



UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA

**EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DEL ANTIBIÓTICO BETALACTÁMICO
AMOXICILINA COMO MATERIA PRIMA EN COLOMBIA, MEDIANTE
LA REALIZACIÓN DE UN ESTUDIO DE VIGILANCIA TECNOLÓGICA
E INTELIGENCIA COMPETITIVA**

MIGUEL ANGEL GONZÁLEZ NAVARRETE

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

2014

**EVALUACIÓN DE LA PRODUCCIÓN DEL ANTIBIÓTICO BETALACTÁMICO
AMOXICILINA COMO MATERIA PRIMA EN COLOMBIA, MEDIANTE
LA REALIZACIÓN DE UN ESTUDIO DE VIGILANCIA TECNOLÓGICA
E INTELIGENCIA COMPETITIVA**

MIGUEL ANGEL GONZÁLEZ NAVARRETE

Tesis presentada como requisito parcial para optar al título de:

Magister en Ciencias Farmaceuticas

Director:

Ph. D en Biotecnología Sonia Amparo Ospina Sanchez

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

2014

*Dedico este trabajo a Dios por darme la
vida y la maravillosa oportunidad de
estudiar y aprender.*

*A mi madre, hermana y esposa, que
gracias a su incansable ánimo y apoyo
constante, me indicaron que nada es
imposible y que tan sólo la meta se
puede llegar a cumplir.... con esfuerzo,
disciplina y sacrificio.*

Miguel Angel González Navarrete

Agradecimientos

Quiero agradecer a la Dra Yenny M. Sánchez, Ph.D en Economía y Gestión de la Innovación y Política, Asesora de la Vicerrectoría de Investigación, quien gracias a sus aportes se marcaron las directrices frente a la metodología del trabajo y a las directivas del laboratorio Coaspharma que patrocinaron esta investigación.

Abreviaturas

PA.....	Penicilin acilasa
6-APA.....	Ácido 6-amino penicilánico.
PHFGME.....	Éster metílico de la hidroxifenil glicina.
FCV.....	Factor crítico de vigilancia.
PCV.....	Pregunta clave de vigilancia.
SEAB.....	Síntesis enzimática de antibióticos betalactámicos.
SEA.....	Síntesis enzimática de amoxicilina.
SEAM.....	Síntesis enzimática de ampicilina.
SEC.....	Síntesis enzimática de cefalexina.

Resumen

El creciente aumento en las importaciones de bienes e insumos en Colombia, especialmente en el caso de la materia prima amoxicilina, donde se evidencia un incremento en un 26.82% en el periodo de 2002 al 2012 y teniendo en cuenta las directrices del Plan Nacional de Desarrollo 2010 – 2014, que promueve la innovación y el mejoramiento de la productividad, se plantea una sustitución gradual de las importaciones de este insumo, por materia prima producida a nivel nacional. Para llevar a cabo tal planteamiento surge la necesidad de realizar un estudio de Vigilancia Tecnológica e Inteligencia Competitiva, teniendo como factores críticos de vigilancia la producción del antibiótico, análisis del mercado en el contexto nacional e internacional y características de la materia prima, con el fin de obtener resultados que permitan analizar las ventajas y desventajas de crear una planta de producción en Colombia y evaluar su factibilidad económica, siempre y cuando se integre la academia tanto nacional como extranjera con la industria farmacéutica.

Las estrategias recomendadas para el desarrollo de esta investigación a partir de los resultados obtenidos, demostraron que para obtener la amoxicilina por vía enzimática no se requiere partir del intermediario 6-APA, sino de la sal potásica de penicilina G (PGK) directamente, usando la enzima penicilin acilasa (PA) de *Kluyvera citrophila*, inmovilizada en hidrogel de sílice amino modificado, precipitada con iones de zinc y en el medio de reacción tert-pentanol anhidro, con el fin de obtener un mayor rendimiento de la síntesis.

Palabras Clave: Amoxicillina, Antibiótico betalactámico, Ácido 6 aminopenicilánico, penicilin acilasa, vigilancia tecnológica, síntesis enzimática, sal potásica de penicilina G.

Abstract

The increasing growth of Colombia's imports on goods and supplies, specially in the case of raw material amoxiciline, when an increasing of 26.82% is noticed, from years 2002 to 2012 and taking into account the development national plan (plan nacional de desarrollo) 2010-2014 guidelines which promotes innovation and productivity improvement; it passes a gradual imported raw material substitution of these supplies by raw material supply produced all over the country.

To carry out such approach, there's a need to perform a technological surveillance and a competitive intelligence research, having a critical factors at surveillance the antibiotic production market analysis in national and international context and raw material characteristics. So that results can be obtained and analyse advantages and disadvantages of bulding and amoxiciline production plant in Colombia and asses its economical feasibility whenever it involves both national and international academy and pharmaceutical industry.

Recomended strategies for this research development from results obtained showed that to produce amoxiciline by means of enzymatic away, it is not required to start from G- APA intermediate but directly from penicilin salt G potassium (PGK).

Usign enzyme penicilin acilase (PA) *Kluyvera citrophyla* immobilized in hidrogel of sílice amino modified precipitated with zinc ions and a tert-pentanol-anhidro source reaction in order to get a better synthesis performance.

Keywords: Amoxicillin, B-lactam antibiotic, 6 aminopenicillanic Acid, penicillin acylase technological monitoring, enzymatic synthesis, Penicillin G potassium salt

CONTENIDO

Resumen.....	V
Abstract.....	VI
Lista de figuras.....	X
Lista de gráficas.....	XI
Lista de tablas.....	XIII
Introducción.....	14
2. Resumen ejecutivo.....	16
3. Objetivos.....	20
3.1. Objetivo general.....	20
3.2. Objetivos específicos.....	20
4. Marco teórico.....	21
4.1. Definiciones.....	21
4.2. Generalidades.....	21
4.3. Clases de vigilancia.....	22
4.3. Beneficios.....	22
4.4. Ciclo de vigilancia.....	22
4.4.1. Etapa de planeacion e identificación de necesidades.....	23
4.4.2. Etapa de búsqueda y captación.....	23
4.4.3. Etapa de análisis y organización.....	23
4.4.4. Etapa de inteligencia.....	23
4.4.5. Etapa de comunicación.....	23
5. Metodología.....	25
5.1. Etapa de planeacion e identificacion de necesidades.....	25
5.1.1. Selección de FCV y PCV.....	25
5.1.2. Construcción de la ficha de necesidades.....	26
5.1.3. Etapa de búsqueda y captación.....	26
5.1.4. Formulación de la ecuación de búsqueda.....	27
5.1.5. Elaboración del corpus de información:.....	28
5.2. Etapa de análisis y organización:.....	28
5.2.1. Distribución de la información no estructurada.....	28
5.2.3. Distribución de la información estructurada en patentes.....	30
6. Análisis cuantitativo.....	31

6.1.	Publicaciones científicas	31
6.2.	Patentes	37
7.1.	FCV - Producción del antibiótico	41
7.3.1.	Producción industrial.....	43
7.3.1.1.	Continuar con la investigación de las vías hidrolíticas	43
7.3.1.2.	Modificaciones en el medio de reacción	45
7.3.1.3.	Mejoramiento del sistema enzimático	47
7.3.2.	Tendencias en investigación relacionadas con la síntesis enzimática de amoxicilina (SEA) analizada a través de las publicaciones científicas	49
7.3.3.	El ácido 6-amino penicilánico (6-APA)	53
7.3.4.	Penicilin acilasa (PA)	53
7.3.4.1.	Características	54
7.3.4.2.	Inmovilización de la enzima	56
7.3.4.3.	Tendencias en investigación relacionadas con la enzima (PA) analizada a través de las publicaciones científicas	57
7.4.	FCV – Análisis de mercado: Contexto nacional e internacional	58
7.4.1.	Análisis del mercado: Caso China	60
7.2.2.	Análisis del mercado: Caso India	64
7.2.3.	Análisis del mercado: Caso México	66
7.2.5.	Análisis del mercado: Contexto Nacional	67
7.2.5.1.	Materia Prima	68
7.2.5.2.	Producto Terminado	70
7.2.5.3.	Nuevos Desarrollos	73
7.3.	FCV - Características de la materia prima	76
7.3.1.	Presentacion Comercial.....	77
8.	Conclusiones	78
A.	Anexo: Herramientas de software para VT e IC	80
B.	Anexo: Ficha de necesidades	81
C.	Anexo: Ficha técnica de las herramientas de búsqueda y procesamiento de la información	83
D.	Anexo: Bitácora de búsqueda "Información Estructurada"	85
E.	Anexo: Bitácora de búsqueda "Información NO Estructurada"	87
F.	Anexo: Bitácora de búsqueda "Patentes"	89
G.	Anexo: Definición y estructura de la amoxicilina	90

H.	Anexo: Artículos más representativos sobre “síntesis enzimática de Cefalexina” ..	91
I.	Anexo: Análisis Cienciométrico de la síntesis enzimática de Cefalexina (SEC)	94
J.	Anexo: Artículos más representativos sobre “síntesis enzimática de Ampicilina” ..	96
K.	Anexo: Análisis Cienciométrico de la síntesis enzimática de Ampicilina (SEAM) ..	98
L.	Anexo: Artículos más representativos sobre el tema “penicilin acilasa”	100
M.	Anexo: Compañías Colombianas que comercializan el principio activo amoxicilina en sus diferentes formas farmacéuticas	104
N.	Anexo: productos farmacéuticos desarrollados y radicados ante el INVIMA con base en la amoxicilina	105
BIBLIOGRAFÍA		107

Lista de figuras

Figura 4 - 1: Ciclo de vigilancia tecnológica.....	24
Figura 7 - 2: Reacción enzimática para la obtención de la amoxicilina.....	44
Figura 7 - 3: Reacciones de la enzima Penicilin Acilasa (PA).....	55
Figura 9 - 4: Estructura de la Amoxicilina	90

Lista de gráficas

GRÁFICA 5 - 1: Distribución de la información "NO ESTRUCTURADA" en los metabuscadores.....	29
GRÁFICA 5 - 2: Distribución de la información "NO ESTRUCTURADA" en los buscadores.....	29
GRÁFICA 5 - 3: Distribución de la información "Estructurada" en las bases de datos.....	29
GRÁFICA 5 - 4: Distribución de la información estructurada en patentes por buscador.....	30
GRÁFICA 5 - 5: Distribución de la información estructurada pertinente en patentes.....	30
GRÁFICA 6 - 6: Porcentaje de artículos publicados sobre el tema SEAB.....	32
GRÁFICA 6 - 7: Autores que más publican sobre el tema SEAB.....	33
GRÁFICA 6 - 8: Porcentaje del país de origen de los autores que más investigan sobre SEAB, respecto al número de publicaciones.....	33
GRÁFICA 6 - 9: Red asimétrica que relaciona el país vs número de autores que más investiga sobre el tema SEAB.....	34
GRÁFICA 6 - 10: Red asimétrica que relaciona la institución vs número de autores que más investiga sobre el tema SEAB.....	36
GRÁFICA 6 - 11: Red asimétrica que relaciona el Journal vs número de publicaciones por autor sobre el tema SEAB.....	36
GRÁFICA 6 - 12: Porcentaje de las palabras claves más citadas por los autores que investigan sobre el tema SEAB.....	37
GRÁFICA 6 - 13: Tendencia de publicación de patentes pertinentes registradas.....	37
GRÁFICA 6 - 14: Distribución de las principales entidades solicitantes de patentes.....	38
GRÁFICA 6 - 15: Distribución del país de origen del autor de la patente.....	38
GRÁFICA 6 - 16: Distribución del campo de aplicación de la patente.....	39
GRÁFICA 6 - 17: Distribución de las investigaciones en la formulación de nuevos productos.....	39
GRÁFICA 6 - 18: Distribución del campo de aplicación.....	40
GRÁFICA 7 - 19: Porcentaje de artículos publicados sobre el tema SEA.....	50
GRÁFICA 7 - 20: Porcentaje de artículos publicados sobre el tema SEA.....	50
GRÁFICA 7 - 21: Red asimétrica que relaciona el país de origen del autor Vs número de publicaciones del autor.....	51
GRÁFICA 7 - 22: Red asimétrica que relaciona el centro de investigación Vs número de investigadores por publicación.....	52
GRÁFICA 7 - 23: Red asimétrica que relaciona el Journal vs autor sobre la SEA.....	52
GRÁFICA 7 - 24: Porcentaje de artículos publicados sobre el tema PA.....	57
GRÁFICA 7 - 25: Porcentaje del país de origen de los autores que más investiga sobre el tema PA, con respecto al número de publicaciones.....	58
GRÁFICA 7 - 26: Precios nacionales y de las importaciones investigadas aportados por Fersinsa y SIC.....	66
GRÁFICA 7 - 27: Importaciones colombianas de amoxicilina como materia prima.....	68
GRÁFICA 7 - 28: Empresas importadoras nacionales de amoxicilina como materia prima.....	69
GRÁFICA 7 - 29: Origen de las importaciones de amoxicilina como materia prima.....	70
GRÁFICA 7 - 30: Valores totales de las ventas nacionales de medicamentos con el principio activo amoxicilina.....	70
GRÁFICA 7 - 31: Tendencia en las ventas de medicamentos con amoxicilina de los laboratorios más representativos.....	71
GRÁFICA 7 - 32: Tendencia en las ventas de medicamentos con el principio activo amoxicilina en valores.....	72
GRÁFICA 7 - 33: Laboratorios farmacéuticos que más comercializan medicamentos con amoxicilina en unidades.....	72

GRÁFICA 7 - 34 : Red asimétrica que relaciona país vs número de autores sobre amoxicilina combinado con ácido clavulánico.....	75
GRÁFICA 7 - 35 : Distribución de las nuevas invenciones patentadas, frente a las nuevas asociaciones con amoxicilina.....	75
GRÁFICA 9 - 36 : Porcentaje de artículos publicados sobre el tema SEC.....	94
GRÁFICA 9 - 37 : Red asimétrica que relaciona el país vs número de autores que más investiga sobre el tema SEC.....	95
GRÁFICA 9 - 38 : Red asimétrica que relaciona el año de publicación del Journal vs autor sobre el tema SEAM.....	98

Lista de tablas

TABLA 2 - 1: Ventajas y desventajas de las estrategias para la síntesis enzimática de amoxicilina	18
TABLA 2 - 2: Principales empresas/instituciones relacionadas con la investigación científica y tecnológica en la síntesis de amoxicilina.	19
TABLA 5 - 3: Términos de búsqueda según la Clasificación Internacional de Patentes (IPC).....	27
TABLA 7 - 4: Evolución en la tecnología de fabricación de la penicilina.....	42
TABLA 7 - 5: Estrategias realizadas para el mejoramiento de la síntesis de amoxicilina..	45
TABLA 7 - 6: Estrategias de mejoramiento del sistema enzimático	48
TABLA 7 - 7 : Clasificación de empresas manufactureras de antibióticos β -lactámicos ...	59
TABLA 7 - 8 : Empresas manufactureras de antibióticos penicilínicos.	60

Introducción

Cuando se establece un proyecto de investigación se busca resolver una necesidad específica, donde la gran mayoría de los investigadores se basan en metodologías existentes, informaciones técnicas, tendencias y demás sin embargo, hay bases metodológicas donde los nuevos investigadores deben conocer si su trabajo de investigación va a tener incidencia en el desarrollo del país a corto, mediano o largo plazo, además se pretende que los trabajos de investigación académica no queden en las instituciones educativas sin ninguna aplicación, por tal razón se debe generar una sinergia entre la industria farmacéutica y la academia, lo cual está implícitamente incluido en los objetivos de un plan de estudios de maestría.

Por tal razón el presente trabajo se fundamenta esencialmente en el desarrollo de un estudio de vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva (VT e IC) teniendo como tema central la obtención del antibiótico β -lactámico amoxicilina en nuestro país, con el fin de identificar y evaluar las nuevas tendencias en tecnologías tanto en la producción de materia prima, como en la producción de nuevos medicamentos, donde el gran volumen de información existente, dificulta la generación de conocimiento. Además existen mitos a nivel de la industria farmacéutica nacional que en países como China e India siendo los más grandes productores de materia prima, es imposible competirles con calidad y volumen, puesto que la gran mayoría de materia prima es procedente de allí.

Por otra parte los proveedores que manejan dicha materia prima corresponde a intermediarios “broker´s” los cuales manejan estándares de calidad variable, debido a que compran a diversos fabricantes, donde la industria nacional debe ajustar sus procesos según la materia prima que llegue con el fin de generar producto de calidad para el consumo humano, sin tener en cuenta los sobre-costos en producción que esto pueda llevar.

El hecho de basar únicamente el proyecto en el antibiótico amoxicilina está fundamentado, en análisis de los históricos de las materias primas de tipo antibiótico β -lactámico más comercializadas, en el volumen de las ventas y las tendencias del mercado tanto nacional como internacional, los cuales son muy atractivos para la industria farmacéutica, en particular para la empresa COASPHARMA que patrocina esta investigación, puesto que dicha materia prima influye directamente en su balance económico general, pero la incertidumbre de éxito del proyecto lleva a que primero se demuestre qué tan conveniente es?, cuál es la ventaja y desventaja?, con el fin de eliminar la importación del activo y fabricarlo en Colombia, pero para esto es necesario conocer si la empresa farmacéutica colombiana está en condiciones de fabricar la materia prima para suplir sus necesidades? ahora bien, con el fin de dar respuesta de dichos interrogantes, es necesario que este

macroproyecto inicie con una vigilancia tecnológica y termine con una inteligencia competitiva, siendo un paso decisivo en el fortalecimiento de la transferencia de tecnologías hacia el sector empresarial, puesto que lo que busca la VT es observar el entorno, con el fin de responder a determinados cambios cuando éstos se produzcan y IC busca adelantarse a las amenazas y aprovechar las oportunidades, para una adecuada toma de decisiones.

Ahora bien, el resultado de esta investigación pretende dar un **estado del arte “fotografía”** en un momento determinado de una línea de investigación que se ha desarrollado en el tiempo y que los análisis, resultados y tendencias a nivel internacional mostrados corresponden a un estadio parcial y en constante evolución frente al tema, lo que nos lleva a proponer estrategias que conduzcan al desarrollo sostenible de este macroproyecto, ya sean de tipo asociativo entre las empresas del sector y la universidad, manejo de franquicias o alianzas con otros países, con el fin de permitir el desarrollo de todo o partes del proceso para la obtención del antibiótico.

De acuerdo a lo anterior, el presente trabajo, además de pretender establecer una metodología validada para la industria frente a sus nuevos proyectos de investigación, también puede ser la base fundamental de los nuevos trabajos investigativos en el departamento de Farmacia de la Universidad Nacional de Colombia, con la única intención que las futuras investigaciones sean aún más reconocidas tanto por su impacto a través del tiempo, como por su innovación y desarrollo que genere al país, por tal razón este documento es presentado como un informe de vigilancia tecnológica.

2. Resumen ejecutivo

El creciente aumento en las importaciones de bienes e insumos en Colombia, especialmente en el caso de la materia prima amoxicilina, donde se evidencia un incremento en un 26.82% en el periodo de 2002 al 2012 y teniendo en cuenta las directrices del Plan Nacional de Desarrollo 2010 – 2014, que establece un crecimiento sostenible del país basado en un alto nivel de competitividad, apoyado en la innovación y el mejoramiento de la productividad, son razones suficientes para proponer una sustitución gradual de las importaciones de este insumo por materia prima producida a nivel nacional. Para llevar a cabo tal planteamiento surge la necesidad de realizar un estudio de Vigilancia Tecnológica e Inteligencia Competitiva, con el fin de obtener resultados que permitan analizar las ventajas y desventajas de crear una planta de producción en Colombia y evaluar su factibilidad económica, teniendo como precedente que este tipo de industria posee un desarrollo incipiente en el país.

Esta investigación se focalizó en el antibiótico betalactámico tipo, penicilínico, amoxicilina, debido a:

1. Pertenece a la familia de los penicilínicos que representan ventas hasta US \$5.000 millones y una producción de materia prima de 33.000 toneladas/año a nivel mundial; y en Estados Unidos representan ventas por US \$1.2 millones/año.
2. Es el antibiótico de primera opción por su escasa toxicidad y amplio margen terapéutico para el tratamiento de infecciones sistémicas o localizadas por microorganismos gram-positivos y gram-negativos sensibles, por lo que se extrapola su vigencia por un mayor tiempo.
3. En Colombia las importaciones de materia prima han pasado de manejar 10,125 kg/año a 37,750 kg/año.
4. Frente al producto terminado sus ventas representan \$ 93.000 millones de pesos/año y presenta una tendencia de crecimiento en el periodo analizado de 2009 al 2013.

Las tecnologías disponibles para la producción de los antibióticos betalactámicos corresponden a procesos biotecnológicos dominados principalmente por su aspecto competitivo entre los grandes laboratorios productores que manejan reactores hasta de 380,000 litros, los cuales realizan permanentes esfuerzos en el mejoramiento en cada etapa del proceso, ya sea a la cepa, al proceso de fermentación o al proceso de separación, con el fin de incrementar los rendimientos en cada etapa.

Ahora bien, los procesos industriales para la obtención de la amoxicilina están migrando de la síntesis química a la síntesis enzimática, a lo que se le ha denominado “química verde”, debido a que no necesita de condiciones especiales de reacción (bajas temperaturas), no requiere de solventes organoclorados, el producto final no necesita de

complicados procesos de purificación y los volúmenes de desechos son menores, haciendo que la vía enzimática sea una opción para hacer el producto más rentable y menos lesivo al medio ambiente.

De acuerdo a este panorama, el trabajo de vigilancia se centró en una revisión de la literatura científica, técnica y la almacenada en los motores de búsqueda de internet disponibles, para establecer las tendencias de desarrollo de las tecnologías de obtención de la amoxicilina por vía enzimática, donde se enfocó en (3) factores críticos de vigilancia como:

- 1. Producción del antibiótico:** se presentan estrategias como el establecimiento de un adecuado control del pH durante la reacción, la precipitación del producto de síntesis, la adición de co-solventes al medio de reacción, la reducción de pasos en la síntesis, los diferentes soportes de inmovilización de la enzima y la búsqueda de las concentraciones ideales de reacción, llevando a inferir que cualquier incremento enfocado en aumentar la conversión en amoxicilina radica la rentabilidad del proceso.
- 2. Análisis del mercado en un contexto nacional e internacional:** se evidencia lo atractivo del proyecto en cuanto a su valor económico por los volúmenes de ventas y de producción, analizados con los principales actores de esta industria como China, India, México y Brasil. Al analizar el entorno nacional, los volúmenes de consumo de materia prima se evidencia que empresas como Manufacturera Mundial Farmacéutica y Genfar manejan el 84.7% de las importaciones, siendo los principales actores en unidades vendidas de producto terminado en el país, superados en valores por la multinacional Glaxo Smithkline, debido al posicionamiento de su marca AMOXAL®; además la importancia que tienen los nuevos desarrollos de productos teniendo como base la amoxicilina, hacen que se identifiquen nuevas oportunidades de diseño diferentes formas farmacéuticas, aumento en las concentraciones y nuevas formulaciones al conjugarlos con otros principios activos.
- 3. Características de la materia prima:** este factor de vigilancia se centra principalmente en las diferencias de calidad por el origen de obtención y condiciones de almacenamiento, que aunque cumplen con las especificaciones farmacopéicas, en la práctica generan inconvenientes en el proceso de transformación en la industria nacional.

Conclusiones relevantes

Producción del antibiótico

Actualmente el antibiótico amoxicilina es producido en mayor proporción por síntesis química y se está migrando a la enzimática, donde existen diferentes estrategias encaminadas a mejorar los rendimientos de producción, las cuales son planteadas en la Tabla 2 - 1, siendo estas las estrategias recomendadas para un futuro estudio que las integre sin embargo, la tendencia en el desarrollo de tecnologías está dirigida en gran

medida a la disminución en el número de operaciones unitarias necesarias para la obtención de la amoxicilina, es por esta razón que se propone obtener la amoxicilina a partir de la sal potásica de penicilina G(PGK), con la enzima penicilin acilasa (PA) de *Kluyvera citrophila* inmovilizada en hidrogel de sílice amino modificado, precipitada con iones de zinc y en el medio de reacción tert-pentanol anhidro.

TABLA 2 - 1: Ventajas y desventajas de las estrategias para la síntesis enzimática de amoxicilina.

(Fuente: Bases de datos UN, con base en la síntesis de los documentos citados en la bibliografía)

ESTRATEGIA	CARACTERISTICAS	VENTAJAS	DESVENTAJAS
CONTROL ADECUADO DEL pH	El modelo puede ser utilizado como una herramienta para la optimización de una reacción enzimática tipo suspensión-suspensión, siendo el mejor rango de pH (6.2 - 5.5)	Permite un adecuado monitoreo de pH y por ende mejor control de la reacción.	Estrategia vigente desde el año 2000
PRECIPITACIÓN DEL PRODUCTO DE SÍNTESIS	Precipitación de la amoxicilina con la adición de iones Zn^{2+} y de esta forma disminuye su hidrólisis.	Aumento en los rendimientos de la amoxicilina hasta 30 veces más.	Estrategia vigente desde el año 2002
EFEECTO CO-SOLVENTE EN LA MEZCLA DE REACCIÓN	Adición de tert-pentanol anhidro al medio de reacción que hace efecto co-solvente disminuyendo la hidrólisis de PHFGME y la amoxicilina	Presenta rendimientos del 88% de amoxicilina.	Aumento en el tiempo de reacción
RACIONALIZACIÓN DE LA EXPERIMENTACIÓN POR MEDIO DE MODELOS	El modelamiento de los reactores continuo y semi-continuo por medio de la red híbrida neuronal (NN) representó la cinética de la síntesis enzimática de amoxicilina. También se puede simular el cambio en los soportes donde se inmoviliza la enzima.	Simulación del proceso enzimático sin requerir parte experimental	Se requiere de un software especial que pueda modelar todas las interacciones con los diferentes nodos en el modelo NN
REDUCCIÓN DE PASOS EN LA SÍNTESIS, EFECTO CO-SOLVENTE Y ADICIÓN DE IONES	Se obtiene amoxicilina a partir de la PGK en un sólo reactor, catalizada por la PA inmovilizada de <i>Kluyvera citrophila</i> , y adición de iones Zn^{2+} . También se puede adicionar etilenglicol para lograr un efecto co-solvente y disminuir la hidrólisis de la amoxicilina.	No se requiere 6-APA. Mayor rapidez de proceso. Mejor monitoreo del proceso.	Se obtienen bajos rendimientos del 55.2% y 76.2%, donde se plantea evaluar su beneficio puesto que no se requiere partir del 6-APA.
CONCENTRACIONES IDEALES INICIALES DE PHFGME, 6-APA Y PGA	Se establecen las concentraciones ideales de 6-APA, PHFGME Y PGA, a diferentes rangos de pH y temperatura.	Se evitan gastos innecesario de reactivos, haciendo el proceso mas rentable	Se obtienen rendimientos del 50%
MUTAGENESIS DE LA ENZIMA	Se evalúa la mutagénesis a la PGA de <i>Bacillus megaterium</i> (BmPGA), con el fin de aumentar el rendimiento en la síntesis controlada cinéticamente de cefalexina.	Se puede aplicar a la reacción enzimática de la amoxicilina	Hay muy pocas investigaciones sobre nuevas mutagenesis en la PGA
SOPORTE DE INMOVILIZACIÓN DE LA ENZIMA	La inmovilización de la PGA en un hidrogel de sílice amino modificado es ideal para procesos industriales	Mejora en el rendimiento para la obtención de amoxicilina. Aplicación a nivel industrial	Se obtienen rendimientos bajos de amoxicilina 38%, donde está pendiente extrapolar dicha inmovilización con presencia de solventes orgánicos

Análisis de la información encontrada

Frente a la información científica encontrada se encontraron 104 reportes pertinentes completos, donde en la Tabla 2 – 2, se evidencia un mayor número de trabajos de investigación relacionados con el tema de la enzima penicilin acilasa (PA), debido principalmente a que esta enzima posee un amplio margen de aplicación industrial en diversos procesos, mientras cuando el tema es específico como “reacción enzimática de la amoxicilina” el número de trabajos de investigación es menor, encontrando que los países

que más investigan son en mayor proporción Brasil, seguido por China, India y Holanda. Además se encuentran investigaciones conjuntas entre los centros de Brasil y España. Por otra parte, frente a la publicación de patentes se encontraron 125 invenciones pertinentes, donde hay un comportamiento parecido que con la información científica, puesto que hay un mayor número de invenciones frente al tema del desarrollo de la enzima que de la reacción enzimática de la amoxicilina, encontrando que el líder corresponde a DSM IP assets B.V (Holanda), correspondiendo a la empresa manufacturera líder en antibióticos, lo anterior se debe a su continua inversión en la investigación.

TABLA 2 - 2: Principales empresas/instituciones relacionadas con la investigación científica y tecnológica en la síntesis de amoxicilina.
(Fuente: Bases de datos UN y buscadores de patentes, de acuerdo con la síntesis de los documentos citados en la bibliografía)

ESTRATEGIA	PUBLICACIONES CIENTÍFICAS	PUBLICACION DE PATENTES
CAMBIO DE pH	Delft University of Technology - HOLANDA DSM-Gist - HOLANDA	NR
PRECIPITACIÓN DEL PRODUCTO DE SÍNTESIS	Department of Pure and Applied Chemistry Scotland - UK	Zhongrun Pharmaceutical Co, Ltd.of CSPC - CHINA
* EFECTO CO-SOLVENTE EN LA MEZCLA DE REACCIÓN * CONCENTRACIONES IDEALES INICIALES DE PHFGME, 6-APA y PGA * RACIONALIZAR LA EXPERIMENTACIÓN POR MEDIO DE MODELOS * DIFERENTES SOPORTES PARA LA INMOVILIZACIÓN DEL LA PGA	Universidade Federal do Ceará - BRASIL Instituto de Catálisis y Petroleoquímica - ESPAÑA Universidade Federal de São Carlos - BRASIL University of Technology - IRAN Institute of Chemical and Engineering Sciences - SINGAPUR Zhejiang University - CHINA Zhejiang Provincial Science and Technology Council - CHINA University of California - USA Institute of Chemical and Engineering Sciences - SINGAPUR	Fundacao de amparo a pesquisa - BRASIL Stichting voor de technische wetenschappen - HOLANDA Fidia farmaceutici S.P.A - ITALIA Codexis, Inc – USA
* REDUCCIÓN DE PASOS EN LA SÍNTESIS * EFECTO CO-SOLVENTE * ADICIÓN DE IONES	School of Pharmacy - CHINA Zhejiang University- CHINA	NR
* CAMBIOS EN LOS SOPORTES DE INMOVILIZACIÓN * MUTAGÉNESIS DE LA ENZIMA PENICILIN ACILASA * CARACTERIZACIÓN DE PENICILIN ACILASA DE DIFERENTES CEPAS	University of Groningen - HOLANDA Jawaharlal Nehru Technological University - INDIA Osmania University - INDIA The Johns Hopkins School of Medicine - USA School of Tourism and Maritime Technology - PORTUGAL Institute for Biotechnology and Bioengineering - PORTUGAL Universidade Federal de São Carlos - BRASIL Academy of Sciences of the Czech Republic - REPUBLICA CHECA Chinese Academy of Sciences - CHINA Tianjin University - CHINA	Fermenta Biotech Ltd - INDIA Bioferma Murcia, S.A - ESPAÑA Bristol Myers CO - USA DSM IP Assets B.V - HOLANDA Fundacao de amparo a pesquisa - BRASIL Stichting voor de technische wetenschappen - HOLANDA Fidia farmaceutici S.P.A - ITALIA Codexis, Inc - USA

NR: NO REPORTADO

3. Objetivos

3.1. Objetivo general

Realizar un estudio de vigilancia tecnológica (V.T) y de mercado para el antibiótico betalactámico “amoxicilina”, que permita identificar y evaluar las nuevas tendencias en tecnologías tanto en la producción de materia prima, como en la producción de nuevos medicamentos, con el fin de plantear oportunidades de desarrollo de productos y evaluar alternativas para su desarrollo en Colombia.

3.2. Objetivos específicos

- 3.2.1.** Realizar un estudio de VT en relación a la producción del antibiótico betalactámico “amoxicilina” como materia prima y la formulación de nuevos medicamentos basados en dicho principio activo.
- 3.2.2.** Realizar una investigación sobre el mercado nacional e internacional del antibiótico betalactámico “amoxicilina” como materia prima y de los medicamentos actualmente comercializados y de los medicamentos nuevos desarrollados con base en innovaciones en la formulación.
- 3.2.3.** Identificar competidores, socios potenciales y nuevos mercados para la producción del antibiótico betalactámico “amoxicilina” como materia prima.
- 3.2.4.** Caracterizar el suministro y distribución del antibiótico betalactámico “amoxicilina” como materia prima, identificando las ventajas y desventajas competitivas para producirlo en Colombia.

4. Marco teórico

4.1. Definiciones

La vigilancia tecnológica (VT) se encuentra definida como un sistema organizado de observación y análisis del entorno, tratamiento y circulación interna de los hechos observados y posterior utilización en la empresa (*Palop & Vicente, 1999*), ó como un proceso organizado, selectivo y sistemático, para captar información del exterior y de la propia organización sobre ciencia y tecnología, para ser seleccionada, analizada, difundida y comunicada y ser convertida en conocimiento, y de esta manera tomar decisiones con menor riesgo y poder anticiparse a los cambios. (*Benavides & Quintana, 2006*).

De acuerdo a lo anterior para el presente trabajo tomará como definición de la Vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva (VT e IC), como un proceso organizado, basado en el análisis de información estructurada y no estructurada sobre un tema en particular, para captar, analizar, seleccionar y comunicar adecuadamente el conocimiento generado, con el fin de establecer las estrategias necesarias para la toma de decisiones, frente a la problemática planteada.

4.2. Generalidades

Las empresas siempre han observado su entorno con el propósito de obtener información relevante para su actividad haciendo seguimiento a los productos de los competidores, a los clientes y a los proveedores, consultando revistas específicas para su industria o asistiendo a ferias, es decir, acuden a prácticas de “vigilancia tecnológica tradicional”. Sin embargo, en las últimas décadas esa tarea ha vivido desarrollos sustanciales y hoy existen prácticas de vigilancia con objetivos y niveles heterogéneos de avance (*Vásquez, 2009*).

Cuando esta labor se hace como una rutina en la empresa, sobre un amplio conjunto de fuentes de datos y con la expectativa de encontrar información de interés para el desarrollo de su negocio, se está en presencia de una vigilancia pasiva o **scanning**. Cuando la búsqueda de información sobre actividades relevantes seleccionadas tiene un carácter investigativo, con el fin de proveer un conocimiento continuo sobre los desarrollos y las tendencias emergentes, se le llama vigilancia activa o **monitoring**. Si en ella se incluye la búsqueda puntual de información sobre un determinado tema, se denomina **search**. Cuando la búsqueda incluye tanto al **scanning** como al **monitoring**, es decir, tiene un carácter más general, se denomina **watching**. En este caso el proceso de vigilancia está mucho más organizado y es más sistemático y se está en presencia de un sistema de organización de la observación, análisis y difusión precisa de la información para la toma de decisiones. Ese sistema de vigilancia filtra, interpreta y valora la información para permitir a sus usuarios actuar con más eficacia. (*Mejía, 2008*); (*Vásquez, 2009*)

4.3. Clases de vigilancia

Vigilancia tecnológica: Centrada en el seguimiento de los avances del estado de la técnica y en particular de la tecnología y de las oportunidades/amenazas que genera. Se enfoca en avances científicos y técnicos, productos y servicios, procesos de fabricación, materiales y su transformación.

Vigilancia competitiva: Implica un análisis y seguimiento de los competidores actuales, potenciales y de aquellos con producto sustitutivo.

Se enfoca en competidores actuales y potenciales, la cadena de valor del sector y la situación de la empresa.

Vigilancia comercial: Se dedica a la atención de los clientes y proveedores. Se enfoca en mercados, clientes y proveedores.

Vigilancia del entorno: Centrada en la observación sobre el conjunto de aspectos sociales, legales, medio ambientales, socio-culturales, que configuran el marco de la competencia (Vásquez, 2009)

4.3. Beneficios

- Anticipar o detectar cambios, riesgos o amenazas procedentes del mismo sector, frente a las diferentes actividades tecnológicas, sociales y comerciales.
- Identificar competidores o socios potenciales, con el fin de establecer nuevas alianzas e inversiones.
- Evaluar las fortalezas y debilidades de los competidores e identificar las propias.
- Enfrentar la explosión de información, debido a que se hace más difícil la toma de decisión
- Disminuir la incertidumbre sobre el futuro.
- Mejorar la planificación estratégica.
- Identificar nuevos mercados, nuevos productos, que ayuden a la toma de decisión frente al abandono de un proyecto.
- Colocar competitivamente nuevos productos y servicios, detectando desfases entre los productos vs las necesidades de los clientes o desfases entre nuestras capacidades vs la de los competidores.
- Aceleración del ritmo de lanzamiento de productos y de mejora de procesos, necesarios para mantener la competitividad. (Mejía, 2008); (J Sánchez, 2011a)

4.4. Ciclo de vigilancia

Es un proceso sistemático, donde se establecen las etapas secuenciales que se deben seguir para la generación de conocimiento, cada una de ellas tienen procesos particulares

que pueden ser fácilmente medibles, con el fin de evaluar la evolución del proceso (ver Figura 4 – 1), adicionalmente existen herramientas que pueden facilitar el análisis de cada etapa del ciclo(ver anexo A)

4.4.1. Etapa de planeación e identificación de necesidades

Implica la definición de los factores críticos de vigilancia (FCV), los cuales establecen el alcance del sistema de vigilancia, y por ende definen recursos y responsables. Dichos FCV determinan los ejes de búsqueda y están directamente relacionados con la ficha de necesidades y los objetivos de la investigación.(J Sánchez, 2011a)

4.4.2. Etapa de búsqueda y captación

Comprende las actividades para identificar, obtener y organizar las diferentes fuentes de información para satisfacer las necesidades planteadas; una vez establecida la ficha de necesidades, se inicia el proceso de búsqueda el cual se clasifica en información estructurada y no estructurada

4.4.3. Etapa de análisis y organización

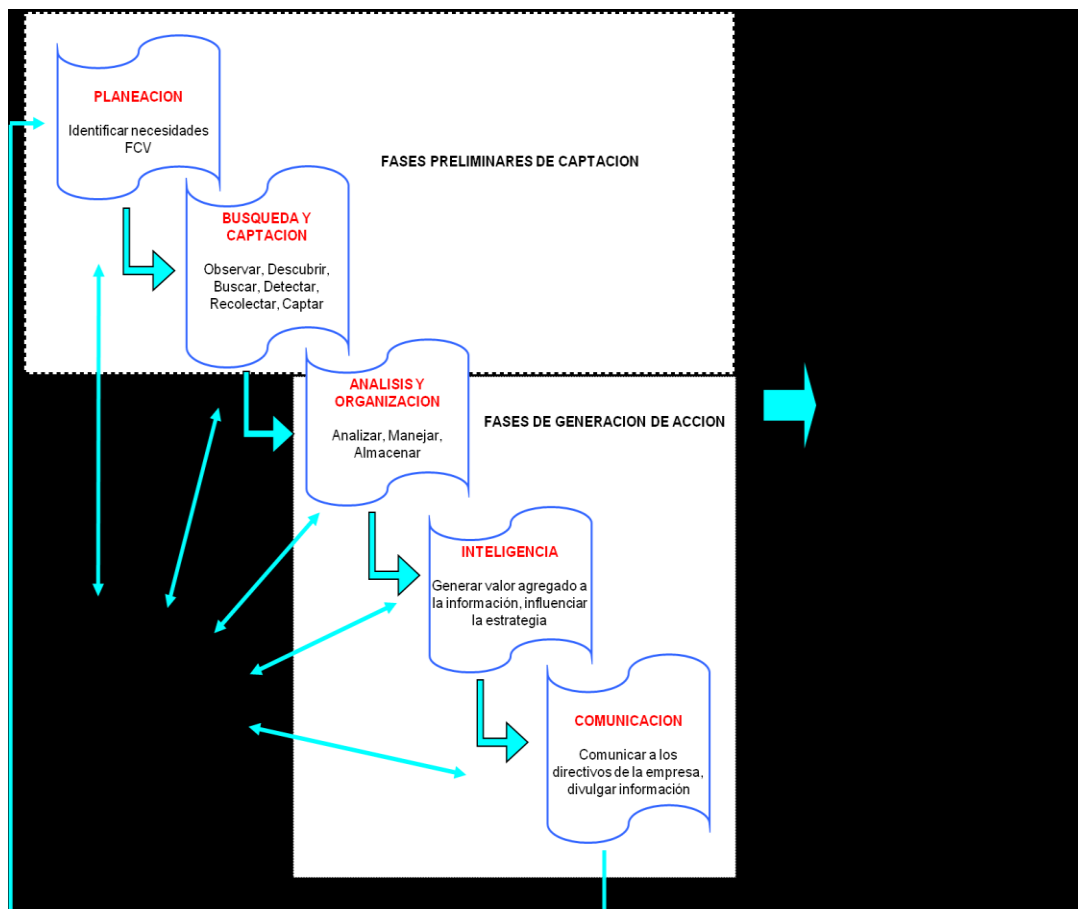
En esta etapa se procesa la información obtenida de las diferentes fuentes ya analizadas, con el fin de dar respuesta a todas las preguntas claves de vigilancia (PCV) planteadas en la ficha de necesidades y de esta forma establecer conclusiones de los FCV.

