

**Revista Facultad
de Farmacia Universidad
Central de Venezuela**

Vol. 70 - N° 1 - 2007 - ISSN: 0041-8307
Depósito legal: 195902 DF 224
Caracas/Venezuela

Indexada en LILACS y LATINDEX

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

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

Editorial LUIS JOSÉ VERA	2
TEMAS PARA PENSAR GERENCIA ESTRATÉGICA EMPRESARIAL IGNACIO BURGOS	3
Actualización de Normas de Estabilidad de Productos Farmacéuticos ARACELIS ORTEGA	17
Caracterización de la posición competitiva actual de dos laboratorios farmacéuticos nacionales CARMEN CHIRINOS Y EVA ROMEO	22
Evolución de la eficiencia del Postgrado de Farmacia Comunitaria en términos de tiempo de permanencia de los estudiantes en el Programa ARISMENDI A., ESDRÁS J.	33
Derivados del 5-nitrofurano: desde Dodd y Stillman hasta nuestros días MELINA MONASTERIOS Y MILAGROS AVENDAÑO	38
Actividad antiinflamatoria del ácido 3- <i>epi</i> -ursólico y <i>docking</i> a la fosfolipasa A ₂ Anti-inflammatory Activity of 3- <i>epi</i> -Ursolic Acid and Docking to PLA ₂ MARIELLA PASTORELLO, CARLOS E. CIANGHEROTTI, TRINA COLMAN, ÁNGEL AMESTY, DIOLMAR BUITRAGO Y ANITA ISRAEL	47
Relación estructura química-actividad inhibidora de la Quimotripsina de ácidos fenilalquilborónicos MARY ISABEL CORDERO DE TROCONIS, GUADALUPE SCAPARONE DE SUÁREZ Y TRINA COLMAN DE SAIZARBITORIA	53
Validación de un método analítico por HPLC para la determinación de Roxitromicina en comprimidos MIRIAM GUTIÉRREZ Y MIRIAM REGNAULT	64
Índice de autores y descriptores	70
Normas de publicación	72

*Esta revista se publica bajo los auspicios
del Consejo de Desarrollo Científico
y Humanístico de la UCV*

Editorial

Desde épocas anteriores, las instituciones gremiales, empresariales, académicas, docentes y otras con diversos fines han sentido la necesidad de contar con un órgano informativo que divulgue sus actuaciones, sus logros y proyectos. El contenido de su información, variado, serio, de sumo interés para sus agremiados, hará que su publicación se haga continua y permanente.

La Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela, fundada en 1894, tuvo su órgano de publicidad, cuyo primer número se conserva en el Museo Histórico «Dr. Carlos F. Picón». Este boletín, que luego pasara a ser la *Revista de la Facultad* durante muchos años, bajo la dirección de eminentes colegas entre los cuales destacan el Dr. Anibal Mestres Fuenmayor, Rafael Ángel Martínez, Carlos Ruiz Alonso, Fanny de Padilla, entre otros, quienes con un voluntarioso deseo de servir lo mejor posible a su Facultad y profesión, venciendo las dificultades que confronta este tipo de publicación, se pudo cumplir el aspecto divulgativo tanto nacional como internacionalmente de los innumerables temas que genera el ejercicio profesional farmacéutico. En el aspecto internacional, la aceptación por parte de instituciones científicas y académicas de otros países proporcionó un intercambio cultural beneficioso que se hizo efectivo al recibir boletines informativos de la Sociedad de Historia de la Farmacia de España, del Colegio Químico Farmacéutico de Chile, de la Facultad de Farmacia y Bioquímica de Buenos Aires y correspondencia de otras instituciones ofreciendo su colaboración a fin de mantener el intercambio, el cual se hace necesario reactivarlo en futuras ediciones.

Durante la etapa que arranca a partir de 1958, en la que la Universidad va a vivir su fase de Institución autónoma y democrática, la *Revista* estuvo dirigida de manera impecable por el doctor Rafael Ángel Martínez, cuya labor en tal sentido fue encomiable, haciendo de nuestra *Revista* una publicación aceptada en su carácter científico, cultural y de investigación.

Lamentablemente, veinte años después fallece el doctor Martínez y se origina un inmenso vacío en la Facultad, particularmente en el aspecto informativo de las diferentes secciones que conformaban la *Revista*.

Sea propicia la ocasión para comunicar a la colectividad universitaria, y en especial a la farmacéutica,

el deseo de las nuevas autoridades de la Facultad en la persona de la doctora Anita Stern, Directora del Instituto de Investigaciones Farmacéuticas, el deseo firme de iniciar nuevamente al tiraje de la *Revista* a fin de dar cumplimiento a la difícil pero honrosa y obligante tarea de mantener un medio que difunda de la manera más veraz las diversas actividades del acontecer farmacéutico.

Sería este espacio editorial para hacer llegar a sus lectores, las inquietudes de los dirigentes docentes referidos al merecido bienestar social, en retribución al invaluable servicio en beneficio de la juventud estudiantil deseosa de una capacitación técnica y científica, cuyo objetivo esencial es dar un servicio público profesional acorde con la realidad social de la época.

Pero esto no nace por espontaneidad, como decía el doctor Ismael Puerta Flores: «Al tesón y pericia de manos especializadas en la búsqueda del saber y el amor de que todos tengan un abrevadero de sapiencia». La Facultad de Farmacia siempre se ha distinguido en nuestros anales universitarios por su entrega en afinar la cultura farmacéutica en su juventud estudiantil, además de ser factor de convivencia y equilibrio dentro del pluralismo de nuestra democracia educativa.

En verdad, la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela ha sido siempre puerta abierta a la luz y al saber, en ella se opina, se discute, se razona, se enseña, se observa y experimenta; columna de sostén del organigrama autónomo y académico de la Universidad, asiento para el aprendizaje básico de nuestros futuros egresados, aptos para difundir su beneficioso aporte a la sociedad.

Todo ello conforma el material necesario para lograr el propósito de mantener como antes, la publicación de la *Revista* de manera permanente. Sólo resta la colaboración y respaldo mancomunado de todos los miembros de la comunidad donde el trabajo organizado, armónico y de conjunto es la única responsabilidad de obtener el logro que se desea.

Es por ello que invito a todos aquellos que con capacidad de aportar sus ideas, su trabajo y su voluntad, contribuyan al éxito de tan importante iniciativa tomada por el Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de nuestra Facultad.

DR. LUIS JOSÉ VERA

Gerencia Estratégica Empresarial

IGNACIO BURGOS

*Creemos que el momento ideal
para hacer mejor las cosas es
¡ahora!*

Resumen

Ofrecemos un resumen del pensamiento de la gerencia y los conceptos estratégicos que debe manejar el gerente moderno. La planificación estratégica, que es parte de la gerencia estratégica, tuvo varios detractores durante los años sesenta y setenta, pues la globalización de la economía generó rápidos cambios en los mercados mundiales que los sistemas de planificación existentes no permitían a la gerencia la flexibilidad necesaria para actuar con eficiencia. El siguiente trabajo permite crear estrategias a futuro con la flexibilidad necesaria para adecuarse al cambio, haciendo uso de la gerencia estratégica.

Palabras clave: planificación estratégica, gerencia estratégica.

Summary

We offer a summary of the strategic thought of management and of the strategic concepts that the modern manager must use. Strategic planning, a part of strategic management, had several detractors during the sixties and seventies, mainly because the existing planning system did not provide management with enough flexibility to act efficiently to face rapid changes that globalization generated. The work that we present here mits the formulation of strategies with the necessary flexibility to adapt to changes, using the strategic management.

Key words: Strategic planning, strategic management.

Introducción

Como gerentes, no podemos abstraernos de los cambios importantes que se están presentando en el mundo de los negocios, pues ello sería ser deshonestos con nuestra empresa, sus empleados y accionistas, proveedores y clientes, nuestros consumidores finales, y con nosotros mismos. Por ello, los gerentes tenemos que ir aceptando y adaptando con mayor intensidad, rapidez y profundidad la orientación y puesta en práctica de la gerencia o dirección estratégica, con el fin de aumentar la rentabilidad a través de la calidad, productividad y competitividad. Así cumpliremos con los objetivos estratégicos de la organización, como son: rentabilidad de la empresa teniendo en cuenta el Retorno sobre la inversión (ROI), el Retorno sobre los activos (ROA) y el Retorno sobre el valor neto de la compañía *net equity*, (ROE), satisfacción de los accionistas y consumidores, aumento

del sentimiento de compromiso y de pertenencia de los empleados, innovación permanente y función social empresarial.

Nuestras organizaciones requieren de un cambio cultural en el cual predomine la capacidad estratégica y de liderazgo de la gerencia y el desarrollo intelectual de su personal. Por ello, abordaremos aspectos que pueden ayudar a nuestros gerentes a obtener una mayor ganancia por sus esfuerzos, sin olvidar que allá donde queramos llegar encontraremos lo que aportemos. Recordemos que la alta gerencia y los accionistas quieren resultados, no solamente promesas.

Definición

La gerencia estratégica, dirección estratégica o gestión estratégica es definida como «el conjunto de análisis, decisiones y acciones que una organización lleva a cabo

para crear y mantener ventajas competitivas» (Dess y Lumpkin, 2003).

También, puede ser definida como un proceso permanente y una forma de pensar de toda la compañía orientada al crecimiento por encima del promedio de sus competidores y siempre alerta a los cambios en el entorno.

En líneas generales podríamos decir que la gerencia estratégica es un proceso, patrón de objetivos, propósitos y metas, además de los planes y políticas principales para alcanzar estas últimas, expuesto de forma que defina en qué negocio está la empresa o va a estar y el tipo de compañía que es o va a ser.

La gerencia estratégica es algo más que simplemente planificar el mañana; es una serie de decisiones y sus correspondientes acciones constantes, con el fin de crear ventajas competitivas permanentes en el tiempo.

Teniendo en cuenta nuestra experiencia de quince años trabajando en gerencia estratégica, podemos definirla como un proceso permanente de investigación, pensamiento, análisis, decisión, acción y evaluación, orientado a la creación de estrategias competitivas sostenibles en el tiempo, para obtener un crecimiento en ventas superior al promedio de las empresas con las cuales compita, utilidades cuyo rendimiento sobre ROA, ROE y ROI sea, también, más elevado que el promedio de su industria, con el fin de lograr un mayor valor neto para la empresa y sus activos tangibles e intangibles y un aumento del valor de las acciones en el mercado, para incentivar a los accionistas actuales y futuros. La dirección estratégica consiste en ver hoy el futuro predecible y actuar *ex ante*.

El éxito de la gerencia estratégica está vinculado a la creación de un valor único a futuro, a través de la inversión en las capacidades de su personal (capital intelectual), buenas relaciones con proveedores y clientes, innovación de procesos, tecnología, capacidad financiera y fuerte liderazgo. En síntesis, tener una visión estratégica compartida a futuro.

Estrategias competitivas sostenibles

Son muchos los autores que han escrito sobre este tema, entre ellos Porter, Kaplan, Norton, Francés, Greenwald, Sull, Mayo, Allmendinger, Moore, Ghemawat, Dess y Lumpkin. La razón de haber tantos autores interesados en este tema es que la mejor forma de crecer de manera consistente en ventas y utilidades ante la globalización e hipercompetencia, es a través de estrategias competitivas innovadoras y sostenibles en el tiempo, es decir, que no puedan ser fácilmente copiadas por los competidores.

Con el fin de simplificar todo lo que involucra la generación de estrategias competitivas sostenibles, ofrecemos un resumen de la conceptualización de las acciones

que deben seguirse para la creación de las opciones competitivas, según la mayoría de los expertos en gerencia estratégica. Veamos las actividades básicas:

- Análisis estratégico interno y externo
- Formulación de estrategias para obtener ventajas competitivas sostenibles
- Implantación de las estrategias a través de acciones eficaces y eficientes.

Para poder cumplir eficientemente con estas actividades, la gerencia requiere aumentar el capital intelectual de su personal, utilizando como política la gerencia del saber o economía del conocimiento; mejorar los tiempos de ciclo para el lanzamiento al mercado de nuevos productos; combatir (en lo posible) el efecto negativo de la globalización a través de la creación de valor, utilizando equipos de trabajo de alto desempeño; modificar o adecuar la filosofía y cultura de la empresa, teniendo en cuenta los cambios importantes que se están presentando en el entorno competitivo; involucrar con mayor intensidad a los empleados en la toma de decisiones, tanto operativas como estratégicas; tener fuerte liderazgo compartido y operacional; y mantener una filosofía de responsabilidad social empresarial. Estas actividades básicas deben ser realizadas y/o ejecutadas por todo el personal de la compañía pues, de esta manera, todos se sentirán comprometidos y responsables de los resultados obtenidos en función de lo planificado.

Una vez realizadas estas actividades, la organización, la gerencia, debe orientarse a poner en práctica las actividades mencionadas anteriormente a través de la dirección estratégica, que consiste en:

- Análisis del presente (FODA) y del futuro (cadena de valor de la organización) y filosofía empresarial (misión, visión).
- Decisiones tanto operativas como estratégicas, preguntándose en qué negocio estamos y en cuál deberíamos estar (Leavitt).
- Acciones para definir qué ventajas competitivas deberíamos tener para poder seguir siendo rivales de manera sostenible (Drucker).

Esta parte crucial de la creación de estrategias competitivas sostenibles requiere de un conocimiento profundo de la organización, del entorno, de las barreras de entrada y de salida, y de las cinco fuerzas competitivas, del análisis FODA y el de la cadena de valor de la empresa, de Porter. Por su parte, Dess y Lumpkin (2003) describen como las principales características de la dirección estratégica para generar ventajas competitivas, las siguientes acciones:

- Orientación a objetivos y metas estratégicas retadoras pero alcanzables.
- Creación de grupos de trabajo de alto desempeño.
- Formación y estímulo de equipos de interés en la toma de decisiones.
- Definición de un futuro previsible a mediano plazo y perspectivas a largo alcance.
- Estimular las ventajas competitivas de la empresa, al igual que las competencias distintivas de su personal, particularmente las orientadas a clientes.

Enumeramos a continuación algunos pensamientos de interés dentro de la función estratégica de la gerencia:

- Debe pensarse en el futuro pero sin olvidarse del corto plazo, pues a veces hacemos proyecciones muy retadoras y no tenemos en cuenta el descenso secuencial de la productividad/rentabilidad que nos ha suministrado el análisis de la cadena de valor de la empresa, quizá por la inadecuada actuación sobre los empleados con el fin de incrementar su productividad.
- Es importante tener en cuenta la satisfacción de los empleados, derivada de las acciones de la empresa en favor de ellos. Dess y Lumpkin (2003) comentan que en el caso de Sears esa mejora de agrado aumentó en un 5%, lo que condujo a un incremento de 1,3% en la satisfacción de los clientes, lo que a su vez llevó a un 0,5% de crecimiento en sus ingresos, cifra esta muy importante si tenemos en cuenta el gran volumen de facturación de esa empresa.
- El viejo modelo gerencial de «arriba se piensa y abajo se actúa», mencionado por Senge (1990), ya no se utiliza, pues hoy la nueva gerencia requiere de actuación conjunta y simultánea de todo el personal.
- El capital intelectual del personal permite crear estrategias competitivas innovadoras difíciles de copiar, haciendo que las mismas perduren en el tiempo.
- Debemos estar conscientes de que cada día es más importante conocer cuáles son las cambiantes motivaciones de compra de los consumidores y de ahí la necesidad de pensar y actuar estratégicamente.

Antes de abordar directamente este tema, es conveniente y necesario continuar con el proceso analítico ofrecido, con el fin de facilitar la comprensión de los elementos conceptuales que influyen en todo proceso gerencial estratégico. Estos análisis, tanto internos de la empresa como de su entorno, deben realizarse de manera muy acuciosa, porque dependiendo de los resultados y de sus tendencias es que podremos planificar estratégicamente con un mayor porcentaje de éxito.

Análisis estratégico interno

Modelo FODA: Es una herramienta de análisis muy buena, sin lugar a dudas, pero, lamentablemente, no nos dice cómo obtener ventajas competitivas a futuro ante un entorno que está, querámoslo o no, en constante cambio y al ser el FODA un análisis estático no nos permite evaluar la dinámica del ambiente competitivo externo. Esto debe tomarse muy en cuenta pues la competencia entre empresas se realiza a través del binomio tiempo-cambio, el cual es variable y de ahí la necesidad de completar el análisis utilizando la investigación de la cadena de valor de la empresa, junto con sus recursos humanos, tecnológicos y de capital, además del tipo de estructura organizativa y de su cultura organizacional.

Como se sabe, el análisis FODA proporciona a la gerencia un conocimiento importante de cuáles son las fortalezas y debilidades de la empresa y de las amenazas y oportunidades que, en ese momento (y no a futuro), proporciona la competencia en el entorno a corto plazo en beneficio de la empresa (tablas I y II).

Toda fortaleza debe orientarse a obtener una ventaja competitiva permanente, a través de la innovación, en función del cambio de las preferencias de los consumidores y de los competidores.

El profesor Caro, de la Escuela de Educación de la UCV, conceptualiza con una inusual habilidad el significado de las diferentes fuerzas que intervienen en una empresa, que implican el pensamiento estratégico de lo que la gerencia debe tomar en cuenta ante las situaciones del mercado, en el sentido de su significado conceptual para facilitar la decisión. Este es el significado de su diagrama.

Tabla I

Prof. J. González Caro. 2006 - Escuela de Educación UCV.

		+		-		
		Fortalezas		Debilidades		
		Oportunidades	Estrategias FO	Estrategias DO		
+			Potencialidades	Desafíos		
		Amenazas	Estrategias FA	Estrategias DA		
-			Riesgos	Limitaciones		

• ANÁLISIS DE LA CADENA DE VALOR DE LA EMPRESA

Es un hecho reconocido, aunque quizá no muy utilizado, el que la dirección estratégica requiere realizar cada vez más cambios, pequeños y grandes, para hacerse y mantenerse más competitiva (Porter, 1996).

La evaluación de una empresa consiste en el análisis FODA pero, también, del estudio analítico retrospectivo, por tres o cinco años, de la cadena de valor, de su perspectiva en función de sus recursos, tales como capital intelectual de su personal, marcas, imagen (reconocimiento

Tabla II
Ejemplo de FODA

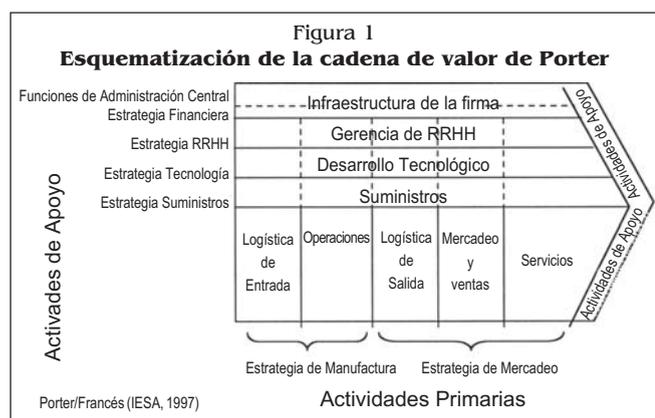
FODA	Fortalezas	Debilidades
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Compromiso con mejoramiento continuo y grupos de trabajo. 2. Organización flexible y dinámica. 3. Alta creatividad e innovación. 4. Buen clima organizacional. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Disponibilidad de equipos con tecnología no actualizada. 2. Rotación del personal de mercadeo. 3. Falta de productos nuevos. 4. Bajo entrenamiento del personal de base. 5. Comunicación insuficiente.
Oportunidades	Estrategias FO	Estrategias DO
<ol style="list-style-type: none"> 1. Manufactura y distribución a terceros. 2. Verificar el logro de los objetivos e incentivar el mayor uso del mejoramiento continuo. 3. Identificación de distribuidores en el exterior para exportación. 4. Desarrollo de nuevos productos. 5. Entrenamiento interno y externo. 6. Cambiar políticas de reclutamiento y selección. 	<p>02F1: Fortalecer los programas de mejoramiento continuo.</p> <p>03F2: Vender productos en el exterior gracias a nuestra organización flexible y dinámica.</p> <p>04F3: Desarrollar nuevos productos o manufacturar a terceros para lograr una posición más competitiva en el mercado.</p> <p>05F1: Implantar grupos naturales de trabajo basados en los principios, filosofía y objetivos del mejoramiento continuo para que los proyectos puedan realizarse en menor tiempo y de acuerdo con las necesidades de los clientes.</p>	<p>01D1: Rediseñar equipos para responder más productiva y competitivamente a las necesidades de nuestros clientes.</p> <p>01D1: Fabricación de productos de terceros, considerando la disponibilidad de nuestros equipos.</p> <p>06D2: Disminuir la rotación de personal a través de un mejor reclutamiento y selección del mismo, para evitar conflictos entre supervisores y supervisados.</p> <p>04D3: Iniciar la investigación y manufactura de nuevos productos con apoyo de la casa matriz.</p> <p>05D4: Implementar un eficiente programa de entrenamiento a todo el personal.</p>
Amenazas	Estrategias FA	Estrategia DA
<ol style="list-style-type: none"> 1. Alta tecnología de la competencia. 2. Inflación en el ámbito nacional e internacional. 3. Bajo nivel de educación. 4. Control de precios en las medicinas. 5. Alta inversión en publicidad y mercadeo de la competencia. 	<p>A1F3: Tomando como base la tecnología actual, optimizar el funcionamiento de los equipos, aprovechando la creatividad e innovación personal.</p> <p>A2F4: Seguir manteniendo los sueldos del personal acorde con sus mínimas necesidades considerando lo que paga la competencia, inflación y rendimiento.</p> <p>A3F4: Contratar el personal de base con un grado de instrucción mínimo de bachiller.</p> <p>A4F3: Para disminuir los tiempos de entrega de repuestos de máquinas, solicitar la fabricación local o en su defecto rediseñar en la máquina, ese componente interno.</p> <p>A5F1: Convencer a los médicos a que recelen nuestros productos y los farmacéuticos que los recomienden a través de excelente calidad de comunicación y servicio.</p>	<p>A1D1: Rediseñar o comprar equipos, considerando la alta tecnología existente a fin de poder competir con el mercado.</p> <p>A3D4: Desarrollar programas de entrenamiento para todo el personal, a fin de que tengan una mayor preparación en las actividades de la empresa.</p> <p>A1D5: Justificar ante el sindicato que la compra de un nuevo equipo sofisticado que implica el uso de menos gente, es para que la empresa pueda mejorar su productividad y subsistir en este competitivo mercado.</p> <p>A4D4: Identificar y reducir el desperdicio a través de la participación y entrenamiento del personal en los grupos naturales de trabajo, concientizando sobre los principios y objetivos del mejoramiento continuo.</p>

por terceros) y recursos financieros tanto a corto como a largo plazo. El valor de una organización se mide, también, por la capacidad y deseos de aprender de su gente, de mejorar, de innovar, crear y de cambiar a través del tiempo.

La cadena de valor como herramienta para focalizar las secuencias de actividades estratégicas generadoras de valor fue presentada por Porter (1985-1998), y con ejemplos prácticos Francés (1997) reproduce la esquematización de la cadena de valor de Porter (Figura 1).

En la figura 1 se pueden observar dos categorías diferentes de actividades: las actividades primarias y las de apoyo, que incluyen la estrategia de manufactura que contempla la logística de entrada y de operaciones (insumos, proveedores, control de procesos, aseguramiento de la calidad); de mercadeo, que engloba la logística de salida (almacenes, despacho, distribución, promoción de ventas, publicidad, competencia, ofertas, fuerza de ventas, política comercial-precios, descuentos-devoluciones-inventarios-ventas en consignación); y finalmente, servicios a terceros antes, en y después de la venta, tanto a empleados, proveedores, compradores y usuarios.

Las de apoyo agregan valor, tales como, infraestructura física de la empresa (como buena distribución); de la fábrica, desarrollo tecnológico, recursos humanos (desarrollo del capital intelectual), suministros y estructura interna de la organización, debiendo la gerencia ser flexible, tener política definida de sucesión ejecutiva, buena delegación de autoridad individual y por equipos de trabajo de alto desempeño y fuerte liderazgo transformacional y compartido, es decir, liderazgo de excelencia.



El cumplimiento de todas estas actividades para conseguir y mantener estrategias competitivas permanentes en el tiempo, requiere de la implantación de un modelo de filosofía gerencial que permita y estimule la simplificación de los procesos de trabajo en todas las áreas, con el fin de agregar valor constantemente, eliminando desperdicios (todo aquello que no agrega valor), con el fin de obtener la calidad del todo aumentando de esa manera el valor percibido por el consumidor y estimulando así la recompra. El valor no es sólo la relación entre calidad y precio, sino también la cantidad de beneficio percibido como buen servicio, rendimiento e innovación, y por lo que los compradores estarían dispuestos a pagar y que la empresa debe ofrecer siempre (Burgos, 2005).

Las ventajas competitivas se crean y mantienen en el tiempo sólo con el apoyo de todos los departamentos involucrados directa o indirectamente con las estrategias de las cuales derivan.

Dentro del análisis estratégico interno, el correspondiente a las finanzas resulta relevante, en especial cuando se analiza la parte financiera de la empresa, es decir, el Estado Financiero (Estado de Ganancias y Pérdidas y Balance General). Este análisis no sólo se debe hacer con las cifras del año en curso, sino de los 3 o 5 años anteriores, para así conocer la tendencia financiero-económica de la organización. Nuestra experiencia indica que hay gran cantidad de actividades que pueden desarrollarse para mejorar los resultados operativos y que es un error, que frecuentemente se comete, el analizar las operaciones de hoy y comenzar a crear estrategias a futuro sin conocer a fondo las tendencias del ayer.

Se pueden hacer numerosos análisis financieros, pero solamente se incluirán aquellos que permitan comparar los resultados año tras año, y preferiblemente con los promedios de la industria o comercio. A continuación ofrecemos algunos *ratios* financieros importantes, cuya utilidad dependerá de la decisión de la alta gerencia (Tabla III).

Análisis estratégico del entorno

Entorno general

El gerente estratega debe estar siempre pendiente de las implicaciones competitivas del ambiente externo y de los siempre cambiantes deseos del consumidor. Igualmente debe estar consciente de que lo que uno hacía ayer y tenía éxito, no tiene que ser necesariamente bueno hoy día, pues todo cambia y por ello uno tiene que modificar su manera de gerenciar. La vigilancia del entorno nos informa cómo van evolucionando las tendencias de los consumidores y por lo tanto de los competidores. Esto es una de las partes de la inteligencia de mercadeo y competitiva, que analiza, entre otras cosas, las tendencias de precios, publicidad, ofertas, financiamiento, descuentos, asociaciones estratégicas, motivaciones de compra, etcétera.

Desde el punto de vista de mercadeo, la agregación de valor utiliza el principio de *dreamketing* o mercadeo de los sueños que, para diferenciarse, las compañías deben interpretar y materializar los deseos más profundos de los consumidores, apelando a sus fantasías, aspiraciones e ideales, por lo que se trata de analizar las motivaciones que impulsan a comprar, tales como la imagen proyectada, los atributos del producto, el placer de la experimentación y en las justificaciones individuales (Buitoni, 2001).

Analizar el entorno y crear estrategias de futuro es realmente complejo, pues la empresa tiene poca capacidad para predecir la dirección de los eventos externos y menos aún el poder de controlarlos, no importando la capacidad de inferencia de los gerentes.

Tabla III
Ratios financieros y su significado

Ratio	Método de cálculo	Significado
Prueba del ácido	$\frac{\text{Activos corrientes} - \text{Inventarios}}{\text{Pasivos corrientes}}$	Mide la liquidez a corto plazo muy rígidamente. Es una medida de solvencia.
Liquidez	$\frac{\text{Dinero} + \text{Valores vendibles} + \text{Liquidez en operación}}{\text{Pasivos corrientes}}$	Mide liquidez a corto plazo y utilidades en operación.
Promedio de cobros	$\frac{\text{Cuentas x cobrar}}{\text{Ventas netas x mes}}$	Mide los días necesarios para convertir las cuentas x cobrar en dinero.
Rotación cuentas x cobrar	$\frac{\text{Ventas netas}}{\text{Cuentas x cobrar}}$	Mide los días necesarios para convertir las cuentas x cobrar en dinero.
Rotación de inventarios	$\frac{\text{Costo mercancía vendida}}{\text{Inventarios}}$	Mide la eficiencia de la planificación de inventarios en función de ventas. La rotación es en mes y no en días.
Días de rotación	$\frac{365 \text{ días}}{\text{Rotación}}$	Mide lo que las veces de rotación significan en días.
Deuda a largo plazo	$\frac{\text{Deuda a largo plazo}}{\text{Deuda a largo plazo} + \text{valor neto de los accionistas}}$	Mide cuánto la deuda a largo plazo es utilizada para financiamiento permanente.
Ratio de endeudamiento	$\frac{\text{Exigible total}}{\text{Activo Total}}$	Mide la capacidad de pago en función de la deuda.
Ratio Beneficio neto	$\frac{\text{Utilidad operativa}}{\text{Ventas netas}}$	Mide el margen de beneficio neto sobre la renta neta.
Ratio Rentabilidad del activo	$\frac{\text{Beneficio neto}}{\text{Activo Total}}$	Mide el retorno sobre activos empleados (ROAE).
Ratio Retorno s/inversión	$\frac{\text{Utilidades netas}}{\text{Activos Totales}}$	Mide el retorno sobre la inversión (ROI).
Ratio de Valor de mercado	$\frac{\text{Precio de la acción}}{\text{x número de acciones}}$	Mide la percepción del mercado sobre la solidez de la empresa.
Ratio de valor contable	$\frac{\text{Activos circulantes} + \text{pasivos financieros} + \text{costos e ingresos histórico (tanto del pasado como de lo que pudiera ser un futuro)}}{\text{Número de acciones}}$	Mide el capital neto propio dividido entre el número de acciones en el mercado.

Con el fin de conocer mejor el entorno general, Dess y Lumpkin (2003) lo dividen en las siguientes áreas o segmentos:

– Área Demográfica

Edad de la población, niveles de riqueza, distribución

geográfica de la población, disparidades en el nivel de ingresos, etcétera.

– Área Sociocultural

Mujeres en el mercado laboral, trabajadores temporales (buhoneros), preocupación por calidad de vida,

por la salud y la cultura, preocupación por el medio ambiente, servicios del Estado, sentido de familia, etcétera.

– Área Político/legal

Libertad de expresión, política salarial, leyes penales, leyes sanitarias, impuestos, salarios mínimos, seguridad jurídica y personal, libertad sindical, etcétera.

– Área Tecnológica

Incentivos para desarrollo de nuevas tecnologías, estímulo a la innovación y creatividad, uso intensivo de nuevas tecnologías de la información o del conocimiento (TIC'S), mejoras en telecomunicaciones, uso intensivo de Internet, intranet, websites, etcétera.

– Área Económica

Tasas de interés, libertad cambiaria y de inversión, desempleo, trabajadores informales, control de precios, inflación, tendencia del PIB, de la deuda interna y externa, devaluaciones, seguridad social y sanitaria, de jubilación, de vivienda, control de importaciones, estímulo a la inversión privada, mercado financiero, liquidez (M1 y M2), acuerdos comerciales entre bloques, Pacto Andino, Mercosur, exportaciones, importaciones, etcétera.

– Área Global

Internacionalización, regionalización, internet, facilidades para la globalización o asociaciones económicas o culturales con otros países, como Aladi, Mercosur, Países Andinos, etcétera.

Entorno competitivo

No nos dejemos sorprender por el futuro. Aún estamos a tiempo para emprender el camino de la actividad creadora, ya que tenemos que competir en un entorno dinámico de negocios. Las empresas competitivas deben definir las expectativas de sus clientes en lo que significa el nuevo concepto de calidad-productividad-competitividad y mejorar sus costos para evitar que los precios de los competidores reduzcan nuestras utilidades. Esto es rivalidad y requiere capacidad estratégica de mercadeo, tiempo, talento y nueva tecnología a través de colocar o poner barreras de entrada derivadas de la agregación de valor. Ante la demoledora velocidad del cambio, la innovación hace que anticipemos el futuro, y este proceso se acelera tanto por la participación de los empleados como por la flexibilidad de las operaciones y capacidad estratégica de la gerencia.

La información sobre el entorno competitivo y su análisis e interpretaciones se hace cada vez más crítica por la rivalidad, globalización e hipercompetencia. De

ahí la necesidad de mantener un equipo estratégico en funciones permanentes y utilizar, a nuestro juicio, el modelo competitivo conocido como «Las cinco fuerzas de Porter». Estas cinco fuerzas competitivas básicas, descritas por Porter (1985), son las siguientes:

1. La amenaza de nuevos entrantes
2. El poder de negociación de los consumidores
3. El poder de negociación de los proveedores
4. La amenaza de productos y servicios sustitutivos
5. La intensidad de la rivalidad entre competidores de un sector.

Todas estas fuerzas, conjuntamente con las barreras de entrada y salida, mencionadas también por Porter, son las que determinan la competencia y obligan a la gerencia a ser realmente estratégica. El análisis y acción apropiada sobre cada una de ellas es lo que determina el éxito de una empresa.

Las barreras antes mencionadas, de acuerdo con Porter (1997), son las siguientes:

Barreras de salida

	Bajas	Altas
Barreras de Bajas	Retorno bajo y estable	Retorno bajo y riesgoso
Entradas Altas	Retorno alto y estable	Retorno alto y riesgoso

Barreras de entrada

- Economías de escala
- Diferenciación de productos
- Identificación de marca
- Costos de cambio
- Acceso a canales de distribución
- Requerimiento de capital
- Acceso a tecnología de vanguardia
- Experticia y curva de aprendizaje
- Regulaciones de los gobiernos

Barreras de salida

- Costos en el momento de salir
- Interrelaciones estratégicas con otros negocios
- Barreras emocionales
- Restricciones sociales y gubernamentales
- Especialización en activos

Cuando en un país existen muy pocas barreras de entrada, tales como productos que tienen poca competitividad, acceso fácil a materias primas, subsidios del gobierno, financiamiento sencillo, la amenaza de nuevos entrantes es más fuerte.

Las barreras mencionadas por Porter se refieren básicamente al entorno; sin embargo, existen barreras internas que dificultan la implantación de las estrategias,

siendo éstas según Beer y Eisenstat (2000), las siguientes: estructura, sistemas, procesos de gestión, política de recursos humanos, estrategias confusas, prioridades contradictorias, equipo directivo ineficaz e ineficiente, autocracia, comunicación vertical confusa, coordinación deficiente de funciones e insuficiente liderazgo.

Todos los análisis del entorno deberían tener los siguientes objetivos estratégicos:

- Predecir cambios presentes o futuros
- Identificar las fortalezas y debilidades de los competidores, con el fin de evitar sorpresas con antelación de lo que los rivales pueden hacer, es decir, actuar *ex ante* y no *ex post*
- Analizar contingencias
- Idear los posibles escenarios para ser más creativos ante el cambio
- Planificar la necesidad de recursos y la forma cómo obtenerlos
- Creación de un departamento de inteligencia de mercado/empresa

Es importante recalcar que, en líneas generales, para que un recurso sea valioso para la empresa debe proporcionarle la posibilidad de obtener ventajas competitivas sostenibles que, según Barney (1987), serían las siguientes:

Valioso	Difícil de imitar
Poco común	Difícil de reemplazar

Análisis Balanceado de la Productividad general

Si bien es cierto que los indicadores financieros son muy importantes, no menos importantes son los operacionales que mencionábamos en el análisis de la cadena de valor de la empresa.

Kaplan y Norton (1992-2005), cofundadores del modelo Análisis Balanceado de la Productividad General (*Balanced Scorecard*), recomiendan el uso de este conjunto de mediciones pues proporciona a la alta gerencia y gerencia media una rápida e integral visión de las operaciones y una mejor toma de decisiones.

Este análisis balanceado –que utiliza indicadores guía de resultados– nos lleva a posicionarnos mejor a través de nuestro propio crecimiento, con el fin de dominar un escenario proyectado haciendo uso de estrategias competitivas que se mantengan en el tiempo trabajando, por supuesto, con equipos de alto desempeño en todos los niveles de la organización.

En líneas generales este análisis incluye indicadores financieros, clientes, accionistas, comunidad (*stakeholders*), procesos internos y actividades de la empresa.

Kaplan y Norton (2005) explican que este modelo permite a los altos ejecutivos el análisis desde cuatro importantes perspectivas, tales como:

1. ¿Cómo nos ven los clientes? (nuevos productos, entregas a tiempo, no falla de productos, imagen de marca, etc.)
2. ¿En qué debemos ser los mejores? (tiempo de ciclo, costo unitario, rendimiento en manufactura, etc.)
3. ¿Podemos seguir mejorando y creando valor? (innovación, desarrollo de personal, ser más competitivos, etc.)
4. ¿Cómo nos vemos ante los accionistas? (flujo de caja, rendimiento sobre la inversión, sobre los activos, sobre el valor neto de la empresa *net equity*, mayor penetración en el mercado, etc.)

Como se puede observar, este modelo de análisis permite una rápida visión de conjunto y facilita la toma de decisiones.

Filosofía empresarial

Difícilmente puede planificarse estratégicamente si la empresa no ha creado una filosofía empresarial de qué es y a dónde quiere llegar. Si bien es cierto que la definición de esta filosofía no es tema fácil, se puede establecer con la ayuda de todo el personal bajo la dirección de la gerencia general/junta directiva.

La filosofía empresarial no se resume a definir la misión y visión, sino que debe incluir una serie de elementos conceptuales que permitan obtener la visión partiendo de la misión. Así, vemos este conjunto estratégico de la siguiente manera (Burgos, 2003).

MISIÓN

Exposición relativamente breve de las actividades a las que se dedica la empresa y que debe contestar a la pregunta de en qué negocio o actividad está y la razón del mismo, es decir, es el objetivo básico de la organización que describe una realidad que perdura en el tiempo. La declaración de la misión debe contemplar el concepto de la organización, la naturaleza del negocio, el porqué de su existencia y el mercado al cual sirve.

VALORES

Son reglas de conducta bajo las cuales debe operar una organización, y que tienen connotación ética y moral (honestidad, calidad, ética, etc.).

PRINCIPIOS

Son parte de la cultura organizacional y son fundamentos bajo los cuales una empresa basa sus relaciones internas y externas, y tienen connotación y normas de conducta económicas y sociales (responsabilidad social, calidad de los procesos, rivalidad, etc.)

OBJETIVOS ESTRATÉGICOS

Son propósitos a futuro que tienen por objeto la obtención de la visión, que pueden cambiar cuando la visión también se modifique, teniendo en cuenta cambios importantes tanto en el entorno, como dentro de la organización.

ALTERNATIVAS ESTRATÉGICAS

Son caminos de acción o patrón o guía o modelo, que haciendo uso del razonamiento intelectual y de la intuición, integran los principales objetivos estratégicos y políticas para poder lograr la visión.

VISIÓN

Percepción imaginaria acompañada de pensamiento estratégico de en dónde debe estar o qué debe ser una empresa/organización en un período de tiempo a largo plazo (5 a 10 años) y con alto valor agregado.

La visión es una creación a futuro con confianza y compromiso para con uno mismo y para con la empresa. No olvidemos que queremos ser, podemos ser y seremos los mejores... si cumplimos años tras año con la visión.

Cultura Organizacional

Dentro del análisis interno de la cadena de valor consideraremos aspectos de la cultura organizacional, pues la misma juega un papel muy importante en todo el proceso estratégico, ya que una cultura organizacional que no se encuentre en línea con los movimientos o nuevas exigencias del mercado dificultaría, o quizá haría imposible, la implantación exitosa de las estrategias.

La cultura organizacional es el conjunto de normas, hábitos y valores que practican los individuos de una organización, y que hacen de ésta su forma de comportamiento y que tiene influencias poderosas sobre cómo la gente actúa y vive. Igualmente, debe producir satisfacción, sentido de compromiso y de pertenencia, calidad y utilidades, pues es la conjunción de creencias, valores, normas o signos de comportamiento tangibles e intangibles.

La cultura organizacional debe estar orientada a la excelencia, para obtener la calidad del todo a través del servicio, calidad intelectual, equipos de trabajo e

innovación y creatividad; a la ética, como adhesión a la honestidad, integridad y transparencia; al compromiso compartido, a través de ayuda a los empleados, lealtad y compensación; a la competitividad, bajo normas de responsabilidad empresarial y de calidad gerencial y mejora de la imagen de la empresa; y todo ello, haciendo uso de la masa crítica humana que labora en la empresa.

Cultura Social

Hay empresas que tienen un tejido social tan complejo que es difícil de copiar por los competidores. Por ejemplo, es difícil de imitar las relaciones interpersonales entre los empleados y particularmente entre los ejecutivos, sus relaciones con proveedores, gremios y clientes, la cultura organizacional, la preocupación sincera de la gerencia ante problemas importantes para el personal, situaciones de familia, etcétera. Esta cultura social es, en la práctica, muy difícil de imitar y de ella nacen las ideas innovadoras y creativas que generan estrategias competitivas permanentes.

