido del artículo. Se debe enviar en el idioma original y en inglés.

Autor(es): Sigue al título y al pie de página debe aparecer la dirección del autor(es) y la entidad patrocinadora si fuera el caso.

Resumen: Informativo, con un máximo de 200 palabras en el idioma original del trabajo y en inglés

(en el caso de original en inglés, el resumen en español). Debe dar una visión general del trabajo, señalar someramente el propósito, métodos y los hallazgos. No se debe citar referencias. El resumen debe concluir con las palabras clave descriptoras.

Introducción: Aparece después del resumen y debe contener lo esencial para situar el problema, justificación del trabajo utilizando las referencias más relevantes. No se aceptarán trabajos con una revisión bibliográfica como Introducción.

Materiales y métodos: Descripción breve y clara que permita la comprensión y reproducción del trabajo. Sobre técnicas y métodos clásicos ya publicados, debe constar sólo referencia.

Resultados: Deben ser presentados en forma clara y precisa con un mínimo de discusión o interpretación personal. Todas las ilustraciones y cuadros deben ser citados en el texto.

Discusión: Debe ser restringida a la interpretación de los resultados y eventualmente a comparar con los resultados de otros.

Autores: Solamente las referencias indispensables deben ser mencionadas.

Conclusiones: Pueden ser incluidas dentro de la discusión, sin embargo se puede hacer una sección aparte, indicando de forma clara y concisa los nuevos hallazgos, el aporte nuevo a la ciencia. Se pueden incluir recomendaciones de aplicación práctica.

Referencias bibliográficas: Las mencionadas en el texto deben citarse escribiendo el apellido, año entre paréntesis. Ejemplo: Ávila (1983), Brenes (161).

La lista de referencias debe hacerse con las que aparecen en el texto en orden alfabético y mantener la estructura siguiente: autor(es), apellido(s), inicial del nombre, año, título del artículo, Revista (abreviatura aceptada), vol. número, páginas (en el caso de artículos científicos).

Ejemplo:

Ávila, J.L.; 1983. New national approaches to Chagas disease chemotherapy. *Interciencia*, 8: 405-417.

Ávila, J.L.; Ávila, A. & Muñoz, E.; 1981. Effect of allopurinol on different strains of *Trypanosoma cruzi*. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 39: 769-774.

En el caso que se trate de referencias de libros debe contener:

Nombre(s) de autor(es), año de publicación, título, número de la edición (excepto si es la primera), editora, lugar de la edición y páginas.

Ejemplo:

Decampo, R. & Moreno, S.N.J.; 1984. Free radicals intermediates in the antiparasitic action of drugs and fagocytic cells. *En Free radicalis in Biology*. Ed. WA-Pryors Academic Press, pp. 243-288.

ÍNDICE DE AUTORES

Vol. 68 - 2005

A	
Amesty, Ángel E.; véase Colman, Trina	
B	
Bahsas, Alí; véase Colman, Trina	
Blanco, Zuleima; véase Suárez, Alírica I.	
Boutros, Paulo; véase Colman, Trina	
Burgos, Ignacio. Gerencia Farmacéutica	3
C	
Camacho, José. Química de coordinación como un arma para el desarrollo de potenciales drogas antimaláricas. Estudio de los posibles mecanismos de acción	27
Camacho, José. Metalofármacos vs cáncer (Parte I)	38
Canelón, Dilsia; véase Suárez, Alírica I.	
Colman, Trina. Elucidación estructural y evaluación biológica del fitoestrógeno ferutinina aislado de <i>Ferula hermonis</i> (Umbeliferae)	19
Compagnone, Reinaldo S.; véase Suárez, Alírica I.	
D	
Díaz, Beth; véase Suárez, Alírica I.	
F	
Ferrer, Rosa; véase Camacho, José	
G	
Garrido, María del Rosario; véase Coman, Trina	
H	
Haiek, Gerard. <i>Ficus carica</i> L. «Higo»	50
I	
Israel, Anita; véase Coman, Trina	
M	
Maldonado, A.: véase Camacho, José	
Mathison, Yaira; véase Colman, Trina	
N	
Navarro, M.; véase Camacho, José	
O	
Orsini, Giorgina; véase Haiek, Gerardo	
S	
Suárez, Alírica I. Chemical Constituents from <i>Croton huberi</i>	14
T	
Tapias, Eduardo; véase Suárez Alírica I.	
Tillett, Stephen; véase Suárez, Alírica I.	
Tillet, Stephen; véase Haiek, Gerardo	

ÍNDICE DE DESCRIPTORES

Vol. 68 - 2005

AGENTES ANTINEOPLÁSICOS	38
AGENTES ANTIMALÁRICOS	27
CÁNCER	38
COLORQUINA	27
<i>CROTON HUBERI</i>	14
EMINENCIA MEDIA	19
<i>EUPHORBIACEAE</i>	14
FERROQUINA	27
FERRUTININA	19
<i>FICUS CARICA L.</i>	50
FIDELIDAD	3
FITOESTRÓGENO	19
FLAVONOIDES	14
GERENCIA	3
HEMOZOÍNA	27
HIGO	50
MALARIA	27
METALOFÁRMACOS	38
N-METHYL-5-HYDROXY- Δ^5 -PYRROLIN-2-ONE	14
ÓXIDO NÍTRICO	19
PLANTAS MEDICINALES	14, 19, 50
PRODUCTIVIDAD	3
QUIMIOTERAPIA	38
RESISTENCIA	27