4.4.4. Etapa de inteligencia

Definida como la “interpretación de los resultados”, donde se da sentido, se interpreta y se genera un valor agregado a la información procesada, mediante la identificación de aspectos como las tendencias tecnológicas o en el avance del conocimiento y su incidencia directa sobre la estrategia de la empresa

4.4.5. Etapa de comunicación

Donde se divulgan a los entes decisores dentro de la empresa los resultados de la vigilancia, se formulan propuestas orientadas a fortalecer la toma de decisiones y la definición de estrategias enfocadas hacia lo que requiere la empresa.(J Sánchez, 2011b)

Figura 4 - 1: Ciclo de vigilancia tecnológica(Jenny Sánchez, 2011)

5. Metodología

Para el desarrollo del presente trabajo se aplicó el ciclo de vigilancia tecnológica, donde se explica de manera detallada cada etapa y su posterior desenlace. (J Sánchez, 2011b)

5.1. Etapa de planeación e identificación de necesidades

5.1.1. Selección de FCV y PCV

En esta etapa se plantean de manera general los tópicos a tener en cuenta en la investigación; es importante no limitar o sesgar estos ítems debido a que de esto depende la profundidad de la vigilancia, para efecto de esta investigación se enunciaron los siguientes FCV:

1. Producción del antibiótico.
2. Metodología de obtención de la amoxicilina.
3. Fabricantes de antibióticos β -lactámicos a nivel mundial.
4. Análisis de mercado de la amoxicilina a nivel nacional e internacional.
5. Tiempo de explotación de la amoxicilina.
6. Características de la materia prima.
7. Resistencia presentada por la amoxicilina.
8. Aporte a la maestría en Ciencias Farmacéuticas.

Ahora bien, debemos a cada ítem relacionarle todas las preguntas claves de vigilancia (PCV) que puedan resolver los FCV, por lo que no se debe descartar cualquier pregunta por sencilla que esta sea; fase denominada “lluvia de ideas”. En esta etapa influyen de manera directa las entrevistas realizadas a las personas expertas en el tema; en este caso corresponde al director de la investigación profesora Sonia Ospina, al gerente general de Coaspharma Miguel Cueca y a los profesionales Químico Farmacéuticos de la empresa mencionada.

Los (8) FCV relacionados anteriormente, se les asociaron 46 PCV (ver anexo B), los cuales según concepto del asesor metodológico la Dra Yenny M. Sánchez¹ dicho proceso de vigilancia se extendería por más de (2) años con un sólo analista; por tal razón se debieron seleccionar por su importancia para la investigación en los (3) siguientes FCV:

1. **Producción del antibiótico.**
2. **Análisis de mercado de la amoxicilina a nivel nacional e internacional.**
3. **Características de la materia prima.**

¹ Doctora en Economía y Gestión de la Innovación y Política Tecnológica por la Universidad Autónoma de Madrid (2006), Magister en Análisis y Gestión de la Ciencia y Tecnología de la Universidad Carlos III de Madrid (2001). Magister en Ingeniería de Sistemas de la Universidad Nacional de Colombia (1998), evaluadora de Colciencias, actualmente trabaja como Asesora de la Vicerrectoría de Investigación, Miembro de la Junta Directiva del Observatorio Colombiano de Ciencia y Tecnología, Miembro como Investigadora del Grupo de Investigación en Gestión y Organizaciones (GRIEGO), y es Profesora Asociada del Departamento de Ingeniería de Sistemas e Industrial de la Universidad Nacional de Colombia, ha escrito (8) artículos indexados, (6) capítulos de libros y (21) libros

A los cuales se les asociaron 26 PCV (ver anexo B).

5.1.2. Construcción de la ficha de necesidades

Una vez relacionados los FCV y las PCV, se debe iniciar la construcción de la ficha de necesidades, (J Sánchez, 2011a) donde se mencionan las razones del porqué? y para qué? de la vigilancia, los cuales para la investigación corresponden a los objetivos planteados. (ver anexo B); los descriptores y restrictores de cada PCV corresponden a palabras claves y restricciones de tiempo y espacio respectivamente, estos parámetros son importantes para la búsqueda porque la limitan y son parte fundamental de las ecuaciones.

Para finalizar esta etapa se deben priorizar los PCV de acuerdo con la pertinencia que pueden tener en la solución del proyecto, los cuales son:

1. Muy importante.
2. Importante.
3. Medianamente importante.
4. Para evaluar.
5. Es necesario conocerlo.

5.1.3. Etapa de búsqueda y captación

Una vez establecida la ficha de necesidades se deben identificar los tipos de fuentes de información donde se resolverán las PCV, los cuales pueden ser artículos científicos indexados, patentes, foros, documentos no indexados, congresos, reportes, entrevistas, etc., para lo cual es necesario clasificar la información en **estructurada² y no estructurada³**, donde se identificarán los trabajos realizados sobre el tema en diferentes países con objetivos similares a la presente investigación. Ver Tabla 5 – 3.

TABLA 5 - 3 : Fuentes de información
Datos basados en (Jenny Sánchez, 2011)

FUENTES DE INFORMACION (ver Anexo C)		
NO ESTRUCTURADAS	ESTRUCTURADAS	PATENTES
GOOGLE	SCIENCE DIRECT	USPTO
YIPPI	SPRINGER- JOURNAL	KIPRISS
BING	EBRARY	SIPO
SEARCH.CARROT2	NATURE	WIPO
POLYMETA	BLACKWELL SINERGY	GOOGLE PATENTS
IBOOGIE	GENERAL SCIENCE FULL TEXT	
CONGRESOS Y FERIAS COMERCIALES FARMACEUTICOS	SINAB UN	

² Corresponde a la información que está relacionada con las bases de datos de artículos científicos, de patentes o de mercados. Sánchez, J. (2011b). Información Estructurada y No estructurada. On *Dinámica de generación de conocimiento*. Departamento de Ingeniería industrial e ing de sistemas y computación: Universidad Nacional De Colombia.

³ Corresponde a la información que no se encuentra almacenada en una base de datos estructurada, esta se obtiene a través de motores de búsqueda de internet (buscadores y metabuscadores).

5.1.4. Formulación de la ecuación de búsqueda

Debido a la gran cantidad de información sobre el tema de investigación, hace que los procesos de análisis sean más dispendiosos; por tal razón en esta fase se hace necesario establecer unos filtros que consisten en varias palabras claves o sintagmas validados por el investigador experto, con sus operadores booleanos en el idioma inglés en diversos buscadores y metabuscadores según (J Sánchez, 2011a), con una ventana de tiempo comprendida entre el año Ene-1996 y Mar-2013 como factor restrictivo, pero a nivel de patentes su tiempo fue comprendido entre Ene-2000 y Nov-2012.

En el anexo D y E, se evidencian varias ecuaciones preliminares de búsqueda, las cuales dan origen a la ecuación formulada para la investigación, de acuerdo a la pertinencia de los artículos encontrados:

((amoxicillin) AND (production) AND (enzymatic) AND (process) AND (penicillin*) AND (acylase OR amidase) AND (6 APA) AND (lactam*) AND (antibiotic*) AND (immobilized) AND (enzyme) AND (phenylglycinemethylester) AND (pgme))

Ahora bien, para la búsqueda en las bases de datos de patentes las palabras clave, se basan en la clasificación internacional de patentes (IPC), por tal razón en la Tabla 5- 4, se evidencian los códigos de clasificación, junto con las palabras clave escogidas:

TABLA 5 - 4: Términos de búsqueda según la Clasificación Internacional de Patentes (IPC)

Fuente: IPC

CLASIFICACIÓN IPC	DESCRIPCIÓN	PALABRAS CLAVE	KEY WORDS
A61K	Preparados para uso medicinal, dental y aseo	amoxicilina	amoxicillin
A61K 31/00	Preparados para uso medicinal que contienen péptidos (péptidos que contienen anillos betalactámicos).	amoxicilina	amoxicillin, 6-aminopenicillanic acid
C07D	Compuestos heterocíclicos	amoxicilina	amoxicillin
C07D 499/00	Compuestos heterocíclicos que contienen anillo 4-tia-1-azabicyclo [3.2.0] heptano, (p.e: penicilinas, penems)	amoxicilina	amoxicillin
C12P	Fermentación o procesos que usan enzimas para sintetizar un compuesto químico deseado	Proceso de fermentación, inmovilización de enzimas, reacción enzimática	Process enzymatic, Production enzymatic,
C12P 37/00	Preparación de compuestos que tienen un anillo 4-tia-1-azabicyclo [3.2.0] heptano, (p.e: penicilina)	Proceso de fermentación, inmovilización de enzimas, reacción enzimática	Process enzymatic, Production enzymatic,
C12N	Microorganismos o enzimas (compuestos relacionados)	Enzima penicilin G acylase	Penicillin G Acylase (PGA)
C12N11	Enzimas y células inmovilizadas	Enzima penicilin G acylase	Penicillin G Acylase (PGA)

De acuerdo a lo anterior se define la ecuación formulada para patentes así:

((amoxicillin) AND (production) AND (enzymatic) AND (process) AND (6-apa))

5.1.5. Elaboración del *corpus* de información⁴:

Consiste en la recopilación de datos bibliográficos correspondientes a los artículos pertinentes a la investigación, los cuales fueron obtenidos en las diferentes búsquedas registradas en las bitácoras (ver anexo D y E) y son clasificados de acuerdo a su origen así:

LOS ARTÍCULOS CIENTÍFICOS son referenciados y manejados por el programa *endnote web*⁵, el cual clasifica en orden alfabético por autor, evidenciando el año y título; además cada artículo seleccionado clasifica la información de acuerdo al tipo de referencia, journal, volumen, tipo de artículo, palabras clave, registro ISSN, la dirección URL, proveedor de la base de datos, fecha de adición a la biblioteca entre otros.

LAS PATENTES son manejadas por el programa Microsoft Office Excel®, donde son clasificadas por la fuente, país, número de la patente, título, fecha de publicación, clasificación IPC, autor, entidad solicitante, finalidad y uso (ver anexo F).

5.2. Etapa de análisis y organización:

En esta etapa se realiza el procesamiento y análisis de la información que posee el “corpus”; este tipo de información se maneja con el programa Microsoft Office Excel® y Matheo Analyzer®, los cuales facilitan el proceso de análisis, puesto que establecen tendencias.

Primero se analizarán las fuentes de información que estructuraron el *corpus* del estudio, con el fin de determinar su importancia en el trabajo final y después se resolverán los (3) FCV más relevantes para el presente trabajo:

1. Producción del antibiótico
2. Análisis de mercado de la amoxicilina a nivel nacional e internacional.
3. Características de la materia prima.

5.2.1. Distribución de la información no estructurada

La información encontrada puede clasificarse para la presente investigación de acuerdo a su pertinencia en los metabuscadores (Gráfica 5 – 1) y los buscadores (Gráfica 5 – 2), concluyendo que el metabuscador más importante es "POLYMETA.COM" con el 57% del total de artículos pertinentes⁶ encontrados, esto se debe a que posee enlaces con

⁴ Es un archivo que se obtiene de fuentes estructuradas en la que se almacenan los registros que son útiles y es fácilmente identificable los nombres de los atributos y su contenido, es considerado el insumo para realizar análisis cuantitativo. Sánchez, J. (2011a). Guía para la práctica en la empresa de la vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva. Universidad Nacional de Colombia.

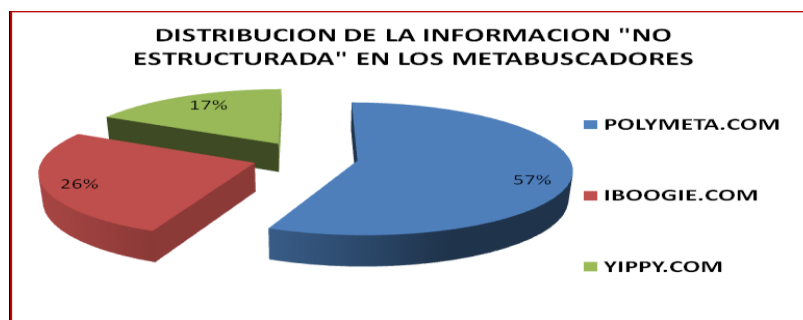
⁵ Programa de gestión de referencias bibliográficas, que se encuentra disponible dentro de ISI Web of Knowledge. Se accede de forma gratuita gracias a la licencia que posee la Universidad Nacional de Colombia. EndNote Web permite crear una base de datos personalizada de hasta 10.000 referencias, organizar la bibliografía personal, elaborar listados bibliográficos e insertar citas en un documento que se esté elaborando entre otras más funciones.

⁶ Se refiere a la información seleccionada de acuerdo al aporte que pueda tener un artículo frente al tema de investigación y que resuelva las PCV.

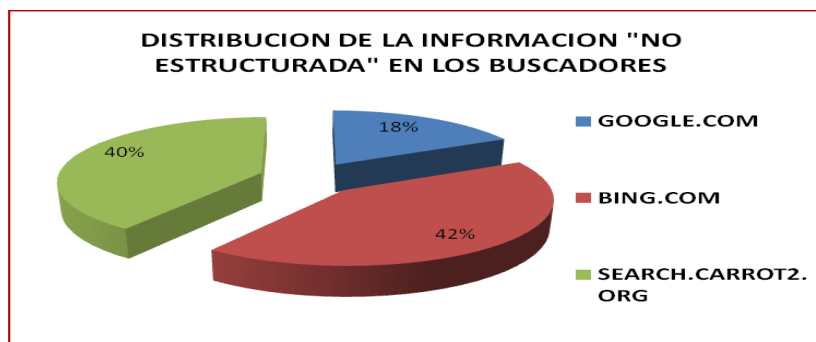
diferentes motores de búsqueda entre ellos "GOOGLE, YAHOO y BING"; y por otra parte el buscador más importante para el tema de investigación es "BING.COM" con el 42% del total de artículos pertinentes encontrados, puesto que posee algoritmos de agrupamiento (*clustering*) lo que hace que sea más rápido y completo, al compararlo con GOOGLE y SEARCH.CARROT2.ORG.

GRÁFICA 5 - 1: Distribución de la información "NO ESTRUCTURADA" en los metabuscadores

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene.1996 a Mar.2013)



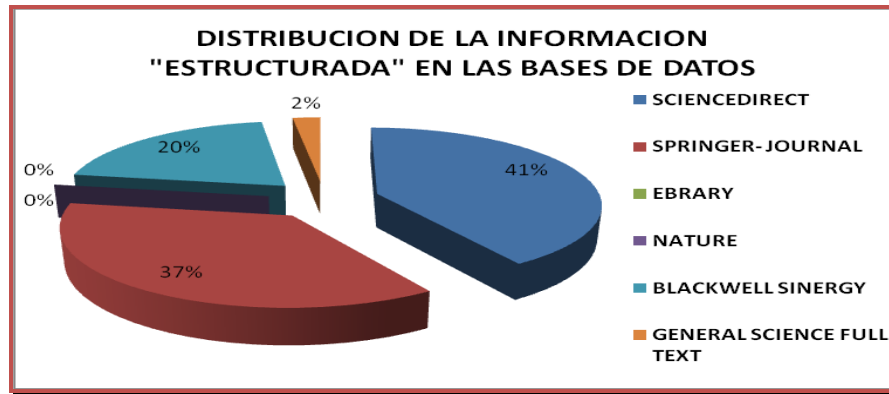
GRÁFICA 5 - 2 : Distribución de la información "NO ESTRUCTURADA" en los buscadores (Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene.1996 a Mar.2013)



5.2.2. Distribución de la información estructurada en las bases de datos científicas

Como se puede observar en la Gráfica 5 - 3, la base de datos más importante para esta investigación es "SCIENCE DIRECT" con un 41% del total de artículos pertinentes encontrados, seguido por "SPRINGER - JOURNAL" con un 37% y "BLACKWELL SINERGY" con un 20%; mientras que las bases "EBRARY" y "NATURE" que mencionan poseer información científica referente al tema, pero sólo muestran datos médicos que no son pertinentes a la investigación.

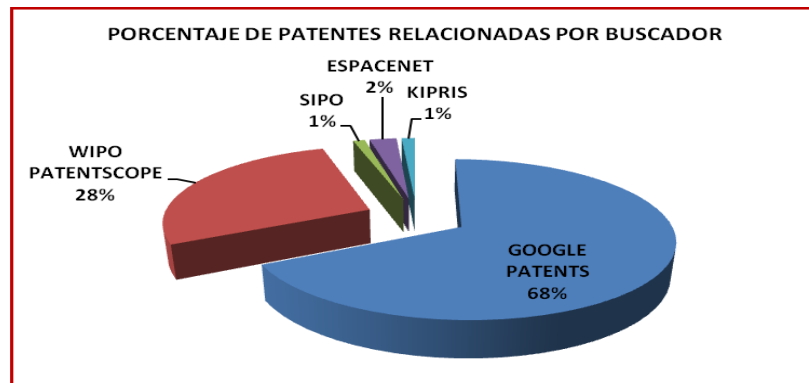
GRÁFICA 5 - 3 : Distribución de la información "Estructurada" en las bases de datos (Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene.1996 a Mar.2013)



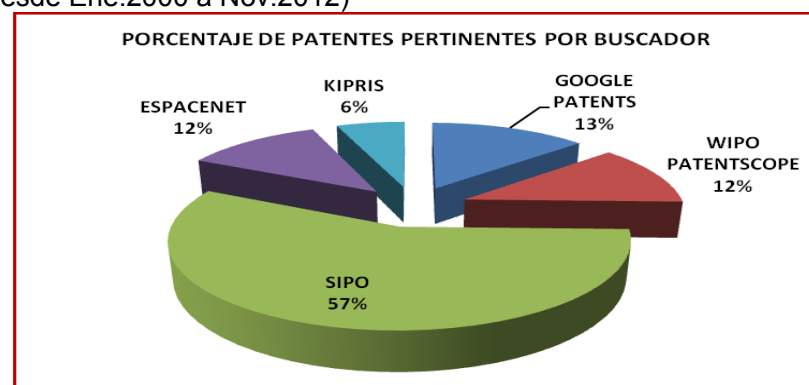
5.2.3. Distribución de la información estructurada en patentes

Por la información encontrada sobre tema de investigación en las bases de datos de patentes según (Gráficas 5 – 4 y 5 – 5), se evidenció que la base que reporta un mayor porcentaje es “GOOGLE PATENTS” en un 68%, seguida por “WIPO PATENTSCOPE” en un 28%, pero de acuerdo a su pertinencia la base que datos que más aportó información fue “SIPO” en un 57%, siendo esta, la que menos patentes tenía relacionadas (1.1%) en la búsqueda principal, en lo que se puede inferir que dicha base de datos es la mas especializada para el presente tema de investigación.

GRÁFICA 5 - 4 : Distribución de la información estructurada en patentes por buscador.
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene.2000 a Nov.2012)



GRÁFICA 5 - 5 : Distribución de la información estructurada pertinente en patentes.
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene.2000 a Nov.2012)



6. Análisis cuantitativo⁷

6.1. Publicaciones científicas

Las bases de datos científicas arrojan una cantidad de 7979 artículos relacionados con el tema (ver anexo D), de los cuales 218 son pertinentes a la investigación y al analizarlos se filtran hasta 179 referencias, las cuales fueron clasificadas por su aporte en la solución de las PCV de la siguiente forma:

- A. (18) Referencias que aportan datos para el análisis de mercado.
- B. (16) Referencias que aportan datos para la revisión del informe.
- C. (23) Referencias que aportan datos sobre nuevas formulaciones con el principio activo amoxicilina.
- D. (113) Referencias que aportan datos sobre la investigación técnica del informe.

Ahora bien, se presentaron (9) referencias del total que están enfocadas a análisis instrumental, las cuales son descartadas por no aportar al tema investigado, por lo tanto el análisis cuantitativo hará énfasis en los numerales (C) y (D), debido a que dichas referencias manejan un gran número de información la cual debe ser analizada para dar solución a los FCV planteados en el capítulo anterior, con el software Matheo Analyzer, el cual evidencia las tendencias gracias a sus algoritmos de relación.

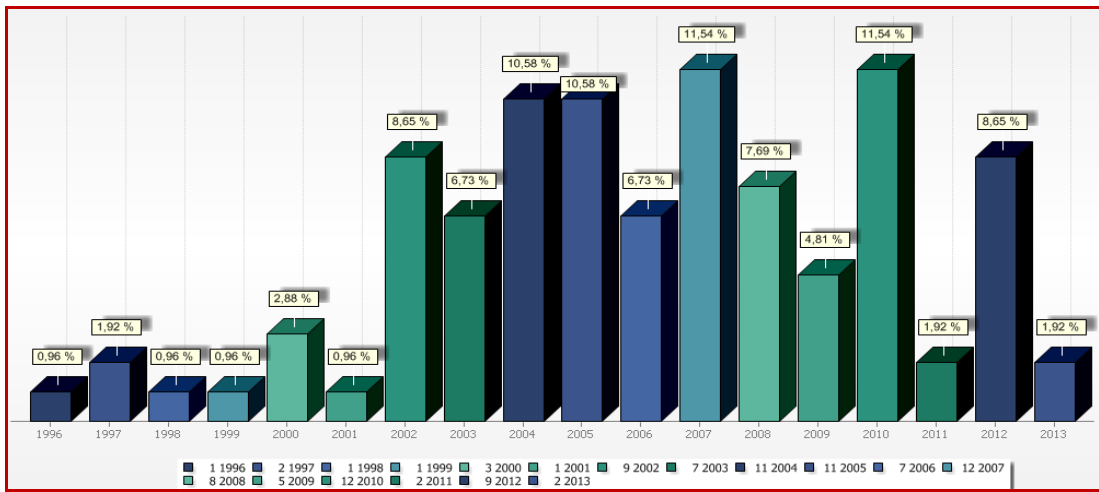
De las 113 referencias exportadas de las diferentes bases de datos, se eliminan (9) referencias, puesto que solamente 104 poseen la información pertinente frente al tema "Síntesis enzimática de antibióticos Betalactámicos (SEAB)", haciendo referencia a: (AU) Autor, (PY) año de publicación del Journal, (IN) institución donde se realizó la investigación, (CO) país de origen del investigador principal, (ST) título de la investigación, (AD) país de origen de la revista que publica, (KW) palabras clave, (JF) revista donde se publicó la investigación y (AB) resumen de la investigación, aunque cabe resaltar que se presentaron algunas limitaciones derivadas de la propia naturaleza de las fuentes empleadas, puesto que unas bases reportan los mismos títulos de manera diferente, algunos no publican la institución, la revista, el año de publicación, etc., haciendo que el mismo artículo sea investigado en diferentes bases de datos con el fin de complementar los datos faltantes.

Ahora bien, se evidenció que el tema de nuestra investigación continúa vigente para futuros trabajos, debido a un incremento considerable en la producción bibliográfica en el periodo analizado, desde el año 1996 (0.96%) a Marzo del 2013 (1.92%), mostrando picos de producción bibliográfica los años 2007 y 2010 con un 11.54% (12 artículos), 2004 y 2005 con un 10.58% (11 artículos), ver Gráfica 6 - 6.

⁷ Ciencia que estudia el desarrollo de la producción científica donde se mide y analizan factores como el número de investigadores, su distribución geográfica o por especialidad, fuentes de financiamiento, productividad y repercusión entre otros.

GRÁFICA 6 - 6 : Porcentaje de artículos publicados sobre el tema SEAB.

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



Ahora bien, de estos artículos publicados se evidencia que los autores más representativos con respecto al tema SEAB, corresponde al Dr Andrés Illanes⁸(Chile), el cual tiene una participación del 10.71% (18 trabajos); la Dra. Raquel de Lima Camargo Giordano⁹(Brasil), con una participación del 8.33% (14 trabajos); Dr. Roberto de Campos Giordano¹⁰ (Brasil) con una participación del 7.74% (13 trabajos); Dra Carolina Aguirre Céspedes¹¹(Chile) con una participación del 7.14% (12 trabajos); Dra. Lorena Wilson¹² (España) con una participación del 6.55% (11 trabajos); Dra Luciana Goncalves Rocha Barros¹³(Brasil); Dr. José Manuel Guisán Seijas¹⁴(España) y Dr. Roberto Fernández-Lafuente¹⁵(España) con una participación del 5.95% (cada uno con 10 trabajos), ver Gráfica 6 – 7.

⁸ ANDRES ILLANES, M.Sc. Biochemical Engineering, Massachusetts Institute of Technology (MIT), trabaja como investigador en la escuela de ingeniería bioquímica, de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (Chile), quien ha participado en 61 artículos y 6 libros de tipo científicos relacionados con procesos enzimáticos.

⁹ RAQUEL DE LIMA CAMARGO GIORDANO, M. Sc. Chemical Engineering, Massachusetts Institute of Technology (MIT), Profesor del centro de ciencias exactas y de tecnología, de la Universidad Federal de San Carlos (Brasil), dirige el grupo de investigación de ingeniería de procesos enzimáticos, quien ha participado en 76 publicaciones científicas.

¹⁰ROBERTO DE CAMPOS GIORDANO, M. Sc. Chemical Engineering, Massachusetts Institute of Technology (MIT), profesor del centro de ciencias exactas y de tecnología, de la Universidad Federal de San Carlos (Brasil), dirige el grupo de investigación de inteligencia computacional aplicada a bioprocesos y desarrollo de biorreactores no convencionales, ha participado en 76 publicaciones científicas.

¹¹CAROLINA AGUIRRE CESPEDES, Doctor en Ciencias con Mención en Química, de la Pontificia Universidad Católica de Valparaíso, profesor de la Facultad de Ciencias de la Universidad Católica de la Santísima Concepción (Chile), investigador en enzimas de aplicación industrial, ha participado en 18 publicaciones científicas.

¹²LORENA WILSON, Ph.D. Universidad Autónoma de Madrid, (España), Magíster en Ciencias de la Ingeniería con mención en Ingeniería Bioquímica, Pontificia Universidad Católica de Valparaíso (PUCV), directora de programas de posgrados de la escuela de ingeniería bioquímica (PUCV), ha participado en 48 publicaciones científicas.

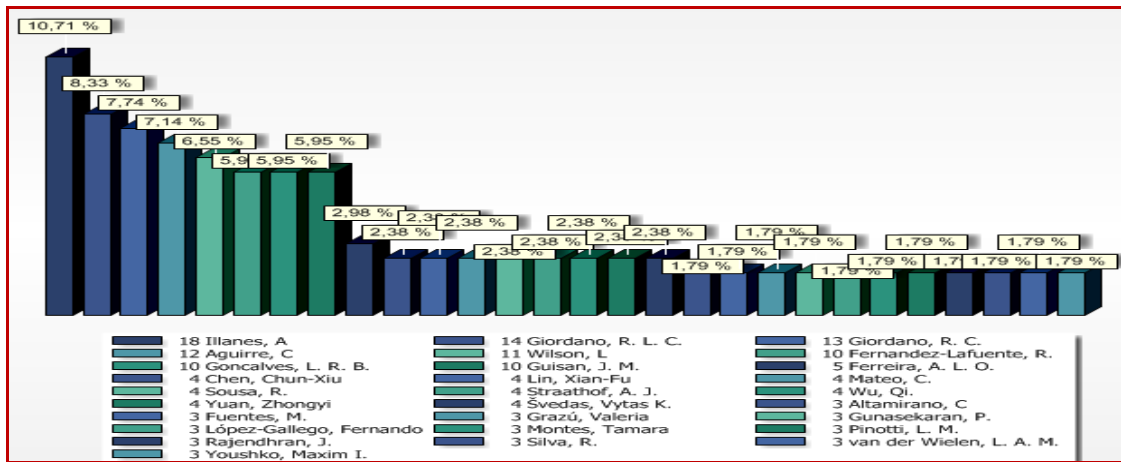
¹³ LUCIANA GONCALVES ROCHA BARROS, Ph.D. en Ingeniería Química de la Universidad Federal de San Carlos, profesor asociado de la Universidad Ceará (Brasil), dirige los grupos de investigación enfocados a la Ingeniería de las reacciones enzimáticas, la inmovilización y el desarrollo de los procesos de fermentación enzimática, ha participado en 53 publicaciones científicas, 111 actas de congreso.

¹⁴ JOSE MANUEL GUISAN SEIJAS, Ph. D. en Bioquímica de la Universidad Autónoma de Madrid, Vicepresidente del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC-UAM) España, Instituto de Catálisis Química y Petroquímica, trabaja en el grupo de investigación de Ingeniería de Biocatalizadores y Biotransformaciones, ha participado en 40 publicaciones científicas.

¹⁵ ROBERTO FERNÁNDEZ-LAFUENTE, Ph. D. University College London (Reino Unido), trabaja en el Instituto de Catálisis Química y Petroquímica (España), maneja el grupo de investigación de optimización de biocatalizadores y bioprocesos enzimáticos, ha participado en 36 publicaciones científicas.

GRÁFICA 6 - 7 : Autores que más publican sobre el tema SEAB

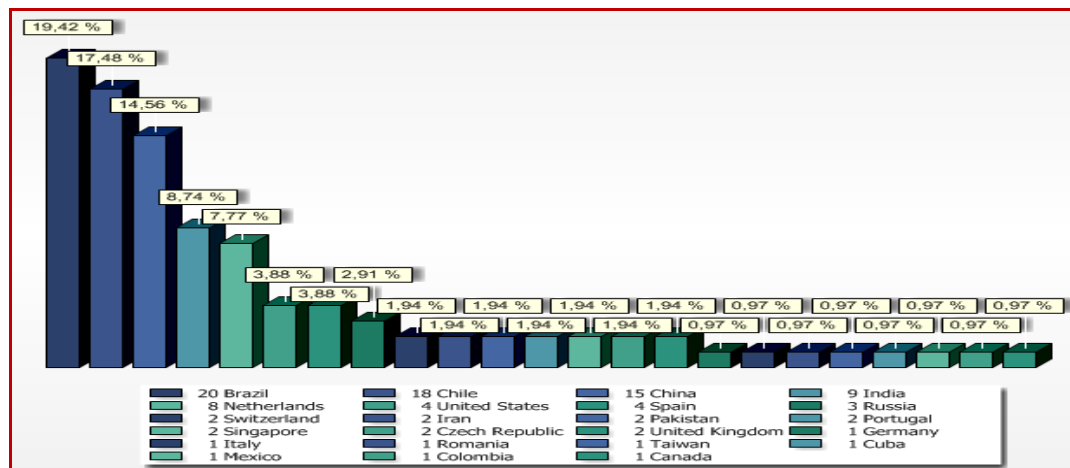
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



Continuando con el análisis, se encontró que los países que más investigan sobre el tema SEAB, son en mayor proporción Brasil con el 19,42% (20 publicaciones), Chile con el 17,48% (18 publicaciones), seguidos muy de cerca por China con el 14,56% (15 publicaciones) y finalmente entre los más representativos están India y países bajos con un 8,74 y 7,77% respectivamente (9 y 8 publicaciones), ver Gráfica 6 – 8.

GRÁFICA 6 - 8 : Porcentaje del país de origen de los autores que más investigan sobre SEAB, respecto al número de publicaciones

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



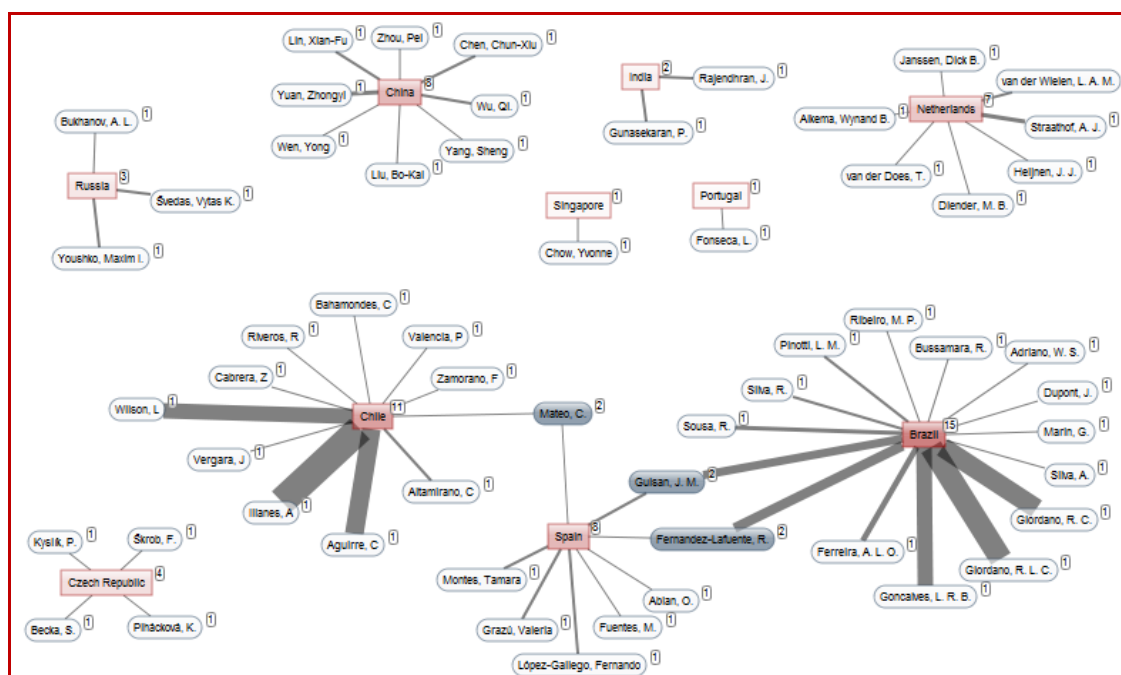
Sin embargo, cuando se realiza el análisis con la red asimétrica¹⁶ según Gráfica 6 – 9, que relaciona el país vs número de autores, se confirma que los países en donde hay mas investigadores con respecto al tema de investigación (SEAB), son Brasil y Chile (15 y 11 investigadores respectivamente), seguidos por España y China (8 investigadores cada

¹⁶ Es una representación cartográfica de las relaciones que existen entre los elementos de una población, permitiendo una interpretación rápida y fácil, está formada por nodos y relaciones, en el programa Matheo Analyzer se pueden usar filtros de formas, conectividad y pares, permitiendo un mayor poder de interpretación.

uno), Países bajos (7 investigadores) y República Checa (4 investigadores). Además se evidencia mediante las líneas gruesas los autores que más publican, muestra también una relación entre Brasil y España frente a los autores Fernandez-lafuente, y Guisan, debido a investigaciones conjuntas en temas específicos como la síntesis de amoxicilina y entre España y Chile, debido a investigaciones en síntesis enzimáticas usando la penicilin G acilasa.

GRÁFICA 6 - 9 : Red asimétrica que relaciona el país vs número de autores que más investiga sobre el tema SEAB.

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



De acuerdo a lo anterior, es necesario hacer un análisis del porqué la baja participación frente a estos temas en potencias científicas como Estados Unidos, Alemania, Reino Unido, Canadá, Australia y Francia, por lo que se puede inferir que sus centros de investigación están enfocados en la búsqueda de tratamientos mejorados para el cáncer, enfermedades virales, enfermedades del sistema nervioso central, del aparato circulatorio y la artritis (como se puede observar en la sección 7.2.5.3 de la presente investigación), debido a que son las enfermedades más comunes en dichos países, siendo sus resultados altamente comercializables y por supuesto rentables; en cambio en países como Chile, Brasil y México, sus centros de investigación están más enfocados al desarrollo de la química fina con el fin de apoyar el crecimiento de su economía interna.

Por otra parte, en la red asimétrica Gráfica 6 - 10, se evidencia que el centro de investigación que más investigadores asociados posee es el Departamento de Ingeniería Química de la Universidad Federal de Ceará (Fortaleza-Brasil) con 11 investigadores y la escuela de Ingeniería Bioquímica de la Pontificia Universidad Católica (Valparaiso-Chile)

con 7 investigadores, seguidos por el Departamento de Química de la Universidad Zhejiang (China), el Departamento de Biocatálisis de la Universidad Autónoma de Madrid (España) y del Instituto de Microbiología (Laboratorio de tecnología de enzimas) de la Academia de Ciencias de la República Checa con 4 investigadores cada uno.

De igual forma se evidencian unas líneas gruesas que indican los investigadores que más publican sobre SEAB y se evidencia la relación de trabajos publicados entre las diferentes universidades chilenas como: Universidad Técnica Federico Santa María, la Pontificia Universidad Católica Valparaíso y la Universidad Católica de la Santísima Concepción, donde los autores Wilson, Illanes y Aguirre, se han integrado para investigaciones específicas en la síntesis de antibióticos betaláctámicos tipo cefalosporínicos (Cefalexina), por otra parte la Universidad Federal de Ceará y la Universidad Autónoma de Madrid con el investigador Guisan, se han integrado para la realización de investigaciones conjuntas en temas específicos como la síntesis de amoxicilina.

Como se ha observado hasta el momento, conocemos cuáles son los centros de investigación, su ubicación y los investigadores más destacados que desarrollan el presente tema de investigación; Ahora en la red asimétrica Gráfica 6 - 11, se da a conocer cuál es la revista científica donde más se publica, donde se evidencia la frecuencia de las publicaciones Journal-Autor, demostrando que el **Journal Enzyme and Microbial Technology**¹⁷ es la más empleada por los investigadores para sus publicaciones con un 15,66% del total de publicaciones; Seguido por el **Journal of Molecular Catalysis B – Enzymatic**¹⁸ con un 12,05% del total de publicaciones y el **Journal Process Biochemistry**¹⁹ con un 8,43% del total de publicaciones, igualmente se confirma la importancia de los autores Illanes, Aguirre, y Wilson.

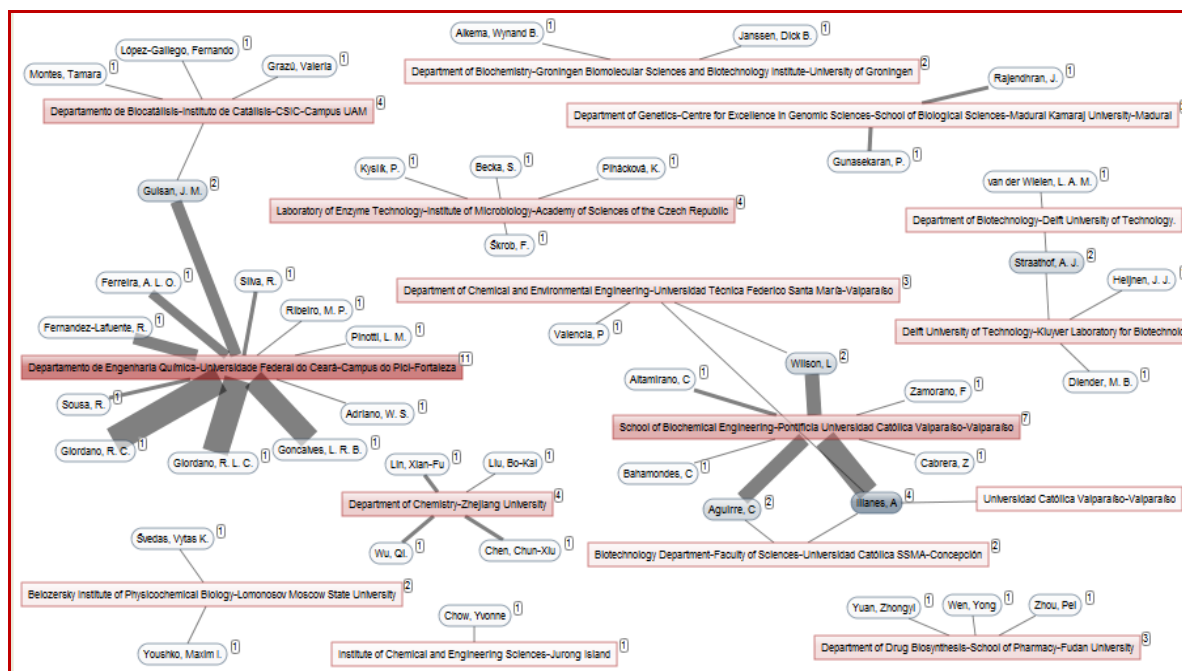
¹⁷ Revista creada en Estados Unidos y perteneciente a la editorial Elsevier, enfocada principalmente a la investigación en los aspectos básicos y aplicados de procesos biotecnológicos, relacionados con el uso de enzimas, microorganismos y células animales y vegetales, posee un factor de impacto de 2.592 y factor de impacto acumulado en los últimos 5 años de 3.003 (según Journal citation Reports 2013, publicados por Thomson Reuters®)

¹⁸ Revista creada en Amsterdam y perteneciente a la editorial Elsevier, la cual está catalogada para investigadores y desarrolladores de productos donde se permite hacer foros de discusión frente a las aplicaciones de células enteras y enzimas libres de células como catalizadores en la síntesis orgánica, posee un factor de impacto de 2.823 y factor de impacto acumulado en los últimos 5 años de 2.805 (según Journal citation Reports 2013, publicados por Thomson Reuters®)

¹⁹ Revista creada en Amsterdam y perteneciente a la editorial Elsevier, enfocada a la ciencia y la tecnología de los procesos que involucran moléculas bioactivas y organismos vivos, enfocada a la producción de metabolitos, siendo sus principales áreas de interés los nuevos bioprocesos y tecnologías de apoyo, posee un factor de impacto de 2.414 y factor de impacto acumulado en los últimos 5 años de 2.983 (según Journal citation Reports 2012, publicados por Thomson Reuters®),

GRÁFICA 6 - 10 : Red asimétrica que relaciona la institución vs número de autores que más investiga sobre el tema SEAB.