Análisis de escenarios

Se entiende como escenarios, los ambientes supuestos generados por la gerencia. La creación de los mismos tiene por objeto identificar las tendencias básicas e incertidumbres que ayuden a compensar los normales errores en la toma de decisiones, exceso de confianza y visión de túnel. Como el futuro no es predecible, sí podría ser anticipado a través de escenarios, pues son vehículos que ayudan a la gerencia a adelantar la posible aparición de situaciones más o menos lógicas o totalmente ilógicas con relación al mercado, competidores, regulaciones, proveedores, clientes, u otros.

Los escenarios son herramientas que permiten generar y evaluar opciones estratégicas, pues simplifican la avalancha de información ante un número limitado de posibles decisiones estratégicas. En los escenarios se pueden combinar diferentes variables a la vez, y mantener otras constantes con el fin de capturar los nuevos estados de la naturaleza que se pueden producir con las desviaciones de importantes variables.

Si se toma como ejemplo las alternativas estratégicas que habría que analizar si se desea mejorar el crecimiento de la empresa, las posibilidades de crecimiento estarían en función de si se desea invertir para crecer y qué tipo de inversión sería la mejor o si, por el contrario, se desea crecer interiormente a través, por ejemplo, de innovaciones competitivas en costos y nuevos productos.

La pregunta que cabría es, qué tipo de escenarios se deben analizar para tomar la decisión. A nuestro juicio, y de acuerdo con los modelos para el desarrollo

de escenarios de Mintzberg (1994) y Zabriskie y Huellmantel (1991), el análisis de escenarios sería el siguiente:

- **Económicos**

La inflación, devaluación, control de cambios, estancamiento, fondo de pensiones, inversiones racionales tanto oficiales como privadas, inversiones internacionales, nivel de pobreza, nivel de buhonerismo, deuda interna y externa, privatización, liquidez, inflación, déficit fiscal, inseguridad jurídica, patentes, disponibilidad de complementos, posibilidades de exportación/infraestructura, asociaciones estratégicas, barreras de entrada y de salida, globalización, hipercompetencia, etcétera.

- **Políticos**

Actitud del nuevo Congreso/Asamblea, garantía a inversiones nacionales e internacionales, cumplimiento de tratados, centralización del poder, moratoria de deuda externa, fondo de reserva macroeconómica, no privatización, protección de la propiedad privada.

- **Sociales**

Nivel de empleo, tendencia de salarios, fortaleza de los sindicatos, ingreso per cápita, ley de seguridad social, nivel de pobreza general y de pobreza crítica, crecimiento de la población, calidad de la educación, analfabetismo funcional, trastornos sociales, insatisfacción popular, etcétera.

- **Ambientales**

Sentido de prevención, capacidad de respuesta, capacidad financiera ante desastres, recursos humanos, nivel tecnológico, orientación a la gente/cliente, distribución, proveedores, comercialización, control de recursos no renovables, regulaciones sanitarias, etcétera.

Formulación de estrategias

El objetivo básico de la generación y formulación de estrategias es que deseamos superar a uno o varios competidores, teniendo en cuenta que nuestros adversarios están pensando hacer lo mismo con nosotros. La gerencia y las empresas tienen que utilizar buenas estrategias competitivas en el tiempo para poder mantenerse en el mercado y triunfar.

Conceptos estratégicos

Teniendo en cuenta el objetivo básico de la generación de estrategias, el concepto estratégico es que, de una forma u otra, toda estrategia debe ser competitiva en el tiempo y por ello requiere de un plan derivado del razonamiento intelectual y del uso de la intuición, orien-

tado a la obtención de la visión o metas y a la asignación de recursos financieros y humanos con el fin de competir exitosamente en el mercado. La estrategia debe dirigir el comportamiento general de la organización. Por ello, la estrategia competitiva debe mantenerse en el tiempo y tiene que contemplar la empresa y su mercado, el entorno y los supuestos deseos o necesidades de la gerencia.

La estrategia competitiva analiza la forma en la cual una organización puede competir de la manera más exitosa en el mercado, permitiendo a la organización responder eficazmente a las amenazas y oportunidades generadas por los competidores.

El concepto de estrategia requiere, además de visión estratégica, de una agresiva competitividad de crecimiento bien definida, ambiciosa y mejor comunicada, teniendo en cuenta el servicio al cliente (interno y externo), y al mercado y sus relaciones a largo plazo, pues una buena estrategia tiene por función transmitir ideas, ilusiones y soluciones.

Las decisiones estratégicas deben contemplar producto, precio, oportunidad de mercado y ofrecer valor a los clientes.

El proceso de innovación-decisión involucra: conocimiento (calidad intelectual), persuasión (liderazgo), decisión (delegación), implantación (ejecución) y confirmación (evaluación).

La innovación en valor consiste en suministrar valor absolutamente nuevo y superior al comprador, lo que abre la puerta a nuevos mercados, y redefinir los problemas a detectar y explotar en forma masiva las oportunidades encontradas, colocando al comprador en el centro del pensamiento estratégico y no en la competencia y/o imitación, lo cual empuja a los gerentes a pensar más estratégicamente.

La innovación en términos estratégicos incluye, además de tecnologías, métodos nuevos o manera de hacer las cosas que a veces parecen bastante comunes y pueden manifestarse en el diseño de un producto nuevo, de un nuevo empaque, de un novedoso sistema de administración de un medicamento, en un proceso de producción, en la manera de definir nichos en el mercado, etcétera.

La cultura de la organización y su estructura empresarial deben promover el servicio al cliente, basados en el conocimiento del consumidor y sus motivaciones de compra y del mercado, aprovechando al máximo las oportunidades de interactuar con ellos, y fomentar las relaciones a largo plazo.

La ventaja competitiva sólo se sostiene con un mejoramiento incesante, requiriéndose implantar estrategias de enfoque local, regional, nacional e internacional, teniendo que estar presentes fortalezas internas tales como

capacidad de innovación y creación, gente con talento (capital intelectual) y sentido de compromiso y de pertenencia, equipos de trabajo de alto desempeño, buen ambiente, entrenamiento, liderazgo y recursos financieros, al igual que oportunidades derivadas del mercado (barreras de entrada y salida).

La dirección estratégica persigue la detección precoz de los cambios para ofrecer soluciones, siendo su instrumento la planificación estratégica, que conjuga los recursos internos con las circunstancias del entorno y simula posibles escenarios y probables impactos de las nuevas estrategias. Es cierto que no existe «el mejor» modelo de planificación estratégica, pues lo que cuenta es la calidad del análisis de ambiente interno y del entorno y la capacidad de inferencia de los gerentes.

Además de la visión estratégica, se requiere de una agresiva estrategia de crecimiento bien definida, ambiciosa y mejor comunicada, teniendo en cuenta el servicio al cliente (interno y externo) y al mercado y sus relaciones a largo plazo, pues una buena estrategia tiene por función transmitir ideas, ilusiones y soluciones. Las decisiones estratégicas deben contemplar producto, precio, oportunidad de mercado y ofrecer valor percibido a los clientes.

El proceso de innovación-decisión involucra: conocimiento (calidad intelectual), persuasión (liderazgo), decisión (delegación), implantación (ejecución) y confirmación (evaluación).

La innovación en valor consiste en suministrar valor absolutamente nuevo y superior al comprador, lo que abre la puerta a nuevos mercados y a redefinir los problemas a detectar y explotar en forma masiva las oportunidades encontradas, colocando al comprador en el centro del pensamiento estratégico y no en la competencia y/o imitación, lo cual empuja a los gerentes a pensar más estratégicamente.

La innovación en términos estratégicos incluye, además de tecnología, métodos nuevos o manera de hacer las cosas que a veces parecen bastante comunes y pueden manifestarse en el diseño de un producto nuevo, de un nuevo empaque, de un novedoso sistema de administración de un medicamento, en un proceso de producción, en la manera de definir nichos en el mercado.

En la cultura de la organización su estructura empresarial debe promover el servicio al cliente basado en el conocimiento del consumidor y sus motivaciones de compra y del mercado, aprovechando al máximo las oportunidades de interactuar con ellos y fomentar las relaciones a largo plazo.

La ventaja competitiva sólo se sostiene con un mejoramiento incesante requiriéndose implantar estrategias de enfoque local, regional, nacional e internacional, teniendo que estar presentes fortalezas internas, tales como,

capacidad de innovación y creación, gente con talento (capital intelectual) y sentido de compromiso y de pertenencia, equipo de trabajo de alto desempeño, buen ambiente, entrenamiento, liderazgo y recursos financieros, al igual que oportunidades derivadas del mercado (barreras de entrada y salida).

La dirección estratégica persigue la detección precoz de los cambios para ofrecer soluciones, siendo su instrumento la planificación estratégica que conjuga los recursos internos con las circunstancias del entorno y simula posibles escenarios y probables impactos de las nuevas estrategias. Es cierto que no existe «el mejor» modelo de planificación estratégica pues lo que cuenta es la calidad de análisis del ambiente interno y del entorno y la capacidad de inferencia de los gerentes.

La estrategia es el camino que conduce a la diferenciación y la gerencia debe crear una posición única que la diferencie de los consumidores, debiendo ser innovadora permanentemente para poder obtener su ventaja competitiva, es decir, rentabilidad sostenida y alta en comparación con sus rivales, y lograr un crecimiento sostenido; en síntesis, es crear algo de valor único. Sin embargo, debe tenerse presente que cuando se trata de competir en todos los mercados no hay estrategia, y que la misma debe tener límites, que son la esencia de una buena estrategia para crecer en rentabilidad de un modo sostenido.

Formulación

Tomando en cuenta las oportunidades, amenazas y nuestras fortalezas y debilidades, deben formularse las estrategias. Las siguientes experiencias pudieran ser aplicables, teniendo en cuenta las grandes preguntas, tales como; qué hacemos y para quién lo hacemos, qué objetivos deseamos obtener, cómo vamos a gerenciar las actividades de la organización para obtener los objetivos y metas deseados. Las respuestas estarían dentro de los conceptos siguientes: satisfacer consistentemente a nuestros clientes internos y externos, mejorar / innovar los procesos, definir la capacidad financiera y de ventas (plan de presupuesto, planes operativos y plan estratégico).

En cuanto a la formulación propiamente dicha, la misma debe contemplar:

1. Establecer metas claras a futuro.
2. Desarrollar estrategias, tácticas y planes de acción a largo, mediano y corto plazo, planificando de adelante hacia atrás.
3. Definir estrategia base y las políticas que permitan implantarla para obtener los fines deseados (por ejemplo: crecer 20% anual en utilidades a valor presente del dinero por los próximos tres años).

4. Crear una nueva cultura para la organización, utilizando, por ejemplo, la filosofía de mejoramiento continuo. Esta cultura genera calidad de vida en el trabajo y mayor productividad y rentabilidad.
5. Crear una estructura organizacional flexible que satisfaga, rápidamente, las necesidades del cliente interno y externo.

Componentes de una declaración de estrategia

Esquemáticamente podríamos representarlos de la siguiente manera:

1. Metas
2. Ámbito (local, nacional, regional, internacional, segmentos del mercado)
3. Aplicación de recursos
4. Competencias distintivas (componentes estratégicos: línea reducida / precios elevados, capacidad financiera, tecnología de punta, cartera de productos, etc.)
5. Ventajas competitivas (valor)
6. Sinergia que se busca
7. Cómo se alcanzarán los objetivos
8. Definición de políticas necesarias (financiera, mercadeo, tecnología de manufactura, instalaciones y equipos («State of the art»)).
9. Asignación de recursos
10. Ser precisa y describirla en términos funcionales
11. Confirmación (evaluación)

Tipos de estrategias

Las decisiones estratégicas deben contemplar: producto, precio, oportunidad de mercado y ofrecer valor a los clientes, pues la apreciación estratégica es mucho más que la diferenciación de producto: es innovación constante, ya que la ventaja competitiva nace fundamentalmente del mejoramiento de la innovación en valor y del cambio.

El núcleo de la innovación en valor es una capacidad para concebir estrategias generales de nuevas riquezas, a través de la economía del conocimiento y del pensamiento estratégico.

El éxito del siglo XXI estará enmarcado en la jerarquía de la experiencia y la fuerza de la innovación en la creación de nuevas estrategias que son el camino que conduce a la diferenciación, y la gerencia debe crear una posición única que la diferencie ante los consumidores, debiendo ser innovadora permanentemente para mante-

ner sus ventajas competitivas, que le permita obtener rentabilidad y crecimiento sostenido.

Existe una gran variación de clasificación de estrategias y nosotros hemos creído conveniente clasificarlas teniendo en cuenta tanto su función como su importancia en los negocios. Así, las agrupamos en estrategias en tiempo, corporativas, genéricas, operacionales, competitivas y de diversificación.

Estrategias en tiempo

En cuanto a las estrategias en tiempo, tenemos aquellas que son a corto plazo o básicas, las cuales deben estar orientadas a generar más valor agregado para poder utilizarlo en las estrategias a largo plazo que puedan producir más ventas, mayor ROI, para que permitan diseñar aquellas a largo plazo con nuevos productos, más innovación en valor, entrar en fusiones o asociaciones estratégicas. Por supuesto que la estrategia permanente debe ser concebida como alerta al cambio, identificación de nuevas oportunidades, generar el cambio y fuerte liderazgo, desarrollo del capital intelectual, mercadeo agresivo, etcétera.

Estrategias corporativas

Las corporativas tienen que ver con la estrategia directiva que responde a las estratégicas genéricas de Porter. Son consideradas la base del buen pensamiento estratégico, aplicables a cualquier tipo de empresa de bienes y/o servicios. Porter (1985) las clasifica en tres áreas: la del liderazgo en costos, la de diferenciación, y la de enfoque o alta segmentación.

La de liderazgo en costos se basa en reducir costos en toda la cadena de valor, pues esta actitud es la que proporciona alcance estratégico y ventaja competitiva. Para ello se requiere manufactura eficaz y eficientemente (hacer correctamente las cosas correctas) sin desperdicios, pues ello aumenta los costos y no genera valor; fuerte control de costos y gastos; aprovechar los avances tecnológicos para incrementar la productividad. Con todo ello se puede lograr una elevada elasticidad de la demanda, al reducir el precio para el consumidor, cuando la misma depende mucho del precio. Al aumentar la demanda el costo de producción baja por mayores volúmenes de manufactura.

Cuando dos o más compiten en estrategia de costos, no basta con bajar los precios al consumidor –pues todos pueden hacerlo– sino ofrecer otros atributos o características como, por ejemplo, diversos tamaños de empaque más fáciles de utilizar y almacenar o guardar en las casas, mejorar la presencia visual de los envases-empaques, tener un buen despacho, distribución e innovación.

El liderazgo en diferenciación se construye cuando se crean productos o servicios únicos, basados en atributos o peculiaridades que sean percibidos como únicos por el consumidor, baja tasa de defectos, alta calidad del todo, rápido servicio al cliente/ consumidor, no fallas del producto, buena imagen de la empresa, buena o excelente relación con clientes y proveedores, buena publicidad, velocidad de entrega, uso de tecnología que favorezca los procesos, etcétera.

La estrategia de enfoque o de alta segmentación se caracteriza por precios elevados y selección de nichos de mercado; busca distinguirse en un mercado objetivo de elevado nivel económico y explota las necesidades especiales del consumidor que quiere distinguirse del promedio.

El éxito empresarial es atribuible a su enfoque estratégico, al énfasis en las actividades clave de la cadena de valor de la compañía y a la combinación de ventajas competitivas, como puede ser la de costos y diferenciación fundamentalmente, pues crea una fuerte barrera de entrada a sus rivales.

Estrategias operativas

Dentro de este grupo podríamos resumir las siguientes como las más importantes:

Estrategias de negocios. Son las que definen la misión y establecen programas para alcanzar los objetivos estratégicos y visión como estrategias de mercadeo, que están enfocadas a satisfacer las cambiantes necesidades de los consumidores para mantener la satisfacción permanente de los mismos y, además, crearles nuevas necesidades, analizando sus motivaciones para estimular la demanda y recompra; las de manufactura de productos, de fabricación a terceros y garantía de calidad; de comercialización y distribución, caracterizadas por selección de canales de distribución, servicio a los clientes, inteligencia de mercadeo, control de inventarios en los clientes, etcétera; de tecnología, que incluyen habilidades, y equipos necesarios para ser competitivos a lo largo de toda la cadena de valor, etcétera, de recursos humanos, fuertemente orientada al desarrollo intelectual del personal, asociado con compensación económica, social y el establecimiento de una política de sucesión ejecutiva y desarrollo de liderazgo; de finanzas, como área funcional muy centralizada en la asignación de recursos, equilibrio del portafolio de negocios, tomando la organización como un todo en cuanto al desempeño económico (ROI, ROA, ROE, etc.)

Estrategias competitivas

Las del enfoque al cliente, que se manifiestan por tener inventarios bajos (Kanban) cortos tiempos de espera, rápida capacidad de respuesta, menores tiempos de

ciclo, etcétera. Las estrategias de marca, sumamente importantes para generar reconocimiento y asociación de calidad percibida en la mente del consumidor, y lealtad.

Las estrategias de disuasión, tienen como fin evitar o atenuar la magnitud de los conflictos con los competidores a través de fuertes campañas publicitarias, asociaciones estratégicas, particularmente a través de alianzas, etcétera.

Las de ataque frontal están destinadas a eliminar o debilitar a la competencia, ofreciendo productos similares con algún atributo especial, «robo» de talentos, u otros.

Las defensivas, que nacen como respuesta a ataques de los competidores, como guerra de precios, «morochos», «tripochos», etcétera.

Las estrategias de posicionamiento, orientadas a identificar y obtener que una característica o atributo especial sea percibido como una ventaja competitiva que responde a las necesidades, siempre cambiantes, de un mercado objetivo seleccionado.

Las estrategias de promoción y publicidad, que son un importante elemento de la mezcla de mercadeo que tiene una organización para informar, persuadir y recordar al usuario de la existencia de un producto (bien o servicio) con el fin de influir en sus sentimientos, pensamientos, creencias y comportamientos emocionales.

Estrategias de Diversificación

Podemos mencionar las orientadas a fusiones, adquisiciones, asociaciones estratégicas (alianzas y *joint ventures* o capitales de riesgo), de desarrollo interno, que sólo son justificables si agregan valor a los accionistas, particularmente diversificando las inversiones en áreas que sean tecnológica y comercialmente iguales o similares a las de la empresa compradora; fabricación y distribución a terceros; apalancamiento de competencias centrales en la cadena de valor, para crear más valor a través de sinergias pues todo esto reduce costos y aumenta las utilidades; conceder licencias de uso de marcas como por ejemplo, permitir el uso de la marca Mercedes Benz en camisas, zapatos deportivos o bicicletas, etcétera.

También se podría crear un fondo común de capital entre varias personas u organizaciones para hacer nuevas inversiones que se administrarían por un tiempo como empresas que pudieran ser vendidas a terceros en un tiempo prudencial.

Al encarar inversiones de riesgo hay que concentrarse en las siguientes áreas: estructura, estrategia de cartera de negocios, proceso de control del desarrollo de un nuevo impedimento, capital intelectual, asociaciones estratégicas, mercados externos, generación de valor y maximización de utilidades. No cabe duda de que en todo tipo de negocios, las nuevas tecnologías han favorecido el resultado de las inversiones. Sin embargo, según Porter (2001), la utilización de Internet, Intranet,

websites, u otros medios, por todos los competidores es normal, aun cuando su uso no es una panacea ya que pueden dificultar el mantenimiento de las estrategias competitivas, pudiendo perderse la lealtad de marca (Parker, 2001).

Para terminar, deseamos hacer la siguiente reflexión: no pensemos que la nueva economía, caracterizada por las nuevas tecnologías y el cambio permanente, nos permitirá seguir dirigiendo nuestras operaciones como

en el pasado. Tenemos que convencernos de que estamos dentro de un mercado cada vez más competitivo y por ello debemos generar una clara definición del cómo posicionar nuestra empresa de manera futurista, con estrategias que sean competitivas en el tiempo, orientadas siempre a satisfacer al cliente. De lo contrario, sería como tratar de abrir un agujero en el agua.

A continuación se ofrece un modelo resumido de planificación estratégica.

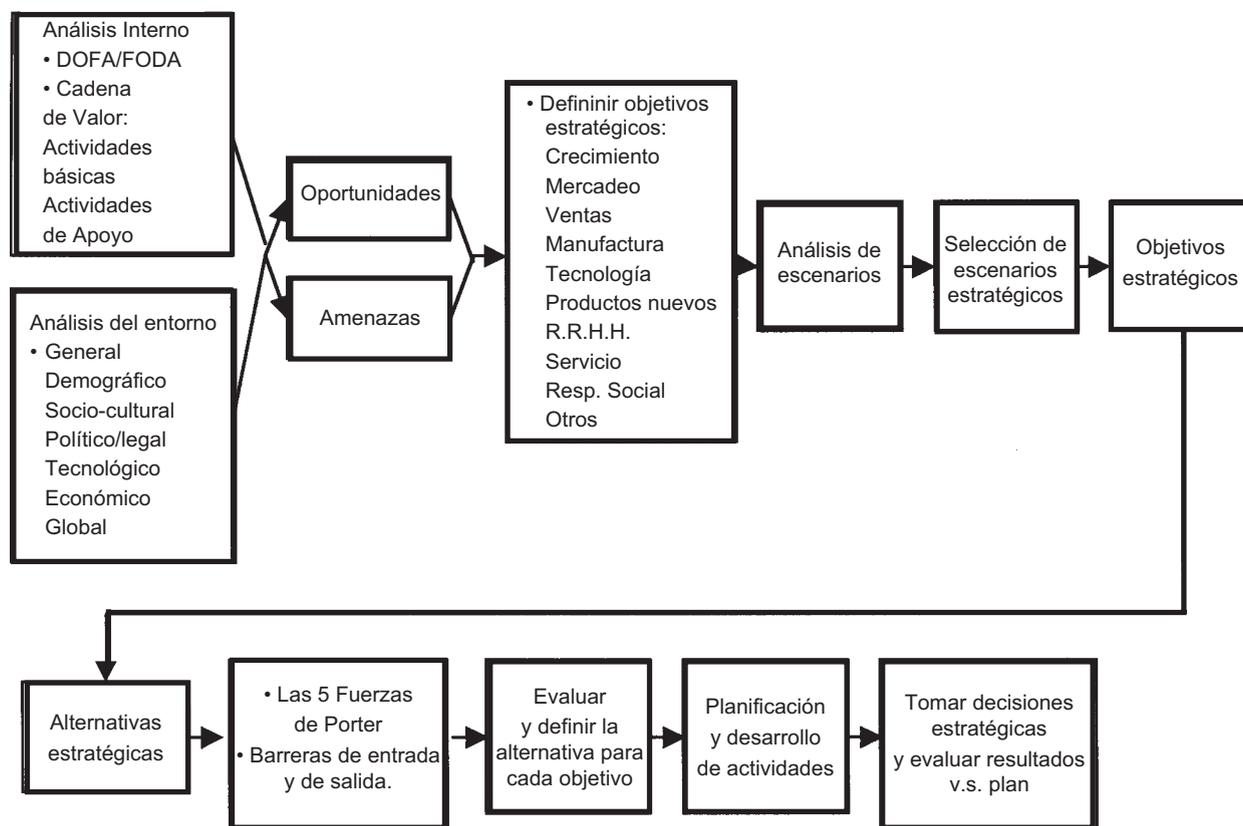


Figura 4

Modelo propuesto de Planificación Estratégica

Referencias bibliográficas

BARNEY J. (1997). Firm Resources and Sustained Competition Advantage. *Journal of Management*. N.Y.

BUITONI GL. (2001). Fábrica de Ilusiones. *Gestión*, abril- mayo, p. 39, Caracas.

BURGOS I. (2005). *Técnicas Gerenciales. Pensamiento Estratégico*. Postgrado Facultad de Farmacia, UCV, Caracas.

BURGOS I. (2003). *Filosofía empresarial y cultura organizacional. Temas para pensar*, Facultad de Farmacia, UCV, Caracas.

BEER M Y RUSSELL AE. (2000). The silent killers of Strategy Implementation and Learning. *Sloan Management Review*, Vol 41, N° 4, Massachussets.

DESS G Y LUMPKIN GT. (2003). *Dirección Estratégica. Creando ventajas competitivas*. McGraw-Hill / Interamericana de España, S.A.U., Madrid.

FRANCÉS A. (1997). *Notas de Estudio para la Gerencia Estratégica*. IESA, Caracas.

KAPLAN R y DAVID PN. (2005). El Balanced Scorecard. Mediciones que impulsan el desempeño. *Harvard Business Review America Latina*, julio 2005, pp. 102-110, Chile.

MINTZBERG H. (1994). The Fall and Rise of Strategic Planning. *Harvard Business Review*, 72(1): 107-114.

PARKER M. (2001). Strategy and the Internet. *Harvard Business Review*, March.

PORTER ME. (1985). *Competitive Advantage: Creating and Sustaining Superior Performance*. New York: The Free Press.

PORTER ME. (1996). What is strategy? *Harvard Business Review*. 61-68.

SENGE PM. (1990). The leader's New Work: Building learning organizations. *Sloan Management Review*, 32: 10-13.

ZABRISKIE N Y HUELLMANTEL A. (1991). Developing Strategic Thinking in Senior Management. *Long Range Planning Review*, Vol. 24 (6).

Recibido: 23 de febrero de 2007
Aceptado: 30 de marzo de 2007

Actualización de Normas de Estabilidad de Productos Farmacéuticos

ARACELIS ORTEGA *

Resumen

Se presenta la actualización de las Normas de Estabilidad de Productos Farmacéuticos en Venezuela. Para ello, se definen los criterios de estabilidad, los distintos periodos de validez y los factores que lo afectan, así como las categorías de los distintos tipos de estudios de estabilidad. Finalmente se indican los requisitos del Protocolo de Estabilidad.

Palabras clave: Estabilidad, validez, estudios.

Summary

It is presented the actualization of the Norms of Pharmaceutical Product Stability in Venezuela. To do so, it is defined the stability criteria, the different validity periods and the factors affecting them, as well as the different category of stability studies. Finally, there are indicated the Stability Protocol requirements.

Key words: Stability, validity, studies.

Recuento histórico

A fines de la década de los años 80 cada país tenía sus propias normas sobre estabilidad, había poco entendimiento sobre los criterios de evaluación y fijación de periodos de validez a los productos farmacéuticos; no estaban bien definidos los términos y conceptos; no había claridad en lo que se debía entender por condiciones de temperatura ambiente en las diferentes regiones del planeta. Se puede decir que era casi imposible entenderse entre autoridades de diferentes países en esta materia, dado que las exigencias de unos no concordaban con las exigencias de los otros. Algunos autores habían hecho intentos de crear criterios prácticos y científicos para el diseño de estudios de estabilidad que reflejaran las realidades sobre la estabilidad y vida útil de los productos. Así encontramos que Hynes (1971), propuso el cálculo de una temperatura cinética media que simulara las variantes naturales de una curva real

de tiempo-temperatura y sirviera como isoterma de almacenamiento para los estudios de estabilidad a largo plazo; Fuscher y Schumaker (1972) propusieron la clasificación del mundo en 4 zonas climáticas y Grimm (1986) publicó un trabajo extraordinario con los resultados de una investigación global sobre las condiciones climáticas reales de estas zonas. Grimm (1986) calcula las temperaturas cinéticas medias y las presiones barométricas (humedad relativa) para cada zona climática. En 1989, los países desarrollados ven la necesidad de armonizar criterios para la presentación de los recaudos para registro de los productos farmacéuticos. Se crea, entonces, la (International Committee of Harmonization) ICH con la concurrencia de los países de la Unión Europea, Estados Unidos de América y Japón (asiste Canadá como miembro observador). La ICH propicia la constitución de comisiones de especialistas en las distintas áreas. En 1993, la ICH publica la Guía Tripartita *Stability Testing for New Drugs and Products*. Este hecho es el comienzo de una especie de armonización mundial; la mayoría de los países elaboraron sus nuevas guías

* Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela

de exigencia, o se adscribieron a los criterios definidos y postulados en la Guía Tripartita de la ICH. A partir de 1995, la ICH crea un sistema de codificación para los documentos y continúa publicando documentos complementarios en materia de estabilidad en los años subsiguientes.

Las guías que han publicado la ICH en materia de estabilidad hasta el presente, se mencionan por orden cronológico a continuación:

- 1993: Guía Tripartita: *Ensayos de Estabilidad para nuevas drogas y nuevos productos* (Documento Q1A).
- 1995. Documento Q1B. *Fotoestabilidad*.
- 1996: Documento Q1C. *Evaluación de estabilidad de nuevas formas farmacéuticas*.
- 2002: Documento Q1D: *Diseños en extremos y en matrices (abreviaciones)*.
- 2003: Documento Q1E. *Evaluación de la data de estabilidad*.
- 2003: Documento Q1F: *Paquete de estabilidad para registro en las zonas climáticas III y IV*.
- 2003: Documento Q1A. R2: *Segunda revisión de la Guía para estabilidad de nuevas drogas y nuevos productos*.

Normas venezolanas

Los recaudos de estabilidad exigidos por las autoridades sanitarias venezolanas para la solicitud de asignación del período de validez y para cambios posregistro, se encuentran descritos en la Normas de la Junta Revisora de Productos Farmacéuticos, Capítulo IX, pp. 91-101, Ed. 1995, Revisión 1998. Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel.

Posteriormente, la Junta Revisora publicó una circular especial para añadir a estas normas la aceptación de los recaudos de estabilidad efectuados de acuerdo con el Documento Q1F de la ICH.

Definiciones y criterios

Las normas actuales de Estabilidad en el ámbito mundial, se fundamentan en los criterios que se exponen a continuación:

DEFINICIÓN DE ESTABILIDAD

Estabilidad es la capacidad que tiene una sustancia o un producto para conservar dentro de ciertos parámetros especificados y por un tiempo determinado, su identidad, potencia, calidad y pureza.

COMPONENTES DE LA ESTABILIDAD DE UN PRODUCTO FARMACÉUTICO

De acuerdo con la farmacopea de los EE.UU. de América (USP), la estabilidad integral de un producto farmacéutico se define como la capacidad que éste tiene para retener, dentro de ciertos límites especificados, y durante un tiempo de almacenamiento (período de vida útil), las mismas propiedades y características que posee en el momento de la fabricación, siempre que se haya almacenado de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta.

Formalmente la USP reconoce cinco (5) componentes a la estabilidad integral de un producto, según se expresan a continuación, junto con los criterios de aceptación:

Estabilidad química: El principio activo retiene su integridad química y su potencia dentro de los límites establecidos (al final de la vida útil, el producto conserva como mínimo el 90% de la cantidad rotulada de principio activo).

Estabilidad física: Las propiedades físicas originales (aparición, palatabilidad, uniformidad, pH, disolución y redispersabilidad) se conservan inalteradas hasta el fin de la vida útil.

Estabilidad microbiológica: La esterilidad o resistencia al crecimiento microbiano se mantiene de acuerdo con los requerimientos exigidos, según el tipo de producto. Los agentes antimicrobianos presentes conservan su efectividad dentro de los límites especificados.

Estabilidad toxicológica: No hay aumento significativo en la toxicidad durante el tiempo de almacenamiento. Los productos de descomposición del principio activo –potencialmente tóxicos– se mantienen dentro de los límites especificados.

Estabilidad terapéutica: La efectividad clínica se conserva inalterada hasta el fin de la vida útil. Esta cualidad se sustenta en la estabilidad de las propiedades físicas, químicas y microbiológicas del producto.

Período de validez

Es el tiempo asignado por la autoridad sanitaria, durante el cual se garantiza que el producto dentro de su envase comercial y almacenado según las instrucciones del rótulo, conserva dentro de los límites establecidos sus especificaciones químicas, físicas y microbiológicas.

Distintos períodos de validez

La autoridad sanitaria asigna el período de validez a un producto sometido a registro, de acuerdo con la calidad y extensión de los recaudos presentados para la sustentación del período de validez propuesto. Así puede asignar un período de validez tentativo, comprobado o definitivo.

Período de validez tentativo es un período provisional, sujeto a comprobación, cuya duración es de máximo dos años. Se basa en datos de estabilidad acelerada y natural obtenidos por un estudio a corto plazo; y está condicionado a la comprobación posterior, con datos obtenidos en estudios a largo plazo, realizados en las condiciones naturales de almacenamiento especificadas para la zona climática correspondiente.

Período de validez comprobado es un tiempo basado en estudios de estabilidad natural a largo plazo, realizados hasta por el lapso solicitado. El Período de Validez comprobado puede ser extendido si se presentan datos de estabilidad natural que avalen dicha extensión.

Período de validez definitivo es aquel que se fija fundamentado en datos de estudios de estabilidad natural a largo plazo, que demuestran la estabilidad hasta el tiempo solicitado y que no puede ser extendido. El lapso máximo aceptado para este período de validez es de cinco años.

Dependencia del período de validez

El período de validez de un producto, otorgado por la autoridad sanitaria con base en estudios de estabilidad bien diseñados, está directamente relacionado con la **composición cuali-cuantitativa** (formulación) del producto, el **sistema envase-cierre** (envase primario) y **las condiciones de almacenamiento especificadas**. Cualquier cambio posregistro en cualquiera de estas tres condiciones puede alterar el período de validez, por lo que éste requiere recomprobación. Otra condición posregistro que requiere comprobación del período de validez es el cambio de fabricante o lugar de la manufactura.

Zonas climáticas

La clasificación del mundo en cuatro (4) zonas climáticas propuesta por Fuscher y Schumaker (1972), con las condiciones de temperatura y humedad investigadas y establecidas por Grimm (1986), es la siguiente:

ZONA I: CLIMA TEMPLADO Y FRÍO ($21^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $45\% \pm 5\%$ H.R.)

ZONA II: CLIMA SUBTROPICAL, MEDITERRÁNEO ($25^{\circ} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $60\% \pm 5\%$ H.R.)

ZONA III: CLIMA CÁLIDO Y SECO, DESIERTOS ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $35\% \pm 5\%$ H.R.)

ZONA IV: CLIMA CÁLIDO Y HÚMEDO, TROPICAL ($30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ / $70\% \pm 5\%$ H.R.)

Recientemente, algunos países asiáticos y Brasil han considerado que en sus países hay regiones cálidas ex-

tremadamente húmedas, por lo que han manifestado ante la OMS que desean incluir un margen de humedad más amplio que los postulados por la ICH, para la evaluación de la estabilidad de los productos medicinales que se han de comercializar en su región. Como consecuencia han propuesto, y algunos ya lo han adoptado en sus propias guías de estabilidad, una nueva condición para los estudios a largo plazo definida en: $30^{\circ}\text{C}/75\%$ HR (Anvisa: Normas de Estabilidad de Brasil, junio 2005).

Requerimientos mínimos para la solicitud de período de validez en Venezuela, Ecuador, Colombia, Perú, República Dominicana y países de Centroamérica

Para solicitar un período de validez tentativo de 2 años, presentar en conjunto:

- Estudio de estabilidad natural para zona tropical (zona IV) efectuado a $30^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con $70\% \pm 5\%$ de humedad relativa. Datos mínimos de seis meses para Venezuela, con evaluaciones a los tiempos cero, tres y seis meses.
- Estudio de Estabilidad Acelerada a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ con $75\% \pm 5\%$ de humedad relativa. Datos mínimos de 6 meses con evaluaciones a los tiempos cero, tres y seis meses.

Cuando se dispone de estudio de estabilidad para zona tropical, con datos suficientes, que cubran un mínimo de 24 meses, no se requiere presentación de estudio acelerado sino sólo para las formas sólidas.

Para solicitar un período de validez de más de dos años, o para extender el período aprobado, se deben presentar estudios de estabilidad para la zona tropical que cubran hasta el tiempo del período solicitado. Ej.: 36, 48 ó 60 meses. Las evaluaciones en los estudios a largo plazo deben ser efectuadas cada tres meses durante el primer año, cada seis meses durante el segundo año y cada año sucesivo.

Categorías de Estudios de Estabilidad

Según el documento Q1A.R2 de la ICH, «El propósito de los estudios de estabilidad es mostrar evidencias sobre cómo la calidad de una droga (sustancia pura) o de un producto, varía con el tiempo bajo la influencia de factores ambientales, tales como temperatura, humedad y luz y que permiten recomendar condiciones de almacenamiento, períodos de re-análisis y establecer tiempos de vida útil».

Se reconocen tres categorías de estudios de estabilidad:

Estudios de estabilidad de estrés

Consiste en exposiciones por un corto tiempo a condiciones muy exageradas de luz (fotoestabilidad), temperatura (50°C, 60°C, 80°C), o humedad superior a 75%. Se aplican básicamente a la evaluación de las sustancias puras (principios activos), con el objeto de evaluar la estabilidad intrínseca de una molécula, permitiendo establecer los mecanismos y rutas de descomposición, identificar posibles productos de descomposición y validar el poder de un método analítico para discriminar entre la sustancia intacta y sus productos de descomposición. Rara vez se aplica el estudio de estrés a productos; cuando se hace, tiene finalidades específicas de averiguación sobre ciertas particularidades como por ejemplo el funcionamiento de una válvula dosificadora.

Estudio de estabilidad formal

Este término se refiere al conjunto de evaluaciones que se hacen para sustentar la fijación, extensión y comprobación del período de validez. El estudio formal de la estabilidad comprende evaluaciones a corto plazo en condiciones aceleradas y a largo plazo en ambiente de almacenamiento natural.

1. Estudio de estabilidad acelerado (corto plazo):

consiste en la exposición a condiciones de temperatura y humedad moderadamente elevadas, con el objeto de acelerar la rata o velocidad de la descomposición química, o de cambios físicos, como parte de los estudios formales de la estabilidad de una sustancia o de un producto. Los datos recabados mediante el estudio de estabilidad acelerado, adicionados a los estudios efectuados en condiciones normales de almacenamiento, pueden ser usados para estimar el período de validez o los efectos de exposiciones por corto tiempo a condiciones fuera de las indicadas en las etiquetas, que pudieran ocurrir durante el transporte. Los resultados de los estudios de estabilidad acelerados no son siempre predictivos de los cambios físicos que puedan ocurrir a la preparación en condiciones normales de almacenamiento. Las condiciones para la exposición en el estudio acelerado son, de acuerdo con lo establecido por la ICH, temperatura de 40°C ± 2°C y humedad relativa de 75% ± 5%.

2. Estudio de estabilidad natural (largo plazo, tiempo real): evaluación de la estabilidad química, física y microbiológica del producto envasado y almacenado en condiciones de temperatura y humedad normales o naturales del mercado (zona climática correspondiente), que cubren el tiempo esperado como vida útil del producto o el tiempo requerido para el reanálisis de una sustancia pura. Los estudios a largo plazo per-

miten la fijación del **período de reanálisis** para los principios activos en materias primas y el **período de validez comprobado o definitivo** para los productos.

Período de reanálisis es el tiempo durante el cual se estima que una sustancia (materia prima), que ha sido adecuadamente almacenada, permanece dentro de las especificaciones y en consecuencia es aceptable para su uso en la manufactura de productos. Se define como fecha de re-análisis, a aquella fecha anotada en el rótulo, en la cual se debe hacer un muestreo del material para re-examinar y evaluar si sigue siendo adecuado para el uso.

3. Productos almacenados bajo refrigeración

Se requieren estudios de estabilidad a largo plazo, realizados en las condiciones de almacenamiento recomendadas para el producto. Para productos de almacenamiento bajo refrigeración entre 2°C y 8°C, el estudio de estabilidad a largo plazo debe realizarse a 5°C ± 3°C (según lo recomienda el documento Q1A.R2 de la ICH) hasta por el tiempo asignado para el período de validez. Los estudios de estabilidad acelerados para este tipo de productos deben realizarse a una temperatura de al menos 15°C por encima de la temperatura promedio recomendada para el almacenamiento (Ej.: 25°C ± 2°C).

Requisitos del Protocolo de Estabilidad

- Evaluación de tres lotes: declarar para cada lote la fecha de elaboración del lote y el tamaño del lote evaluado.
- Declaración de las especificaciones físicas, químicas y microbiológicas del producto (rangos de aceptación).
- Descripción o declaración de la referencia de los métodos analíticos usados para la medición de cada parámetro a evaluar, principalmente para la concentración del principio activo y la disolución.
- Descripción del envase primario y la tapa de las muestras evaluadas.
- Las formas sólidas deben obligatoriamente presentar evaluación de estabilidad de la disolución.

Contenido del Reporte de Estabilidad

Nombre del producto, número de lote, tamaño del lote, descripción del envase primario, especificaciones de los parámetros evaluados, métodos analíticos y las tablas de resultados con la fecha de los análisis y los valores o resultados obtenidos para los parámetros físicos, químicos y microbiológicos evaluados. Presentar en hoja aparte un resumen o discusión de los resultados, el período de validez solicitado y las condiciones de

almacenamiento recomendadas para el producto. Esta hoja resumen debe estar firmada en original por el responsable del estudio.

Fecha de expiración

Es la fecha impresa en etiquetas y estuches de cada lote del producto, hasta la cual el lote puede ser consumido con seguridad. Esta fecha es calculada a partir de la fecha de elaboración y fijada de acuerdo con el período de validez asignado por la autoridad sanitaria. Se estima que a la fecha de expiración, todo producto debe retener intacta no menos del 90% de la cantidad rotulada de principio activo, las propiedades físicas se mantienen dentro de las especificaciones mínimas establecidas, la calidad microbiológica del producto se conserva inalterada, los agentes preservativos mantienen su capacidad antimicrobiana dentro de los límites mínimos y los productos de degradación se encuentran presentes en cantidad no mayor de los límites superiores establecidos como aceptables. Usualmente, para indicar la fecha de expiración, se imprime en etiquetas y estuches el mes y el año. Se entiende que el producto puede

ser consumido hasta el último día del mes impreso en los rótulos como fecha de expiración. Después de vencida la fecha de expiración el producto no debe ser consumido, por razones de seguridad.

Referencias bibliográficas

- HYNES JD. (1971). *J Pharm Sc.* 60:927-929.
- GRIMM W. (1895-1986). *Drugs Made Germany* 28: 196-2020. (Part I). *Drugs Made Germany* 29:39-47 (Part II) .
- GRIMM W. (1998). *Drug Development & Industrial Pharmacy* 24: 313-325.
- Documento Q1A R2. (2003). ICH. Guidelines.
- Documento Q1F (2003). ICH. Guidelines.
- Normas de la Junta Revisora de Productos Farmacéuticos* Cap IX, Ed. 1995. Revisión 1998. Instituto Nacional de Higiene «Rafael Rangel».
- Norma de Estabilidad Centroamérica.* Armonizada. 2005.
- Norma de Estabilidad de Brasil.* Anvisa. Junio 2005.
- USP 29 (2006). General Information: (1150) *Pharmaceuticals Stability.*
- USP 29 (2006). General Information: (1191) *Stability Considerations in Dispensing Practices*, p. 3029. www.ich.org . Guidelines. Octubre 2006.

Recibido: 25 de noviembre de 2006
Aceptado: 15 de febrero de 2007

Caracterización de la posición competitiva actual de dos laboratorios farmacéuticos nacionales

CARMEN CHIRINOS* Y EVA ROMEO**

Resumen

Estudio piloto para la caracterización de la posición competitiva actual de dos laboratorios farmacéuticos nacionales, desde el punto de vista científico y tecnológico, mediante el análisis de la evolución tecnológica de dos medicamentos, utilizando como metodología la patentometría, indicadores de actividad y relacionales de segunda generación. Los resultados indican, en una primera aproximación, poca cultura de vigilancia tecnológica y poca capacidad innovativa en los laboratorios.

Palabras clave: Laboratorios farmacéuticos, Evolución tecnológica, patentometría, medicamentos.

Abstract

Characterization of the competitiveness of two national pharmaceutical industries, from the technological and scientific point of view, through the analysis of the technological evolution of two drugs, using the patents' indicators and the tools facilitating the collection, processing and analysis of data, are explained. The results indicate a poor technological surveillance and poor innovative capacity of the companies.

Key words: Pharmaceutical laboratories; Technological evolution, patent indicators, patentometry, medicine.

Introducción

El eje teórico conceptual del presente trabajo es el uso de la información contenida en los documentos de las patentes como fuente de información científica y tecnológica para sustentar la gestión de la innovación en la industria farmacéutica nacional (IFN).

La oferta de medicamentos en el mercado venezolano esta conformada por la importación de más del 50% de la demanda local de productos terminados y por medicamentos de fabricación nacional, fundamentalmente con materia prima importada, que constituyen reproducciones de fórmulas (en algunos casos con pequeñas modificaciones) de la industria transnacional que realiza investigación y desarrollo (I&D).

Pero esta práctica de imitar las fórmulas, aun de los productos patentados se hacía legalmente, basados en el hecho de que la Ley de Propiedad Industrial del país, vigente desde 1956, excluye expresamente el patenta-

miento de los fármacos, pero esta práctica queda invalidada a partir del año 1999 con la entrada en vigencia de la Decisión 313 y luego la 486 de la Comunidad Andina de Naciones (CAN) y actualmente por la Organización Mundial de Comercio (OMC) y su acuerdo sobre los Asuntos de Derechos de Propiedad Intelectual relacionados con el Comercio (Adpic), que regulan entre otros aspectos, lo relativo a las patentes de los fármacos (Chirinos, 2002).

Esta situación pone en riesgo el acceso de la población al medicamento, porque el patentamiento de los fármacos eleva considerablemente su precio, al otorgarle al dueño un monopolio de explotación del producto por un período no inferior a veinte años, lapso en el cual su fórmula no puede ser copiada en las condiciones que se realizaba anteriormente, es decir, sin la autorización del titular si la patente del producto en cuestión fuera objeto de derechos de patente en el territorio nacional y con ello el pago de una licencia.

* Farmacéutica, profesora Titular Facultad de Farmacia de la UCV
Correo: carmenchirinos@cantv.net

** Farmacéutica Msc. Oficina Cubana de Propiedad Intelectual OCPI
Cátedra de Química General, Departamento de Química, Servicio Autónomo de Propiedad Intelectual (SAPI) CDCH - UCV.

Además, las transnacionales del medicamento intentan por todos los medios alargar el período del monopolio de comercialización de los fármacos, impidiendo de esta manera que entren a competir los medicamentos genéricos, que abaratan sensiblemente los precios; ejemplo de esta práctica de las transnacionales lo constituyen los acuerdos propuestos en el marco de los Tratados de Libre Comercio (TLC), como el ALCA (Área de Libre Comercio de las Américas), que son tratados bi y plurilaterales, cada vez más restrictivos, que incluyen los *Adpic plus*, mediante el cual se han acentuado las limitaciones ya establecidas por la OMC a través de los *Adpic*.

Con los *Adpic plus* se le ha impuesto a los países que entran al tratado, entre otros aspectos, el aumento de la duración del monopolio de las patentes por retardos en el registro, la limitación en el uso de las licencias obligatorias, por la imposibilidad de usar los datos de prueba, ya que estos últimos quedan sometidos a una norma de la ley de Estados Unidos, que contempla la imposibilidad de su uso por un período inamovible de cinco años, durante el cual ninguna empresa o laboratorio puede acceder a esa información. Todo ello significa menos posibilidades para el desarrollo de la industria nacional farmacéutica.

Ahora bien, tomando en consideración que los medicamentos constituyen una materia de seguridad nacional, que deben ser accesibles de manera oportuna a toda la población que los requiera, y que deben responder a criterios de seguridad, de eficacia terapéutica y de calidad, es necesario que el Estado, como garante de la salud de la población, cuente con una industria farmacéutica nacional lo suficientemente fuerte, que le otorgue la seguridad farmacoterapéutica necesaria y para ello debe establecerse una relación de corresponsabilidad entre el Estado y el sector privado dedicado a la producción de fármacos, que redunde en beneficios para la población.

Dentro de los aspectos a considerar está el acceso a la información científica y tecnológica confiable que permita a los laboratorios sustentar la gestión de la innovación de los medicamentos; por lo tanto, necesita de una nueva estrategia de desarrollo basada en la vigilancia de estos factores y para ello requiere de la pesquisa de la evolución de su entorno competitivo, basándose en el análisis de esa información y así producir medicamentos idóneos, sin violación de los derechos exclusivos de comercialización, que satisfagan la demanda nacional, le den la seguridad farmacoterapéutica requerida por el Estado venezolano y que inclusive fortalezcan su capacidad de exportación.

Las empresas utilizan diferentes medios para adquirir y mantener un conocimiento conveniente del entorno tecnológico en el que se desempeñan; ellos son, entre

otros, la literatura profesional especializada y científica, visitas a exposiciones y participación en congresos, las tesis académicas, entrevistas con profesionales afines, adquisición de tecnología, la reproducción mediante la ingeniería inversa y la información contenida en las descripciones de los documentos de patentes, que de acuerdo a lo señalado por la Oficina Española de Patentes y Marcas (OEPM), constituye el acervo de información tecnológica más rico que actualmente existe a nivel mundial; por otra parte, estudios realizados por la Oficina de Patentes y Marcas de los Estados Unidos, determinaron que un 70% de ella no es publicada en ningún otro medio de divulgación (OEPM).

Las técnicas y métodos utilizados, tanto por el sector público como por el privado, en los países industrializados para la obtención de información, conforman una cultura de pesquisa de estar atento al entorno de circulación del conocimiento en redes y su uso en la toma de decisiones; para ello invierten en infraestructura y capacitación de personal, para poder llevar a cabo un ciclo virtuoso de la información que comprende la obtención de datos, su análisis y transformación en un producto estratégico y su difusión para la toma de decisiones. Es decir, hacer vigilancia tecnológica.

Así por ejemplo, Palop y Vicente (1999) señalan que existen diferentes modelos de vigilancia tecnológica, entre ellos el francés, que está constituido por una comisión nacional intersectorial con empresas dentro de los planes indicativos, que sientan el estado del arte y proponen medidas; la Agencia-Observatorio Tecnológico Nacional, que difunde oportunidades, *best practices* y formas de ayudas de la Agencia Nacional de Valorización de la Investigación (ANVAR); agregados tecnológicos en red mundial de oficinas comerciales. El modelo de EE.UU., que consiste en la oferta masiva de información tecnológica desde agencias federales (US Dep. Commerce, la CIA) a partir de su fuerte posición en la frontera tecnológica y competitiva y de su peso en la industria de la producción de información.

El modelo sueco se basa, entre otras estrategias, en conferencias que reúnen a los grandes grupos industriales y organizan debates sobre el sistema nacional de inteligencia y acciones de colaboración; y el modelo japonés, que responde a las peculiaridades de su sistema económico Ministry of International Trade and Industry (MITI), centro coordinador e impulsor, grandes agencias nacionales que difunden información a distintos niveles, y otras como Jetro y Sogoshosha, que son privadas y captan información de todo el mundo. Los autores acotan que todos los modelos utilizan la información contenida en las patentes como una de las principales fuentes informativas.

De manera que, aunque las patentes por sí solas no desencadenan el proceso tecnológico, buena parte de

la información que soporta la cultura de información de los países desarrollados es obtenida a partir del seguimiento y análisis de estos documentos, que se supone son unos 42 millones de escritos publicados en el mundo, en todas las áreas de la técnica y que cada año se le suma aproximadamente un millón más (OMPI, 2005); también del seguimiento de los avances del estado del arte de la técnica y en particular de la tecnología y de las oportunidades y amenazas que generan para el mercado. A esto se suma la información que se genera en los certificados y los modelos de utilidad.

No obstante el amplio uso que le dan muchas de las empresas, principalmente de países desarrollados, de acuerdo con los datos reportados por la OEPM el seguimiento de dicha información no es tan elevado, como cabe esperar, ya que las pérdidas en I+D son valoradas en más de veinte mil millones de euros anuales, debido a la duplicidad de investigaciones.

La patente es un título expedido por las autoridades públicas de un país, que le confiere a su titular un monopolio temporal de explotación de la invención siempre que la revele, suministre una descripción suficientemente clara y completa de ella y cumpla con tres requisitos: novedad, altura inventiva y aplicación industrial.

Puede ser de invención, que es la otorgada por un período de veinte años a un inventor que desarrolla un producto o un procedimiento en cualquier campo tecnológico (CAN D-486 Art. 14), o de modelo de utilidad, que es aquella conferida por unos diez años a un inventor que desarrolla una nueva forma, configuración o disposición de elementos de algún artefacto, herramienta, instrumento, mecanismo, etcétera, que permita un mejor o diferente funcionamiento que anteriormente no poseía (CAN D-486 Art. 81). El derecho adquirido para ambas es de carácter territorial, razón por la cual su extensión a diferentes países debe ser solicitada expresamente en cada territorio.

Dentro de los aspectos que pueden ser consultados en estos documentos, está la información que puede ser empleada en la solución de una dificultad técnica determinada, para conocer el estado de la técnica o para determinar el grado de avance en una determinada área tecnológica –antes de iniciar una investigación sobre determinado tópico–, el nivel de actividad en cuanto a solicitudes de patentes se refiere, la identidad de otras empresas que trabajan en el área, en el seguimiento de las actividades de investigación de los competidores para justificar o confirmar la oportunidad de ciertas inversiones en una determinada tecnología, la evolución tecnológica de un determinado producto, la tendencia innovativa mundial en determinadas áreas.

Estos documentos están clasificados en un sistema jerárquico común (Clasificación Internacional de Patentes,

CIP), sujeto a permanente revisión y que al permitir su ordenación, facilita la recuperación y el acceso a la información, y se encuentran accesibles al público en forma gratuita, en bases de datos automatizadas (OMPI, 2005). Por otra parte, se ha desarrollado una metodología para el procesamiento de esta información, la patentometría, considerada como una rama de la bibliometría, que funciona a través de la utilización de diferentes tipos de indicadores (Narin, 1985, 1992, 1995) que pueden ser asociados a software convertidores de formatos y a sistemas de gestión de bases de datos documentales, entre otros sistemas.

Estructura del documento de patente

Los documentos de patentes están constituidos por:

- a) la solicitud de la patente, que es el presentado por el solicitante en la oficina de patentes y que generalmente se publica a los 18 meses de la fecha de la solicitud;
- b) la descripción de la invención, que brinda todo un análisis del estado de la técnica, en qué consiste la nueva solución propuesta y cuáles son las ventajas que se obtienen;
- c) el informe sobre el estado de la técnica, que es redactado por los examinadores de las oficinas de patentes y contiene citas de otros documentos, ya de otras patentes o de literatura. La estructura de las solicitudes es similar a nivel mundial, consta de una página de portada, un fascículo de patente, una o varias reivindicaciones y dibujos, si procede.

La página de portada contiene el título de la invención, la fecha de presentación, la fecha de prioridad, el debido ámbito técnico, el nombre y la dirección del o los solicitante(s) y del inventor o inventores, un resumen que expone sucintamente la invención, dibujos e información bibliográfica, que es de gran utilidad para la identificación, localización y recuperación de los documentos de patentes.

En el fascículo aparece descrita la invención reivindicada y la información técnica adecuadamente detallada, de tal forma que una persona competente en la materia pueda reconstruir y reproducirla sin necesidad de desarrollar nuevos esfuerzos inventivos. Por lo general los países solicitan que en el fascículo se incluyan el título de la invención, los antecedentes, un resumen, descripción breve de los dibujos y una descripción detallada de la invención. Con relación a las reivindicaciones, éstas determinan si es o no patentable el objeto en cuestión y el alcance de la protección de la invención a reivindicar. Cabe destacar que cuando se presentan litigios sobre una patente, a lo primero que se recurre es a la interpretación de las reivindicaciones, para así determinar si la patente es o no válida y si ha habido infracción (OMPI, 2005).

La información contenida en un documento de patente va precedida de un código (Internationally Agreed Number for the Identification of Data), que está regulado de acuerdo con la norma de la OMPI. Vale destacar que existen otras clasificaciones de patentes, como por ejemplo la USPOC (US Patent Office Classification) de la Oficina Norteamericana y la de la Oficina Europea de Patentes. Sin embargo, incluyen en su descripción bibliográfica la CIP. El uso de la CIP sola o combinada con palabras claves, permite la recuperación de los documentos que pertenecen a un área tecnológica tan concreta como se quiera, de entre un volumen de información.

La CIP está dividida en 8 secciones, 20 subsecciones, 118 clases, 618 subclases y más de 58 mil grupos y subgrupos, con unas 70 mil subdivisiones, cada una de las cuales se identifica con un símbolo, que son utilizados por las oficinas de patentes a nivel internacional en los documentos de patentes, como son las solicitudes publicadas y las patentes concedidas. Actualmente se publica más de un millón de documentos cada año que incluyen los símbolos de la CIP (OEPM). Las ocho secciones son las siguientes:

- A. Necesidades corrientes de la vida.
- B. Técnicas industriales diversas; transportes.
- C. Química; metalurgia.
- D. Textiles; papel.
- E. Construcciones fijas.
- F. Mecánica; iluminación; calefacción; armamento; voladura.
- G. Física.
- H. Electricidad.

Bases de datos de patentes

Las bases de datos automatizadas de patentes son herramientas que permiten en corto tiempo acceder a la información contenida en estos documentos. Se pueden clasificar *grosso modo* en: CD-ROM, bases de datos en línea y bases de datos comerciales. Los CD-ROM tiene el inconveniente de la rápida obsolescencia, por lo que no son convenientes para aplicaciones estadísticas. Las bases de datos en línea son elaboradas por oficinas nacionales de patentes y puestas a disposición del público de manera gratuita, y las comerciales son aquellas utilizadas por empresas privadas tales como Derwent, Dialog, STN, Questel Orbit, Micropatent y WIPS, que ofrecen información ampliada o con valor agregado de acuerdo con las necesidades de los clientes (OMPI, 2005, Guzmán, 1999).

Las bases de datos incluyen información que se puede diferenciar por su presentación, su contenido y por las técnicas de recuperación. De acuerdo con su presenta-

ción pueden ser clasificadas en: a) bases de datos bibliográficas, que son aquellas que comprenden los datos que identifican al documento –título de la patente, clasificación internacional, datos de prioridad, referencias entre otra información– y el resumen, que en la mayoría de los casos son tan completos que satisfacen las necesidades del investigador, evitándole así la necesidad de recurrir al documento original; y b) bases de datos de texto completo.

Según su contenido pueden ser: a) especializadas (en información tecnológica, en jurisprudencia y vida legal, en clasificaciones de patentes y en análisis de tendencias de sectores tecnológicos); y b) genéricas, que ofrecen información de varias disciplinas o de varias disciplinas de diferentes fuentes, por ejemplo CAS (Chemical Abstracts), que comprende no sólo artículos científicos sino también patentes, dispuestos en aproximadamente ochenta familias. Esta base de datos trabaja con mil doscientas revistas de especialidades químicas, y es empleada en el estudio de familias de patentes por la facilidad que proporciona su índice para la localización de estas patentes. Por otra parte, posee el llamado Patent Index, que informa sobre la familia de patentes.

Y según las técnicas de recuperación, las bases de datos pueden ser estándar si se emplea software de recuperación aplicable a cualquier base de datos de tipo documental y especializadas, que son aquellas que requieren de técnicas especiales de recuperación, como por ejemplo, a partir de símbolos químicos.

Otra base de datos importante es LIFE SCIENCE, que contiene información de aproximadamente tres mil quinientas revistas científicas, libros, artículos científicos, actas de conferencias científicas y de patentes sobre biomedicina, microbiología, bioquímica, genética, inmunología, toxicología.

Los distribuidores o *host*, ofrecen acceso a muchas bases de datos en Internet, como por ejemplo a Claims/US Patents, Trade and Industry Index y World Patents Index, entre otras. En la Tabla I se resumen los *host* de mayor renombre a nivel mundial y en la Tabla II se muestran algunas de las bases de datos de mayor preferencia por los investigadores, de acuerdo con la especialidad.

Patentometría

La patentometría es una rama de la bibliometría aplicada a las patentes; fue definida por primera vez por Pritchard (1969), como la aplicación de métodos estadísticos y matemáticos para definir los procesos de la comunicación escrita y la naturaleza y desarrollo de las disciplinas científicas, mediante técnicas de recuento y análisis de dicha comunicación, que permite conocer el volumen

Tabla I
Principales Host que distribuyen información On Line

HOST	PAÍS
FIZ	Alemania
Dialog	USA
Mead Data Central	USA
Telesystems	Francia
Orbit	Reino Unido
Agencia Europea del Espacio	Italia
El registro de la Propiedad Industrial	España
Questel	Francia
Pergamon-Infoline	Reino Unido

Fuente: Elaboración propia con información de la OMPI, 2005

Por ejemplo, algunos investigadores como Callon y col. (1995) los agrupan en generaciones de acuerdo con la complejidad y evolución en el tiempo de los mismos. Así se tienen los indicadores de actividad, los relacionales de primera generación, los relacionales de segunda generación y la familia de patentes.

Con los indicadores de actividad se analizan el número y la distribución de las patentes solicitadas y concedidas, productividad de los innovadores, los países, las instituciones y el cómputo de citas. Se considera el más sencillo y más utilizado. Con los indicadores relacionales de primera generación, se averiguan las conexiones y las interacciones entre las diferentes áreas científicas, no se examina el contenido de los documentos; lo construyen mediante las firmas conjuntas de patentes –inventores o signatarios–, las redes de citas, las citas de los artículos científicos, co-citación, etcétera. Los de segunda genera-

Tabla II
Principales bases de datos y sus características

Bases de datos	Características
WPI	Privada gestionada por DERWENT (sociedad inglesa), registra fundamentalmente patentes registradas en Japón y está organizada por familias
EPAT	Gestionada por Oficina Europea de Patentes, presenta títulos y resúmenes en inglés, alemán y francés, indica las referencias hechas por el examinador a otros documentos.
ACCES	Incluye los documentos registrados vía EPO en países europeos, y los vía PCT/OMPI incluyen información bibliográfica, texto, imágenes. Se recupera por 13 campos diferentes
CIBEPAT-2	Contiene documentos registrados en España desde 1968, patentes presentadas en la EPO
CASSIS	Contiene las patentes registradas por US Patent Office, incluye la primera página del documento, las referencias a otras patentes sobre el tema
Patent family	Comprende casi todos los países del mundo desde 1989. Útil para localizar documentos publicados en diferentes países relacionados con la misma invención

Fuente: Elaboración propia con información de la OMPI, 2005.

de las publicaciones, la productividad de los autores, y en sentido más amplio, para el conocimiento de los procesos y la naturaleza de las ciencias. Se ha dividido en dos áreas: a) descriptiva, que trata los aspectos cuantitativos, como distribución geográfica, documental, temática y su productividad; y b) evaluativa, que comprende además de lo concerniente a la descriptiva, el estudio de la valoración de la actividad científica (Bibliometría y Ciencias Sociales).

La patentometría se mueve en dos espacios: en la producción de conocimientos certificados y en el proceso de elaboración de innovaciones industriales y funciona a través de la utilización de indicadores.

Indicadores patentométricos

Los indicadores patentométricos han sido clasificados de diferentes maneras, de acuerdo con la escuela o institución de donde procedan los investigadores que los tratan.

ción tratan el contenido del documento y el más conocido es el de co-ocurrencia o *co-word* y sirve para identificar temas o problemas de investigación, las relaciones entre temas de investigación, la transformación de los temas y de sus relaciones –análisis dinámico– y la familia de patentes; una familia de patentes se define generalmente como un grupo de patentes que, como una familia, están relacionadas unas con otras.

En términos generales, la prioridad o prioridades de un documento de patente permite agrupar diferentes documentos de patentes en familias y tiene entre otras ventajas, que permite conocer los países interesados en la protección de una determinada tecnología, la importancia de las invenciones de acuerdo con el número de países donde se registró; ambos aspectos de gran valor para inferir el valor económico potencial derivado del sentido comercial de la innovación (OEPM).

Por otra parte, la familia de patentes es una fuente de generación de indicadores, como el indicador de acti-

vidad, que mide el incremento de la familia a través de los años, los niveles de las diferentes fases de desarrollo tecnológico, como surgimiento, madurez y declinación, y a éstos se le asocian la actividad y la concentración de las patentes. Otro indicador de la familia de patentes es el de significado de tecnología, determinado por el número de citas que recibe una familia y el indicador de valor comercial relativo (Campbell, 1990; Guzmán, 1999).

También se han desarrollado indicadores llamados de tercera generación, que utilizan técnicas relacionadas con la inteligencia artificial, como la lógica difusa, algoritmos genéticos y redes neuronales, esta última asociada a la formación de *cluster* y su representación en mapas bidimensionales de conceptos (Guzmán y Sotolongo, 2002).

Indicadores de patentes que relacionan C&T

Analizar el desarrollo histórico, la evolución de la ciencia y la tecnología, cuáles áreas tecnológicas están vinculadas en mayor o menor grado con las ciencias, las fases de crecimiento, estancamiento o madurez de una determinada área temática, la evaluación de los resultados y del impacto que han tenido determinadas políticas y programas científicos de I&D, su valor económico, identificar las características de la cooperación entre las instituciones científicas y la industria, indagar los intercambios entre países y detectar sectores tecnológicos con problemas, son algunas de las aplicaciones que se le dan a los Indicadores de patentes que relacionan C&T.

Dentro de los indicadores de este tipo que se usan con mayor frecuencia en estos estudios por su confiabilidad, están las citas de patentes en artículos científicos, las publicaciones de artículos científicos por inventores, el registro de patentes por investigadores (Narin, 1985; 1992; 1994) y el tiempo promedio transcurrido entre la publicación de un resultado y su aplicación práctica: mientras menor sea este tiempo, mayor desarrollo tecnológico alcanzará el país en cuestión, porque indica la capacidad de convertir el desarrollo científico en resultados económicos (Guzmán, 1999).

Herramientas y metodologías usada en el análisis patentométrico

El análisis de los datos obtenidos se puede realizar por varias metodologías, incluyendo la manual (aunque en la actualidad es prácticamente inusual, dado el volumen de datos que se producen para el estudio). Sin embargo, la tendencia que cobra mayor fuerza es el uso de software asociados a los indicadores. En la Tabla III

se resumen algunos de los sistemas convertidores más utilizados; y en la Tabla IV algunos sistemas de gestión de bases de datos documentales.

Para el tratamiento estadístico de la información también se tiene una serie de herramientas, entre las que se puede mencionar el software Excel, muy utilizado en el período preliminar; el Statistica, que es un paquete estadístico que facilita la representación gráfica de los resultados; el VISCOVERY SOMine, BibTechMon versión 4. Se recomienda que el software estadístico seleccionado tenga incluido el análisis de cluster, escalado multidimensional, el análisis de factores y del componente principal.

Este estudio piloto tiene como objetivo el caracterizar la posición competitiva actual de dos laboratorios farmacéuticos nacionales, desde el punto de vista científico y tecnológico, mediante el análisis de la evolución tecnológica de dos medicamentos, ibuprofeno y metformina.

Tabla III
Convertidores de formatos

Convertidor	Características
BiblioLink (versiones MS_DOS y Windows)	Convertidor prácticamente universal
BiblioLink II	Convierte los ficheros salvados provenientes de cualquier <i>host</i>
CONVI	Organiza, gerencia y convierte datos de diferentes bases a formatos como: ISO 2709, SDF, versión para MICRO/ISIS, dBase, ZIM y otros

Fuente: Elaboración propia con información de la OMPI, 2005.

Tabla IV
Sistemas de gestión de bases de datos documentales

Sistemas de gestión	Características
Pro-Cite (4.01)	Sistema de gestión bibliográfica, edita referencias, hace listados de publicaciones, de autores, permite elaborar bibliografía y realiza conteos por campos
CDS/ISIS	Para la normalización e intercambio de información bibliográfica entre instituciones, creado por la UNESCO
KNOSYS	Combina tratamiento de textos, bases de datos textuales y generador de informes y los integra en un editor
Papyrus	Mantiene la colección de referencias bibliográficas e imprime

Fuente: Elaboración propia con información de la OMPI, 2005.

Materiales y método

Tipo de investigación: descriptivo-correlacional.

Diseño: documental.

Universo: la información de patentes generada en torno a dos medicamentos, el ibuprofeno y la metformina, incluidos en la lista de medicamentos esenciales y fabricados por dos laboratorios farmacéuticos del sector privado. Unidad de análisis: cada una de las patentes investigadas.

Metodología: análisis patentométrico mediante el empleo de indicadores de actividad y relacionales de segunda generación. Los primeros se analizaron a través de tres aspectos como son: número y distribución de patentes solicitadas o concedidas, y la productividad de los innovadores –países, instituciones–. Los relacionales de segunda generación se analizaron considerando la información presente en el título, en el resumen o en el propio texto. El más conocido de estos indicadores es el *co-word* o indicador de co-ocurrencia, que se elabora a partir del estudio de la aparición conjunta de palabras. La pesquisa se realizó en diferentes bases de datos nacionales e internacionales de patentes que se listan en la Tabla V y mediante otras fuentes de información, como referencias bibliográficas fundamentadas en publicaciones científicas.

Resultados

Ibuprofeno. Características

El ibuprofeno es un derivado del ácido propiónico que posee propiedades analgésicas, antiinflamatorias y antipiréticas. El efecto terapéutico como antiinflamatorio no esteroideo, se deriva de su actividad inhibitoria de la prostaglandina-sintetasa.

Su mecanismo de acción, como todos los antiinflamatorios no esteroídicos de la familia de los ácidos arilpropiónicos, se basa en la inhibición de la acción de las enzimas COX-1 y COX-2. Los efectos anti-inflamatorios son el resultado de la inhibición periférica de la síntesis de prostaglandinas subsiguiente a la inhibición de la

ciclooxigenasa. Inhibe la migración leucocitaria a las áreas inflamadas, impidiendo la liberación de citoquinas por los leucocitos y otras moléculas que actúan sobre los receptores nociceptivos. Este medicamento, como otros AINEs, no altera el umbral del dolor ni modifica los niveles de prostaglandinas cerebrales, concluyéndose que sus efectos son periféricos. La antipiresis es consecuencia de la vasodilatación periférica debido a una acción central sobre el centro regulador de la temperatura del hipotálamo.

La farmacocinética consiste en absorberse rápidamente en el tracto gastrointestinal, presentándose picos de concentraciones plasmáticas 1-2 horas después de su administración; su vida media de eliminación es de unas dos horas aproximadamente; se une fuertemente a las proteínas plasmáticas y se metaboliza en el hígado, dando lugar a dos metabolitos inactivos que junto con él se excretan por vía renal, bien como tales o como metabolitos conjugados. La excreción renal es rápida y completa y la farmacocinética de los gránulos de ibuprofeno es comparable a la de los comprimidos, por lo que no debe haber diferencias en la pauta de utilización clínica de ambas presentaciones.

Los estudios de toxicidad de este fármaco coinciden con los de otros antiinflamatorios no esteroideos; no es teratogénico en diferentes especies de animales y tanto los estudios de mutagénesis como los de cancerogénesis dieron resultados negativos (Bejarano, 2006).

Análisis patentométrico del ibuprofeno

La pesquisa en las diferentes bases de datos utilizadas se realizó empleando como palabra clave solamente Ibuprofen, es decir, se partió del nombre genérico ya reconocido por la literatura y arrojó la existencia de más de 770 patentes desde el año 1974 hasta el 2006. Los resultados obtenidos en el análisis, partiendo de los objetos de invención en cada caso, se reportan en porcentajes en la figura 1, donde se puede observar que el porcentaje más elevado corresponde a las patentes de formas terminadas con un 39%, seguido por un 23%

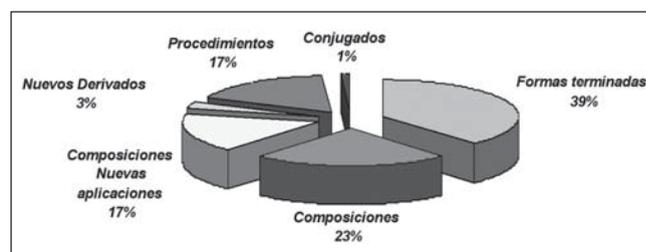
Tabla V
Bases de datos consultadas

Países	Años consultados
Estados Unidos (US)	1976 – 2005
España (ES)	1978 – 2005
Japón (JP)	1976 – 2005
QPAT (base de datos de más de 50 Oficinas de Patentes)	1970- mayo/2006
Espacenet	1920 – 2005

Fuente: Elaboración propia con la información utilizada

Figura 1

Relación por objetos de patentes en el Ibuprofeno



Fuente: Elaboración propia con datos obtenidos en la pesquisa patentométrica.

de composiciones, 17% de nuevas aplicaciones y 17% de procedimientos, un 3% de nuevos derivados y sólo un 1% de productos conjugados.

El análisis de la evolución en el tiempo de la innovación tecnológica de este medicamento, a través de la observación de los objetos de patentes, dio como resultado que las innovaciones sobre este fármaco se hacen fundamentalmente en las formas terminadas en que se pretende ofertar este producto al mercado; por ejemplo, en forma de suspensiones orales, jarabes, ungüentos y hasta en forma de parches para la piel en la zona afectada. Así, la patente CH693586 de la Bayer, propone una forma efervescente para este medicamento, o en forma de parches en la patente GB 9222382, de la misma empresa (Figura 2).

Casi con igual ritmo de innovación se han presentado nuevos procedimientos de síntesis y nuevas composiciones, muchas de las cuales se orientan a la búsqueda de la disminución de los efectos secundarios de este fármaco, como son molestias en la mucosa estomacal, para lo cual se han presentado una serie de propuestas de innovaciones por patentes, que comprenden combinaciones adecuadas en un mismo producto de dosis de aluminio y otras sustancias que inhiben la alteración de la mucosa gástrica. Ejemplo de estas composiciones farmacéuticas es el de la patente JP2002128674.

Otra propuesta es para disminuir los efectos hipertensivos que produce este fármaco, para lo cual lo proponen combinado con un diurético, como es el caso de la patente CA209256. Otras propuestas de «composiciones» están basadas, por ejemplo, en la combinación adecuada del principio activo Ibuprofen con ciclodextrina para facilitar su asimilación por el paciente. Ejemplo de formu-

laciones farmacéuticas de este tipo se proponen en las patentes MX 9304553; DE 4038314 o ZA 8800088, esta última del laboratorio Bristol.

En el análisis de las tendencias se comprueba también la existencia de muchas ofertas de «composiciones para nuevos usos», en las cuales se observa una amplia variedad de aplicaciones en tratamientos para otras dolencias en las que se conjugan adecuadamente los efectos terapéuticos del ibuprofeno con otros principios activos. En estos casos no se hace referencia a un segundo uso farmacéutico, que no sería patentable por la legislación de muchos países, sino que atribuyen el nuevo y mejor efecto a la relación cualitativa y cuantitativa de los ingredientes.

Ejemplo de estos tipos de patentes son: la CA 2516736 para la preparación de un fármaco en forma de gel que contiene entre otros, ingredientes para el tratamiento de embolismo uterino; la CA 2456356 donde se propone una composición para el tratamiento del virus de Herpes; la CN 1386515 y CN1246348, ambas de origen chino, que proponen dos composiciones basadas en la conjugación de Ibuprofen con extractos de plantas chinas para el tratamiento de la artritis; la PL343617 que combina el ibuprofen con otros ingredientes para el tratamiento de la hipolipidemia y la arteriosclerosis; la US6344479 propone una composición farmacéutica que posee entre sus ingredientes uno para la prevención de la retinopatía prematura en neonatos; y la WO974839 propone una correlación de ingredientes para disminuir los efectos de la quimioterapia.

El análisis de las principales firmas que generan estas nuevas patentes sobre el ibuprofeno y sus diversas formas farmacéuticas se muestran en la Tabla VI.

Esta investigación de tendencias pudiera ser la base de una estrategia de desarrollo de la industria farmacéutica nacional para la producción de nuevos fármacos, analizando la no violación de derechos de terceros en aquellos territorios donde pueda existir la posibilidad de existencia de derechos patentarios.

Vale destacar que de la investigación realizada sobre patentes de este producto en Venezuela, se obtuvo como resultado que se realizaron cuatro solicitudes de patentes por laboratorios extranjeros, de las cuales una fue denegada, dos desasistidas y una concedida:

00-002622 Solicitud Denegada publicada en el Boletín N° 476

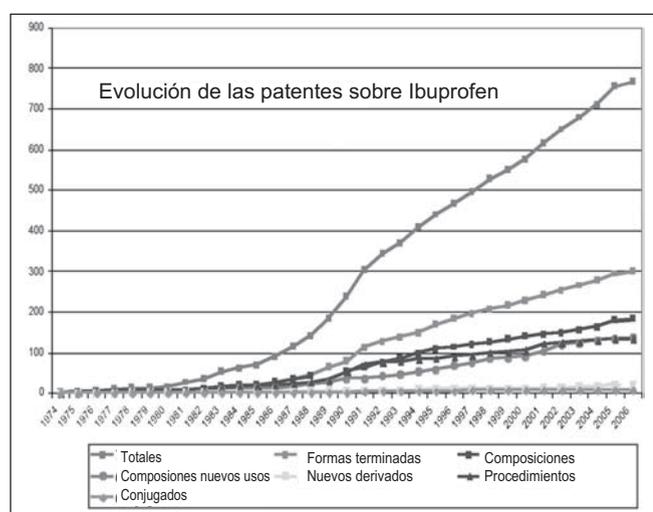
96-001092 Solicitud Desistida publicada en el Boletín N° 444

92-000178 Solicitud Desistida publicada en el Boletín N° 438

88-000538 Solicitud Concedida publicada en el Boletín N° 379

Figura 2

Evolución en el tiempo de la innovación tecnológica de las patentes de Ibuprofeno



Fuente: Elaboración propia con datos obtenidos en la pesquisa patentométrica.

Tabla VI
N° patentes /principales firmas

N° de patentes	Firmas
35	TAISHO PHARMA CO LTD.
21	MCNEIL PPC INC.
16	BOOTS CO PLC.
11	MERCK & CO INC.
9	JOHNSON & JOHNSON
9	LION CORP.
8	ETHYL CORP.
8	HOECHST CELANESE CORP.
7	ALBEMARLE CORP.
7	AMERICAN HOME PROD.
7	BASF AG.
7	TAKEDA CHEMICAL INDUSTRIES LTD.
6	BOOTS CO LTD.
6	KOWA CO.
6	SMITHKLINE BEECHAM PLC.

Fuente: Elaboración propia con datos obtenidos en la pesquisa patentométrica.

La concedida a la firma transnacional Hoechst Celanese Corp reivindicó un procedimiento de síntesis química, faltaría verificar si los laboratorios venezolanos producen con ese procedimiento. Pero en cualquier caso, no existen innovaciones registradas de los laboratorios venezolanos sobre el ibuprofeno, medicamento de uso masivo en la población venezolana y que forma parte de la lista básica de medicamentos esenciales del país.

Metformina Características

La metformina es una biguanida cuya utilidad como hipoglucemiante se redescubrió en 1918. Entre 1957 y 1960 se introdujo en el mercado, pero en 1976 fue retirada en los EE.UU. y en algunos países europeos (Alemania, países escandinavos) por su asociación a la acidosis láctica. Sin embargo, en 1995 se reincorpora al determinar que la incidencia de acidosis láctica es insignificante y actualmente es la única biguanida recomendable para uso terapéutico debido a su eficacia y seguridad en el tratamiento de la diabetes tipo 2.

Su principal mecanismo de acción consiste en reducir la producción hepática de glucosa, al disminuir tanto la gluconeogénesis como la glucogenólisis. Además, aumenta la captación de glucosa por parte del músculo esquelético. Se ha demostrado que la metformina favorece la acción de la insulina en el tejido muscular a múltiples niveles, aumenta el número de receptores y la afinidad de la insulina por su receptor, facilita el transporte de glucosa a través de un aumento de la expresión o actividad del GLUT-4 y estimula el metabolismo no oxidativo de la

glucosa, lo que se traduce en un aumento de los depósitos de glucógeno. De modo que la metformina mejora la sensibilidad a la insulina y es un fármaco de primera elección cuando la resistencia a la insulina es el mecanismo predominante en la etiopatogenia de la diabetes.

Por otra parte, se ha demostrado que reduce las concentraciones de triglicéridos en un 20-25% y el cLDL en un 5-10%; mientras que los niveles de cHDL no varían o se elevan discretamente. Otros efectos comunicados son la mejoría de diversas variables hemorreológicas (disminución de la agregabilidad plaquetaria, aumento de la deformidad eritrocitaria, descenso de la viscosidad sanguínea) y un aumento en la actividad fibrinolítica. También se ha demostrado que el tratamiento con metformina se acompaña de pérdida de peso.

En cuanto a la farmacología clínica, la metformina no se une a las proteínas plasmáticas y se elimina por vía renal sin sufrir ninguna modificación; el pico plasmático se produce a las 2-3 h de la ingesta, su vida media plasmática oscila entre 2 y 6 h y a las 12 h se habrá eliminado por orina el 90%. Puede administrarse dos o tres veces al día.

El efecto adverso más frecuente de las biguanidas son las alteraciones gastrointestinales, que ocurren hasta en un 30% de los casos, e incluyen anorexia, náuseas, vómitos, malestar abdominal y sabor metálico. Estos síntomas se manifiestan generalmente al iniciar el tratamiento y son transitorios. También se ha informado sobre un trastorno en la absorción de la vitamina B₁₂ en los pacientes tratados durante períodos prolongados; no obstante, su repercusión clínica es escasa.

Ahora bien, la acidosis láctica es el efecto adverso más temido de las biguanidas ya que es letal en 30-50% de los casos. Sin embargo, este efecto es muy raro con el uso de la metformina, y para que se produzca es necesario que exista una sobredosificación del fármaco, y/o la coexistencia de una disminución en su eliminación, o bien situaciones que supongan un aumento en la producción de ácido láctico, por lo que no es recomendable usar metformina en casos de insuficiencia renal (creatinina > 1,4 mg/dl), hepatopatía avanzada, insuficiencia respiratoria y/o cardíaca graves, alcoholismo y situaciones que supongan un estrés importante (traumatismos graves o procesos infecciosos de cierta importancia).