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



GRÁFICA 6 - 11 : Red asimétrica que relaciona el Journal vs número de publicaciones por autor sobre el tema SEAB

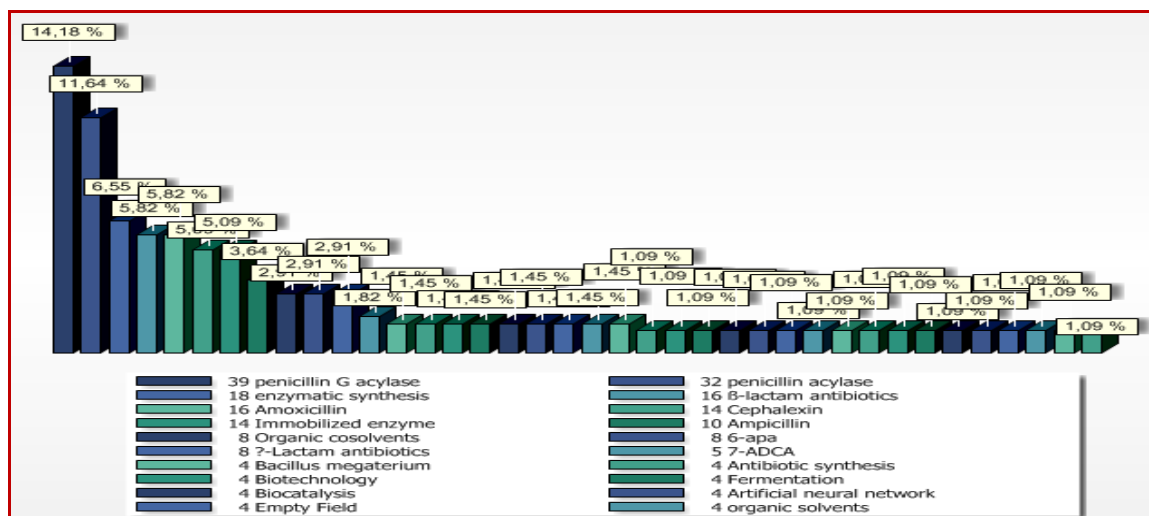
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)

	Illanes, A	Gordano, R. L. C.	Gordano, R. C.	Aguirre, C	Wilson, L	Fernandez-Lafuente, R.	Gonzales, L. R. B.	Gulsan, J. M.	Ferreira, A. L. O.	Chen, Chun-Xiu	Lin, Xian-Fu	Náteo, C.	Sousa, R.	Straathof, A. J.	Wu, Qi	Yuan, Zhongyi	Svedas, Vytas K.	Altamirano, C	Fuentes, M.	Gazi, Valeria	Gunasekaran, P.	López-Gallego, Fernando	Montes, Tamara	Pinotti, L. M.	Rajendran, J.	Silva, R.	Youshiko, Mami I.	van der Wielen, L. A. M.	Alban, O.	Adriano, W. S.	Alkema, Wynand B.	Bahamondes, C	Bock, S.	Buharov, A. L.			
Enzyme and Microbial Tech...	3	1		2	3	1	1	1		1	1	1		1	1	2																					
Journal of Molecular Cata...	4	1	1	3	1		1		1	2	2			2	2																						
Process Biochemistry	5	1	1	4	2		1	1				1																									
Advances in Biochemical E...																																					
Applied Biochemistry and ...	2	1	1	2	1	1	1	1		1	1				1																						
Biotechnology and Biengi...			2	2		2	2	2						2																							1
Biotechnology and Bioproc...	1				1	1																															
Journal of Biotechnology						1	1																														
Applied Microbiology and ...																1																					1
Industrial & Engineering ...		1	1						1					1																							
Enzyme Biocatalysis	1				1	1		1					1																								
Brazilian Journal of Chem...		2	2						1					1																							
Medicinal Chemistry Revie...					1	1		1					1							1	1		1	1													
World Journal of Microbio...							1	1												1	1		1	1													
Biotechnology Advances		1	1																																		
New Biotechnology	1		1		1																																
Biochemical Engineering J...	1																																				

Y las palabras claves más citadas por los autores para el tema de investigación son: 14.18% para PENICILLIN G ACYLASE con 39 citaciones, 11.64% para PENICILLIN ACYLASE con 32 citaciones, 6.55% para ENZYMATIC SYNTHESIS con 18 citaciones y el 5.82% para β -LACTAM ANTIBIOTICS y AMOXICILLIN con 16 citaciones cada uno, de acuerdo a la Gráfica 6 - 12, aunque cabe mencionar que hay ciertos artículos que citan diversas palabras con significados iguales, como 6-apa y 6-aminopenicillanic acid, pero son catalogados diferentes por escribirse por escribirse de otros caracteres.

GRÁFICA 6 - 12 : Porcentaje de las palabras claves más citadas por los autores que investigan sobre el tema SEAB.

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



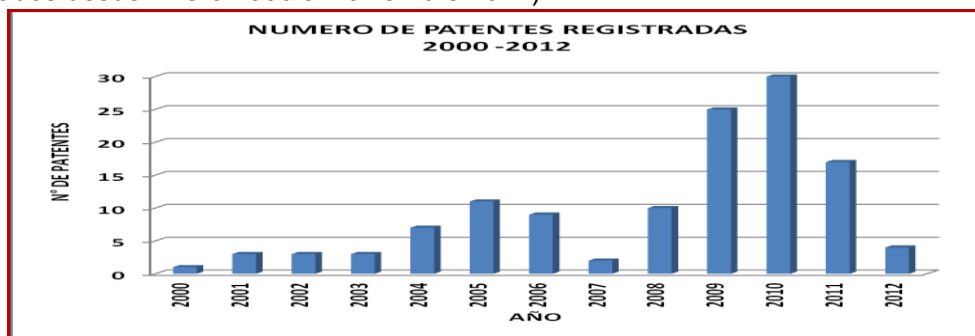
6.2. Patentes

Para el análisis de patentes se construyó una base de datos, donde el *corpus* de información va desde enero/2000 a noviembre/2012, la cual fue filtrada de acuerdo a las palabras claves elegidas basados en la IPC (Tabla 5 – 4), lo cual ayudó a la eliminación de patentes que no tienen relación con el tema y trabajadas en el programa Microsoft Office Excel, debido a la no disponibilidad de software especializado para esta labor.

Cabe recordar que la base de datos que mas aportó fue “SIPO” correspondiendo a la base de datos de patentes de China, esto se debe a que las patentes de los innovadores se están venciendo y los investigadores de origen chino hacen una mejora pequeña y la patentan. Ahora bien, en la Gráfica 6 - 13, se evidencia la distribución de las 125 patentes pertinentes, donde se presenta un crecimiento constante frente al tema investigado y presenta una disminución en los años 2007 y 2012 que deben ser analizádos frente a la fecha de publicación con respecto a los años siguientes, con el fin de establecer tendencias.

GRÁFICA 6 - 13 : Tendencia de publicación de patentes pertinentes registradas

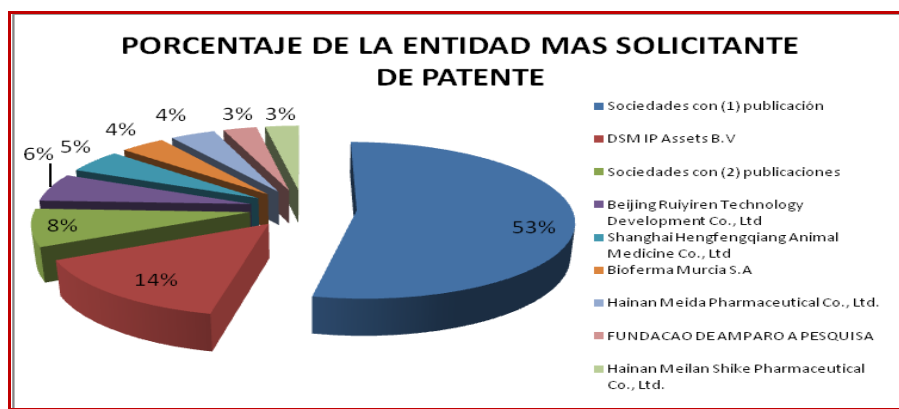
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 2000 a Noviembre 2012)



Ahora bien, se establecen varios tópicos de análisis, con el fin de poder clasificar la información de las patentes como son:

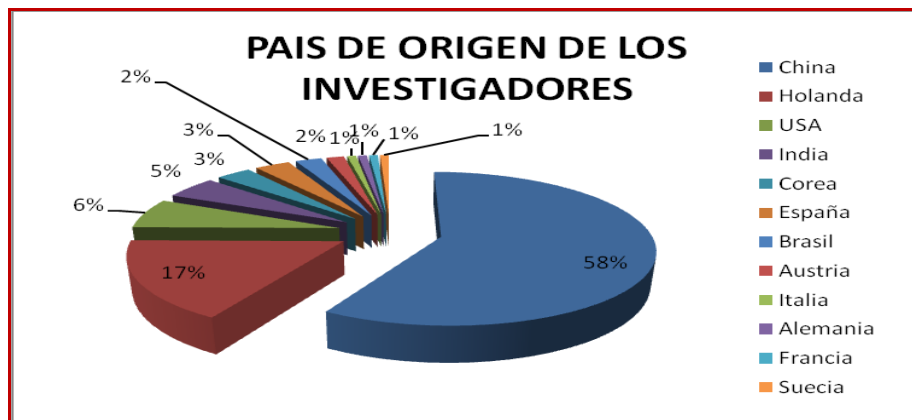
A. Entidades más representativas, Siendo el más representativo DSM IP Assets B.V con sede en Holanda, con una participación de 14% en patentes del tema de investigación y corresponde a una de las compañías mas grandes que comercializan el antibiótico.(ver Gráfica 6 - 14), seguido por Beijing Ruiyiren Technology Development Co. Ltd y Shanghai Hengfengqiang Animal Medicine Co. Ltd con sede en China, representando el 6% y 5% su participación del total de invenciones, las cuales están enfocadas a la I&D de nuevas formas farmacéuticas y nuevos productos.

GRÁFICA 6 - 14 : Distribución de las principales entidades solicitantes de patentes (Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 2000 a Noviembre 2012)



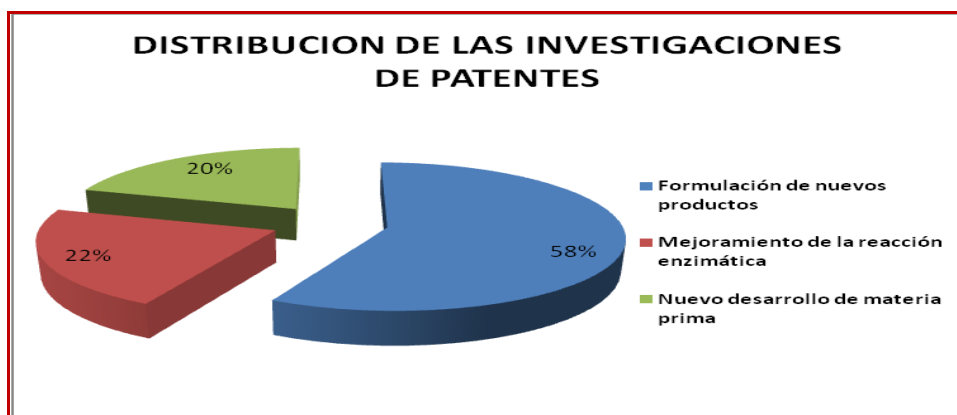
B. País de origen de la entidad solicitante, si se observa en la Gráfica 6 - 15, la sumatoria de los porcentajes de participación de las entidades (18%) tienen como país de origen China, ahora bien, cuando se analiza la invención individualmente el porcentaje aumenta a un 58%, correspondiendo a empresas esporádicas que realizan I&D pero no son constantes en registrar patentes; En segundo lugar encontramos a Holanda con un 17% el cual está directamente relacionado con la empresa DSM.

GRÁFICA 6 - 15 : Distribución del país de origen del autor de la patente (Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 2000 a Noviembre 2012)

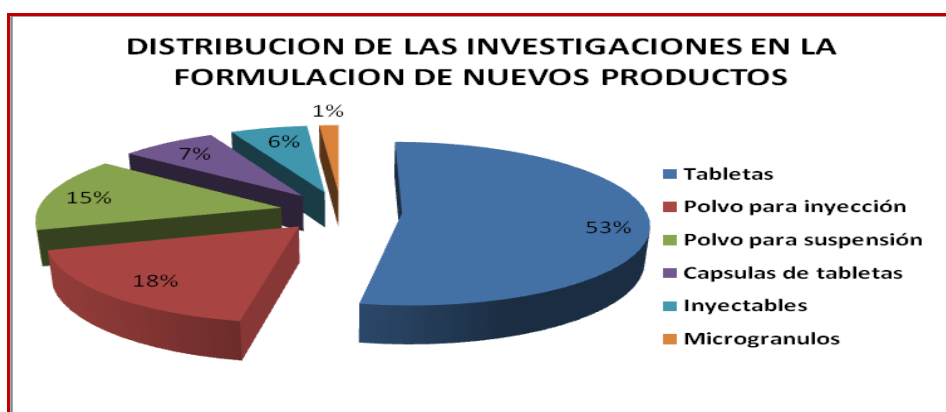


C. Distribución de las investigaciones de patentes, se clasifica la información en (3) ítems, la Gráfica 6 – 16, se evidencia que el mayor porcentaje corresponde a la formulación de nuevos productos (58%) y dentro de estos su mayor desarrollo está en tabletas (53%), seguido de polvo para inyección (18%)(ver Gráfica 6 - 17), seguido por mejoramiento de la reacción enzimática (22%) y el nuevo desarrollo de materia prima (20%), lo anterior se debe a que el primer ítem no demanda tanto tiempo para su desarrollo y estandarización, caso contrario en los siguientes ítems

GRÁFICA 6 - 16 : Distribución del campo de aplicación de la patente
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 2000 a Noviembre 2012)



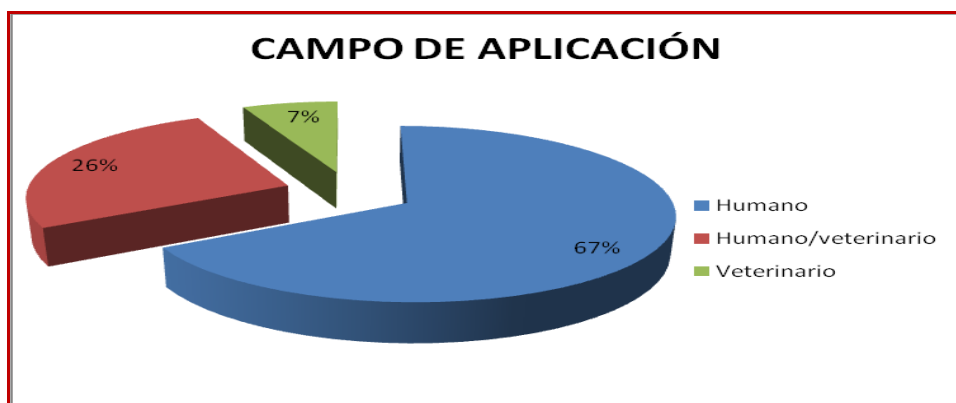
GRÁFICA 6 - 17 : Distribución de las investigaciones en la formulación de nuevos productos.
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 2000 a Noviembre 2012)



D. Campo de aplicación, En la Gráfica 6 – 18, se observa que las patentes generadas presentan un nuevo enfoque direccionado al uso veterinario en un 7%, pero notablemente se encuentra marcado su desarrollo al uso humano con un 67%.

GRÁFICA 6 - 18 : Distribución del campo de aplicación.

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 2000 a Noviembre 2012)



7. Revisión del estado del arte

La presente revisión corresponde a los resultados establecidos en el capítulo anterior, donde se analizarán (3) FCV, los cuales son:

7.1. FCV - Producción del antibiótico

Los antibióticos son por definición moléculas con actividad antimicrobiana, que incluyen una gran cantidad de compuestos pertenecientes a diferentes familias químicas. Son metabolitos secundarios, producidos en la mayoría de los casos después de la fase de crecimiento. Alexander Fleming descubrió de forma accidental la penicilina en 1928; esta sustancia demostró su eficacia frente a cultivos de laboratorio de algunas bacterias patógenas como las de la gonorrea, o algunas bacterias responsables de meningitis o septicemia. Este descubrimiento permitió el desarrollo de posteriores compuestos antibacterianos producidos por organismos vivos. Howard Florey y Ernst Chain, en 1940, fueron los primeros en utilizar la penicilina en seres humanos.(Price, 2005)

Los primeros procesos para la producción de penicilina, implicaban el crecimiento de *Penicillium notatum* sobre la superficie de un medio líquido; después en 1945 con el descubrimiento de una nueva especie, *P. chrysogenum*, se pudieron incrementar los rendimientos del producto y trabajar en cultivo sumergido, empleando lactosa como fuente de carbono y energía y agua de macerado de maíz (*corn-steep liquor*) como fuente de nitrógeno, lo cual hizo más rentable el proceso (Demain & Elander, 1999).

Ahora bien, en el proceso industrial el tamaño de los reactores pasó de un volumen de 30,000 a 100,000 galones, con operaciones de separación del micelio por filtración y extracción del antibiótico del caldo, seguida por la cristalización o precipitación ácida del mismo.(Demain & Elander, 1999). Su tiempo de ciclo oscila entre 120 – 200 horas, requiere altos niveles de oxígeno disuelto esencialmente en las fases de crecimiento (40 – 50 horas); en la actualidad estos procesos de fermentación son altamente automatizados donde se controla la temperatura, el pH, la cantidad de oxígeno disuelto, dióxido de carbono, el azúcar, el precursor, cantidad de amoníaco, etc...(Elander, 2003)

La producción de penicilina como otros procesos biotecnológicos está dominada por su aspecto competitivo entre los grandes laboratorios productores, que realizan permanentes esfuerzos de mejoramiento en cada etapa del proceso: cepa, fermentación y separación, mostrando incrementos en su velocidad de producción

hasta 40 veces (las cuales van desde 1950 produciendo 10 unidades $\text{ml}^{-1} \text{h}^{-1}$ hasta en 1980 produciendo 400 unidades $\text{ml}^{-1} \text{h}^{-1}$) (Schäfer et al., 2007). En la Tabla 7 - 5, se resumen los cambios realizados desde 1950 hasta el 2000.

TABLA 7 - 5: Evolución en la tecnología de fabricación de la penicilina
Basado en (Elander, 2003)

FERMENTACION	1950	2000
Fuente de Carbón	Lactosa	Glucosa / Sacarosa
Tipo de cultivo	Lote	Lote-alimentado
Esterilización del medio	Lote	Continuo
Filtración del aire	Filtros de profundidad	Membranas de filtración
Alimentación	Ninguna	Continuamente
Morfología del hongo	Filamentoso	Granulado
Tiempo de ciclo	120 horas	120 - 200 horas
Volumen del tanque (galones)	10,000 - 20,000	20,000 - 60,000
Análisis	Bio-ensayo	HPLC
Control	Únicamente la temperatura	Todas las variables automatizadas
Concentración (g / l)	0,5 - 1,0	> 40
Cantidad Producida (Toneladas)	83	33.000
RECUPERACIÓN Y PURIFICACIÓN		
Eliminación del micelio	Filtración al final	Contínuo
Tipo de operación	Lote	Semi-continuo
Etapas de extracción	>8	<8
Recuperación y re-utilización del precursor	NO	SI
Eficiencia (%)	70 - 80	> 90
Costo del granel (US \$ / kg)	275 - 350	15 - 20

La práctica industrial usada para producir antibióticos betalactámicos semisintéticos es la ruta química, proceso que la empresa Bristol Myers Company patentó en 1976 (Grossman, 1976), que incluye protección y desprotección de grupos reactivos, bajas temperaturas (menores a -30°C), el uso de solventes organoclorados (cloruro de metileno), agentes de sililación y altos volúmenes de desechos (Elander, 2003) ; (Alemzadeh, Borghei, Roostaazad, & Roostaazad, 2010)

Por lo tanto, la síntesis enzimática ha recibido mucha atención hasta el punto de ser denominada "química verde", presentando un creciente interés en las reacciones enzimáticas para la producción de compuestos biológicamente activos, razón por la cual las investigaciones se han enfocado principalmente en dichas reacciones en sistemas acuosos u orgánicos y/o mezclas de los mismos; además durante los procesos enzimáticos se dan diferentes subprocesos como: La disolución y cristalización del sustrato y producto, la síntesis enzimática del producto y la hidrólisis enzimática del sustrato y producto (L. R. B Goncalves, Giordano, & Giordano, 2005), por lo que se hace necesario controlar cada variable que pueda, de una u otra forma, incidir sobre la obtención del producto en cuestión como lo es el pH, temperatura de la

reacción, suministro de oxígeno, velocidad de agitación, velocidad de agregado de nutrientes y agitación del reactor en otras (Diender, Straathof, van der Does, Zomerdijk, & Heijnen, 2000).

De acuerdo a lo mencionado anteriormente, se puede afirmar que antes de obtener la amoxicilina (ver Anexo G), es necesario tener su precursor como lo es la penicilina V ó G, el cual es un proceso de fermentación complejo, por ser a gran escala y por tener un gran número de variables a controlar, lo cual hace que la presente investigación fuera en un principio una idea insensata debido al desconocimiento de la tecnología de producción y por ende haciendo que el proyecto sea abortado. Ahora bien la obtención de la amoxicilina por síntesis enzimática ha tomado gran importancia por su baja contaminación al medio ambiente y por no requerir condiciones especiales como las requeridas por la síntesis química, lo cual hace que este proceso sea más rentable, razón por la cual surgió como alternativa a la fermentación, realizar una reacción de síntesis enzimática a partir del precursor 6-APA y la enzima Penicilin G Acilasa.

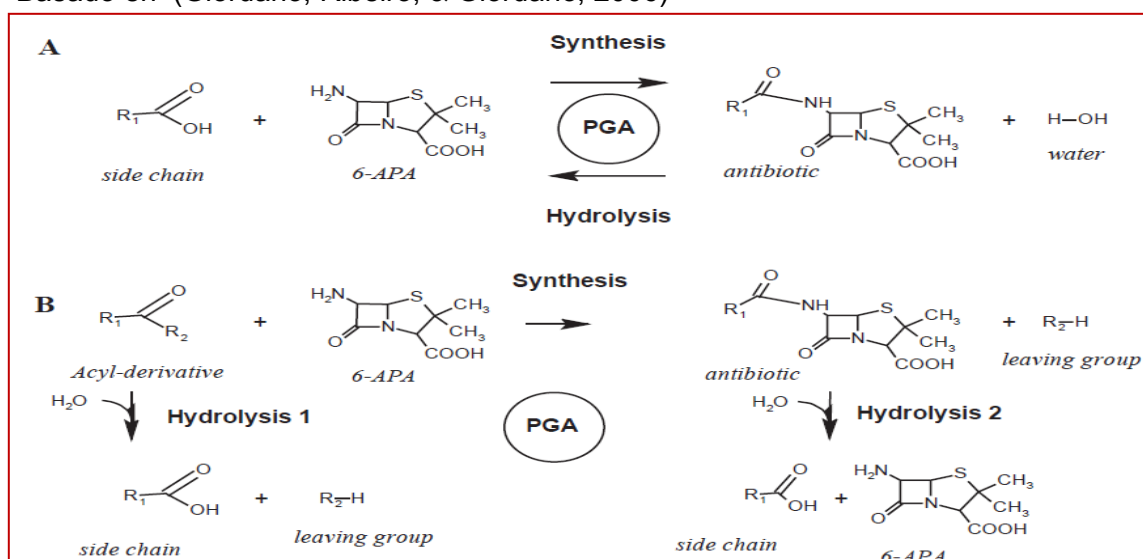
7.3.1. Producción industrial

La producción enzimática de la amoxicilina se da por la reacción del éster metílico de la hidroxifenil glicina (PHFGME) y el ácido 6 amino penicilánico (6-APA) en relación 3:1, catalizada por la enzima penicilin G acilasa (PGA), donde dicha enzima debe mantenerse a una concentración, temperatura y pH determinados; para que la reacción sea favorable se requiere que el grupo carboxilo del PHFGME se encuentre protonado (donador acilo) y que el grupo amino del 6-APA sea neutro para estar disponible a las interacciones nucleofílicas, pero se tiene el inconveniente que en el rango donde la enzima es activa (pH: 6-8) las cargas del sustrato son despreciables (2010), razón por la cual muchas investigaciones están dirigidas a buscar las condiciones ideales de reacción con el fin de obtener un mayor rendimiento de la amoxicilina.

A continuación se plantean las diferentes estrategias diseñadas para mejorar la producción del antibiótico:

7.3.1.1. Continuar con la investigación de las vías hidrolíticas

Figura 7 - 2: Reacción enzimática para la obtención de la amoxicilina
Basado en (Giordano, Ribeiro, & Giordano, 2006)



Para esta estrategia los diferentes investigadores establecen dos enfoques para abordar la síntesis, uno es el **termodinámico** (Figura 7 - 2, parte A), el cual se basa en influenciar el equilibrio de la reacción hacia el producto, donde se evidencian inconvenientes frente a la activación de la enzima al pH de reacción, baja solubilidad de PHFGME y pérdida de la actividad enzimática en presencia de co-solventes, el otro enfoque es el **cinético** (Figura 7 - 2, parte B) donde se evidencia un problema de optimización, mostrando desventajas frente la acción de la PGA, debido a que puede ser transferasa ó hidrolasa y las moléculas de agua compiten con núcleos β -lactámicos para el ataque nucleofílico al intermediario acil-enzima. Por lo tanto, la viabilidad económica de esta ruta, será determinada en gran parte por la optimización de las condiciones operativas del reactor (Giordano, et al., 2006).

Ahora bien, el enfoque cinético analiza el mecanismo de las tres reacciones, que suceden durante la síntesis (Figura 7 - 2, parte B) como son:

- 1. Síntesis de antibiótico**, Reacción irreversible, donde la cantidad de producto final se puede ver afectada si se presenta la hidrólisis.
- 2. La hidrólisis del precursor de la cadena lateral**, La cual genera como producto final *p*-hidroxifenilglicina (PHFG).
- 3. La hidrólisis del antibiótico**, generando como producto final PHFG y el 6-APA (Giordano, et al., 2006).

Con lo cual se puede concluir que una síntesis eficiente sólo se logra cuando la hidrólisis se reduce al mínimo tanto del producto final, como del sustrato, evitando de esta forma la formación de PHFG.

7.3.1.2. Modificaciones en el medio de reacción

En Tabla 7 - 6, se relacionan cambios de pH, precipitación del producto de síntesis, efecto co-solvente en la mezcla de reacción y las concentraciones iniciales ideales de PHPGME, 6-APA y PGA, evidenciando que la mejor estrategia usada para mejorar el rendimiento hasta un 88%, es la planteada por (C. Chen, Wu, Liu, Lv, & Lin, 2008), partiendo del 6-APA y usando tert-pentanol anhidro como co-solvente, y las otras alternativas viables parten de la sal potásica de penicilina G (PGK) como: (1) Se usa como co-solvente el etilenglicol, la enzima PGA de *E. coli*, donde su rendimiento global fue del 55.20% (Wu, Chen, Du, & Lin, 2010) y (2) Se usa la enzima PGA de *Kluyvera citrophila*, adicionando iones de Zinc donde su rendimiento global fue del 71.50% (Y.-W. Zhang, Liu, & Xu, 2010), mostrando una eficiencia del proceso, puesto que se realiza la síntesis enzimática de la amoxicilina en un solo paso, debido a que no requiere el intermediario 6-APA.

Ahora bien, se demostró que en todas las estrategias se busca una total conversión del 6-APA por ser más costoso que la cadena lateral y que la PGA no pierde la actividad después de la exposición prolongada a los solventes usados; igualmente se demostró que para una mayor eficiencia del proceso de síntesis es necesario mantener una mayor proporción de PHPGME que de 6-APA, pero la relación varía entre los diferentes autores, mostrando un mejor resultado cuando la relación es 3:1 respectivamente.

TABLA 7 - 6: Estrategias realizadas para el mejoramiento de la síntesis de amoxicilina (Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía)

ESTRATEGIA	TITULO / AUTOR	RESULTADOS	PGK	6-APA	PHFGME	T (°C)	Tiempo (H)	PGA	pH	PRODUC-CION
CONTROL ADECUADO DEL pH	Course of pH during the formation of amoxicillin by a suspension to suspension reaction (Diender, et al., 2000)	El modelo puede ser utilizado como una herramienta para la optimización de una reacción enzimática tipo suspensión-suspensión, donde el control de pH es muy importante e influye directamente en la producción del antibiótico, siendo el mejor rango de pH (6.2 - 5.5)	NR	63 g/l	65 g/l	25	1.5	100 mU	6.2 - 5.5	NR
PRECIPITACION DEL PRODUCTO DE SINTESIS	Enzymatic synthesis of b-lactam antibiotics via direct condensation (Ulijn, De Martin, Halling, Moore, & Janssen, 2002)	Se estudia la viabilidad de precipitación de la amoxicilina mediante la adición de iones Zn ²⁺ en la reacción de síntesis, presentando rendimientos que aumentan hasta 30 veces, cuando es controlada la síntesis termodinámicamente.	NR	10 mmol	10 mmol	2	10	NR	6	30 mmol/ kg
EFFECTO CO-SOLVENTE EN LA MEZCLA DE REACCION	Anhydrous tert-pentanol as a novel media for the efficient enzymatic synthesis of amoxicillin (C. Chen, et al., 2008)	La reacción en medio orgánico llevó más tiempo para alcanzar el máximo rendimiento, en comparación con medios acuosos (normalmente 4-5 h), evidenciando que la enzima muestra una menor actividad en medios orgánicos; además la hidrólisis de HPGM y la amoxicilina fue muy baja debido a la menor actividad de agua del sistema de reacción, obteniendo un mayor rendimiento de síntesis.	NR	100 mmol	200 mmol	15	20	20 UI / mL	6.8	88%

TABLA 7 - 6: (Continuación)

ESTRATEGIA	TITULO / AUTOR	RESULTADOS	PGK	6-APA	PHFGME	T (°C)	Tiempo (H)	PGA	pH	PRODUCCIÓN
EFECTO CO-SOLVENTE EN LA MEZCLA DE REACCIÓN	Redirecting the inactivation pathway of penicillin amidase and increasing amoxicillin production via a thermophilic molecular chaperone (Bergeron, Tokatlian, Gomez, & Clark, 2009)	Se evalúa la presencia del Termosoma de <i>Methanocaldococcus jannaschii</i> (rTHS) el cual estabiliza la enzima PGA hasta un 35% mas(reduciendo la tasa de inactivación) cuando se trabajan con mezclas hidroalcohólicas (Metanol : Agua) con el fin de disminuir la hidrólisis del antibiótico; además se evidenció que en presencia del rTHS y la adición de iones de Calcio(8 mmol) se obtiene hasta 4 veces mas antibiótico y es 3 veces mas selectivo que en ausencia de los mismos.	NR	1.5 mmol	2.5 mmol	37	40	2 µM	8.5	4 veces mas que sin rTHS
	Modeling and optimization of methanol as a cosolvent in Amoxicillin synthesis and its advantage over ethylene glycol (Chow et al., 2007)	Se evaluó la adición de co-solventes tales como etilenglicol y metanol, siendo el metanol el que da una mejor relación entre síntesis/hidrólisis cuando se combina con unas elevadas concentraciones de los sustratos, que contrasta con el mayor efecto co-solvente a bajas concentraciones de sustrato.	NR	80 mmol	80 mmol	35	NR	38 UI / ml	6.5	20 mmol
EFECTO CO-SOLVENTE EN LA MEZCLA DE REACCIÓN Y CONCENTRACIONES IDEALES INICIALES DE PHFGME, 6-APA y PGA	Inhibitory effects in the side reactions occurring during the enzymic synthesis of amoxicillin: p-hydroxyphenylglycine methyl ester and amoxicillin hydrolysis (L. R. B. Goncalves, Fernandez-Lafuente, Guisan, Giordano, & Giordano, 2003)	El metanol se ha utilizado con frecuencia para mejorar el rendimiento de las reacciones de síntesis catalizadas por la PGA, su efecto en la reacción enzimática depende del sustrato y de los cambios conformacionales de enzimas, encontrando en el estudio que disminuye los rendimientos, ya que favorece la hidrólisis del antibiótico en comparación con el éster.	NR	37 mmol	112 mmol	25	NR	30 UI / mL	6.5	51.4%
RACIONALIZACIÓN DE LA EXPERIMENTACIÓN POR MEDIO DE MODELOS	The role of 6-aminopenicillanic acid on the kinetics of amoxicillin enzymatic synthesis catalyzed by penicillin G acylase immobilized onto glyoxyl-agarose (L. R. B. Goncalves, Fernandez-Lafuente, Guisan, & Giordano, 2002)	Se plantea que el modelo semi-empírico es capaz de representar la síntesis de la amoxicilina en concentraciones de 50 a 100 mM de 6-APA y puede ser utilizado para simular el reactor, donde se confirma que durante la síntesis de amoxicilina, el 6-APA tiene que ser unido al complejo de acil-enzima antes de la desacilación, debido a una dependencia lineal entre la relación de constantes aparentes y las concentraciones de 6-APA.	NR	50 -100 mmol	0 - 80 mmol	25	0 -15	30 UI / mL	6.5	30 - 50 mmol
	Enzymatic synthesis of amoxicillin: Avoiding limitations of the mechanistic approach for reaction kinetics (L. R. B. Goncalves et al., 2002)	Se compararon los modelos mecanicista, semi - empírico y una red híbrida neuronal (NN), evidenciando que la (NN) podría predecir con precisión las velocidades de reacción en las concentraciones de interés, incluyendo las bajas donde el modelo semi-empírico no es confiable.	NR	5 -100 mmol	40 - 80 mmol	25	0 -10	30 UI / mL	6.5	5 - 10 mmol
	Mathematical modeling of batch and semibatch reactors for the enzymic synthesis of amoxicillin (L. R. B Goncalves, et al., 2005)	Se evaluaron los reactores con referencia a la selectividad, índice de rendimiento y el rendimiento global, donde su elección depende de la evaluación económica, donde se muestran mejores resultados en el reactor semi-continuo, además la red híbrida neuronal fue capaz de representar la cinética compleja de la síntesis enzimática de amoxicilina.	NR	10-100 mmol	30 - 80 mmol	25	0 -17	30 UI / mL	6.5	NR
REDUCCIÓN DE PASOS EN LA SÍNTESIS, EFECTO CO-SOLVENTE Y ADICIÓN DE IONES	One-pot, two-step enzymatic synthesis of amoxicillin by complexing with Zn2+ (Y.-W. Zhang, et al., 2010)	Se evaluó la obtención de la amoxicilina a partir de la sal de Penicilina G en un sólo recipiente, con "2" reacciones catalizadas por la penicilina acilasa inmovilizada de <i>Kluyvera citrophila</i> , en presencia de iones de Zinc, obteniendo un rendimiento global del 71.5%	100 mmol	NR	200 mmol	1 RX - 37 2 RX - 25	NR	NR	1 RX - 8.0 2 RX - 6.0	1 RX - 93.8% 2 RX - 76.2%

TABLA 7 - 6: (Continuación)

ESTRATEGIA	TITULO / AUTOR	RESULTADOS	PGK	6-APA	PHFGME	T (°C)	Tiempo (H)	PGA	pH	PRODUCCION
REDUCCIÓN DE PASOS EN LA SÍNTESIS, EFECTO CO-SOLVENTE Y ADICIÓN DE IONES	<i>Enzymatic Synthesis of Amoxicillin via a One-pot Enzymatic Hydrolysis and Condensation Cascade Process in the Presence of Organic Co-solvents</i> (Wu, et al., 2010)	Se demostró que se puede obtener la amoxicilina a partir de la sal potásica de penicilina G y PHFGME con etilenglicol como co-solvente orgánico. El novedoso protocolo para la síntesis enzimática de amoxicilina tendrá potencial aplicación en la producción industrial de antibióticos β-lactámicos, debido a la reducción de pasos enzimáticos a pesar de sus bajos rendimientos.	150 mmol	NR	450 mmol	25	10	50 UI / mL	6	55.20%
RACIONALIZACIÓN DE LA EXPERIMENTACIÓN POR MEDIO DE MODELOS Y DIFERENTES SOPORTES PARA LA INMOVILIZACIÓN DE LA PGA	<i>Use of neural networks in the mathematical modelling of the enzymic synthesis of amoxicillin catalysed by penicillin G acylase immobilized in chitosan</i> (J. A. Silva, Neto, Adriano, Ferreira, & Goncalves, 2008)	El uso de redes neurales junto con los modelos híbridos son una alternativa interesante para simular los datos experimentales de la producción enzimática de amoxicilina en los reactores tipo batch, los cuales proporcionan resultados precisos, dentro del rango de concentración de sustrato evaluado. Se evaluaron los (2) tipos de reacciones con 15 nodos y con 10.000 interacciones para el antibiótico y 65.000 para la PHFG.	NR	5.2 - 30.8 mmol	8.5 - 16.2 mmol	25	0 - 8.3	2 UI / g	6.5	0.02 - 0.10 mmol
CONCENTRACIONES IDEALES INICIALES DE PHPGME, 6-APA y PGA	<i>Enzymatic Synthesis of Amoxicillin with Immobilized Penicillin G Acylase</i> (Alemezadeh, et al., 2010)	Se evaluó el rendimiento de la síntesis a diferentes concentraciones de 6-APA, PHFGME Y PGA, a diferentes rangos de pH y temperatura.	NR	20 mmol	60 mmol	35	4.7	5 g / L	6.3	50%
	<i>Influence of 6-aminopenicillanic acid on amoxicillin synthesis and p-hydroxyphenylglycine methyl ester hydrolysis</i> (Chow, Jinchuan, & Ruijiang, 2005)	El 6-APA es capaz de inhibir competitivamente la hidrólisis de PHGM y afecta directamente la tasa de formación de amoxicilina	NR	0.50%	3%	NR	NR	20 µL	6.5	NR

PGK: Sal potásica de Penicilina G

NR: No reporta

7.3.1.3. Mejoramiento del sistema enzimático

En la Tabla 7 - 7, se relacionan estrategias como la búsqueda de una mejor enzima que la PGA, como las hidrolasas de éster de alfa-aminoácidos (AEHs), creación de cepas superproductoras mediante mutagénesis sitio-específica y la modificación de las técnicas de inmovilización, ya sea por atrapamiento simultáneo con nano-partículas magnéticas en una matriz de sílica o por atrapamiento en un hidrogel de sílice amino modificado, con el fin de garantizar que la enzima posea una mayor eficiencia catalítica. Ahora bien, dichas estrategias permiten mejorar los rendimientos de producción de los diferentes antibióticos β-lactámicos (cefalexina ver Anexos H y I) y (ampicilina ver Anexos J y K) lo cual puede ser extrapolable para la producción de amoxicilina; aunque cabe mencionar que de los diferentes autores clasificados para esta estrategia, tan sólo (Dong, He, Gong, & Yang, 2010) son los únicos autores que muestran datos numéricos relacionados con la inmovilización de la enzima aplicado a la amoxicilina, evidenciando un rendimiento de la síntesis en medios acuosos del 38% a una temperatura de 25°C y con un tiempo de 2,5 h, que al comparar dichos resultados con los reportados en la Tabla 7 – 7 son muy bajos, pero loables en la

posible aplicación de dichas técnicas de inmovilización conjugadas con la síntesis que parte de la PGK.

TABLA 7 - 7: Estrategias de mejoramiento del sistema enzimático
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía)

ESTRATEGIA	TÍTULO / AUTOR	RESULTADOS	TIPO DE ENZIMA Y APLICACIÓN
TIPO DE ENZIMA A UTILIZAR	Three-dimensional structures of enzymes useful for β-lactam antibiotic production (Barends, Yoshida, & Dijkstra, 2004)	Demuestra que hay un gran número de enzimas que están siendo investigadas con el fin de determinar su estructura y de esta forma dilucidar la conversión del núcleo beta-lactámico ó la cadena lateral buscando su aplicación industrial en la producción de antibióticos β -lactámicos	Se menciona que las hidrolasas de éster de alfa-aminoácido(AEHs) son capaces de catalizar la eliminación o fijación de la cadena lateral de antibióticos β -lactámicos y que poseen un mecanismo diferente que las PA(penicilina Acilasas)
	Novel penicillin G acylase from <i>Achromobacter</i> sp. CCM 4824 (Skrob, Becka, Plháčková, Fotopulosová, & Kyslík, 2003)	Se caracterizó la PGA de la cepa bacteriana de <i>Achromobacter</i> sp. CCM 4824, su máxima actividad hidrolítica se encontró a pH 7,5 y temperatura de 60 °C.	Sus características moleculares como secuencias de aminoácidos y la composición de la subunidad son similares a la conocida PGA, la especificidad por el sustrato es diferente, mientras que la PGA conocida prefiere el resto de la cadena lateral de la penicilina G, la nueva PGA prefiere los alfa-amino acil penicilinas como la ampicilina, amoxicilina y cefalexina.
MUTAGÉNESIS DE LA ENZIMA	Increasing synthetic performance of penicillin G acylase from <i>Bacillus megaterium</i> by site-directed mutagenesis (Wang <i>et al.</i> , 2007)	Se presenta mutagénesis(cambios dirigidos en posiciones cercanas al sitio activo) a la PGA de <i>Bacillus megaterium</i> (BmPGA), con el fin de aumentar su rendimiento en la síntesis controlada cinéticamente de cefalexina, generando velocidades de S/H hasta 3,0 veces más que la cepa nativa y mayor rendimiento sintético, permitiendo la acumulación hasta dos veces más cefalexina.	El mutante BmPGA α 145Y mostró una relación (S/H = 2,3), siendo la menor frente a las demás PGAs recombinantes de <i>Alcaligenes faecalis</i> (S/H = 2,5), <i>P. rettgeri</i> (S/H = 3,3), <i>E. coli</i> (S/H = 13) y <i>Kluyvera cryocrescens</i> (S / H = 17). Sin embargo, el rendimiento sintético de la <i>E. coli</i> era mejor que la de <i>K. cryocrescens</i> , esto se debe a la forma de activación de la cadena lateral donante, es decir, D-fenilglicina metil éster usado, sumado a la forma de preparación, la concentración de sustrato, temperatura de reacción y el pH, lo que impacta sobre la evaluación del desempeño de la enzima.
	The realm of penicillin G acylase in β-lactam antibiotics (Chandel, Rao, Narasu, & Singh, 2008)	Los avances en la tecnología de enzimas como la creación de nuevas cepas mediante mutagénesis sitio-específica, modificación de las técnicas de inmovilización y la optimización en el proceso de fermentación podrían mejorar la producción de PGA.	La PGA cataliza la hidrólisis de los enlaces amídicos de penicilina G y cefalosporina G, para producir 6-APA y 7-ADCA respectivamente, actúa como una transferasa ó hidrolasa, cataliza dos reacciones secundarias no deseadas: la hidrólisis del precursor de la cadena lateral acilo y la hidrólisis de la propia antibiótico.
SOPORTE DE INMOVILIZACIÓN DE LA ENZIMA	Optimization in the immobilization of penicillin G acylase by entrapment in xerogel particles with magnetic properties (Bernardino, Estrela, Ochoa-Mendes, Fernandes, & Fonseca, 2011)	Se presenta una evolución en la inmovilización de la PGA, por atrapamiento simultáneo con nano-partículas magnéticas en una matriz de sílica. Los efectos sobre la actividad PGA de diferentes precursores sol-gel, aditivos, la concentración de enzima, el envejecimiento, las condiciones de secado y la estabilidad mecánica fueron satisfactorios	Con esta metodología la inmovilización de la PGA puede realizarse con éxito en xerogeles de sílice micro-partículas (< 30 micras) con propiedades magnéticas, con retención de la actividad de 65% hasta la inmovilización. El escalonamiento del método de inmovilización podría conducir a mejorar los resultados, desde las pérdidas físicas por los procedimientos de inmovilización y los re-usos podrían ser minimizados.
	Immobilization of penicillin G acylase onto amino-modified silica hydrogel (Dong, <i>et al.</i> , 2010)	Se realizó un nuevo ensayo de inmovilización de la PGA en un Hidrogel de sílice amino modificado (N-MSHG) aplicandola en la síntesis enzimática de amoxicilina.	Los resultados mostraron que el proceso de inmovilización era eficiente y la enzima inmovilizada mostró una alta eficiencia catalítica. El rendimiento de la síntesis de amoxicilina en medios acuosos fue del 38% para los 2,5 h a 25°C que al compararla con la PGA nativa no brindaba ningún resultado. Esta preparación de sol-gel es simple y muestra destacado valor potencial en el procesamiento industrial.