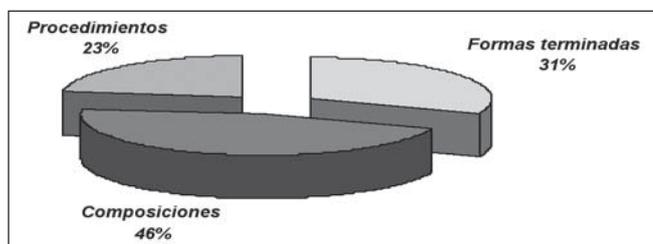
También se considera prudente retirar su administración de forma transitoria en caso de inyección de un contraste radiológico, por el riesgo de insuficiencia renal aguda; y aunque no existen estudios que demuestren capacidad teratógena ni que atravesase la placenta, no se recomienda su uso durante el embarazo ni en la lactancia. La edad no es un factor limitante siempre que se constate un aclaramiento de creatinina > 70 ml/min. (Simó y Hernández, 2002).

Análisis patentométrico de la metformina

El estudio arrojó sólo 27 patentes de la metformina, las cuales se agruparon por porcentajes de objetos de invención, lo que se puede apreciar en la figura 3. En este caso lo que más se ha generado por patente son nuevas composiciones, en un 46%, casi en igual relación que la suma de las patentes por procedimientos y formas terminadas, cuya sumatoria es de 54%.

Figura 3

Relación porcentual por objetos de patentes



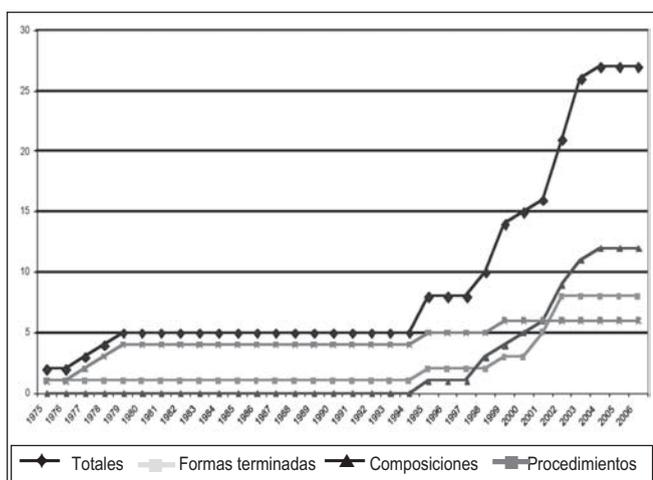
Fuente: Elaboración propia con datos obtenidos en la pesquisa patentométrica.

En la figura 4 están representadas las tendencias evolutivas de la metformina. Como se puede observar, en este caso la tendencia es hacia la formulación de nuevas composiciones, fundamentalmente con Glibenclamida para potenciar sus efectos. Sin embargo, desde el 2002 no se han generado más patentes por nuevas formas terminadas, ni por nuevos procedimientos de obtención, sino que la propensión de la evolución de la innovación tecnológica de este fármaco que se observa a través de las patentes nos indica que los productos que se pretende poner en el mercado, son composiciones sinérgicas.

Las principales firmas que generan patentes sobre este fármaco están reflejadas en la Tabla VII.

Figura 4

Evolución de las Patentes de la Metformina



Fuente: Elaboración propia con datos obtenidos en la pesquisa patentométrica.

Tabla VII

Nº de patentes /Principales firmas

Nº de Patentes	Firmas
4	LIPHA
4	SMITHKLINE BEECHAM PLC
3	MERCK PATENT GMBH
3	MOLTENI L E C DEI FLII ALITTI
2	BONHOMME YVES
2	MOINET GERARD
2	NEOPHARMED SPA
2	RANBAXY LAB LTD.
2	ABIOTEN PHARMA SPA
1	ALARANTA SAKARI
1	ANDRX CORP.
1	ANDRX LABS LLC
1	ANGELI ROBERTO

Fuente: Elaboración propia con datos obtenidos en la pesquisa patentométrica.

No se encontraron derechos vigentes de ningún tipo de este medicamento, ni a nivel mundial ni específicamente en Venezuela. Este es un medicamento bastante antiguo, que como se comentó anteriormente, fue retirado del mercado en 1976 y entró de nuevo en el mercado a partir del año 1995; por lo tanto los laboratorios nacionales podrían reorientarse por la evolución internacional de este fármaco.

Por otra parte, a través del estudio patentométrico de ambos productos farmacéuticos se ponen de manifiesto dos tendencias evolutivas diferentes que pueden servir de base para una estrategia de desarrollo de las empresas farmacéuticas nacionales, que garanticen una perspectiva más amplia de su entorno competitivo.

Conclusiones

La patentometría constituye una herramienta de gran importancia para la evaluación de las fortalezas y debilidades científicas y tecnológicas de la industria y en el caso particular de la industria farmacéutica, cuya estrategia competitiva está centrada en el uso intensivo de la I+D+i; puede decirse que la información contenida en los documentos de las patentes debería ser la fuente de consulta por excelencia.

Sin embargo, a juzgar por la información obtenida a partir de este estudio piloto puede inferirse en una primera aproximación, que existe poca cultura en la industria farmacéutica nacional en la utilización de la información de las patentes, ya que los medicamentos evaluados no han sido objeto de innovaciones en las empresas que los fabrican, a pesar de ser de uso

masivo, estar incluidos en la Lista de Medicamentos Esenciales del país y provocar efectos secundarios que las transnacionales del medicamento intentan corregir a través de pequeñas innovaciones.

Otro elemento que permite deducir que no se emplea la evaluación patentométrica es que la principal limitación surgida en el desarrollo del trabajo estuvo asociada a la dificultad para acceder a la información, ya que no se cuenta con la infraestructura necesaria, ni con el suficiente personal profesional capacitado para realizarla.

De manera que tomando en consideración los resultados obtenidos en la presente investigación, que muestran una industria con poca iniciativa innovativa y lo propuesto en el Plan de Desarrollo Económico y Social de la Nación 2001-2007 y en el Plan Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2005-2030 de dar impulso a una industria nacional competitiva sustentada en una cultura de largo plazo que propicie la construcción de visiones compartidas para el desarrollo endógeno, sustentable y humano del país y la reconstrucción del tejido industrial, se considera que la industria farmacéutica nacional requiere de una reorientación estratégica fundamentada en el logro de objetivos como son la suficiente diversificación productiva y la adecuada competitividad internacional para insertarse exitosamente en el mercado de productos farmacéuticos, satisfacer mejor las demandas del mercado nacional y así disminuir las importaciones en este sector, para lo cual se requiere realizar vigilancia tecnológica.

Referencias bibliográficas

- BEJARANO P. (2006). *Ibuprofeno y analgesia*. Documento en línea consultado: 12/08/06. Disponible: www.sld.cu/galerias/pdf/sitios/reumatologia/propiedades_del_ibuprofen.pdf
- CAMPBELL RS. (1990). *Patents trends as a technology forecasting tool*. Batelle Pacific Northwest Laboratories.
- CALLÓN M, COURTIAL J Y PENAN H. (1995). *Cienciometría. El estudio cuantitativo de la actividad científica: de la bibliometría a la vigilancia tecnológica*. Ediciones TREA, Gijón, España.
- CAN (Comunidad Andina de Naciones). Documento en línea. Disponible: www.comunidadandina.org/normativa/dec/D486.htm Consultado: 10/06/2005.
- CHIRINOS C. (2002). *Evaluación del acceso al medicamento. Caso Hospital Dr. Domingo Luciani*. Serie Mención Publicación. Editorial Melvin. CENDES. Universidad Central de Venezuela. Caracas, Venezuela.
- Comisión Europea. *Las patentes como fuente de información tecnológica*. Documento en línea, consultado: 2005. Disponible: www.oepm.es/internet/infgral/catalogos/fuente/fuente.htm
- GUZMÁN MV. (1999). *Patentometría. Herramienta para el Análisis de Oportunidades tecnológicas*. Documento en línea. Consultado: 01/07/06. Disponible: <http://www.um.es/cugio/tesis/patentometria.pdf>
- NARIN F, NORMA E. (1985). Is technology becoming science? *Sientometrics*. 7(3-6): 369-381.
- NARIN F Y OLIVASTRO D. (1992). Status report: linkage between technology and science. *Research Policy*. 21:237-249.
- NARIN F. (1995). Indicators for evaluation of industrial research output. *Sientometrics*. 34(3): 484-496.
- OEPM (Oficina Española de Patentes y Marcas) *Las patentes como fuente de información tecnológica*. Documento en línea. Consultado el 15/06/06. Disponible: http://www.oepm.es/internet/infgral/catalogos/fuente/fuente.htm#_Toc33252627
- OMPI (2005). *La información sobre patentes: un tesoro escondido*. Documento en línea. Consultado 01/04/06. Disponible: http://www.wipo.int/sme/es/documents/wipo_magazine/1_2005.pdf
- PALOP F Y VICENTE J. (1999). *Vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva*. Documento en línea, consultado: 05/05/06. Disponible: <http://zulia.colciencias.gov.co/portalcol/downloads/archivosContenido/90.pdf>
- Plan de Desarrollo Económico y Social de la Nación 2001-2007. Documento en línea. Consultado: 12/05/06. Disponible: <http://www.mpd.gov.ve/pdeysn/plan.htm>
- Plan Nacional de Ciencia, Tecnología e Innovación 2005-2030. Documento en línea. Consultado: 12/05/06. Disponible: www.fonacit.gov.ve/documentos/pncti.pdf
- PRITCHARD A. (1969). Statistical Bibliography or Bibliometrics? En: *Journal of Documentation*, (25)4, S. 348-349.
- SIMÓ R HERNÁNDEZ C. (2002). Tratamiento de la diabetes mellitus: objetivos generales y manejo en la práctica clínica». *Revista Española de Cardiología* 2002; 55: 845-860.
- SOTOLONGO G Y GUZMÁN MV. *Mapas tecnológicos para la estrategia empresarial*. Documento en línea. Consultado: 15/08/2004. Disponible: www.intempres.pco.cu/Intempres2000-2004/Intempres2000/Sitio/Principal/Conferencias/Mapastec.pdf

Recibido: 15 de enero de 2007
Aceptado: 5 de marzo de 2007

Evolución de la eficiencia del Postgrado de Farmacia Comunitaria en términos de tiempo de permanencia de los estudiantes en el Programa

Efficiency of the Community Pharmacy graduate program, in terms of time required by the students to graduate

ARISMENDI A, ESDRÁS J*

Resumen

Este trabajo analiza la evolución del tiempo de permanencia de los estudiantes, en el postgrado, para todas las cohortes que han egresado como especialistas en Farmacia Comunitaria en todo el territorio nacional, como indicativo de eficiencia del postgrado. La metodología involucró la recopilación inicial de los datos del tiempo requerido, tanto para completar la escolaridad como del tiempo requerido para concluir el trabajo especial de los cursantes en el postgrado, para 19 cohortes, a nivel nacional, y su posterior comparación y análisis, estableciendo las posibles causas de los cambios en este indicador a través del tiempo de funcionamiento del programa. En los resultados se evidencia una disminución de un 50% en el tiempo total de permanencia en el postgrado desde el inicio hasta la última cohorte de egresados hasta el momento, en julio del año 2006. Se concluye que debido a la implementación de cambios tanto académicos como administrativos, se ha optimizado la utilización del recurso tiempo, siendo éste un indicativo de mejoramiento de la calidad del postgrado, en términos de eficiencia.

Palabras clave: Tiempo de permanencia, postgrado, eficiencia.

Abstract

This work shows an analysis of the time required by the students, to graduate from the graduate program, Community Pharmacy's Specialty, for all the groups, over the national territory and as a mark for the program's efficiency. The applied methodology includes the data compilation indicating the time to cover all the subjects, and the time to finish the program. This data was obtained for all the registered students, divided in 19 groups, at national level. Afterwards, there was a comparison and analysis, establishing the possible causes for the changes among them over the time that the program was working. The results showed a decrease of about 50% on the time they spent for their graduate program study since the beginning to the present date, on July 2006. In conclusion, both academic and administrative changes have optimized the time resource, which in turn is an indicator of the quality improvement of our program, in terms of efficiency.

Key words: Efficiency, time required to graduate, graduate program.

Introducción

Para que una institución de educación superior se considere de calidad, no sólo debe ser eficaz, sino debe buscar y alcanzar la eficiencia. La eficacia se refiere a la obtención de los resultados deseados, la coherencia del producto con las metas y objetivos, mientras que la eficiencia se logra cuando se obtiene el resultado deseado con un mínimo de insumos, por lo que la eficiencia se refiere al uso óptimo de recursos, en beneficio del logro de los objetivos planteados (Alarcón, 2006).

Es por ello que el tiempo de permanencia de los cursantes en un programa de postgrado representa una categoría evaluativa de la calidad del mismo, ya que se considera indicativo de la eficiencia del programa (Villa-roel, 1999).

En este contexto, la eficiencia es definida como la optimización de los recursos utilizados en el logro de las metas planteadas, ya sea en términos de tiempo, recursos humanos, docentes, materiales etcétera, y hace referencia a que el programa hace uso adecuado de los

* Práctica Profesional Atención Farmacéutica. Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.

diferentes recursos disponibles; que utiliza o emplea lo que corresponde para el logro de sus objetivos, siendo el tiempo de permanencia de los cursantes en el programa uno de estos recursos valiosos. A través de este parámetro se evalúa si las condiciones, tanto de la institución como del programa en sí, están funcionando de manera de hacer un uso racional de los recursos de los que dispone, sin detrimento de la calidad de los resultados o metas logradas (Villarroel, 1999).

En el momento de analizar esta variable es necesario valorar factores diversos tanto inherentes a la institución, como al programa de postgrado en sí, por lo que su análisis habla de evolución de la calidad de cualquier estudio de postgrado (Ascencio, 1999).

El Postgrado de Farmacia Comunitaria es un estudio de cuarto nivel de la Facultad de Farmacia que forma especialistas capaces de identificar y resolver problemas de salud en su área de competencia, en cuanto al uso de medicamentos (UCV, 1987).

En sus inicios, las primeras cohortes fueron ofertadas como cursos de ampliación, para cubrir las necesidades de actualización de los profesionales farmacéuticos en el interior del país, principalmente aquellos que laboraban en oficinas de farmacias. Posteriormente se inician las cohortes presenciales, las cuales eran dictadas en la Facultad de Farmacia en la ciudad de Caracas, sede del Postgrado (Convenio UCV-FIMPF, 1987).

Estos cursos en el interior del país, fueron dictados bajo la modalidad mixta supervisada, en la cual la Institución, a través de los docentes, se trasladaba a los diferentes estados del país y se dictaban cursos los fines de semana, con los contenidos de las asignaturas contentivas en el plan de estudios del postgrado, el cual se encontraba para ese momento en trámites de solicitud de su aprobación ante las autoridades universitarias, por lo que para ese momento no se aplicaban las normativas referentes a tiempos de permanencia en el postgrado (Convenio UCV-FIMPF, 1987).

A partir de la década de los noventa hasta el presente, julio de 2006, la estructura del postgrado ha permitido un mayor control en las cohortes más recientes, aplicando de manera estricta las normativas referentes al tiempo de permanencia de los estudiantes en el programa.

Objetivo

El objetivo del presente estudio es analizar la evolución y el desarrollo de las diferentes cohortes, de acuerdo con indicadores de eficacia del programa, en términos de tiempo de permanencia de los estudiantes en el postgrado.

Metodología

El presente estudio tiene un diseño metodológico no experimental de tipo comparativo, retrospectivo, y de corte longitudinal. La muestra estuvo constituida por los cursantes de aquellas cohortes que han egresado especialistas. La recolección de los datos a analizar se llevó a cabo a través de la revisión de documentos propios del postgrado tales como informes de gestión de diferentes coordinadores, expedientes de los estudiantes y veredictos de presentaciones de trabajos especiales, desde sus inicios, para todas las cohortes de la muestra. Posteriormente los datos se analizaron utilizando herramientas de estadística de resumen, propias de la estadística descriptiva, haciendo inferencias sobre los factores posiblemente involucrados en la evolución de los indicadores estudiados.

A los fines del presente estudio, el tiempo de permanencia en el postgrado por cohorte y el tiempo requerido para finalizar el trabajo especial, se calculó tomando el promedio de los tiempos de permanencia de cada cursante, para cada cohorte en particular.

Resultados y discusión

El Postgrado de Farmacia Comunitaria fue ofertado inicialmente como cursos de ampliación para cubrir las necesidades de actualización de los profesionales farmacéuticos en el interior del país, por lo que para ese momento el objetivo principal de la existencia del mismo era acercar a los profesionales farmacéuticos a los conocimientos actualizados en su área de ejercicio.

En sus inicios, dado que no funcionaba como programa de postgrado formal, no se aplicaba reglamentación interna sobre el tiempo de permanencia en el programa. Este hecho, sumado a la necesidad de la academia de motivar a los profesionales en ejercicio al autoaprendizaje y a la actualización, contribuyó a que la flexibilización se consideró como aspecto que apoyaría la incorporación de estos profesionales a los nuevos conocimientos. De allí que el término de eficiencia, en este caso, debe ser analizado en el contexto descrito y no como concepto absoluto.

Según lo muestra la figura 1, el tiempo de permanencia en el postgrado en las primeras cohortes: cohorte del estado Anzoátegui, Monagas, Sucre y Trujillo, fue en promedio de diez años, cifra muy elevada tratándose de un curso de especialización, disminuyendo progresivamente a partir de las cohortes sucesivas, llegando en algunos casos a tres años.

En el caso del tiempo requerido para culminar la escolaridad, mostrado en la figura 2, al igual que el tiempo requerido para culminar el trabajo especial, (figura 3), se tiene un promedio de cinco años para culminar

Tabla I

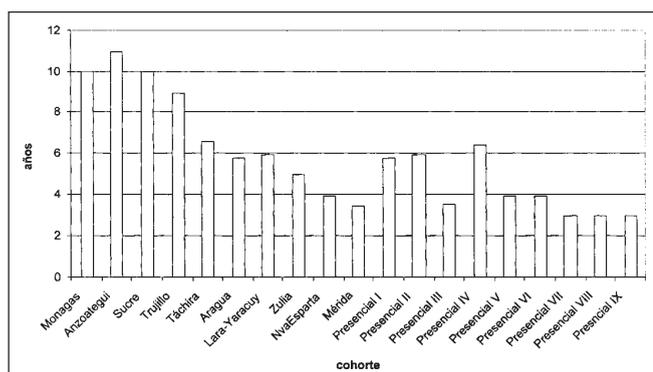
Total de egresados del postgrado de Farmacia Comunitaria, por entidad (hasta julio de 2006)

Entidad/Estado	Número de egresados	Porcentaje (%)
Distrito Metropolitano	54	36,2
Lara-Yaracuy	17	11,4
Nueva Esparta	15	10,1
Mérida	14	9,4
Zulia	14	9,4
Trujillo	10	6,7
Monagas	8	5,4
Sucre	7	4,7
Aragua	6	4
Táchira	3	2
Anzoátegui	1	0,7
	n=149	

Fuente: Datos de cada cohorte. Archivo del postgrado de Farmacia Comunitaria. Cálculos propios.

Figura 1

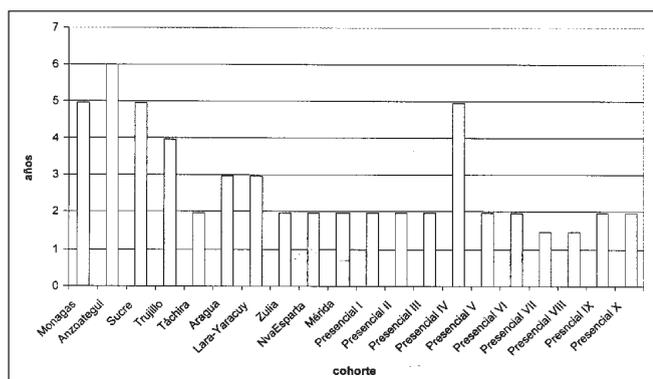
Tiempo de permanencia en el postgrado, por cohorte



Fuente: Datos de cada cohorte. Archivos del postgrado de Farmacia Comunitaria. Cálculos propios.

Figura 2

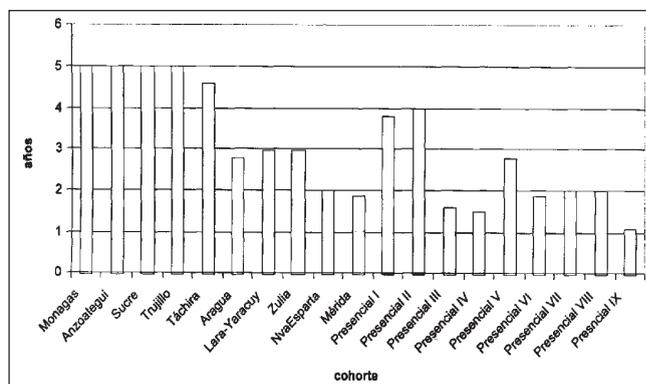
Tiempo requerido para culminar la escolaridad, por cohorte



Fuente: Datos de cada cohorte. Archivos del postgrado de Farmacia Comunitaria. Cálculos propios.

Figura 3

Tiempo requerido para culminar el trabajo especial, por cohorte



Fuente: Datos de cada cohorte. Archivos del postgrado de Farmacia Comunitaria. Cálculos propios.

cada una de estas etapas, para las cohortes de Monagas, Sucre, Anzoátegui y Trujillo, primeras cohortes que cursaron asignaturas del postgrado; tiempo que disminuyó a partir del año 1990 hasta llegar a 1,5 años en algunas cohortes.

En las primeras cohortes del interior del país, la casi totalidad de los cursantes eran profesionales en ejercicio que laboraban, principalmente, en farmacias comunitarias, y muchos de ellos eran dueños de las mismas. Esto hacía que en muchos casos la logística para el desarrollo de las actividades académicas debía adaptarse a las condiciones de disponibilidad de tiempo de los cursantes. Igualmente, las mismas estaban sujetas a que las condiciones de espacio y tiempo en la entidad se concretaran.

Estos hechos propiciaron, que en algunos casos, se alargara el tiempo para cursar la escolaridad y por ende, el tiempo de permanencia en el postgrado, debido a condiciones que escapaban del control de la institución y dependían totalmente de las condiciones locales, en cada una de las entidades, lo que probablemente influyó en los tiempos tan extensos observados en las primeras cohortes.

En las cohortes más recientes, los tiempos requeridos para culminar la escolaridad (figura 2), al igual que para concluir el trabajo especial (figura 3) y, por ende, el tiempo total de permanencia en el programa (figura 1) disminuyeron en la medida que se aplicaban las normativas en cuanto a la frecuencia de los módulos y a los lapsos para la entrega del trabajo especial.

Es por eso que para las cohortes de Táchira, Aragua, Lara-Yaracuy, Nueva Esparta, Zulia y Mérida, el tiempo de permanencia se redujo a la mitad (5 años en lugar de los 10 años iniciales), según la figura 1, e incluso en el caso de la cohorte del estado Mérida, última en abrir en el interior del país hasta los momentos (julio de 2006),

dicho tiempo se redujo a 3,5 años, y el tiempo requerido para culminar la escolaridad se redujo a 1,5 años para algunas cohortes.

Para las cohortes presenciales, según se muestra igualmente en la figura 1, el tiempo promedio de permanencia en el postgrado fue de cuatro años, siendo el que más tiempo tardó, el Presencial IV, con 6,5 años.

El Presencial IV constituye un caso particular, ya que la matrícula del mismo fue de dos estudiantes, quienes cursaron asignaturas con varias cohortes, no sólo presenciales sino también del interior del país, las cuales iniciaron escolaridad en años posteriores al inicio de esa cohorte, por lo que su permanencia en el programa se prolongó el tiempo señalado.

Para el resto de los presenciales, los 2 primeros (Presencial I y Presencial II), tardaron 5,8 y 6 años respectivamente, mientras que los otros oscilaron entre 3 y 4 años, dado que desde ese momento hasta la fecha, los lapsos reglamentarios se han aplicado de forma estricta, según la normativa vigente. En aquellos casos en que eran sobrepasados los lapsos establecidos, el cursante caía en causales de desincorporación, tipificada en la normativa vigente, y la institución pasaba a retirarlos del postgrado, situación de la cual los estudiantes tienen conocimiento.

En cuanto al tiempo requerido para finalizar la escolaridad, en el caso de las cohortes presenciales el promedio fue de dos años, siendo el Presencial IV la cohorte que más tardó en finalizar la escolaridad, con cinco años, por las razones antes expuestas.

Para las cohortes de Monagas, Anzoátegui, Sucre, Trujillo y Táchira, el tiempo requerido para finalizar el trabajo especial fue, para las cuatro cohortes, de cinco años. Estas cohortes cursaron el postgrado con el primer plan de estudios, el cual no contemplaba asignaturas que prepararan para la realización del trabajo especial, por lo que la realización del mismo se alargaba en el tiempo (UCV, 1987).

Al momento de finalizar la escolaridad, los cursantes seleccionaban el tema para desarrollar sus trabajos, e incluso el tutor, y tomando en cuenta que ya estaban separados del postgrado, por haber finalizado la escolaridad para esa cohorte, se hizo difícil la prosecución y los lapsos requeridos para terminar el trabajo especial fueron mayores.

Para las cohortes de modalidad mixta subsiguientes, de Aragua, Lara-Yaracuy, Nueva Esparta, Zulia y Mérida, el tiempo promedio para finalizar el trabajo especial fue de 2,5 años, disminuyendo a la mitad el tiempo requerido para dicha actividad, con respecto a las anteriores.

En este caso, a partir de la cohorte de Lara-Yaracuy el postgrado había reformulado su plan de estudios y

estaban contempladas las asignaturas Seminarios, las cuales están ubicadas en el segundo, cuarto y sexto período académico. Estas asignaturas dan herramientas al cursante para la realización del trabajo especial, y propiciando que la preparación tanto del proyecto de investigación como del trabajo final, formen parte integral del curso y no sean una actividad marginal llevada a cabo al final del mismo (UCV, 1992).

Para las cohortes de Aragua y Nueva Esparta se aplicó una resolución del Consejo de la Facultad de Farmacia en la cual se le daba a los cursantes represados por falta de entrega del trabajo especial, un lapso para su entrega, y en caso de no cumplirse, los mismos serían desincorporados del programa (UCV, 1996).

Esta resolución, de la cual fueron informados los cursantes, propició que muchos estudiantes que estaban en esas condiciones hicieran un esfuerzo para culminar y presentar sus trabajos especiales, dado que de lo contrario la institución procedería a su desincorporación definitiva. Esto contribuyó al egreso de parte de los cursantes de las primeras cohortes, que se habían quedado rezagados luego de culminar la escolaridad.

Para las cohortes de Lara-Yaracuy, Zulia y Mérida, se aplicaron las Normas Generales de Rendimiento Mínimo Académico para la Permanencia de los Cursantes y para la Obtención del Título Correspondiente, en los postgrados de la Universidad Central de Venezuela, de manera estricta, y en aquellos casos en que dichos lapsos eran sobrepasados el cursante era desincorporado, situación que es previamente informada a los estudiantes mediante comunicación escrita (UCV, 2000).

A partir del momento en que se comienza la aplicación de forma estricta y sin excepción, de las normas de permanencia en el postgrado, se favorece que disminuya el tiempo de culminación de los trabajos especiales, ya que en dicha norma se establecen lapsos para la entrega de dicho trabajo y, en caso de no ser cumplidos, el estudiante es automáticamente desincorporado del programa, perdiendo gran esfuerzo y tiempo, sin la obtención del grado (UCV, 2000).

Las cohortes presenciales, con excepción de los Presenciales I y II, que cursaron con el pensum antes de su reformulación, cursaron las asignaturas Seminario, con las mismas consideraciones que para las cohortes de Lara-Yaracuy, Nueva Esparta, Zulia y Mérida (UCV, 1992).

En el caso de los presenciales, el tiempo promedio para entregar el trabajo especial fue de 2,3 años, siendo el Presencial II el que tardó mayor tiempo, siendo éste de cuatro años.

En esta cohorte se puede observar que de todas las cohortes presenciales, fue la de mayor tiempo de perma-

nencia en el postgrado, al igual que tardó más tiempo en finalizar la escolaridad y entregar el trabajo de grado.

En la cohorte Presencial II algunos de los cursantes se residenciaron en otras ciudades, por lo que no continuaron sus estudios, y las responsabilidades laborales de los mismos en algunos casos dificultaban la asistencia a clases, por lo que debió haber suspensión y retrasos de las mismas. Igualmente, la poca motivación para la realización del trabajo especial pudo influir no sólo en la no prosecución, sino en el alargamiento de los tiempos para las actividades académicas.

En las cohortes más recientes, a diferencia de las primeras, en las cuales la mayoría de los cursantes laboraban en oficinas de farmacia como regentes dueños o sólo regentes, se integraron al postgrado profesionales farmacéuticos que laboraban en lugares distintos a la oficina de farmacia, por lo que los grupos se hacían más heterogéneos.

Este hecho enriqueció el programa, trayendo perspectivas diversas del ejercicio profesional en el área sanitario-asistencial y por lo mismo, se fue nutriendo de nuevas experiencias, y a la vez de nuevas necesidades y expectativas, las cuales en aquellos casos que ha sido posible han inducido cambios y mejoras, de manera de satisfacer los requerimientos de los cursantes en relación a su formación académica.

Para julio de 2006 las normativas en cuanto a lapsos, tanto para finalizar la escolaridad como para la entrega de los productos: proyecto y trabajo especial, sustentadas las «Normas para el Trabajo Especial de Grado de los Cursos de Especialización de la Facultad de Farmacia», aprobadas por el Consejo de la Facultad de Farmacia el 17 de mayo de 1994, son aplicadas de manera estricta, favoreciendo el uso racional del recurso tiempo en nuestro postgrado.

Conclusiones

El análisis de variables que inciden en la eficiencia de un programa de postgrado, permite evaluar la calidad del mismo.

Al analizar el desarrollo de las diferentes cohortes del Postgrado de Farmacia Comunitaria, desde sus inicios en

el año 1987 hasta el momento actual, julio de 2006, se concluye que, debido a la estructuración del mismo como programa de postgrado, a la revisión y rediseño de los programas y a la aplicación de las normativas y reglamentos, el tiempo de permanencia en el postgrado ha disminuido, tanto en términos de tiempo para finalizar la escolaridad, como el requerido para finalizar el Trabajo Especial.

Por lo tanto, el Postgrado de Farmacia Comunitaria ha optimizado el uso del recurso para lograr las metas y, por ello, aumentado la eficiencia del mismo y mejorado su calidad, en términos del tiempo de permanencia de sus cursantes.

Referencias bibliográficas

- ALARCÓN N, MÉNDEZ R. (2006). Calidad y productividad en la docencia en la educación superior.
<http://www.monografias.com/trabajos10/ponenc/ponenc.shtml> (consulta 08.06.2006)
- ASCENSIO J. (1999). Análisis crítico de la evolución del Postgrado de la Facultad de Agronomía durante el período 1989-1999. En: *Autoevaluación del Postgrado de la Facultad de Agronomía*. Comisión de Estudios de Postgrado de la Facultad de Agronomía UCV, pp. 12-30.
- Convenio Universidad Central de Venezuela-Fundación Instituto de Mejoramiento Profesional del Farmacéutico (Convenio UCV-FIMPF). 1987. Caracas.
- UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA (1987). Facultad de Farmacia. Programa de Especialización de Farmacia Comunitaria, Caracas.
- UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA (1992). Facultad de Farmacia. Rediseño del Programa de Especialización de Farmacia Comunitaria. Caracas.
- UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA (1996). Resolución del Consejo de la Facultad de Farmacia. Sesión 8 de octubre de 1996.
- UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA (2000). Normas Generales de Rendimiento Mínimo Académico para la Permanencia de los Cursantes y para la Obtención del Título Correspondiente, en los Postgrados de la Universidad Central de Venezuela (2000, 22 de noviembre), Consejo Universitario.
- VILLARROEL C. (1999). El proceso de evaluación y autoevaluación de postgrados: del postgrado y su acreditación. En: *Autoevaluación del Postgrado de la Facultad de Agronomía*. Comisión de Estudios de Postgrado de la Facultad de Agronomía, UCV, pp. 33-56.

Recibido: 3 de julio de 2006
Aceptado: 9 de abril de 2007

Derivados del 5-nitrofurano: desde Dodd y Stillman hasta nuestros días

MELINA MONASTERIOS* Y MILAGROS AVENDAÑO

Resumen

El presente trabajo constituye una revisión sobre la actividad antibacteriana y antichagásica, el mecanismo de acción, la toxicidad, la síntesis y estudios de modelado molecular de los derivados del 5-nitrofurano, desde el descubrimiento de su actividad antibacteriana hasta el presente. Estos compuestos han sido ampliamente usados en medicina humana y veterinaria por más de 60 años y en los últimos años se ha incrementado la investigación, ya que presentan otras actividades quimioterápicas como antifúngica, antituberculosa y amebicida. Los organismos susceptibles a ellos no crean resistencia, son relativamente poco tóxicos, se pueden formar derivados partiendo de esquemas sintéticos sencillos y de bajo costo y con la elucidación estructural del complejo de la enzima Tripanotión reductasa y su sustrato natural tripanotión, se puede lograr un diseño racional de estos derivados como agentes antichagásicos más específicos.

Palabras clave: Derivados del 5-nitrofurano, compuestos antichagásicos

Abstract

The present work constitutes a review of the antibacterial and antichagasic activity, mechanism of action, toxicity, syntheses and molecular modeling studies of 5-nitrofurane derivatives, starting from the discovery of their therapeutic activity to our days. These compounds have been extensively used in human and veterinary medicine over a period of more than 60 years and in the last years these research increased due to the finding of other activities such as chemotherapeutic, antifungal, antitubercular and amebicide. Furthermore, the susceptible microorganism doesn't create resistance, they have relatively low toxicity and it is possible to create new derivatives through simple and costless synthetic schemes. Once the structural elucidation of the Trypanothione reductase enzyme and the natural tripanotion substrate complex have been completed, it can be accomplished a rational design of this derivatives as more specific antichagasic agents.

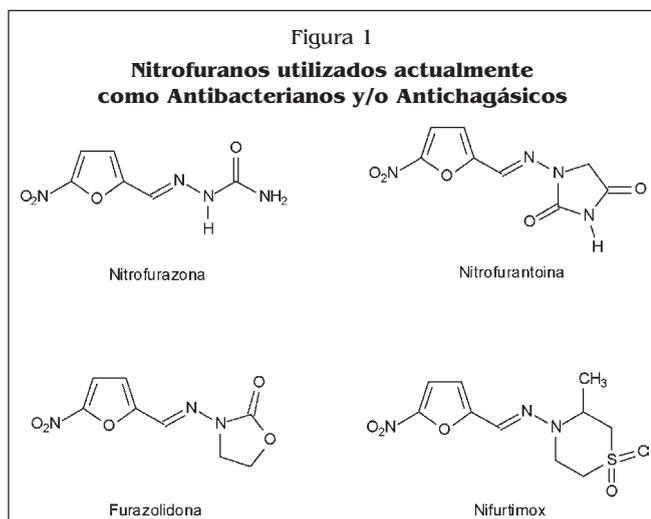
Keywords: 5-Nitrofurane Derivatives, Antitrypanosomal Compounds

Actividad antibacteriana de los derivados del 5-nitrofurano

La utilidad de los derivados del furano en quimioterapia antibacteriana fue reconocida por primera vez por Dodd y Stillman en 1944, quienes descubrieron que la adición de un grupo nitro en la posición 5 de este anillo le confería, a estos compuestos, propiedades antibacterianas definidas (Dodd y Stillman, 1944). Las variaciones en la posición 2 del anillo han originado un gran número

de compuestos antimicrobianos, tres de ellos: Nitrofurazona, Nitrofurantoína y Furazolidona, fármacos de amplio espectro efectivos en medicina humana y veterinaria desde hace más de 50 años. La observación de que varios de estos derivados además de tener propiedades antibacteriana y antifúngica, presentaban actividad anti-protozoaria significativa y potencialmente útil llevó al descubrimiento de otro nitrofurano, Nifurtimox, que es usado como antiprotozoario en el tratamiento de la Tripanosomiasis americana o Enfermedad de Chagas (Figura 1) (Delgado, 1991).

* Unidad de Química Medicinal. Facultad de Farmacia. Universidad Central de Venezuela. Apdo. 40109 Caracas 1040-A. Venezuela. Telf.: (58)212.6052757. Fax. (58)212.6052707. E mail: melinalf@yahoo.es

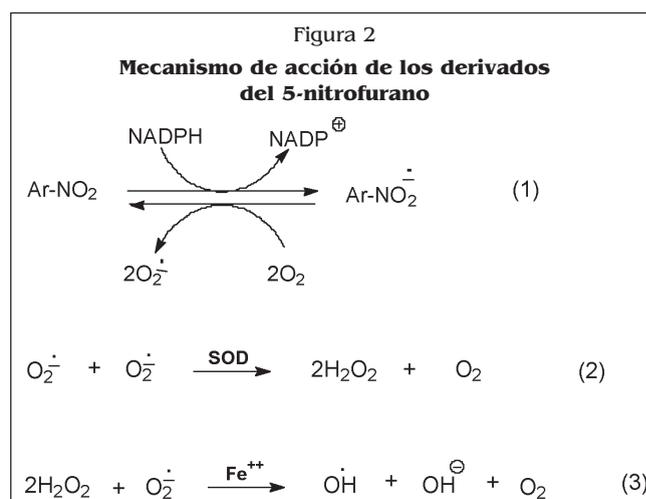


Los nitrofuranos poseen acción bacteriostática y bactericida *in vitro* según la concentración utilizada y actúan sobre bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (Townson y col., 1994), siendo mucho más activos contra bacterias anaeróbicas, las cuales contienen un sistema enzimático altamente eficiente que reduce el grupo nitro; son menos activos contra bacterias aeróbicas y bacterias anaeróbicas facultativas, y pierden totalmente su actividad frente a bacterias que no tienen el mecanismo enzimático para la nitrorreducción (Hof, 1989). Son susceptibles a estos fármacos: a) *cocos Gram-positivos*, como el *Staphylococcus aureus* o estafilococo, el *Streptococcus pyogenes* o estreptococo β-hemolítico y *Streptococcus faecalis* o enterococo; b) *bacilos Gram-positivos*, como el *Bacillus anthracis* y el género *Clostridium*; c) *bacilos Gram-negativos*, como la *Escherichia coli*, *Hemophilus influenzae*, y los géneros *Salmonella* y *Shigella*, siendo menos sensibles el *Enterobacter aerogenes*, la *Bordetella pertussis*, poco el *Proteus mirabilis* y el *Proteus vulgaris*, siendo prácticamente no susceptible la *Pseudomonas aeruginosa* (Brock y col., 1994; Litter, 1988) y especies de *Klebsiella* que se han vuelto resistentes (Shahverdi y col., 2003).

La Nitrofurantoina se ha utilizado como fármaco alternativo en el tratamiento de infecciones del tracto urinario causadas por cepas de *Enterococcus faecium* resistentes a la Vancomicina, debido a la sensibilidad *in vitro*, relativamente alta, que presentan la mayoría de las especies de *Enterococcus* (Zhanell y col., 2001). La Furazolidona se ha empleado en el tratamiento de úlcera duodenal causada por *Helicobacter pylori*. Diversos grupos de investigadores han utilizado Furazolidona, conjuntamente con Claritromicina y Omeprazol en pacientes con úlcera duodenal causada por esta bacteria, obteniendo muy buenos resultados, concluyendo que esta terapia puede erradicar completamente la enfermedad (Graham y col., 2000; Dani y col., 1999; Liu y col., 1999). Otro

uso importante que se le ha dado a la Furazolidona y a la Nitrofurantoina es en el tratamiento experimental de neumonía causada por *Pneumocystis carinii* (PCP), principal agente causante de neumonía en pacientes inmunodeprimidos, debido a que varias clases de fármacos como las diamidinas y los nucleósidos de purina, que presentan también actividad tripanocida, han mostrado actividad contra este microorganismo (Toropchin y col., 2003; Walter y col., 1991).

La actividad antibacteriana de los derivados del furano depende de la presencia del grupo nitro en posición 5 y muchas variaciones de la cadena lateral presente en posición 2. El mecanismo de acción de estos fármacos radica en la toxicidad de los radicales libres generados en su reducción. Estos agentes ejercen múltiples efectos sobre la célula bacteriana, incluyendo la inhibición del metabolismo de los carbohidratos y daño en el ADN, lo cual parece ser la causa principal de su toxicidad bacteriana. Se conoce que los nitrofuranos son activados por el sistema de nitrorreductasas antibacterianas en microorganismos susceptibles. Los daños al ADN y la muerte celular de bacterias y protozoarios son ocasionados por especies intermediarias altamente reactivas tales como los radicales libres que se producen durante el proceso de reducción, debido a que el radical anión nitroaril reducido puede ser oxidado por el oxígeno molecular para producir aniones superóxido (1). Seguidamente se produce peróxido de hidrógeno bajo la influencia de la enzima superóxido dismutasa (SOD) (2), el cual interactúa con un radical anión superóxido adicional, produciendo radicales hidroxilos ionizantes tóxicos (3) (Figura 2) (Gringauz, 1997). Los derivados del 5-nitrofurano, que son reducidos fácilmente, muestran actividad contra bacterias aeróbicas y anaeróbicas. Esto parece ser debido a la presencia de dos tipos de enzimas nitrorreductasas, que ya han sido descritas para *E. coli*, una sensible al oxígeno que es capaz de reducir los nitrofuranos sólo en ausencia de oxígeno y otra insensible al oxígeno,



que reduce los nitrofuranos bajo condiciones aeróbicas (Bryant y col., 1981).

La relación entre la estructura de los derivados del nitrofurano y su actividad antibacteriana ha sido discutida desde varios puntos de vista y se han obtenido las siguientes conclusiones: el grupo nitro es indispensable, su ausencia del grupo nitro origina muy poca o ninguna actividad. La introducción de un doble enlace conjugado $-\text{CH}=\text{CH}-$ o $-\text{CH}=\text{N}-$, entre el grupo nitrofuril y la parte final del sustituyente en posición 2, es un grupo complementario e incrementa la actividad. Se ha demostrado que los nitrofuranos interfieren con varias enzimas del sistema reductivo de las bacterias, y hay una correlación entre el potencial de reducción del grupo nitro y la actividad antibacteriana, de manera tal se incrementa cuando el potencial de reducción del grupo nitro se hace menos negativo. Los efectos inductivo y resonante del sustituyente en posición 2 influyen dicho potencial, por esta razón los derivados del furano que tienen un grupo carbonilo conjugado en esta posición son reducidos más fácilmente, debido a que el radical anión formado en el paso inicial de reducción está estabilizado por resonancia (Akerblom, 1974).

En estudios realizados de los patrones de resistencia bacteriana se ha demostrado que el nivel de resistencia a Furazolidona y a Nitrofurantoína en comparación con otros agentes antibacterianos es bajo. La susceptibilidad de cepas de especies de *Shigella*, *Campylobacter jejuni*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio alginolyticus*, *Aeromonas hydrophyla* y *Plesimonas shigelloides* derivada de estudios realizados en pacientes sintomáticos, indica que la sensibilidad de estos organismos es estable (Litter, 1988).

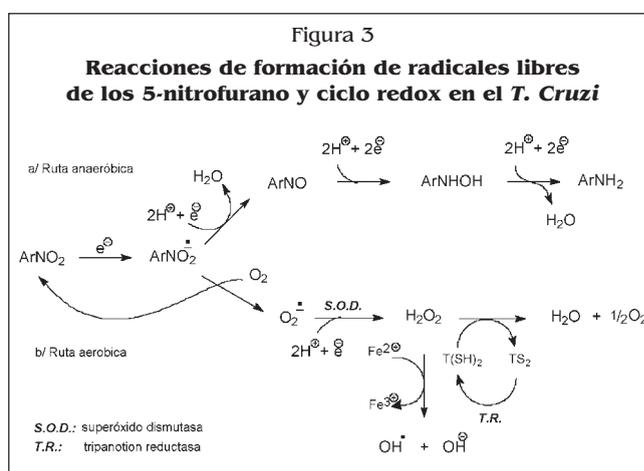
Utilidad de los 5-Nitrofuranos en la Quimioterapia Antichagásica

La enfermedad de Chagas, por definición es la infección de mamíferos y triatomas producida por un protozoo flagelado, el *Trypanosoma cruzi*. Fue descubierta en 1909 en el estado de Minas Gerais (Brasil) por el Dr. Carlos Chagas, y en su honor fue nombrada. Según informe de la Organización Mundial de la Salud 2002, la enfermedad de Chagas afecta alrededor de 24 millones de personas y se estima que hay más de 100 millones de personas expuestas al riesgo de infección (WHO, 2002). Hasta ahora, esta enfermedad ha desafiado todos los intentos de desarrollar una quimioterapia eficiente y segura. A pesar de que se ha utilizado una gran cantidad de fármacos en contra del *T. cruzi*, pocos han sido los avances logrados; esto es comprensible debido a que los altos costos del proceso, además de las pocas esperanzas de un retorno financiero favorable sobre la inver-

sión en investigación, han desmotivado a muchas compañías farmacéuticas (Castro, 1993).

En la actualidad, los únicos fármacos utilizados en el tratamiento de la enfermedad de Chagas son los nitroheterociclos, el nitrofurano Nifurtimox (Lampit[®]), cuya producción hasta ahora no ha sido discontinuada, y el 2-nitroimidazol Benznidazol (Rochagan[®]). Ambos fármacos son efectivos en la reducción de la severidad de la enfermedad de Chagas aguda y congénita, pero no son efectivos en la fase crónica, pueden ser administrados por períodos extensos de tiempo, a menudo causan severos efectos adversos y la cura de la parasitosis solamente es alcanzada por el 50% de los pacientes tratados (Muelas y col., 2002).

La reducción de los derivados del 5-nitrofurano a radical anión nitro, seguida de una autooxidación de este radical con generación de radical anión oxígeno y de otros productos de reducción del oxígeno tal como el peróxido de hidrógeno y el radical hidroxilo, son los responsables del efecto tripanocida de estos fármacos (Figura 3) (Docampo y col., 1981a; Docampo y col., 1981b; Chauvière y Pieré, 2000). Se considera, entonces, que estos compuestos derivados del nitrofurano actúan superando la habilidad limitada de los parásitos para soportar la presión oxidante, propiciando un daño inducido por radicales libres en el ácido desoxirribonucleico y en los lípidos de las membranas del parásito (Docampo y col., 1981c).



Los derivados del 5-nitrofurano inhiben la reducción de la tripanotión disulfuro por la tripanotión reductasa, reduciéndose ellos mismos, sufriendo un clásico ciclo redox en aire para formar las especies reactivas de oxígeno tales como superóxido y peróxido de hidrógeno. Como el tripanotión ditiol es un captador de radicales libres, al bajar los niveles de este metabolito las células del parásito se vuelven hipersensibles al daño oxidante (Fairlamb, 1990). La utilización de la enzima en estos derivados del nitrofurano constituye una subversión de su rol normal antioxidante en el parásito; por tal motivo

estos compuestos fueron denominados substratos «subversivos» para la tripanotión reductasa (Docampo, 1990). Investigaciones realizadas más recientemente con varios compuestos representativos: 2-nitroimidazoles, 5-nitroimidazoles y 5-nitrofuranos, arrojaron como resultado que el Nifurtimox y compuestos relacionados actúan en el ciclo redox, mientras que otros compuestos más activos, como el 5-nitroimidazol Megazol, actúan como recolectores de tioles particularmente para la tripanotión, el cofactor de la tripanotión reductasa (Maya y col., 2003). El incremento en el conocimiento de la biología básica del *T. cruzi* está permitiendo la producción de una quimioterapia nueva, desarrollada racionalmente y específica para la enfermedad de Chagas (Urbina y Docampo, 2003; Szajnman y col., 2000).

Efectos tóxicos de los nitrofuranos

Los nitrofuranos no son muy tóxicos; la Nitrofurazona, como es un fármaco de aplicación tópica, es capaz de producir fenómenos de hipersensibilidad local, o bien dermatitis y eczemas que desaparecen con la suspensión del fármaco. La Nitrofurantoína puede producir irritación gastrointestinal con anorexia, náuseas, vómitos y menos frecuentemente diarrea. Los efectos adversos más serios de la Nitrofurantoína son las reacciones pulmonares: puede presentarse neumonitis aguda con fiebre, tos y disnea. Estas reacciones son mediadas inmunológicamente; son más frecuentes en ancianos y se revierten rápidamente al cesar la terapia (Yao y Moellering, 1995). Recientemente se ha reportado la aparición de toxicidad hepática y pulmonar después de la administración conjunta, de manera crónica, de Nitrofurantoína con Flucanazol. Se cree que la toxicidad puede ser causada por una potencial interacción de los fármacos cuyo mecanismo aún no se conoce (Linnebur y Parnes, 2004).

Hacia finales de los años 80, en Estados Unidos la FDA prohibió el uso de la Furazolidona y la Nitrofurazona en el tratamiento de infecciones en animales destinados a la producción de alimentos, basados en la idea de prevenir que sustancias carcinogénicas llegaran al consumo humano. La inducción al cáncer fue establecida en animales de laboratorio que recibían grandes cantidades de un nitrofurano dado, pero en humanos esto no ha sido determinado. Debido a esto se ha incrementado el interés en la evaluación toxicológica de estos compuestos, bien sea mediante estudios de citotoxicología *in vitro* o realización de bioensayos (Auro y col., 2004). También se han realizados estudios similares de toxicidad crónica y carcinogenicidad en ratones con el Nifurtimox (Iliatropoulos y col., 2006).

Derivados sintéticos del 5-Nitrofurano

Desde la década de los cincuenta hasta la actualidad,

se han sintetizado muchos derivados del 5-nitrofurano y se ha evaluado su posible actividad antibacteriana, antichagásica y hasta antifúngica. Los primeros compuestos preparados fueron básicamente el resultado de una sustitución isostérica de los nitrógenos por carbonos, entre los que se destacan: los derivados de (2-(5-furil)vinil)azoles y azinas, los cuales fueron preparados mediante la condensación del 5-nitro-2-furfuraldehído con azoles y azinas, sustituidas con grupos metilos y metilenos activos. La mayoría de estos compuestos presentaron propiedades antibacterianas y algunos también actividad antifúngica y antiprotozoaria, 1 y 2 (Fujita y col., 1966). Los ésteres 3-(2-(5-nitro-2-furil)vinil)-5-oxo-2-isoxazolina-4-carboxilato de etilo 3, y 3-(2-(5-nitro-2-furil)vinil)-5-oxo-1-fenil-2-pirazolina-4-carboxilato de etilo 4, obtenidos a partir de la condensación del 3-(5-nitro-2-furil)acriloximalonato de dietilo con clorhidrato de hidroxilamina y clorhidrato de fenilhidrazina en etanol, que resultaron activos contra los microorganismos *E. coli*, *Staph. aureus* y *T. vaginalis* (Ito y Sugihara, 1966). Otros compuestos que resultaron activos fueron los derivados 4-(5-nitro-2-furil)-3-*n*-alquil-3-buten-2-ona 5, que se sintetizaron mediante la reacción de cetonas con el 5-nitrofurfural en presencia de ácido clorhídrico gas como nuevo catalizador (Ueno y Sakai, 1966). Se desarrollaron compuestos que combinaron la estructura de los 5-nitrofuranos con la de las sulfonamidas antibacterianas con miras a lograr una potente actividad antibacteriana 6 y 7 (Wada y col., 1969). Se sintetizaron derivados 5-nitro-2-furiltioéteres de estructura general 8 (Yoshina y col., 1971). En virtud de que Nitrofurantoína 9 era un potente agente antibacteriano, se sintetizaron análogos sustituidos en posición 3 con grupos aminoalquilo 10, que resultaron activos contra bacterias como *E. coli*, *Staph. aureus* y *S. pyogenes* (Spencer y col., 1973). La actividad de algunos 5-nitrofuranos como posibles agentes antibacterianos utilizados en infecciones del tracto urinario dirigió a la síntesis de una serie de derivados *N*-sustituidos 1-((5-nitrofuranyl)metilen)amino)-4-*y/o*-5-sustituidos-2-imidazolidin-onas 11, que fueron muy activos contra *E. coli* (Snyder y col., 1975) (Figura 4).

Entre derivados sintéticos más nuevos del 5-Nitrofurano se encuentran los análogos de la Nifuroxazida, el cual es un nitrofurano que se utilizó en el tratamiento de infecciones entéricas en la década de los 60, sin embargo fue sustituido por otros agentes más activos o menos tóxicos, y así prescrito en pocos países como segunda o tercera opción para el tratamiento de infecciones gastrointestinales. Sin embargo, en vista de la alarmante diseminación del fenómeno de la multiresistencia bacteriana, se ha enfocado un nuevo interés en este fármaco y en el año 1998 se sintetizaron nuevos derivados en los cuales se reemplazó el sustituyente hidroxilo en posición 4 del anillo bencénico por los

Figura 4

Estructuras de algunos de los primeros derivados del 5-Nitrofurano sintetizados

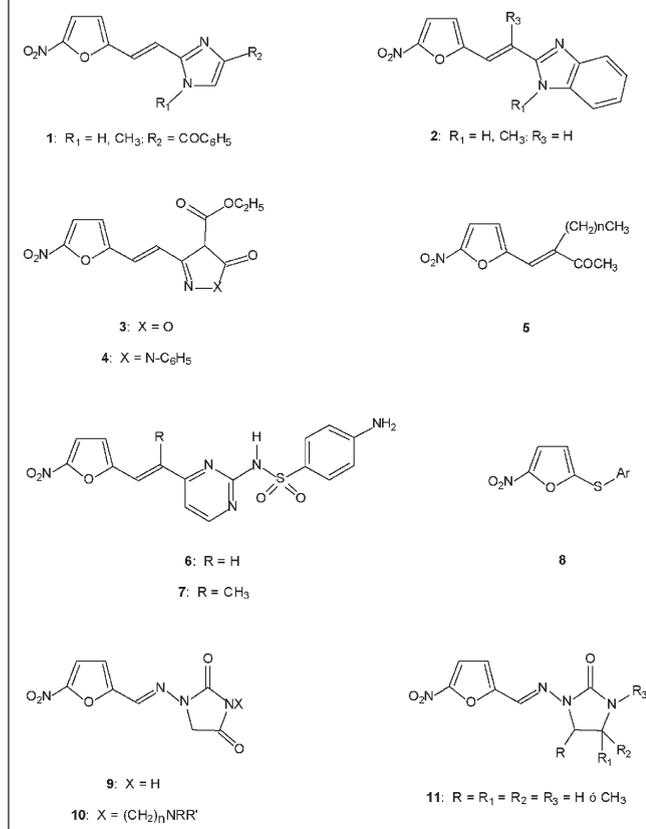
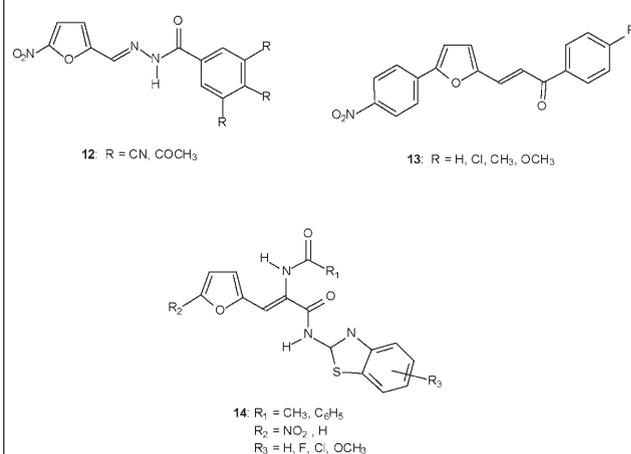


Figura 5

Estructuras de derivados del 5-Nitrofurano sintetizados recientemente



grupos acetil y ciano 12 (Tavares y col., 1999; Tavares y col., 1997). Se han realizado modificaciones estructurales en los nitrofuranos con la finalidad de reducir su toxicidad, en la que se introdujo un fenilo entre el furano y el grupo nitro, obteniéndose cuatro nuevos compuestos 1-aril-3-[5-*p*-(nitrofenil)-2-furil]-2-propen-1-onas, partiendo de las acetofenonas sustituidas y *p*-nitrofenil furfuraldehído 13. La actividad antibacteriana de estos nuevos compuestos fue ensayada contra *E. coli*, *Staph. aureus* y *P. aeruginosa*, resultando algunos de estos derivados muy activos, especialmente contra la *E. coli* (Holla y col., 2001). Como un aporte a la investigación que se realiza en el campo de los derivados del furano, reportamos la síntesis, la caracterización estructural y la evaluación preliminar de la posible actividad antibacteriana de nuevos compuestos derivados del furano, benzotiazolilnitrofuranos 14. La estrategia de síntesis fue de tipo convergente y consistió en la obtención de un intermediario clave, denominado azalactona y su posterior acoplamiento con el 2-aminobenzotiazol sustituido (Monasterios y col., 2003; Charris y col., 2002) (Figura 5).

Modelado molecular de los derivados del 5-Nitrofurano

Los primeros estudios de modelado molecular en

derivados del 5-nitrofurano se realizaron mediante una estrategia de tipo indirecto y se remontan al año 1964, 20 años después que fuera reportada su actividad antibacteriana por Dodd y Stilmann. Como era conocido que los efectos biológicos de estos compuestos involucra su paso por el ciclo redox y la producción del radical anión oxígeno, dos procesos en los cuales se requiere la formación del radical anión nitro, lo que a su vez depende de las propiedades electrónicas de las moléculas que pueden ser expresadas como descriptores de la química cuántica (Docampo y Stoppani, 1979), las primeras investigaciones fueron en esta dirección; así, Yoneda y Nitta determinaron cuatro índices de reactividad usando los métodos de combinación lineal de orbitales atómicos y orbitales moleculares (LCAO-MO) (Yoneda y Nitta, 1964). Seguidamente en 1967 Hirano y colaboradores, utilizando el método de orbital molecular de Hückel, calcularon parámetros electrónicos tales como la aproximación de superdeslocalizabilidad, la densidad electrónica de frontera y la energía del nivel desocupado más bajo y las correlacionaron con su actividad antibacteriana (Hirano y col., 1967).

Paulino y col. realizaron un estudio en derivados del Nifurtimox donde determinaron descriptores de química cuántica tales como la energía del orbital LUMO, densidad electrónica en átomos específicos y carga atómica neta en átomos relevantes, utilizando el método semiempírico MNDO-PM3 (Paulino y col. 1992). Otro estudio fue un análisis de QSAR en el que se incluyó como parámetro la energía del orbital LUMO que fue determinada por el método AM1, donde se concluyó que los compuestos que presentan sustituyente atractores de electrones son menos activos como antibacterianos, que los no sustituidos o los sustituidos con dadores de electrones (Pires y col., 2001). En un estudio novedoso de modelado

molecular se postuló un Farmacóforo tipo A (Conformación Bioactiva) para compuestos 5-nitroheterocíclicos con actividad antichagásica, basándose en la disposición espacial de los sustituyentes y en las distancias entre átomos considerados como relevantes para esta actividad quimioterápica (Monasterios y col., 1998). Otro estudio realizado consistió en el desarrollo de un modelo CoMFA-SIMCA con derivados de la Nitrofurazona con posible actividad antichagásica que describe los rasgos estructurales y electrónicos que deben estar presentes en un farmacóforo para la tripanotión reductasa (Martínez-Merino y col., 2001). En este mismo contexto se reportó una investigación de modelado molecular donde se diseñaron compuestos derivados del 5-nitrofurano que tendrían una forma complementaria al sitio activo de la tripanotión reductasa y de la glutatión reductasa (Paulino y col., 2002).

Recientemente se reportó un estudio computacional empleando métodos de mecánica cuántica y de mecánica molecular donde se determinaron los requerimientos estructurales, electrónicos y electrostáticos, que deben cumplir para que presenten actividad antibacteriana. Entre los requisitos para una potente actividad antibacteriana de estos derivados se encuentra una orientación espacial común propuesta como «Conformación Bioactiva», deficiencia electrónica en el LUMO, baja energía, baja densidad electrónica, potencial electrostático negativo en los oxígenos del grupo nitro y en el anillo nitrogenado del sustituyente, un área de potencial electrostático positivo que abarca el nitrógeno del grupo nitro y los protones del furano, y parece ser indispensable un potencial positivo en el C2 del furano. Finalmente podemos concluir que los resultados obtenidos confirman que su actividad depende de su función de aceptor de electrones y no de su reactividad (Monasterios y col., 2005).

En otra investigación muy relacionada se realizó una evaluación preliminar de la actividad antibacteriana, la determinación del potencial electrostático molecular y de propiedades electrónicas relevantes para su función de aceptores de un electrón de una serie de compuestos activos y análogos inactivos derivados del furano, previamente sintetizados por nuestro grupo de investigación, con la finalidad de establecer un patrón de superficie de potencial electrostático y los parámetros electrónicos que están presente en los compuestos activos y cómo varían cuando son inactivos. Entre estos requisitos encontramos que la superficie de potencial electrostático del anillo del furano parece ser importante para la actividad antibacteriana, debido a que debe haber un balance entre las áreas positivas y negativas, también parece ser importante el tamaño del área de potencial electrostático positivo presente en el sustituyente en posición dos del anillo del furano, porque de acuerdo a éste los compuestos pueden

ser activos contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas (cuando es continua), o sólo contra Gram-negativas (cuando está interrumpida). Las energías asociadas al LUMO y al HOMO, difieren considerablemente en los compuestos activos y en los inactivos (Monasterios y col., 2006).

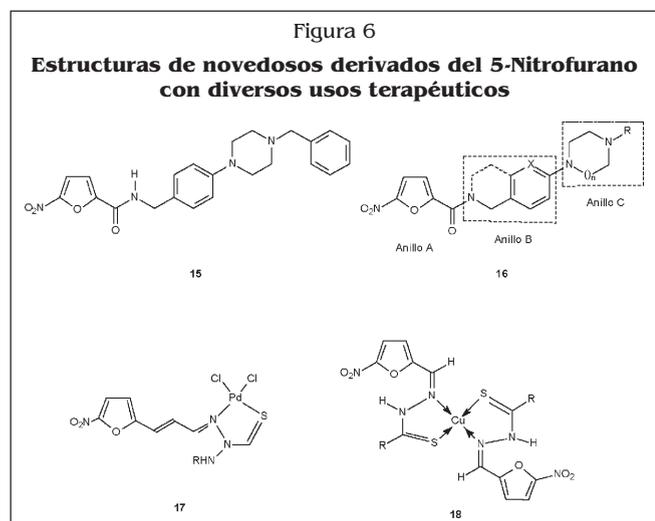
La elucidación de la estructura tridimensional de la enzima tripanotión reductasa (TryR) del *T. cruzi*, representó el primer paso para el diseño racional de fármacos contra la enfermedad de Chagas, ya que permite realizar estudios de modelado molecular directo o *docking* para los inhibidores de esta enzima, entre los cuales se encuentran los derivados del 5-nitrofurano. La TryR es una flavoenzima que ayuda a mantener un medio ambiente intracelular reducido en los tripanosomatidos; esta función protectora la realiza por la reducción del tripanotión disulfuro (T(S)₂) a tripanotión ditiol (T(SH)₂) (Meiering y col., 2005). Una de las primeras investigaciones fue la realizada por Bond y col. en la que se reportó la estructura del complejo TryR-T(S)₂, con una resolución de 2,40 Å. De esta estructuras fueron inferidas las interacciones químicas involucradas en el reconocimiento de la enzima y la unión con el sustrato (Bond y col., 1999).

Posteriormente fue reportado un estudio de *docking* teórico en los sitios activos de la TryR y glutatión reductasa (GluR) con los sustratos naturales correspondientes T(S)₂, glutatión disulfuro y con cuatro compuestos 5-nitrofurano, previamente diseñados como potenciales agentes antichagásicos, donde se encontró una correlación muy buena entre la actividad inhibitoria diferencial y la energía de interacción relativa (afinidad) (Iribarne y col., 2002). Aguirre y colaboradores desarrollaron unos nuevos derivados de tipo 5-nitro-2-furaldehído semicarbazonas, así como también 5-nitro-2-furfuriliden amino ésteres y sus análogos tiofenos, como potenciales agentes antichagásicos, que fueron diseñados usando cálculos con campos de fuerza del sitio catalítico de la enzima Tripanotión reductasa del *T. cruzi*. Los compuestos sintetizados fueron ensayados *in vitro* contra el *T. cruzi* y más de 75% de estos compuestos resultaron ser más activos que el Nifurtimox (Aguirre y col., 2004).

Más recientemente se realizó un *docking* serie de ocho compuestos derivados del 5-nitrofurano y el 5-nitrotiofeno con los tres posibles sitios de unión de la TryR y la GluR, a saber, el sitio activo, el sitio de interfase dimérica y el sitio de unión de la coenzima NADPH. Los resultados de *docking* sugieren que hay una tendencia general de los compuestos estudiados a formar complejos en el sitio de interfase de ambas enzimas TryR y GluR, indican también que la porción nitrofurano y nitrotiofeno tienen un papel predominante sobre el resto de la molécula, en la selección de una manera de unión no competitiva (Vega-Tejido y col., 2006).

¿Hacia dónde se dirige la investigación en derivados del 5-Nitrofurano?

La investigación en el campo de derivados del 5-nitrofurano tiene como objetivo la búsqueda de nuevos horizontes en lo que a quimioterapia se refiere y en lo que al descubrimiento de otro tipo de derivados activos. En este contexto está inmerso el descubrimiento de un nuevo compuesto líder derivado del 5-nitrofurano **15**, identificado en un programa de búsqueda de nuevos compuestos antituberculosos. En un esfuerzo para aumentar la biodisponibilidad de este nuevo compuesto, Tangallapally y colaboradores sintetizaron una serie de derivados usando tres esquemas de modificación, en el anillo A, anillo B y anillo C de estos derivados **16** (Tangallapally y col., 2006). Otras investigaciones novedosas que actualmente se están realizando con estos derivados es formar complejos con metales como el paladio y el cobre. De esta manera se ha reportado la síntesis y evaluación de la posible actividad antichagásica de complejos de nitrofuriltiosemicarbazona con paladio (II) **17**, los cuales mostraron una alta inhibición del crecimiento de *T. cruzi* (Otero y col., 2006). Así como también la síntesis y evaluación de la posible actividad contra el protozoo *E. histolytica* de complejos 5-nitrofurano-2-carboxaldehidotiosemicarbazonas con cobre (II) **18** (Sharma y col., 2005) (Figura 6).



Como un aporte adicional en el campo de estos compuestos derivados del 5-nitrofurano, y más específicamente en la dilucidación de su mecanismo de acción, se realizó una investigación con miras a determinar la existencia de una correlación entre la actividad antibacteriana de estos derivados y su capacidad para ser reducidos en un medio químico *in vitro* como lo es la reacción de desplazamiento de gas de agua utilizando un complejo de rodio (I) inmovilizado sobre poli (4-vinilpiridina) como catalizador (Farkas y col., 2006).

Agradecimientos

Al Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia y al Consejo de Desarrollo Científico y Humanístico de la Universidad Central de Venezuela por los financiamientos otorgados para el desarrollo y divulgación de las investigaciones realizadas.

Referencias bibliográficas

- AGUIRRE G, CABRERA E, CERECETTO H, DI MAIO R, GONZÁLEZ M, SEOANE G, DUFFAUT A, DENICOLA A, GIL MJ Y MARTÍNEZ-MERINO V. (2004). Design, synthesis and biological evaluation of new potent 5-nitrofuryl derivatives as anti *Trypanosoma cruzi* agents. Studies of trypanothione binding site of trypanothione reductasa as target for rational design. *Eur J Med Chem.* 39: 421-431.
- ÅKERBLOM EB. (1974). Synthesis and Structure-Activity Relationships of a serie of Antibacterially Active 5-(5-Nitro-2-furfurylidene)thiazolones, 5-(5-Nitro-2-furylpropenylidene)thiazolones y 6-(5-Nitro-2-furyl)-4H-1,3-thiazinones. *J Med Chem.* 17: 609-615.
- AURO A, SUMARO H, OCAMPO L Y BARRAGÁN A. (2004). Evaluation of the carcinogenic effects of Furazolidone and its metabolites in two fish species. *Pharmacogenomics J.* 4: 24-28.
- BROCK TD, MADIGAN MT, MARTINKO JM Y PARKER J. (1994). Biology of Microorganisms, 7^a edition, Prentice Hall, Estados Unidos de Norteamérica.
- BOND CS, ZHANG Y, BERRIMAN M, CUNNINGHAM L, FAIRLAMB AH Y HUNTER NW. (1999). Crystal structure of *Trypanosoma cruzi* trypanothiones reductasa in complex with trypanothione, and the structure-based discovery of the new natural products inhibitors. *Structure.* 7: 81-89.
- BRYANT DW, McCALLA DR, LEEKSMA M Y LANEUVILLE P. (1981). Tipe I Nitroreductases of Escherichia coli. *Can J Microbiol.* 27: 81-86.
- CASTRO SL. (1993). The challenge of Chagas' disease chemotherapy: An update of drugs assayed against *Trypanosoma cruzi*. *Acta Trop.* 53: 83-98.
- CHARRIS J, MONASTERIOS M, DOMÍNGUEZ J, INFANTE W Y DE CASTRO N. (2002). Synthesis of some 5-Nitro-2-furfurylidene derivatives and their antibacterial and antifungal activities. *Heterocycl Comm.* 8: 275-280.
- CHAUVIÈRE G, VIODÉ C Y PÉRIÉ J. (2000). Nucleophilic Substitution Studies on Nitroimidazoles, and Applications to the Synthesis of Biological Active Compounds. *J Heterocyclic Chem.* 37: 119-126.
- DANI R, QUEIROZ DM, DÍAS MG, FRANCO JM, MAGALHAES LC, MENDES GS, MOREIRA LS, DE CASTRO LP, TOPPA NH, ROCHA GA, CABRAL MM Y SALLES PG. (1999). Omeprazole, Clarithromycin and Furazolidone for eradication of *Helicobacter pylori* in patients with duodenal ulcer. *Aliment Pharmacol Ther.* 13: 1647-1652.
- DELGADO JN Y REMERS WA. (1991). *Wilson and Gisvold's Textbook of Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry.* 9^{na} edition. J. B. Lippincott Company.
- DOCAMPO R Y STOPPANI AOM. (1979). Generation of superoxide anion and hydrogen peroxide induced by Nifurtimox in *Trypanosoma cruzi*. *Arch. Biochem Bioph.* 197: 317-321.

- DOCAMPO R, MASON RP, MOTTLEY C Y MUNIZ RPA. (1981 (b)). Generation of free radicals induced by Nifurtimox in mammalian tissues. *J Biol Chem.* 256: 10930-10933.
- DOCAMPO R, MORENO SNJ, STOPPANI AOM, LEON W, CRUZ FS, VILLALTA F Y MUNIZ RPA. (1981(a)). Mechanism of Nifurtimox Toxicity in different forms of *Trypanosoma cruzi*. *Biochem Pharmacol.* 30: 1947-1951.
- DOCAMPO R, MORENO SNJ Y STOPPANI AOM. (1981(c)). Nitrofurans enhancement of microsomal electron transport, superoxide anion production and lipid peroxidation. *Arch Biochem Biophys.* 207: 316-324.
- DOCAMPO R. (1990). Sensitive of parasites to free radical damage by antiparasitic drugs. *Chemico-Biological Interactions.* 73: 1-27.
- DODD MC Y STILLMAN WB. (1944). The in vitro bacteriostatic action of some simple furan derivatives. *J Pharmacol Exp. Ther.* 82: 11-18.
- FAIRLAMB AH. (1990). *Future prospects for the chemotherapy of human trypanosomiasis*. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene. 84: 613-617.
- FARKAS ME, RODRÍGUEZ E, LONGO C, MONASTERIOS M, ORTEGA MC, RIVAS AB, PARDEY AJ Y MOYA SA. (2006). Reduction of nitrofurans catalyzed by a Rhodium Complex immobilized on Poly-(4-vinylpyridine): A Relationship with Antibacterial Activity. *J Chil Chem. Soc.* 50: 779-785.
- FUJITA A, ARITOMI J, MINAMI S Y TAKAMATSU H. (1966). Studies on Nitrofurans Derivatives V. Synthesis of (2-5-Nitro-2-furyl)vinilazoles and azinaes. *Yakugaku Zasshi.* 86: 427-432.
- GRAHAM DY, OSATO MS, HOFFMAN J, OPEKUN AR, ANDERSEON SY Y EL-ZIMAITRY HM. (2000). Furazolidone combination therapies for *Helicobacter pylori* infection in United States. *Aliment Pharmacol Ther.* 14: 211-215.
- GRINGAUZ A. (1997). *Introduction to Medicinal Chemistry; How Drugs act and why*. Willey-VCH, Inc.
- HIRANO K, YOSHINA S, OKAMURA K Y SUSUKA I. (1967). Electronic aspect of the antibacterial of nitrofurans derivatives. *Bull Chem Soc Japan.* 40: 2229-2233.
- HOF H. (1989). Antibacterial activities of the antiparasitic drugs Nifurtimox and Benzimidazole. *Antimicrob Agents Chemother.* 33: 404-405.
- HOLLA BS, AKBERALI PM Y SHIVANANDA MK. (2001). Studies on nitrophenylfuran derivatives Part XII. Synthesis, characterization, antibacterial and antiviral activities of some nitrophenylfurfurylidene-1,2,4-triazolo (3,4-b)-1,3,4-thiadiazines. *IL Farmaco.* 56: 919-927.
- IATROPOULOS MJ, WANG CX, VON KEUTZ E Y WILLIAMS GM. (2006). Assessment of chronic toxicity and carcinogenicity accelerated cancer bioassay in rats of Nifurtimox, an antitrypanosomiasis drug. *Exp Toxicol Pathol.* 57: 397-404.
- IRIBARME F, PAULINO M, AGUILERA S, MURPHY M Y TAPIA O. (2002). Docking and Molecular dynamics studies at trypanothione reductase and glutathione reductase active sites. *J Mol Model.* 8:173-183.
- ITO M Y SUGIHARA A. (1966). Synthesis of Nitrofurans Derivatives IX. Reactions of diethyl 3-(5-Nitro-2-furyl)acryloylmalonate with Amines. *Yakugaku Zasshi.* 86: 1187-1190.
- LINNEBUR SA Y PARNES BL. (2004). Pulmonary and hepatic toxicity due Nitrofurantoin and Fluconazole treatment. *Ann Pharmacother.* 38: 612-616.
- LITTER M. (1988). *Farmacología experimental y clínica*. 7ª edición, El Ateneo, Argentina.
- LIU WZ, XIAO SD, SHI Y, WU SM, ZHANG DZ, XU WW Y TYTGAT GN. (1999). Furazolidone-containing short-term triple therapies are effective in the treatment of *Helicobacter pylori* infection. *Aliment Pharmacol Ther.* 13: 317-322.
- LOEW GH, VILLAR HO Y ALKORTA I. (1993). Strategies for Indirect Computer-Aided Drug Design. *Pharmaceut Res.* 10: 475-486.
- MARTÍNEZ-MERINO V Y CERECETTO H. (2001). CoMFA-SIMCA Model for Antichagasic Nitrofurazone Derivatives. *Bioorgan. Med Chem.* 9: 1025-1030.
- MARSHALL GR. (1989). Computer-aided Drug Design, en *Computer-Aided Molecular Design*. W. G. Richards editors. Oxford University, U. K.
- MAYA JD, BOLLO S, NUÑEZ-VERGARA LJ, SQUELLA JA, REPETTO Y, MORILLO A, PÉRIÉ J Y CHAUVIÈRE G. (2003). *Trypanosoma cruzi*: effect and mode of action of nitroimidazole and nitrofurans derivatives. *Biochem Pharmacol.* 65: 999-1006.
- MEIERING S, INHOFF O, MIES J, VINCEK A, GARCÍA G, KRAMER B, DORMEYER M Y KRAUTH-SIEGEL L. (2005). Inhibitors of *Trypanosoma cruzi* Trypanothione reductase revealed by virtual screening and parallel synthesis. *J Med Chem* 48: 4793-4802.
- MONASTERIOS M, AVENDAÑO M, AMARO MI, INFANTE W Y CHARRIS J. (2006). Relation Between Electrostatic Molecular Potential, Several Electronic Properties and Antibacterial Activity of Some Synthetic Furane Derivatives. *J Mol Struct* 798: 102-108.
- MONASTERIOS M, CAPOBIANCO M Y CORDERO MI. (1998). Conformational analysis of Nifurtimox and derivatives applied to the rational design of trypanocidal drugs. *An Quim-Int Ed.* 94: 345-348.
- MONASTERIOS M, CHARRIS J, INFANTE W Y DE CASTRO N. (2003). Avance en la síntesis de Derivados del 5-Nitrofurano con posible actividad antibacteriana. *Revista de la Facultad de Farmacia.* 66: 27-32.
- MONASTERIOS M, ESCORCHE M Y AVENDAÑO M. (2005). Conformational Analysis, Electronic Properties and Molecular Electrostatic Potential of Nitrofurans derivatives with Antibacterial Activity. *J Mol Struct.* 748: 49-55.
- MUELAS S, SUÁREZ M, PÉREZ R, RODRÍGUEZ H, OCHOA C, ESCARIO JA Y GÓMEZ-BARRIO A. (2002). In Vitro and in Vivo Assays of 3,5-Disubstituted-Tetrahydro-2H-1,3,5-Thiadiazin-2-Thione Derivatives against *Trypanosoma cruzi*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz.* 97: 269-272.
- OTERO L, VIEITES M, BOIANI L, DENICOLA A, RIGOR C, OLEA-AZAR C, MAYA JD, MORILLO A, KRAUTH-SIEGEL L, PIRO OE, CASTELLANO E, GONZÁLEZ M, GAMBINO D Y CERECETTO H. (2006). Novel antitrypanosomal agents based on palladium nitrofuranylthiosemicarbazone complexes: DNA and redox metabolism as potential therapeutic targets. *J Med Chem.* 49: 3322-3331.
- PAULINO M, HANSZ M Y HIKICHI N. (1992). Electronic properties and free radical production by nitrofurans compounds. *Free Radical Res Comm.* 16: 207-215.
- PAULINO M, IRIBARME F, HANSZ M, VEGA M, SEOANE G, CERECETTO H, DI MAIO R, CARACELLI I, ZUKERMAN J, OLEA C, STOPPANI AOM, BERRIMAN M, FAIRLAMB A Y TAPIA O. (2002). Computer assisted design of potentially active anti-trypanosomal compounds. *J Mol Struct. (THEOCHEM).* 584: 95-105.

- PIRES JR, SAITO C, GOMES SL, GIESBRECHT AM y T-DO AMARAL A. (2001). Investigation of 5-Nitrofurán Derivatives: Synthesis, Antibacterial Activity, and Quantitative Structure-Activity Relationships. *J Med Chem.* 44: 3673-3681.
- SHAHVERDI AR, FAZELI MR, RAFFI F, KAKAVAND M, JAMALIFAR H y HAMED J. (2003). Inhibition of nitrofurantoin reduction by menthol leads to enhanced antimicrobial activity. *J Chemotherapy.* 15: 449-453.
- SHARMA S, ATHAR F, MAURYA MR, NAQVI F y AZAM A. (2005). Novel bidentate complexes of Cu (II) derived from 5-nitrofurán-2-carboxaldehyde thiosemicarbazones with antiamoebic activity against *E. histolytica*. *Eur J Med Chem.* 40: 557-562.
- SNYDER H, BIRD LL, SIEDLER AJ y ANDERSEN J. (1975). 1-(((5-Nitrofuranyl) metileno)amino) - 4-and/or - 5 - substitued-2-Imidazolidinones. *J Med Chem.* 18: 942-948.
- SPENCER CF, MICHELS JG, WRIGHT GC y YU CN. (1973). Synthesis of 3-(Aminoalkyl)-1-((5-nitrofurilidene)amino)hidantoinos. *J Med Chem.* 16: 953-956.
- SZAJNMAM SH, YAN W, BAILEY BN, DOCAMPO R, ELHALEM E y RODRÍGUEZ J. (2000). Design and Síntesis of Aryloxirthil Thiocianate Derivatives as Potent Inhibitors of Trypanosoma cruzi Proliferation. *J Med Chem.* 43: 1826-1840.
- TANGALLAPALLY RP, LEE REB, LENAERTS AJM y LEE RE. (2006). Synthesis of new and potent analogues of anti-tuberculosis agent 5-nitro-furán-2-carboxylic acid 4-(4-benzil-piperazin-1-yl)-benzilamina with improved bioavaiability. *Bioorg Med Chem Lett.* 16: 2584-2589.
- TAVARES LC, CHISTÉ JJ, SANTOS MGB y PENNA TVC. (1999). Synthesis and biological activity of Nifuroxazide and analogs II. *Bolletino Chimico Farmaceutico.* 138: 432-436.
- TAVARES LC, PENNA TVC y AMARAL AT. (1997). Synthesis and biological activity of Nifuroxazide and analogs. *Bolletino Chimico Farmaceutico.* 136: 244-249.
- TOROPCHIN VI, KABELSKII VV, BABITSKII VL, SAVCHENKO NA y TERESHCHENL VV. (2003). Treatment of patients with acute pneumonia. *Lik Sprava.* 3-4: 72-74.
- TOWSON SM, BOREHAM PFL, UPCROFT P y UPCROFT JA. (1994). Resistance to the nitroheterocyclic drugs. *Acta Trop.* 56: 173-194.
- UENO A, KONDO M y SAKAI S. (1966). 4-(5-Nitro-2-furil)-3-n-alkil-3-buten-2-one Compounds and their Antimicrobial Action. *Yakugaku Zasshi.* 86: 1030-1033.
- URBINA J y DOCAMPO R. (2003). Specific chemotherapy of Chagas disease: controversies and advances. *TRENDS in Parasitology.* 19: 495-501.
- VEGA-TEJIDO M, CARACELLI I y ZUKERMAN-SCHPECTOR J. (2006). Conformational analysis and docking studies of a series of 5-nitrofurán- and 5-nitrothiophen-semicarbazone derivatives in the possible binding sites of trypanothione reductasa and glutathione reductasa. *J Mol Graph Model.* 24: 349-355.
- WADA S, KUMAKI K y MURIGUCHI I. (1969). Synthesis of Antibacterial Agents having both Sulfanilamido and Nitrofuril-Groups in the Molecules. *Chem Pharm Bull.* 17: 2168-2170.
- WALZER P, KURTIS C, FOY J y ZHANG J. (1991). Furazolidone and Nitrofurantoin in the treatment of experimental Pneumocystis carinii. *Antimicrob Agents Ch.* 35: 158-163.
- WORLD HEALTH ORGANIZATION (2002). *Expert Comité. Control of Chagas disease. WHO technical report series.*
- YAO JDC y MOELLERING RC. (1995). *Antibacterial Agents, in Manual of Clinical Microbiology.* Patrick, R. Murry (ed.) 6ª edición. ASM PRESS. Washington DC.
- YONEDA F y NITTA Y. (1964). Electronic structure and antibacterial activity of nitrofurán derivatives. *Chem Pharm Bull.* 12: 1264-1268.
- YOSHINA S, AOKI M, ITO K y MIYAKE M. (1971). Studies on Heterocyclic Compounds XIV. Synthesis of 5-Nitro-2-uril Thioether Derivatives. *Yakugaku Zasshi.* 91: 467-475.
- ZHANEL GG, HOBAN DJ y KARLOWSKY JA. (2001). Nitrofurantoin is active against vancomycin-resistant enterococci. *Antimicrob. Agents Ch.* 45: 324-326.