TABLA 7 - 7: (Continuación)

ESTRATEGIA	TITULO / AUTOR	RESULTADOS	TIPO DE ENZIMA Y APLICACION
CINÉTICA DE LA REACCIÓN	<p>Kinetics of β-lactam antibiotics synthesis by penicillin G acylase (PGA) from the viewpoint of the industrial enzymatic reactor optimization</p> <p>(Giordano, et al., 2006)</p>	<p>Se hace una revisión que se enfoca especialmente en los aspectos de la cinética de las reacciones que pueden afectar el rendimiento del reactor enzimático, como son: (1) los enfoques control cinético y termodinámico, (2) la inmovilización y tipo de enzima y (3) los efectos de pH, temperatura, concentraciones de sustrato en las velocidades de reacción.</p>	<p>Se establece que el uso de la PGA de <i>E. Coli</i> en medio acuoso, en un sistema de fed-batch, con la cristalización simultánea del producto, es adecuado para la aplicación de modelos de optimización dinámicos y de control óptimo, como técnicas de la ingeniería del reactor, sin embargo se plantea que esta lejos de un completo modelo mecanicista que podría tener en cuenta todos los fenómenos involucrados como: pH, temperatura, efectos de la concentración sobre las velocidades de reacción, transferencia de masa líquido-sólido y la difusión entre partículas.</p>

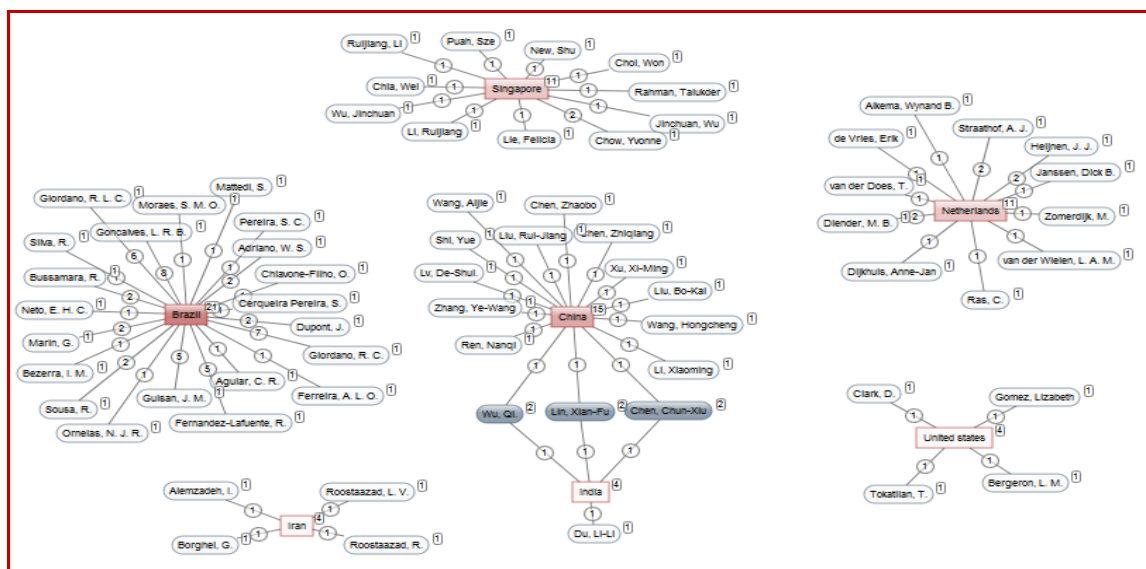
Por lo anterior se sugiere conjugar varias estrategias realizadas para la obtención de la amoxicilina por vía enzimática a nivel industrial, como la utilización de redes neuronales para simulaciones en los reactores con el fin de disminuir los costos de experimentación, realizar la síntesis partiendo directamente de la sal potásica de penicilina G(PGK) con un adecuado manejo de pH, usando la enzima PGA de *Kluyvera citrophila* inmovilizada en soportes de hidrogel de sílice amino modificado, puesto que dicha asociación presenta una buena estabilidad y selectividad a los diferentes pHs, brindando a la enzima una alta actividad específica y por ende una alta productividad; además se puede usar el terpentanol anhidro en el medio de reacción como co-solvente con el fin de evitar la hidrólisis o adicionar iones de Zinc con el fin de generar complejo con la amoxicilina.

7.3.2. Tendencias en investigación relacionadas con la síntesis enzimática de amoxicilina (SEA) analizada a través de las publicaciones científicas

Es el segundo tema específico (con un 22.11% del total de las referencias pertinentes), después de la enzima penicilin acilasa(con un 54.8%), que más aporta referencias específicas para la investigación; en cuanto a la producción científica se ha mantenido constante, mostrando un pico de producción en el año de 2010 del 17.39% según la Gráfica 7 - 19, con lo cual se demuestra que el tema continúa vigente para el desarrollo de más investigaciones a razón que el antibiótico amoxicilina es uno de los que más demanda tienen en el mundo y por supuesto en Colombia.

extrapola que hay un gran interés en los diversos centros de investigación de los diferentes países sobre la SEA, demostrando que Brasil es el país que más investiga con un aporte de 21 investigadores, seguido por China con 15 investigadores y finalizando en orden de importancia por Singapur y los países bajos con 11 investigadores cada uno.

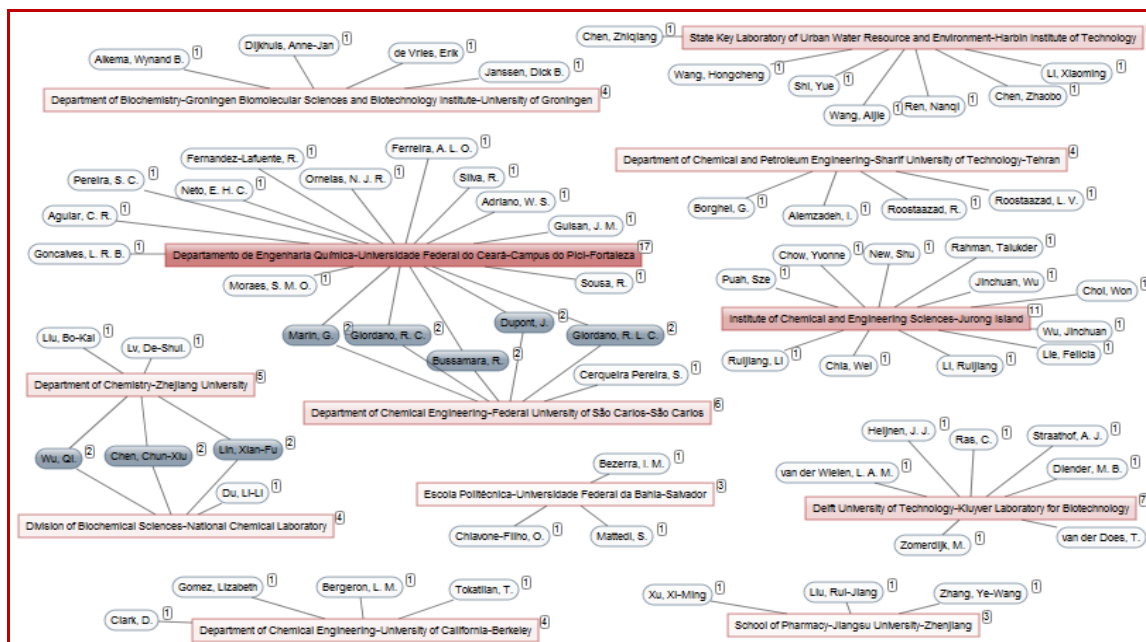
GRÁFICA 7 - 21 : Red asimétrica que relaciona el país de origen del autor vs número de publicaciones del autor
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



Ahora bien, si observamos en la Gráfica 7 – 22, se evidencia una relación entre el Departamento de Química de la Universidad de Zhejiang (China) y La División de Ciencias Bioquímicas del Laboratorio Nacional de Química (India), donde investigadores como Wu, Qi; Lin, Xian-Fu y Chen, Chun-Xiu han trabajado sobre el establecimiento del medio ideal de reacción enzimática para la formación de la amoxicilina.

Además, se evidencia que en Brasil la Universidad Federal de Ceará con (17) investigadores y la Universidad Federal de San Carlos con (6) investigadores están integradas por investigaciones conjuntas, las cuales están encaminadas a mejorar los rendimientos de la SEA con presencia de co-solventes, para evitar la hidrólisis del producto final, donde dichos trabajos son liderados por los investigadores Giordano, R.C; Giordano, R.L.C; Marin, G; Bussamara, R y Dupont, J.

GRÁFICA 7 - 22 : Red asimétrica que relaciona el centro de investigación vs número de investigadores por publicación
 (Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



En la Gráfica 7 – 23, se evidencia que las revistas donde más se publica son: “**Journal Biotechnology and Bioengineering**”²⁰ y “**Journal Enzyme and Microbial Technology**” con un 16.7% del total de publicaciones cada uno, lo cual está directamente relacionado con los autores principales anteriormente mencionados y las palabras claves más usadas para referenciar este tema es AMOXICILLIN con un 19.18% (en 14 publicaciones) y PENICILLIN G ACYLASE con un 15.07% (en 11 publicaciones).

GRÁFICA 7 - 23 : Red asimétrica que relaciona el Journal vs autor sobre la SEA.
 (Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)

	Goncalves, L. R. B.	Gordano, R. C.	Gordano, R. L. C.	Fernandez-Lafuente, R.	Gulian, J. M.	Dierker, M. B.	Straathof, A. J.	Heijnen, J. J.	Adriano, W. S.	Bussamara, R.	Marin, G.	Dupont, J.	Chen, Chun-Xiu	Wu, Qi	Lin, Xiao-Fu	Chow, Yvonne	Sousa, R.	van der Does, T.	Zomerijk, M.	Almzadeh, I.	Borghet, G.	Roostaazad, L. V.	Roostaazad, R.	Ornelas, N. J. R.	Aguilar, C. R.	Moraes, S. M. O.	Pereira, S. C.	Silva, R.
Biotechnology and Bioengineering	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Enzyme and Microbial Technology	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Biotechnology and Bioprocess Engineering	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Applied Biochemistry and Biotechnology	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Journal of Hazardous Materials	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Green Chemistry	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Biotechnology and Applied Microbiology	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Chemical Engineering & Technology	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Journal of Molecular Catalysis	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
New Biotechnology	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
World Journal of Microbiology	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Chemistry and Chemical Engineering	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
European Journal of Biochemistry	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Applied Microbiology and Biotechnology	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Biocatalysis & Biotransformation	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Brazilian Journal of Chemistry	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
Process Biochemistry	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1

²⁰ Revista Alemana, perteneciente a la editorial Wiley-VCH Verlag, enfocada a sistemas enzimáticos y sus aplicaciones, ingeniería de proteínas, ingeniería de bioprocesos, etc., posee un factor de impacto de 3.648 (según ISI Journal Citation Reports®, 2012)

7.3.3. El ácido 6-amino penicilánico (6-APA)

Es un compuesto químico que forma el núcleo fundamental de la molécula de los antibióticos penicilínicos, como lo es el 7-ACA en los cefalosporínicos, y es usado en la fabricación de penicilinas sintéticas. La estructura comprende un anillo betalactámico unido a un anillo tiazolidínico. La adición de diferentes moléculas sobre el 6-APA determina la farmacología esencial y las propiedades antibacterianas de los compuestos así formados. (Shewale & Sudhakaran, 1997).

Durante el proceso de obtención de las penicilinas G o V por fermentación se observa que estas se degradan en medio ácido con una cinética de primer orden a una velocidad proporcional a la temperatura y recíproca con respecto al pH. Esto hace que la vida media en condiciones de eficiente extracción en medio ácido sea muy reducida, por lo que estas penicilinas pueden ser empleadas directamente ó como intermediarios que serán convertidas a 6-APA para obtener nuevas penicilinas semi-sintéticas (Ospina, Barzana, Ramírez, & López-Munguía, 1996).

El 6-APA fue descubierto a finales de 1950, pero su desarrollo químico-industrial se dió en 1970 por la empresas holandesas “Weissenburger y van der Hoeven”, pero los problemas ambientales y los elevados costos de solventes y energía han hecho que se retomen las rutas ezimáticas, donde el proceso enzimático también ha evolucionado desde la pérdida de enzima por la reutilización de la misma, hasta llegar a la inmovilización en módulos o paneles. (Elander, 2003)

La producción industrial del 6-APA se realiza por deacilación enzimática de la penicilina G ó V por acción de la enzima penicilin acilasa, proceso realizado en medio acuoso a 37°C, lo que reduce considerablemente los costos. Después de la deacilación se obtiene una solución de sales sódicas del ácido fenilacético y 6-APA los cuales son separados de acuerdo a sus características(Shewale & Sudhakaran, 1997), obteniendo el 6-APA que es más estable químicamente y por lo tanto es ampliamente utilizado en la industria farmacéutica para la producción de diversas penicilinas semi-sintéticas (L. R. B. Goncalves, Fernandez-Lafuente, et al., 2002)

7.3.4. Penicilin acilasa (PA)

Como se ha mencionado anteriormente, uno de los mercados biotecnológicos mas importante en el mundo es el de los antibióticos betalactámicos tipo penicilínicos y cefalosporínicos con unas ventas anuales de US \$ 15.000´.000.000 correspondiendo a una producción de 50.000 Tn/año y el consumo de la enzima PA está en un promedio de 10 – 30 toneladas/año (Chandel, et al., 2008), razón por la cual para la presente investigación es importante hacer una reseña de esta enzima.

7.3.4.1. Características

La enzima penicilin acilasa (PA) tiene forma de riñón y posee una depresión profunda céntrica. En su parte inferior se encuentran los sitios activos de la enzima, siendo eficaz como biocatalizador para la síntesis e hidrólisis, pero su aplicación industrial es limitada por presentar baja estabilidad a largo plazo, debido a los numerosos pasos para su recuperación y su reutilización.

La PA de *E. coli*, ha sido la más estudiada en profundidad, la más empleada y caracterizada completamente, siendo un heterodímero compuesto por dos subunidades, $\alpha=19500$ Da (209 aa) y $\beta=60000$ Da (557 aa) y tiene un punto isoeléctrico de 6,8 (Barends, et al., 2004); (Spence & Ramsden, 2007) Esta enzima se ha mejorado por ingeniería genética (para incrementar la productividad por inducción propia de la enzima y la manipulación de las condiciones de fermentación) (Wen, Feng, Yuan, & Zhou, 2005) y por ingeniería de proteínas (donde se emplea la mutagénesis dirigida al sitio activo para mejorar el rendimiento). Los híbridos han permitido mejorar el rendimiento (mayor conversión y mayor proporción de síntesis a velocidades de hidrólisis) (Quratulain, Nasira, & Kashmiri, 2006; Wang, et al., 2007). Por el contrario, la información sobre las PAs de *B. megaterium* está dispersa (Pinotti, Silva, Silva, & Giordano, 2000) (R. G. Silva et al., 2006) (Souza, Silva, Pinotti, Araújo, & Giordano, 2005) (Yang et al., 2006) y en su gran mayoría protegida por secretos industriales.

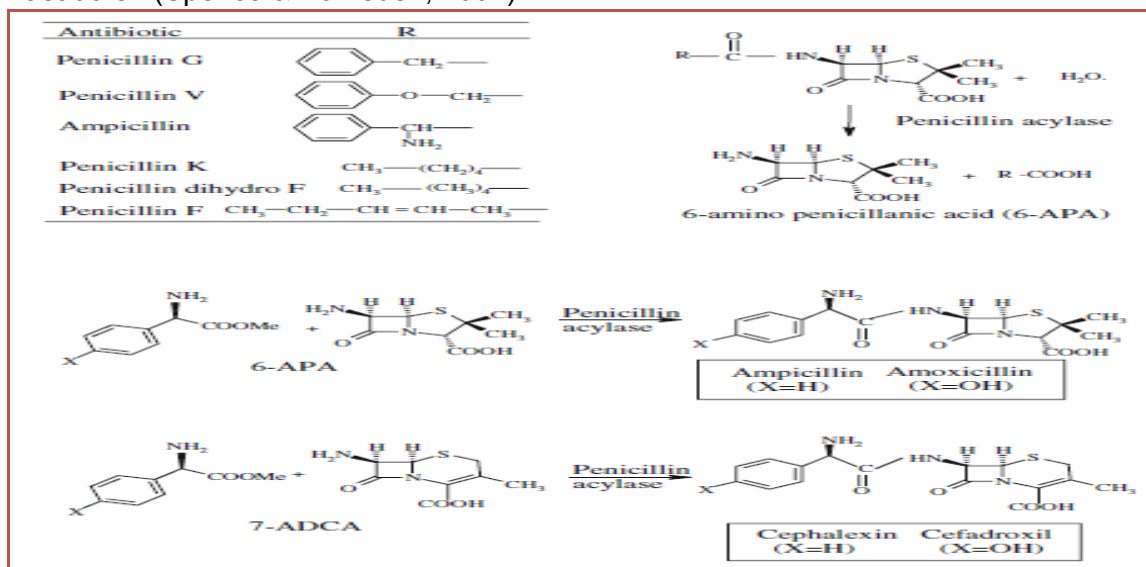
La PA de *E. coli* (EC 3.5.1.11), se acumula en el periplasma, lo que exige la ruptura celular por métodos mecánicos como la permeabilización ó la homogenización a alta presión, siendo este el proceso más común usado a gran escala para la ruptura celular microbiana y de esta forma la producción de proteínas intracelulares. Su principal desventaja es la contaminación de la enzima con otros constituyentes celulares, principalmente con otras proteínas con propiedades físico-químicas similares, lo que implica un número elevado de etapas de recuperación y purificación, alcanzando un 50 – 70% del costo total de producción de la proteína de interés (Ospina, et al., 1996).

La PA es una de las enzimas industriales más importantes (puede producir 2000 kg de producto / kg de catalizador) usadas para hidrolizar la penicilina G o V y obtener el 6-APA, clave en la manufactura de las penicilinas semi-sintéticas según la Figura 7 - 3. Se ha demostrado que diferentes grupos de bacterias, levaduras y hongos filamentosos, producen y secretan al medio la enzima (Martinez, Iliyná, Dominguez, & Dustet, 2005). Entre los microorganismos que la producen intracelularmente se encuentran entre las **Gram-negativas**: *Escherichia coli*, *Proteus rettgeri*, *Kluyvera citrophila*, *Bacillus subtilis*, *Alcaligenes faecalis*, *Providencia rettgeri*, *Pseudomonas sp*,

mientras que las **Gram-positivas**: *Bacillus megaterium*, *Arthrobacter viscosus* y los hongos *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus fumigatus*, *Penicillium chrysogenum* y *Mucor griseocyanus* la producen extracelularmente donde estos últimos son más ventajosos, puesto que reducen considerablemente el costo del proceso de purificación de la enzima (Chandel, et al., 2008), siendo las más usadas industrialmente las de *E. coli* y *B. megaterium*. Actualmente se han incrementado las investigaciones para aislar nuevos biocatalizadores de diferentes fuentes, debido a que más del 60% del 6-APA producido en el mundo usa la ruta enzimática (p.e: Para la producción de 7.500 toneladas de 6-APA son requeridas entre 10 – 30 toneladas de PA) (Shewale & Sudhakaran, 1997), de ahí su importancia

Figura 7 - 3: Reacciones de la enzima Penicilin Acilasa (PA)

Basado en (Spence & Ramsden, 2007)



La nomenclatura de la penicilin acilasa depende de la especificidad del sustrato, si hidroliza la penicilina G se denomina penicilin G acilasa (PGA) y si hidroliza la penicilina V se denomina penicilin V acilasa (PVA); dichas enzimas se utilizan en la fabricación de 6-APA y 7-ADCA. En 1988, el 85 % de 6-APA producido enzimáticamente utilizó la PGA y sólo el 15% restante utilizó la PVA. (Diender, Straathof, van der Wielen, Ras, & Heijnen, 1998).

El éxito de usar esta tecnología en la obtención de la amoxicilina se basa en la selectividad de la PA, la cual hidroliza mediante un ataque nucleofílico al carbono carbonílico de enlaces amida o éster de la cadena lateral manteniendo estable el enlace 2,3 del anillo betalactámico; sin embargo, hay diferencia entre varios autores en que el 6-APA se uniría a la enzima después de la formación del complejo acil-enzima, mientras que otros autores mencionan que la síntesis del antibiótico solo se dará cuando el 6-APA se une a la enzima antes de la formación del complejo acil-enzima.

Por lo tanto para tener éxito en la producción del antibiótico se deben tener en cuenta los desarrollos frente a la purificación de la enzima en su proceso de obtención y su reutilización debido a su uso inmovilizado (L. R. B. Goncalves, Fernandez-Lafuente, et al., 2002),(Marcos, Fonseca, Ramalho, & Cabral, 1999).

7.3.4.2. Inmovilización de la enzima

El presente trabajo se ha enfocado en el mecanismo de acción de la síntesis de amoxicilina y cómo crear un ambiente ideal para la reacción; sin embargo las nuevas investigaciones se han enfocado al mejoramiento del biocatalizador, con el fin de mejorar los rendimientos de las diferentes reacciones donde intervenga la PA. Es el caso donde el proceso de inmovilización surge como un factor importante para superar los problemas principales inherentes a la utilización de enzimas solubles como: su elevado costo, la contaminación del producto, dificultad de separación a partir de la mezcla de reacción y de reutilización limitada (hasta 100 ciclos) permitiendo el uso continuo en el proceso. También brinda una estabilidad mejorada tanto para su almacenamiento y condiciones operacionales, debido a que proporciona una "micro"protección frente a la desnaturalización por el calor, solventes orgánicos o por autólisis.

Algunas desventajas encontradas son: (1). La pérdida de actividad después de la inmovilización y las limitaciones de difusión. (2). El aumento de los costos del proceso, debido a los pasos para la inmovilización y consumo del biocatalizador. Las técnicas principales para la inmovilización, reportados en la literatura incluyen unión covalente multipunto, adsorción iónica e hidrofóbica, agregación y atrapamiento (Bernardino, et al., 2011), siendo el método de mayor eficiencia el CLEAS "cross-linked enzyme aggregates" (Giordano, et al., 2006; Illanes, Wilson, & Aguirre, 2009; A. Illanes et al., 2007; Rajendhran & Gunasekaran, 2007) puesto que hay agregación física de las enzimas y entrecruzamiento químico, aunque presenta inconvenientes por la capacidad de las enzimas para resistir a este entrecruzamiento y las limitaciones de difusión debidas a la agregación, razones por las cuales surge la inmovilización con la técnica sol-gel, con el fin que la enzima esté confinada dentro de un soporte químicamente inerte de sílica, brindando estabilidad electroquímica, térmica y lumínica, aunque su inconveniente se presenta en la fuga de enzima, razón por la cual las matrices deben tener un tamaño de poro suficientemente grande para permitir el flujo de sustratos y productos, pero suficientemente pequeño para evitar la fuga de la enzima (Bernardino, et al., 2011; Andrea L. O. Ferreira, Giordano, & Giordano, 2007). Otras investigaciones se han enfocado al acoplamiento de la enzima y la ingeniería genética, debido a que son mutaciones dirigidas al sitio activo de la enzima mejorando

el número de residuos de lisina y por ende la unión covalente al soporte, generando mayor estabilidad del biocatalizador (Bernardino, et al., 2011).

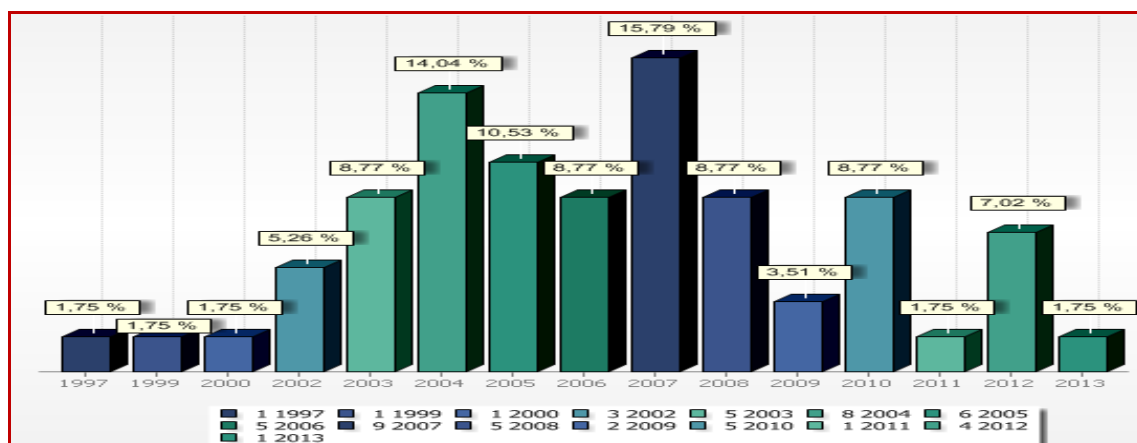
7.3.4.3. Tendencias en investigación relacionadas con la enzima (PA) analizada a través de las publicaciones científicas

El tema de la PA, es el que mas aporta (con un 54.8% del total de las referencias pertinentes) en cuanto al número de investigaciones relacionadas con el tema de investigación, lo anterior se debe a que la PA tiene diferentes campos de aplicación, tanto en la síntesis final para obtención de antibióticos tipo: ampicilina, amoxicilina, cefalexina y cefadroxilo (ver Gráfica 7 - 24), como en la de hidrólisis de la penicilina G ó V para la obtención del precursor 6-APA, siendo el mas importante para la producción de diferentes antibióticos betalactámicos tipo penicilínicos.

Como se observa la Gráfica 7 - 24, se evidencia que el tema tomó gran importancia desde el año 2002 donde se ha incrementado su investigación debido a que los procesos industriales están migrando de la síntesis química a la síntesis enzimática, a partir de ese año ha estado vigente la investigación, mostrando un pico de producción científica en el año de 2007 (15.79%) y un decrecimiento en el 2011(1.75%), sin embargo, el tema continúa siendo vigente para investigación, debido a que se ha determinado que la rentabilidad en los procesos industriales dependen directamente de la incidencia de la PA en sus procesos, razón por la cual muchas de las investigaciones son patrocinadas por multinacionales como DSM siendo uno de los principales proveedores de principios activos en antibióticos betalactámicos en el mundo. En el Anexo L, se muestran las publicaciones más relevantes de la PA.

GRÁFICA 7 - 24 : Porcentaje de artículos publicados sobre el tema PA

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



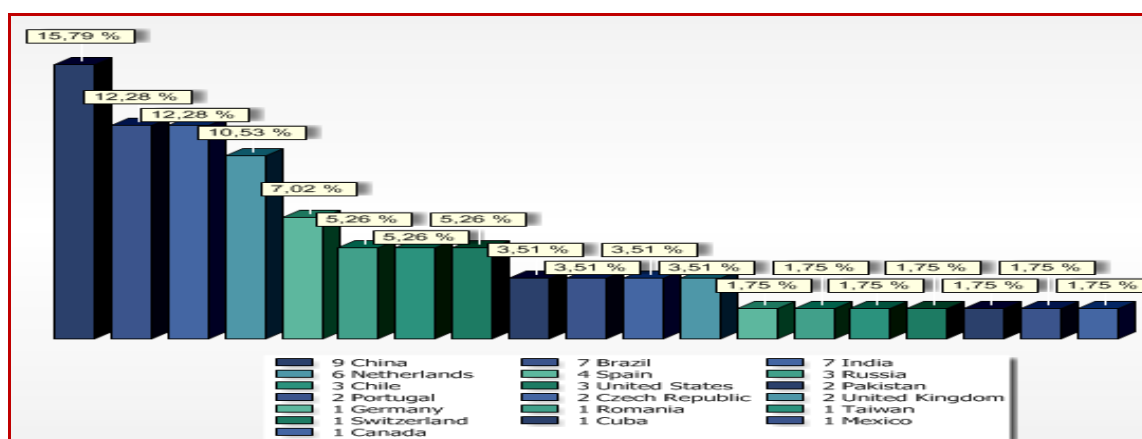
Sus principales investigadores de acuerdo con el número de publicaciones, en su orden de importancia corresponden a la Dra. Raquel de Lima Camargo Giordano

(Brazil), Dr. José Manuel Guisán Seijas (España) y al Dr. Roberto Fernandez-Lafuente (España), los cuales están relacionados entre si, frente a investigaciones relacionadas con la síntesis enzimática de amoxicilina.

Por otra parte, en la Gráfica 7 – 25, se evidencia un mayor número de investigadores (213) que han escrito sobre el tema PA, de los cuales el 15.79% son de origen chino, seguidos por brasileños e Indios con un 12.28% cada uno, lo anterior no se evidencia en dicho gráfico, debido a la baja frecuencia de publicaciones del mismo autor de origen chino, pero que se ve reflejado frente al número de autores vs su país de origen.

GRÁFICA 7 - 25 : Porcentaje del país de origen de los autores que más investiga sobre el tema PA, con respecto al número de publicaciones.

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



7.4. FCV – Análisis de mercado: Contexto nacional e internacional

Los antibióticos β -lactámicos son los principales productos de biotecnología, representando ventas mundiales en el 2003 aproximadamente por US \$15 mil millones (US \$10 mil millones para los cefalosporínicos, correspondiendo a una producción de 4,300 toneladas, siendo los más comercializados en orden de importancia: cefalexina, cefuroxima, cefaclor, cefixima, ceftibuten, cefprozil, cefepima y con sus intermediarios 7-ADCA y 7-ACA con una producción de 1,950 y 2,140 toneladas respectivamente y US \$5 mil millones para los penicilínicos, correspondiendo a una producción de 33,000 toneladas; siendo los más comercializados en orden de importancia: amoxicilina, meticilina, ticarcilina, con su intermediario 6-APA con una producción de 8,800 toneladas) y representan el 65% del mercado mundial de antibióticos, donde Europa siendo el líder en estas tecnologías ha visto que los costos por mano de obra, energía

utilizada y los costos de materia prima se han incrementado, razón por la cual la fabricación de estos antibióticos como materia prima se ha desplazado al Lejano Oriente, en China, Corea e India convirtiéndose en los principales países de producción. Los países dominantes en producto terminado son Puerto Rico e Irlanda. (Elander, 2003).

Ahora bien, por su parte el mercado de los Estados Unidos en el 2003, los antibióticos representan las ventas por US \$8 mil millones, distribuidos así: US \$3,6 mil millones en cefalosporínicos, US \$1,2 millones en penicilínicos, US \$0,9 mil millones en fluoroquinolonas, US \$0,5 millones tetraciclínicas y US \$0,4 mil millones en macrólidos (Elander, 2003), demostrando que el mercado de los antibióticos β -lactámicos es muy atractivo por su nivel en las ventas.

Por todo lo anterior, desde el punto de vista económico se hace atractiva para la industria privada nacional, la idea de sintetizar la amoxicilina, con el fin de convertirse en un distribuidor estratégico para suramérica aprovechando su ubicación geográfica. En la Tabla 7 – 8, se evidencian las empresas líderes a nivel mundial en la fabricación de los antibióticos β -lactámicos (Elander, 2003).

TABLA 7 - 8 : Clasificación de empresas manufactureras de antibióticos β -lactámicos
Adaptado de (Elander, 2003)

#	PENICILINICOS		CEFALOSPORINICOS	
	1995		1999	
1	Gist-Brocades (DSM)	Holanda	Antibióticos Spa	Italia
2	Antibióticos Spa	Italia	Biochemie/Hoechst	Alemania
3	Biochemie GmbH (Sandoz)	Austria	Glaxo/Wellcome	Inglaterra
4	North China Pharma Works	China	Fujisawa	Japón
5	Glaxo/SmithKline	Inglaterra	Cheil Jedang (Korea)	Korea
6	Bristol-Myers Squibb	USA	Bristol-Myers Squibb	USA

En la Tabla 7 – 9, se muestran las empresas líderes a nivel mundial en la fabricación de antibióticos penicilínicos, observando que el país donde se encuentran la gran mayoría de empresas es la República Popular de China (R.P.C), teniendo su origen en otros países; esto sucede por diversas razones que se comentarán más adelante en el presente trabajo.

TABLA 7 - 9 : Empresas manufactureras de antibióticos penicilínicos.
(Fuente: Bases de datos UN, Laboratorios Coaspharma y bases de patentes)

EMPRESA	UBICACIÓN (PAÍS)	TIPO DE PLANTA
DMS Fersinsa	Ramos Arizpe-Coahuila (México)	Reacción química/enzimática
DMS Sinochem Pharmaceuticals joint venture (DSP)	Yushu-Jilin (R.P.C) Shandong (R.P.C)	Reacción enzimática 6 APA Reacción enzimática
Harbin Pharmaceutical Group Co	Heilongjiang(R.P.C)	Fabricación de medicamentos
Shanxi Guardián Pharmaceutical	Taiyuan, Shanxi(R.P.C)	Reacción química(semisíntesis)
Biochemie(Novartis)	Frankfurt (Alemania)	Reacción química/enzimática
North China Pharmaceutical Group Corp	(R.P.C)	Reacción química/enzimática
Glaxo SmithKline Beecham	Singapur	Reacción enzimática
Asahi Chem(Toyo Jozo)	Japon	Reacción química/enzimática
Biesterfeld International	Hamburgo (Alemania)	Reacción química
Elder Pharmaceuticals Ltd.	Mumbai (India)	Reacción química/enzimática
Parabolic Drugs Ltd.	Haryana(India)	Reacción enzimática
Surya Pharmaceutical Ltd.	Chandigarh (India)	Reacción química
Zhuhai United Laboratories Co., Ltd.	Zhuhai-sanzao(R.P.C)	Reacción química
Josun International Limited	Shijiazhuang – Hebei (R.P.C)	Reacción química
Aurobindo (Empresa Indu)	(R.P.C)	Reacción química/enzimática
Pfizer	New York (USA)	Fabricación de medicamentos, I&D
Bristol-Myers Squibb	Shanghai - Minghang (R.P.C) New York (USA)	Reacción química/enzimática

7.4.1. Análisis del mercado: Caso China

Es el segundo mayor productor mundial de ingredientes farmacéuticos, con una producción anual de 800.000 toneladas en el 2003, sus empresas ocupan el primer lugar en el mundo en la producción los siguientes productos farmacéuticos:

1. Penicilinas 28.000 Tn/año, es decir el 60% de la producción mundial.
2. Vitamina C 98.000 Tn/año, de las cuales 54.000 Tn se venden en el extranjero, es decir el 50% de la producción mundial
3. Terramicina 10.000 Tn/año, es decir el 65% de la producción mundial.
4. Doxiciclina y clorhidrato de cefalosporinas. (Grace, 2004)

Dichas producciones aportan un total de US \$9,3 millones; estos datos al compararlos con las empresas indias las cuales producen aproximadamente el 1,5% del mercado farmacéutico mundial, correspondiendo en valores a US \$480 mil millones. Sin embargo, este pequeño porcentaje indica que la industria India en términos de valor desmiente la importancia en términos de volumen.(Grace, 2004)

En China, hay aproximadamente 6.800 compañías farmacéuticas, de las cuales 5.000 producen medicamentos, y 3.101 certificadas en BPM por la SFDA²¹ y el resto están involucradas en actividades relacionadas, como envases y suministro de equipos. De los 1.300 medicamentos sintéticos producidos en China, el 97% son copias de los productos líderes(Grace, 2004). Sólo alrededor del 15% de las empresas tienen BPM, esto debido a la inversión extranjera en las fábricas, lo cual ha generado un considerable exceso de capacidad, haciendo que dichas empresas financiadas por el estado nacional no sean rentables, razón por la cual el gobierno tomó medidas para exigir a las empresas cumplir con BPM en junio de 2004. Sus empresas son muy fuertes en fermentación y sus exportaciones de ingredientes activos representan el 84%, produciendo 1500 ingredientes activos con un volumen de aproximadamente 732.000 toneladas métricas. (Bumpas & Betsch, 2009)

Las fortalezas para aumentar su mercado global se centran en:

1. Ser un país atractivo para las empresas extranjeras en la fabricación de medicamentos genéricos, y por tener uno de los mercados más grandes del mundo con una población de 1354'.000.000 de habitantes.
2. Producir a bajo costo los ingredientes activos y el producto terminado, donde la relación en precio frente al ingrediente activo vs el producto terminado en China es de 1:3, en India de 1:5 y en países desarrollados es de 1:10 (Bumpas & Betsch, 2009)
3. Cambio en la reglamentación de la protección de la propiedad intelectual en 1993, con el fin de extender las patentes a veinte años.
4. Las industrias farmacéuticas están migrando a la I&D enfocándose a productos biotecnológicos, nuevas moléculas (retrovirales), medicinas tradicionales y tecnologías de formulación; para tal efecto las empresas están invirtiendo alrededor del 2% de sus ventas en I&D. A continuación se mencionan las (7) empresas chinas mas importantes en I&D:
 - Zensun (Shanghai) Sci & Tech Co.
 - Harbin Pharmaceutical Group Co.
 - Shijiazhuang Pharma Group
 - Wuxi Pharmatech
 - C & O Pharmaceutical Technology Holdings
 - Sinovac Biotech
 - Tonghua Dongbao Pharmaceuticals Ltd (E. Zhou, 2007)
5. Alto conocimiento en biotecnología y medicina tradicional.

²¹ SFDA, corresponde al ente regulatorio que certifica el cumplimiento de las BPM en la República Popular de China

6. En diciembre de 2007, la FDA y la SFDA firmaron un acuerdo con el fin de fortalecer la cooperación entre el departamento de Salud y Servicios Humanos, y la SFDA, por tal razón se establecieron tres puestos satélites de la FDA en China para acompañamiento de las certificaciones en BPM por parte de la SFDA. (Bumpas & Betsch, 2009)
7. Las empresas tienden a alejarse de la empresa estatal para enfocarse al sector privado; en el 2006 el 36% de las empresas eran propiedad del gobierno, 35% de propiedad privada y el 29% oferta al mercado extranjero, la SFDA ha aprobado 1.600 genéricos en 2002, 6.100 en 2003 y más de 8.000 entre el 2004 y 2005. (Bumpas & Betsch, 2009)

Las debilidades para aumentar su mercado global se encuentran en:

1. Alto nivel de intervención del Estado, donde el gobierno indica las condiciones de trabajo a las cuales las empresas se deben ceñir. (p.e. 6 meses antes de los olímpicos de 2009, el gobierno restringió las cantidades de aguas residuales producidas por las empresas manufactureras, con el fin de tener un ambiente limpio para las justas, lo que llevó un desabastecimiento y aumento en los precios mundiales de ciertas materias primas). (Bumpas & Betsch, 2009)
2. Baja capacidad tecnológica.
3. Bajo conocimiento en síntesis química, comparado con India.
4. El entorno institucional de apoyo a derechos de propiedad intelectual no está alineado con las reformas a las leyes de patentes de productos.
5. Las alianzas de I&D entre las empresas multinacionales se encuentran en una etapa incipiente, por lo tanto hay necesidad de una mejor traducción de procesos entre los centros académicos y de la industria.
6. El comprador tiene dificultades para ver todo el proceso desde la fabricación hasta su distribución.
7. Las regulaciones ambientales son muy laxas, esto se evidencia por demandas interpuestas a varias empresas farmacéuticas por intoxicación con residuos (Kahn, 2003) sin embargo, se ha evolucionado frente a la exigencia mundial por la preservación del medio ambiente.
8. El lenguaje es una barrera de comunicación.
9. Posee una industria próspera para el medicamento falsificado, donde las entidades regulatorias SFDA ponen en funcionamiento en el 2008, un sistema de seguimiento electrónico, con el fin de que en el 2009, todos los productos farmacéuticos y biológicos vendidos en China sean marcados con etiquetas de su código de barras (Bumpas & Betsch, 2009)

Ahora bien, revisiones recientes del 2011, indican que las diez principales industrias farmacéuticas que venden en China, generaron más de US \$ 20 mil millones en ventas y sus tasas de crecimiento entre un 15 -32% (Shobert, 2012), pero dicho crecimiento se está viendo afectado por cambios en sus políticas internas (porque durante casi 20 años, estos medicamentos se han beneficiado de un precio especial en el marco de un acuerdo entre el gobierno chino y la industria farmacéutica), debido a que se está implantando la reducción de precios de aproximadamente 100 medicamentos, mediante la modalidad de licitaciones públicas, donde inicia la competencia con la industria nacional, lo cual ha logrado la reducción de precios en algunos medicamentos hasta en un 90%, siendo esto ventajoso para la población China y desventajoso para las multinaciones, razón por la cual la única forma de competir es por medio del manejo de volúmenes en producción.