Recibido: 23 de enero de 2007
Aceptado: 23 de febrero de 2007

Actividad antiinflamatoria del ácido 3-*epi*-ursólico y *docking* a la fosfolipasa A₂

Anti-inflammatory Activity of 3-*epi*-Ursolic Acid and Docking to PLA₂

MARIELLA PASTORELLO^{1*}, CARLOS E. CIANGHEROTTI¹, TRINA COLMAN²,
ÁNGEL AMESTY², DIOLIMAR BUITRAGO³ Y ANITA ISRAEL¹

Resumen

El ácido ursólico es un triterpeno pentacíclico ampliamente estudiado por sus propiedades antiinflamatorias, analgésicas y anticancerígenas, siendo considerado como su principal mecanismo de acción la inhibición de la fosfolipasa A₂ (FLA₂). Sin embargo, poco se conoce acerca de las propiedades farmacológicas de su epímero, el ácido 3-*epi*-ursólico (AeU). En este trabajo se evaluó la actividad antiinflamatoria del AeU, utilizando un modelo de edema agudo en la pata trasera de una rata, inducido por λ-carragenina tipo IV. El volumen desplazado por la pata fue medido antes, a la una y tres horas después de la inyección de la carragenina, mediante el uso de un pletismómetro digital. Adicionalmente se realizó un análisis del *docking* o acoplamiento del AeU a la FLA₂ y fue comparado con la interacción ligando-enzima del ácido ursólico. La administración oral de AeU inhibió el edema de la pata inducido por la carragenina comparado con el control, tanto a la primera como a la tercera hora post-carragenina, mostrando un efecto antiinflamatorio de un 49,8% y 54,4%, respectivamente ($p < 0,05$). El efecto antiinflamatorio fue comparable al obtenido con el compuesto de referencia fenilbutazona (80 mg/kg, p.o.). La superposición de las estructuras de ambos epímeros obtuvo un rms de 0,0058, y al igual que el ácido ursólico, el AeU se inserta en el sitio catalítico de la enzima FLA₂ con igual orientación. Nuestros resultados demuestran que el AeU posee actividad antiinflamatoria y se predice que este efecto ocurre debido a la virtual inhibición de la FLA₂.

Palabras clave: Ácido *epi*-ursólico, ácido ursólico, fosfolipasa A₂, inflamación.

Abstract

Ursolic acid is a pentacyclic triterpenoid widely studied for its antiinflammatory, analgesic and antineoplastic properties, being its major biological mechanism of action the inhibition of the phospholipase A₂ (PLA₂). However, the pharmacological property of its epimer, 3-*epi*-ursolic acid, is unknown. In this study, we evaluated the antiinflammatory activity of this epimer in rats, using a carrageenan-induced edema (type IV λ-carrageenan) in hind paw model. Volume displacement of hind paw was measured before, 1 and 3 h after carrageenan injection, using a digital plethysmometer. Additionally, docking analysis of 3-*epi*-ursolic acid to PLA₂ was compared with the ursolic acid-enzyme complex interaction. Oral administration of 3-*epi*-ursolic acid inhibited the carrageenan-induced paw oedema at 1 and 3 hour period (49,8% and 54,4%, respectively; $p < 0.05$). The anti-inflammatory effect was comparable to that of the reference drug phenylbutazone (80 mg/kg, p.o.). The structural superposition of both epimers resulted in a 0,0058 rms and also, both were able to be inserted to the catalytic site of PLA₂. Our results showed an antiinflammatory activity of the epimer possibly due to a virtual inhibition of the PLA₂.

Key words: *Epi*-ursolic acid, ursolic acid, phospholipase A₂, inflammation.

¹ Unidad de Neuropeptidos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

² Laboratorio de Bioensayos y Productos Naturales, Laboratorio de Modelado Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Caracas, Venezuela.

³ Instituto de Investigaciones, Facultad de Farmacia, Universidad de Los Andes, Mérida, Venezuela.

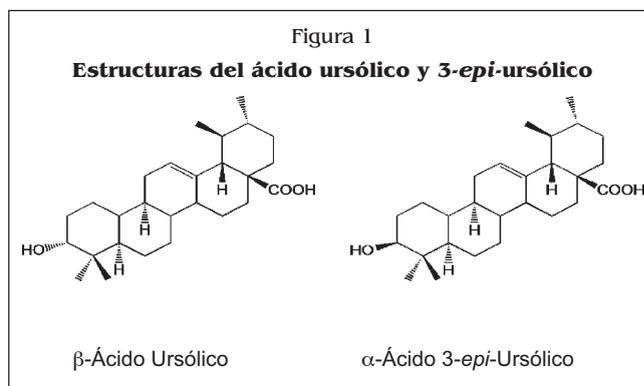
* Correspondencia a: Mariella Pastorello, Unidad de Neuropeptidos, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. e-mail: orexcan@yahoo.com, mariellap@hotmail.com

Introducción

Los triterpenos pentacíclicos constituyen una clase importante de productos naturales presentes en muchas plantas de uso medicinal, que se asemejan en su biogénesis a los esteroides en la ciclización del escualeno y sus acciones pleiotrópicas (Connolly y Hill, 2007). Un gran número de estos compuestos han sido estudiados farmacológicamente, encontrándose actividad anticancerígena y antiinflamatoria (Liu, 1995; Safayi y Sayler, 1997; Huguet y col., 2000). Las moléculas que presentan el esqueleto de lupano, oleanano y ursano son las principales responsables de la actividad antiinflamatoria de una diversidad de especies de plantas medicinales (Recio y col., 1995a; Banno y col., 2006). Asimismo, se han reportado varios de los mecanismos por medio de los cuales estos triterpenos ejercen su acción antiinflamatoria, entre los que destacan la inhibición de enzimas involucradas en la producción de eicosanoides como las ciclooxigenasas (COX₁ y COX₂) y la fosfolipasa A₂ (FLA₂); la inhibición de la liberación de citoquinas, histamina y serotonina; y la interacción con algunas serina/treonina quinasas (Safayi y Sailer, 1997; Huang y col., 1998; Hasmeda y col., 1999; Zhang y col., 2005; Nataraju y col., 2007).

Las fosfolipasas A₂ (FLA₂) forman una familia de enzimas claves en el recambio de los fosfolípidos de membranas y en la generación de diversas sustancias bioactivas: lisofosfolípidos, ácidos grasos libres y mediadores lipídicos de la inflamación. Existen dos grandes clases, las FLA₂ intracelulares o citosólicas (FLA_{2c}), y las FLA₂ de secreción (FLA_{2s}). Las formas extracelulares de las FLA₂ son extremadamente abundantes en las secreciones de las glándulas exocrinas como páncreas y glándulas venenosas de serpientes, abejas, escorpiones, así como en sitios inflamatorios. Tanto la isoforma secretada como la citosólica participan en procesos inflamatorios, a través de la producción de ácido araquidónico (precursor de eicosanoides pro-inflamatorios) a partir de los fosfolípidos presentes en la membrana plasmática. Por ello, la inhibición de la FLA₂ se ha convertido en una estrategia emergente para el descubrimiento y desarrollo de nuevos fármacos con actividad antiinflamatoria (Yedgar y col., 2000).

Recientemente se aisló e identificó de las hojas del *Cestrum buxifolium* Kunth un compuesto de naturaleza triterpénica pentacíclica, el ácido 3-*epi*-ursólico (AeU), el cual es un epímero del carbono 3 (C-3) del ácido ursólico (figura 1) (Ciangherotti y col., 2004). Algunos triterpenos, tales como el ácido ursólico y betulínico han sido identificados como una clase de inhibidores de la FLA₂ (Bernard y col., 2001; Nataraju y col., 2007). Sin embargo, a diferencia de su estereoisómero, la actividad antiinflamatoria del AeU aún no ha sido reportada. No obstante, este triterpeno ha sido propuesto como supresor de la expresi



ón de la COX-2 inducida por lipopolisacáridos en macrofagos (Suh y col., 1998). Por ello, en este trabajo nos propusimos evaluar si el AeU es capaz de inhibir el desarrollo del edema agudo inducido por λ -carragenina inyectada en la pata trasera de una rata, como modelo experimental para determinar su posible potencial antiinflamatorio. Por otro lado, hemos realizado el estudio comparativo por modelaje molecular y análisis de *docking* o acoplamiento a la FLA₂, de las propiedades electrónicas y estructurales del ácido ursólico y el AeU, para establecer la posible participación de la FLA₂ en el mecanismo de acción antiinflamatorio del AeU.

Materiales y métodos

ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

Para determinar la actividad antiinflamatoria del AeU se empleó el método de inducción del edema por inyección de carragenina en la pata de una rata (Winter, 1962; Bhatt, 1977). Se utilizaron ratas macho de la cepa Sprague-Dawley (180-220g) provenientes del Bioterio de Instituto Nacional de Higiene "Rafael Rangel" (Caracas). Los animales se mantuvieron en grupos de seis, en condiciones controladas de luz y temperatura (luz desde la 6:00 hasta las 18:00), con libre acceso a alimento y agua antes del experimento. Los procedimientos aplicados en estos experimentos fueron aprobados por la Comisión de Bioterio de la Facultad de Farmacia de la UCV.

Los animales fueron divididos en tres grupos experimentales: 1. control (carboximetilcelulosa al 2%, p.o); 2. fenilbutazona (FBZ) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, 80 mg/Kg, p.o), usada como droga antiinflamatoria de referencia; y 3. AeU (80 mg/Kg, p.o). El edema fue inducido mediante la inyección de 0,1 mL de una suspensión λ -carragenina tipo IV al 1% (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO) en la aponeurosis plantar de la pata trasera de la rata. Una vez transcurrido el tiempo de efecto pico para cada tratamiento (30 min. para el AeU y 1h para la FBZ), el edema desarrollado fue medido por desplazamiento de volumen de la pata, usando un pletismómetro digital (Ugo Basile 7140, Italia) antes, una y tres horas después de la administración de la carragenina.

MODELAJE MOLECULAR Y DOCKING A LA FLA₂

La optimización de la geometría de los dos ácidos epímeros se realizó con el programa CAChe 6.0 (Fujitsu Limited) y los modelos tridimensionales fueron construidos con el editor; posteriormente fueron minimizados mediante mecánica molecular aplicando MM₃ como campo de fuerza y se realizaron cálculos de dinámica molecular a 900 °K con el fin de obtener conformaciones cercanas al mínimo. A partir de la estructura cristalina de la isoforma secretada de la enzima FLA₂ (código IPOE, Protein Data Bank, 2007) se determinaron las condiciones para la simulación o *docking* con el programa ArgusLab 4.0.1 (Planaria Software LLC, USA), el cual permitió realizar una exploración geométrica y la comparación de las interacciones energéticas (ΔG : Kcal/mol) de cada ligando en el sitio activo, determinando las posiciones relativas ligando-enzima. El *docking* o acoplamiento fue llevado a cabo bajo la modalidad de enzima rígida y ligando flexible.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados de la actividad antiinflamatoria fueron expresados como la media \pm el error estándar de la media (EEM) del volumen desplazado y como porcentaje de inhibición del edema, calculado mediante la fórmula $(1-V_t/V_c) \times 100$, donde V_t y V_c son el volumen medio de la pata de los animales tratados y control, respectivamente. La diferencia entre el grupo control y los tratados fueron analizados utilizando una prueba de *t de Student* no pareada; un valor de $p < 0,05$ fue considerado como estadísticamente significativo.

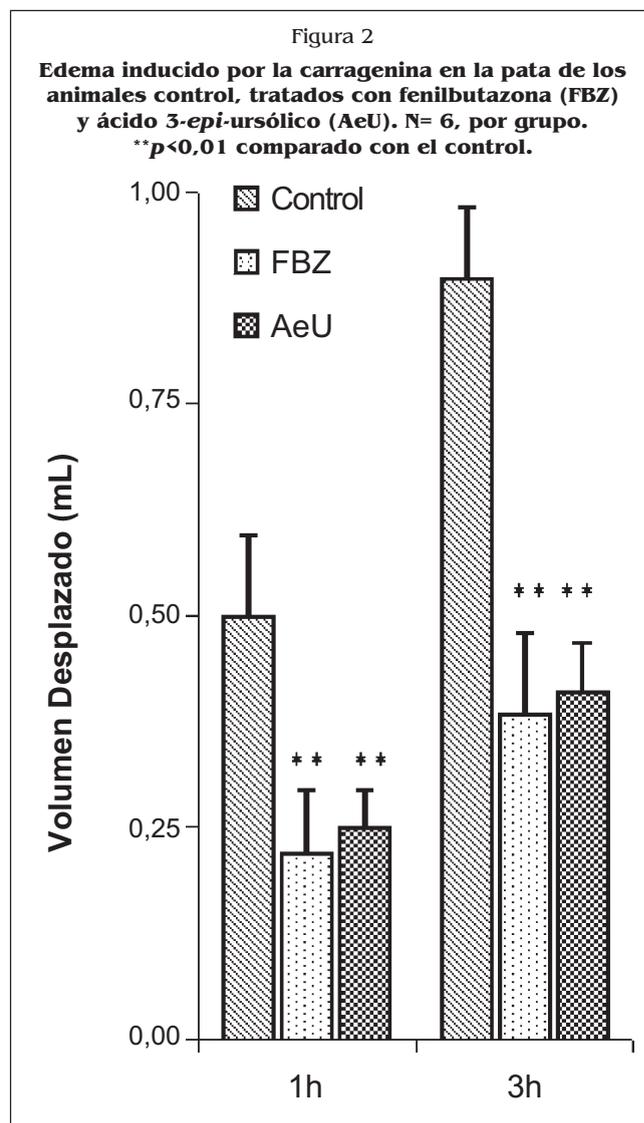
Resultados

1. ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA

La inyección intraplantar de la carragenina desarrolló un edema importante en la pata de la rata en el grupo control. La administración oral del ácido 3-*epi*-ursólico redujo significativamente la respuesta inflamatoria inducida por la carragenina, a la una y tres horas posteriores a la inyección (figura 2); siendo el porcentaje de inhibición de un 49,8% a la primera hora y 54,4% a la tercera hora (figura 3). Esta acción antiinflamatoria fue comparable a la producida por la droga de referencia fenilbutazona en los mismos períodos, es decir, la magnitud de la actividad antiinflamatoria de este compuesto es comparable con la de un antiinflamatorio no esteroideo (AINE) típico.

2. MODELAJE MOLECULAR Y DOCKING A LA FLA₂

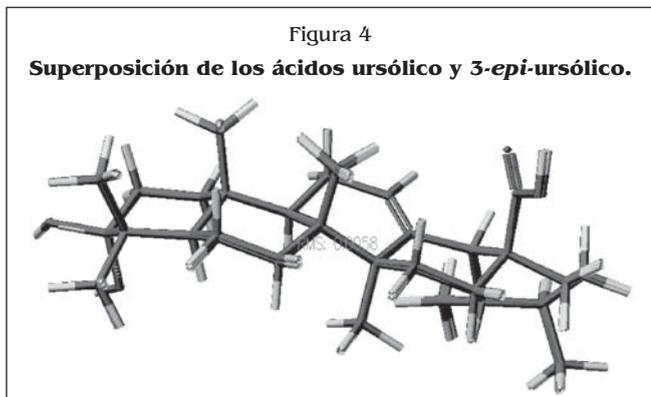
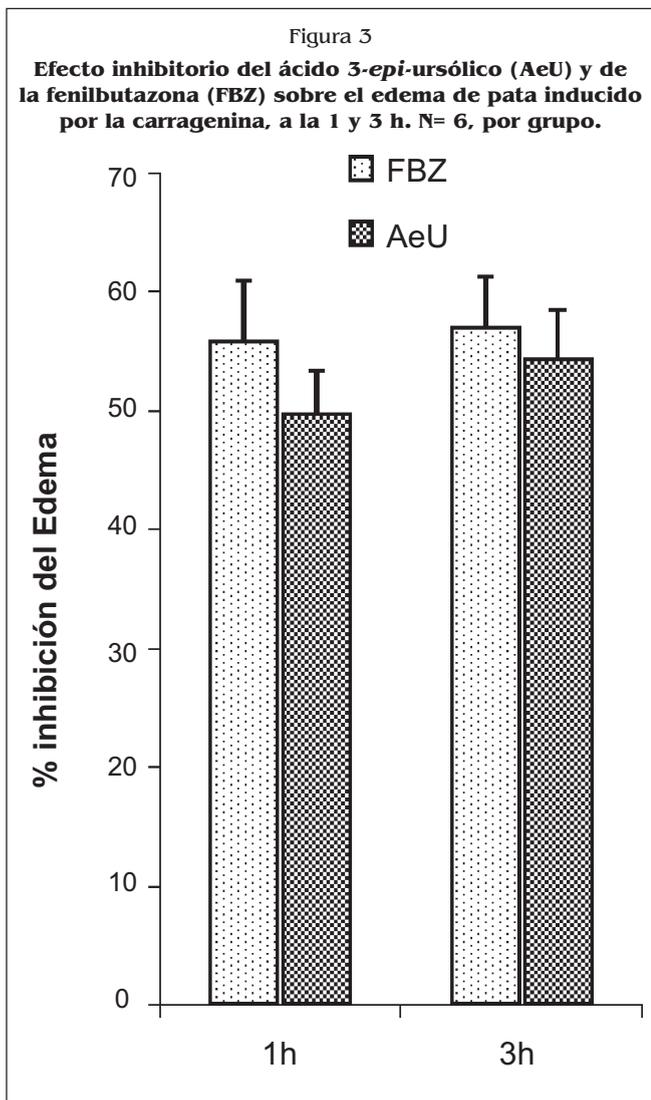
La superposición de las conformaciones más estable de los epímeros muestra una coincidencia de los esque-



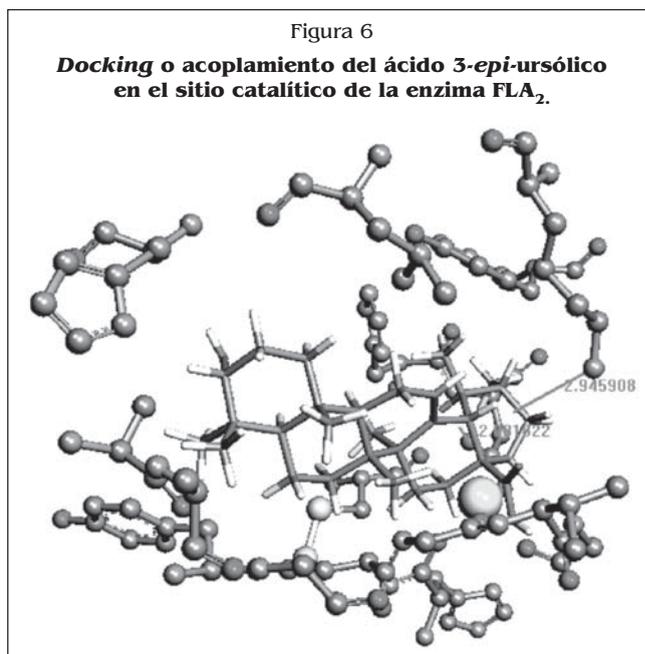
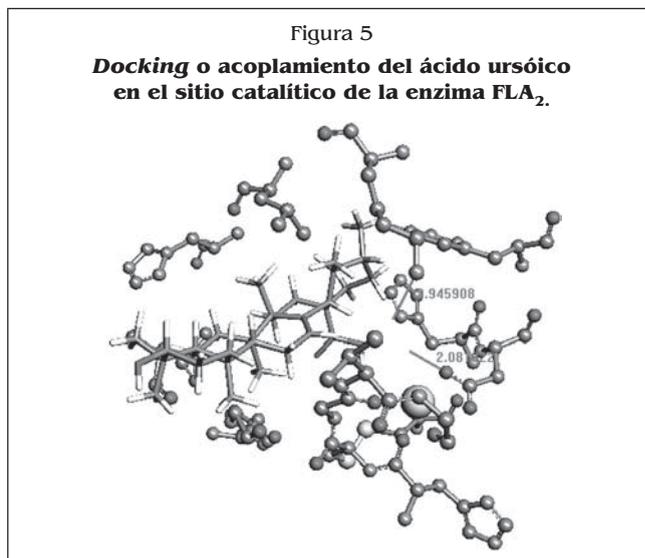
letos moleculares con un valor ideal de $rms = 0,0058$ (figura 4). La distancia entre el átomo de oxígeno del hidroxilo y el grupo carboxílico situado en el extremo del esqueleto hidrocarbonado son muy similares entre estos dos triterpenos (datos no mostrados). El análisis *docking* del AeU al complejo, reveló la importancia del grupo carboxílico como parte del grupo farmacofórico en la orientación dentro del sitio catalítico de la enzima. El *docking* de ambos ácidos se presenta en las figuras 5 y 6, en las cuales se puede confirmar que el AeU, al igual que el ácido ursólico, se inserta en el sitio catalítico de la enzima FLA₂, con energías de interacción comparables de $13,65 \pm 0,25$ y $13,55 \pm 0,19$ Kcal/mol, respectivamente.

Discusión

La respuesta inflamatoria aguda resulta en una primera fase de la liberación de histamina, serotonina y citoquinas, seguida de una elevada producción de prostaglandinas, especies reactivas de oxígeno, inducción



de la ciclooxigenasa-2 e infiltración y activación local de neutrófilos. El edema de la pata inducido por la carragenina es un método ampliamente utilizado para evaluar sustancias con posible actividad antiinflamatoria, ya que por su elevado poder antigénico es capaz de disparar los mecanismos del proceso inflamatorio de forma similar a la observada en la clínica (Di Rosa y col., 1971; García y col., 1973 y Vinegar y col., 1968).



El ácido ursólico es un potente agente antiinflamatorio. Este compuesto no sólo inhibe la elastasa en los leucocitos humanos, sino además la actividad de la 5-lipoxigenasa y de la ciclooxigenasa (Safayhi y col., 1997; Najid y col., 1992). Este mismo compuesto ha demostrado ser el componente más activo en la degranulación de mastocitos y la liberación de histamina en presencia de alérgenos (Tsuruga y col., 1991). En modelos de inflamación aguda, tales como el edema de la oreja de ratón inducido por acetato de 12-O-tetradecanoilforbol (TPA) o por propiolato de etilfenilo (EPP), así como en el edema de la pata de rata inducido por la carragenina, este terpeno ha exhibido actividad inhibitoria de la formación del edema (Recio y col., 1995a; Recio y col., 1995b). Similar a lo reportado previamente para su epímero, nuestros hallazgos muestran que la administración oral de AeU fue capaz de inhibir significativamente el desarrollo del

edema inducido por la carragenina, indicando que el isómero C-3- α -hidroxilo es activo y presenta un efecto inhibitorio comparable con la FBZ. Nuestros resultados se apoyan en lo descrito por Recio y col. (1995), quienes indican como requerimiento estructural para la actividad antiinflamatoria para los triterpenos de esqueleto ursano, la presencia de un grupo carboxílico en posición C-28 (Recio y col., 1995a), tal y como lo presentan los ácidos ursólico y *epi*-ursólico (figura 1). Asimismo, el análisis molecular comparativo entre estos isómeros, refleja una gran similitud de las estructuras moleculares y la distancia entre los grupos oxigenados (figura 4).

De los blancos moleculares y celulares del ácido ursólico propuestos hasta el presente (Yin y col., 1991; Najid y col., 1992; Ringbom y col., 1998; Nataraju y col., 2007), la enzima FLA₂ citosólica y la secretada han sido las de mayor importancia debido a que el complejo ligando-enzima resulta en una inhibición irreversible de la FLA₂ (Nataraju y col., 2007). Interesantemente, nuestros resultados del análisis del *docking* o acoplamiento del ácido *epi*-ursólico en el sitio catalítico de la enzima FLA₂ mostraron que el mismo es capaz de establecer una interacción en el sitio de hidrólisis enzimática, con una orientación similar y con una energía de interacción prácticamente igual al ácido ursólico (figuras 5 y 6). Este hallazgo mediante los estudios correspondientes de modelado molecular apoya la propuesta de la inhibición de la FLA₂ como mecanismo de acción antiinflamatorio del AeU.

La activación de las diferentes isoformas de la FLA₂ inducen rápidamente la producción de eicosanoides derivados del metabolismo del ácido araquidónico; éstos inducen la degranulación de células mastocíticas, liberando así histamina y serotonina, causantes del incremento de la permeabilidad vascular que participa en el desarrollo del edema (Brain, 1977; Choi, 1989; Morita, 1983). Sin embargo, este proceso no es el único signo de la inflamación, la característica central reside en la infiltración de células inmunológicas en el tejido lesionado (Larsen y col., 1983). Duque y col. (1986) demostraron que el bromuro de p-bromofenacilo, un inhibidor de la isoforma de la FLA₂ que está unida a la membrana de los neutrófilos, afecta la activación de estas células. Si el AeU inhibe la FLA₂, no sólo estaría bloqueando la liberación de histamina y el desarrollo del edema, sino que además, suprimiría en cierta medida la respuesta inmune presente en el proceso inflamatorio.

En conclusión, nuestros resultados demuestran que, al igual que el ácido ursólico, el ácido 3-*epi*-ursólico posee una potente actividad antiinflamatoria, cuyo efecto pudiera estar mediado principalmente por la inhibición de la FLA₂. Será necesario realizar estudios adicionales de inhibición enzimática *in vitro* para confirmar esta hipótesis.

Referencias bibliográficas

- BANNOA N, AKIHISA T, YASUKAWA K, TOKUDA H, TABATA K, NAKAMURA Y, NISHIMURA R, KIMURA Y Y SUZUKI T. (2006). Anti-inflammatory activities of the triterpene acids from the resin of *Boswellia carteri*. *J Ethnopharmacol.* 107:249-253.
- BERNARD P, SCIOR T, DIDIER B, HIBERT M Y BERTHON J. (2001). Ethnopharmacology and bioinformatic combination for leads discovery: application to phospholipase A₂ inhibitors. *Phytochemistry.* 58:865-874.
- BHATT K, MEHTA R Y SHRIVASTAVA P. (1977). A simple method for recording anti-inflammatory effects on rat paw oedema. *Indian J Phy Phar.* 21:399-400.
- BRAIN S, LEWIS G Y WHITTLE B. (1977). Actions of phospholipase-A₂ on mast-cell histamine release and paw oedema in the rat. *Br J Pharmacol.*59:440-441.
- CIANGHEROTTI C, BUITRAGO D Y MORALES A. (2004). Estudio de los componentes químicos de las hojas y tallos de *Cestrum buxifolium Kunth*. *Rev Fac Far.* 46:31-33.
- CHOI S, SAKAMOTO T, FUKUTOMI O, INAGAKI N, MATSUURA N, NAGAI H Y KODA A. (1989). Pharmacological study of phospholipase A₂-induced histamine release from rat peritoneal mast cells. *J Pharmacobiodyn.*12:517-522.
- CONNOLLY J Y HILL R. (2007). Triterpenoids. *Nat Prod Rep.* 24:465-86.
- DI ROSA M, GIROUD J Y WILLOUGHBY D. (1971). Studies on the mediators of the acute inflammatory response induced in rats in different sites by carrageenan and turpentine. *J Pathol.* 104:15-29.
- DUQUE R, FANTONE J, KRAMER C, MARASCO W Y PHAN S. (1986). Inhibition of neutrophil activation by p-bromophenacyl bromide and its effects on phospholipase A₂. *Br J Pharmacol.* 88:463-472.
- GARCÍA J, HAMAMURA L, LEITE M Y ROCHA M. (1973). Pharmacological analysis of the acute inflammatory process induced in the rat's paw by local injection of carrageenin and by heating. *Br J Pharmacol.* 48: 88-96.
- HASMEDA M, KWEIFIO-OKAI G, MACRIDES T Y POLYA G. (1999). Selective inhibition of eukaryote protein kinases by anti-inflammatory triterpenoids. *Planta Med.* 65:14-18.
- HUANG F, CHAN W, MORIARTY K, ZHANG D, CHANG M, HE W, YU K Y ZILBERSTEIN A. (1998). Novel cytokine release inhibitors. Part I: Triterpenes. *Bioorg Med Chem Lett.* 8:1883-1886.
- HUGUET A, RECIO M, MARTÍNEZ S, GINER R Y RÍOS J. (2000). Effect of triterpenoids on the inflammation induced by protein kinase C activators, neuronally acting irritants and other agents. *Eur Pharmacol* 410:69-81.
- LARSEN G Y HENSON P. (1983). Mediators of inflammation. *Annu Rev Immunol.* 1:335-359.
- LIU J. (1995). Pharmacology of oleanolic acid and ursolic acid. *J Ethnopharmacol.* 49:57-68.
- MORITA Y, AIDA N Y MIYAMOTO T. (1983). Role of phospholipase A₂ activation in histamine release from human basophils. *Allergy.* 38:413-418.
- NAJID A, SIMON A, COOK J, CHABLE H, DELAGE C, CHULIA A Y RIGAUD M. (1992). Characterization of ursolic acid as a lipoxygenase and cyclooxygenase inhibitor using macrophages, platelets and differentiated HL60 leukemic cells. *FEBS Lett.* 299: 213-217.

- NATARAJU A, RAGHAVENDRA C, RAJESH R Y VISHWANATH B. (2007). Group IIA secretory PLA2 inhibition by ursolic acid: a potent anti-inflammatory molecule. *Curr Top Med Chem.* 7:801-809.
- RECIO M, GINER R, MAÑES S Y RÍOS L. (1995a.). Structural requirements for the anti-inflammatory activity of natural triterpenoids. *Planta Med.* 61:182-185.
- RECIO M, GINER R, MAÑES S Y RÍOS L. (1995b.). Investigations on the steroidal anti-inflammatory activity of triterpenoids from *Diospyros leucomelas*. *Planta Med.* 61:9-12.
- RINGBOM T, SEGURA L, NOREEN Y, PERERA P Y BOHLIN L. (1998). Ursolic acid from *Plantago major*, a selective inhibitor of cyclooxygenase-2 catalyzed prostaglandin biosynthesis. *J Nat Prod.* 61:1212-1215.
- SAFAYHI H Y SAILER E. (1997). Anti-inflammatory actions of pentacyclic triterpenes. *Planta Med.* 63: 487-493.
- SAFAYHI H, RALL B, SAILER E Y AMMON H. (1997). Inhibition of boswellic acids of human leucocyte elastase. *J Pharmacol Experim Therap.* 281: 460-463.
- SUGISHITA E, AMAGAYA S Y OGIHARA Y. (1981). Anti-inflammatory testing methods: comparative evaluation of mice and rats. *J Pharmacol Dyn.* 4: 287-294.
- SUH N, HONDA T, FINLAY H, BARCHOWSKY A, WILLIAMS C, BENOIT N, XIE Q, NATHAN C, GRIBBLE G Y SPORN M. (1998). Novel triterpenoids suppress inducible nitric oxide synthase (iNOS) and inducible cyclooxygenase (COX-2) in Mouse Macrophages *Cancer Res* 58: 717-723.
- TAPONDJOU LA, LONTSI D, SONDEGAM BL, CHOI J, LEE KT, JUNG HJ Y PARK HJ. (2003). In vivo anti-nociceptive and anti-inflammatory effect of the two triterpenes, ursolic acid and 23-hydroxyursolic acid, from *Cussonia bancoensis*. *Arch Pharm Res.*26:143-436.
- TSURUGA T, CHUN YT, EBIZUKA Y Y SANKAWA U. (1991). Biologically active constituents of *Melaleuca leucadendron*: inhibitors of induced histamine release from rat mast cells. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 39:3276-3278.
- VINEGAR R, SCHREIBER W Y HUGO R. (1968). Biphasic development of carrageenin edema in rats. *J Pharmacol Exp Ther.* 166: 96-103.
- WINTER A, RISLEY E Y NUSS G. (1962). Carrageenin-induced Edema in Hind paw as an Assay for Anti-inflammatory Drugs. *Proc Soc Exp Biol.* 111:554-547.
- YEDGAR S, LICHTENBERG D Y SCHNITZER E. (2000). Inhibition of phospholipase A₂ as a therapeutic target. *Biochim Biophys Acta.* 1488:182-187.
- YING Q, RINEHART A, SIMON S Y CHERONIS J. (1991). Inhibition of human leucocyte elastase by ursolic acid. Evidence for a binding site for pentacyclic triterpenes. *Biochem J.* 277:521-526.
- ZHANG Y, DeWITT D, MURUGESAN S Y NAIR M. (2005). Cyclooxygenase-2 enzyme inhibitory triterpenoids from *Picrorhiza kurroa* sedes. *Life Sci.* 77:3222-3230.

Relación estructura química-actividad inhibidora de la Quimotripsina de ácidos fenilalquilborónicos

Phenyalkylboronic Acids Structure-quimotripsin inhibitor activity relationship

MARY ISABEL CORDERO DE TROCONIS*, GUADALUPE SCAPARONE DE SUÁREZ*
Y TRINA COLMAN DE SAIZARBITORIA*

Resumen

En el presente trabajo se realizó un estudio de modelado molecular utilizando cálculos de mecánica molecular y mecánica cuántica de compuestos análogos de ácidos fenilalquilborónicos conocidos por su acción inhibitoria de la quimotripsina, actividad que ha sido relacionada con la inhibición del crecimiento celular.

El análisis conformacional se realizó utilizando mecánica molecular, y se compararon las estructuras obtenidas con la conformación bioactiva del PEBA (ácido fenilettilborónico), obtenida de un complejo cristalino con quimotripsina. Posteriormente se realizaron cálculos de mecánica cuántica, obteniéndose los gráficos correspondientes a Isosuperficie de densidad electrónica, orbitales moleculares de frontera y potenciales moleculares electrostáticos. Luego se calcularon índices topológicos de forma, área y volumen de isosuperficie.

Éstos datos fueron utilizados para el análisis de la relación estructura química-actividad biológica, concluyendo que el posible farmacóforo para los ácidos fenilalquilborónicos debería poseer una zona aromática planar rica en electrones; una distancia crítica de dos átomos de carbono entre el anillo aromático y el grupo borónico, el cual presenta una alta densidad electrónica y se encuentra plegado con tendencia perpendicular hacia el anillo aromático; y una zona en la posición *para* del anillo aromático en la cual existe restricción desde el punto de vista estérico.

Palabras clave: Modelado molecular, inhibidores de quimotripsina, farmacóforo.

ABSTRACT

In the present work we did a molecular modeling study using Molecular Mechanics, and Quantum Mechanical Calculations of several phenylethylboronic acids. Calculated properties were related with chymotrypsin inhibition. The inhibitory effect of these compounds over chymotrypsin has been related to the cellular growth inhibition. Using this study we identified several properties that help us to design a possible pharmacophore for these compounds.

The conformational study was made using Molecular Mechanics, the obtained structures were compared with the active conformation of phenylethylboronic acid obtained from a crystalline complex with the enzyme. After that we made Quantum mechanical calculations to obtain computer graphics°corresponding to electronic density isosurface, frontier molecular orbitals and molecular electrostatic potentials. Finally we calculated topological indices, area and isosurface volume.

As a first report evaluated properties were related with *in vitro* activity against chymotrypsin for each compound, concluding that the pharmacophore must have a planar aromatic zone rich in electrons, a critical two atom distance between aromatic ring and boronic acid groups. The boronic acid group is flexed over the aromatic ring with a perpendicular tendence, and steric restriction in the *para* position in the aromatic ring.

Key words: Molecular modeling, chymotrypsin inhibitors, pharmacophore.

* Laboratorio de Modelaje Molecular, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela.

Introducción

El cáncer es uno de los principales problemas de salud pública, y se cree que será la principal causa de muerte en este siglo, en parte debido a que al aumentar la expectativa de vida de la población aumenta la probabilidad de sufrir esta enfermedad. En el organismo sano las células crecen, se dividen y mueren en forma ordenada. En los primeros años de una persona las células crecen y se dividen más rápidamente, hasta que se alcanza la edad adulta. Las células normales de la mayoría de los tejidos, una vez que llegamos a adultos, sólo se reproducen para sustituir células gastadas o moribundas o para reparar heridas. A diferencia de las células normales, las células cancerosas continúan creciendo y dividiéndose. Estas células se acumulan y forman tumores que pueden invadir y destruir los tejidos normales. Si las células cancerosas se desprenden del tumor pueden pasar al torrente sanguíneo o linfático e invadir otros órganos, causando metástasis (Diamandopoulus, 1996).

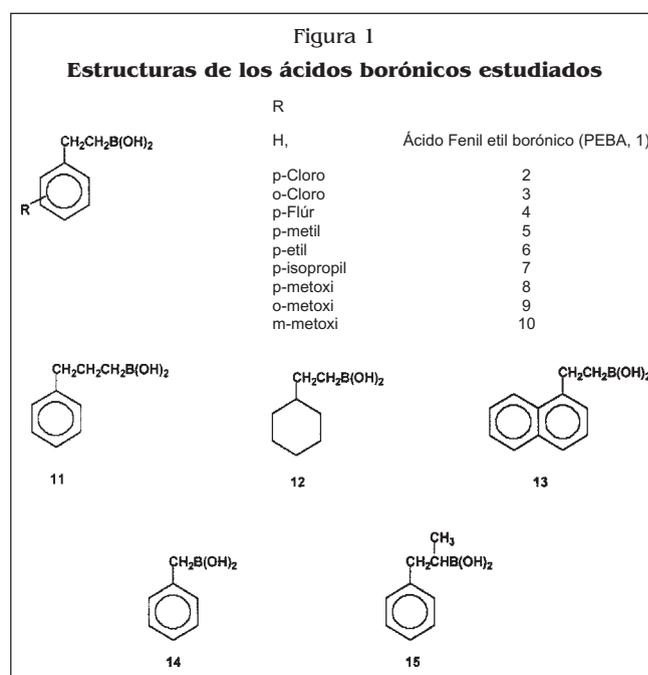
Los diferentes tipos de cáncer varían en su velocidad de crecimiento, forma de hacer metástasis y respuesta a los tratamientos aplicados. Esto hace que los pacientes con cáncer requieran de una evaluación y tratamiento prácticamente personalizado. En este sentido, es sumamente útil disponer de un arsenal terapéutico lo más variado posible, por lo que los científicos no cesan de investigar, tratando de obtener nuevas drogas más específicas para los diferentes tipos de cáncer y aplicar los tratamientos adecuados con menores riesgos y efectos secundarios para los pacientes (Diamandopoulus, 1996).

Entre los posibles nuevos fármacos contra el cáncer se encuentran los ácidos fenilalquilborónicos (Yang, 2003). Éstos compuestos se cree que actúan a nivel celular inhibiendo una enzima tipo quimotripsina asociada a la cromatina en los tejidos tumorales (Goz, 1986; Smoum, 2003). Es por esto que estos compuestos pueden ser ensayados de una forma relativamente sencilla como inhibidores de la quimotripsina, enzima fácilmente obtenible en el mercado.

La actividad tipo quimotripsina en las células ha sido reportada en la literatura, existiendo evidencias indirectas de diversos estudios realizados con hepatocitos aislados. Hagiwara y colaboradores reportaron actividad tipo quimotripsina asociada con la cromatina en varios tejidos tanto normales como tumorales de la rata, siendo de particular importancia el hecho de que esta actividad era significativamente más alta en el proceso de proliferación rápida en las células cancerosas que en las células normales, y dentro de las células normales, en los tejidos de bajo crecimiento como el cerebro, la actividad proteolítica era mucho más baja que por ejemplo en el timo (Hagiwara, 1980).