China, no solamente se ha enfocado en la producción de la amoxicilina como materia prima (con crecimiento anual del 20-30%) (Li *et al.*, 2010) y como producto terminado, sino también con los precursores de los antibióticos β -lactámicos, como es el caso: El 6-APA, se ha estimulado su producción a razón del aumento en las ventas de principios activos, mostrando datos desde el 2000 con una producción de 1,921.5 tn que aumentaron un 42,4% en el 2001 a 2,736.4 tn, y en el primer trimestre de 2002 la producción fue 751,6 tn con un aumento del 83,1% en comparación con el mismo período del año anterior (Li, et al., 2010). Otro caso es el PHFG, siendo otro intermediario utilizado principalmente para la síntesis de antibióticos β -lactámicos, tales como la amoxicilina, hidroxibencil cefalosporinas, clorobenceno cefalosporinas, cefoperazona, cefalosporinas, hidroxilamina cefalosporinas, cefaclor, cefradina, etc. y su demanda en 1999, fue de 80.000 toneladas, siendo sus principales consumidores Corea del Sur, Suecia, India y Alemania; dicho intermediario ha incrementado su demanda interna, debido a la producción de amoxicilina que ha aumentado rápidamente.

En la actualidad, las sales penicilínicas representan 28.000 toneladas de producción por fermentación, representando un 60% de la cuota de mercado mundial. (Li, et al., 2010), sin dejar de lado las ventas del 7-ADCA que fueron 589 tn en 2004, 800 tn en 2005, 1.000 tn en 2006 y 1.500 tn en 2007; recientemente la producción superó las 4000 tn y será más de 5000 tn, con el lanzamiento de las nuevas líneas de producción del Grupo farmacéutico Lunan y otras empresas de producción farmacéutica.(Li, et al., 2010).

7.2.2. Análisis del mercado: Caso India

En el 2003, India exportó el 40% de los medicamentos y el 60% de la materia prima del total de las exportaciones, donde el 44% fue a mercados altamente regulados como: EE.UU, Europa, Japón y Australia, y el restante 56% fue a los mercados "menos regulados", categoría que se aplica a todos los países en desarrollo. (Grace, 2004)

La industria India, ha progresado a través de la escala de valor añadido de la producción de productos farmacéuticos como resultado de sus políticas nacionales como la búsqueda de la excelencia científica a bajo costo y la amplia demanda nacional de productos farmacéuticos, permitiendo la viabilidad económica para escalar en la producción de materia prima.

Las empresas multinacionales se sienten atraídas para trabajar con empresas de la India (Grace, 2004) por:

1. Mejoramiento de procesos: aproximadamente 122.000 químicos e ingenieros químicos se gradúan anualmente, enfocados en la re-ingeniería, los cuales pueden rediseñar los procesos de fabricación de los productos ya comercializados o para la fabricación de principios activos o productos intermedios, cumpliendo con las normas de calidad internacional.
2. Propiedad intelectual: Se generó el cambio en la reglamentación de la propiedad intelectual, con el fin de proteger todos los desarrollos científicos y tecnológicos, puesto que pasa de 7 años en 1974 a 20 años de protección en el 2005.
3. Mercado potencial interno: El gran tamaño del mercado interno es atractivo puesto que el 30% de un total de 1.247'.000.000 de habitantes en el 2004, pueden pagar relativamente los costosos medicamentos.
4. Los costos fijos de los activos, donde la construcción de una nueva planta de producción farmacéutica que cumpla con las normas internacionales es cuatro veces más económica que construirla en EEUU (de US\$ 8 -12 por pie cuadrado en India frente a US\$ 75 en EEUU), también esto va relacionado con los costos de los equipos y materiales.
5. Mano de obra barata: Donde la relación de salarios de analistas de laboratorio (Indios) es ocho veces más económico que en EEUU, a nivel científico la relación es tres veces menos más económico que en EEUU y los empleados de la planta costarán US \$ 120 - \$ 150 por mes.
6. Costos de los estudios clínicos: Hay grandes poblaciones de pacientes sin tratamientos previos, lo que facilita la contratación para grandes estudios clínicos y los costos por paciente son 10 veces más económicos que EEUU

7. Costo de la fuerza de ventas: El salario promedio de un representante de ventas con todos los beneficios está en US\$ 4.000/año.

En India, tienen segmentado el mercado en (2) grupos para la fabricación de sus productos farmacéuticos: el primer grupo consiste en la elaboración del ingrediente activo, el cual corresponde a una producción de elevado desarrollo tecnológico, que demanda exigentes procesos bioquímicos de síntesis y/o fermentaciones, que constituye un gran porcentaje del costo en el producto final; de ahí que sean altos volúmenes de fabricación, puesto que el margen de ganancia esta en un 3%(Grace, 2004).

Este grupo creció un 8.2% en materias primas especiales en el 2004, vendiendo un 41% del mercado total, mientras que los genéricos crecieron un 10.9% vendiendo un 43,5% del mercado total y su venta fue 42% para América del norte, 19% para Europa occidental y el 21 % para las empresas asiáticas(Grace, 2004); el segundo grupo consiste en la formulación del medicamento donde se realizan las mezclas de los ingredientes activos con los excipientes para una formulación determinada, requiriendo personal capacitado para las formulaciones y equipos de manufactura especiales, este grupo tiene un mayor margen de ganancia representado en un 20 -30%(Grace, 2004).

Las exportaciones farmacéuticas de la India crecieron de \$ 1.9 millones en 1999 a \$ 5,2 mil millones en 2005 y representan aproximadamente el 40% de la producción total de la industria y casi el 30% de sus ingresos.(Greene, 2007)

La Industria farmacéutica India tiene la visión de tener un crecimiento sólido a largo plazo; actualmente ocupa el lugar 14 en el *ranking* mundial, con unas ventas de aproximadamente US \$19 billones en marzo 2009. Sin embargo, Price Waterhouse Coopers estima que crecerá aproximadamente a US \$ 50 billones en 2020 y estará en los 10 mercados de la industria farmacéutica mundial para este mismo año. A continuación se relacionan las principales industria indias según valores en ventas (Friend & Shetty, 2010); (Greene, 2007):

- | | |
|------------------------|---|
| 1. Cipla | US \$ 510 millones / año (antibióticos) |
| 2. Aurobindo | US \$ 477 millones / año (antibióticos) |
| 3. Sun Pharmaceuticals | US \$ 449 millones / año |
| 4. Piramal Healthcare | US \$ 428 millones / año |
| 5. Ranbaxy (Daiichi) | US \$ 368 millones / año |
| 6. Cadila Healthcare | US \$ 357 millones / año (antibióticos) |
| 7. Lupin | US \$ 286 millones / año |
| 8. Dr. Reddy's Lab. | US \$ 232 millones / año |

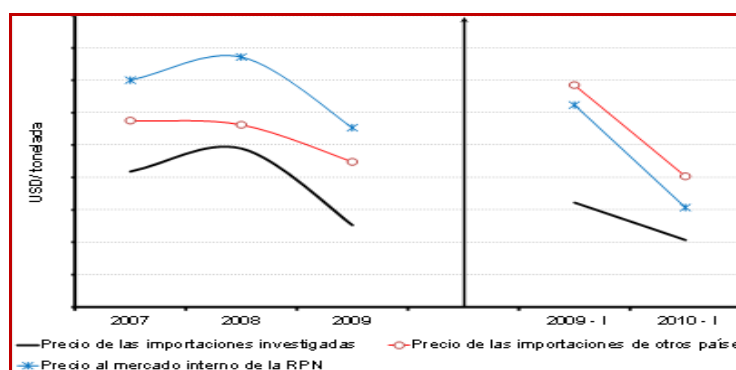
7.2.3. Análisis del mercado: Caso México

Está ubicado como el (4°) país que tiene una producción de antibióticos penicilínicos suficiente para satisfacer su consumo interno y la capacidad de exportar sus excedentes (241 tn), después de China (1399 tn), España (700 tn) e India (513 tn), según la INTRACEN²² (estadística de países que tienen una balanza comercial positiva de penicilina y sus derivados).

La empresa mas representativa es DSM/Fersinsa la cual fue creada en el año 2007, de la fusión entre Fersinsa Gist-brocades y DSM Royal Dutch, posee planta de fermentación y síntesis en Coahuila, posee certificaciones por la FDA, Industria limpia, ISO-14001, reconocida en Colombia por sus estándares de calidad y actualmente es protegida su producción debido a que salió favorecida su solicitud en el 2012 la investigación antidumping²³ y antisubvención²⁴ sobre las importaciones de amoxicilina trihidrato originarias de China e India, en la Gráfica 7 – 26, se observa un comparativo en los valores locales con respecto a los precios internacionales, donde se evidencia que el precio del producto importado es mucho mas bajo que el interno (Garcia de Alba, 2012), reflejado en una disminución de las ventas(2009 – 2010) en el mercado interno y externo, y por ende en la producción nacional mexicana.

GRÁFICA 7 - 26 : Precios nacionales y de las importaciones investigadas aportados por Fersinsa y SIC.

Fuente: SIC (Sistema de Información Comercial de México)



²² INTRACEN, centro de comercio internacional (www.intracen.org), entidad encargada de impulsar el desarrollo económico sostenible de los países en desarrollo y países con economías de transición a través del comercio y el desarrollo de negocios internacionales.

²³ Dumping, considerado como una práctica proteccionista del comercio internacional ante la industria local, permitiendo en muchos casos que las economías locales puedan mantenerse firmes ante eventuales crisis internacionales.

²⁴ Subvención, Práctica de contribución financiera de un gobierno u organismo público a una entidad comercial de un país, haciendo que los costos internos de sus producto sean inferiores, donde dichos productos no pueden ser exportados.

7.2.4. Análisis del mercado: Caso Brasil

Es uno de los países suramericanos que presenta mayor desarrollo económico en la región, que al compararlo con los demás países del BRICS²⁵ (Brasil, Rusia, India, China y Surafrica) es el de menor crecimiento (China 10.6%, India 8.8%, Rusia 8.5% y Brasil 5,8%) (Hasenclever & Paranhos, 2009)

Brasil forma parte de los "mercados farmacéuticos emergentes", mostrando un buen potencial para el futuro crecimiento de los productos farmacéuticos siendo algunos de los factores que apoyan el crecimiento de la economía del país, las nuevas políticas de desarrollo y surgimiento de nuevas clases sociales; en cuanto a la producción de química fina hay una tendencia para el consumo de la amoxicilina y la ampicilina, representado en ventas en el 2009 por más de US \$46 millones/año representadas en 6.000 millones de unidades. Este país ha presentado un déficit de US \$ 3 y 35 millones /año de ampicilina y amoxicilina respectivamente, lo que hace que dicho mercado sea atractivo puesto que actualmente el mercado farmacéutico mundial continúa mostrando un crecimiento promedio anual del 7%, pero América latina ha crecido entre un 14-15%, haciendo que Brasil juegue un papel importante en la región, debido a la gran demanda de ampicilina y amoxicilina que va a representar.

7.2.5. Análisis del mercado: Contexto Nacional

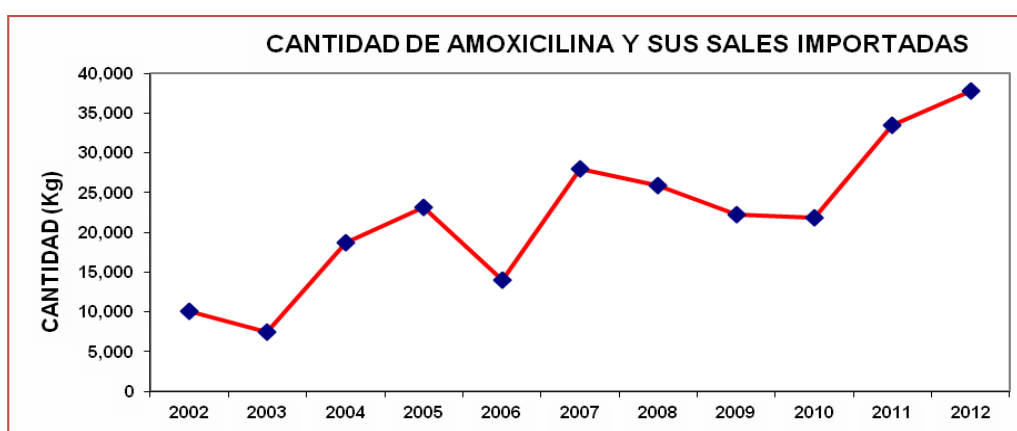
Teniendo en cuenta el Plan Nacional de Desarrollo (PND) 2010 – 2014, el cual plantea garantizar una tasa de crecimiento sostenible y competitividad del país, basado en la innovación, en la política de competitividad y de mejoramiento de la productividad y la dinamización de sectores que a través de su impacto directo e indirecto lideren el crecimiento y la generación de empleo (planeación, 2011), la innovación bien direccionada en un mundo globalizado genera crecimiento económico, puesto que aumenta la productividad en los sectores como la industria farmacéutica; por lo tanto, el gobierno implementará una nueva generación de reformas regulatorias que van encaminadas a: (1) simplificar los trámites ligados a la producción y exportación de alimentos y medicamentos, fortaleciendo al ICA e INVIMA frente a los procesos de vigilancia y control(planeación, 2011), (2) promover la asociatividad frente al desarrollo de proveedores con el fin de sustituir gradualmente las importaciones.

²⁵ **BRICS**, constituye el grupo de países más adelantados entre los estados con economías emergentes, creado desde el 2008 y conformado por Sudáfrica en el 2011 en representación del continente africano, estas 5 naciones tienen en común una gran población, grandes extensiones de territorio, una elevada cantidad de recursos naturales y una fuerte presencia en la economía internacional, con crecimientos importantes de sus PIBs, que los hacen especialmente atractivos como destinos de inversión. Estos cinco países reúnen al 43 por ciento de la población mundial y acumulan el 25 por ciento de la riqueza, generando el 56 por ciento del crecimiento económico registrado en el mundo en los últimos años. (fuente: Ministerio de Asuntos Exteriores y de Cooperación, Gobierno de España, 2013)

7.2.5.1. Materia Prima

Con el fin de ligar el presente informe de vigilancia con el PND, es necesario conocer el mercado de la amoxicilina como materia prima en Colombia, para lo cual se ha evidenciado una tendencia en el aumento de las importaciones, que han pasado de 10,125 kg en el año 2002 a 37,750 kg en el año 2012, presentando un aumento del 26,82% en el periodo, lo cual demuestra que el mercado nacional requiere esta materia prima para suplir las necesidades de la población colombiana. (Turismo, 2002-2012) Gráfica 7 – 27.

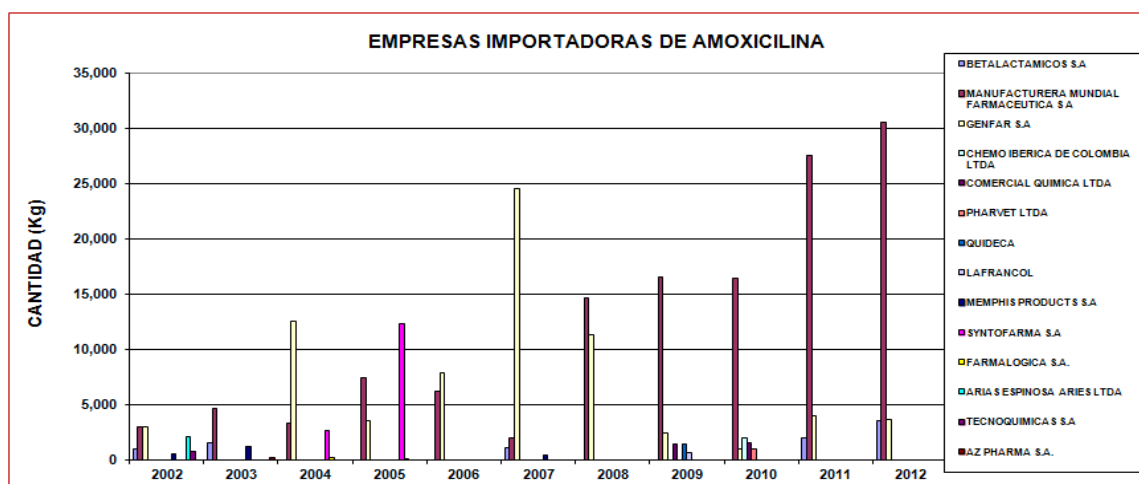
GRÁFICA 7 - 27 : Importaciones colombianas de amoxicilina como materia prima. Fuente:(Turismo, 2002-2012), Datos obtenidos de motores de búsqueda en la base datos Bacexcp, 2013.



Una vez conocidas las cantidades importadas, es necesario conocer cuáles son las empresas colombianas que compran dicha materia prima en el periodo analizado 2002 - 2012, evidenciando que existen (2) empresas que manejan el 84,7% del total de las importaciones, siendo la empresa líder Manufacturera Mundial Farmacéutica S.A. (filial de Laboratorios La Santé), la cual ha manejado el 54.4% del total de las importaciones y presenta un incremento del 36%, debido a que pasa de manejar en el 2002 la cantidad de 2,950 a 30,550 kg en el 2012; la razón se debe a su posición estratégica, puesto que se encuentra ubicada en la zona franca de Bogotá. Seguida por Laboratorios Genfar S.A. la cual maneja el 30.3% del total de las importaciones y presentó un incremento del 31%, debido a que pasó de manejar en el 2002 2,950 a 24,500 kg en el 2007 aunque presenta un decrecimiento del 19% en el 2012 llegando a manejar 3,650 kg, ver Gráfica 7 – 28.

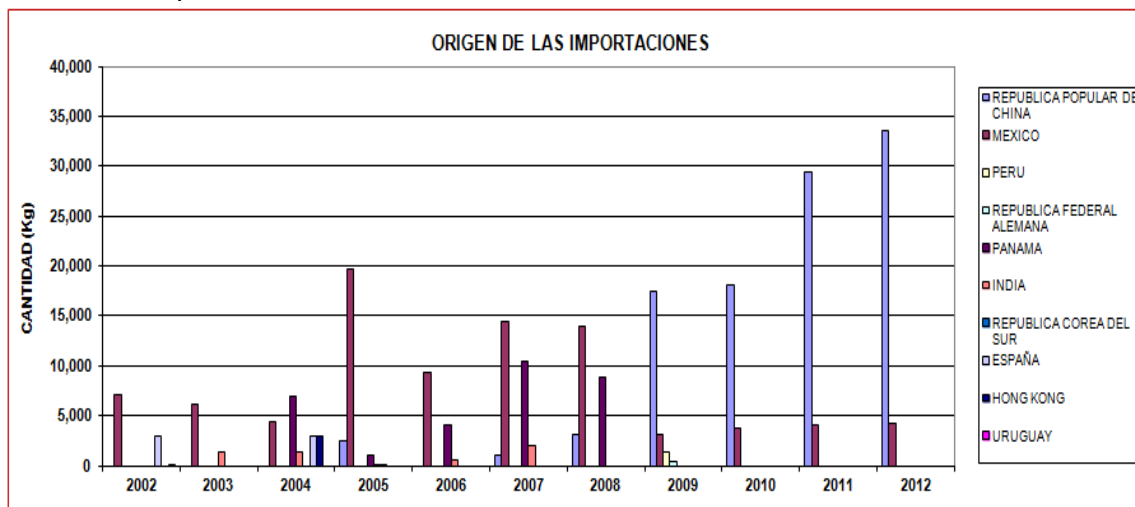
GRÁFICA 7 - 28 : Empresas importadoras nacionales de amoxicilina como materia prima.

Fuente: (Turismo, 2002-2012), Datos obtenidos de motores de búsqueda en la base datos Bacexcp, 2013.



Por otra parte es fundamental analizar el país de origen de dichas importaciones, para tal efecto en la Gráfica 7 – 29, se evidencia que el 77% del total de las mismas se encuentran centralizadas en (2) países como México (42%) y la República Popular de China (35%), cabe aclarar que aunque México presentó un incremento del 33% desde el 2002 de pasar de 7,150 a 19,675 kg en el 2005, pero desde ese año ha presentado un decrecimiento del 42%, llegando a manejar 4,250 kg en el 2012. Situación diferente ha ocurrido con La Republica Popular de China debido a que sus importaciones han pasado de 2,502 kg en el 2005 a 33,500 kg en el 2012, lo anterior se debe a que los precios ofrecidos por las empresas China e India son menores a los mexicanos, debido a los múltiples beneficios fiscales en programas de subsidios, provisión gubernamental de bienes y servicios públicos a precios por debajo del mercado y programas de políticas de financiamiento; este fenómeno ha afectado al mismo México, puesto que la empresa Fersinsa Gist-Brocades solicitó una investigación por prácticas desleales de comercio internacional en sus modalidades de discriminación de precios y de subvenciones, en contra de las importaciones de amoxicilina trihidrato originarias de China e India el 20/08/10 y dicho fallo se dio el 27/11/12; (Garcia de Alba, 2012), además, se evidenció que la producción de los antibióticos de tipo penicilínico es en mayor proporción en la República Popular de China, mientras que la producción de los antibióticos de tipo cefalosporínicos es en mayor proporción en India. (González, 2012).

GRÁFICA 7 - 29 : Origen de las importaciones de amoxicilina como materia prima
Fuente: (Turismo, 2002-2012), Datos obtenidos de motores de búsqueda en la base datos Bacexcp, 2013

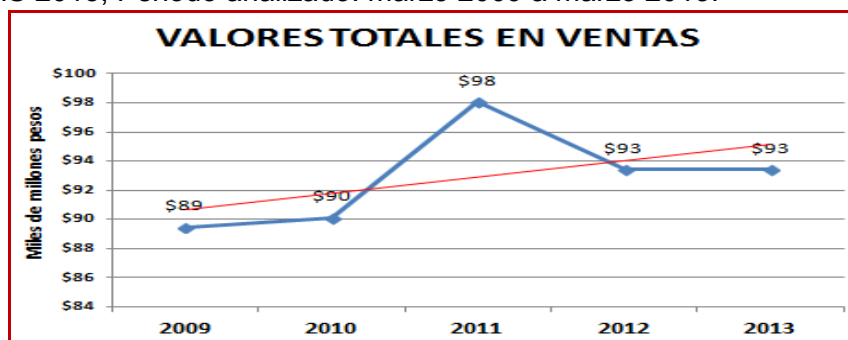


7.2.5.2. Producto Terminado

Las ventas de los medicamentos con el principio activo amoxicilina en Colombia de acuerdo con el (IMS, 2013)²⁶. En la gráfica 7 - 30, demuestra una tendencia positiva durante los años del muestreo (2009 – 2013), lo cual confirma que el presente trabajo posee una proyección a nivel Colombia sin embargo, los datos que reflejan las ventas a nivel de instituciones no se encuentran almacenadas en ninguna base de datos y por ende los valores dependen únicamente de cada empresa.

GRÁFICA 7 - 30 : Valores totales de las ventas nacionales de medicamentos con el principio activo amoxicilina.

Fuente: IMS 2013, Periodo analizado: marzo 2009 a marzo 2013.

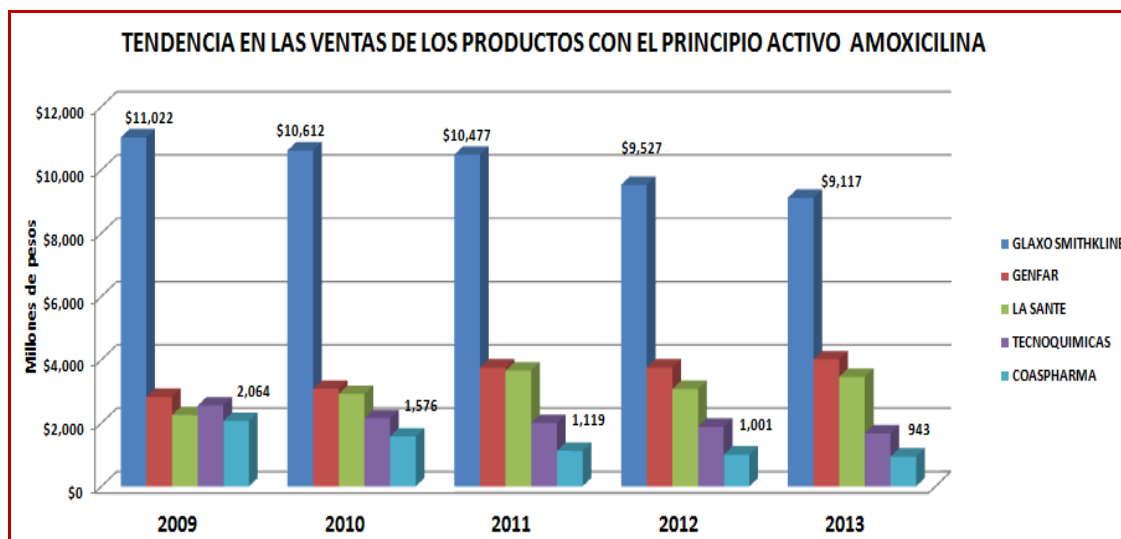


Al analizar la tendencia en las ventas según muestra la Gráfica 7 – 31, se observa que los principales actores nacionales son Genfar y La Santé, que al compararlos con la multinacional Glaxo SmithKline presentan un crecimiento global de sus empresas con un (8.16%) y (8.82%) respectivamente por otro lado, se presenta un decrecimiento de

²⁶ **IMS Colombia**, Firma que mediante auditorias periodicas ofrece información estadística certera para la medición de la distribución de medicamentos en el canal comercial (distribución en puntos de venta como droguerías, cadenas, etc. – gasto de bolsillo), pero que NO mide el Canal Institucional (distribución que se realiza a través del Sistema General de Seguridad Social en Salud - SGSSS). (Adaptado de www.afidro.org.co)

la empresa Tecnoquímicas (11.15%) y Coaspharma (22.44%), esto sustentado en que las empresas que importan directamente son las mejor posicionadas en dicho mercado, de esta situación se puede inferir que es necesario que la empresa Coaspharma importe directamente el activo, para mejorar su participación en el mercado (IMS, 2013).

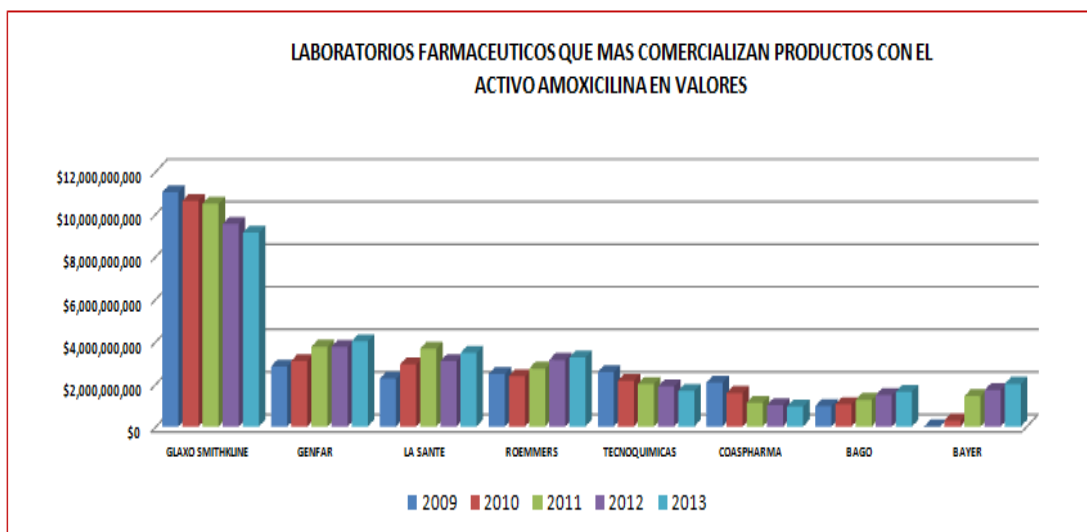
GRÁFICA 7 - 31 : Tendencia en las ventas de medicamentos con amoxicilina de los laboratorios más representativos.
(Fuente: IMS 2013, Periodo analizado: marzo 2009 a marzo 2013)



Como se evidenció en el ítem anterior existen laboratorios nacionales que importan la materia prima y la modifican para convertirla en producto terminado, ya sea en sus propias instalaciones como Manufacturera Mundial Farmacéutica (filial de laboratorios La Santé) ó en otras instalaciones (proceso denominado Maquila) como el caso de laboratorios Icofarma y Ophalac (ver anexo M) entre otros, es por esta razón que para robustecer el presente informe es necesario analizar las ventas nacionales de los medicamentos que tienen como principio activo la amoxicilina.

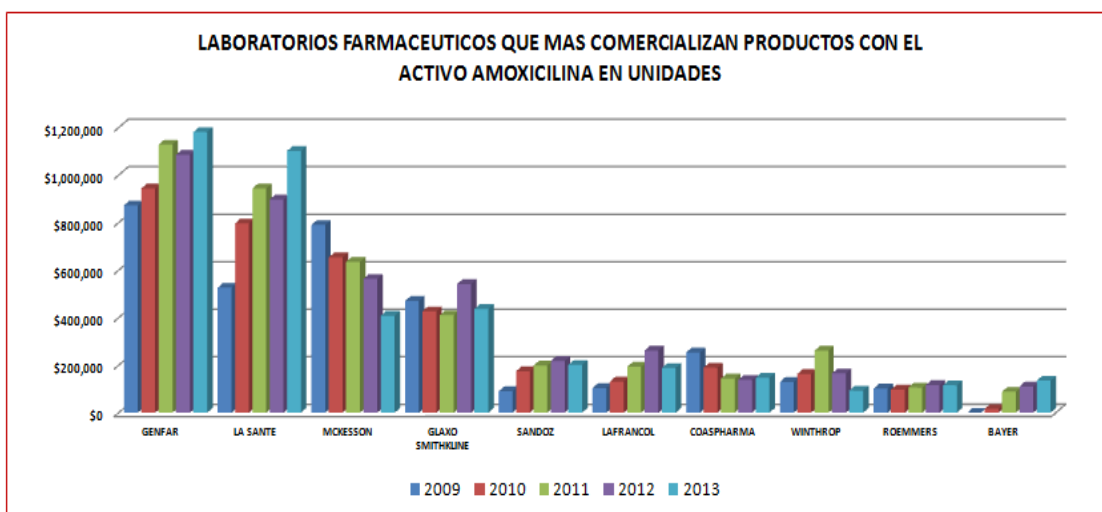
En la Gráfica 7 - 32, se evidencia que la empresa que más vende en Colombia en el periodo analizado, corresponde a laboratorios Glaxo SmithKline® (\$50.754'.601.218) con un porcentaje de 37,79% del total de las ventas, seguido por laboratorios Genfar® (\$17.427'.964.328) con un 12,98%, laboratorios La sante® (\$15.361'.901.570) con un 11,94% y laboratorios Roemmers® (industria Argentina) (\$13.935'.478.665) con un 10,38%, lo que demuestra que el mercado nacional es dominado por la multinacional Glaxo debido principalmente a que sus productos corresponden a marcas posicionadas como AMOXAL®, donde la forma farmacéutica más representativa en valores corresponde a los polvos para suspensión al 48,82% y las cápsulas en un 46,15%.

GRÁFICA 7 - 32 : Tendencia en las ventas de medicamentos con el principio activo amoxicilina en valores
(Fuente: IMS 2013, Periodo analizado: marzo 2009 a marzo 2013)



El comportamiento en valores es diferente a las unidades comerciales, como se puede observar en la Gráfica 7 – 33, el laboratorio que más comercializa unidades es laboratorios Genfar® (5´.210.966) con un porcentaje de 27,22% del total de unidades vendidas, seguido por laboratorios La Santé® (4´.264.833) con un 22,28%, laboratorios Mckesson® (3´.050.116) con un 15,94% y laboratorios Glaxo SmithKline® (2´.285.510) con un 11.94%, lo que demuestra que el mercado nacional es dominado por las empresas nacionales de ahí que estos valores estén relacionados con el alto consumo de materia prima importada.

GRÁFICA 7 - 33 : Laboratorios farmacéuticos que más comercializan medicamentos con amoxicilina en unidades.
(Fuente: IMS 2013, Periodo analizado: marzo 2009 a marzo 2013)



La situación actual de la empresa Coaspharma se encuentra ubicada en sexto lugar en ventas por \$6.702'.069.900 correspondiendo al 4.99%, y séptimo lugar en unidades 872.048 correspondiendo al 4.56%, lo cual demuestra que está entre las principales del país frente a este tipo de productos con dicho principio activo, siendo esta una razón más de la conveniencia en la realización de esta investigación, con el fin de posicionar este tipo de productos en el mercado tanto nacional como internacional.

7.2.5.3. Nuevos Desarrollos

Con la introducción de la amoxicilina en 1972, se fue incrementando la resistencia de algunas bacterias a estos antibióticos, tanto a nivel hospitalario como fuera del mismo, lo anterior por uso inadecuado del antibiótico, razones por las cuales se creó un grupo internacional llamado (APUA) en 1.981 de sus siglas en ingles de “the Alliance for the Prudent Use of Antibiotics”. Esto permitió que las entidades gubernamentales ayudaran a promover el uso adecuado de los antibióticos y para proteger su eficacia a largo plazo mediante la comunicación y la educación (Price, 2005). Además los investigadores para buscar la forma de mantener vigente el antibiótico, lo unen con un inhibidor de las enzimas que producían la inactivación de dicho compuesto, surgiendo la combinación de la amoxicilina y el ácido clavulánico (Demain & Elander, 1999), debido a que éste tiene la capacidad inhibitoria por tener una semejanza estructural que mantiene con las penicilinas y cefalosporinas. La acción de inhibición que ejerce es de tipo progresivo e irreversible y tiene una afinidad por las betalactamasas considerablemente mayor que la de los antibióticos betalactámicos, lo que constituye una propiedad esencial en un buen inhibidor suicida (Saglimbeni, 2002). Esta situación ha hecho que se tomen medidas por el Ministerio de Salud, como restringir su venta con fórmula médica, las cuales fueron tomadas bajo el proyecto de ley 85 de 2008, con el fin de disminuir la resistencia presentada a los antibióticos²⁷

Desde 1981 fue comercializado el primer medicamento con amoxicilina + ácido clavulánico “AUGMENTIN®” de Smith Kline Beecham, presentado unas ventas en 1995 por US \$ 1,3 mil millones y posteriormente fueron desarrolladas nuevas formulaciones como: ticarcilina + ácido clavulánico “TIMENTIN®”, ampicilina +

²⁷ La síntesis de un gran número de antibióticos en las últimas tres décadas ha generado la complacencia sobre la amenaza de la resistencia bacteriana, haciendo que las bacterias sean resistentes a los agentes antimicrobianos, como resultado de cambios cromosómicos o el intercambio de material genético a través de plásmidos y transposones, donde los hospitales y el amplio uso sin restricciones han impulsado esta crisis, haciendo de esta manera enfermedades comunes resistentes a prácticamente todos los antibióticos más antiguos. Mecanismos como los programas de control de antibióticos, una mejor higiene y la síntesis de nuevos antibióticos con mayor actividad antimicrobiana se deben adoptar con el fin de limitar la resistencia bacteriana. Neu, H. C. (1992). The Crisis in Antibiotic Resistance. *Science*, 257(5073), 1064-1073.

sulbactam “UNASYN®”, cefoperazona + sulbactam “SULPERAZONE®” y piperacilina + tazobactam “TAZOCIN®”, los cuales no han presentado resistencia. (Demain & Elander, 1999).

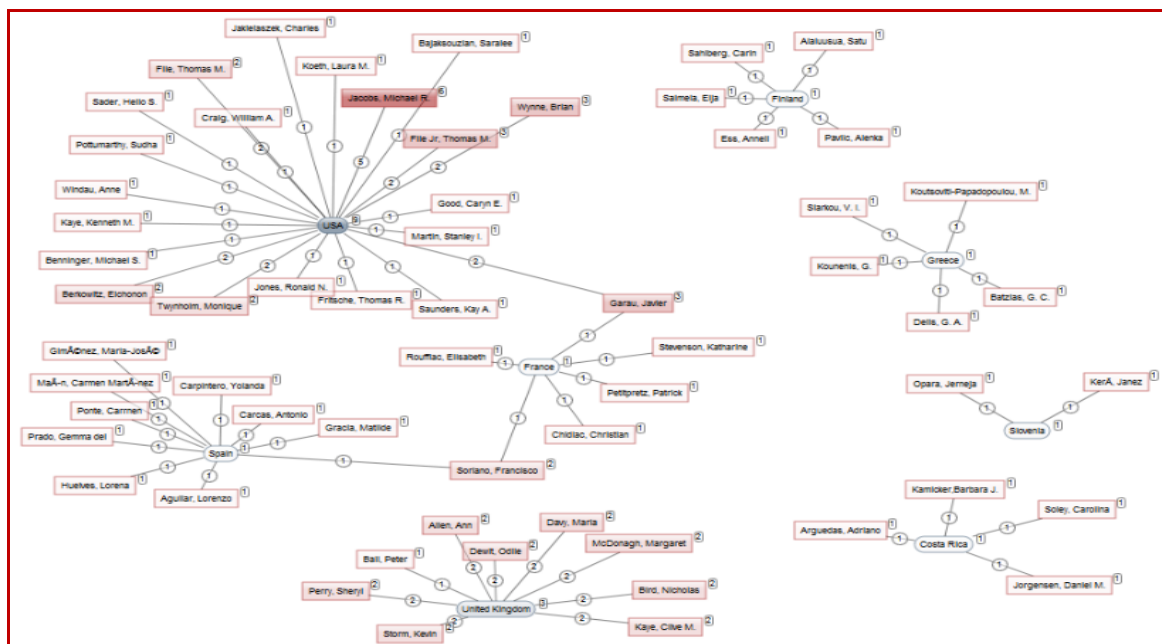
En Colombia hay radicados ante el INVIMA desde el 2005 varias marcas como: CLAVULIN®, CURAM® liderados por las multinacionales GlaxoSmithkline Colombia S.A y Novartis de Colombia S.A. respectivamente, Ahora bien, hay laboratorios que se han encargado de buscar mezclas como: Ampicilina + Sulbactam Sódico TRIFAMOX IBL® de Laboratorios BAGO de Colombia. Además se han desarrollado nuevas formas farmacéuticas y nuevas dosificaciones como las tabletas de Amoxal BD® 875 mg y Amoxal 1 g de la multinacional GlaxoSmithkline corporation USA, lo cual demuestra que el uso de la amoxicilina se está potenciando ya sea por la mezcla con otros fármacos, aumento de la concentración y por nuevas formas farmacéuticas (ver anexo N)

Cabe mencionar que la Organización Mundial de la Salud (OMS), ha incluido en su formulario para niños del 2010 en el caso de neumonías, mal nutrición severa, la mezcla amoxicilina + ácido clavulánico, ATC code: J01CR02, Oral liquid: 125 mg amoxicillin + 31.25 mg clavulanic acid/5 ml; 250 mg amoxicillin + 62.5 mg clavulanic acid/5 ml, Tablet: 500 mg + 125 mg.

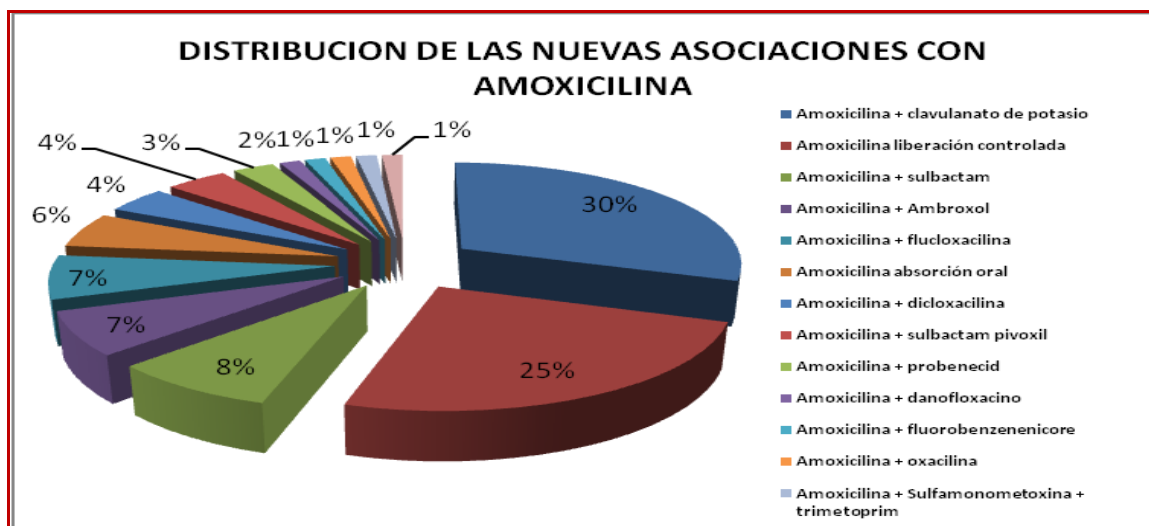
Si se realiza una revisión de artículos científicos de acuerdo a lo que muestra la Gráfica 7 -34, se evidencia la asociación amoxicilina + ácido clavulánico (Kaye *et al.*, 2001); (File *et al.*, 2005), encontrando una producción científica de 18 artículos analizados desde el 2000 al 2012, mostrando a Estados Unidos como el país que más investiga sobre este tema con el autor Jabos, Michael R. y la revista científica donde más se publica es el International Journal of Antimicrobial Agents.

En el proceso cuantitativo de la revisión de patentes se encontraron nuevas asociaciones que pueden marcar la tendencia en los futuros desarrollos de productos que tienen como principio activo la amoxicilina, donde la formulación mas investigada es amoxicilina + clavulanato de potasio con un 30% del total de las patentes, seguida por amoxicilina de liberación controlada con un 25%; sin embargo se encontraron asociaciones de la amoxicilina con diferentes principios activos como: ambroxol, flucoxacilina, dicloxacilina, sulbactam pivoxil, probenecid, danofloxacino, oxacilina, flurobenzenicore, sulfato de colisitina y prednisolona, ver Gráfica 7 - 35.

GRÁFICA 7 - 34 : Red asimétrica que relaciona país vs número de autores sobre amoxicilina combinado con ácido clavulánico.
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



GRÁFICA 7 - 35 : Distribución de las nuevas invenciones patentadas, frente a las nuevas asociaciones con amoxicilina.
(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



Ahora bien, si analizamos la forma farmacéutica más empleada para los nuevos desarrollos encontramos que son las formas sólidas con el fin de dar mayor estabilidad al principio activo, donde las tabletas poseen un mayor porcentaje de distribución en las nuevas formulaciones con un 53%, seguido por los polvos para inyección con un 18% y en menor proporción los polvos para suspensión vía oral con un 15%.

Frente a las nuevas formulaciones se encuentran desarrollos con respecto a nuevas formas farmacéuticas no comercializadas como tabletas de 500 y 1000 mg, debido a que el mercado global usa cápsulas con estos mismos gramajes, igualmente el activo usado para este tipo de formas es la polvo y no la trihidrato, lo anterior es porque dentro de la cápsula es fácilmente entregable el activo para ser biodisponible de forma no compactada, razón por la cual se busca que la disminución en costos al trabajar con activos de compresión directa (Pasqualoto, Funck, da silva, & Kratz, 2005).

7.3. FCV - Características de la materia prima

La materia prima suministrada por los diferentes proveedores puede variar en su naturaleza, en la fuente de obtención (síntesis química o enzimática), en las condiciones de almacenamiento y dispensación, en su transporte y manejo, ocasionando una gran diferencia en sus características físicas, químicas, microbiológicas y farmacotécnicas, las cuales deben estar en los límites permitidos según la farmacopea adoptada.

En Colombia, se presentan problemas complejos relacionados con la ausencia de especificaciones farmacotécnicas de las materias primas, debido principalmente a que cada empresa debe definir sus propias especificaciones porque son diferentes los equipos (según su tecnología), la falta de un control adecuado de lo importado, la no existencia de un centro de patrones de referencia y que las especificaciones exigidas para dicho principio activo no contemple información farmacotécnica completa.

Actualmente, la industria farmacéutica ha evolucionado para poder estandarizar sus procesos implementado pruebas organolépticas como apariencia, color y olor, análisis rutinarios de control de calidad como pH, identidad, pureza, tamaño, solubilidad, tamaño y distribución de tamaño de partícula, fluidez, densidad aparente y apisonada (Rios, 2001)

La problemática que presenta Coaspharma, corresponde a la diferencia de calidades de materia prima, lo cual afecta de manera directa los procesos de fabricación de antibióticos, en sus operaciones de: mezcla, compresión, encapsulado y envasado de polvos para suspensión, debido a problemas de uniformidad de contenido, fluidez, laminado de tabletas, rebose de producto en las cápsulas, etc., razón por la cual se ha retomado la aprobación o no para proceso de una materia prima que cumpla con las especificaciones farmacotécnicas internas establecidas, como tamaño y distribución de tamaño de partícula (retención por malla 20, 40, 80, 200), fluidez (ángulo de reposo), densidad aparente y apisonada, con esto quedaría resuelto el

problema en planta, generando una problemática cuando se decide generar un rechazo al proveedor de la materia prima, debido a que cumple con las especificaciones de la farmacopea americana 26, lo cual se está solucionando con una estrategia denominada “desarrollo de proveedor”.

7.3.1. Presentacion Comercial

La amoxicilina trihidrato se presenta como un polvo cristalino casi blanco, ligeramente soluble en agua, metanol y alcohol, e insoluble en hexano, benceno, acetato de etilo y acetonitrilo (Budavari, 1996), se utiliza para la fabricación de medicamentos y la farmacopea de cada país establece sus especificaciones de producción, que deben coincidir con la Farmacopea Internacional emitida por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y su número de identificación CAS (Chemical Abstract Service) es el 61336-70-7 (Budavari, 1996).

En el Anexo M se muestran las 31 compañías nacionales que comercializan la amoxicilina en sus diferentes formas farmacéuticas: tabletas, cápsulas y polvo para suspensión, siendo esta última la mas comercializada, evidenciando un gran número de compañías que ofertan dicho principio activo, donde todas permanecen en el mercado mostrando su rentabilidad.

8. Conclusiones

1. La complejidad del proceso de vigilancia depende directamente de los factores críticos establecidos previamente, siendo un factor determinante en la profundidad de la investigación, donde se estableció que la producción, la situación comercial nacional e internacional y las características físicas y farmacotécnicas del antibiótico son los factores relevantes, encontrando que la información pertinente que resuelve los interrogantes más importantes fueron encontrada en mayor proporción con el metabuscador Polymeta, la base de datos científica de Science Direct y la base de datos de patentes Sipo.
2. Los costos de obtención de la sal potásica de penicilina G, son elevados por la magnitud de las instalaciones que se requieren para las fermentaciones, razón por la cual al enfocar el presente trabajo a una reacción enzimática se hace más viable sin embargo, los costos del principal precursor el ácido 6-aminopenicilánico (6-APA) son similares a los de la amoxicilina, inclusive con algunos proveedores son superados. Lo anterior se debe a que este intermediario no es comercializado en Colombia, o lo manejan los proveedores como barrera comercial para no sintetizar los antibióticos fuera de su país de origen. Por lo anterior se sugiere partir de la sal potásica de penicilina G para obtener amoxicilina, además porque es más fácil su consecución.
3. La reacción enzimática es mediada por el biocatalizador penicilin acilasa, que ha tomado gran importancia comercial por su intervención en diferentes procesos industriales, razón por la cual es uno de los temas más investigados y que presenta mayor desarrollo tecnológico en la actualidad, siendo el líder en investigación la multinacional DSM IP assets B.V que a su vez es uno de los mayores proveedores de antibióticos betalactámicos en el mundo.
4. Al realizar un análisis de los volúmenes de las importaciones de materia prima amoxicilina durante el periodo de análisis (2002 – 2012) ha presentado un crecimiento global del 26.8% y en los últimos 2 años su crecimiento promedio fue del 23%; además la monopolización en el abastecimiento, el control del precio internacional y las variaciones en la calidad de la materia prima por parte de las industrias productoras, hacen pensar que la posibilidad de crear una planta para la

fabricación de principios activos tipo antibióticos betalactámicos sea una alternativa para el desarrollo del país tanto en la generación de empleo como en el posicionamiento científico y tecnológico, aprovechando su posición geográfica y que a nivel de Suramérica ocurre el mismo fenómeno de importación.

5. Con el fin de desarrollar la presente investigación en Colombia, es necesario hacer alianzas estratégicas nacionales entre Colciencias, Universidad Nacional de Colombia y la industria farmacéutica nacional, con las instituciones de investigación Brasileñas (Universidad Federal de Ceará y la Universidad Federal de San Carlos), Indias (Laboratorio Nacional de Química) y Chinas (Universidad de Zhejiang), con el fin de optimizar la reacción enzimática de la amoxicilina a partir de la sal potásica de penicilina, para lo cual en un trabajo posterior es necesario iniciar con el desarrollo de ensayos a escala piloto que maneje fermentadores de bajo volumen, que puedan generar un posterior escalonamiento cuando los resultados sean favorables
6. Es posible promover desarrollos de nuevos productos con amoxicilina, los cuales se pueden realizar ya sea con el aumento en la concentración, con nuevas formas farmacéuticas no comercializadas y/o la combinación con otros activos tipo: clavulanato de potasio, ambroxol, flucoxacilina, dicloxacilina, sulbactam pivoxil, probenecid, danofloxacino, oxacilina, flurobenzenicore, sulfato de colisitina y prednisolona.
7. Los países que más aportan a la investigación de procesos en síntesis enzimática de amoxicilina son Brasil y China, los cuales están enfocados al desarrollo de la química fina con el fin de promover el crecimiento de su economía interna, mientras que países como Estados Unidos, Alemania, Reino Unido, Canadá, Australia y Francia, consideradas potencias científicas están enfocados en la búsqueda de tratamientos a enfermedades de alto impacto como cáncer, enfermedades del sistema nervioso central, del aparato circulatorio, virales y artritis, debido a que son afecciones comunes en dichos países y sus resultados son altamente comercializables.

A. Anexo: Herramientas de software para VT e IC

Basado de

PRINCIPALES HERRAMIENTAS DE SOFTWARE PARA VIGILANCIA TECNOLÓGICA					
NOMBRE	PLANEACION	BUSQUEDA	ANALISIS	INTELIGENCIA	DIFUSION
askOnce		++			
CI Spider	+	++	+		
Competitor-analysis.com		+	+		
Copernic 2001 Basic		+++			
Denodo Soluciones	+	+++			++
DigOut4U	++	+++	+		+
Elementary Watson	+	++	+		+
Find Agent		++	++		++
GoldFire	+	++++	++		+
Hoovers Online	+	+++			
Inight Star	++	+++			
Knowledge Works	++++	++++	++	++++	++
Knowledgist		+++	++		+
Matheo Analyzer		+++	++		+
MindModel		+	++		
Online miner		+++	++		
OpenPortal4U	+	+++	++	++	++
Plumtree Software	++	++++			+
Seekip.com	+	++++			+
Sernio Software	+	++++	+		
Sonar Professional		++++	+		+
Strategic Finder	++	++++	+		+
Tetralogic		+	++		+
TextAnalyst			++		
WebFerret	+	++	+		
WebSeeker	+	++++			+
Wincite	+	+++	+	+++	++
WatchSite	+	++			
WebQL			++		
Xcize		+	+		++

TIPO DE APOYO: (+)Muy poco, (++)Poco, (+++)Bueno, (++++)Fuerte

B. Anexo: Ficha de necesidades

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene. 1990 a Sep.2012)

FICHA DE NECESIDADES					
PORQUÉ VIGILAR?	Identificar y evaluar las nuevas tendencias en tecnologías para la producción de materia prima amoxicilina			TABLA DE PRIORIZACIÓN	
PARA QUÉ VIGILAR?	Formular nuevos medicamentos que tengan como base el principio activo "amoxicilina"			Muy importante	1
	Investigar cómo es el mercado en Colombia del principio activo "amoxicilina"			importante	2
	Investigar cuáles son los productores del principio activo "amoxicilina"			medianamente importante	3
	Plantear oportunidades de producción de "amoxicilina" en Colombia.			Para evaluar	4
	Proponer estrategias para abastecer al país del principio activo "amoxicilina"			Es necesario conocerlo	5
KIT - FCV	KIQ - PCV	DESCRIPTOR	RESTRICTOR	FUENTES PRELIMINARES	PRIORIDAD
PRODUCCIÓN DEL ANTIBIÓTICO	Esto ya se hizo en Colombia?	production Colombia of amoxicillin	Desde el año 2000 en Colombia	Entrevistas con especialistas del tema a nivel farmacéutico Profesora Luisa Fernanda Ponce D'Leon y Profesora Sonia Ospina	5
	Quién lo realizó?	colombian manufacturing company amoxicillin	Desde el año 2000 en Colombia		5
	Porqué ya NO lo hace?	problems for the manufacture of amoxicillin in Colombia	Desde el año 2000 en Colombia		5
	En el país quién fabrica mp para producción farmaceutica?	colombian manufacturing company amoxicillin	Desde el año 2000 en Colombia	Evento de la cámara Colombiaindia	1
	Hay en Colombia este tipo de metodologías desarrolladas para síntesis enzimática?	Technology enzymatic in Colombia	Desde el año 2000 en Colombia	www.invima.gov.co y www.ica.gov.co; IBUN	4
	Cuáles son los requisitos legales para fabricar la A en Colombia?	normatividad colombiana para fabricar materias primas y/o principios activos	Desde el año 2000 en Colombia	www.invima.gov.co y www.ica.gov.co	1
	Cuáles son las Implicaciones sanitarias para fabricar la amoxicilina en Colombia?			www.invima.gov.co y www.ica.gov.co	2
	Que se hacen con los residuos? Como es la disposición final de residuos?	normatividad colombiana para el manejo de desechos	Desde el año 2000 en Colombia	Icontec	1
	Qué métodos se utilizan para producir la amoxicilina?	Amoxicillin methods production	Desde el año 1990	Enzyme and Microbial technology Process Biochemistry Journal of Fermentation and Bioengineering Journal of Biotechnology Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic Current Opinion in biotechnology	1

Anexo B. (Continuación)

KIT - FCV	KIQ - PCV	DESCRIPTOR	RESTRICTOR	FUENTES PRELIMINARES	PRIORIDAD
PRODUCCIÓN DEL ANTIBIÓTICO	La amoxicilina tiene patente en Colombia y en el mundo? O ya se venció?	Colombia amoxicillin patents	Desde el año 1990	Patentstorm - Patent 3980637 Issued on September 14, 1976. United States Patent, 6.110.69, 2000	1
	Cómo se obtienen los precursores y los otros antibióticos de la misma categoría?	methods of taking 6-APA, PGA, ampicillin, cephalosporin.	Desde el año 1990	Enzyme and Microbial Technology Process Biochemistry Journal of Fermentation and Bioengineering Journal of Biotechnology Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic Current Opinion in Biotechnology	2
	Como son las reacciones químicas ó enzimáticas?	chemical or enzymatic reactions for amoxicillin	Desde el año 1990	Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic Current Opinion in Biotechnology	3
ANÁLISIS DE MERCADO	Qué países y empresas la fabrican?	countries that make amoxicillin	Desde el año 2000 en el mundo	Min de comercio, industria y turismo(DANE) www.chemweek.com	1
	Qué países y empresas la comercializan?	amoxicillin trading countries	Desde el año 2000 en el mundo	Min de comercio, industria y turismo(DANE) www.chemweek.com	1
	Precio de compra?	Cotizaciones por kg de mp	En Coaspharma	Base de datos COASPHARMA, desde 1990, muestra la tendencia por 11 años	1
	Cuánto se vende de amoxicilina en Colombia?	Ventas de A como M/S en Colombia	Información del IMS	Consulta IMS	1
	Cuánto se exporta de M/S con amoxicilina?	Exportaciones de antibióticos betalactámicos en Colombia	Desde el año 2000 en Colombia	Consulta IMS	1
	Hacia que países se exporta los productos terminados con amoxicilina?		Desde el año 2000 en los países vecinos	Ministerio de Comercio, Industria y Turismo(DANE) www.chemweek.com	1
	Qué laboratorios farmacéuticos colombianos compran la amoxicilina? y en que cantidades?	Empresas colombianas que producen m/s betalactámicos	Desde el año 2000 en Colombia	Ministerio de Comercio, Industria y Turismo(DANE) www.chemweek.com	1
	Cuanto importa Colombia de los antibióticos betalactámicos?	importaciones de materia prima en Colombia	Desde el año 2000 en Colombia	Ministerio de Comercio, Industria y Turismo(DANE) www.chemweek.com	1
CARACTERÍSTICAS DE LA MATERIA PRIMA	Qué características FQ y MB debe tener la mp	specifications of amoxicillin as a raw material	En coaspharma	Base de datos COASPHARMA, desde 1990, muestra la tendencia por 11 años	3
	Con qué características llega la mp a Colombia?	Características fisicoquímicas, microbiológicas y farmacotécnicas.	En coaspharma	Base de datos COASPHARMA, desde 1990, muestra la tendencia por 11 años	3
	Pre-compactada? Polvo?	Farmacotecnia evaluation of amoxicillin as a raw material	En coaspharma	Base de datos COASPHARMA, desde 1990, muestra la tendencia por 11 años	3
	Bioequivalencia entre las diferentes A?	Bioequivalence studies of amoxicillin	Desde el año 2000 en Colombia	Tesis Universidad Nacional de Colombia	4

C. Anexo: Ficha técnica de las herramientas de búsqueda y procesamiento de la información

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene. 1990 a Sep.2012)

BUSCADORES DE INFORMACIÓN ESTRUCTURADA				
PLATAFORMA	UTILIDAD PARA EL INFORME	PLATAFORMA	INTERFAZ	PAGINA WEB
SCIENCE DIRECT 1995 - 2012	Base de datos en línea que ofrece información académica revisada por pares, en texto completo, en las siguientes áreas del conocimiento: Ciencias Físicas y de Ingeniería, Ciencias de la Vida , Ciencias de la Salud y Ciencias Sociales y Humanas.	Elsevier B.V.	Web - on line acceso restrictivo	http://www.sciencedirect.com/
SPRINGER-JOURNAL 1995 - 2012	Base de datos en línea, que ofrece información académica relevante en texto completo de diferentes áreas del conocimiento. La información está organizada en 23 áreas temáticas, parte de los artículos que se publican tienen como autores premios nobel (150) así como científicos renombrados.	Springer	Web - on line acceso restrictivo	http://www.springer.com
EBRARY	Es un recurso electrónico que permite tener acceso a los contenidos de los libros de más de 200 editoriales académicas del mundo	Ebrary	Web - on line acceso restrictivo	http://www.e-brary.com
NATURE	Colección de revistas en línea en texto completo de diferentes áreas del conocimiento. Las publicaciones son producidas por las sociedades científicas de diferentes áreas del conocimiento. Las publicaciones tienen con un alto factor de impacto.	nature.com	Web - on line acceso restrictivo	http://www.nature.com
Blackwell Sinergy	Base de datos que ofrece información en recursos continuos en el ámbito de las Ciencias Puras, las Humanidades y las Ciencias Sociales y las Ingenierías	Wiley Knowledge for Generations	Web - on line acceso restrictivo	http://onlinelibrary.wiley.com
General Science Full Text	Índice de 300 publicaciones desde 1984. Los resúmenes son escritos por profesionales con especialización en el área. Ofrece información académica como de difusión científica. Texto completo de 100 publicaciones desde 1995. Su contenido cubre disciplinas de las ciencias puras.	EBSCO HOST	Web - on line acceso restrictivo	http://www.ebscohost.com

Anexo C. (Continuación)

BUSCADORES DE PATENTES				
PLATAFORMA	UTILIDAD PARA EL INFORME	INTERFAZ	PAGINA WEB	
USPTO	Agencia de patentes y marcas de los Estados Unidos	Web - on line	http://www.uspto.gov/patents/process/search/	
KIPRISS	Oficina Coreana de Propiedad Intelectual	Web - on line	http://patent2.kipris.or.kr/pateng/searchLogina.do?next=GeneralSearch	
SIPO	Oficina estatal de propiedad intelectual de la República de China	Web - on line	http://english.sipo.gov.cn/index.html	
WIPO	Oficina Europea de patentes ofrece acceso gratuito a más de 70 millones de documentos de información sobre patentes en todo el mundo, que contiene aproximadamente inventos y desarrollos técnicos desde 1836 hasta la actualidad.	Web - on line	http://patentscope.wipo.int/search/en/result.jsf	
GOOGLE.COM	Es un buscador Google especializado en patentes, lanzado desde 2006, que realiza consultas dentro de los 7 millones de documentos oficiales procesados por la Oficina Estadounidense de Patentes y Marcas. las búsquedas se pueden realizar por número de patente, nombre del inventor y fecha de la petición de patente	Web - on line	www.google.es/patents/	
PROCESAMIENTO Y ANÁLISIS DE INFORMACIÓN - ANÁLISIS CIENCIOMÉTRICO				
PLATAFORMA	UTILIDAD PARA EL INFORME	LICENCIA	INTERFAZ	PAGINA WEB
MATHEO ANALYZER®	Software que permite explorar eficientemente grandes volúmenes de datos y convertirlos en información estratégica, facilita dar respuesta a los objetivos del estudio, tales como publicación científica, asociatividad entre autores, relaciones entre temáticas, etc...	IBUN	Web - on line acceso restrictivo	www.matheo-software.com/es/
MICROSOFT EXCEL®	Procesamiento de datos alfanuméricos, graficación de resultados, elaboración de tablas, etc...	USO PARTICULAR	Aplicación PC	N/A

D. Anexo: Bitácora de búsqueda "Información Estructurada"

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene. 1990 a Sep.2012)

SCIENCEDIRECT (Plataforma Elsevier B.V)			
FECHA	ECUACION DE BUSQUEDA	NUMERO DE ARTICULOS	PERTINENCIA
ENE / 2012	amoxicillin and production and process	2,544	0
ENE / 2012	amoxicillin and production and process and penicillin acylase	67	0
ENE / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin acylase	62	32
ENE / 2012	amoxicillin and production and process and penicillin acylase and not chromatography and reactors and batch	54	26
ENE / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa	37	22
ENE / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam antibiotics	4	2
ENE / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam ic antibiotics and immobilized enzyme	4	2
ENE / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam ic antibiotics and immobilized enzyme and penicillin amidase	4	2
ENE / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam ic antibiotics and immobilized enzyme and penicillin amidase and phenylglycinemethylester	3	2
ENE / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam ic antibiotics and immobilized enzyme and penicillin amidase and phenylglycinemethylester and pgme	1	1
			89

SPRINGER- JOURNAL (Plataforma Springer)			
FECHA	PALABRA CLAVE	NUMERO DE ARTICULOS	PERTINENCIA
ABR / 2012	amoxicillin and production and process	2,312	0
ABR / 2012	amoxicillin and production and process and penicillin acyls	57	8
ABR / 2012	amoxicillin and production and process and penicillin acylase not therapy not medicine not clinical	24	17
ABR / 2012	amoxicillin and production and process and penicillin acylase and not chromatography and reactors and batch	4	4
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and not chromatography and reactors and batch	4	4
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam antibiotics	20	15
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam ic antibiotics and immobilized enzyme	20	15
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam ic antibiotics and immobilized enzyme and penicillin amidase	20	14
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin acyls and 6 apa and lactamic antibiotics and immobilized enzyme and penicillin amidase and phenylglycinemethylester	1	1
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin acylase and 6 apa and lactamic antibiotics and immobilized enzyme and penicillin amidase and phenylglycinemethylester and pgme	2	2
			80

EBRARY			
FECHA	PALABRA CLAVE	NUMERO DE ARTICULOS	PERTINENCIA
ABR / 2012	BUSCA EN LOS LIBROS INSCRITOS, DE LOS CUALES SE DEBE BUSCAR UNO A UNO HACIENDO EL PROCESO MAS DIFICIL, MOSTRANDO AL FINAL DATOS CLINICOS CENTRADOS EN ENFERMEDADES, MEDICAMENTOS.	0	0
			0

Anexo D: (Continuación)

NATURE			
FECHA	PALABRA CLAVE	NUMERO DE ARTICULOS	PERTINENCIA
ABR / 2012	NO SE ENCONTRARON DATOS QUE PUEDAN SERVIR PARA LA INVESTIGACION, UNICAMENTE SE CENTRA EN DATOS CLINICOS	0	0
			0

Blackwell Sinergy (Plataforma Knowledge for generations)			
FECHA	PALABRA CLAVE	NUMERO DE ARTICULOS	NUMERO DE ARTICULOS FILTRADOS
ABR / 2012	amoxicillin and production and process	2,442	0
ABR / 2012	amoxicillin and production and process and not clinical and not chromatography	169	8
ABR / 2012	amoxicillin and production and process and penicillin acylase not therapy not medicine not clinical	40	12
ABR / 2012	amoxicillin and production and process and penicillin acylase and not chromatography and reactors and batch	15	5
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and not chromatography and reactors and batch	4	4
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam antibiotics	20	15
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process and penicillin g acylase and 6 apa and lactam ic antibiotics and immobilized enzyme	0	0
			44

General Science Full Text (Plataforma Ebsco host)			
FECHA	PALABRA CLAVE	NUMERO DE ARTICULOS	PERTINENCIA
ABR / 2012	amoxicillin and production and process	8	2
ABR / 2012	amoxicillin and production and enzymatic process	37	3
ABR / 2012	amoxicillin and production and process and not clinical and not chromatography	0	0
ABR / 2012	amoxicillin and production and process and penicillin acylase not therapy not medicine not clinical	0	0
ABR / 2012	amoxicillin and production and process and penicillin acylase and not chromatography and reactors and batch	0	0
			5

Anexo E: (Continuación)

ECUACIONES DE BÚSQUEDA	GOOGLE.COM NOV A DIC - 2011		YIPPY.COM DIC - ENE 2011		BING.COM FEB - 2012		SEARCH.CARROT2.ORG MAR - 2012		POLYMETA.COM MAR - 2012		IBOOGIE.COM ABR - 2012	
	NÚMERO DE ARTÍCULOS	(*)	NÚMERO DE ARTÍCULOS	(*)	NÚMERO DE ARTÍCULOS	(*)	NÚMERO DE ARTÍCULOS	(*)	NÚMERO DE ARTÍCULOS	(*)	NÚMERO DE ARTÍCULOS	(*)
roadmaps + amoxicillin + enzymatic + process + 6 apa + immobilized +penicillin G acylase + pgme filetype:pdf	0	0	57	5	0	0	0	0	1	0	0	0
forecasting + amoxicillin + enzymatic + process + 6 apa + immobilized +penicillin G acylase + pgme filetype:pdf	2	2	81	8	0	0	1	1	7	5	1	1
overview + amoxicillin + enzymatic + process + 6 apa + immobilized +penicillin G acylase + pgme filetype:pdf	10	10	98	14	1	0	1	1	41	25	1	1
reviews + amoxicillin + enzymatic + process + 6 apa + immobilized +penicillin G acylase + pgme filetype:pdf	10	10	179	9	1	0	1	1	21	10	1	1
outlook + amoxicillin + enzymatic + process + 6 apa + immobilized +penicillin G acylase + pgme filetype:pdf	0	0	75	10	2	1	1	1	6	3	1	1
market + amoxicillin + enzymatic + process + 6 apa + immobilized +penicillin G acylase + pgme filetype:pdf	5	5	127	11	2	1	3	3	10	6	4	2
report intelligence + amoxicillin + enzymatic + process + 6 apa + immobilized +penicillin G acylase + pgme filetype:pdf	0	0	75	2	1	1	0	0	2	0	0	0
research + amoxicillin + enzymatic + process + 6 apa + immobilized +penicillin G acylase + pgme filetype:pdf	8	6	197	18	7	2	7	6	39	23	14	8
the copenhagen institute for futures studies + amoxicillin + enzymatic process filetype:pdf	143	0	0	0	0	0	0	0	100	12	0	0
the copenhagen institute for futures studies + amoxicillin + 6 apa + enzymatic process filetype:pdf	7,250	0	0	0	0	0	0	0	88	12	0	0
the copenhagen institute for futures studies + amoxicillin + 6 apa + immobilized + enzymatic process filetype:pdf	1,600	0	0	0	0	0	0	0	65	12	0	0
the copenhagen institute for futures studies + amoxicillin + 6 apa + immobilized enzyme + penicillin amidase + enzymatic process filetype:pdf	8	0	0	0	0	0	0	0	52	12	0	0
(*) PERTINENCIA		129		308		29		292		1003		464

F. Anexo: Bitácora de búsqueda “Patentes”

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 2000 a Noviembre 2012).

GOOGLE PATENTS			
FECHA	ECUACIÓN DE BÚSQUEDA	NÚMERO DE ARTÍCULOS	PERTINENCIA
jun-13	amoxicillin	16,300	0
jun-13	amoxicillin + production	3,060	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic	216	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic + process	118	28
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic + process + 6 apa	68	16
	TOTAL	19,762	16

WIPO PATENTSCOPE			
FECHA	ECUACIÓN DE BÚSQUEDA	NÚMERO DE ARTÍCULOS	PERTINENCIA
jun-13	amoxicillin	6,646	0
jun-13	amoxicillin + production	6,146	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic	2,569	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic + process	2,460	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic + process + 6 apa	81	14
	TOTAL	17,902	14

SIPO			
FECHA	ECUACIÓN DE BÚSQUEDA	NÚMERO DE ARTÍCULOS	PERTINENCIA
jun-13	amoxicillin	625,034	0
jun-13	amoxicillin + production	625,033	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic	261	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic + process	192	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic + process + 6 apa	113	67
	TOTAL	1,250,633	67

ESPACENET			
FECHA	ECUACIÓN DE BÚSQUEDA	NÚMERO DE ARTÍCULOS	PERTINENCIA
jun-13	amoxicillin	602	0
jun-13	amoxicillin + production	56	14
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic	0	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic + process	0	0
jun-13	amoxicillin + production + enzymatic + process + 6 apa	0	0
	TOTAL	658	14

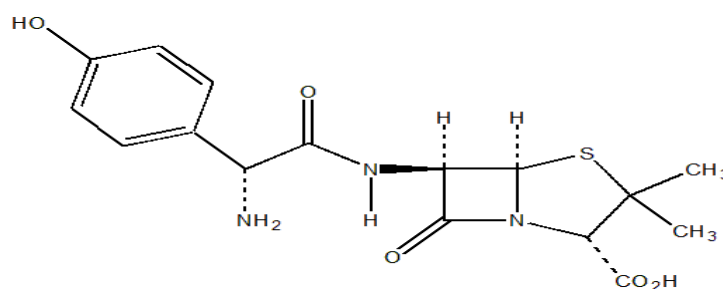
KIPRIS			
FECHA	ECUACIÓN DE BÚSQUEDA	NÚMERO DE ARTÍCULOS	PERTINENCIA
jun-13	amoxicillin	295	0
jun-13	amoxicillin and production	65	7
jun-13	amoxicillin and production and enzymatic	8	0
jun-13	amoxicillin and production and enzymatic and process	0	0
jun-13	amoxicillin and production and enzymatic and process and 6 apa	0	0
	TOTAL	368	7

G. Anexo: Definición y estructura de la amoxicilina

Es un antibiótico semisintético derivado de la penicilina que actúa contra un amplio espectro de microorganismos, tanto Gram-positivos como Gram-negativos, con un espectro de actividad antibacteriana superior al de la penicilina, se utiliza para el tratamiento de infecciones tanto en medicina humana como veterinaria (neumonía, bronquitis, gonorrea, infecciones de oído, nariz, garganta, vías urinarias y piel); también se utiliza en combinación con otros medicamentos para eliminar la bacteria *H. pylori* que causa úlceras (Price, 2005). Sus presentaciones son todas vía oral como: cápsulas (250 y 500mg), tabletas (500 mg y 1 g) y polvos para suspensión (250 y 500 mg)

Su nombre según sistema IUPAC es ácido [2S-[2 α , 5 α , 6 β (S*)]]-6-[[amino (4-hidroxifenil) acetil] amino]-3,3-dimetil-7-oxo-4-thia-1-azabicyclo [3.2.0] heptano-2-carboxílico; ácido 6-(*p*-hidroxi- α -aminofenilacetamido) ácido penicilánico; *p*-hidroxiampicilina; su fórmula molecular condensada es: C₁₆H₁₉N₃O₅S, su estructura química esencial es el ácido 6-aminopenicilánico (6 - APA), que consiste en un anillo tiazolidínico con un anillo betalactámico condensado. (Budavari, 1996). ver figura 9 - 4

Figura 9 - 4: Estructura de la amoxicilina
(Budavari, 1996)



H. Anexo: Artículos más representativos sobre “síntesis enzimática de cefalexina”

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene. 1990 a Jun.2013)

SINTESIS CEFALEXINA				
AUTOR	PAÍS	REVISTA	TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	ABSTRAC
(Aguirre, Concha, Vergara, Riveros, & Illanes, 2010)	CHILE	Process Biochemistry	Partition and substrate concentration effect in the enzymatic synthesis of cephalaxin in aqueous two-phase systems	The kinetically controlled synthesis of cephalaxin in aqueous two-phase systems was studied, using immobilized penicillin acylase, 7-amino 3-desacetoxycephalosporanic acid as nucleophile and phenylglycine methyl ester as acyl donor. The organic phases used were 80% (v/v) polyethyleneglycol 400 and 600 and the aqueous phase was 2.5M (NH ₄) ₂ SO ₄ . 7-amino 3-desacetoxycephalosporanic acid and cephalaxin partition coefficients were determined at pH 7.4 and 7.8, at 14°C and 20°C. Highest partition coefficient for cephalaxin was obtained for polyethyleneglycol 400-(NH ₄) ₂ SO ₄ at pH 7.4 and 20°C, while the lowest partition coefficient for 7-amino desacetoxycephalosporanic acid was obtained in the same system at pH 7.8 and 14°C. No significant effect of pH was observed on conversion yield and productivity of cephalaxin synthesis; however, higher values were obtained with polyethyleneglycol 400 as organic phase. Higher conversion yields with both biphasic systems were obtained at the lowest temperature, where product hydrolysis was lower; volumetric productivity was higher for the fully aqueous medium (control), being higher at 20°C. All parameters of synthesis were improved at higher substrates concentrations, obtaining conversion yields of 78.2% and 65.4%, with 60mM 7-amino desacetoxycephalosporanic acid for the polyethyleneglycol 400-(NH ₄) ₂ SO ₄ system and the control
(Illanes, et al., 2009)	CHILE	Applied Biochemistry and Biotechnology	Synthesis of cephalaxin in aqueous medium with carrier-bound and carrier-free penicillin acylase biocatalysts	The use of very high substrate concentrations favors the kinetically controlled synthesis of cephalaxin with penicillin acylase (PA) not only by Michaelian considerations, but also because water activity is depressed, so reducing the rates of the competing reactions of product and acyl donor hydrolysis. Commercial PGA-450, glyoxyl agarose immobilized (PAIGA) and carrier-free cross-linked enzyme aggregates of penicillin acylase (PACLEA) were tested in aqueous media at concentrations close to the solubility of nucleophile and at previously determined enzyme to nucleophile and acyl donor to nucleophile ratios. The best temperature and pH were determined for each biocatalyst based on an objective function considering conversion yield, productivity, and enzyme stability as evaluation parameters. Stability was higher with PAIGA and specific productivity higher with PACLEA, but best results based on such objective function were obtained with PGA-450. Yields were stoichiometric and productivities higher than those previously reported in organic medium, which implies significant savings in terms of costs and environmental protection. At the optimum conditions for the selected biocatalyst, operational stability was determined in sequential batch reactor operation. The experimental information gathered is being used for a technical and economic evaluation of an industrial process for enzymatic production of cephalaxin in aqueous medium.
(Andrés Illanes et al., 2007)	CHILE	Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic	Synthesis of cephalaxin with immobilized penicillin acylase at very high substrate concentrations in fully aqueous medium	The presence of organic cosolvents was previously considered necessary to obtain high conversion yields in the synthesis of β -lactam antibiotics with immobilized penicillin acylase, and it is so when working at moderate substrate concentrations. Conversion yields close to stoichiometric and high productivities were recently reported for the synthesis of cephalaxin at high substrate concentrations in ethylene glycol medium. Under such conditions, the effect of cosolvent concentration on yield is not significant so we raised the hypothesis that stoichiometric yields and high productivities are attainable at very high substrate concentrations in fully aqueous medium leading to substantial process improvement in terms of costs and environment. To test the hypothesis, the kinetically controlled synthesis of cephalaxin with immobilized penicillin acylase was conducted in aqueous medium at substrate concentrations up to and beyond their solubilities at varying temperature, pH, enzyme to substrate and acyl donor to nucleophile ratios. At the best conditions, 99% conversion yield was attained with volumetric productivity of 300 mM/h and specific productivity of 7.8 mmol/h g cat. These values are slightly higher than those previously obtained under optimized conditions in organic medium so that the hypothesis has been confirmed, which opens up the possibility of efficiently produce the antibiotic through an environmentally friendly process.
(A. Illanes, et al., 2007)	CHILE	Enzyme and Microbial Technology	Production of cephalaxin in organic medium at high substrate concentrations with CLEA of penicillin acylase and PGA-450	The kinetically controlled synthesis of cephalaxin in ethylene glycol was previously optimized at moderate substrate concentrations obtaining yields close to stoichiometric. A study is now presented on the production of cephalaxin at very high substrate concentrations, up to 750 mM acyl donor, with immobilized and cross-linked enzyme aggregates (CLEA) of penicillin acylase. Since conversion yield close to 100% was already obtained, attention was given to productivity under the hypothesis that increasing substrates concentration will produce a substantial increase in productivity without reducing yield. An increase of 29 times in volumetric productivity and 4.5 times in specific productivity was obtained with PGA-450 with respect to the results obtained at moderate substrates concentrations (below 100 mM acyl donor). Volumetric productivity was lower for CLEA than for PGA-450, but specific productivity was almost the same for both. Sequential batch reactor operations were conducted to assess the biocatalyst operational stability and global productivity, considering one half-life as biocatalyst life cycle. Under such criterion, 40.1 and 135.5 g of cephalaxin/g of biocatalyst were obtained for PGA-450 and CLEA, respectively. Yields remained close to 100% during the whole cycle. These are very good values which can be improved by optimizing the biocatalyst replacement criterion

Anexo H: (Continuación)

SINTESIS CEFALEXINA				
AUTOR	PAÍS	REVISTA	TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	ABSTRAC
(Aguirre, Opazo, Venegas, Riveros, & Illanes, 2006)	CHILE	Process Biochemistry	Low temperature effect on production of ampicillin and cephalaxin in ethylene glycol medium with immobilized penicillin acylase	The effect of temperature was studied for the kinetically controlled synthesis of cephalaxin and ampicillin with penicillin acylase immobilised in glyoxyl agarose. Yield increased at low temperatures in the absence and presence of ethylene glycol, while the initial ratio of synthesis to hydrolysis decreased. Arrhenius equations were used to describe the temperature dependency of the hydrolysis and synthesis rates. The effect of ethylene glycol was stronger over the yield of synthesis of cephalaxin than ampicillin. In the case of cephalaxin, yield increased from 82.8% in aqueous buffer to 97.6% in 50% (v/v) ethylene glycol medium at 0 °C, while at 20 °C an increase from 68.8% to 78.7% was obtained. The presence of ethylene glycol produced a greater increase in the energies of activation of the hydrolysis reactions than of the synthesis reactions, which explains the higher conversion yields obtained in the presence of the cosolvent, both for cephalaxin and ampicillin. Cephalaxin synthesis was optimized using an experimental design based on surface of response methodology
(Illanes, Altamirano, Fuentes, Zamorano, & Aguirre, 2005)	CHILE	Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic	Synthesis of cephalaxin in organic medium at high substrate concentrations and low enzyme to substrate ratio	The kinetically controlled synthesis of cephalaxin (CEX) in ethylene glycol (EG) was previously optimized at moderate substrate concentrations and high enzyme to substrate ratio, obtaining yields close to stoichiometric. However, substrate concentrations were low and enzyme loads high enough for production purpose. The synthesis of cephalaxin in 40% (v/v) ethylene glycol at 20°C and pH 7.0 with glyoxyl-agarose immobilized penicillin acylase (GAPA) was studied at high substrate concentrations to the point of saturation and beyond. Phenylglycine methyl ester (PGME) was the acyl donor at a molar ratio of 3 with respect to nucleophile. At initially homogeneous conditions with nucleophile concentration close to its solubility and at low enzyme to substrate ratio, productivity increase eight times and specific productivity five times with respect to a control at moderate substrate concentrations and high enzyme to substrate ratio. At initially heterogeneous conditions with partially undissolved nucleophile and low enzyme to substrate ratio, increases in productivity and specific productivity were eleven and seven times, respectively. The biocatalyst was very stable under reaction conditions, so that a very high global productivity is anticipated, making the enzymatic process competitive with existing chemical synthesis.
(Illanes, Anjari, Altamirano, & Aguirre, 2004)	CHILE	Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic	Optimization of cephalaxin synthesis with immobilized penicillin acylase in ethylene glycol medium at low temperatures	Organic cosolvents, and among them, polyols, are suitable media to perform the enzymatic synthesis of β -lactam antibiotics with immobilized penicillin acylase, because they effectively reduce water activity, depressing hydrolytic reactions in favor of synthesis. Among polyols, ethylene glycol has proven to be particularly suited as reaction medium for their synthesis. Previous studies have shown that pH, temperature, and cosolvent concentration are the most relevant variables in the kinetically controlled synthesis of cephalaxin from 7-amino-3-deacetoxy cephalosporanic acid and phenylglycine methyl ester, conversion yield increasing at low temperatures and high cosolvent concentrations. The objective of this work is the optimization of temperature, pH, and ethylene glycol concentration in the kinetically controlled synthesis of cephalaxin with immobilized penicillin acylase at lower than ambient temperature in terms of substrate molar conversion yield. Phenylglycine was used as acyl donor and 7-amino-3-deacetoxy cephalosporanic acid was the limiting substrate at 30 mM. Optimization was performed using surface of response methodology, optimum conditions being 12°C, pH 6.8, and 60% (v/v) ethylene glycol, at which cephalaxin yield was close to stoichiometric with respect to the limiting nucleophile, which is unattainable in aqueous medium. Stability of the biocatalyst at optimum conditions for cephalaxin synthesis was very high, with a projected half-life of 1500 h, making it a suitable catalyst for the large-scale production of cephalaxin
(Illanes, Cabrera, Wilson, & Aguirre, 2003)	CHILE	Process Biochemistry	Synthesis of cephalaxin in ethylene glycol with glyoxyl-agarose immobilised penicillin acylase: Temperature and pH optimisation	The synthesis of cephalaxin with glyoxyl-agarose immobilised penicillin acylase (GAPA) in 50% (v/v) ethylene glycol at 90 mM acyl donor was optimised in terms of pH and temperature, using molar yield as objective function. Yield was substantially increased by the presence of the cosolvent and stability was also higher than in aqueous medium. pH and temperature optima were 7.0 and 28°C and maximum yield was 96%, substantially higher than previously obtained with a commercial biocatalyst. The operational stability of the biocatalyst was determined as a half-life of 135 h at 28°C. Synthesis of cephalaxin at low temperatures is being studied to determine if the increase in biocatalyst stability will outweigh the longer times and higher enzyme loads required. Optimisation is still to be conducted at higher substrate concentrations. Reduction in acyl donor excess is advisable but it will reduce yield.
(Aguirre, Toledo, Medina, & Illanes, 2002)	CHILE	Process Biochemistry	Effect of cosolvent and pH on the kinetically controlled synthesis of cephalaxin with immobilised penicillin acylase	The effect of co-solvents was studied on the kinetically controlled synthesis of cephalaxin with immobilised penicillin acylase (PA). Yield correlated well with the ratio of initial rates of cephalaxin synthesis to acyl donor hydrolysis and water activity. Yield was substantially higher in EG than in aqueous medium and was selected to study the effect of (apparent) pH on initial rates of synthesis and hydrolysis. The ratio of initial rates of product synthesis to hydrolysis (r_2), adequate to assess the potential for synthesis in kinetically controlled systems under excess acyl donor, was maximal at pH 7.5 and correlated well with yield. The effect of ethylene glycol was very strong with an improvement of 230% in r_2 , whose value was higher than 1, hardly attainable in aqueous medium. This reflected in a considerable improvement (13%) in product yield, which highlights the potential of EG as a medium for the production of cephalaxin.
(Bahamondes, Wilson, Aguirre, & Illanes, 2012)	CHILE	Biotechnology and Bioprocess Engineering	Comparative study of the enzymatic synthesis of cephalaxin at high substrate concentration in aqueous and organic media using statistical model	Synthesis of cephalaxin with immobilized penicillin acylase at high substrate concentration at an acyl donor to nucleophile molar ratio of 3 was comparatively evaluated in aqueous and ethylene glycol media using a statistical model. Variables under study were temperature, pH and enzyme to substrate ratio and their effects were evaluated on cephalaxin yield, ratio of initial rates of cephalaxin synthesis to phenylglycine methyl ester hydrolysis, volumetric and specific productivity of cephalaxin synthesis, that were used as response parameters. Results obtained in both reaction media were modeled using surface of response methodology and optimal operation conditions were determined in terms of an objective function based on the above parameters. At very high substrate concentrations the use of organic co-solvents was not required to attain high yields and actually almost stoichiometric yields were obtained in a fully aqueous media with the advantages of higher productivities than in an organic co-solvent media and compliance with the principles of green chemistry.