El ácido feniletilborónico (Phenylethylboronic acid, PEBA 1, Figura 1) es un compuesto de conocida acción inhibitoria de la actividad de la quimotripsina, la cual ha sido relacionada con su actividad para modificar la replicación de células tumorales (Carter, 1977). Se cree que el PEBA forma un complejo con el sitio activo de la quimotripsina que se parece al estado de transición que forma la enzima con sus sustratos (Rawn, 1974). Existen datos previamente reportados que soportan la hipótesis de que la inhibición tipo quimotripsina está relacionada con la inhibición de la replicación celular; inclusive se ha postulado que mientras menor es la actividad tipo quimotripsina de estos compuestos, menor es su selectividad por las células tumorales. Carter y colaboradores han demostrado que el PEBA y algunos de sus análogos también inhiben la actividad tipo proteasa en la cromatina aislada del hígado de la rata (Carter, 1977), siendo el orden de inhibición de los análogos paralelo a la inhibición de la quimotripsina reportada por otros autores para esos mismos compuestos (Goz, 1986).

Una de las convicciones fundamentales de la química medicinal es que la actividad biológica depende del arreglo tridimensional y efectos electrónicos de los grupos que conforman la estructura conocida como farmacóforo (Wermuth, 1993). En el farmacóforo se identifica la naturaleza de los grupos químicos requeridos para la actividad biológica y las relaciones geométricas entre ellos. Desde el punto de vista teórico, se considera que existen dos tipos de farmacóforo: el tipo A, en el cual sólo se toman en cuenta factores de tipo estérico para la unión de la droga al receptor; y el farmacóforo tipo B, en el cual se toman en cuenta los efectos estéricos y los efectos electrónicos (Mason, 2001).



A pesar de los hallazgos importantes para los ácidos fenilalquilborónicos y de su actividad antitumoral, son pocos los estudios relacionados a ellos publicados en la literatura, y con la finalidad de profundizar en su investigación es interesante proponer un farmacóforo tipo B para este tipo de compuestos, tomando en cuenta las actuales técnicas de Modelado Molecular en el diseño de droga, lo que favorecerá la planificación de nuevos análogos con posible actividad biológica. En el presente trabajo se estudiaron las estructuras indicadas en la Figura 1.

Parte experimental

Todos los cálculos se realizaron en una estación de trabajo CAChe (Computer Aided Chemistry), utilizando licencia de los programas de la compañía Fujitsu, CAChe Scientific (CAChe, 2002). Se construyeron las estructuras de los análogos propuestos (Figura 1), utilizando el Editor del sistema CAChe y se compararon con datos suministrados por el doctor Alexander Tropsha, de la Universidad de Carolina del Norte, EE.UU. (Tropsha, comunicación personal). Estas estructuras se sometieron a una minimización previa utilizando mecánica molecular (Allinger, 1977 y 1982). Se utilizó como conformación bioactiva la del ácido feniletiborónico (PEBA) en un complejo quimotripsina-Peba (código PDB: 6CHA) (Tulinsky, 1987) obtenido de la base de datos de Brookhaven (Berman, 2002), presente en la licencia de uso de la base de datos de Cambridge (Cambridge structural database, 1999; Allen, 2004), en un equipo Silicon Graphics. Se visualizó la estructura cristalina del complejo utilizando el programa Insight, licencia de software de la compañía Accelrys/Molecular Simulation/Byosim (Insight, 1997) (detalle del sitio activo del complejo utilizado en la figura 2), y de allí se tomaron los datos de la conformación del PEBA y luego fueron traducidos al sistema CAChe (utilizando el programa CAChe translator) para ser utilizados como referencia.

Se realizó un estudio de análisis conformacional de los compuestos en la figura 1, utilizando metodología reportada por otros investigadores (Seibel, 1990 y Monasterios, 1998), para lo cual se hicieron búsquedas sistemáticas alrededor de los ángulos rotables, determinándose que existía, tal como lo esperábamos, libertad conformacional alrededor de la cadena alquilborónica y el anillo aromático. Haciendo uso de las conformaciones obtenidas en estas búsquedas, se escogieron las estructuras de menor energía que se acercaban más a la conformación bioactiva, utilizando criterios de selección, la energía de las conformaciones y el rms de la superposición de las conformaciones con la conformación bioactiva del PEBA obtenida del complejo cristalino con la enzima (Tulinsky, 1987), ubicándose para los diferentes compuestos, conformaciones similares a las del PEBA en

su complejo con la quimotripsina. Estas conformaciones fueron sometidas a cálculos de mecánica cuántica semiempírica. Para ello se utilizó el programa MOPAC vs 94.0 (Stewart, 1983), utilizando el Hamiltoniano AM-1 y la opción COSMO para simular el solvente (agua) (Klaunt, 1993). Las propiedades calculadas fueron tabuladas utilizando el Tabulador del sistema CAChe, con el fin de convertir los datos en coordenadas en las tres dimensiones y obtener los gráficos correspondientes a Isosuperficie de densidad electrónica coloreada de acuerdo con el gradiente de densidad del HOMO y del LUMO, y de acuerdo con la densidad de frontera, densidad de frontera electrofílica, densidad de frontera nucleofílica, orbitales moleculares HOMO y LUMO, y potenciales moleculares electrostáticos.

Adicionalmente, utilizando el programa CAChe Project

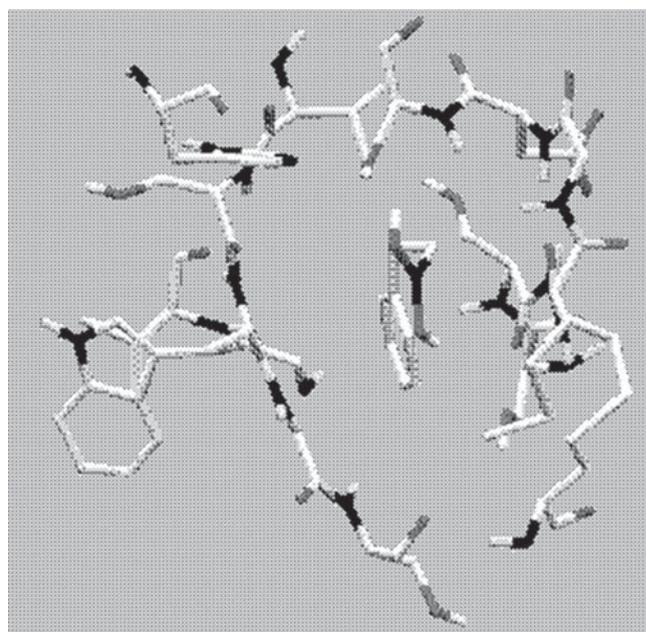


FIGURA 2

Detalle del sitio activo de la quimotripsina + PEBA

Leader (Project Leader, 2002) se calcularon los índices topológicos de forma 1 (Kappa 1, cuantifica el número de ciclos en una estructura química), 2 (Kappa 2, cuantifica el grado de linealidad o parecido a una estrella de una estructura química) y 3 (Kappa 3, cuantifica el grado de ramificación desde el centro de una estructura química) (Hall, 1991) (Tabla I). El resto de las propiedades incluidas para el análisis de relación estructura química actividad biológica fueron extraídos de los archivos generados por los cálculos teóricos realizados (Tabla I).

VALORES DE ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA QUIMOTRIPSINA UTILIZADOS EN NUESTRO ESTUDIO

Para determinar la relación estructura química actividad biológica se utilizaron los valores de constantes

de inhibición K_i , reportados por Goz y colaboradores (Goz, 1986). Este ensayo utiliza α -quimotripsina bovina y como sustrato N-benzoil-L-tirosina y se sigue el incremento de absorbancia con el tiempo. Los valores reportados como K_i se muestran en la Tabla II.

VALORES DE ACTIVIDAD INHIBITORIA DE LA PROTEASA UNIDA A LA CROMATINA UTILIZADOS EN NUESTRO ESTUDIO:

Se utilizaron los valores reportados por Carter y colaboradores, en los cuales se mide el porcentaje de inhibición a diferentes concentraciones de los compues-

Tabla I
Propiedades calculadas para los compuestos estudiados

A	B	C	D	E	F	G	H
N°	Conformacion de mínima energía	Momento dipolar	Energía del HOMO	Energía del LUMO	ΔE HOMO LUMO	INDICE DE FORMA 1	INDICE DE FORMA 2
1	-16.610	1.909	-9.667	0.191	-9.476	9.091	4.793
2	-5.966	2.983	-9.573	-0.107	-9.680	10.083	4.889
3	-10.217	1.103	-9.698	-0.061	-9.759	10.083	4.889
4	-211.366	1.810	-9.588	-0.172	-9.760	10.083	4.889
5	-8.244	2.094	-9.441	0.094	-9.347	10.083	4.889
6	-179.51	2.229	-9.459	0.126	-9.333	11.077	5.672
7	-182.516	2.363	-9.481	0.101	-9.380	12.071	5.778
8	-207.332	3.074	-9.235	0.094	-9.141	11.077	5.672
9	-6.890	3.680	-9.272	0.061	-9.211	11.077	5.672
10	-206.792	0.889	-9.373	0.024	-9.349	11.077	5.672
11	-175.180	1.828	-9.673	0.186	-9.487	10.083	5.612
12	-223.183	2.168	-10.783	2.522	-8.261	9.091	4.793
13	-18.305	1.984	-8.929	-0.637	-9.566	11.484	5.365
14	-159.539	2.179	-9.614	0.158	-9.456	8.100	4.000
15	-171.047	1.958	-9.722	0.189	-9.533	10.083	4.889

A	I	J	K	L
N°	INDICE DE FORMA 3	ÁREA DE ISOSUPERFICIE	VOLUMEN DE ISOSUPERFICIE	SUPERFICIE ACCESIBLE AL SOLVENTE
1	3.787	143.910	92.000	87.808
2	4.000	156.320	100.350	100.080
3	3.516	155.990	100.750	96.410
4	4.000	147.930	93.990	90.706
5	4.000	161.040	104.170	94.162
6	4.152	178.270	114.300	100.342
7	4.388	194.260	126.450	106.909
8	4.152	169.030	107.480	94.621
9	3.704	169.320	107.740	98.215
10	4.152	169.270	107.290	98.215
11	4.592	160.980	103.150	98.425
12	3.787	163.830	106.340	90.783
13	2.982	181.700	104.183	104.183
14	3.111	126.930	80.830	83.392
15	3.516	160.910	103.470	106.909

tos ensayados. Los valores se muestran en la Tabla III (Carter, 1977).

Tabla II

Actividad inhibitoria de los compuestos estudiados sobre la quimotripsina (Goz, 1986)

Compuesto	Ki
1	481 μ M
2	52 μ M
3	93 μ M
4	142 μ M
5	469 μ M
6	1,8 mM
7	3,9 mM
8	14 mM
9	625 μ M
10	340 μ M
11	1,6 mM
12	2,4mM
13	18,8 μ M

Tabla III

Actividad inhibitoria (porcentaje de inhibición) de la proteasa unida a cromatina

Compuesto	% de inhibición 1mM	% de inhibición 5mM	% de inhibición 10mM	% de inhibición
1		60	80	90
14		33	50	75
11		4	38	62
15		0	17	24

Discusión y resultados

Los receptores reconocen los compuestos biológicamente activos sobre la base de efectos estéricos y electrónicos y no sobre la base de los efectos individuales de los átomos. El estudio de las propiedades moleculares, tanto estéricas como electrónicas, es de gran utilidad para el estudio de la interacción droga-receptor. Esta información es muy importante para el diseño de nuevos compuestos con una determinada actividad biológica.

Nuestro objetivo final fue el diseño de un farmacóforo tipo B (Wermuth, 1993) para lo cual se tomaron en cuenta los resultados obtenidos en el presente trabajo tanto desde el punto de vista estérico como desde el punto de vista electrónico. En nuestro caso el farmacóforo propuesto se basa en la presencia de átomos o grupos de átomos esenciales con una estereoquímica definida y aspectos electrónicos necesarios para su unión con el sitio activo de la quimotripsina, enzima sobre la cual se determinó el efecto inhibitorio de estos compuestos.

En el presente estudio se utilizó una modificación del método del análogo activo (Marshall, 1986 y 1995), método que supone que la unión al receptor se realiza principalmente por ciertos grupos químicos del ligando (ejemplo: grupos capaces de formar un puente de hidrógeno con el receptor), en una conformación tal que presenta al receptor los grupos clave en el arreglo espacial adecuado para que se unan y produzca una respuesta biológica. En este método se utiliza un compuesto de conocida actividad biológica como referencia, y se comparan con los otros análogos. Los análogos que presenten mayor similitud con el compuesto activo, son los que tienen mayor probabilidad de ocupar su espacio en el receptor y provocar la actividad biológica. La modificación utilizada por nosotros consistió en el uso de una estructura de un complejo cristalino para obtener la conformación bioactiva del ligando, metodología utilizada con éxito por otros investigadores (Smythe, 1994; Morgan, 1994).

En vista de que los compuestos estudiados son compuestos flexibles que pueden tener diferentes conformaciones estables, se hace necesario determinar cuál es la conformación con mayor probabilidad para unirse a la quimotripsina; para ello se utilizó el complejo quimotripsina ácido feniletiborónico (Figura 2) reportado en la base de datos de Brookhaven (Tulinsky, 1987) (Código PDB: 6CHA). Este complejo fue estudiado utilizando el programa Insight, luego los datos de la conformación del PEBA fueron traducidos a un archivo que pudiese ser leído por el sistema CAChe, con el fin de ser utilizado para comparar la conformación del ácido feniletiborónico presente en el complejo con la enzima, con las conformaciones de los compuestos modelados.

Dado que los compuestos modelados son flexibles, fueron estudiados utilizando un análisis conformacional. Para ello se realizaron búsquedas sistemáticas alrededor de los enlaces rotables de la cadena alquílica. Estas búsquedas demostraron que aunque hay prácticamente libre rotación, sin embargo pueden obtenerse para los compuestos activos conformaciones que se parecen a la conformación bioactiva reportada en el complejo PEBA-quimotripsina. Es lógico pensar que si bien la conformación bioactiva no es necesariamente la de menor energía, ésta debe estar entre las de más baja energía, por tanto se tomaron las conformaciones de cada compuesto que diferían en un máximo de 5 kcal/mol de la de mínima energía y se superpusieron con la conformación bioactiva del PEBA, y se escogió la conformación que presentaba menor energía y un menor rms en la superposición con el PEBA. Estas conformaciones fueron utilizadas para realizar los cálculos de mecánica cuántica. En la Figura 3 se muestra un ejemplo de la superposición de la conformación obtenida en la búsqueda geométrica del compuesto 13, con la conformación bioactiva del PEBA,

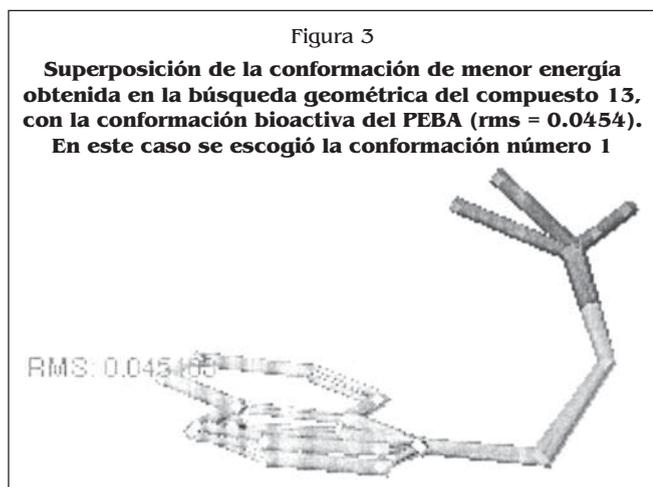


Tabla IV

Calculo de rms de la superposición de las diferentes conformaciones al mínimo de energía del ácido Naftiletilborónico, 13, con la conformación bioactiva del PEBA.

Conformacion Nº	Energía	Valor de rms
1	-23.9899	0.045463
2	-21.2912	0.323261
3	-21.1494	0.3794261
4	-21.1261	0.392713
5	-21.1178	0.381763
6	-21.1069	0.397361
7	-21.0816	0.420034
8	-21.0540	0.375032
9	-20.5659	0.276433
10	-20.4841	0.377277
11	-20.4783	0.314859
12	-20.2072	0.054717
13	-20.1649	0.065399
14	-20.0452	0.053184
15	-19.9200	0.314621
16	-19.8662	0.266876
17	-19.7559	0.054620
18	-19.5148	0.355025
19	-19.3662	0.347872

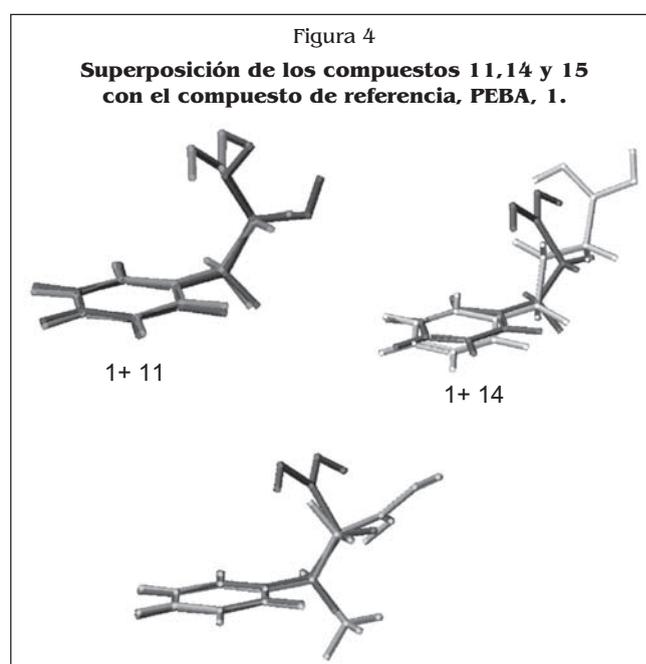
y en la Tabla IV se muestran los datos de rms de la superposición de las diferentes conformaciones del compuesto 13 con el PEBA.

Los cálculos de mecánica cuántica se realizaron utilizando el programa MOPAC (Stewart, 1983) y la opción Cosmo (Klaunt, 1993) que permite simular las condiciones de solvente, en este caso agua, ya que estas condiciones se consideran más parecidas al ambiente fisiológico que los cálculos realizados al vacío. Inicialmente se realizaron los cálculos al vacío pero las conformaciones obtenidas

presentaban las cadenas alquílicas unidas al grupo borónico extendidas y diferían mucho de la conformación bioactiva del PEBA; por este motivo nos decidimos a utilizar la opción Cosmo para simular el solvente.

Se observó que la conformación bioactiva del PEBA no presenta una estructura extendida en la porción alquilborónica de los compuestos. La conformación presenta una posición definida, plegada sobre el anillo aromático planar, para la unión del grupo borónico con la quimotripsina.

Dado que no disponíamos de los valores de constante de inhibición de la quimotripsina de los análogos 14 y 15, se analizaron los datos de actividad inhibitoria de proteasa unida a la cromatina de hígado de rata (enzima relacionada con la quimotripsina, y cuya actividad se compara para otros compuestos con el efecto inhibitorio de la quimotripsina) de estos compuestos alquilborónicos con diferente tamaño y ramificación de la cadena alquílica que une el anillo aromático con el grupo borónico, previamente reportados (Tabla III) (Carter, 1977). Se compararon las conformaciones de estos análogos con la conformación bioactiva del PEBA, utilizando la metodología señalada anteriormente, observándose en el caso del ácido bencilborónico que hay diferencias en la orientación del grupo borónico. En el propilborónico se observa una pobre superposición entre las cadenas alquílica, y los grupos borónicos. En el caso del ácido isopropilborónico se observa una diferente orientación del grupo borónico, y una buena superposición en la cadena alquílica pero la presencia del grupo metilo adicional debe constituir un impedimento para la unión al receptor, ya que el compuesto es prácticamente inactivo. Los gráficos de la superposición se presentan en la Figura 4.



De estos resultados se deduce que el tamaño de la cadena alquílica entre el anillo aromático y el grupo borónico es crítico para la actividad biológica siendo los compuestos con cadena alquílica de dos átomos de carbono los más activos. En los de cadena alquílica menor o mayor, como es el caso del *n* propil o bencil borónico, la actividad biológica disminuye considerablemente. La cadena hidrocarbonada ramificada como es el caso del isopropilborónico también disminuye la actividad biológica (Figura 4). Este análisis nos permitió identificar la primera característica importante para el diseño del farmacóforo: la distancia entre el anillo aromático y el grupo borónico.

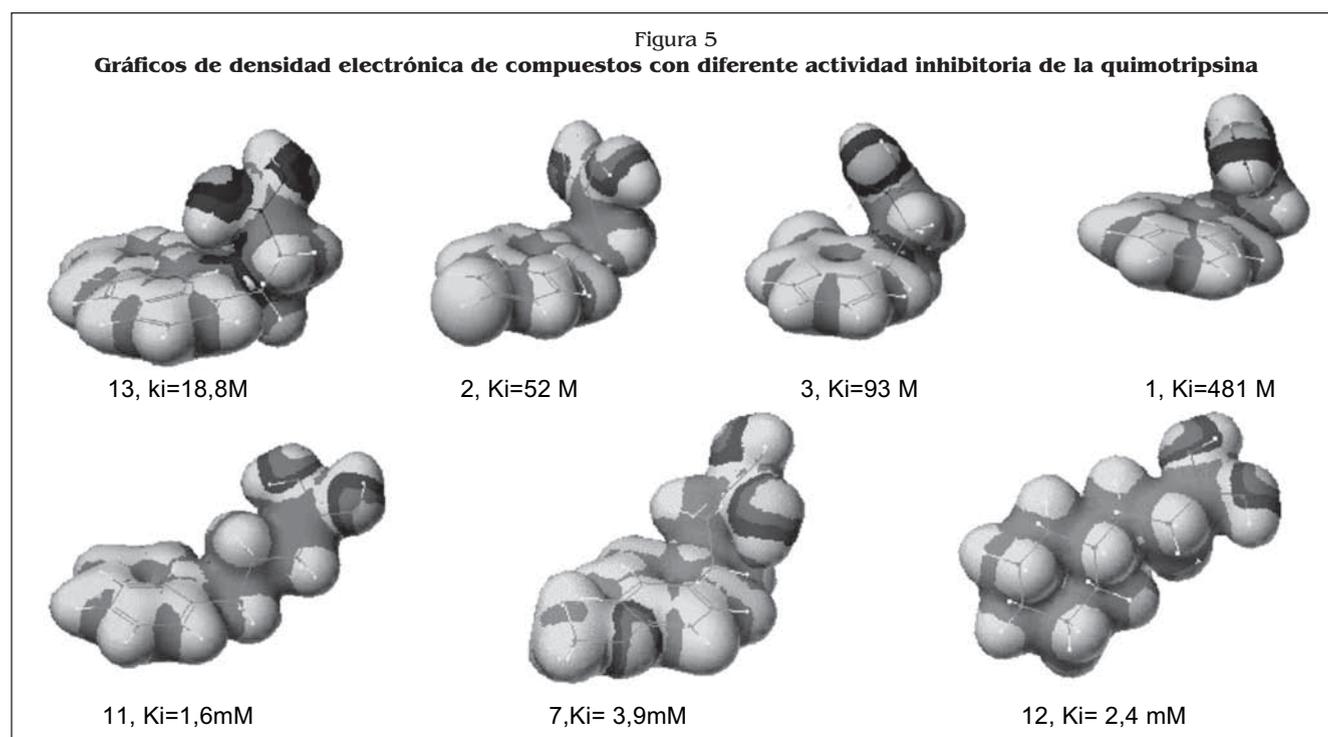
Al comparar los gráficos de Isosuperficie obtenidos para todos los compuestos se observó que la presencia de un anillo aromático es indispensable para la actividad biológica, ya que cuando se sustituye el anillo aromático por un anillo de ciclohexano el compuesto resultante es inactivo, detectando de esta forma la segunda característica importante del farmacóforo: la presencia de un grupo planar rico en electrones π .

De los gráficos de isosuperficie obtenidos pudimos observar que la presencia de grupos voluminosos en la posición *para* del anillo aromático disminuyen considerablemente la actividad inhibitoria, lo que nos hace suponer que la posición *para* no debe estar ocupada por un grupo de mayor tamaño que el átomo de cloro, influyendo la sustitución en esta posición en la unión droga-receptor.

En cuanto a los gráficos de densidad electrónica coloreada de acuerdo con el gradiente de densidad, observamos que todos los análogos presentan una mayor densidad electrónica alrededor del grupo alquilborónico que tiende a estar plegado sobre el anillo aromático o casi perpendicular a él. Los análogos activos no presentan densidades electrónicas adicionales en la posición *para*, y los que la presentan en la posición *meta* tienen una menor actividad biológica (Figura 5).

Con relación a los orbitales de frontera se observan similares posiciones para los orbitales sobre el anillo aromático, aunque con diferentes intensidades sobre ciertos átomos de carbono (ejemplo de los gráficos de orbitales de frontera en la Figura 6). Aunque los gráficos obtenidos no nos permitieron sacar conclusiones en relación a las diferencias entre los orbitales de frontera para los compuestos activos, del análisis posterior de los niveles energéticos de estos orbitales se pudo concluir que el nivel del LUMO y la diferencia ΔE HOMO - LUMO son importantes para la actividad biológica (Tabla I).

Con relación a los gráficos de densidad electrónica coloreados de acuerdo con los orbitales de frontera (para determinar los puntos de ataque nucleofílico o electrofílico, (Figura 6), se observan varios puntos comunes sobre el anillo aromático en casi todos los análogos estudiados, razón por la cual este gráfico no nos proporciona información útil que pueda ser relacionada con la actividad biológica.

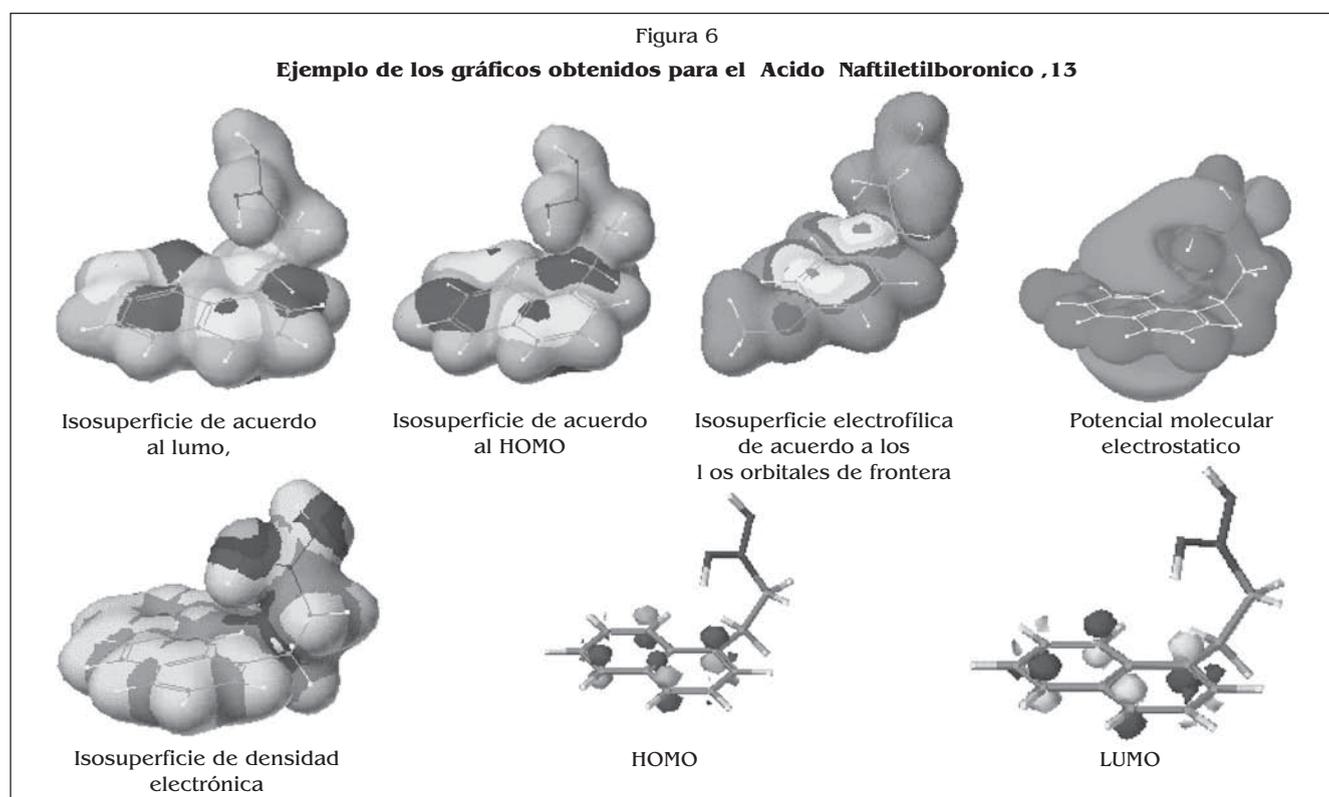


En los gráficos de isosuperficie coloreada de acuerdo con el orbital HOMO no se observan diferencias significativas en las zonas positivas y negativas entre los análogos activos e inactivos. Esto mismo se observa en los gráficos de isosuperficie coloreada de acuerdo con el LUMO (Figura 6).

Aun cuando existen algunas referencias que indican que los cálculos de potencial electrostático molecular pueden tener relación con la unión al receptor (Thompson, 1988), en nuestro caso no pudimos observar diferencias significativas que nos permitieran relacionarlos

lar al anillo planar y sustituyentes no mayores que un átomo de cloro en la posición *para*. Adicionalmente, el farmacóforo propuesto para estos compuestos debe tener una distancia óptima de dos átomos de carbono entre el anillo aromático y el grupo borónico (en la Figura 7 se presenta el esquema del farmacóforo tipo B propuesto).

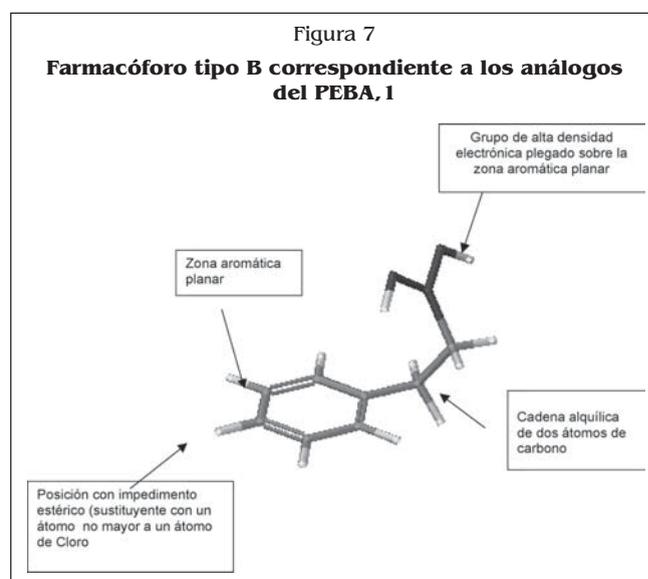
Para completar nuestro análisis se realizó un estudio preliminar de estructura química actividad biológica utilizando los datos obtenidos de los cálculos de mecánica cuántica y de los índices de forma y se relacionaron



con la actividad biológica al estudiar los gráficos obtenidos para los compuestos activos y compararlos con los compuestos menos activos (Figura 6).

El conocimiento del patrón farmacofórico en series afines, como es nuestro caso, puede ser asociado con el receptor biológico y darnos la posibilidad de diseñar y seleccionar compuestos que puedan reunir las características necesarias para unirse al receptor. Este modelo considera un mínimo de tres posibles puntos para su unión al receptor y ha sido utilizado por otros grupos de investigación para el diseño de farmacóforos (Bhattacharjee, 1992 y 2000).

De acuerdo con los resultados obtenidos de los gráficos moleculares, proponemos que el farmacóforo debe tener una zona planar, con electrones π , un grupo con alta densidad electrónica plegado casi perpendicu-



con los datos de actividad inhibitoria de la quimotripsina determinados *in vitro*. Para ello se utilizó el programa CAChe Project Leader. Para este análisis se utilizaron los compuestos que tenían actividad inhibitoria en el rango micromolar, ya que se consideró que aquellos que tienen concentración inhibitoria en el rango de milimoles son mucho menos activos. Lo primero que se hizo fue realizar regresiones simples para cada una de las propiedades calculadas y se obtuvieron valores de r^2 (Tabla V).

Luego se realizó una regresión múltiple tomando en cuenta las propiedades para las cuales se obtuvieron mayores valores de r^2 en los cálculos de regresión simple, y los valores de energía de HOMO y LUMO que han sido reportados como importantes para la actividad biológica. En la Tabla VI se muestran los valores utilizados para la regresión múltiple.

Tabla V

Valores de r^2 obtenidos para las diferentes propiedades calculadas al realizar regresiones simples con respecto a la actividad inhibitoria determinada experimentalmente

Propiedad calculada	r^2
Conformacion de mínima energía	0.012
Momento dipolar	0.109
Energía del HOMO	0.002
Energía del LUMO	0.542
$\Delta E_{\text{HOMO} - \text{LUMO}}$	0.727
Índice de forma 1	0.016
Índice de forma 2	0.086
Índice de forma 3	0.126
Área de isosuperficie	0.070
Volumen de isosuperficie	0.035
Superficie accesible al solvente	0.166

Tabla VI

Valores utilizados para el análisis estructura-química actividad biológica (regresión múltiple de los compuestos con actividad inhibitoria de la quimotripsina en el rango de concentración micromolar (1, 2, 3, 4, 5, 9, 10 y 13)).

A	B	C	D	E	F	G	H
Nº de mínima energía	Conformación dipolar	Momento del HOMO	Energía del LUMO	Energía HOMO LUMO	ΔE	Kappa 1	Kappa 2
1	-16.610	1.909	-9.667	0.191	-9.476	9.091	4.793
2	-5.966	2.983	-9.573	-0.107	-9.680	10.083	4.889
3	-10.217	1.103	-9.698	-0.061	-9.759	10.083	4.889
4	-211.366	1.810	-9.588	-0.172	-9.760	10.083	4.889
5	-8.244	2.094	-9.441	0.094	-9.347	10.083	4.889
9	-6.890	3.680	-9.272	0.061	-9.211	11.077	5.672
10	-206.792	0.889	-9.373	0.024	-9.349	11.077	5.672
13	-18.305	1.984	-8.929	-0.637	-9.566	11.484	5.365

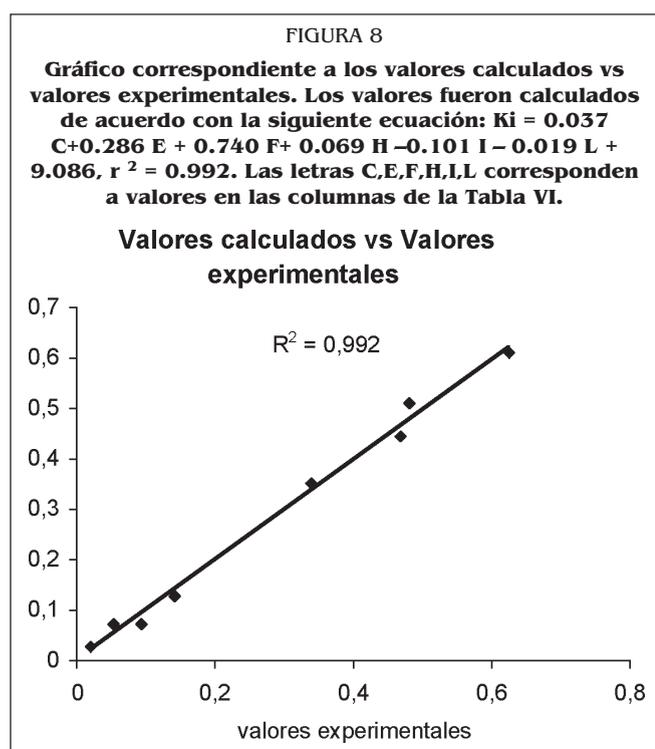
A	I	J	K	L	M	N
Nº	Kappa 3 De ISO Superficie	Área de ISO Superficie	Volumen Accesible al Solvente	Superficie de Ki experimentales	Valores de Ki calculados	Valores
1	3.787	143.910	92.000	87.808	481 μM	512 μM
2	4.000	156.320	100.350	100.080	52 μM	73 μM
3	3.516	155.990	100.750	96.410	93 μM	74 μM
4	4.000	147.930	93.990	90.706	142 μM	126 μM
5	4.000	161.040	104.170	94.162	469 μM	445 μM
9	3.704	169.320	107.740	98.215	625 μM	612 μM
10	4.152	169.270	107.290	98.215	340 μM	352 μM
13	2.982	181.700	104.183	104.183	18.8 μM	27 μM

Se obtuvo una ecuación (Figura 8) que presenta una muy buena correlación entre las propiedades incluidas en la ecuación y la actividad inhibitoria determinada experimentalmente. De esta ecuación se desprende que

el momento dipolar, el orbital LUMO, la diferencia entre HOMO y LUMO, los índices de forma 2 y 3, y la superficie accesible al solvente influyen en la actividad biológica reportada. Aun cuando no disponíamos de suficientes

datos para que la ecuación obtenida tuviese un valor predictivo y sólo se trata de un análisis preliminar, si podemos decir que reproduce razonablemente los valores experimentales, tal como se demuestra en la Figura 8, donde se grafican los valores calculados con la ecuación obtenida en el presente trabajo contra los valores determinados experimentalmente.

En esta ecuación se demuestra la incidencia en mayor grado sobre la actividad inhibitoria de la quimotripsina *in vitro* de la energía del LUMO y la diferencia en energía entre HOMO y LUMO, y en menor grado del momento dipolar, los índices de forma 2 y 3, y de la superficie accesible al solvente.



Conclusiones

El estudio realizado nos permitió diseñar un farmacóforo tentativo para los ácidos fenilalquilborónicos, en el cual se observa una zona aromática planar rica en electrones; una distancia crítica de dos átomos de carbono entre el anillo aromático y el grupo borónico, el cual presenta una alta densidad electrónica y se encuentra plegado con tendencia perpendicular hacia el anillo aromático; y una zona en la posición *para* del anillo aromático en la cual existe una restricción desde el punto de vista estérico (grupos no mayores que un átomo de cloro).

También se pudo concluir que ciertas propiedades estéricas y electrónicas influyen en la actividad inhibitoria; en un mayor grado la energía del LUMO y

la diferencia en energía entre HOMO y LUMO, y en menor grado el momento dipolar, los índices de forma 2 y 3, y la superficie accesible al solvente.

El método empleado demostró ser muy útil para la determinación del farmacóforo de estos compuestos, a pesar de la gran flexibilidad que presentan, y para evaluar la relación estructura química-actividad biológica desde un punto de vista cuantitativo. Toda esta información es sumamente útil para proponer el diseño de futuros compuestos que puedan presentar actividad biológica similar o mayor a la reportada hasta el momento.