Anexo H: (Continuación)

(Valencia, Flores, Wilson, & Illanes, 2012)	CHILE	New Biotechnology	Batch reactor performance for the enzymatic synthesis of cephalixin: Influence of catalyst enzyme loading and particle size	A mathematical model is presented for the kinetically controlled synthesis of cephalixin that describes the heterogeneous reaction-diffusion process involved in a batch reactor with glyoxyl-agarose immobilized penicillin acylase. The model is based on equations considering reaction and diffusion components. Reaction kinetics was considered according to the mechanism proposed by Schroën, while diffusion of the reacting species was described according to Fick's law. Intrinsic kinetic and diffusion parameters were experimentally determined in independent experiments. It was found that from the four kinetic constants, the one corresponding to the acyl-enzyme complex hydrolysis step had the greatest value, as previously reported by other authors. The effective diffusion coefficients of all substances were about 5×10^{-10} m ² /s, being 10% lower than free diffusion coefficients and therefore agreed with the highly porous structure of glyoxyl-agarose particles. Simulations made from the reaction-diffusion model equations were used to evaluate and analyze the impact of internal diffusional restrictions in function of catalyst enzyme loading and particle size. Increasing internal diffusional restrictions decreases the Cex synthesis/hydrolysis ratio, the conversion yield and the specific productivity. A nonlinear relationship between catalyst enzyme loading and specific productivity of Cex was obtained with the implication that an increase in catalyst enzyme loading will not increase the volumetric productivity by the same magnitude as it occurs with the free enzyme. Optimization of catalyst and reactor design should be done considering catalyst enzyme loading and particle size as the most important variables. The approach presented can be extended to other processes catalyzed by immobilized enzymes.
(Valencia, Wilson, Aguirre, & Illanes, 2010)	CHILE	Enzyme and Microbial Technology	Evaluation of the incidence of diffusional restrictions on the enzymatic reactions of hydrolysis of penicillin G and synthesis of cephalixin	The impact of mass transfer limitations on penicillin G acylase immobilized in glyoxyl-agarose particles of different sizes and enzyme loads was evaluated for the reactions of hydrolysis of penicillin G and synthesis of cephalixin under the hypothesis that the impact of internal diffusional restrictions on the catalytic potential of the enzyme will be of a greater magnitude for a fast reaction of hydrolysis than a slower reaction of synthesis. Experimental evidences were obtained from batch reactor operation where increase in enzyme load and particle size has a much stronger impact on the former reaction. Additional evidences were obtained by the impact of the above biocatalyst properties on the apparent Michaelis constants for substrates. Michaelis constants of penicillin G acylase catalysts of different enzyme load and particle sizes varied between 0.73 and 4.55. mM and between 3.0 and 11.1. mM for the hydrolysis of penicillin G and the synthesis of cephalixin respectively. Michaelis constants for penicillin G acylase biocatalysts subjected to progressive size reduction were reduced from 5.0 to 0.46. mM and from 7.2 to 2.1. mM for hydrolysis of penicillin G and synthesis of cephalixin respectively. Higher fluctuation between these values in hydrolysis of penicillin G reflects higher impact of diffusional restrictions on this reaction. Thiele modulus for the substrate was much higher for penicillin G hydrolysis than for cephalixin synthesis in a wide range of substrates concentrations. Ratio between moduli for hydrolysis of penicillin G and synthesis of cephalixin was 15 at saturating concentration of phenylglycine methyl ester and increased at lower concentrations of such substrate. Results highlight the importance of designing the biocatalyst according to the reaction in which it will be used, being particularly important in the case of penicillin G acylase that is currently being used both in reactions of hydrolysis and synthesis.
(Bahamondes, et al., 2012)	CHILE	Biotechnology and Bioprocess Engineering	Comparative study of the enzymatic synthesis of cephalixin at high substrate concentration in aqueous and organic media using statistical model	Synthesis of cephalixin with immobilized penicillin acylase at high substrates concentration at an acyl donor to nucleophile molar ratio of 3 was comparatively evaluated in aqueous and ethylene glycol media using a statistical model. Variables under study were temperature, pH and enzyme to substrate ratio and their effects were evaluated on cephalixin yield, ratio of initial rates of cephalixin synthesis to phenylglycine methyl ester hydrolysis, volumetric and specific productivity of cephalixin synthesis, that were used as response parameters. Results obtained in both reaction media were modeled using surface of response methodology and optimal operation conditions were determined in terms of an objective function based on the above parameters. At very high substrates concentrations the use of organic co-solvents was not required to attain high yields and actually almost stoichiometric yields were obtained in a fully aqueous media with the advantages of higher productivities than in an organic co-solvent media and compliance with the principles of green chemistry.

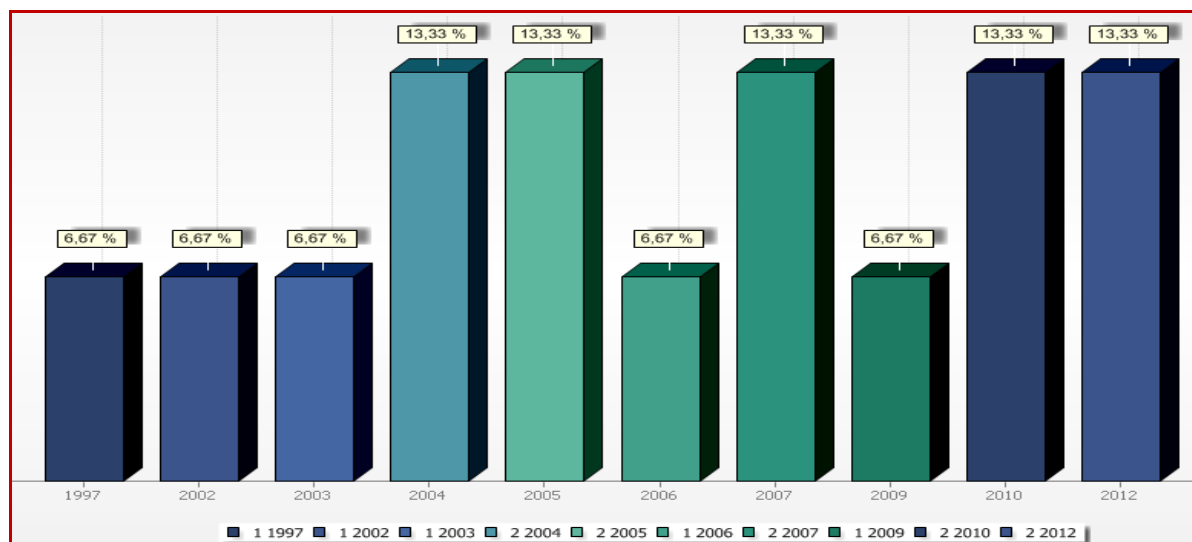
I. Anexo: Análisis Cienciométrico de la síntesis enzimática de cefalexina (SEC)

La cefalexina perteneciente a la familia de los cefalosporínicos, toma un gran interés en la presente investigación, porque pese a sus diferencias estructurales con la amoxicilina, posee muchas características en común, tanto en su método de preparación, como en su mecanismo de acción, donde la enzima que cataliza la síntesis (PA) es la misma y que necesitan de un precursor (7-ACA "ácido 7 aminocefalosporínico") diferente al 6-APA, ambos producidos por vía enzimática, y actúan inhibiendo la síntesis de la pared celular de las bacterias.

Una vez clasificadas las investigaciones, se observa que hay más investigaciones sobre la síntesis enzimática de amoxicilina (23 publicaciones) que sobre la síntesis enzimática de cefalexina (15 publicaciones), esto se debe a su importancia comercial, aunque la rentabilidad los cefalosporínicos es mayor que el de los penicilínicos en un 23%, pero frente a los volúmenes de fabricación es mayor los penicilínicos. (Bhattacharyya & Sen, 2006); En la Gráfica 9 - 36, se evidencia que a partir del año 2004, la investigación se ha incrementado y mantenido a través del tiempo, demostrando que el tema es vigente para la investigación.

GRÁFICA 9 - 36 : Porcentaje de artículos publicados sobre el tema SEC

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



Ahora bien, los principales investigadores de SEC (según el número de publicaciones) en su orden de importancia corresponden al Dr. Andrés Illanes, el cual tiene una participación del 20% (13 trabajos) (Chile), Dra Carolina Aguirre Cespedes (Chile) con una participación del 16.92% (11 trabajos), Dra. Lorena Wilson (Chile) con una participación del 10.77% (7

J. Anexo: Artículos más representativos sobre “síntesis enzimática de ampicilina”

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene. 1990 a Jun.2013)

SÍNTESIS AMPICILINA				
ITEM	PAÍS	REVISTA	TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	ABSTRAC
(Andrea L. O. Ferreira, et al., 2007)	BRASIL	Industrial and Engineering Chemistry Research	Nonconventional reactor for enzymatic synthesis of semi-synthetic β-lactam antibiotics	The enzymatic synthesis of β -lactam semi-synthetic antibiotics has been receiving increasing attention as a green-chemistry alternative for the industrial production of these drugs, because mild reaction conditions may be used. A nonconventional fed-batch reactor is presented here, using a bi-disperse gel matrix for immobilization of the enzyme penicillin G acylase (PGA) [EC 3.5.1.11]. The catalyst particles are suspended within Taylor-Couette vortices, performing the kinetically controlled synthesis of ampicillin (AMP) from phenylglycine methyl ester (PGME) and 6-aminopenicillanic acid (6-APA). This is a serial-parallel set of reactions, where the desired product (AMP) is the intermediate species, and a high selectivity is essential for the process economics. With this objective, AMP should be precipitated, withdrawing the antibiotic from the liquid phase and reducing its hydrolysis. One key point is to protect the physical integrity of the catalyst within this environment. To avoid damages to the catalyst particle caused by conventional impellers, while preserving a good mixing, Taylor-Couette flow was used. In addition, a convenient biocatalyst matrix was developed, to allow easy separation between the crystals and the enzyme support. A bench-scale (50 mL) Taylor vortex flow reactor (VFR), with a radius ratio of $\eta = 0.27$ and operating in fed-batch mode, was used for proof of the concept. To sustain homogeneous fluidization of the biocatalyst, the VFR operated with a rotational Reynolds number of $Re = 5605$, within the turbulent Taylor vortices flow region. With this reactor/catalyst ensemble, 100% activity and complete physical integrity of the particles were sustained after 200 h of operation.
(Ribeiro, Ferreira, Giordano, & Giordano, 2005)	BRASIL	Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic	Selectivity of the enzymatic synthesis of ampicillin by E. coli PGA in the presence of high concentrations of substrates	Penicillin G acylase (PGA) catalyzes the synthesis/hydrolysis of acyl derivatives of phenylacetic acid through the formation of a covalent intermediate (the acyl-enzyme complex). When used for the kinetically controlled synthesis of β -lactam antibiotics, this enzyme promotes two undesired side reactions: the hydrolysis of the acyl side-chain precursor and of the antibiotic. Therefore, a high selectivity (synthesis/hydrolysis, S/H ratio) is very important for the process economics. Here, the enzymatic synthesis of ampicillin from d-phenylglycine methyl ester (PGME) and 6-aminopenicillanic acid (6-APA), using PGA from Escherichia coli (EC 3.5.1.11) is studied. Kinetic assays provided S/H for high concentrations of substrates (up to 200 mM of 6-APA and 500 mM of PGME), using soluble PGA, at 25°C, pH 6.5. S/H increased with 6-APA concentration, in accordance with the literature. However, when the concentration of 6-APA approached saturation, the rate of enzymatic hydrolysis tended towards zero (i.e., S/H tended to infinity). On the other hand, when the concentration of ester was augmented, S/H consistently decreased. This behavior, to the best of our knowledge still not reported, indicates that the acylation step may occur with 6-APA already positioned for the nucleophilic attack
(A. L. O. Ferreira, Giordano, & Giordano, 2004)	BRASIL	Brazilian Journal of Chemical Engineering	Improving selectivity and productivity of the enzymatic synthesis of ampicillin with immobilized penicillin G acylase	An experimental design was applied to improve the reaction conditions for enzymatic synthesis of ampicillin from PHFGME and 6-APA, catalyzed by PGA from E. coli immobilized on an agarose-glyoxyl derivative. The presence and magnitude of interactions between reaction variables were estimated using a 25 factorial design. A batch reactor was employed to assess the influence of the following variables: pH, temperature, initial 6-APA concentration, buffer concentration, and the presence of methanol. Response variables were productivity, selectivity, and yield (based on initial 6-APA concentration). The best synthesis yield (56.9%) was at T = 4°C and pH 6.5. The highest productivity ($49.3 \cdot 10^{-3}$ mM of antibiotic/min) was achieved at T = 25°C and pH 6.5. Our results indicate that it is possible to achieve high productivity for this system while maintaining a high selectivity and yield.
(Illanes, Anjari, Arrieta, & Aguirre, 2002)	CHILE	Applied Biochemistry and Biotechnology - Part A Enzyme Engineering and Biotechnology	Optimization of yield in kinetically controlled synthesis of ampicillin with immobilized penicillin acylase in organic media	Immobilized penicillin acylase is a moderately priced versatile enzyme, that is able to catalyze the synthesis of derived penicillins and cephalosporins from the corresponding β -lactam nuclei and proper side-chain precursors. Kinetically controlled synthesis is a better strategy when product yield is a key issue. Yield should increase at reduced water activity by depressing the competing hydrolytic reactions in favor of synthesis; therefore, organic cosolvents can be a suitable reaction media for synthesis. Using response surface methodology and product yield as objective function, temperature and pH were optimized in the kinetically controlled synthesis of ampicillin using previously screened cosolvents and reaction conditions. Optimum pH was 6.0 for ethylene glycol (EG) and glycerol (GL) and 6.6 for 1-2 propanediol (PD); optimum temperature was 30°C for GL and for EG and PD was in the lower extreme of the range studied, optimum lying below 26°C. Maximum molar yields predicted by the model were 58, 51, and 46% for EG, GL, and PD, respectively, which were experimentally validated. Highest yield in aqueous buffer was always <40%. Molar yields about 60% compare favorably with values reported for the kinetically and thermodynamically controlled synthesis of ampicillin and other derived penicillins.
(Du, Wu, Chen, Liu, & Lin, 2009)	CHINA	Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic	A two-step, one-pot enzymatic synthesis of ampicillin from penicillin G potassium salt	A two-step, one-pot synthesis of ampicillin from penicillin G potassium salt (PGK) in aqueous buffer/organic co-solvent has been achieved. Ethylene glycol (EG) was chosen as the organic co-solvent. Factors including co-solvent content, enzyme loading, reaction temperature and substrate concentration were investigated. The optimum conditions were as follow: pH 8.0 phosphate buffer solution, 50% EG (v/v), 25°C, 100 mM PGK and 300 mM d-phenylglycine methyl ester (D-PGM), 43.2 IU/ml IPA-750. The maximum yield was 57.3% after a reaction time of 17 h. It is the first report about the synthesis of ampicillin from penicillin G potassium salt in one-pot combining the enzymatic hydrolysis and the subsequent enzymatic condensation, and the novel methodology will have important application in the β -lactam antibiotics industry.

Anexo J: (Continuación)

SÍNTESIS AMPICILINA				
ITEM	PAÍS	REVISTA	TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	ABSTRAC
(Pan, Wu, Chen, & Lin, 2008)	CHINA	Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic,	Efficient enzymatic synthesis of ampicillin in organic media	The kinetically controlled synthesis of ampicillin with immobilized penicillin acylase (IPA) from <i>Escherichia coli</i> in fully organic medium was studied. d-phenylglycine methyl ester (d-PGM) was selected as the activated acyl donor due to its good solubility in organic solvents. A series of organic solvents with different polarity were screened and ethyl acetate was found to be the most satisfying solvent for the enzymatic synthesis of ampicillin. Remarkable catalytic activity of the IPA was retained in ethyl acetate, and high yield could be obtained. Furthermore, some significant factors that greatly affect the ampicillin synthesis process, such as substrate concentration, temperature and water content of IPA etc., were investigated in details. As a result, high yield (92.9%) and synthesis/hydrolysis (S/H) ratio (1.50) were successfully achieved under the optimum conditions.
(Ospina, et al., 1996)	COLOMBIA	Enzyme and Microbial Technology	Effect of pH in the synthesis of ampicillin by penicillin acylase	Recombinant <i>Escherichia coli</i> cells with high penicillin acylase (PA) activity were immobilized by gel entrapment with agar. This biocatalyst was used to study the effect of pH on the synthesis of ampicillin from phenylglycine methylester (PGME) and 6-aminopenicillanic acid (GAPA). The parallel hydrolysis reactions of PGME and ampicillin were also studied. A selective inhibition of the hydrolysis of the ester was possible by controlling the pH at 6.0. At such conditions, and using 6-APA solutions ranging from 0.2 to 2.0 mM, a 75% conversion to ampicillin was obtained. This yield was higher than obtained with other strategies. The reaction kinetics was described by a second-order model for ampicillin synthesis with experimentally determined Michaelis-Menten constants of 27 and 2.5 mM for 6-APA and PGME, respectively. In addition, ampicillin and PGME were hydrolyzed by the enzyme following Michaelis-Menten kinetics with K_m values of 40.5 and 30 mM, respectively. A good correlation was found between experimental results of synthesis reactions and the kinetic model derived from initial rate experiments with only slight deviations at high substrate concentrations. This is the first report where the specific effect of pH on the synthesis of ampicillin was studied in detail. It is shown that, by controlling the pH, it is possible to inhibit the lateral undesirable reactions increasing the yield of the main reaction.

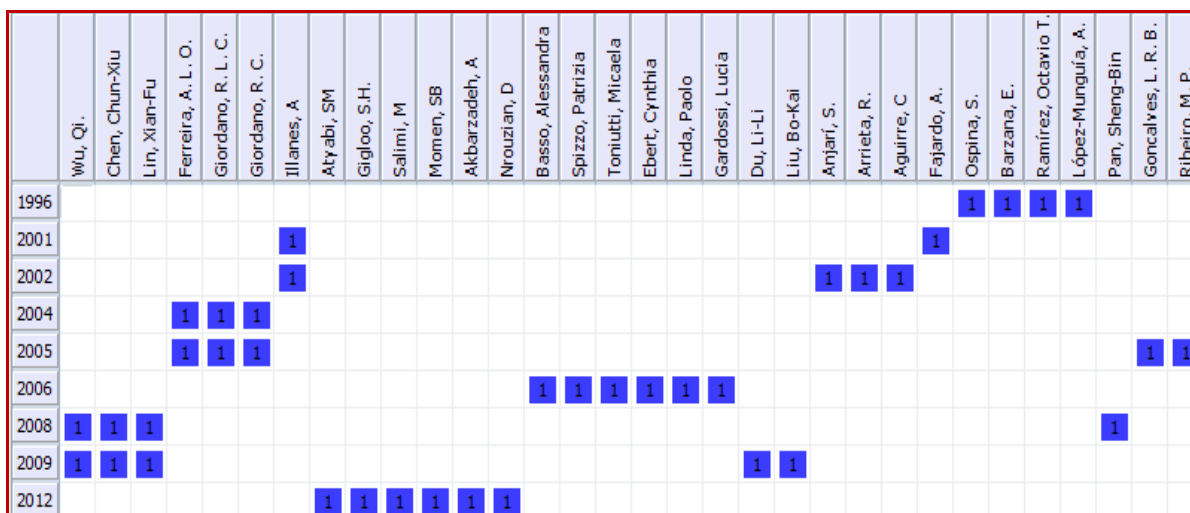
K. Anexo: Análisis cuantitativo de la síntesis enzimática de ampicilina (SEAM)

En la década de los 90's la síntesis de la ampicilina logró su máxima producción científica sin embargo, se vió opacada por el desarrollo científico de la enzima PA y el 6-APA, y en recientes publicaciones su investigación fue desplazada por la síntesis enzimática de la amoxicilina, debido principalmente a que la amoxicilina es una molécula mas rentable y además por su similitud estructural, hizo que muchos de sus desarrollos científicos hayan sido extrapolados a dicha molécula.

Por las razones anteriores se observa que la producción científica frente a la ampicilina es muy bajo (aproximadamente 2 publicaciones /año) pero constante en el periodo de tiempo analizado, las cuales son lideradas en la actualidad por investigadores de origen chino, además se evidencia que los mismos autores que publican sobre la ampicilina, también publican para la amoxicilina y cefalexina (Giordano, R; Illanes, A; Giordano, RC, Wu, Qi; Lin, Xian-Fu, Chen, Chun-Xiu).

GRÁFICA 9 - 38 : Red asimétrica que relaciona el año de publicación del Journal vs autor sobre el tema SEAM

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Enero 1996 a Marzo 2013 y graficados con el software Matheo Analyzer®)



Ahora bien, frente a los principales investigadores de SEAM (según el número de publicaciones) se encuentra a: Andrés Illanes (Chile), Wu, Qi(China); Lin, Xian-Fu (China), Chen, Chun-Xiu (China), Giordano, RLC (Brasil); Giordano, RC (Brasil) y Ferreira, ALO (Brasil), todos con (2) publicaciones teniendo un porcentaje por autor de 5.13%, además las redes asimétricas no se muestran ninguna relación entre países, autores e instituciones.

Frente a las revistas donde más se publica sobre la SEAM, corresponde al “**Journal of Molecular Catalysis B – Enzymatic**” con un 55.56% que corresponde a (5) publicaciones; y las palabras claves más usadas para referenciar este tema son AMPICILLIN con un 17.5% (en 7 publicaciones), PENICILLIN ACYLASE y ENZYMATIC SYNTHESIS con un 10% (en 4 publicaciones) cada uno

L. Anexo: Artículos más representativos sobre el tema “penicilin acylase”

(Fuente: Bases de datos UN, de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene. 1990 a Sep.2012)

ENZIMA PENICILLIN G/V ACYLASE				
AUTOR	PAÍS	REVISTA	TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	ABSTRAC
(L. Goncalves, Ferreira, Fernandez-Lafuente, Guisan, & Giordano, 2008)	BRASIL	Bioprocess and Biosystems Engineering	Influence of mass transfer limitations on the enzymatic synthesis of β-lactam antibiotics catalyzed by penicillin G acylase immobilized on glioxil-agarose	Mass transfer effects were investigated for the synthesis of ampicillin and amoxicillin, at pH 6.5 and 25°C, catalyzed by penicillin G acylase immobilized on agarose. The influence of external mass transfer was analysed using different stirring rates, ranging from 200 to 800 rpm. Above 400 rpm, the film resistance may be neglected. Intraparticle diffusion limitation was investigated using biocatalysts prepared with different enzyme loads and agarose with different mean pore diameters. When agarose with 6, 8 and 10% of crosslinking were used, for the same enzyme load, substrates and products concentration profiles presented no expressive differences, suggesting pore diameter is not important parameter. An increase on enzyme load showed that when more than 90 IU of enzyme activity were used per mL of support, the system was influenced by intraparticle mass transfer. A reactive-diffusive model was used to estimate effective diffusivities of substrates and products.
(Wang, et al., 2007)	CHINA	Applied Microbiology and Biotechnology	Increasing synthetic performance of penicillin G acylase from <i>Bacillus megaterium</i> by site-directed mutagenesis	Site-directed mutagenesis based on predicted modeled structure of penicillin G acylase from <i>Bacillus megaterium</i> (BmPGA) was followed to increase its performance in the kinetically controlled synthesis of cephalixin with high reactant concentrations of 133 mM 7-amino-desacetoxycephalosporanic acid (7-ADCA) and 267 mM D-phenylglycine amide (D-PGA). We directed changes in amino acid residues to positions close to the active site that were expected to affect the catalytic performance of penicillin acylase: alpha Y144, alpha F145, and beta V24. Alpha F145 was mutated into tyrosine, alanine, and leucine. Alpha Y144 and beta V24 were mutated into arginine and phenylalanine, respectively. The S/H ratios of three mutants, BmPGA α 144R, BmPGA β 24F, and BmPGA β 24F+ α 144R, were up to 1.3–3.0 times higher values. Compared to the wild-type BmPGA, BmPGA β 24F+ α 144R showed superior potential of the synthetic performance, allowing the accumulation of up to twofold more cephalixin at significantly higher conversion rates
(H. Zhou et al., 2012)	CHINA	Industrial and Engineering Chemistry Research	Improving the stability of immobilized penicillin G acylase via the modification of supports with ionic liquids	With the aim of improving the stability of penicillin G acylase (PGA), functional ionic liquids (ILs) were used to modify the surface chemistry of the supports on which they were physically adsorbed. Four kinds of ILs-specifically, 1-methyl-3-(triethoxysilylpropyl)-imidazolium salts, with Cl ⁻ , BF ₄ ⁻ , PF ₆ ⁻ , and Tf ₂ N ⁻ as the anions (IL-Cl ⁻ , BF ₄ ⁻ , PF ₆ ⁻ , and Tf ₂ N ⁻ , respectively)-were used to tune the hydrophilic or hydrophobic properties of the ILs. The synthesized ILs were first immobilized on magnetic silica nanoparticles (Fe ₃ O ₄ /SiO ₂), and the composite material (Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ -IL) was then applied to immobilize PGA via physical adsorption. The amount of protein loading, the specific activity, the immobilization yield, and the stability of immobilized PGA were investigated to evaluate the effects of the ILs on the PGA immobilization. The results showed that PGA immobilized on Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ -ILs was more stable than that immobilized on Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ with no IL modification. Among the four kinds of ILs tested, the hydrophilic ILs (IL-Cl ⁻ , and IL-BF ₄ ⁻) were superior to the hydrophobic ones (IL-PF ₆ ⁻ , and IL-Tf ₂ N ⁻) for PGA immobilization. The reusability of the immobilized PGA on Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ -IL (BF ₄ ⁻) was evaluated; a high residual activity (70% of the initial activity) was observed after 9 consecutive operation cycles under the experimental conditions. This activity was 1.8 times higher than that of immobilized PGA on naked Fe ₃ O ₄ /SiO ₂ (40%).
(M. Zhang et al., 2006)	CHINA	Enzyme and Microbial Technology	Production of <i>Alcaligenes faecalis</i> penicillin G acylase in <i>Bacillus subtilis</i> WB600 (pMA5) fed with partially hydrolyzed starch	In this study, a recombinant strain <i>Bacillus subtilis</i> WB600 (pMA5) was used to produce <i>Alcaligenes faecalis</i> penicillin G acylase (PGA). The PGA activity and overall PGA productivity were respectively 378 and 7.13 U/l h in a batch culture using a complex medium containing 25 g/l of soluble starch. Fed-batch cultures indicated that glucose had a negative effect on the production of PGA. Starch is a good carbon source, but it could not be directly used as a feed due to high viscosity after heat sterilization. A feed was prepared by limited hydrolysis of starch with a small amount of α -amylase, which greatly improved the fluidity with little formation of glucose. The production of PGA increased to 546 U/l by feeding of the partially hydrolyzed starch. When a mixture containing the partially hydrolyzed starch and Tryptone was added by using a pH-stat strategy, the PGA activity reached 1960 U/l, over five-fold of that obtained in the batch culture, and the overall productivity reached 19.6 U/l h, which was more than two-fold of that in the batch culture
(Wen, et al., 2005)	CHINA	Enzyme and Microbial Technology	Expression and overproduction of recombinant penicillin G acylase from <i>Kluyvera citrophila</i> in <i>Escherichia coli</i>	Heterologous production of <i>Kluyvera citrophila</i> penicillin G acylase (KcPGA) was optimized in <i>Escherichia coli</i> (E. coli). Several factors, including the effect of different medium and culture performance were identified to be crucial for the enzyme overproduction. The KcPGA yield was significantly and conveniently increased by more than 2.4-fold in TB medium compared to that in LB medium, which need inducing by isopropylthio-beta-D-galactoside (IPTG). The results shown the lower temperature (28°C) was more feasible for the overproduction of KcPGA compared to the higher temperature (37°C). The highest enzyme activity was obtained at 28°C in TB medium only when culture pH was closed to its original pH value and the basic condition was more optimal for the production of KcPGA than that of acidic condition. On the other hand, the higher temperature (37°C) culture condition resulted in poor enzyme activity although the optimum growth temperature for most of the E. coli strains is approximately 37°C. It was possible due to the limitation by translation or posttranslational steps of the heterologous production of KcPGA in E. coli. The results suggest that culture temperature and pH should be precisely controlled for overproduction of KcPGA in E. coli.

Anexo L: (Continuación)

ENZIMA PENICILLIN G/V ACYLASE				
AUTOR	PAÍS	REVISTA	TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	ABSTRAC
(Vellore Sunder, Kumar, Naik, & Pundle, 2012)	INDIA	Annals of Microbiology	Characterization of a new <i>Bacillus cereus</i> ATUAVP1846 strain producing penicillin V acylase, and optimization of fermentation parameters	Penicillin acylases are involved chiefly in the industrial production of semisynthetic penicillins, which remain the most widely used group of antibiotics. We have isolated a new bacterial strain ATUAVP1846 that produces penicillin Vacylase (PVA). Phylogenetic analysis using 16S rRNA sequencing showed 99.37% homology with <i>Bacillus cereus</i> . Maximum PVA production was observed with <i>B. cereus</i> ATUAVP1846 at 30°C, pH 7 after 24 h fermentation time under submerged conditions. Highest enzyme productivity was achieved using sucrose as carbon source, and tryptone and ammonium hydrogen phosphate as nitrogen sources. Minimal medium containing 0.4% glucose and 0.3% ammonium hydrogen phosphate was found to be optimal for maximum PVA production from <i>B. cereus</i> ATUAVP1846. The crude enzyme from <i>B. cereus</i> ATUAVP1846 was partially purified using ammonium sulfate fractionation and showed highest enzymatic activity in the hydrolysis of penicillin Vat 40°C and pH 6. The crude enzyme preparation also showed unique substrate specificity, preferring ampicillin and cephalixin over penicillin V.
(Chandel, et al., 2008)	INDIA	Enzyme and Microbial Technology	The realm of penicillin G acylase in β-lactam antibiotics	Penicillin G acylase (PGA; EC 3.5.1.11) is a hydrolytic enzyme that acts on the side chains of penicillin G, cephalosporin G and related antibiotics to produce the β -lactam antibiotic intermediates 6-amino penicillanic acid (6-APA) and 7-amino des-acetoxy cephalosporanic acid (7-ADCA), with phenyl acetic acid (PAA) as a common by-product. These antibiotic intermediates are among the potential building blocks of semi-synthetic antibiotics, such as ampicillin, amoxicillin, cloxacillin, cephalixin, and cefatoxime. Currently, β -lactam antibiotics have annual sales of ~\$15 billion and make up 65% of the total antibiotics market; the annual consumption of PGA is estimated to be in the range of 10-30 million tons. The high demand for PGA is being met through a submerged fermentation process that uses genetically manipulated <i>Escherichia coli</i> and <i>Bacillus megaterium</i> microorganisms. Advancements in biotechnology such as screening of microorganisms, manipulation of novel PGA-encoding traits, site-specific mutagenesis, immobilization techniques, and modifications to the fermentation process could enhance the production of PGA. Commercially, cheaper sources of carbohydrates and modified fermentation conditions could lead to more cost-effective production of PGA. These methodologies would open new markets and create new applications of PGA. This article describes the advancements made in PGA biotechnology and advocates its simulation for production of β -lactam antibiotics
(Martínez-Hernández, Mata-Gómez, Aguilar-González, & Ilyina, 2010)	MEXICO	Applied Biochemistry Biotechnology	A Process to Produce Penicillin G Acylase by Surface-Adhesion Fermentation Using <i>Mucor griseocyanus</i> to Obtain 6-Aminopenicillanic Acid by Penicillin G Hydrolysis	The production of extracellular and mycelia-associated PGA (maPGA) with <i>Mucor griseocyanus</i> H/55.1.1 by surface-adhesion fermentation using <i>Opuntia imbricata</i> , a cactus, as a natural immobilization support was studied. Enzyme activity to form 6-APA from PGA was assayed spectrophotometrically. The penicillin G hydrolysis to 6-APA was evaluated at six different times using PGA samples recovered from the skim milk medium at five different incubation times. Additionally, the effect of varying the penicillin G substrate concentration level on the PGA enzyme activity was also studied. The maximum reaction rate, V_{max} , and the Michaelis constant, K_m , were determined using the Michaelis-Menten model. The maximum levels for maPGA and extracellular activity were found to be 2,126.50 international unit per liter (IU/L; equal to 997.83 IU/g of support) at 48 h and 755.33 IU/L at 60 h, respectively. Kinetics of biomass production for total biomass showed a maximum growth at 60 h of 3.36 and 2.55 g/l (equal to 0.012 g of biomass per gram of support) for the immobilized <i>M. griseocyanus</i> biomass. The maPGA was employed for the hydrolysis of penicillin G to obtain 6-APA in a batch reactor. The highest quantity of 6-APA obtained was 226.16 mg/l after 40-min reaction. The effect of substrate concentration on maPGA activity was evaluated at different concentrations of penicillin G (0–10 mM). K_m and V_{max} were determined to be 3.0×10^{-3} M and 4.4×10^{-3} mM/min, respectively
(Barends, et al., 2004)	PAISES BAJOS	Current Opinion in Biotechnology	Three-dimensional structures of enzymes useful for β-lactam antibiotic production	Significant advances have been made in the structure-based engineering of enzymes useful for β -lactam antibiotic production. Structure-based engineering of penicillin G acylase and cephalosporin acylase has resulted in improved enzymes for use in enzymatic production processes. The structures of many other enzymes that could be used in the production of β -lactam antibiotics, such as enzymes from the β -lactam biosynthetic pathway and β -lactam antibiotic-converting enzymes, have been determined. The interest in these structures suggests that the future may see an even more extensive use of rationally engineered biocatalysts in antibiotic production than today
(Bernardino, et al., 2011)	PORTUGAL	Journal of Sol-Gel Science and Technology	Optimization in the immobilization of penicillin G acylase by entrapment in xerogel particles with magnetic properties	Biocatalysis presents a sound alternative to chemical synthesis in the field of drug production, given the highly selective nature of biological catalysts. Penicillin G Acylase (PGA) from <i>E. coli</i> is currently used to hydrolyze penicillin G (PG) and catalyzes the synthesis of β -lactam antibiotics. In this work, particular emphasis is given to recent developments in penicillin G acylase immobilization, by entrapment simultaneously with nano-magnetic particles in a silica matrix. The sol-gel biocatalytic particles were prepared either by a conventional method (crushed powder) or by a more recent approach, based in an emulsion system using 150 mM AOT/isooctane, which allowed for the formation of spherical micro- and nanobeads. The effects on PGA activity of different sol-gel precursors, additives, enzyme concentration, aging, drying conditions and mechanical stability were evaluated. After these optimization studies, a mechanically stable carrier based on porous xerogels silica matrixes, starting from tetramethoxysilane (TMOS) with 65–67% PGA activity yield in these carriers allowed an immobilization yield of 74 mg protein g dry sol-gel ⁻¹ and 930 U/g dry sol-gel ⁻¹ for specific activity were obtained.
(Marcos, et al., 1999)	PORTUGAL	Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications	Partial purification of penicillin acylase from <i>Escherichia coli</i> in poly(ethylene glycol)-sodium citrate aqueous two-phase systems	Studies on the partition and purification of penicillin acylase from <i>Escherichia coli</i> osmotic shock extract were performed in poly(ethylene glycol)-sodium citrate systems. Partition coefficient behavior of the enzyme and total protein are similar to those described in other reports, increasing with pH and tie line length and decreasing with PEG molecular weight. However, some selectivity could be attained with PEG 1000 systems and long tie line at pH 6.9. Under these conditions 2.6-fold purification with 83% yield were achieved. Influence of pH on partition shows that is the composition of the system and not the net charge of the enzyme that determines the behaviour in these conditions. Addition of NaCl to PEG 3350 systems significantly increases the partition of the enzyme. Although protein partition also increased, purification conditions were possible with 1.5 M NaCl where 5.7-fold purification and 85% yield was obtained. This was possible due to the higher hydrophobicity of the enzyme compared to that of most contaminants proteins.

Anexo L: (Continuación)

ENZIMA PENICILLIN G/V ACYLASE				
AUTOR	PAÍS	REVISTA	TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	ABSTRAC
(Skrob, et al., 2003)	REPUBLICA CHECA	Enzyme and Microbial Technology	Novel penicillin G acylase from <i>Achromobacter</i> sp. CCM 4824	A novel penicillin G acylase from the bacterial strain <i>Achromobacter</i> sp. CCM 4824 was characterized. The specific activity of purified enzyme was 27.6Umg ⁻¹ protein (6-nitro-3-phenylacetylamidobenzoic acid, NIPAB as the substrate). The enzyme consists of two dissimilar subunits α and β with a molecular mass of 27.0 and 62.4kDa, respectively. The isoelectric point was about pH 8.8. The N-terminal amino acid sequence of β subunit (SNMWIVGRDHAKDARSILLN) and internal amino acid sequence of α subunit (YGYGYAVAQDRFLQMEMAR) exhibited a significant similarity with penicillin G acylases. The Km values for penicillin G and NIPAB were 1.9 \pm 0.1 and 4.5 \pm 0.2 μ M, respectively. The turnover rates kcat for penicillin G and NIPAB were 29 \pm 1 and 19 \pm 1s ⁻¹ , respectively. The maximal hydrolytic activity of the enzyme was found at pH 7.5 and temperature of 60°C. In contrast to the published substrate specificities of penicillin G acylases, the enzyme exhibited an almost two-fold hydrolytic activity with ampicillin, amoxicillin and cephalixin compared to penicillin G.
(Youshko, Chilov, Shcherbakova, & Švedas, 2002)	RUSSIA	Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteínas y Proteómica	Quantitative characterization of the nucleophile reactivity in penicillin acylase-catalyzed acyl transfer reactions.	Nucleophile reactivity of two most known nuclei of penicillins and cephalosporins, 6-aminopenicillanic (6-APA) and 7-aminodesacetoxycephalosporanic (7-ADCA) acids, was quantitatively characterized. In penicillin acylase (PA)-catalyzed acyl transfer reactions the relative reactivity of the added nucleophile compared to the water (i.e. nucleophile reactivity) is defined by two complex kinetic parameters β 0 and γ , and depends on the nucleophile concentration. In turn, parameters β 0 and γ were shown to be dependent on the structure of both reactants involved: nucleophile and acyl donor. Analysis of the kinetic scheme revealed that nucleophile reactivity is one of a few key parameters controlling efficiency of PA-catalyzed acyl transfer to the added nucleophile in an aqueous medium. Computation of the maximum nucleophile conversion to the product using determined nucleophile reactivity parameters in the synthesis of three different antibiotics, ampicillin, amoxicillin and cephalixin, showed good correlation with the results of corresponding synthetic experiments. Suggested approach can be extended to the quantitative description and optimization of PA-catalyzed acyl transfer reactions in a wide range of experimental conditions.
(Souza, et al., 2005)	BRASIL	BRAZILIAN ARCHIVES OF BIOLOGY AND TECHNOLOGY	Characterization of the Penicillin G Acylase from <i>Bacillus megaterium</i> ATCC 14945	The purpose of this work was to characterize the enzyme penicillin G acylase (PGA) produced by <i>Bacillus megaterium</i> . Purification of the enzyme by ultra/diafiltration did not allow the detection of the PGA band by SDS-PAGE electrophoresis due to the high content of remaining proteins. However, using the DNA of the microorganism, it was possible to replicate the genes of the two B. megaterium PGA reported in literature, showing that the enzyme consisted of two sub-units, having 245 and 537 amino acids each and an average molecular mass of 26950 and 59070 Da, respectively. The parameters studied were: 1) the influence of temperature in the 25-60 °C range, 2) pH in the 5-10 range and 3) substrate concentration, this was tested to obtain results on the Penicillin G hydrolysis reaction rate, using the initial velocities approach. The maximum hydrolysis rate was obtained at 37°C and pH 8.0. The Michaelis-Menten model fitted well, resulting in estimated Km and Vmax parameters values of 1.83 mM and 0.165*10 ⁻³ mmol/min/UI, respectively
(Yang, et al., 2006)	ALEMANIA	Microbial Cell Factories	High yield recombinant penicillin G amidase production and export into the growth medium using <i>Bacillus megaterium</i>	Background: During the last years B. megaterium was continuously developed as production host for the secretion of proteins into the growth medium. Here, recombinant production and export of B. megaterium ATCC14945 penicillin G amidase (PGA) which is used in the reverse synthesis of β -lactam antibiotics were systematically improved. Results: For this purpose, the PGA leader peptide was replaced by the B. megaterium LipA counterpart. A production strain deficient in the extracellular protease NprM and in xylose utilization to prevent gene inducer deprivation was constructed and employed. A buffered mineral medium containing calcium ions and defined amino acid supplements for optimal PGA production was developed in microscale cultivations and scaled up to a 2 Liter bioreactor. Productivities of up to 40 mg PGA per L growth medium were reached. Conclusion: The combination of genetic and medium optimization led to an overall 7-fold improvement of PGA production and export in B. megaterium. The exclusion of certain amino acids from the minimal medium led for the first time to higher volumetric PGA activities than obtained for complex medium cultivations.
(Quratulain, et al., 2006)	PAISES BAJOS	World Journal of Microbiology and Biotechnology	Development and characterization of a potent producer of penicillin G amidase by mutagenization	The penicillin G amidase (PGA) activity of a parent strain of E. coli (PCSIR-102) was enhanced by chemical mutagenization with N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG). After screening and optimization, a penicillinase deficient mutant (MNNG-37) was isolated and found effective for the production of penicillin G amidase as compared to the parent strain of E. coli (PCSIR-102). Penicillin G amidase activity of MNNG-37 appeared during an early stage of growth, whereas PCSIR-102 did not exhibit PGA activity due to the presence of penicillinase enzyme which inhibits the activity of enzyme PGA. However, MNNG-37 gave a three-fold increase in enzyme activity (231 IU mg ⁻¹) as compared to PCSIR-102 (77 IU mg ⁻¹) in medium containing 0.15 and 0.1% concentrations of phenylacetic acid, respectively which was added after 6 h of cultivation. The difference in Km values of the enzyme produced by parent strain PCSIR-102 (0.26 mM) and mutant strain MNNG-37 (0.20 mM) is significant (1.3-fold increase in Km value) which may show the superiority of the latter in terms of better enzyme properties.
(Sio & Quax, 2004)	PAISES BAJOS	Current Opinion in Biotechnology	Improved β-lactam acylases and their use as industrial biocatalysts	Whereas the β -lactam acylases are traditionally used for the hydrolytic processing of penicillin G and cephalosporin C, new and mutated acylases can be used for the hydrolysis of alternative fermentation products as well as for the synthesis of semisynthetic β -lactam antibiotics. Three-dimensional structural analyses and site-directed mutagenesis studies have increased the understanding of the catalytic mechanism of these enzymes. The yield of hydrolysis and synthesis has been greatly improved by process design, including immobilization of the enzyme and the use of alternative reaction media. Significant advances have also been made in the resolution of racemic mixtures by means of stereoselective acylation/hydrolysis using β -lactam acylases.
(Rajendhran & Gunasekaran, 2007)	INDIA	Letters in Applied Microbiology	Application of cross-linked enzyme aggregates of <i>Bacillus badius</i> penicillin G acylase for the production of 6-aminopenicillanic acid.	Aims: Optimization of 6-aminopenicillanic acid (6-APA) production using cross-linked enzyme aggregates (CLEA) of <i>Bacillus badius</i> penicillin G acylase (PAC). Methods and Results: CLEA-PAC was prepared using purified/partially purified PAC with phenylacetic acid as active-site blocking agent and glutaraldehyde as cross-linker. Conversion of penicillin G to 6-APA by CLEA-PAC was optimized using response surface methodology (RSM) (central composite rotatable design) consisting of a three-factor-two-level pattern with 20 experimental runs. Conclusion: Nearly, 80% of immobilization yield was obtained when partially purified enzyme was used for the preparation of CLEA-PAC. Quantitative conversion of penicillin G to 6-APA was observed within 60 min and the CLEA-PAC was reusable for 20 repeated cycles with 100% retention of enzyme activity. Significance and Impact of the Study: The faster conversion of penicillin G to 6-APA by CLEA-PAC and efficient reusability holds a strong potential for the industrial application.