Referencias bibliográficas

- ALLEN FH Y TAYLOR R. (2004). Research applications of the Cambridge Structural Database (CSD). *Chem Soc Rev.* 33:463-75.
- ALLINGER NL. (1977). Conformational Analysis 130. MM2. A Hydrocarbon Force Field Utilizing V1 and V2 Torsional Terms. *J Am Chem Soc.* 99:8127-8134.
- ALLINGER NL Y BURKERT U. (1982). *Molecular Mechanics*, American Chemical Society, Washington, DC. Monografía 177.
- BERMAN HM, BATTISTUZ T, BHAT TN, BLUHM WF, BOURNE PE, BURKHARDT K, FENG Z, GILLILAND GL, IYPE L, JAIN S, FAGAN P, MARVIN J, PADILLA D, RAVICHANDRAN V, SCHNEIDER B, THANKI N, WEISSIG H, WESTBROOK JD Y ZARDECKI C. (2002). The Protein Data Bank. *Acta Cryst. D* 58. 6:899-907.
- BHATTACHARJEE AK. (2000). Electrostatic potential profiles may guide cation- π interaction in antimalarials chloroquine and mefloquine: an ab initio quantum chemical study. *J Mol Struct.* 529:193-201.
- BHATTACHARJEE AK Y KARLE M. (1996). Molecular electronic properties of a series of 4-quinolinecarbinolamines define anti-malarial activity profile. *J Med Chem.* 39:4622-4629.
- CACHE (COMPUTER AIDED CHEMISTRY), version 4.1.1. (2002). Reference Manual, Fujitsu, CACHE Scientific, Beaverton Oregon, EE.UU.
- CARTER DB, ROSS A, ISHAQ KS, SUAREZ GM Y CHAE C-B. (1977). The inhibition of rat liver chromatin protease by congeners of the phenylboronic acids. *Biochim Biophys Acta.* 484:103-108.
- CAMBRIDGE STRUCTURAL DATABASE SYSTEM SOFTWARE, Version 5, 1999.
- DIAMANDPOULUS GT. (1996). Cancer: A Historical Perspective, *Anticancer Research*, 16:1595-1602.
- GOZ B, GANGULI CH, TROCONIS M, WYRICK S Y ISHAQ K. (1986). Compounds that inhibit chymotrypsin and cell replication. *Biochemical Pharmacology.* 35: 3587-3591.
- HAGIWARA H, MIYAZAI K, MATUO Y, YAMASHITA J Y HORIO T. (1980). Novel protease bound with chromatin in normal and tumorous tissues of rats. *Biochem Biophys Res Commun.* 94:988-995.
- HALL LH Y KIER LB. (1991). En *Reviews in Computational Chemistry*, Cap. 9, K.B. Lipkowitz y D. Boyd (Eds), 367-422.
- INSIGHT II USER GUIDE (1997). *Accelrys/Biosym*, San Diego, EE.UU., Accelrys.
- KLAUNT A Y SCHUURMANN G. (1993). COSMO: a new approach to dielectric screening in solvents with explicit expressions

- for the screening energy and its gradient *J.Chem.Soc.Perkin Trans.2*, 799-805.
- MARSHALL GR Y MOTOC I. (1986). En *Molecular Graphics and Drug Design*, A.S.V. Burger, G.C.K.Roberts y M.S.Tute, editors; Elsevier, Amsterdam.
- MARSHALL GR. (1995). En *Molecular Modeling in Drug Design en Burger's Medicinal Chemistry*. 5th Edición, Ed. M.E.Wolff John Wiley and Sons, Inc, New York, 1:573-659.
- MASON JS, GOOD AC Y MARTIN EJ. (2001). 3-D pharmacophores in drug discovery. *Curr. Pharm. Des.*, 7:567-597.
- MONASTERIOS HM, CAPOBIANCO PM Y CORDERO MI. (1998). Conformational analysis of nifurtimox and derivatives applied to the rational design of trypanocide analogs, *Anales de Química International Edition*. 94:345-348.
- MORGAN P, HOLLAND DR, MATHEWS BW Y BARTLET PA. (1994). Structure-Based Design of an Inhibitor of the Zinc Peptidase Thermolysin, *J. of the American Chemical Society*. 116: 3251-3260.
- PROJECT LEADER, (2002). *Fujitsu CAChe Scientific*, Beaverton Oregon, EE.UU.
- RAWN JD Y LIENHARD GE. (1974). The binding of boronic acids to chymotrypsin, *Biochemistry*. 13: 3124-3130.
- SEIBEL GL Y KOLLMAN PA. (1990). Molecular Mechanics and the modeling of drug structures, en *Comprehensive Medicinal Chemistry. Vol. 4. Quantitative Drug Design*, C. Hansch, P.G. Sammes, J. B. Taylor, C.A. Ramsden Eds, Pergamon. 125-138.
- SMOUM R, RUBINSTEIN A Y SREBNIK M. (2003). A study of the effect on nucleophilic hydrolytic activity of pancreatic elastase, trypsin, chymotrypsin, and leucine aminopeptidase by boronic acids in the presence of arabinogalactan: a subsequent study on the hydrolytic activity of chymotrypsin by boronic acids in the presence of mono-, di-, and trisaccharides. *Biorg Chem* 31:464-474.
- SMYTHE ML Y VON ITZTEIN ML. (1994). Design and Synthesis of a Biologically Active Antibody Mimic Based on an Antibody-Antigen Crystal Structure, *J Am Chem Society*. 116: 2725-2733.
- STEWART JP. (1983). *Quantum Chemistry Program exchange*, programa 445.
- THOMPSON C, HIGGINS D Y EDGE C. (1988). Theoretical studies of the electrostatic potential of some enzyme inhibitors using computer graphics techniques *J Mol Graphics*. 6:171-177.
- TROPSHA A. *Parameterization of alkyl boronic acids for an empirical molecular mechanics force field*. Comunicación personal.
- TULINSKY A Y BLEVINS RA. (1987). Structure of a tetrahedral transition state complex of alpha-chymotrypsin dimer at 1.8-Å resolution. *J Biol Chem*. 262:7737-7743.
- WERMUTH CG Y LANGER T. (1993). Inhibitors of prolyl endopeptidase: characterization of the pharmacophoric pattern using conformational analysis and 3D-QSAR en *Pharmacophore identification in 3D QSAR in Drug Design: Theory, methods and applications*. Kubinyi H (ed) ESCOM Science publishers BV, 117-136.
- YANG W, XINGMING G Y BINGHE W. (2003). Boronic acid compounds as potential pharmaceutical agents. *Medicinal Research Reviews*. 23: 346-368

Recibido: 15 de noviembre de 2006

Aceptado: 15 de marzo de 2007

Validación de un método analítico por HPLC para la determinación de Roxitromicina en comprimidos

Validation of Analytical Method by HPLC for determination of Roxithromycin in Tablets

MIRIAM GUTIÉRREZ* Y MIRIAM REGNAULT*

Resumen

La roxitromicina es un antibiótico que pertenece al grupo de los macrólidos y es utilizado en infecciones de gérmenes sensibles broncopulmonares, de la esfera otorrinolaringológica. Los antibióticos macrólidos inhiben la síntesis proteica mediante la unión reversible con las subunidades ribosómicas 50S de los microorganismos sensibles. El efecto principal es la inhibición del paso de translocación en la síntesis proteica, de manera que se inhibe la síntesis misma. La acción es predominantemente bacteriostática, pero a altas concentraciones es levemente bactericida.

El propósito de esta investigación fue la validación de un método por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para la determinación de un antibiótico cuyo principio activo es roxitromicina en su presentación comercial de 300 mg por comprimido. Las condiciones cromatográficas fueron: columna C18 μ -Bondapak (4,6 x 250 mm), 10 μ , fase móvil de acetonitrilo:metanol:acetato de amonio 0,5% (50:30:20) a 1,5 mL/min, detector UV a 215 nm, volumen de inyección de 50 μ l y un tiempo de corrida de 10 min. Los resultados demuestran que el método desarrollado es preciso, exacto, específico y lineal ya que estos parámetros se encuentran dentro de los rangos requeridos en la *Farmacopea Americana*, USP 28 y la Conferencia Internacional de Armonización (ICH).

Palabras clave: roxitromicina, cromatografía líquida de alta resolución, HPLC, validación.

Abstract

Roxithromycin is an antibiotic that belongs to macrolides group and it is used in infections germs of the respiratory system. The macrolides antibiotic inhibits protein synthesis by a reversible union with the 50 S ribosomic subunits of sensitive microorganisms. The main effect is the inhibition of the translocation step in the protein synthesis, so that the synthesis itself is inhibited. The action is predominantly bacteriostatic, but at high concentrations it is slightly germicide.

The purpose of this investigation was the validation of a high resolution liquid chromatography (HPLC) method for the roxithromycin analysis in its commercial presentation of 300 mg tablet. The conditions for HPLC analysis were: a 10 μ column-C18 μ -Bondapak (4,6 x 250 mm), mobile phase acetonitrile:methanol:0,5% ammonium acetate (50:30:20) at 1,5 mL/min, UV detection at 215 nm, injection volume of 50 μ l and separation time of 10 min. The results show a validation of a method for roxithromycin determination by HPLC in terms of accuracy, precision, selectivity, and linearity as parameters which are within the criteria required by the United States Pharmacopeia, USP 28 and the International Conference of Harmonization, ICH.

Key Words: roxythromicin, high resolution liquid chromatography, HPLC, validation.

Introducción

La roxitromicina es un antibiótico que pertenece al grupo de los macrólidos y es utilizado en infecciones de gérmenes sensibles broncopulmonares, de la esfera otorrinolaringológica (figura 1). Los gérmenes usualmente sensibles a este fármaco son: *Streptococcus A*, *Streptococcus agalactiae*, *Neumococo*, *Meningococo*, *Gonoco-*

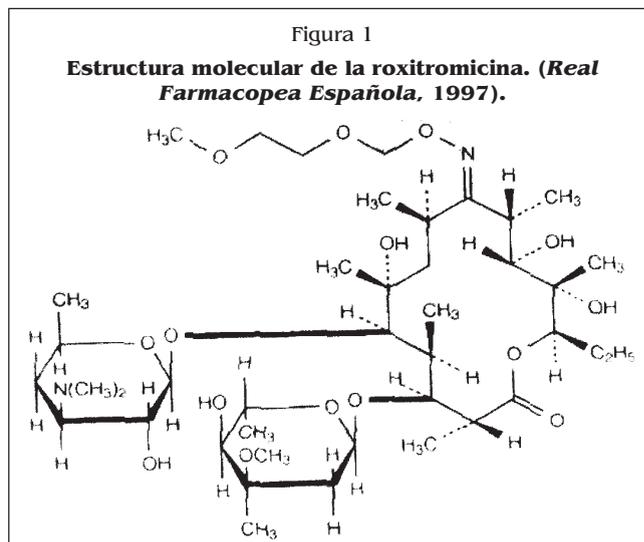
co, *Bordetella pertussis*, *Listeria monocitogenes*, *Clostridium*, *Chlamydia trachomatis* y *psittaci*, *Mycoplasma pneumoniae*, *Campylobacter*, *Legionella pneumophilia*. Las especies medianamente sensibles son: *Haemophilus influenzae*, *Vibrio cholerae*, *Staphylococcus aureus* y las especies resistentes son las *Pseudomonas (Spilva y Muktans, 2003)*. Los antibióticos macrólidos inhiben

* Postgrado de Aseguramiento de la Calidad, Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela. Apdo. 40109 Caracas 1040^a Venezuela. Telf. (58) 212 605.2751 Fax: (58) 212 605.2707 miriamregnault@hotmail.com

la síntesis proteica mediante la unión reversible con las subunidades ribosómicas 50S de los microorganismos sensibles (Goodman y Gilman, 1991). El efecto principal es la inhibición del paso de traslocación en la síntesis proteica, de manera que se inhibe la síntesis misma. La acción es predominantemente bacteriostática, pero a altas concentraciones es levemente bactericida (Martindale, 1993).

Rutinariamente, el laboratorio fabricante de la roxitromicina emplea el método por difusión en agar 3 dosis para la determinación del contenido o potencia, el cual fue desarrollado por la propia empresa. Es importante resaltar que no existe método farmacopéico para la determinación de roxitromicina en comprimidos. La Real Farmacopea Española (1997) propone el análisis por HPLC para el principio activo roxitromicina. Por otra parte, ninguna otra farmacopea hace referencia sobre el antibiótico en estudio. Diversos autores han publicado diferentes metodologías cromatográficas aplicables al análisis del antibiótico roxitromicina y varios macrólidos relacionados en diversas matrices. Kanfer y col., en 1998 reportaron una revisión del análisis de los antibióticos los macrólidos. Se han publicado metodologías para la determinación de este antibiótico en diversas matrices, tales como alimentos, tejidos biológicos y sedimentos de ríos utilizando espectrometría de masas, que si bien es muy sensible su aplicación en la industria farmacéutica actualmente, es muy limitada (Lim y col., 2000; Dubois y col., 2001; Loffler y Ternes, 2003; Miao y Metcalfe, 2003). Choi y col. (2001) reportaron la determinación de este antibiótico utilizado como estándar interno en la determinación de claritromicina en el plasma humano por HPLC con detección electroquímica, la cual es poco utilizada en el control de calidad de productos farmacéuticos. La estructura molecular de la roxitromicina presenta escasos grupos cromóforos y auxocromos, por lo que su absorción en UV es débil (figura 1). Por tal razón, se propone la determinación de la roxitromicina derivada en formulaciones farmacéuticas por fluorescencia y espectrofotometría visible luego de la oxidación con cerio (VI) y permanganato, respectivamente (Khashaba, 2002; Suhagia y col. 2006). Chepkwony y col., (2001) reportaron también una metodología de cromatografía líquida isocrática para el análisis de materia prima de roxitromicina, y Qi y col. (2004) reportaron la determinación simultánea de roxitromicina y cloruro de ambróxol a niveles de 201,2 - 2012,2 µg/ml y 42,7 - 427,0 µg/ml, respectivamente, en tabletas, utilizando cromatografía líquida con detección ultravioleta.

El presente trabajo describe la validación de un método analítico por HPLC con detección ultravioleta para la determinación de roxitromicina en tabletas. El método reportado es isocrático, metodológicamente útil para ser



utilizado como control de calidad en la industria farmacéutica y con niveles de sensibilidad superior a los procedimientos similares descritos con anterioridad.

Materiales y métodos

EQUIPOS

Cromatógrafo líquido Agilent 1100 series, con detector UV, bomba isocrática 4 válvulas (Prod&Khym, Caracas, Venezuela). Baño ultrasonido Branson 5510 (Cenatec, Caracas-Venezuela). Balanza analítica Mettler AT 200 (Cenatec, Caracas-Venezuela). Espectrofotómetro UV Hewlett Packard modelo 8452A (Prod&Khym, Caracas, Venezuela).

MATERIALES

Columna C18 µ-Bondapak (4,6 x 250 mm), 10µ (Waters, Cienvar, Caracas-Venezuela). Acetonitrilo (Fischer Scientific) y metanol (Merck), ambos grado HPLC (Didacta, Caracas-Venezuela). Agua grado HPLC obtenida utilizando un equipo MilliQ (Cienvar, Caracas-Venezuela). Patrón USP de roxitromicina (Rockville, USA). Patrones de referencia de roxitromicina derivado 1 (de-cladinosa) 95,3% p/p, isómero Z de roxitromicina 92,2% p/p, roxitromicina derivado 3 (Éter derivado) 84,8% p/p, roxitromicina derivado 4 (metil derivado) 95,0% p/p, roxitromicina derivado 5 (oxima de eritromicina) 96,5% p/p (Aventis-Pharma, Caracas-Venezuela). Muestras de roxitromicina comprimidos 300 mg (Aventis-Pharma, Caracas-Venezuela). Acetato de amonio grado reactivo Reidel de Häen (Didacta, Caracas-Venezuela) Membranas de filtración Sartorius tamaño de poro 0,45 µm Sartolon Polyamida (Didacta, Caracas-Venezuela).

Metodología analítica

PREPARACIÓN DE LA FASE MÓVIL

La fase móvil empleada en la metodología utilizada

fue acetonitrilo:metanol: acetato de amonio 0,5% (50:30:20). La mezcla fue filtrada usando membrana de 0,45 μm y desgasificada con vacío con agitación magnética por 10 minutos.

PREPARACIÓN DEL PATRONES Y MUESTRAS

Las soluciones de patrones y muestras se prepararon justamente antes de ser utilizados. Se pesaron cantidades de roxitromicina necesaria para obtener una solución madre de 10 mg/mL de concentración, se asistió la disolución con ultrasonido y se llevó a volumen con fase móvil. Finalmente, se filtró a través de membranas de filtración de 0,45 μm .

PROCEDIMIENTO CROMATOGRÁFICO

Las condiciones cromatográficas fueron: columna C18 μ -Bondapak (4,6 x 250 mm), 10 μ , fase móvil de acetonitrilo:metanol:agua:acetato de amonio (50:30:20:1g) a de 1,5 mL/min, detector UV a 215 nm, volumen de inyección de 50 μl y un tiempo de corrida de 10 min.

Validación del método cromatográfico

PRECISIÓN

La precisión del método se determinó inyectando por duplicado nueve muestras de roxitromicina a una concentración de 1 mg/ml. Se calculó el porcentaje de desviación estándar relativa (DSR, ver sección de resultados, Tabla I). Para la precisión del sistema se realizaron seis inyecciones consecutivas de la concentración 1 mg/mL de la curva estándar de roxitromicina. Se calculó el porcentaje de desviación estándar relativa (DSR) de las áreas y tiempos de retención para cada una de ellas (ver sección de resultados, Tabla II).

ADECUACIÓN DEL SISTEMA

Utilizando los cromatogramas obtenidos en la determinación de la precisión de método en la forma indicada anteriormente, se calcularon los valores de número de platos teóricos (N), factor de cola (T) y factor de capacidad k' utilizando el programa de computación HP ChemiStations programado con los cálculos de los parámetros descritos en la USP (ver sección de resultados, Tabla III). El tiempo muerto se determinó mediante la inyección de metanol con una gota de acetona; el tiempo obtenido fue de 1,152.

EXACTITUD

La exactitud se determinó calculando el porcentaje de recuperación de nueve réplicas de un nivel de concentración del 100% de un lote comercial de roxitromicina,

Tabla I

Precisión del Método Analítico de Roxitromicina Comprimidos (1 mg/mL)

Muestra	Inyección	Áreas	% DSR
M1	1	3750,78296	0,03
	2	3749,34180	
M2	1	3730,91113	0,36
	2	3750,05396	
M3	1	3730,06226	0,02
	2	3731,03296	
M4	1	3742,33081	0,01
	2	3742,04639	
M5	1	3787,17993	0,16
	2	3778,75171	
M6	1	3730,88574	0,26
	2	3744,84570	
M7	1	3711,53662	0,14
	2	3703,89453	
M8	1	3707,46948	0,55
	2	3736,83472	
M9	1	3795,64746	0,25
	2	3808,99219	
PROMEDIO		3746,25557	
% DSR			0,79

Tabla II

Precisión del Sistema para una Solución Estándar de Roxitromicina (1mg/mL)

Inyección	Tiempo de retención (min)	Áreas	Concentración obtenida (mg/mL)
1	5,649	3876,87891	1,010
2	5,651	3880,95825	1,011
3	5,661	3885,02271	1,012
4	5,667	3884,83276	1,012
5	5,668	3884,17627	1,012
6	5,667	3882,7915	1,011
PROMEDIO	5,661	3882,4434	
% DSR	0,15	0,08	

tomando como valor de referencia el resultado obtenido por el método microbiológico validado para el mismo lote (ver sección de resultados, Tabla IV).

ESPECIFICIDAD

La especificidad del método se evaluó comparando los cromatogramas del placebo (todos los excipientes que se utilizan en la fabricación de la roxitromicina

Tabla III

Resultados de la Adecuación del Sistema para el Análisis de Roxitromicina

Inyección	Compuesto (min)	TR	AREA	T	K'	N
1	Roxitromicina	5,649	3876,87891	1,813	3,903	2052
2	Roxitromicina	5,651	3880,95825	1,816	3,905	2054
3	Roxitromicina	5,661	3885,02271	1,818	3,914	2060
4	Roxitromicina	5,667	3884,83276	1,816	3,919	2031
5	Roxitromicina	5,668	3884,17627	1,805	3,920	2066
6	Roxitromicina	5,667	3882,7915	1,811	3,919	2031
PROMEDIO		5,661	3882,4434	1,813	3,91	1,813
% DSR		0,15	0,08	0,25%	0,19%	0,25%

Tabla IV

Exactitud del Método Analítico de Roxitromicina Comprimidos (1 mg/ml)

Muestra	Inyección	Concentración obtenida (mg/comprimido)	Recuperación %
M1	1	292,67	98,26
	2	292,56	98,23
M2	1	290,92	97,68
	2	290,41	97,51
M3	1	290,65	97,59
	2	290,72	97,61
M4	1	292,74	98,29
	2	292,71	98,28
M5	1	296,45	99,53
	2	295,79	99,31
M6	1	291,64	97,92
	2	292,27	98,13
M7	1	290,87	97,66
	2	290,27	97,46
M8	1	290,65	97,59
	2	292,85	98,32
M9	1	297,46	99,87
	2	298,50	100,22
Promedio		292,79	98,30
% DSR		0,87	

comprimidos), fase móvil, fase móvil en hisopo, etanol (solvente utilizado en la validación de limpieza), etanol en hisopo, estándar de roxitromicina y los estándares de impurezas (isómero Z-de roxitromicina, roxitromicina derivado 1, roxitromicina derivado 3, roxitromicina derivado 4 y roxitromicina derivado 5) con el cromatograma de la muestra de roxitromicina. Estas impurezas pudieran estar presentes en la materia prima, provenientes del proceso de síntesis de la misma.

LINEALIDAD Y RANGO

La linealidad se determinó inyectando dos réplicas de cada nivel de concentración de la curva de calibración, utilizando estándar secundario de roxitromicina. Las concentraciones utilizadas en la curva estándar fueron las siguientes: 0,6; 0,8; 0,9; 1,0; 1,1 y 1,2 mg/mL (ver sección de resultados, Tabla V).

Resultados y discusión**PRECISIÓN**

Los resultados para la determinación de la precisión en términos de repetibilidad del método analítico se muestran en la Tabla I. Como puede observarse en los resultados mostrados para las muestras de comprimidos 300 mg, el porcentaje de desviación estándar relativa fue de 0,79. Los resultados de la precisión del sistema, basados en la variación de áreas y tiempo de retención del método analítico, se muestran en la Tabla II. Al igual que los resultados de precisión del método analítico, la desviación estándar relativa fue menor a 2%, es decir, el método demostró ser preciso (USP 28, ICH).

ADECUACIÓN DEL SISTEMA

Los resultados promedios del número de platos teóricos, factor de cola y factor de capacidad obtenidos fueron: N= 1.813; T= 1,8 y k'= 3,91 respectivamente. La evaluación de la adecuación del sistema permitió verificar que el sistema de medición funcionara apropiadamente y se demostró que los resultados obtenidos en la validación del método analítico son fiables (Tabla III).

EXACTITUD

La exactitud se evaluó en términos de recuperación a partir de los resultados obtenidos en el ensayo de precisión. Se tomó el valor de referencia 297,84 mg/comprimido, valor que se obtuvo del análisis de rutina

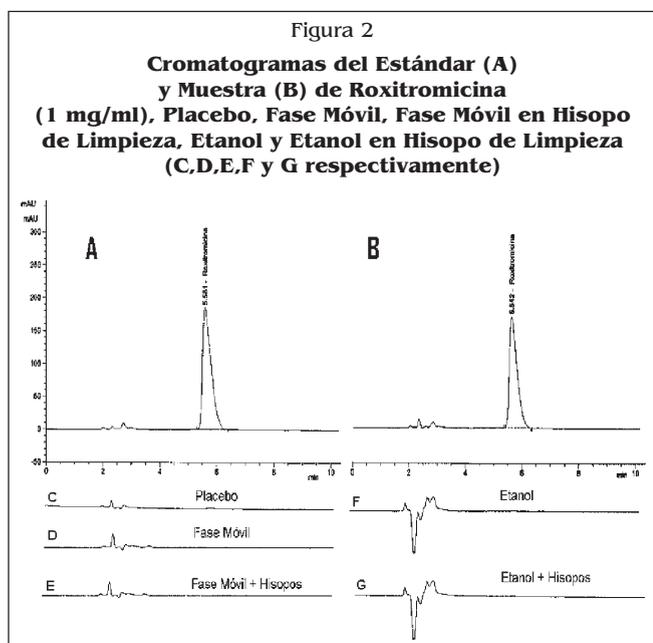
Tabla V
**Determinación de la Linealidad del Método
 en el Rango de Concentración**

Concentración (%)	Concentración (mg/mL)	Área	Promedio	% DSR
60	0,6	2252,768	2253,419	0,04
		2254,071		
80	0,8	3112,979	3117,162	0,19
		3121,346		
90	0,9	3401,713	3421,813	0,85
		3441,913		
100	1,0	3982,975	3940,051	1,54
		3897,128		
110	1,1	4166,833	4170,481	0,12
		4174,129		
120	1,2	4585,401	4590,255	0,15
		4595,109		

por el método microbiológico (Clavel y Pedrique, 1991) validado para muestras del mismo lote de comprimidos de roxitromicina. Para obtener un resultado por el método por HPLC se realizaron los cálculos para obtener el contenido de las nueve muestras evaluadas. En la Tabla IV se puede observar que la desviación estándar relativa fue 0,87, es decir, menor a 2%, por lo que los porcentajes de recuperación se encuentran dentro de los límites de la especificaciones generales oficiales (USP 28, ICH).

ESPECIFICIDAD

En la figura 2 se observan los cromatogramas del estándar y la muestra de roxitromicina, ambos compara-



bles en términos de tiempos de retención. Así como también los obtenidos para el placebo, fase móvil, fase móvil en hisopo, etanol y etanol en hisopo. Así mismo, la resolución mostró ser satisfactoria entre el pico cromatográfico de la roxitromicina y los estándares de impurezas relacionados con el antibiótico estudiados.

LINEALIDAD Y RANGO

Los datos de la curva de calibración obtenida en el estudio se muestran en la Tabla V. La ecuación de regresión obtenida para la curva de calibración inyectando dos réplicas de cinco niveles de concentración fue de $y = 3861,4 x - 21,788$, con un factor de regresión $r = 0,997$. El método mostró la capacidad de producir resultados directamente proporcionales a la concentración del analito dentro del intervalo ensayado, con un coeficiente de correlación lineal (r^2) que debe ser $\geq 0,99$.

Todos y cada uno de los parámetros de validación evaluados: precisión, adecuación del sistema, exactitud, especificidad, linealidad y rango proporcionaron la evidencia documentada de que el procedimiento validado descrito proporciona una metodología adecuada al control de calidad del producto roxitromicina en muestras de comprimidos 300 mg, según la USP 28 y la guía ICH.

COMPARACIÓN MÉTODO MICROBIOLÓGICO VS HPLC

El mismo lote de muestra roxitromicina 300 mg comprimidos que se utilizó para el desarrollo y la validación del método por HPLC en el presente trabajo, fue utilizado para el análisis por el método microbiológico difusión en agar. Al comparar los resultados del método microbiológico y HPLC (297,84 vs 292,78 mg/comprimidos), se obtuvo una desviación estándar relativa de 1,17%, es decir, la diferencia es muy poca si tomamos en cuenta que el fundamento de ambos métodos es totalmente diferente.

Conclusiones y recomendaciones

De acuerdo con los resultados obtenidos, podemos concluir que el método de ensayo reportado para la determinación de roxitromicina en comprimidos por HPLC es preciso, exacto, específico y lineal para los parámetros evaluados en este estudio, ya que se encuentra dentro de los rangos establecidos. Los métodos microbiológicos, en su gran mayoría, son los utilizados oficialmente para establecer la actividad de los antibióticos. Sin embargo, la cromatografía líquida de alta resolución es la técnica que en los últimos años ha crecido en importancia más rápidamente. Cada una de estas técnicas tiene sus ventajas y limitaciones, pero la metodología propuesta en este estudio tiene la ventaja de la obtención de resultados en un tiempo más corto, sin dejar a un lado la comprobación de la actividad del antibiótico; para ello se propone

utilizar el mismo método de difusión en agar, con las mismas variantes y concentraciones, tanto de la muestra como del estándar. Si la sustancia ensayada es un agente bactericida o bacteriostático, se obtendrá una zona de inhibición, de esta manera se puede corroborar si el lote de roxitromicina ensayado tiene actividad biológica.

El método reportado es isocrático por HPLC con detección ultravioleta, metodológicamente útil para ser utilizado como control de calidad en la industria farmacéutica, disminuyendo los tiempos de análisis en comparación con el método microbiológico que actualmente se utiliza, sin implicar costos de equipamiento más complejo no disponible para los análisis de rutina.

Agradecimientos

Las autoras agradecen el apoyo de la empresa Aventis-Pharma, donde se desarrolló la investigación, y a la Facultad de Farmacia de la UCV, ya que la misma forma parte del Trabajo Especial de Grado de la autora Miriam Gutiérrez correspondiente al Postgrado de Aseguramiento de la Calidad de dicha Institución.

Referencias bibliográficas

- CHEPKWONY HK, KAMAU FN, RODRÍGUEZ E, ROETS E Y HOOGMARTENS J. (2001). Isocratic liquid chromatographic method for the análisis of roxithromycin and structurally related substances in bulk samples. *J Chromatogr* 54: 725-729.
- CHOI S, KIM S, LEE H, NA D, YOON Y, LEE S, KIM J, LEE K Y LEE H. (2001). Column-switching high-performance liquid chromatographic determination of clarithromycin in human plasma with electrochemical detection. *Talanta* 54: 377-382.
- CLAVELL L Y PEDRIQUE M. (1991). *Métodos de difusión. Análisis Microbiológico de los Antibióticos*. Fondo Editorial Facultad de Farmacia-UCV, Caracas, Venezuela, pp. 1-5.
- DUBOIS M, FLUCHARD D, SIOR E Y DELAHAUT PH. (2001). Identification and quantification of five macrolide antibiotics in several tissues, eggs and milk by liquid chromatography electrospray tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B*: 753: 189-202.
- GOODMAN LS Y GILMAN A. (1991). *Agentes Antimicrobianos. Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 8ª ed, Editorial Médica Panamericana, México, p. 1096.
- ICH Q2A: *Validation of Analytical Methods (Definitions and Terminology)*, October 1994. ICH Q2B: *Analytical Validation-Methodology*, November, 1996.
- KANFER I, SKINNER M Y WALTER R. (1998). Analysis of macrolide antibiotics. *J Chromatogr A* 812: 255-286.
- KHASHABA P. (2002). Spectrofluorimetric analysis of certain macrolide antibiotics in bulk and pharmaceutical formulations. *J Pharm & Biomed Anal* 27: 923-932.
- LIM J, JANG B, LEE R, PARK S Y YUN H. (2000). Determination of roxithromycin residues in the flounder muscle with electrospray liquid chromatography-mass spectrometry. *J Chromatogr B* 746: 219-25.
- LÖFFLER D Y TERNES T. (2003). Determination of acidic pharmaceuticals, antibiotics and ivermectin in river sediment using liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *J Chromatogr A*, 1021:133-144.
- MARTINDALE (1993). *The extra pharmacopeia*. 30th, Edited by James E.F. Reynolds, London, The Pharmaceutical Press. p. 164.
- MIAO XS Y METCALFE CD. (2003). Determination of pharmaceuticals in aqueous xxx using positive and negative voltage switching microbore liquid chromatography/electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J Mass Spectrom* 38:27-34.
- QI M, WANG P, CONG R Y YANG J. (2004). Simultaneous determination of roxithromycin and ambroxol hydrochloride in a new tablet formulation by liquid chromatography. *J Pharm & Biomed Anal* 35:1287-91.
- REAL ACADEMIA ESPAÑOLA. Nuevo tesoro lexicográfico de la Lengua Española (Documento en línea) Disponible en: <http://buscon.rae.es/httle/icono/fondoRAE.jpg> 1992 (Consulta: 2005 Febrero 12). *Real Farmacopea Española*. (1997). *Roxitromicina*. 1ª ed., Ministerio de Sanidad y Consumo, Madrid, España, pp.1547-1549.
- SPILVA DE LEER A Y MUKTANS SPILVA Y. (2000). *Guía de especialidades farmacéuticas*. 26ª ed., Global ediciones S.A., Caracas, Venezuela, pp. 8.
- SUHAGIA B, SHAH S, RATHOD I, PATEL H, DOSHI K Y PARMAR V. (2006). Spectrophotometric estimation of roxithromycin in tablet dosage forms. *Indian J. Pharm.Sci* 68 (4):543-546.
- UNITED STATES PHARMACOPEA. USP 28 – NF 23 General Chapters: <1225> *Validation of compendial methods* (2005). (Documento en línea) Disponible en <http://www.uspnf.com> (Consulta: Enero 23, 2005).

Recibido: 19 de marzo de 2007
Aprobado: 28 de junio de 2007

ÍNDICE DE AUTORES

Vol. 70 - Nº 1 - 2007

A

Amesty Ángel

Arismendi A Esdrás J. Evolución de la eficiencia del Postgrado de Farmacia Comunitaria en términos de tiempo de permanencia de los estudiantes en el programa.

Avendaño Milagros

B

Buitrago Diolimar

Burgos Ignacio. Gerencia Estratégica Empresarial.

C

Chirinos Carmen. Caracterización de la posición Competitiva Actual de dos laboratorios farmacéuticos nacionales.

Ciangherotti Carlos E

Colman de Saizarbitoria Trina

Colman Trina

Cordero de Troconis Mary Isabel. Relación estructura química-actividad inhibidora de la quimotripsina de ácidos fenilalquilborónicos

G

Gutiérrez Miriam. Validación de un método analítico por HPLC para la determinación de roxitromicina en comprimidos.

I

Israel Anita

M

Monasterios Melina. Derivados del 5-nitrofurano: desde Dodd y Stillman hasta nuestros días.

O

Ortega Aracelis. Actualización de Normas de Estabilidad de Productos Farmacéuticos

P

Pastorello Mariella. Actividad antiinflamatoria del ácido 3-*epi* ursólico y *docking* a la fosfolipasa A₂

R

Regnault Miriam

Romeo Eva

S

Scaparone de Suárez Guadalupe

ÍNDICE DE DESCRIPTORES

Vol. 70 - Nº 1 - 2007

Ácido <i>Epi</i> -Ursólico	47
Ácido Ursólico	47
Compuestos Antichagásicos	38
Cromatografía Líquida de Alta Resolución	64
Derivados del 5-Nitrofurano	38
Eficiencia	33
Estabilidad	17
Estudios	17
Evolución Tecnológica	22
Farmacóforo	53
Fosfolipasa A ₂	47
Gerencia Estratégica	3
HPLC	64
Inflamación	47
Inhibidores de Quimotripsina	53
Laboratorios Farmacéuticos	22
Medicamentos	22
Modelado Molecular	53
Patentometría	22
Planificación Estratégica	3
Postgrado	33
Roxitromicina	64
Tiempo de Permanencia	33
Validación	64
Validez	17

Normas de Publicación

La *Revista de la Facultad de Farmacia* fue creada en 1959 y constituye una publicación periódica, arbitrada, de aparición semestral, destinada a promover la difusión de artículos científicos en el área de las ciencias de la salud, así como en áreas básicas y aplicadas relacionadas con la obtención, ensayos, análisis, usos y producción de medicamentos, alimentos, cosméticos, tóxicos y substancias relacionadas.

Está basada en la existencia de un Comité Editorial, consistente en un editor-director, editores asociados y una Comisión Editorial. Los manuscritos que publica pueden ser de autores nacionales o extranjeros, residentes o no en Venezuela, en español o en inglés. Los manuscritos deben ser trabajos inéditos y su aceptación por el Comité Editorial implica que no ha sido publicado, ni está en proceso de publicación, en otra revista en forma parcial o total. Igualmente podrán ser publicadas Revisiones o Cartas al Editor. El manuscrito deberá ir acompañado de una carta de solicitud firmada por el autor responsable. En caso de ser aceptado, el Comité Editorial no se hace responsable del contenido expresado en el trabajo publicado. Aquellos manuscritos que no se acojan a las condiciones indicadas o que sean rechazados por dos de los árbitros que dictaminen sobre su calidad y contenido, no serán publicados y serán devueltos a los autores.

Forma y preparación de los manuscritos

Para la publicación de trabajos científicos en la *Revista de la Facultad de Farmacia*, los mismos estarán de acuerdo con los requisitos originales para su publicación en *Revistas Biomédicas*, según el Comité Internacional de Editores de *Revistas Médicas* (2003). Además, los editores asumen que los autores de los artículos conocen y han aplicado en sus estudios la ética de experimentación (Declaración de Helsinki y el *Código de Bioética y Bioseguridad*, 2da. edición, 2002, del Ministerio de Ciencia y Tecnología y el Fondo Nacional de Ciencia y Tecnología).

Los manuscritos deben ser enviados en original y dos copias impresas dentro de un sobre de papel grueso, incluyendo copias fotográficas y figuras entre cartones para evitar que se doblen, con una versión en diskette o CD-ROM. Los manuscritos deberán ser enviados al Editor-Director, a la Dirección de la Revista, en el Instituto de Investigaciones Farmacéuticas de la Facultad de Farmacia, Universidad Central de Venezuela, Los Chaguaramos, Apartado Postal 40109, Nueva Granada, Caracas, Venezuela.

Los manuscritos deben estar escritos a doble espacio, en papel Bond blanco tamaño carta, por una cara, sin borrones ni tachaduras y con márgenes de 2,5 cm. Todas las páginas deben ser numeradas correlativamente, empezando por el título. El número de la página

deberá colocarse en el ángulo superior derecho de cada página. Su longitud no debe exceder de 20 páginas, excluyendo el espacio destinado a figuras, tablas y leyendas.

Cada uno de los componentes del original deberá comenzar en página aparte, en la secuencia siguiente:

- a. Página del título, nombre completo de(l) (los) autor(es) y su filiación institucional.
- b. Resumen y palabras clave.
- c. Texto (Introducción, materiales y métodos, resultados, discusión, conclusiones y recomendaciones).
- d. Agradecimientos.
- e. Referencias bibliográficas.
- f. Tablas: cada una de las tablas en páginas aparte, completas, con título y llamadas al pie de la tabla.
- g. Figuras: cada una en página aparte con su título.
- h. Leyenda de las figuras.

La página del título deberá contener:

1. Título del artículo en español e inglés, conciso e informativo, no mayor de veinte palabras.

Primer nombre e inicial del segundo nombre y apellido(s) de los autores (con una llamada para identificar al pie de página al autor responsable de la correspondencia, indicando su dirección electrónica). Afiliación Institucional de cada uno de los autores.

2. La segunda página debe contener un resumen en español e inglés, con un máximo de 250 palabras. El texto debe dar una visión general del trabajo, señalar someramente el propósito, los métodos y los hallazgos. No se deben citar referencias.

El resumen debe hacer énfasis en los aspectos nuevos e importantes del estudio o de las observaciones. Inmediatamente después del resumen, proporcionar o identificar como tales: 3-10 palabras clave que ayuden a los indexadores en la construcción de índices cruzados de su artículo y que pueda publicarse con el resumen; utilice los términos del encabezamiento temático (Medical Subject Heading (Mesh)) del Index Medicus.

3. En cuanto al texto, debe dividirse en: Introducción, materiales y métodos, resultados y discusión. La **introducción** debe aparecer después del resumen, debe contener lo esencial para situar el problema y la justificación del trabajo utilizando las referencias más relevantes. Los **materiales y métodos** deben contener la descripción breve y clara que permita la comprensión y la reproducibilidad del trabajo. En caso de técnicas y métodos clásicos ya publicados,

se debe indicar sólo la referencia. Los **resultados** deben ser presentados en forma clara y precisa con un mínimo de discusión o interpretación personal. Todas las figuras y tablas deben ser citadas en el texto. **La discusión** debe ser restringida a la interpretación de los resultados y eventualmente a comparar con los resultados de otros autores. **Las 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. Se pueden incluir recomendaciones de aplicación práctica. **Los agradecimientos** deben hacerse a las personas o instituciones que han hecho contribuciones al estudio.

4. Las **referencias bibliográficas**: Las mencionadas en el texto deben citarse escribiendo entre paréntesis el apellido y año. Ejemplo: (Ávila, 1983); (Brenes y Rodríguez, 1961); (Zimmermann y col., 2003).

La lista de referencias bibliográficas llevará por título «Referencias Bibliográficas» y su ordenamiento será según el orden alfabético manteniendo la estructura siguiente: Autor (es): Apellido(os), inicial del nombre, año, título del artículo, Revista (abreviatura aceptada), Vol. Número, páginas (en el caso de artículos científicos). No se aceptarán trabajos que no se ajusten a las normas presentes.

Ejemplos:

Ávila JL. 1983. New national approaches to Chagas disease chemotherapy. *Interciencia* 8: 405-417.

Ávila JL, 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 de que se trate de referencias de libros debe contener:

Nombre(es) de autor(es), capítulo del libro. En: título de libro, número de la edición (excepto si es la primera), editorial, lugar de la edición, año de publicación y páginas.

Ejemplo:

Decampo R, Moreno SNJ. Free radicals intermediates in the antiparasitic action of drugs and fugacitic cells. En: *Free radicals in Biology*. Eds: WA-Pryors Academic Press, 1984. pp. 243-288.

5. **Tablas**: Las tablas deben presentarse en hojas separadas, a doble espacio, y numeradas correlativamente en números romanos con el título en la parte superior. No se debe duplicar material del texto o de las figuras. En caso necesario coloque material explicativo en notas al pie de la tabla y no en el encabezamiento; explique en notas al pie de la tabla las abreviaturas no estandarizadas o utilizadas; identifique claramente las variables tales como desviación estándar y error estándar de la media; cite cada tabla en orden correlativo dentro del texto; cite la fuente de información al pie de la tabla si ésta no es original.

6. **Figuras**: Las figuras deben ser de buena calidad, en papel con fondo blanco. Las fotografías de especímenes anatómicos, de lesiones o de personas, deberán tener suficiente nitidez como para identificar claramente los detalles importantes. En caso de tratarse de fotos en colores, los gastos de su impresión correrán a cargo del autor del trabajo.

Todas las figuras deben ser identificadas en el reverso de la hoja, indicando número de la figura, apellidos y nombres de los autores (Ejemplo: Fig. 1; Fig. 2; etc).

En caso de fotografía de personas evite que el sujeto sea identificable o acompañe de la autorización escrita de la misma.

Las leyendas de las figuras deberán presentarse a doble espacio en página aparte y usar el número que corresponde a cada figura. Cuando se usen símbolos y fechas, números o letras para identificar partes en las figuras, identifíquelas y explique cada una en la leyenda. Si se trata de fotomicrografía, indique la escala e identifique el método de coloración.

Fórmulas y ecuaciones: Éstas deben presentarse claramente para su reproducción.

REVISTA FARMACIA N° 70-1

Se imprimió en los talleres tipográficos de Miguel Ángel García e Hijo, s.r.l.
en la Ciudad de Caracas

Sur 15 • N° 107 • El Conde • Teléfono: 576.13.62

Tiraje: 500 ejemplares