Anexo L: (Continuación)

ENZIMA PENICILLIN G/V ACYLASE				
AUTOR	PAÍS	REVISTA	TÍTULO DE LA INVESTIGACIÓN	ABSTRAC
(R. G. Silva, et al., 2006)	BRASIL	Brazilian Journal of Chemical Engineering	Using a medium of free amino acids to produce penicillin G acylase in fed batch cultivations of <i>Bacillus megaterium</i> ATCC 14945	The production of penicillin G acylase (PGA, an important industrial enzyme) from a wild strain of <i>Bacillus megaterium</i> using a pool of free amino acids as substrate was studied in a bench-scale bioreactor. Experiments carried out in shakers showed that the substitution of casein for free amino acids in the presence of cheese whey was the culture medium that provided the highest productivity. Several cultivations were carried out in a bioreactor operated in either batch or fed-batch mode. Batch runs showed that enzyme production is associated with microorganism growth. The following set of amino acids was preferentially consumed: Ala, Arg, Asp, Gly, Lys, Ser, Thr and Trp. On the other hand, the rates of consumption of His, Ile, Leu, Met, Phe, Pro, Tyr and Val were lower.
(Cheng, Song, Wei, & Gao, 2007)	CHINA	Enzyme and Microbial Technology	High-level production penicillin G acylase from <i>Alcaligenes faecalis</i> in recombinant <i>Escherichia coli</i> with optimization of carbon sources	Different carbon sources were investigated for overproduction penicillin G acylase from <i>Alcaligenes faecalis</i> in recombinant <i>Escherichia coli</i> strains. The results indicated that the enzyme was optimally produced with 45 g/l of dextrin, and about 43,385 and 79,880 U/l for the highest enzyme activities were obtained in batch cultivations of shaken flasks and a 3.7 l bioreactor, respectively. Active site titration and SDS-PAGE electrophoretic analysis demonstrated that the maximum yield of the active enzyme was 2.54 g/l, which was about 40% of total soluble proteins. The highest specific activity of <i>A. faecalis</i> penicillin G acylase obtained was above 10 U/mg protein, and there was almost no plasmid lost in the whole batch cultivations. Furthermore, the cultivation process was relatively simple and suitable for large-scale production.
(C.-I. Chen, Chen, Huang, & Liu, 2007)	CHINA	Journal of Membrane Science	Simultaneous purification and immobilization of penicillin G acylase using bifunctional membrane	In this study, the bifunctional membrane (epoxy and immobilized copper ion) was constructed to study the effect on penicillin G acylase (PGA) purification and immobilization. In the procedures, PGA was firstly chelated with the immobilized copper on the membrane at 18 °C, for 12 h. Then, it was covalently bound to the membrane via epoxy group under the incubation conditions (i.e., pH 10.0, 18 °C, 76 h). In the construction of bifunctional membrane, iminodiacetic acid disodium (IDA) concentration critically affected the bifunctional group ratio in the membrane. When IDA concentration was higher than 0.500 M, the chelated copper ion in membrane reached its a saturation of 52.2 µmol/disc. Meanwhile, when IDA concentration was 0.050 M, the chelated copper ion would reach 29.9 µmol/disc, nearly 58% of its saturation. The membrane prepared by 0.05 M IDA was employed to simultaneously purify and immobilize PGA. The resulting PGA membrane was stable even when the chelated copper ion was eluted with ethylenediaminetetraacetic acid disodium salt dehydrate. It was noted that 96.3% of the PGA activity could be retained under 26 months' reactions within more than 2 months. With this stable property, this immobilization approach could be further developed and applied for industrial processes.
(López-Gallego et al., 2005)	ESPAÑA	Journal of Biotechnology	Improved stabilization of chemically aminated enzymes via multipoint covalent attachment on glyoxyl supports	The surface carboxylic groups of penicillin G acylase and glutaryl acylase were chemically aminated in a controlled way by reaction with ethylenediamine via the 1-ethyl-3-(dimethylamino-propyl) carbodiimide coupling method. Then, both proteins were immobilized on glyoxyl agarose. In both cases, the immobilization of the chemically modified enzymes improved the enzyme stability compared to the stability of the immobilized but non-modified enzyme (by a four-fold factor in the case of PGA and a 20-fold factor in the case of GA). The chemical modification presented a deleterious effect on soluble enzyme stability. Therefore, the improved stability should be related to a higher multipoint covalent attachment, involving both the lysine amino groups and also the new amino groups chemically introduced on the enzyme. Moreover, the lower pKa of the new amino groups permitted to immobilize the enzyme under milder conditions. In fact, the aminated proteins could be immobilized even at pH 9, while the non-modified enzymes could only be immobilized at pH over 10.
(Bergeron, et al., 2009)	EEUU	Biotechnology and Bioengineering	Redirecting the inactivation pathway of penicillin amidase and increasing amoxicillin production via a thermophilic molecular chaperone	We have previously shown that a single-subunit thermosome from <i>Methanocaldococcus jannaschii</i> (rTHS) can stabilize enzymes in semi-aqueous media. In the present study, rTHS was used to stabilize penicillin amidase (PGA) in methanol-water mixtures. Including methanol in the reaction medium for amoxicillin synthesis can suppress unwanted hydrolysis reactions but inactivate PGA. Inactivation and reactivation pathways proposed for PGA illustrate the predictability of enzyme stabilization by rTHS in co-solvents. Calcium was necessary for reversible dissociation of the two PGA subunits in methanol-water and the presence of calcium resulted in an enhancement of chaperone-assisted stabilization. rTHS also acted as a stabilizer in the enzymatic synthesis of the β-lactam antibiotic amoxicillin. rTHS stabilized PGA, increasing its half-life in 35% methanol by fivefold at 37°C. Stabilization by rTHS was enhanced but did not require the presence of ATP. Including rTHS in fed-batch reactions performed in methanol-water resulted in nearly 4 times more amoxicillin than when the reaction was run without rTHS, and over threefold higher selectivity towards amoxicillin synthesis compared to aqueous conditions without rTHS. The thermosome and other thermophilic chaperones may thus be generally useful for stabilizing enzymes in their soluble form and expanding the range of conditions suitable for biocatalysis.

M. Anexo: Compañías colombianas que comercializan el principio activo amoxicilina en sus diferentes formas farmacéuticas

Fuente: (Carrasco, 2012)

PRODUCTO	LABORATORIO
AMOTAL	ICOFARMA
AMOTEX	IFSA
AMOXAL	GLAXOSMITHKLINE
AMOXIBAY	BAYER SCHERING PHARMA
AMOXICILINA	AMERICAN GENERICS
AMOXICILINA	ANGLOPHARMA
AMOXICILINA	A-Z PHARMA
AMOXICILINA BCN	BCN MEDICAL
AMOXICILINA	BEST
AMOXICILINA	BIOQUIMICO PHARMA
AMOXICILINA	CARLON
AMOXICILINA	COLGENERICOS
AMOXICILINA	DIZMOFAR
AMOXICILINA	COASPHARMA
AMOXICILINA	GENFAR
AMOXICILINA	LAFRANCOL
AMOXICILINA	LA SANTÉ
AMOXICILINA	MEDALCO FARMACEUTICA
AMOXICILINA	MEDICALEX
AMOXICILINA	MEMPHIS
AMOXICILINA MK	MK
AMOXICILINA	OPHALAC
AMOXICILINA	PENTACOOOP
AMOXICILINA	PROCAPS
AMOXICILINA	RECIFE
AMOXICILINA	SYNTHESIS
AMOXICILINA WIN	WINTHROP
AMOXICILINA + A. CLAVULANICO	VITALIS
AMOXIDAL DUO	ROEMMERS
AMOXIGA	GALENO QUIMICA
AMOXIL JUNIOR	GLAXOSMITHKLINE

N. Anexo: productos farmacéuticos desarrollados y radicados ante el INVIMA con base en la amoxicilina

Fuente:(Turismo, 2002-2012), bases de datos UN de acuerdo a los documentos citados en la bibliografía, evaluados desde Ene. 1990 a Sep.2012

PRODUCTO	LABORATORIO	AÑO	FORMA FARMACÉUTICA	COMPOSICIÓN	INDICACIONES
Clavulin Junior 12H	GlaxoSmithKline Corporation USA	2006	Polvo para suspensión oral	Cada 25mg de polvo para reconstituir a 100mL contiene amoxicilina trihidrato equivalente a amoxicilina base 5gr y clavulonato de potasio equivalente a ácido clavulónico 1,25g.	Infecciones producidas por gérmenes productores de betalactamasa, en las cuales la amoxicilina o la ampicilina es el medicamento de elección.
Clavulin 600mg	GlaxoSmithKline Corporation USA	2006	Polvo estéril para inyección	Cada vial contiene 500mg de amoxicilina sódica equivalente a amoxicilina clavulonato de potasio equivalente a ácido clavulónico 100mg.	Tratamiento a corto plazo de infecciones bacterianas en vías respiratorias altas, vías respiratorias bajas, vías urinarias, piel y tejido blando, infecciones óseas y articulares
Clavulin 1200mg Iny.	GlaxoSmithKline Corporation USA	2006	Polvo estéril para inyección	1 g de amoxicilina como amoxicilina base y 200mg de ácido clavulónico como clavulonato de potasio.	
Clavulin 250mg	GlaxoSmithKline Corporation USA	2005	Polvo para suspensión oral	Cada 25g de polvo para reconstituir a 100mL contiene 5g amoxicilina más clavulanato de potasio equivalente a 1.25g de ácido clavulónico.	Infecciones producidas por gérmenes productores de Betalactamasa, en las cuales la amoxicilina o la ampicilina es el medicamento de elección.
Clavulin ES 600	Smithkline Beecham P.L.C.	2005	Polvo para suspensión oral	Cada 16,673g de polvo para reconstituir a 100mL de suspensión oral contienen amoxicilina trihidratada equivalente a 12g de amoxicilina más clavulanato de potasio equivalente a 0,858g de ácido clavulónico.	Otitis media recurrente o refractaria causada por <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Haemophilus influenzae</i> y <i>Moraxella catarrhalis</i>
Clavulin 1g	GlaxoSmithKline Colombia S. A.	2006	Tabletas recubiertas	Cada Tableta contiene amoxicilina trihidratada equivalente a 875mg de amoxicilina mas clavulanato de potasio equivalente a 125mg de ácido clavulánico	Infecciones producidas por germen productores de betalactamasas, en las cuales la amoxicilina o la ampicilina son los medicamentos de eleccion
Clavulan Tab	GlaxoSmithKline Colombia S. A.	2005	Tabletas recubiertas	Cada tableta recubierta contiene amoxicilina trihidrato equivalente a 500mg de amoxicilina más clavulanato de potasio equivalente a 125mg de ácido clavulánico	
Amoxal BD Tab x 875mg	GlaxoSmithKline Corporation USA	2006	Tableta	Cada tableta contiene amoxicilina trihidratada equivalente a 875mg de amoxicilina base	
Amoxal Tab x 1g	GlaxoSmithKline Corporation USA	2006	Tableta	Cada tableta contiene amoxicilina trihidrato equivalente a amoxicilina base 1g	Infecciones producidas por gérmenes sensibles a la amoxicilina
Amoxal 12H	GlaxoSmithKline Corporation USA	2006	Polvo para suspensión oral	Cada 100mL de suspensión reconstituida contiene: amoxicilina trihidrato equivalente a amoxicilina base 8g.	Infecciones agudas y crónicas de vías respiratorias superiores, vías respiratorias inferiores, gastrointestinales, genitourinarias, piel y tejidos blandos, vías biliares, pélvicas y en gonorrea, meningitis, infecciones dentales. Infecciones causadas por <i>Streptococcus pneumoniae</i> resistente a la penicilina y ampicilina. Coadyuvante en la erradicación del <i>helicobacter pylori</i> .
Amoxil 700mg/5mL	GlaxoSmithKline Colombia S. A.	2006	Polvo para suspensión oral	Cada frasco con polvo para reconstituir a 5mL contiene 700mg de amoxicilina trihidrato equivalente a amoxicilina.	Infecciones producidas por gérmenes sensibles a la amoxicilina
Curam 1000mg IV	Novartis de Colombia S.A.	2007	Polvo liofilizado para reconstituir a solución inyectable	Cada vial contiene 1g de amoxicilina sodica más 200mg de clavulanato potásico	Tratamiento a corto plazo de infecciones bacterianas en vías respiratorias altas y bajas, vías urinarias, piel y tejido blando, infecciones óseas y articulares.

PRODUCTO	LABORATORIO	AÑO	FORMA FARMACÉUTICA	COMPOSICIÓN	INDICACIONES
Curam	Novartis de Colombia S.A.	2006	Polvo para suspensión oral	Cada 100mL de solución contiene 125mg de clavulonato de potasio equivalente a ácido clavulónico más 0.5mg de amoxicilina trihidrato equivalente a amoxicilina base	Para el tratamiento de las infecciones bacterianas donde la terapia oral está indicada: Infecciones de las vías respiratorias superiores y ORL: Sinusitis, tonsilitis y otitis media, Infecciones del tracto respiratorio inferior: Bronquitis aguda y crónica, neumonía y absceso pulmonar, Infecciones de piel y tejido blando: Celulitis, heridas infectadas y mordeduras, Infecciones del tracto urinario: Cistitis, uretritis, pielonefritis, infección pélvica, entre otras, Otras infecciones: Osteomielitis, septicemia, peritonitis e infecciones posoperatorias.
			Polvo para suspensión oral	Cada 100mL de suspensión contiene 625mg de clavulonato potásico equivalente a ácido clavulónico más 2500mg de amoxicilina trihidrato equivalente a amoxicilina base.	
			Tabletas recubiertas	Cada tableta contiene 500mg de amoxicilina trihidrato equivalente a amoxicilina base más 125mg de clavulónato potásico equivalente a ácido clavulónico	
Amoxicilina 500mg + ácido clavulánico 125mg	Novartis de Colombia S.A.	2010	Tabletas recubiertas	1 tableta contiene 500 mg de amoxicilina y 125 mg de ácido clavulánico.	Infecciones de los senos nasales, del oído, del pecho como: bronquitis y neumonía, de la vejiga y riñones, de la piel y capas subcutáneas
Amoxicilina 250mg + ácido clavulánico 62,5mg / 5mL	Novartis de Colombia S.A.	2010	Polvo para suspensión oral	amoxicilina 250 mg + ácido clavulánico 62.5 mg/ 5 mL	
Trifamox IBL 750	Laboratorios Bagó de Colombia Ltda	2006	Polvo estéril para inyección	Cada 5mL de solución contiene amoxicilina sódica equivalente a 500mg de amoxicilina más sulbactam sódico equivalente a 250mg de sulbactam	Tratamiento de infecciones causadas por microorganismos resistentes a monoterapia con antibacterianos betalactámicos y cefalosporínicos debido a su capacidad de producción de betalactamasas
Trifamox IBL 1500	Laboratorios Bagó de Colombia Ltda	2006	Polvo estéril para inyección	Cada 5mL de solución contiene amoxicilina sódica equivalente a 1000mg de amoxicilina más sulbactam sódico equivalente a 500mg de sulbactam	Infecciones de vías respiratorias altas y bajas, otorrinolaringológicas (sinusitis, otitis), de las vías urinarias, ginecológicas y obstétricas, de piel y tejidos blandos y del tracto digestivo.
Trifamox IBL DUO Comprimidos	Laboratorios Bagó de Colombia Ltda	2005	Tabletas	amoxicilina trihidrato equivalente a amoxicilina 875 mg y Sulbactam 125 mg.	Amoxicilina más sulbactam es una asociación que conjuga un antibiótico bactericida con un inhibidor de las betalactamasas. La elección de amoxicilina más sulbactam debe basarse en datos de sensibilidad bacteriana.
Koact 1000	Químicos Farmaceuticos Abogados Ltda	2006	Tabletas	Cada tableta contiene a 875mg de amoxicilina y 125mg de ácido clavulánico	Agente antibiótico con un espectro de actividad notablemente amplio contra los patógenos bacterianos que aparecen comúnmente en la práctica general y hospitalaria

BIBLIOGRAFÍA

- Aguirre, C., Concha, I., Vergara, J., Riveros, R., & Illanes, A. (2010). Partition and substrate concentration effect in the enzymatic synthesis of cephalexin in aqueous two-phase systems. *Process Biochemistry*, 45(7), 1163-1167.
- Aguirre, C., Opazo, P., Venegas, M., Riveros, R., & Illanes, A. (2006). Low temperature effect on production of ampicillin and cephalexin in ethylene glycol medium with immobilized penicillin acylase. *Process Biochemistry*, 41(9), 1924-1931.
- Aguirre, C., Toledo, M., Medina, V., & Illanes, A. (2002). Effect of cosolvent and pH on the kinetically controlled synthesis of cephalexin with immobilised penicillin acylase. *Process Biochemistry*, 38(3), 351-360.
- Alemzadeh, I., Borghei, G., Roostaazad, L. V., & Roostaazad, R. (2010). Enzymatic Synthesis of Amoxicillin with Immobilized Penicillin G Acylase. [ARTICLE]. *Chemistry and Chemical Engineering (SCIENTIAIRANICA)*, 17(1), 106 - 113.
- Bahamondes, C., Wilson, L., Aguirre, C., & Illanes, A. (2012). Comparative study of the enzymatic synthesis of cephalexin at high substrate concentration in aqueous and organic media using statistical model. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 17(4), 711-721.
- Barends, T. R. M., Yoshida, H., & Dijkstra, B. W. (2004). Three-dimensional structures of enzymes useful for β -lactam antibiotic production. *Current Opinion in Biotechnology*, 15(4), 356-363.
- Benavides, V. A., & Quintana, G. C. (2006). *Inteligencia competitiva, prospectiva e innovación La norma UNE-166006 EX sobre el sistema de vigilancia tecnológica. Boletín económico del ICE*(2896), 47 - 63.
- Bergeron, L. M., Tokatlian, T., Gomez, L., & Clark, D. S. (2009). Redirecting the inactivation pathway of penicillin amidase and increasing amoxicillin production via a thermophilic molecular chaperone. *Biotechnology and Bioengineering*, 102(2), 417-424.
- Bernardino, S., Estrela, N., Ochoa-Mendes, V., Fernandes, P., & Fonseca, L. (2011). Optimization in the immobilization of penicillin G acylase by entrapment in xerogel particles with magnetic properties. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 58(2), 545-556.
- Bhattacharyya, B., & Sen, S. (2006). Antibiotics business: A glimpse. *Indian Journal of Biotechnology*, 5(4), 471.
- Budavari, S. (1996). *The index merck* (12 ed. Vol. 1): Merck & co., inc.
- Bumpas, J., & Betsch, E. (2009). " *Exploratory study on active pharmaceutical ingrediente manufacturing for essential medicines*". Washington: The International Bank for Reconstruction and Development.
- Carrasco, A. (2012). *farmaprecios max* (Marzo-Abril 2012 ed., Vol. 127). Colombia: PLM, S.A.
- Chandel, A. K., Rao, L. V., Narasu, M. L., & Singh, O. V. (2008). The realm of penicillin G acylase in β -lactam antibiotics. *Enzyme and Microbial Technology*, 42(3), 199-207.
- Chen, C., Wu, Q., Liu, B., Lv, D., & Lin, X. (2008). Anhydrous tert-pentanol as a novel media for the efficient enzymatic synthesis of amoxicillin. *Enzyme and Microbial Technology*, 42(7), 601-607.
- Chen, C.-I., Chen, C.-W., Huang, C.-W., & Liu, Y.-C. (2007). Simultaneous purification and immobilization of penicillin G acylase using bifunctional membrane. *Journal of Membrane Science*, 298(1-2), 24-29.
- Cheng, S., Song, Q., Wei, D., & Gao, B. (2007). High-level production penicillin G acylase from *Alcaligenes faecalis* in recombinant *Escherichia coli* with optimization of carbon sources. *Enzyme and Microbial Technology*, 41(3), 326-330.

- Chow, Y., Jinchuan, W., & Ruijiang, L. (2005). Influence of 6-aminopenicillanic acid on amoxicillin synthesis and p-hydroxyphenylglycine methyl ester hydrolysis. [Article]. *Biocatalysis & Biotransformation*, 23(5), 347-351.
- Chow, Y., Li, R., Wu, J., Puah, S., New, S., Chia, W., et al. (2007). Modeling and optimization of methanol as a cosolvent in Amoxicillin synthesis and its advantage over ethylene glycol. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 12(4), 390-398.
- Demain, A. L., & Elander, R. P. (1999). The β -lactam antibiotics: past, present, and future. *Antonie van Leeuwenhoek*, 75(1), 5-19.
- Diender, M. B., Straathof, A. J. J., van der Does, T., Zomerdijk, M., & Heijnen, J. J. (2000). Course of pH during the formation of amoxicillin by a suspension-to-suspension reaction. *Enzyme and Microbial Technology*, 27(8), 576-582.
- Diender, M. B., Straathof, A. J. J., van der Wielen, L. A. M., Ras, C., & Heijnen, J. J. (1998). Feasibility of the thermodynamically controlled synthesis of amoxicillin. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 5(1-4), 249-253.
- Dong, W., He, H., Gong, J., & Yang, V. (2010). Immobilization of penicillin G acylase onto amino-modified silica hydrogel. *Frontiers of Chemical Engineering in China*, 4(1), 87-90.
- Du, L.-L., Wu, Q., Chen, C.-X., Liu, B.-K., & Lin, X.-F. (2009). A two-step, one-pot enzymatic synthesis of ampicillin from penicillin G potassium salt. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 58(1-4), 208-211.
- Elander, R. P. (2003). Industrial production of β -lactam antibiotics. [article]. *Applied Microbiology & Biotechnology*, 61, 385 - 392.
- Ferreira, A. L. O., Giordano, R. L. C., & Giordano, R. C. (2004). Improving selectivity and productivity of the enzymatic synthesis of ampicillin with immobilized penicillin G acylase. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 21, 519-529.
- Ferreira, A. L. O., Giordano, R. L. C., & Giordano, R. C. (2007). Nonconventional Reactor for Enzymatic Synthesis of Semi-Synthetic β -Lactam Antibiotics. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 46(23), 7695-7702.
- File, T. M., Garau, J., Jacobs, M. R., Wynne, B., Twynholm, M., & Berkowitz, E. (2005). Efficacy of a new pharmacokinetically enhanced formulation of amoxicillin/clavulanate (2000/125 mg) in adults with community-acquired pneumonia caused by *Streptococcus pneumoniae*, including penicillin-resistant strains. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 25(2), 110-119.
- Friend, S., & Shetty, S. (2010). Global pharma looks to India: Prospects for growth. *Pharmaceuticals and Life Sciences* Retrieved 1, April, 2012, from <http://www.pwc.com/mx/es/publicaciones/archivo/2010/global-pharma-looks-to-india-final.pdf>
- Garcia de Alba, B. F. (2012). *Investigación antidumping y antisubvención sobre las importaciones de amoxicilina trihidratada originarias de la República de la India*. <http://www.dof.gob.mx>: Diario Oficial de la Federación.
- Giordano, R. C., Ribeiro, M. P. A., & Giordano, R. L. C. (2006). Kinetics of β -lactam antibiotics synthesis by penicillin G acylase (PGA) from the viewpoint of the industrial enzymatic reactor optimization. *Biotechnology Advances*, 24(1), 27-41.
- Goncalves, L., Ferreira, A., Fernandez-Lafuente, R., Guisan, J., & Giordano, R. (2008). Influence of mass transfer limitations on the enzymatic synthesis of β -lactam antibiotics catalyzed by penicillin G acylase immobilized on glioxil-agarose. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 31(5), 411-418.
- Goncalves, L. R. B., Fernandez-Lafuente, R., Guisan, J. M., & Giordano, R. L. C. (2002). The role of 6-aminopenicillanic acid on the kinetics of amoxicillin enzymatic synthesis catalyzed by penicillin G acylase immobilized onto glyoxyl-agarose. *Enzyme and Microbial Technology*, 31(4), 464-471.
- Goncalves, L. R. B., Fernandez-Lafuente, R., Guisan, J. M., Giordano, R. L. C., & Giordano, R. C. (2003). Inhibitory effects in the side reactions occurring during

- the enzymic synthesis of amoxicillin: p-hydroxyphenylglycine methyl ester and amoxicillin hydrolysis. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 38, 77-85.
- Goncalves, L. R. B., Giordano, R. L. C., & Giordano, R. C. (2005). Mathematical modeling of batch and semibatch reactors for the enzymic synthesis of amoxicillin. *Process Biochemistry*, 40(1), 247-256.
- Goncalves, L. R. B., Sousa, R., Fernandez-Lafuente, R., Guisan, J. M., Giordano, R. L. C., & Giordano, R. C. (2002). Enzymatic synthesis of amoxicillin - Avoiding limitations of the mechanistic approach for reaction kinetics. *Biotechnology and Bioengineering*, 80(6), 622-631.
- González, M. A. (2012). *Mercado de los antibióticos Betalactámicos en el mundo*. Paper presented at the Encuentro comercial de la cámara colombolndú, Marzo 2012, Cámara de comercio de Bogotá.
- Grace, C. (2004). *The effect of changing intellectual property on pharmaceutical industry prospects in India and China: considerations for access to medicines*. London: DFID Health Systems Resource Centre.
- Greene, W. (2007). *The Emergence of India's Pharmaceutical Industry and Implications for the U.S. Generic Drug Market* Washington: U.S. International Trade Commission
- Grossman, J. H. (1976). Production of amoxicillin trihydrate. Retrieved January, 2012, from http://www.google.de/patents/about/3980637_Production_of_amoxicillin.html?id=wdN2AAAAEBAJ
- Hasenclever, L., & Paranhos, J. (2009). The development of the pharmaceutical industry in Brazil and India: technological capability and industrial development. *Unpublished manuscript, Economics Innovation Research Group, Economics Institute, Federal University of Rio de Janeiro*.
- Illanes, A., Altamirano, C., Fuentes, M., Zamorano, F., & Aguirre, C. (2005). Synthesis of cephalexin in organic medium at high substrate concentrations and low enzyme to substrate ratio. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 35(1-3), 45-51.
- Illanes, A., Anjarí, M. S., Altamirano, C., & Aguirre, C. (2004). Optimization of cephalexin synthesis with immobilized penicillin acylase in ethylene glycol medium at low temperatures. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 30(2), 95-103.
- Illanes, A., Anjarí, S., Arrieta, R., & Aguirre, C. (2002). Optimization of yield in kinetically controlled synthesis of ampicillin with immobilized penicillin acylase in organic media. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 97(3), 165-179.
- Illanes, A., Cabrera, Z., Wilson, L., & Aguirre, C. (2003). Synthesis of cephalexin in ethylene glycol with glyoxyl-agarose immobilised penicillin acylase: temperature and pH optimisation. *Process Biochemistry*, 39(1), 111-117.
- Illanes, A., Wilson, L., & Aguirre, C. (2009). Synthesis of Cephalexin in Aqueous Medium with Carrier-bound and Carrier-free Penicillin Acylase Biocatalysts. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 157(1), 98-110.
- Illanes, A., Wilson, L., Altamirano, C., Cabrera, Z., Alvarez, L., & Aguirre, C. (2007). Production of cephalexin in organic medium at high substrate concentrations with CLEA of penicillin acylase and PGA-450. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(2), 195-203.
- Illanes, A., Wilson, L., Corrotea, O., Tavernini, L., Zamorano, F., & Aguirre, C. (2007). Synthesis of cephalexin with immobilized penicillin acylase at very high substrate concentrations in fully aqueous medium. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 47(1-2), 72-78.
- IMS. (2013). *Estadísticas de ventas del principio activo AMOXICILINA en Colombia*. <http://www.imshealth.com>: IMS Health Incorporated.
- Kahn, J. (2003). Toxins Are Part of Cost of Boom in China's Exports. *The New York Times*. Retrieved from

http://www.nytimes.com/learning/teachers/featured_articles/20031105wednesday.html

- Kaye, C. M., Allen, A., Perry, S., McDonagh, M., Davy, M., Storm, K., et al. (2001). The clinical pharmacokinetics of a new pharmacokinetically enhanced formulation of amoxicillin/clavulanate. *Clinical Therapeutics*, 23(4), 578-584.
- Li, Z., Ji, X., Kan, S., Qiao, H., Jiang, M., Lu, D., et al. (2010). Past, Present, and Future Industrial Biotechnology in China. In G. T. Tsao, P. Ouyang & J. Chen (Eds.), *Biotechnology in China II* (Vol. 122, pp. 1-42): Springer Berlin Heidelberg.
- López-Gallego, F., Montes, T., Fuentes, M., Alonso, N., Grazu, V., Betancor, L., et al. (2005). Improved stabilization of chemically aminated enzymes via multipoint covalent attachment on glyoxyl supports. *Journal of Biotechnology*, 116(1), 1-10.
- Marcos, J. C., Fonseca, L. P., Ramalho, M. T., & Cabral, J. M. S. (1999). Partial purification of penicillin acylase from *Escherichia coli* in poly(ethylene glycol)-sodium citrate aqueous two-phase systems. *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 734(1), 15-22.
- Martínez, H. J., Iliyná, A., Dominguez, M., & Dustet, M. J. (2005). Producción y caracterización cinética parcial de penicilina acilasa de *Mucor griseocyanus* y *Aspergillus fumigatus*. ISPJAE, Facultad de ingeniería química (Departamento de biotecnología).
- Martínez-Hernández, J., Mata-Gómez, M., Aguilar-González, C., & Ilyina, A. (2010). A Process to Produce Penicillin G Acylase by Surface-Adhesion Fermentation Using *Mucor griseocyanus* to Obtain 6-Aminopenicillanic Acid by Penicillin G Hydrolysis. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(7), 2045-2053.
- Mejía, C. A. M. (2008). *Evaluación técnica del aprovechamiento y disposición final de glucanos en la industria alimenticia*. Universidad de los Andes, Bogotá (Colombia).
- Neu, H. C. (1992). The Crisis in Antibiotic Resistance. *Science*, 257(5073), 1064-1073.
- Ospina, S., Barzana, E., Ramírez, O. T., & López-Munguía, A. (1996). Effect of pH in the synthesis of ampicillin by penicillin acylase. *Enzyme and Microbial Technology*, 19(6), 462-469.
- Palop, F., & Vicente, J. (1999). *Vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva. Su potencial para la empresa Española*. Retrieved from http://www.delfos.co.cu/boletines/bsa/PDF/potencial_vtec.pdf.
- Pan, S.-B., Wu, Q., Chen, C.-X., & Lin, X.-F. (2008). Efficient enzymatic synthesis of ampicillin in organic media. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 54(1-2), 13-18.
- Pasqualoto, K. F., Funck, J. A. B., da Silva, F. E., & Kratz, C. d. P. (2005). Development and Evaluation of Amoxicillin Formulations by Direct Compression: Influence of the Adjuvants on Physicomechanical and Biopharmaceutical Properties of the Tablets. *Acta Farm. Bonaerense*, 24(1), 39-47.
- Pinotti, L., Silva, A., Silva, R., & Giordano, R. (2000). Study of different media for production of penicillin G acylase from *Bacillus megaterium* ATCC 14945. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 84-86(1), 655-663.
- planeación, D. n. d. (2011). *Plan nacional de desarrollo 2010-2014*. Retrieved from <http://www.dnp.gov.co>.
- Price, A. (2005). *Encyclopedia of Science, Technology, and Ethics* (Vol. 1). Detroit: Macmillan Reference USA.
- Quratulain, S., Nasira, B., & Kashmiri, M. A. (2006). Development and characterization of a potent producer of penicillin G amidase by mutagenization. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 22(3), 213-218.

- Rajendhran, J., & Gunasekaran, P. (2007). Application of cross-linked enzyme aggregates of *Bacillus badius* penicillin G acylase for the production of 6-aminopenicillanic acid. *Letters in Applied Microbiology*, 44(1), 43-49.
- Ribeiro, M. P. A., Ferreira, A. L. O., Giordano, R. L. C., & Giordano, R. C. (2005). Selectivity of the enzymatic synthesis of ampicillin by *E. coli* PGA in the presence of high concentrations of substrates. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 33(3-6), 81-86.
- Rios, M. O. (2001). *Creación de una base de datos con las propiedades farmacotécnicas de amoxicilina, ampicilina, dicloxacilina, cefalexina, lactosa, talco, croscarmelosa sódica, estearato de magnesio, dióxido de silicio coloidal*. Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ciencias, tesis pregrado,, Bogotá.
- Saglimbeni, M. (2002). Uso Terapéutico de la Amoxicilina-Ácido Clavulánico en la Enfermedad Periodontal. In E. Salazar de Plaza (Ed.) (Vol. 40, pp. 320 - 328). Caracas, Venezuela.
- Schäfer, T., Borchert, T. W., Nielsen, V., Skagerlind, P., Gibson, K., Wenger, K., et al. (2007). Industrial Enzymes. In R. Ulber & D. Sell (Eds.), *white biotechnology* (Vol. 105, pp. 59-131): Springer Berlin / Heidelberg.
- Shewale, J. G., & Sudhakaran, V. K. (1997). Penicillin V acylase: Its potential in the production of 6-aminopenicillanic acid. *Enzyme and Microbial Technology*, 20(6), 402-410.
- Shobert, B. (2012). A China Headache for World's Big Pharma Companies. (1), 1. Retrieved from <http://www.cnbc.com/id/48157073>
- Silva, J. A., Neto, E. H. C., Adriano, W. S., Ferreira, A. L. O., & Goncalves, L. R. B. (2008). Use of neural networks in the mathematical modelling of the enzymic synthesis of amoxicillin catalysed by penicillin G acylase immobilized in chitosan. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 24(9), 1761-1767.
- Silva, R. G., Souza, V. R., Nucci, E. R., Pinotti, L. M., Cruz, A. J. G., Giordano, R. C., et al. (2006). Using a medium of free amino acids to produce penicillin g acylase in fed-batch cultivations of *Bacillus megaterium* ATCC 14945. *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 23, 37-43.
- Sio, C. F., & Quax, W. J. (2004). Improved β -lactam acylases and their use as industrial biocatalysts. *Current Opinion in Biotechnology*, 15(4), 349-355.
- Skrob, F., Becka, S., Plháčková, K., Fotopulosová, V., & Kyslík, P. (2003). Novel penicillin G acylase from *Achromobacter* sp. CCM 4824. *Enzyme and Microbial Technology*, 32(6), 738-744.
- Souza, V. R. d., Silva, A. C. G., Pinotti, L. M., Araújo, H. S. S., & Giordano, R. d. L. C. (2005). Characterization of the penicillin G acylase from *Bacillus megaterium* ATCC 14945. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 48, 105-111.
- Spence, D. W., & Ramsden, M. (2007). Penicillin Acylases. In J. Polaina & A. P. MacCabe (Eds.), *Industrial Enzymes* (pp. 583-597): Springer Netherlands.
- Sánchez, J. (2011). Fuentes de Información. On *Dinámica de generación de conocimiento*. Departamento de Ingeniería Industrial e Ingeniería de Sistemas: Universidad Nacional de Colombia.
- Sánchez, J. (2011a). Guía para la práctica en la empresa de la vigilancia tecnológica e inteligencia competitiva. Universidad Nacional de Colombia.
- Sánchez, J. (2011b). Información Estructurada y No estructurada. On *Dinámica de generación de conocimiento*. Departamento de Ingeniería industrial e ing de sistemas y computación: Universidad Nacional De Colombia.
- Turismo, M. C. I. (2002-2012). Importaciones de Amoxicilina y sus sales.
- Ulijn, R. V., De Martin, L., Halling, P. J., Moore, B. D., & Janssen, A. E. M. (2002). Enzymatic synthesis of β -lactam antibiotics via direct condensation. *Journal of Biotechnology*, 99(3), 215-222.

- Valencia, P., Flores, S., Wilson, L., & Illanes, A. (2012). Batch reactor performance for the enzymatic synthesis of cephalixin: influence of catalyst enzyme loading and particle size. *New Biotechnology*, 29(2), 218-226.
- Valencia, P., Wilson, L., Aguirre, C., & Illanes, A. (2010). Evaluation of the incidence of diffusional restrictions on the enzymatic reactions of hydrolysis of penicillin G and synthesis of cephalixin. *Enzyme and Microbial Technology*, 47(6), 268-276.
- Vellore Sunder, A., Kumar, A., Naik, N., & Pundle, A. (2012). Characterization of a new *Bacillus cereus* ATUAVP1846 strain producing penicillin V acylase, and optimization of fermentation parameters. *Annals of Microbiology*, 62(3), 1287-1293.
- Vásquez, R. L. (2009). *Informe APEI sobre vigilancia tecnológica*. (No. 978-84-692-7999-1). Gijón(España): Asociación profesional de especialistas en información.
- Wang, J., Zhang, Q., Huang, H., Yuan, Z., Ding, D., Yang, S., et al. (2007). Increasing synthetic performance of penicillin G acylase from *Bacillus megaterium* by site-directed mutagenesis. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 74(5), 1023-1030.
- Wen, Y., Feng, M., Yuan, Z., & Zhou, P. (2005). Expression and overproduction of recombinant penicillin G acylase from *Kluyvera citrophila* in *Escherichia coli*. *Enzyme and Microbial Technology*, 37(2), 233-237.
- Wu, Q., Chen, C.-X., Du, L.-L., & Lin, X.-F. (2010). Enzymatic Synthesis of Amoxicillin via a One-pot Enzymatic Hydrolysis and Condensation Cascade Process in the Presence of Organic Co-solvents. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 160(7), 2026-2035.
- Yang, Y., Biedendieck, R., Wang, W., Gamer, M., Malten, M., Jahn, D., et al. (2006). High yield recombinant penicillin G amidase production and export into the growth medium using *Bacillus megaterium*. *Microbial Cell Factories*, 5(1), 36.
- Youshko, M. I., Chilov, G. G., Shcherbakova, T. A., & Švedas, V. K. (2002). Quantitative characterization of the nucleophile reactivity in penicillin acylase-catalyzed acyl transfer reactions. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1599(1-2), 134-140.
- Zhang, M., Shi, M., Zhou, Z., Yang, S., Yuan, Z., & Ye, Q. (2006). Production of *Alcaligenes faecalis* penicillin G acylase in *Bacillus subtilis* WB600 (pMA5) fed with partially hydrolyzed starch. *Enzyme and Microbial Technology*, 39(4), 555-560.
- Zhang, Y.-W., Liu, R.-J., & Xu, X.-M. (2010). One-pot, two-step enzymatic synthesis of amoxicillin by complexing with Zn²⁺. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 88(1), 49-55.
- Zhou, E. (2007). China Pharma Basking In Its Spotlight. *Genetic Engineering & Biotechnology News*, 27. Retrieved from <http://www.genengnews.com/gen-articles/china-pharma-basking-in-its-spotlight/2049/>
- Zhou, H., Yang, L., Li, W., Shou, Q., Xu, P., Li, W., et al. (2012). Improving the Stability of Immobilized Penicillin G Acylase via the Modification of Supports With Ionic Liquids. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 51(12), 4582-4590.